

Laís Graziela de Melo da Silva

**BIOPURGA DE MALHA DE ALGODÃO UTILIZANDO
PROCESSO ENZIMÁTICO COM ASSOCIAÇÃO DE ENZIMAS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Augusto Ulson de Souza

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Selene M. A. Guelli Ulson de Souza

Florianópolis
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Silva, Laís Graziela de Melo da
Biopurga de malha de algodão utilizando processo
enzimático com associação de enzimas / Laís Graziela de Melo
da Silva ; orientador, Antônio Augusto Ulson de Souza ; co-
orientadora, Selene Maria Arruda Guelli Ulson de Souza. -
Florianópolis, SC, 2013.
130 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Química.

Inclui referências

1. Engenharia Química. 2. Indústria têxtil. 3. Processo
biotecnológico. 4. Enzimas. 5. Biopurga. I. Souza, Antônio
Augusto Ulson de. II. Souza, Selene Maria Arruda Guelli
Ulson de. III. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

Laís Graziela de Melo da Silva

**BIOPURGA DE MALHA DE ALGODÃO UTILIZANDO
PROCESSO ENZIMÁTICO COM ASSOCIAÇÃO DE ENZIMAS**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Florianópolis, 30 de setembro de 2013.

Prof. Dr. Ricardo Antônio Francisco Machado
Coordenador do Curso

Prof. Dr. Antônio Augusto Ulson de Souza
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Dr^a. Selene M. A. Guelli Ulson de Souza
Coorientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Agenor Furigo Júnior
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Dr^a. Débora de Oliveira
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Dr^a. Denise Esteves Moritz
Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico este trabalho aos meus
queridos familiares e amigos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dar saúde e força para vencer mais esta etapa na minha vida.

Aos meus orientadores Prof. Antônio Augusto Ulson de Souza e Prof^a. Selene Maria de Arruda Guelli Ulson de Souza, pela dedicação e orientação neste trabalho.

Ao Prof. Agenor pelos ensinamentos e contribuições ao trabalho.

Aos Professores do Departamento de Pós-Graduação em Engenharia Química, pela contribuição na minha formação.

A Universidade Federal de Santa Catarina pelo espaço físico e suporte fornecido.

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, pela oportunidade de realizar o mestrado.

A empresa Malwee[®] pela disponibilização da malha e reagentes necessários para o desenvolvimento deste trabalho, pelos ensaios de solidez realizados e por todo o apoio oferecido.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

À amiga e colega de pesquisa Crisleine Zottis dos Reis pelo aconselhamento e ajuda durante todo o mestrado.

À minha antiga colega de laboratório e amiga Franciele Regina Furlan pelas orientações e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Às graduandas Jamille Bazzo Scurupa e Joice Cristine Sapatieri pela ajuda na realização de parte deste trabalho.

Aos amigos do grupo LABSIN/LABMASSA pelos bons momentos.

A toda a minha família, em especial aos meus pais pelo apoio e amor incondicional.

E a todos que, embora não citados, de alguma forma contribuíram com o desenvolvimento deste trabalho.

A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas em ter novos olhos.

(Marcel Proust)

RESUMO

A presença de impurezas não celulósicas na fibra de algodão cru acarreta ao substrato têxtil dificuldade na absorção de água, o que ocasiona problemas de qualidade nos processos de acabamento, como o tingimento. A retirada destas impurezas é convencionalmente feita pela purga alcalina, utilizando o hidróxido de sódio a altas temperaturas. As condições severas do processo geram efluente com elevado pH e alto nível de DQO, além de ocasionar a degradação da celulose, resultando na diminuição da resistência das fibras. A biopurga enzimática, por sua vez, permite elevada especificidade na remoção das impurezas, não atacando a fibra celulósica e utilizando condições de processo menos severas de temperatura e pH. No presente trabalho foi investigada a utilização de enzimas combinadas, celulase (E.C. 3.2.1.4), pectinase (E.C. 4.2.2.2) e lipase (E.C. 3.1.1.3) no processo de biopurga de malha 100% algodão. Para isto, as enzimas foram caracterizadas quanto às suas atividades nas condições ótimas e nas condições propostas para o processo de biopurga, e na presença de um agente quelante. A influência do agente sequestrante no tratamento enzimático também foi analisada ao se estudar dois procedimentos distintos – com a adição do agente químico no início do processo e com a adição deste somente após 30 min de reação enzimática. O efeito de cada enzima e suas interações foi avaliado com o auxílio de um planejamento experimental e a caracterização da malha tratada (perda de massa, grau de alvura, grau de remoção de pectina, resposta ao posterior tingimento e hidrofiliidade). Para fins comparativos, realizou-se uma purga alcalina convencional. Os resultados mostram que o sequestrante não interferiu na atividade das enzimas. A biopurga com adição de sequestrante no início do processo e nas condições de pH 6,5 e temperatura 55 °C revelou que a combinação das três enzimas nos pontos máximos do planejamento experimental apresentou os melhores resultados – um grau de alvura de 24,99 Graus Berger, uma remoção de pectina de 87,47% e uma hidrofiliidade de 14,67 s. A comparação do tratamento enzimático com a lavagem alcalina por meio da caracterização das malhas, confirmou que a biopurga pode ser tão eficaz quanto o processo convencional.

Palavras-chave: biopurga, pectinase, celulase, lipase, algodão, purga alcalina.

ABSTRACT

The presence of non-cellulosic impurities in the grey cotton fiber leads to textile substrate difficulty in absorption of water, which causes quality problems in the finishing process, such as dyeing. The removal of these impurities is conventionally done by scouring, using sodium hydroxide at high temperatures. The severe conditions of the process generate an effluent with high pH and high level of COD, beyond causing degradation of the cellulose, resulting in decreased fiber strength. The enzymatic bioscouring in turn allows high specificity in the removal of impurities, not by attacking the cellulose fiber and using less severe process conditions of temperature and pH. In the present study was investigated the combined use of enzymes, cellulase (E.C. 3.2.1.4), pectinase (E.C. 4.2.2.2) and lipase (E.C. 3.1.1.3) in the bioscouring of 100% knitted cotton fabric. For this, the enzymes were characterized according to their activities in the optimal conditions and the proposed conditions for the bioscouring, and in the presence of a chelating agent. The influence of the chelating agent in the enzyme treatment was also analyzed by studying two different procedures – with the addition of the chemical agent in the begin of the process and with the addition of this only after 30 min of enzymatic reaction. The effect of each enzyme and their interactions was reported with the aid of an experimental design and characterization of treated fabric (weight loss, degree of whiteness, response to subsequent dyeing, degree of pectin removal, wettability). For comparative purposes was made a conventional scouring. The results show that the chelating agent did not affect the activities of the enzymes. The bioscouring with the addition of chelating agent in the begin of the process and conditions of pH 6,5 and temperature 55 °C showed that the combination of the three enzymes in the maximum points of the experimental design presented the best results – a degree whiteness of 24,99 Degrees Berger, a pectin removal of 87,47% and a wettability of 14,67 s. Comparison of enzymatic treatment with the alkaline wash through the knitted fabric characterization, confirmed that the bioscouring can be as effective as the conventional process.

Keywords: bioscouring, pectinase, cellulase, lipase, cotton, scouring.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Classificação das fibras têxteis.	31
Figura 2.2 – Estrutura morfológica esquemática da fibra de algodão. ...	33
Figura 2.3 – Estrutura da cadeia celulósica.	35
Figura 2.4 – Regiões cristalinas e amorfas em microfibrilas de celulose.	36
Figura 2.5 – Fluxograma do processo produtivo têxtil.	37
Figura 2.6 – Enzimas usadas em várias etapas do processo têxtil.	41
Figura 2.7 – Atuação das enzimas componentes da celulase.	42
Figura 2.8 – Atividade no substrato da celulase (exoglucanase) do <i>T. reesei</i> . A enzima possui um pequeno domínio de ligação ao substrato (CBD), um ligador flexível (azul escuro) e um grande domínio catalítico (rosa).	43
Figura 2.9 – Reações catalisadas por lipases.	44
Figura 2.10 – Mecanismo de ativação interfacial na presença de uma interface hidrofóbica.	45
Figura 2.11 – Diferentes tipos de pectinase e seu modo de ação na molécula de pectina.	48
Figura 3.1 – Esquema reacional de ART com ácido 3,5-dinitrosalicílico.	57
Figura 3.2 – Processo de purga alcalina.	61
Figura 3.3 – Processo de biopurga com adição de sequestrante após tratamento enzimático.	62
Figura 3.4 – Processo de biopurga com adição de sequestrante no início do tratamento enzimático.	62
Figura 3.5 – Espaço de cor CIELAB.	65
Figura 3.6 – Processo de tingimento.	65
Figura 3.7 – Lavagens posteriores ao tingimento.	66
Figura 4.1 – Comparação da atividade celulolítica da preparação enzimática Cellusoft® nas condições recomendadas e nas condições do processo de biopurga.	75
Figura 4.2 – Comparação da atividade lipolítica da preparação enzimática Lipolase® nas condições recomendadas e nas condições do processo de biopurga.	75
Figura 4.3 – Comparação da atividade pectinolítica da preparação enzimática BioPrep® nas suas condições recomendadas e nas condições do processo de biopurga.	76
Figura 4.4 – Comparação da atividade celulolítica da preparação enzimática Cellusoft® na presença de sequestrante e na ausência de sequestrante (T = 55 °C e pH = 6,5).	77

Figura 4.5 – Comparação da atividade lipolítica da preparação enzimática Lipolase® na presença de sequestrante e na ausência de sequestrante (T = 55 °C e pH = 6,5).	78
Figura 4.6 – Comparação da atividade pectinolítica da preparação enzimática BioPrep® na presença de sequestrante e na ausência de sequestrante (T = 55 °C e pH = 6,5).	78
Figura 4.7 – Resultado da perda de massa nos processos de preparação da malha de algodão.....	84
Figura 4.8 – Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre a perda de massa das malhas no processo de biopurga.	86
Figura 4.9 – Resultado do ensaio de grau de alvura para a malha crua e as malhas tratadas enzimaticamente ou por lavagem alcalina.	87
Figura 4.10 – Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre o grau de alvura das malhas após o processo de biopurga.....	88
Figura 4.11 – Resultado do ensaio de determinação de diferença de cor após o tingimento da malha crua e das malhas biopurgadas (planejamento experimental), tendo-se como padrão a malha tingida tratada previamente por purga convencional.	89
Figura 4.12 – Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre o grau de cor obtido após o tingimento com as malhas tratadas pelo processo de biopurga.	90
Figura 4.13 – Medidas de cor realizadas no espaço CIELAB – eixo cromático (a* e b*) e luminosidade (L*).	91
Figura 4.14 – Resultado do ensaio de solidez à água clorada do tingimento realizado nas malhas tratadas e na malha crua.....	93
Figura 4.15 – Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre a nota de solidez à água clorada das malhas tingidas após o tratamento enzimático.	94
Figura 4.16–Resultados dos ensaios de determinação do grau de remoção de pectina nas malhas tratadas pelo processo de biopurga e de purga convencional.	95
Figura 4.17 – Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre o grau de remoção de pectina nas malhas tratadas pelo processo de biopurga.....	97
Figura 4.18 – Resultados dos ensaios de hidrofiliidade das malhas tratadas pelo processo enzimático (planejamento experimental) e por purga convencional.	99
Figura 4.19 – Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre a hidrofiliidade das malhas tratadas pelo processo de biopurga.	100
Figura 4.20 – Comparativo entre os resultados de hidrofiliidade (s) e de grau de remoção de pectina (%) das malhas tratadas enzimaticamente	

(pontos azuis) e da malha tratada por lavagem alcalina (ponto vermelho).	102
Figura 4.21 – Relação entre os valores observados e preditos do modelo linear para a hidrofiliidade da malha biopurgada.	106
Figura 4.22 – Superfície de resposta para a hidrofiliidade em função da atividade das enzimas celulase e pectinase.	106
Figura 4.23 – Curva de contorno para a hidrofiliidade em função da atividade das enzimas celulase e pectinase.	107
Figura 4.24 – Superfície de resposta para a hidrofiliidade em função da atividade das enzimas lipase e pectinase.	107
Figura 4.25 – Curva de contorno para a hidrofiliidade em função da atividade das enzimas lipase e pectinase.	108
Figura 4.26 – Superfície de resposta para a hidrofiliidade em função da atividade das enzimas celulase e lipase.	108
Figura 4.27 – Curva de contorno para a hidrofiliidade em função da atividade das enzimas celulase e lipase.	109
Figura A.1 – Curva de calibração para análise de açúcares redutores totais nos ensaios de atividade celulolítica descrita na seção 3.2.1.3.....	125
Figura A.2 – Curva de calibração para análise de açúcares redutores totais nos ensaios de atividade pectinolítica descrita na seção 3.2.1.5.....	126
Figura A.3 – Curva de calibração para determinação da quantidade de proteínas pelo Método de Bradford (1976).	126
Figura A.4 – Curva de calibração do azul de metileno para determinação do grau de pectina conforme item 3.2.4.3.	127
Figura A.5 – Ficha técnica do corante reativo Vermelho Tiafix AF/B....	129
Figura A.6 – Ficha técnica do corante reativo Marinho Tiafix AF.	130

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Composição aproximada da fibra de algodão e da sua camada cuticular.....	34
Tabela 2.2 – Campo de aplicações de enzimas.	40
Tabela 2.3 – Classificação das enzimas pectinolíticas.	47
Tabela 3.1 – Caracterização do substrato têxtil.....	53
Tabela 3.2 – Características das enzimas utilizadas no trabalho.	54
Tabela 3.3 – Principais reagentes químicos utilizados nos procedimentos experimentais.	55
Tabela 3.4 – Produtos comerciais utilizados.	55
Tabela 3.5 – Produtos utilizados no processo de tingimento.	66
Tabela 3.6 – Valores das atividades máximas, mínimas e médias das variáveis independentes do planejamento estatístico.	68
Tabela 4.1 – Valores obtidos para a quantidade de proteína total nas preparações enzimáticas comerciais.....	71
Tabela 4.2 – Atividade principal e secundária dos caldos enzimáticos.....	72
Tabela 4.3 – Atividade específica das enzimas.	73
Tabela 4.4 – Comparação entre os resultados dos processos de lavagem enzimática com a adição de sequestrante no início do procedimento e com a adição de sequestrante após 30 min de reação.....	80
Tabela 4.5 – Caracterização das malhas tratadas por biopurga, conforme planejamento experimental, das malhas tratadas por purga convencional e da malha crua.....	82
Tabela 4.6 – Tempo de umectação apresentado pelas malhas tratadas previamente pelo processo de biopurga (planejamento experimental)...	98
Tabela 4.7 – Parâmetros estatísticos para o planejamento fatorial 2^3 ...	104
Tabela 4.8 – Análise de variância dos valores de hidrofiliidade das malhas biopurgadas.	105

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação (3.1) – Equação para o cálculo da atividade enzimática da celulase.....	58
Equação (3.2) – Equação para o cálculo da atividade enzimática da lipase	59
Equação (3.3) – Equação para o cálculo da atividade enzimática de pectinase.....	59
Equação (3.4) – Equação para a quantificação da perda de massa.....	63
Equação (3.5) – Equação do modelo estatístico	68
Equação (4.1) – Equação do modelo matemático empírico	104

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

a^*	= Eixo do espaço de cor, correspondente às cores vermelho (valores positivos) e verde (valores negativos)
A	= Atividade enzimática [U/mL]
AATCC	= American Association of Textile Chemists and Colorists
ABIT	= Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção
ABNT	= Associação Brasileira de Normas Técnicas
A_{bs}	= Absorbância
ART	= Açúcar redutor total
b^*	= Eixo do espaço de cor, correspondente às cores amarelo (valores positivos) e azul (valores negativos)
$^{\circ}\text{Be}$	= Graus Baumé [g/L]
$^{\circ}\text{Berger}$	= Unidade de medida do grau de branco
BSA	= Albumina de soro bovino
βG	= β -glucosidade, celobiase
C	= Concentração de açúcar [$\mu\text{mol/mL}$]
CBD	= Cellulose Binding Domain
CBH I	= Celobiohidrolase I
CBH II	= Celobiohidrolase II
CD	= <i>Catalytic Domain</i>
CIELAB	= Sistema de medida de cor que utiliza o espaço tridimensional L^* , a^* e b^*
CMC	= Carboximetilcelulose
CMCase	= Carboximetilcelulase
CV	= Coeficiente de Variação
d	= Caminho óptico [cm]
D	= Diluição final
D_E	= Diluição da amostra
DBO	= Demanda bioquímica de oxigênio
ΔE^*ab	= Diferença de cor em relação a um padrão
DNS	= Ácido 3,5 dinitrosalicílico
DQO	= Demanda química de oxigênio
ε	= Coeficiente de extinção molar [$\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$]
E.C.	= Enzyme Commission
EDTA	= Ácido etilenodiaminotetracético
EG	= Endoglucanase
FIESC	= Federação das Indústrias do Estado de Santa Catarina
L^*	= Luminância

LABMASSA	= Laboratório de Transferência de Massa
LABSIN	= Laboratório de Simulação Numérica de Sistemas Químicos
LAFITE	= Laboratório de Ensaio Químicos Têxteis
M	= Molar [mol/L]
m_1	= Massa do corpo de prova antes do tratamento [g]
m_2	= Massa do corpo de prova após o tratamento [g]
NC-IUBMB	= <i>Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology</i>
Ne	= Sistema inglês de titulação de fios [jardas/libra]
P.A.	= <i>Pro analysis</i>
PE	= Pectinesterase
PG	= Poligalacturonase
PGL	= Pectatoliase
PL	= Pectina liase
PMG	= Polimetilgalactunorase
pH	= Potencial hidrogênioônico
PIB	= Produto Interno Bruto
pNPP	= p-nitrofenilpalmitato
RB	= Relação de banho
rpm	= Rotação por minuto
SENAI	= Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial
T	= Tempo [min]
T	= Temperatura [°C]
Tris	= Tris(hidroximetil)aminometano
U	= Unidade de atividade enzimática [$\mu\text{mol}/\text{min}$]
V_E	= Volume da solução de enzima [mL]
V_T	= Volume total [mL]
W_1	= Massa do corpo de prova antes do tratamento [g]
W_2	= Massa do corpo de prova após o tratamento [g]

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	27
1.1.	OBJETIVOS.....	28
1.1.1.	Objetivo Geral.....	28
1.1.2.	Objetivos Específicos.....	28
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
2.1.	Indústria Têxtil	29
2.1.1.	Fibras Têxteis.....	30
2.1.1.1.	Algodão.....	31
2.1.1.1.1.	Algodão orgânico.....	31
2.1.1.1.2.	Estrutura morfológica do algodão.....	32
2.1.1.1.3.	Composição química do algodão.....	33
2.1.1.1.4.	Celulose	35
2.1.2.	Processo Produtivo Têxtil	36
2.1.2.1.	Purga convencional.....	38
2.2.	Enzimas	38
2.2.1.	Enzimologia aplicada à indústria têxtil	40
2.2.1.1.	Celulase.....	41
2.2.1.2.	Lipase.....	44
2.2.1.3.	Pectinase	47
2.2.2.	Processos Biotecnológicos na Indústria Têxtil.....	49
2.2.2.1.	Biopurga.....	49
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	53
3.1.	MATERIAIS	53
3.1.1.	Substrato Têxtil	53
3.1.2.	Enzimas	54
3.1.3.	Corantes.....	54
3.1.4.	Reagentes	54
3.1.5.	Equipamentos.....	56
3.2.	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	56
3.2.1.	Estudo das Preparações Enzimáticas.....	56
3.2.1.1.	Determinação da Quantidade de Proteínas	56
3.2.1.2.	Determinação de Açúcares Redutores	57
3.2.1.3.	Determinação da Atividade da Celulase	57
3.2.1.4.	Determinação da Atividade da Lipase	58
3.2.1.5.	Determinação da Atividade da Pectinase.....	59
3.2.1.6.	Avaliação da influência do sequestrante na atividade das enzimas	60
3.2.2.	Pré-tratamento da Malha de Algodão.....	60
3.2.2.1.	Purga Alcalina.....	60

3.2.2.2.	Purga Enzimática	61
3.2.3.	Avaliação da Malha Tratada	63
3.2.3.1.	Hidrofilidade.....	63
3.2.3.2.	Perda de Massa	63
3.2.3.3.	Determinação de Pectina Removida	64
3.2.3.4.	Grau de Branco.....	64
3.2.3.5.	Avaliação da Cor Após Processo de Tingimento	64
3.2.3.5.1.	Tingimento	65
3.2.3.6.	Solidez	66
3.2.3.6.1.	Solidez da Cor à Lavagem.....	67
3.2.3.6.2.	Solidez da Cor à Luz	67
3.2.3.6.3.	Solidez da Cor à Água Clorada	67
3.3.	PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO	68
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
4.1.	ESTUDO DAS PREPARAÇÕES ENZIMÁTICAS	71
4.1.1.	Determinação da Quantidade de Proteínas	71
4.1.2.	Determinação das Atividades Enzimáticas	72
4.1.2.1.	Atividade observada nas condições do processo enzimático.....	74
4.1.3.	Avaliação da Influência do Sequestrante na Atividade das Enzimas	76
4.2.	CARACTERIZAÇÃO DAS MALHAS TRATADAS.....	79
4.2.1.	Avaliação da influência do sequestrante nas características posteriores ao tratamento enzimático	79
4.2.2.	Caracterização da malha purgada por lavagem alcalina ou biopurga	81
4.2.2.1.	Perda de Massa	83
4.2.2.2.	Grau de Alvura	86
4.2.2.3.	Grau de Tingimento.....	89
4.2.2.4.	Solidez	92
4.2.2.5.	Grau de Remoção de Pectina	94
4.2.2.6.	Hidrofilidade.....	97
5.	CONCLUSÕES	111
6.	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	113
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115
	APÊNDICE.....	125
	APÊNDICE A – Curvas de Calibração	125
	ANEXOS	129

1. INTRODUÇÃO

No processamento têxtil convencional a úmido, o artigo cru tem que passar por uma série de tratamentos químicos antes de se transformar em artigo acabado (MOJSOV, 2012). Estes tratamentos são frequentemente caracterizados por altas concentrações de produtos químicos, pH alcalino ou ácido e temperaturas elevadas que acarretam em um alto consumo de energia e na geração de um efluente de alta carga poluidora (CAVACO-PAULO; GÜBITZ, 2003). Todos estes fatores, junto ao elevado consumo de água, apresentam a tradicional indústria têxtil como uma indústria de alto impacto ambiental.

Devido ao aumento das restrições ambientais e governamentais, e aos custos crescentes da água e de energia, estudos estão sendo realizados para substituir os processos químicos têxteis convencionais por bioprocessos que sejam ambientalmente sustentáveis e economicamente atraentes. Biocatálise provou ser uma ferramenta flexível e confiável no processamento têxtil e uma tecnologia promissora para o requerimento dos requisitos futuros esperados (CAVACO-PAULO; GÜBITZ, 2003; MOJSOV, 2012).

O processo biotecnológico introduzido mais recentemente na indústria têxtil é o de lavagem do algodão cru. Este substrato têxtil possui impurezas não-celulósicas que atribuem um caráter hidrofóbico à fibra. A remoção destas impurezas é feita convencionalmente por um processo de lavagem com hidróxido de sódio a altas temperaturas e é conhecida como purga. Já a remoção feita através da aplicação de enzimas denomina-se biopreparação ou biopurga e apresenta vantagens como condições de processo, temperatura e pH, mais brandas, o que acarreta um menor consumo de energia e um efluente de menor carga poluidora (FURLAN, 2012; MOJSOV, 2012).

O uso de enzimas no processo melhora a qualidade das fibras, uma vez que as enzimas são altamente específicas, preservando a estrutura e a força da fibra (HALIM; FAHMY; FOUADA, 2008).

Uma grande variedade de estudos tem sido realizada para compreender os efeitos da ação das enzimas na biopurga do algodão. Esses trabalhos avaliam tanto a utilização de apenas uma enzima, como a combinação entre elas. As enzimas mais comumente estudadas são as pectinases, as celulases, as proteases e as lipases (MOJSOV, 2012).

Grande parte destes trabalhos utiliza como objeto de estudo o tecido felpudo 100% algodão. Este substrato têxtil possui características diferentes da malha 100% algodão e, essas distinções influenciam na ação das enzimas e no processo de biopurga em geral. Assim, este

trabalho objetiva estudar um *pool* enzimático e desenvolver um processo de biopurga específico para a malha 100% algodão.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo principal o estudo das enzimas celulase, lipase e pectinase, provenientes de produtos comerciais e a determinação da melhor combinação destas enzimas para a ação simultânea no processo de biopurga de malha de algodão.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Estudar as enzimas celulase, lipase e pectinase quanto à sua atividade e quantidade de proteínas;
- Avaliar a influência do agente sequestrante do processo de biopurga na atividade das enzimas;
- Determinar a melhor combinação entre as enzimas celulase, lipase e pectinase para a aplicação no processo de biopurga através de um planejamento experimental que avalia as respostas ao tratamento quanto à remoção de substâncias pécnicas, à hidrofiliidade, à perda de massa, ao grau de alvura e ao posterior tingimento;
- Quantificar e comparar os resultados das malhas tratadas enzimaticamente com o processo de purga convencional.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os processos enzimáticos utilizados no tratamento do algodão requerem um embasamento teórico acerca das propriedades da fibra de algodão, bem como sua composição, e um conhecimento das características das enzimas passíveis de utilização nestes processos.

Neste capítulo será apresentada uma revisão da literatura sobre o cenário em que se encontra a indústria têxtil, aprofundando sobre o algodão e a biotecnologia aplicada no processamento deste, destacando as enzimas celulase, lipase e pectinase.

2.1. Indústria Têxtil

O setor têxtil representa um dos setores industriais mais antigos do país e do mundo, sendo um dos precursores no período da Revolução Industrial. Além de sua importância histórica, a indústria têxtil manteve sua tradição, desempenhando um papel importante para muitos países ao ser responsável por grande parte da economia dos países desenvolvidos e carro-chefe nos países emergentes.

No Brasil, este setor representa 5,5% do PIB da indústria de transformação, com 30 mil empresas o país assume o posto de 5º maior parque têxtil do mundo. É o segundo maior empregador da indústria de transformação com 1,7 milhão de empregos diretos. A região sudeste é destaque neste setor, seguida pelas regiões sul e nordeste. Os estados de Santa Catarina e São Paulo são os maiores polos têxteis em volume de produção no Brasil (ABIT, 2011).

O complexo têxtil de Santa Catarina é composto por nove mil indústrias e 172,8 mil trabalhadores. Está localizado no Vale do Itajaí, mais especificamente nos municípios de Blumenau e Brusque, e no norte e nordeste do estado, nos municípios de Jaraguá do Sul e Joinville (FIESC, 2013).

Até 1950 este setor não apresentou grande evolução do ponto de vista tecnológico. Porém após esta década, com a incorporação de outras áreas como a química, mudanças significativas ocorreram, tanto no âmbito produtivo como comercial. Isto foi devido principalmente a fatores como: o acirramento da concorrência, a incorporação de novos métodos (*just-in-time*) e novas tecnologias (microeletrônica) no processo produtivo, o desenvolvimento de novos produtos (fibras sintéticas) e a segmentação de cadeia (migração para países com custos de produção mais baixos) (UEDA, 2006).

O setor têxtil produz uma diversidade de produtos incluindo artigos de mesa, banho, cortinas, tapetes, jeans, entre outros. Cada um destes produtos passa por processamentos distintos, gerando uma gama considerável de fluxos produtivos (FURLAN, 2008).

Em virtude de seu grande volume de produção, a indústria têxtil gera uma quantidade significativa de resíduos (sólidos, líquidos e gasosos). Porém, é o seu efluente líquido que possui características muito adversas para o meio ambiente em decorrência da alta gama de compostos químicos utilizados em seus processos (ALY; MOUSTAFA; HEBEISH, 2004). Esse cenário adicionado ao alto consumo de energia e água apresenta a tradicional indústria têxtil como um setor de alto impacto ambiental (KIRK; BORCHERT; FUNGLSANG, 2002).

Os processos e despejos gerados pela indústria têxtil variam à medida que a pesquisa e o desenvolvimento produzem novos reagentes, novos processos e novas técnicas, e também de acordo com a demanda do consumo por outros tipos de tecidos e cores.

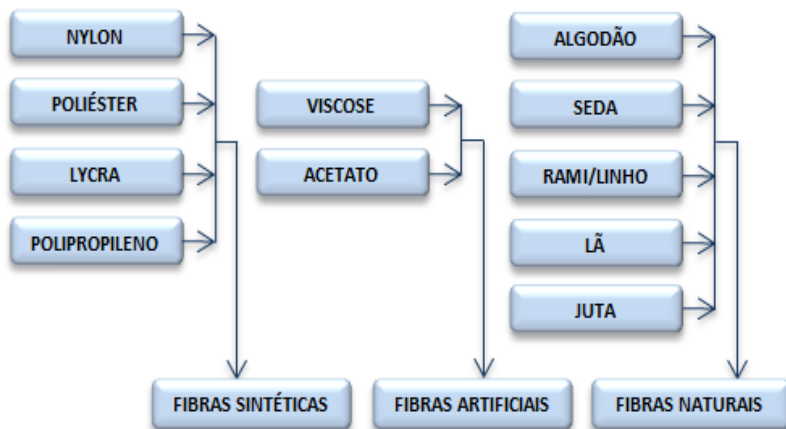
Uma linha alternativa da indústria têxtil que vem se desenvolvendo são os processos enzimáticos. Eles têm sido introduzidos no processamento têxtil de modo a satisfazer os padrões de qualidade do produto e diminuir a alta necessidade de energia, água e produtos químicos, gerando uma carga menor de efluente, sendo este mais brando.

2.1.1. Fibras Têxteis

Segundo Araújo e Castro (1986), fibras têxteis são materiais filiformes caracterizados pela flexibilidade, finura e grande comprimento em relação à dimensão transversal máxima.

Estes materiais são classificados conforme sua origem, sendo compreendidos em fibras de origem natural (vegetal ou animal) e fibras manufaturadas. Dentre as fibras naturais, destacam-se a lã e o algodão, este último por suas características de toque e absorção, além de seu preço acessível. Já as fibras manufaturadas que são obtidas por processos industriais, podem ser divididas em sintéticas – polímeros produzidos por síntese química – e artificiais – polímeros naturais transformados por ação de reagentes químicos (ARAÚJO; CASTRO, 1986).

Figura 2.1 – Classificação das fibras têxteis.



Fonte: PEREIRA, 2013

2.1.1.1. Algodão

O algodão é a forma mais pura de celulose encontrada na natureza, sendo uma fibra de origem vegetal que constitui o revestimento piloso do fruto do algodoeiro, planta do gênero *Gossypium*, da família das Malváceas (LEWIN, 2007; SHORE, 1995). É a fibra celulósica mais importante e também a mais utilizada de todas as fibras têxteis atuais (VASCONCELOS, 2005).

2.1.1.1.1. Algodão orgânico

Algodão orgânico é obtido em sistemas sustentáveis, mediante o manejo e a proteção dos recursos naturais, sem a utilização de agrotóxicos, adubos químicos ou outros insumos prejudiciais à saúde humana, animal e ao meio ambiente, mantendo e recuperando a fertilidade e a vida dos solos e a biodiversidade (FERREIRA, 2012).

A produção de têxteis ecológicos, sobretudo aqueles que empregam o algodão orgânico como matéria-prima, tem se expandido muito nos últimos anos com o aumento do interesse pelo consumo de produtos sustentáveis, reflexo da preocupação dos consumidores com a preservação do meio ambiente (LIMA; SOUZA, 2013).

A produção orgânica de algodão, que pode incluir o cultivo de variedades naturalmente coloridas, ainda é pequena, porém está conduzindo a uma reorganização do sistema produtivo convencional. As

instituições que regulamentam o processo e as organizações que certificam o produto desempenham papel importante, promovendo e assegurando a diferenciação do produto, reduzindo a assimetria de informações entre compradores e vendedores, permitindo maior agregação de valor ao produto (SOUZA, 1998).

2.1.1.1.2. Estrutura morfológica do algodão

Embora haja amplo conhecimento prático no processamento do algodão, uma compreensão mais completa acerca da estrutura das fibras pode melhorar a sua exploração. Destaca-se ainda o uso da engenharia genética ou bioquímica, para aprimorar as propriedades do algodão ou até mesmo desenvolver novas propriedades (WAKELYN, 2006).

A fibra de algodão é uma célula biológica, com uma estrutura de camadas múltiplas que são quimicamente e estruturalmente diferentes. Esta estrutura está representada na Figura 2.2 e as camadas podem ser diferenciadas em cutícula, parede primária, parede secundária e lúmen (MOJSOV, 2012).

A cutícula é a camada mais externa da fibra, sendo constituída por componentes não celulósicos como ceras, gorduras, proteínas e pectinas (FURLAN, 2012). É uma camada fina e amorfa que representa 2,5% do peso da fibra (MOJSOV, 2012).

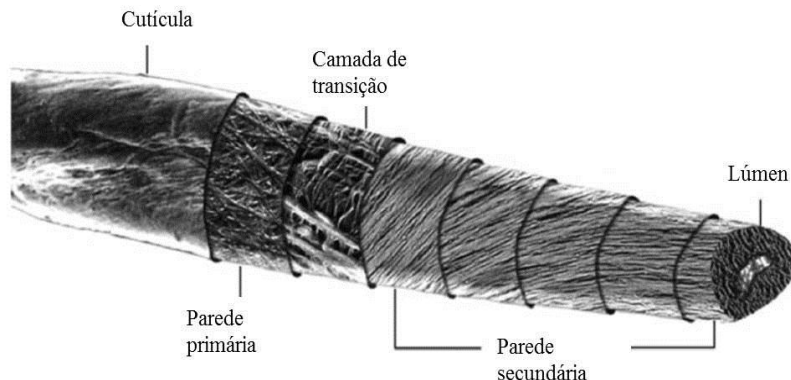
As paredes primárias e secundárias têm diferentes graus de cristalinidade, bem como diferentes orientações da cadeia molecular (MOJSOV, 2012).

A parede primária é majoritariamente composta por celulose (>50%), contendo também proteínas, pectinas e ceras. As fibrilas exteriores desta camada estão paralelas ao eixo da fibra e formam com as interiores uma rede aproximadamente ortogonal. A parede primária possui 0,1 μm de espessura e compreende apenas cerca de 1% da espessura total da fibra de algodão, tendo um índice de cristalinidade de 30% (LOSONCZI, 2004; MOJSOV, 2012; SILVA, 2006).

A parede secundária é essencialmente celulósica, sendo a mais espessa e cristalina de todas. Compreende 91,5% do peso da fibra e possui um índice de cristalinidade de 70%, sendo a responsável pela resistência mecânica das fibras. É organizada em microfibrilas e macrofibrilas, que são mantidas unidas por fortes interações pontes de hidrogênio. É constituída de camadas concêntricas, S_1 externa e S_2 interna. Na camada S_1 , as fibrilas estão dispostas helicoidalmente ao redor da fibra, formando com o seu eixo um ângulo de 20 a 35°. O mesmo acontece na camada S_2 , com a diferença que os feixes de fibrilas

têm inversões no sentido do enrolamento, podendo formar um ângulo de 20-30° (FERREIRA, 2012a; MOJSOV, 2012).

Figura 2.2 – Estrutura morfológica esquemática da fibra de algodão.



Fonte: LEWIN, 2007.

O lúmen apresenta-se sob a forma de um canal central das fibras e só pode ser observada em fibras de algodão muito maduras. Nesta camada a disposição do feixe de fibrilas é similar a S_1 , sendo assim distinto da camada S_2 . É o que resta da célula inicial que originou a fibra e, por isso, contém restos de protoplasma, sais minerais e corantes responsáveis pela cor creme do algodão cru (SILVA, 2006).

2.1.1.1.3. Composição química do algodão

A fibra de algodão crua, após a limpeza mecânica, possui uma composição química de aproximadamente 95% de celulose e algumas impurezas não celulósicas, tais como proteínas, aminoácidos, outros componentes nitrogenados, ceras, substâncias pécicas, ácidos orgânicos, açúcares, sais inorgânicos e uma pequena quantidade de pigmentos (Tabela 2.1) (LEWIN, 2007).

Os componentes não celulósicos da fibra encontram-se principalmente na cutícula, na parede celular primária e no lúmen. Variações nestes constituintes surgem devido a diferenças na maturidade das fibras de algodão, na variedade da planta e nas condições ambientais do cultivo (solo, clima, etc.) (WAKELYN, 2006).

Esses materiais não celulósicos criam uma barreira física que protege a fibra do meio ambiente ao longo do desenvolvimento da

planta (MOJISOV, 2012). As ceras e pectinas são responsáveis pelo caráter hidrofóbico do algodão cru que impede um tingimento uniforme e eficiente, bem como um acabamento do artigo, processos que são realizados sob condições aquosas (LIN e HSIEH, 2001).

Antes de o algodão poder ser usado como fibra têxtil, é necessário remover a cutícula para assegurar a absorção das soluções de corante e dos outros reagentes durante os processos têxteis (SILVA, 2006).

Tabela 2.1 – Composição aproximada da fibra de algodão e da sua camada cuticular.

Constituintes	Composição em base seca (%)		
	Fibra		Cutícula
	Quantidade típica	Faixa	
Celulose	94,0	88,0 – 96,0	-
Proteína (% N X 6,25)^a	1,3	1,1 – 1,9	30,4
Substâncias pécticas	0,9	0,7 – 1,2	19,6
Cinzas	1,2	0,7 – 1,6	6,5
Cera	0,6	0,4 – 1,0	17,4
Açúcares totais	0,3	0,1 – 1,0	-
Ácidos orgânicos	0,8	0,5 – 1,0	-
Pigmentos	traços	-	-

^a Método padrão de estimativa da porcentagem de proteína pelo teor de nitrogênio (%N)

Fonte: MONJISOV, 2012; LEWIN, 2007.

Os sais inorgânicos (fosfatos, carbonatos e óxidos) e os sais de ácidos orgânicos presentes na fibra crua são apresentados como cinzas. Durante a produção do algodão, a planta absorve potássio e outros metais (cálcio, magnésio, sódio, ferro, manganês, cobre e zinco) como nutrientes e estes metais podem ser encontrados na fibra crua. A presença de metais no algodão cru pode acarretar em problemas nos processos de branqueamento e tingimento. A decomposição do peróxido, utilizado na etapa de branqueamento, pode ser catalisada por íons de ferro e de cobre, o que pode induzir danos nas fibras. Sais insolúveis de cálcio e magnésio podem influenciar na qualidade do

tingimento, sendo o efeito de complexação dos corantes o pior problema pelas consequências negativas na igualização, nuance de cor e às vezes na solidez à fricção. A fim de se evitar estes problemas é feito o uso de sequestrantes nos processos de preparação e tingimento (LOSONCZI, 2004; PICOLLI, 2008).

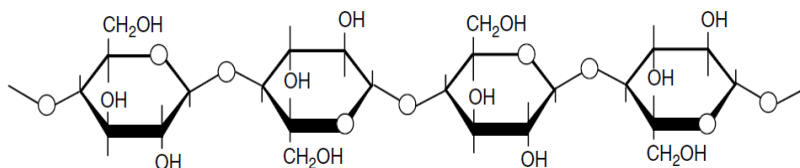
Uma das impurezas mais resistentes presente junto às fibras de algodão são os fragmentos de casca de sementes. Estes fragmentos são normalmente pretos ou marrons escuros e oriundos do processo de descaroçamento do algodão (LOSONCZI, 2004).

2.1.1.1.4. Celulose

O algodão é composto quase inteiramente por celulose. A unidade repetitiva da celulose é composta por duas moléculas de glicose eterificadas por ligações β -1,4-glicosídicas. Esta unidade repetitiva, conhecida como celobiose, contém seis grupos hidroxila que estabelecem interações do tipo ligações de hidrogênio intra e intermolecular. Devido a essas ligações de hidrogênio há uma forte tendência de a celulose formar cristais que a tornam completamente insolúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos (SILVA et al., 2009).

As sucessivas unidades de glicose apresentam uma rotação de 180° em torno do eixo da molécula, o que torna a cadeia polimérica linear (MEDVE, 1997).

Figura 2.3 – Estrutura da cadeia celulósica.

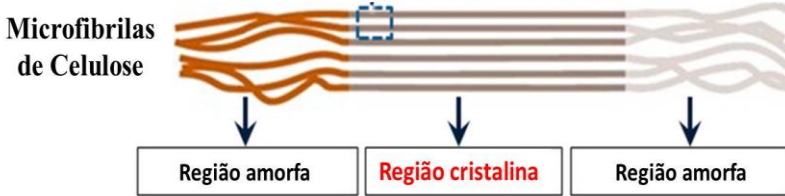


Fonte: LEWIN, 2007.

A celulose é constituída por regiões cristalinas que variam em complexidade e comprimento que são ligadas por regiões amorfas, menos organizadas. O grau de cristalinidade da celulose varia de acordo com sua origem e processamento, sendo que o algodão possui em torno de 70% de cadeias cristalinas e 30% de regiões amorfas (MOJSOV, 2012; PICOLLI, 2008). Quanto maior a cristalinidade, maior será a densidade, rigidez e resistência à tração das fibras, contudo menor a

reatividade e a capacidade de absorção de solventes (ARANTES; SANDLER, 2010).

Figura 2.4 – Regiões cristalinas e amorfas em microfibrilas de celulose.



Fonte: NERALLA, 2012.

Apesar da sua simplicidade química, a diversidade de origem e de processamentos tecnológicos subsequentes a que a biomassa celulósica é sujeita, conduz a uma complexa gama de formas físicas de celulose. A descrição destes substratos inclui propriedades como o tamanho, a forma, a porosidade, o grau de polimerização, a área superficial, a associação com compostos não celulósicos, a conformação molecular e cristalinidade, todos eles relevantes para o processo de hidrólise (BEGUIN; AUBERT, 1994).

2.1.2. Processo Produtivo Têxtil

Segundo Leão et al. (2002), a cadeia têxtil tem seu processo produtivo comumente estruturado com a matéria-prima encaminhada para fiação, seguindo para a tecelagem plana ou malharia e, por último, para o acabamento, abastecendo o setor de confecção.

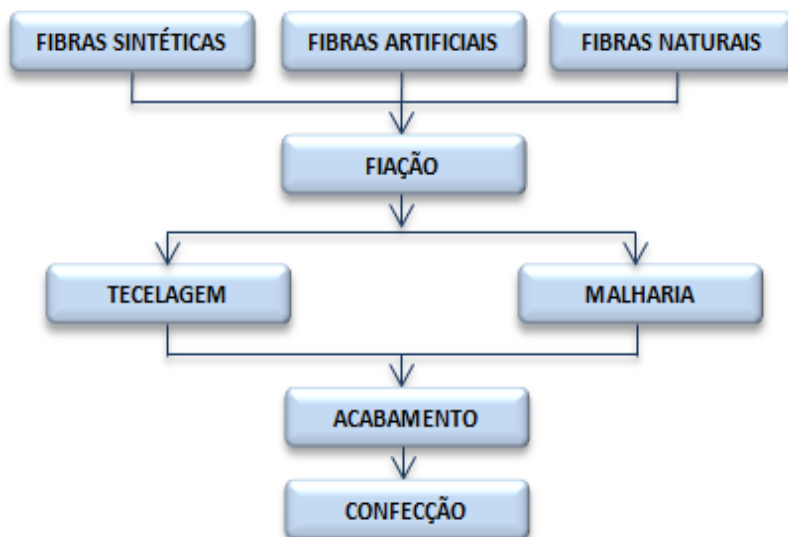
O processo de produção de fios compreende diversas operações por meio das quais as fibras são abertas, limpas e orientadas em uma mesma direção, paralelizadas e torcidas de modo a se prenderem umas às outras por atrito.

A tecelagem e a malharia é a etapa de transformação dos fios em tecidos planos e malhas, respectivamente. Estes dois são diferenciados pela forma de entrelaçamento dos fios que compõe o tecido.

Os tecidos planos são produzidos em equipamentos denominados teares, onde os fios de trama e urdume são entrelaçados ortogonalmente. Já na tecelagem de malhas, o tecido é formado pelo entrelaçamento de um ou mais conjunto de fios através de laçadas, nas quais os fios não formam ângulos ortogonais entre si.

A etapa de acabamento, conhecida também como beneficiamento têxtil, busca melhorar certas propriedades que até esta então, não tinham sido consideradas como essenciais. Entre elas estão o aspecto, brilho, toque, resistência, estabilidade dimensional, etc. (ARAÚJO; CASTRO, 1986).

Figura 2.5 – Fluxograma do processo produtivo têxtil.



Fonte: PEREIRA, 2013.

Segundo Leão et al. (2002), o beneficiamento pode ser separado em três etapas:

- Beneficiamento primário: o tecido é preparado para as etapas subsequentes;
- Beneficiamento secundário: o tecido é tingido ou estampado;
- Beneficiamento terciário: compreende uma série de processos que objetivam conferir ao material melhor estabilidade dimensional, melhor toque e características especiais como, por exemplo, impermeabilização à água.

Muitas das operações envolvidas no beneficiamento têxtil, sobretudo as de tratamento prévio e de tingimento, podem ser efetuadas não só em tecido e malha, como em rama, em fio ou mesmo após a confecção (ARAÚJO; CASTRO, 1986).

A indústria têxtil utiliza vários produtos químicos em seus diferentes processos, como purga, branqueamento, lavagem *denim*, etc. Estes produtos químicos acarretam em um efluente de alta carga poluente e, em decorrência de alguns deles possuírem caráter corrosivo, podem danificar os equipamentos e o próprio tecido (ALY et al., 2004).

2.1.2.1. Purga convencional

As fibras de algodão contêm aproximadamente 6 a 10% de impurezas naturais cujo conteúdo depende da variedade do algodão e do ambiente de cultivo. Entre estas impurezas estão as pectinas, gorduras e ceras, proteínas, açúcares e cinzas, bem como outros materiais. A presença destes faz com que fibra de algodão cru tenha baixa hidrofiliabilidade, o que causará alguns problemas de qualidade nos processos subsequentes de tingimento e finalização do artigo (KALANTZI et al., 2008; WANG, 2007).

Com a finalidade de se obter um substrato têxtil com maior hidrofiliabilidade e menor concentração de impurezas celulósicas é que se realiza a purga alcalina. Convencionalmente, o processo é realizado através do tratamento do fio ou tecido com hidróxido de sódio a altas temperaturas, de 70 a 90 °C.

Após a conclusão da purga, o artigo deve ser enxaguado e neutralizado, sendo utilizado um grande volume de água no processo (EINSCHLAG, 2011).

Apesar de a lavagem alcalina ser eficaz e o custo do hidróxido de sódio baixo, o processo é dispendioso, pois ele consome grandes quantidades de energia, água e agentes auxiliares (MOJSOV, 2012).

O processo de pré-tratamento convencional é problemático sob o ponto de vista ambiental devido ao elevado pH e alto nível de DQO e DBO dos efluentes têxteis, além do alto consumo de energia. Por sua vez, a celulose é susceptível a danos de oxidação oriunda das condições do tratamento alcalino, o que pode resultar na perda de peso e na diminuição da resistência à tração dos tecidos (KALANTZI et al., 2008).

2.2. Enzimas

As enzimas são proteínas que atuam como biocatalisadores, apresentando alta capacidade catalítica e seletividade específica sobre o substrato (CALADO; DILLON; SALGUEIRO, 2007).

Em comparação com catalisadores químicos, as enzimas são muito mais eficientes. As reações enzimáticas ocorrem em condições mais brandas de pH e temperatura e em decorrência da sua alta especificidade, nestas reações raramente há a formação de subprodutos.

Algumas enzimas exigem a presença de moléculas de proteína, conhecidas como cofatores, a fim de funcionar como catalisadores (CAVACO-PAULO; GÜBITZ, 2003).

As enzimas têm um pH e temperatura característicos, nos quais a sua atividade é máxima. Geralmente elas são ativas em temperaturas amenas, sendo que acima de certa temperatura a enzima é desnaturada. Os valores de pH extremos influenciam as interações eletrostáticas no interior da enzima, conduzindo à inativação da enzima (EINSCHLAG, 2011).

As enzimas são classificadas e codificadas pela NC-IUBMB (Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology) de acordo com a reação catalisada. A nomenclatura utiliza a abreviação E.C. (Enzyme Commission) seguida de até quatro dígitos referente à classe e subclasses a que pertence a enzima (OLIVEIRA, 2007).

Grande parte das enzimas sintetizadas nas células é intracelular, sendo sua obtenção avaliada somente pelo rompimento da célula. No entanto, há microrganismos que possuem a capacidade de sintetizar enzimas que são excretadas da célula, enzimas extracelulares, podendo ser encontradas no meio de cultivo ou propagação celular (AGUIAR, 2010). Quase todas as enzimas produzidas em escala industrial são extracelulares devido ao fato de seu isolamento dos caldos de cultivo ser geralmente mais simples. Porém, o fato de se encontrarem muito diluídas no meio pode tornar seu isolamento muito dispendioso.

Processos realizados com o auxílio de enzimas podem ser rastreados até as civilizações antigas. Hoje, conhece-se quase 4000 enzimas, sendo que destas, cerca de 200 estão em uso comercial. Até a década de 1960, a venda de enzimas totalizavam apenas alguns milhões de dólares por ano. Entretanto, uma melhor compreensão da produção bioquímica tornou a tecnologia das enzimas mais acessível, que junto aos avanços nos métodos de utilização destes catalisadores, possibilitou um crescimento espetacular deste mercado (SHARMA; CHISTI; BANERJEE, 2001). Nos últimos anos, o valor de mercado dos catalisadores enzimáticos é estimado em 2,3 bilhões de dólares anuais (MUSSATO; FERNANDES; MILAGRES, 2007).

A maior parte das enzimas industriais, pelo menos 75%, apresenta ação hidrolítica, sendo que as proteases dominam o mercado,

respondendo por aproximadamente 40% de todas as vendas (SHARMA; CHISTI; BANERJEE, 2001). A proporção utilizada de enzimas em processos industriais apresenta grande variação. Enquanto 40-45% das enzimas produzidas são consumidas pela indústria de detergentes, a indústria têxtil e de papel consome entre 4-6% (BORZANI, 2001).

As principais áreas de aplicação de enzimas estão resumidas pela Tabela 2.2. O uso destes catalisadores na indústria é feito em processos biotecnológicos, ajudando a reduzir a poluição ao, em muitas vezes, substituir processos químicos agressivos ao meio ambiente.

Tabela 2.2 – Campo de aplicações de enzimas.

Área	Aplicações
Pesquisa científica	Usadas como ferramentas de pesquisa para a hidrólise, síntese, análise, biotransformações e separações por afinidade.
Aplicações cosméticas	Preparações para a pele; higienizadores de prótese dentária.
Diagnósticos médicos e análises químicas	Glicemia, uréia, colesterol, eletrodos enzimáticos e kits de ensaios.
Catálise industrial	Fabricação de papel e celulose; processamento do couro; detergentes e agentes de limpeza; processamento de laticínios, frutas, carnes e vegetais; tratamento de águas residuais; processamento do algodão; etc.

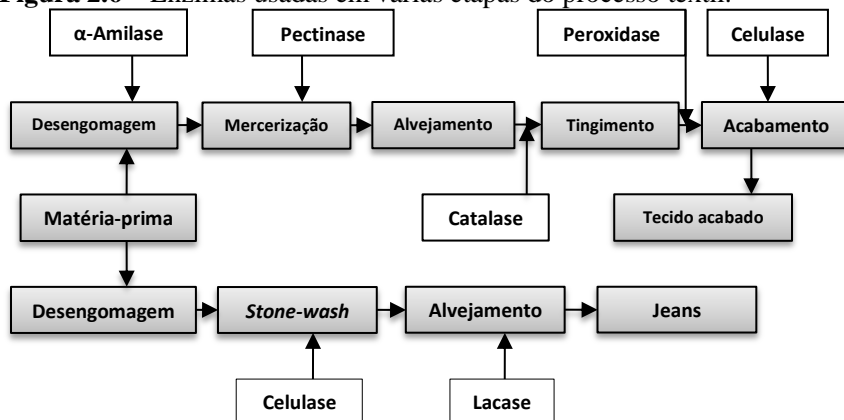
Fonte: SHARMA; CHISTI; BANERJEE, 2001.

2.2.1. Enzimologia aplicada à indústria têxtil

Os processos enzimáticos desenvolvidos para aplicação no processamento do algodão à úmido estão presentes desde a limpeza e preparação do substrato até os processos finais de beneficiamento e no tratamento de efluentes (ALY; MOUSTAFA; HEBEISH, 2004). Na Figura 2.6, encontra-se um resumo do processamento têxtil, tendo em destaque as principais enzimas que podem atuar em cada etapa.

O objetivo do tratamento enzimático é a obtenção de um artigo com boas propriedades físico-mecânicas, juntamente com elevada molhabilidade e a absorvência do corante (ALY; MOUSTAFA; HEBEISH, 2004).

Figura 2.6 – Enzimas usadas em várias etapas do processo têxtil.



Fonte: KIRK; BORCHERT; FUGLSANG, 2002.

2.2.1.1. Celulase

As celulases são enzimas específicas para a hidrólise da ligação glicosídica $\beta(1\rightarrow4)$ da celulose (TAN; CAO, 2002). Celulase é um sistema enzimático multicomponente composto por uma variedade de enzimas com especificidade e modo de ação distinta, as quais agem de forma sinérgica durante a degradação da celulose.

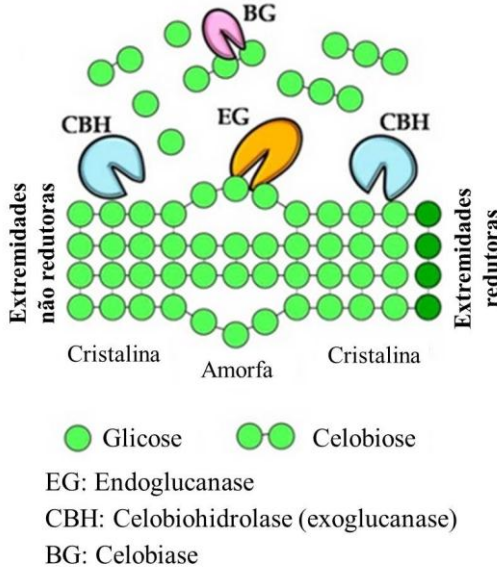
As celulases que atuam no processo de hidrólise são classificadas em: endoglucanases (EG), exoglucanases ou celobiohidrolases (CBH I e CBH II) e celobiase (β G) (CHADEL; SILVA, 2013).

A atuação da celulase pode ser observada a nível molecular na Figura 2.7.

As endoglucanases catalisam aleatoriamente a hidrólise interna da celulose, liberando celo-oligossacarídeos com diferentes graus de polimerização e celobiose. Em decorrência da hidrólise, originam-se novas cadeias terminais para a ação da exoglucanase. A EG atua somente na porção amorfa da celulose, tendo a sua atividade reduzida com o encurtamento da cadeia de celulose (FURLAN, 2012; SILVA, 2008).

As exoglucanases iniciam a hidrólise nas extremidades da cadeia. A CBHI quebra as unidades de celobiose das extremidades redutoras, enquanto que a CBHII quebra as das extremidades não redutoras (CAVACO-PAULO, 1995).

Figura 2.7 – Atuação das enzimas componentes da celulase.



Fonte: MATOVIC, 2013.

A celobiase completa a hidrólise da celulose ao catalisar a hidrólise da celobiose a glicose (VASCONCELOS, 2005).

A porção amorfa da celulose é degradada tanto pela endoglucanase quanto pela celobiohidrolase. Já a porção cristalina é degradada mais eficientemente pela celobiohidrolase (TAN; CAO, 2002).

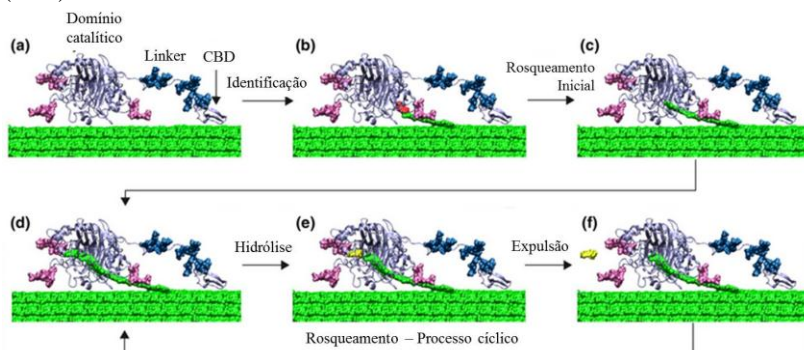
A maioria das celulases dos fungos, e todas as produzidas pelo *Thichoderma reesei* são constituídas por dois domínios, funcionais e estruturalmente distintos: o domínio responsável pela ligação da enzima ao substrato conhecido por “*Cellulose Binding Domain*” (CBD), e o domínio catalítico (CD) que constitui a maior parte da proteína e abriga o sítio ativo. Os dois domínios estão ligados através de uma cadeia polipeptídica flexível (“*linker*”) (CAVACO-PAULO, 1995).

Na Figura 2.8 está apresentado um esquema da ação de uma exoglucanase no substrato. Primeiramente (a) a enzima se liga ao substrato, (b) reconhecendo em seguida uma extremidade redutora da cadeia de celulose (c) que é rosqueada para o túnel catalisador. Logo (d) há a formação e ativação de um complexo catalítico, (e) dando início ao processo cíclico de hidrólise (f) seguido pela expulsão do produto (mostrado em amarelo).

As celulases são produzidas por um espectro de bactérias e fungos, devido à necessidade da degradação da celulose presente nas paredes vegetais em condições naturais (SILVA, 2008). Porém, relativamente poucos microrganismos produzem altos níveis capazes de solubilizar a celulose cristalina extensivamente (BHAT; BHAT, 1997).

O tipo de sistema celulolítico mais intensamente estudado é o fúngico, devido ao fato de este ser extracelular, logo, de mais fácil obtenção. Os microrganismos fúngicos mais utilizados na produção industrial de celulase são *Aspergillus niger*, *Humicola insolens*, *Penicillium funiculosum* e *Trichoderma reesei* (CAVACO-PAULO, 1995).

Figura 2.8 – Atividade no substrato da celulase (exoglucanase) do *T. reesei*. A enzima possui um pequeno domínio de ligação ao substrato (CBD), um ligador flexível (azul escuro) e um grande domínio catalítico (rosa).



Fonte: CHADEL; SILVA, 2013.

A utilização de celulases na hidrólise da celulose ocorre em condições mais brandas de pH, pressão e temperatura do que em processos químicos.

A cinética lenta da degradação enzimática de celulose cristalina (celulose de algodão) permite o aprimoramento das propriedades do tecido e da fibra, sem excessivos danos (CAVACO-PAULO, 1998).

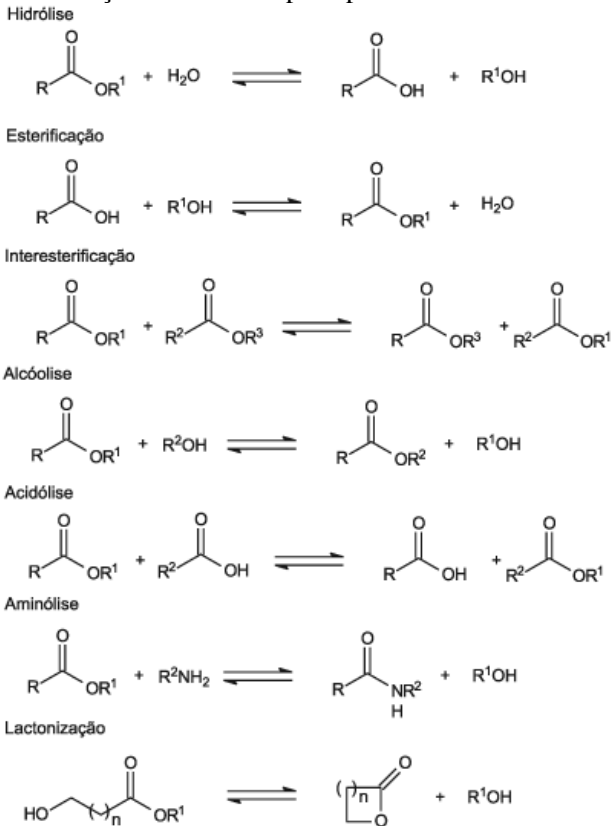
As celulases têm sido utilizadas na indústria têxtil no processo “stone-washing” que atribui a aparência envelhecida ao jeans e no acabamento de tecidos de algodão a fim de se remover microfibrilas e prevenir a fibrilação e a formação de “pilling” (FERREIRA, 2012; FREITAS, 2009).

A comercialização da hidrólise enzimática celulolítica encontra no custo da enzima seu maior obstáculo, sendo que este é estimado em aproximadamente em 50% do custo do processo de hidrólise total (BORTOLAZZO, 2011).

2.2.1.2. *Lipase*

As lipases (triacilglicerol acilhidrolases, EC 3.1.1.3) catalisam a hidrólise de triglicérides aos ácidos graxos correspondentes e glicerol, na interface lípido/água (OLIVEIRA, 2007; SHARMA, 2001).

Figura 2.9 – Reações catalisadas por lipases.



Fonte: PAQUES; MACEDO, 2006.

Além das reações de hidrólise, as lipases são capazes de catalisar reações de esterificação, transesterificação (alcoólises, acidólises e inesterificação), aminólise (síntese de amidas) e lactonização (SUDBRACK, 2012).

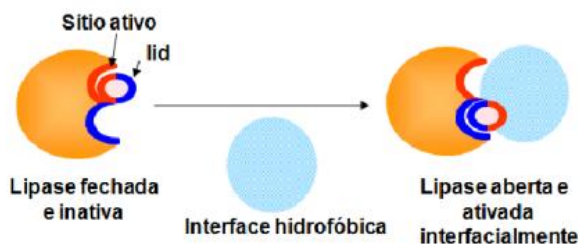
Substratos insolúveis em água é um pré-requisito para as lipases se a hidrólise é o objetivo da reação (VORDERWÜLBECKE; KIESLICH; ERDMANN, 1992).

As lipases são serina hidrolases e contêm a sequência X_1-S-X_2 como meio catalítico, onde S = serina, X_1 = histidina e X_2 = ácido aspártico ou glutâmico. (ARAÚJO, 2009; SUDBRACK, 2012).

A atividade das lipases é baixa em substratos monoméricos, mas logo que um substrato agregado (tal como uma emulsão ou uma solução micelar) é formado, a atividade da lipase aumenta drasticamente. Este fenômeno é chamado de ativação interfacial. A determinação da estrutura tridimensional de algumas classes de lipases propiciou uma explicação para este fenômeno. O sítio ativo é protegido por superfície entrelaçada, determinada tampa hidrofóbica ou *lid* (KAPOOR; GUPTA, 2012; SUDBRACK, 2012).

Na presença de uma superfície hidrofóbica (tais como gota de óleo), a tampa da lipase se desloca, sofrendo uma mudança conformacional da forma “fechada” da lipase para uma forma “aberta” e permite a interação entre sua face interna hidrofóbica e os resíduos hidrofóbicos que normalmente circundam o centro ativo da lipase com o substrato (KAPOOR; GUPTA, 2012).

Figura 2.10 – Mecanismo de ativação interfacial na presença de uma interface hidrofóbica.



Fonte: SUDBRACK, 2012.

Como as lipases atuam na interface água/lipídeo, as equações de Michaelis Menten não podem ser utilizadas para a cinética enzimática, pois estas são válidas somente para reações catalisadas em fase

homogênea (JAEGER; REETZ, 1998). Geralmente, nas análises da lipase, o substrato lipídico é utilizado sob forma de emulsão e à medida que a reação acontece, com a formação de produtos e degradação do substrato, ocorre variação na composição da interface água/lipídeo. Portanto, a velocidade da reação é determinada pela área superficial da emulsão das partículas por unidade de volume e não pela concentração de lipídeos na emulsão (ARAÚJO, 2009).

A atividade catalítica das lipases pode ser influenciada por fatores como a ausência da interface lipídeo/água, a eventual inibição pelos produtos formados e a influência do tipo de agente emulsificante (HARALDSSON, 1991).

A maioria das lipases apresenta atividade ótima em temperaturas entre 30 e 40°C, embora sua termoestabilidade varie consideravelmente em função de sua origem. As enzimas microbianas são, em geral, mais estáveis e apresentam atividade na faixa de pH 5 a 9, com um máximo entre 8 e 9 (SEMIONATO, 2006).

As lipases são encontradas na natureza em ampla escala filogenética, podendo ser obtidas de fontes animais (pancreática, hepática e gástrica), vegetais e também a partir de microrganismos (bactérias e fungos) naturais ou geneticamente modificados. Industrialmente e economicamente, as lipases microbianas apresentam vantagens em relação às lipases de origem animal e vegetal. São em sua maioria extracelulares, resultando em um custo de produção menor, são mais estáveis e possuem propriedades distintas das lipases de origem animal e vegetal. São obtidas, geralmente, pelos microrganismos dos gêneros: *Candida* e *Torulopsis* (leveduras); *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Geotrichum* e *Mucor* (fungos); *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizopus*, *Chromobacterium* (bactérias) (ARAÚJO, 2009; SEMIONATO, 2006).

A alta versatilidade das lipases, considerada como o grupo de biocatalisadores mais importante na biotecnologia, permite uma vasta aplicabilidade em diversos processos, podendo ser usadas na indústria alimentícia, de detergentes, farmacêutica, de couro, têxtil, cosmético e papel (JAEGER; REETZ, 1998; REIS et al., 2009).

No setor têxtil o uso de lipases se encontra em evidência na formulação de detergentes, o que resulta na remoção de manchas de lipídeos no algodão. Outra aplicação que vem sendo estudada, porém não muito explorada, é a atuação da lipase na biopreparação do algodão. A cutícula, parede fina exterior da fibra de algodão, possui uma complexa mistura de lipídeos. Esta presença abre a possibilidade do uso de lipases no processo de biopurga do algodão cru (RAJA et al., 2012).

A remoção de lubrificantes através da lipase é feita a fim de promover uma melhor absorção de água e do corante no algodão. O uso desta enzima reduz também riscos e rachaduras nos sistemas de abrasão do *denim* (HASAN; SHAH; HAMEED, 2006).

2.2.1.3. Pectinase

Pectinases, ou enzimas pectinolíticas, são produzidas por um grande número de bactérias, leveduras e fungos filamentosos, insetos e plantas, a fim de degradar o heteropolissacarídeo pectina (MALLER, 2008).

Devido à presença de várias formas de pectina nas células das plantas, são necessárias enzimas com diferentes formas de ação para a sua degradação (GUMMADI; PANDA, 2003).

A classificação feita de acordo com o substrato preferencial resulta em dois grupos principais: pectinases despolimerizantes e pectinase desmetoxilante. As enzimas despolimerizantes agem catalisando a quebra das ligações α -1,4 da cadeia principal do polissacarídeo pectico, enquanto a desmetoxilante desesterifica a pectina a ácido pectico por remoção dos resíduos metoxila (SANDRI, 2010; SANTI, 2005).

Tabela 2.3 – Classificação das enzimas pectinolíticas.

Enzima	Substrato Preferencial	Modo de ação
Pectinases Despolimerizantes		
Poligalacturonase (PG)	Ácido pectico	Hidrólise endo-PG ou exo-PG 1 (monômeros) e exo-PG 2 (dímeros)
Polimetilgalacturonase (PMG)	Pectina	Hidrólise endo-PMG ou exo-PMG
Pectina liase (PL)	Pectina	Trans-eliminação endo-PL ou exo-PL
Pectatoliase (PGL)	Ácido pectico	Trans-eliminação endo-PAL ou exo-PAL
Pectinase Desmetoxilante		
Pectinesterase (PE)	Pectina	Desesterificação de grupos metil

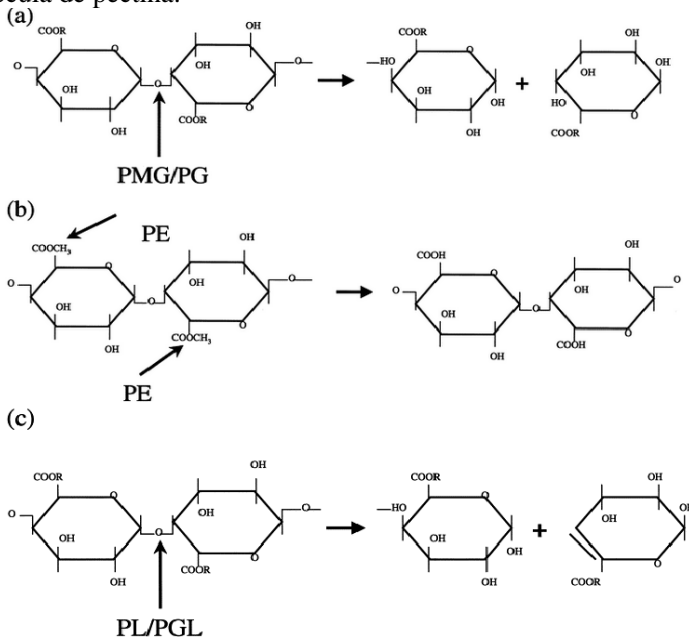
Fonte: SANTI, 2005.

Há somente uma enzima pectinase desmetoxilante, a pectinesterase (PE). Já as pectinases despolimerizantes constituem em um grupo e são classificadas de acordo com o modo pelo qual a ligação é rompida (hidrólise ou trans-eliminação); posição de ataque no substrato (endopectinase ou exopectinase); e o tipo de substrato hidrolisado (ácido pectico ou pectina). Entre as pectinases despolimerizantes encontram-se a poligalacturonase (PG), a polimetilgalacturonase (PMG), a pectina liase (PL) e a pectatoliase (PGL) (SANDRI, 2010, SANTI, 2005). Um resumo da classificação das enzimas pectinolíticas encontra-se na Tabela 2.3.

A produção de pectinases em larga escala é feita basicamente por fungos, sendo os do gênero *Aspergillus* mais comumente utilizados (EINSCHLAG, 2011).

Os preparados enzimáticos que se encontram no mercado são um complexo enzimático contendo todas as enzimas do grupo pectinolítico além de celulase, hemicelulase, ou seja, possuem diversos tipos de atividades (COURI, 1993 *apud* SANDRI, 2010).

Figura 2.11 – Diferentes tipos de pectinase e seu modo de ação na molécula de pectina.



Fonte: GUMMADI; PANDA, 2003.

Pectinases estão hoje entre as enzimas com a melhor perspectiva para futuras aplicações. Elas desempenham um papel importante na produção de sucos na indústria alimentícia, no tratamento de águas residuais, na extração do óleo cítrico, na indústria do papel e celulose, além de outras aplicações biotecnológicas (EINSCHLAG, 2011).

Na indústria têxtil as pectinases são aplicadas no processo de biopurga para degradar a camada de pectina que recobre a fibra de algodão, no tratamento do resíduo líquido e na desengomagem das fibras naturais (UENOJO;PASTORE, 2007).

2.2.2. Processos Biotecnológicos na Indústria Têxtil

Com a busca por processos ecologicamente corretos, a indústria têxtil encontrou na aplicação de enzimas, processos biotecnológicos como a desengomagem enzimática, a biopurga e o biopolimento que substituem os processos convencionais.

Fatores importantes que influenciam o efeito de processos enzimáticos são a concentração de enzima, o tempo de tratamento, tais como surfactantes e aditivos quelantes e stress mecânico (CAVACO-PAULO; GÜBITZ, 2003).

2.2.2.1. Biopurga

Os componentes não-celulósicos da fibra de algodão podem ser removidos da cutícula e da parede primária pela ação de enzimas sob condições reacionais brandas. Este processo denominado biopurga é uma alternativa à purga convencional (KALANTZI et al.,2010).

A biopurga possibilita uma retirada efetiva das impurezas não celulósicas sem afetar negativamente o meio ambiente já que o processo não utiliza produtos químicos agressivos e ocorre em condições mais brandas de pH, entre 6,0 e 8,0. Além disso, ocorre uma economia de energia, pois a temperatura ótima de processo se encontra entre 50 a 65 °C.

Como alguns pigmentos naturais não podem ser desprendidos da fibra, por estarem associados às impurezas, a remoção das mesmas, retira esses pigmentos, reduzindo o amarelado da fibra (HOONDAL et al., 2002).

Com base na composição das “impurezas” não celulósicas do algodão cru, diversas enzimas como pectinases, celulasas, proteases, xilanases e lipases estão sendo avaliadas como agentes de biopurga (KALANTZI et al., 2008).

Rocky (2012) estudou a ação da pectinase na preparação do algodão e, comparando os resultados com o processo alcalino convencional, o autor obteve uma perda de peso menor e uma hidrofiliidade semelhante.

Embora vários tipos de enzimas – pectinase, celulase, protease, lipase, xilanase e cutinase – estão sendo estudadas, as pectinases ou pectinase em combinação com celulase provaram ser as mais eficazes e adequadas para a biopurga do algodão. Isso porque a pectina age como uma cola na parede primária das células de algodão. Através dos resultados obtidos com a biopurga com pectinase, assume-se que seu mecanismo de degradação e eliminação de pectinas faz com que as ceras sejam mais facilmente removíveis com o auxílio de surfactantes e agitação mecânica, o que permite uma maior hidrofiliidade sem deterioração das fibras (WANG et al., 2007; GERHARTZ, 2004 *apud* PIMENTEL, 2010).

A adição de celulases totais ao banho de biopurga tem demonstrado o aumento da eficiência de pectinases. Acredita-se que as celulases eliminam as impurezas indesejáveis pela hidrólise da celulase subjacente, porém a presença de celulase pode acarretar no dano típico que estas enzimas exercem às fibras de algodão (AXT-MARTINELLI, 2002).

Estudos tentam aumentar a eficácia da biopurga aplicando processos de combinação de enzimas. Os melhores resultados obtidos foram com a associação da pectinase com outra enzima, ou um processo em várias etapas com a aplicação de diferentes enzimas sucessivamente (KALANTZI et al., 2010).

Usando diferentes tipos de enzimas em um mesmo banho de tratamento pode-se observar o efeito de sinergismo no processo de biopurga. Pectinases e celulases são aplicadas juntas na maioria dos tratamentos. O tratamento combinado melhora as propriedades de molhabilidade do tecido e reduz as quantidades de enzimas utilizadas (FREITAS, 2009; LI e HARDIN, 1998). As celulases melhoram a ação das pectinases devido ao melhor acesso da enzima ao composto pécico no material têxtil.

A combinação de enzimas específicas para remover as impurezas não-celulósicas no algodão permite manter inalterada a estrutura da celulose (AXT-MARTINELLI, 2002).

Vigneswaran, Ananthasubramaniam e Anbumani (2012) investigaram um *pool* enzimático composto pelas enzimas pectinase, protease, lipase e celulase, para a biopurga de um tecido 100% algodão orgânico com a injeção de ar durante o processo. Os resultados obtidos

mostraram uma maior dependência da enzima pectinase em comparação com as outras enzimas.

O surfactante é um produto químico auxiliar importante para a atuação das enzimas no processo de lavagem do algodão cru. Ele reduz a tensão superficial das fibras, facilitando a penetração das enzimas nos microporos e fissuras das fibras e, posteriormente, mantém a enzima na fase líquida, tornando-a disponível para ação catalítica adicional. Tzanov et al. (2001) estudaram o efeito do surfactante no processo de biopreparação e constataram que este aumenta consideravelmente o efeito da lavagem. Li e Hardin (1998) concluíram que o efeito dos surfactantes depende da estrutura da enzima e as características da fibra de algodão.

Outro aditivo utilizado no processo de purga e biopurga é o agente quelante. Ele é imprescindível, pois sequestra íons presentes nas fibras e na água, evitando assim, problemas nos processos de tingimento, estamparia e acabamento. Pimentel (2010) estudou a influência de dois tipos de agentes quelantes, Quimirol 535 e EDTA, na atividade da enzima pectinase e nos resultados do processo de biopurga. Na presença dos agentes, a enzima apresentou queda de atividade, sendo que quanto mais forte o agente sequestrante, maior a queda de atividade. Já no processo de biopurga, a adição do agente quelante no início do processo não apresentou grandes diferenças em relação à adição no final do processo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo serão apresentados os procedimentos experimentais utilizados no estudo dos caldos enzimáticos, bem como nos processos de tratamento da malha crua – biopurga e purga convencional – e na avaliação da malha tratada, incluindo os reagentes e equipamentos empregados.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Transferência de Massa (LABMASSA) do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

3.1. MATERIAIS

3.1.1. Substrato Têxtil

O substrato têxtil utilizado foi uma malha de algodão orgânico, disponibilizada pela empresa Malwee[®]. A caracterização desta malha, apresentada pela Tabela 3.1, foi realizada pelo Laboratório de Ensaio Químicos Têxteis (LAFITE) do SENAI/SC, localizado em Brusque (Santa Catarina).

Tabela 3.1 – Caracterização do substrato têxtil.

Ensaio	Norma	Resultado
Composição	NORMA 20/05 e 20A/05 DA AATCC	100% Algodão
Gramatura	NBR 10591/08	146,50 g/m ²
Título	NBR 13216/94	Ne: 29,27 CV%*: 4,55
Hidrofilidade	NBR 13000	Maior que 5 min

*Coeficiente de variação.

A caracterização do título foi no sistema inglês (Ne) e significa que são necessárias 29,27 meadas de 1 hank (768 m), cada uma, para obter a massa de 1 libra.

As amostras de malha utilizadas nos ensaios deste trabalho são oriundas de um mesmo lote, de modo a garantir a padronização dos corpos de prova quanto ao tipo de fio, gramatura, cor e hidrofilidade.

3.1.2. Enzimas

Neste trabalho foram utilizadas três enzimas produzidas pela Novozymes: uma pectinase declarada como pectato liase (E.C. 4.2.2.2); uma lipase (E.C. 3.1.1.3); e uma celulase (E.C. 3.2.1.4).

As enzimas são preparações enzimáticas que foram selecionadas conforme recomendação da empresa fornecedora frente ao processo que se objetiva estudar neste trabalho. Os nomes comerciais e características fornecidas pela Novozymes são apontados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Características das enzimas utilizadas no trabalho.

Enzima	Celulase	Lipase	Pectinase
Nome comercial	Cellusoft® Cr Conc	Lipolase® 100 L	BioPrep® 3000 L
Origem/ Fonte	<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>
pH recomendado	5,5 – 6,5	7,0 – 11,0	6,0 – 9,0
Temperatura recomendada (°C)	50 – 60°C	30 – 40°C	50 – 60°C
Atividade declarada	15000 ECU/g	100 KLU/g	3000 APSU- CA/g

Fonte: Novozymes.

Os valores declarados de atividade das enzimas foram obtidos por metodologias diferentes das empregadas neste trabalho e, por isso, não poderão ser utilizados para comparação.

3.1.3. Corantes

No desenvolvimento deste trabalho foram utilizados os corantes reativos de nome comercial Marinho Tiafix AF e Vermelho Tiafix AF/B.

Maiores informações sobre estes corantes estão dispostas no Anexo A.

3.1.4. Reagentes

Os reagentes utilizados no trabalho experimental foram de grau analítico P.A. e usados sem tratamento prévio.

Durante os ensaios de determinação de atividade das enzimas, determinação da quantidade de proteína dos caldos enzimáticos e preparação enzimática da malha crua, foram utilizados os reagentes expostos na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 – Principais reagentes químicos utilizados nos procedimentos experimentais.

Reagente	Marca
Corante comassie brilliant blue G-250	Vetec
Albumina de soro bovina (BSA)	Sigma
Álcool etílico absoluto	Nuclear
Ácido fosfórico	Lafan
p-Nitrofenilpalmitato	Sigma
Carbonato de sódio	Lafan
Pectina cítrica	Vetec
Cloreto de sódio	Vetec
Cloreto de cálcio	Vetec
Ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS)	Sigma
Tartarato de sódio e potássio	Synth
Hidróxido de sódio	Nuclear
Carboximetilcelulose	Sigma
Glicose	Vetec
Fosfato de sódio dibásico dihidratado	Vetec
Fosfato de potássio monobásico	Vetec

Já nos processos de tratamento da malha crua e de tingimento foram utilizados os produtos comerciais apresentados na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 – Produtos comerciais utilizados.

Reagente	Nome Comercial
Tensoativo	Tensoman MWE
Sequestrante de cálcio, magnésio e ferro	Seraquest MC-P
Sequestrante e dispersante	Ladiquest 2005
Álcali líquido	Laugal MV
Dispersante para lavagem	Verolan NVR

3.1.5. Equipamentos

No decorrer deste trabalho foram utilizados o pHmetro modelo 400M2, marca Quimis, para medir o pH; a balança analítica modelo AB204-S, marca Mettler-Toledo, para pesar os reagentes; o espectrofotômetro visível modelo V-1200, marca Pró-Análise, para as determinações colorimétricas; o aparelho de laboratório para tingimento até 135°C ALT-B 9306 com microprocessador Datex Pico II, marca Mathis, para os ensaios de pré-tratamento alcalino e enzimático da malha crua, bem como para o processo de tingimento e determinação do grau de pectina; o espectrofotômetro de reemissão com lâmpada padrão modelo CM-3600d, marca Minolta, para a determinação do grau de alvura após o pré-tratamento e o grau de cor após o tingimento.

Nos ensaios de perda de massa utilizou-se a estufa de circulação de ar MA 035, marca Marconi. Para a determinação das atividades enzimáticas foi utilizado um banho termostatizado modelo Dubnoff DI 921, marca Dist, sendo que para a atividade da lipase também se utilizou uma centrífuga da marca Jouan, modelo 4Bi.

3.2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

3.2.1. Estudo das Preparações Enzimáticas

3.2.1.1. Determinação da Quantidade de Proteínas

A quantidade de proteína presente nas amostras das preparações enzimáticas utilizadas foi dosada pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976), baseado na ligação do corante Comassie Brilliant Blue G-250 à proteína. Segundo Zaia, Zaia e Lichtig (1998), no pH de reação, a interação entre a proteína de alta massa molecular e o corante provoca o deslocamento do equilíbrio do corante para a forma aniônica, que absorve fortemente em 595 nm.

A curva de calibração, nas concentrações de 0 a 1 mg.mL⁻¹, foi preparada utilizando-se o albumina de soro bovina (BSA) como padrão.

Para determinar a concentração de proteínas nas amostras, entre 0,1 – 1,0 mg.mL⁻¹, misturam-se 5 mL do reagente de Bradford com 100 µL da solução proteica. A reação ocorre em 2 min. A leitura da absorbância deve ser feita no intervalo entre os dois minutos e uma hora após a mistura, contra uma amostra de referência de reagente de Bradford com o tampão da proteína.

No preparo do reagente de Bradford dissolve-se 100 mg de Comassie Brilliant Blue G-250 em 50 mL de etanol 95%, com posterior adição de 100 mL de ácido fosfórico concentrado. Essa solução é então diluída até 1.000 mL com água destilada.

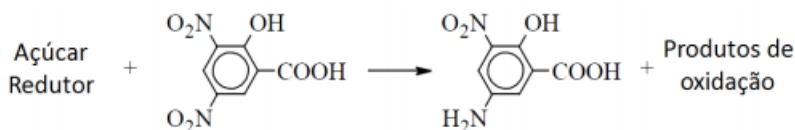
3.2.1.2. Determinação de Açúcares Redutores

A quantificação de açúcares redutores totais (ART) foi realizada pelo método de Miller (MILLER, 1959) que utiliza o ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS).

De acordo com este método, o DNS sofre redução de um de seus grupos nitro ao reagir com os carboidratos redutores, formando um composto que sofre forte absorvância em 540 nm.

O reagente DNS é preparado pesando-se 153 g de tartarato de sódio e potássio (Sal de Rochelle) e dissolvendo-o em 200 mL de água destilada. Após completa dissolução, adiciona-se 9,9 g de NaOH sob agitação. Então se acrescenta de forma lenta 5,3 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico no vórtice da solução em agitação. Em seguida, são adicionados 2 mL de fenol fundido a 50 °C e 700 µL de uma solução de metabissulfito de sódio a 35%. O volume final é ajustado para 500 mL em um balão volumétrico com água destilada.

Figura 3.1 – Esquema reacional de ART com ácido 3,5-dinitrosalicílico.



Fonte: PERFETO, 2012.

3.2.1.3. Determinação da Atividade da Celulase

A degradação do polímero de celulose pode ser realizada pela ação de uma das enzimas multicomponentes (EG, CBH e βG) que atuam sinergicamente. A determinação da atividade enzimática da enzima celulase foi realizada para a atividade celulolítica da endoglucanase (EG) pela quantificação dos açúcares redutores. Para eliminar os interferentes gerados durante a reação com o substrato, foram realizadas simultaneamente provas em branco.

Para a determinação da atividade celulolítica da endo β -(1,4)-glucanase ou carboximetilcelulase (CMCase) foi utilizada a metodologia de Ghose (1987), com algumas modificações. O substrato utilizado foi uma solução de carboximetilcelulose 4% (massa/volume) em tampão fosfato 0,05 M, pH 6,0.

A mistura da reação foi composta de 900 μ L da solução de substrato e 100 μ L de enzima. Incubou-se a mistura a 55 °C, sob agitação, durante 30 min. Após o tempo de reação, esta foi interrompida com a adição de 1,5 mL do reagente DNS e fervura por 5 min. Posteriormente, a amostra é resfriada em banho de gelo e, se necessário, diluída até possibilitar a medição da absorbância.

Uma unidade de atividade (U) foi definida como a quantidade de enzima capaz de hidrolisar a liberação de 1 μ mol de açúcar redutor por minuto. A atividade celulolítica foi determinada pela Equação (3.1), expressa em U/mL ou μ mol/mL.min.

$$A = \frac{[C] \cdot V_T \cdot D_E}{t \cdot V_E} \quad (3.1)$$

[C] = concentração de açúcar redutor liberado (μ mol/mL);

V_T = volume total da solução (mL);

D_E = diluição da enzima;

t = tempo de reação (min);

V_E = volume da solução de enzima (mL).

3.2.1.4. Determinação da Atividade da Lipase

A determinação da atividade enzimática da lipase foi realizada de acordo com o método de Chiou e Wu (2004). Esse método fundamenta-se na hidrólise do p-nitrofenilpalmitato (pNPP) para o p-nitrofenol, ($\epsilon = 15.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, como coeficiente de extinção molar), cuja liberação promove um aumento na absorbância em 410 nm.

O substrato enzimático utilizado foi uma solução de pNPP 0,5% (massa/volume) em álcool etílico absoluto. A mistura reacional foi composta por 100 μ L de lipase, 1000 μ L de solução pNPP e 1000 μ L de tampão Tris-HCl pH 8,0. A solução resultante foi incubada a 37 °C por 5 min em banho-maria. A reação de hidrólise enzimática do pNPP foi encerrada através da adição de 2000 μ L de uma de solução 0,5 N de carbonato de sódio. Foram retirados 2000 μ L desta solução que foram

centrifugados por 10 min em 10.000 rpm. O sobrenadante, 200 μL , foi diluído em água destilada e submetido à análise espectrofotométrica.

Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para hidrolisar 1 μmol de pNNP por minuto. A atividade lipolítica foi determinada pela Equação (3.2), expressa em U/mL ou $\mu\text{mol/mL}\cdot\text{min}$.

$$A = \frac{A_{bs} \cdot D \cdot 1000}{d \cdot \varepsilon \cdot t} \quad (3.2)$$

A_{bs} = absorvância;

D = diluição final;

d = caminho óptico (cm);

ε = coeficiente de extinção molar (L/mol.cm);

t = tempo de reação (min).

3.2.1.5. Determinação da Atividade da Pectinase

A cadeia da pectina apresenta regiões onde o ácido galacturônico é substituído por açúcares redutores sob a ação da pectinase. A atividade da enzima foi determinada medindo-se o aumento de açúcares redutores presentes no meio.

Uma solução de enzima de 100 μL foi incubada em tubo de ensaio a 55 $^{\circ}\text{C}$ na presença de 900 μL de 0,25% (p/v) de pectina cítrica, 20 mM de NaCl e 0,1 mM de CaCl_2 em tampão fosfato 0,05 M pH 8,0 durante 5 min. Após este tempo adicionou-se 1 mL de DNS e a solução foi fervida por 10 min e resfriada em banho de gelo. Em seguida, diluiu-se a solução em água destilada, se necessário, e a absorvância foi lida em 540 nm. Foram feitas amostras de branco com volume de solução tampão correspondente ao da enzima nas amostras.

Uma unidade de atividade (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir 1 μmol de açúcar redutor por minuto. A atividade pectinolítica foi determinada pela Equação (3.3), expressa em U/mL ou $\mu\text{mol/mL}\cdot\text{min}$.

$$A = \frac{[C] \cdot V_T \cdot D_E}{t \cdot V_E} \quad (3.3)$$

$[C]$ = concentração de açúcar redutor liberado ($\mu\text{mol/mL}$);

V_T = volume total da solução (mL);

D_E = diluição da enzima;

t = tempo de reação (min);

V_E = volume da solução de enzima (mL).

3.1.2.6. Avaliação da influência do sequestrante na atividade das enzimas

Um estudo de como o reagente sequestrante, utilizado no processo de preparação, influencia na atividade das enzimas foi realizado.

O procedimento experimental consistiu em avaliar a atividade das enzimas celulase, lipase e pectinase sob a mesma condição apresentada durante o processo de biopurga. As enzimas, em sua condição máxima, conforme o planejamento experimental apresentado no item 3.3, foram incubadas em tampão pH 6,5 a 55°C. Adicionou-se o agente sequestrante Seraquest MC-P na concentração utilizada no processo de biopurga (0,8 g/L) e foram retiradas alíquotas nos tempos de 0, 10, 35 e 60 min, sendo medida a atividade das enzimas conforme os itens 3.2.1.3, 3.2.1.4 e 3.2.1.5.

Para se comparar as atividades, o mesmo procedimento foi realizado, porém sem a adição do sequestrante.

3.2.2. Pré-tratamento da Malha de Algodão

As amostras das malha de algodão foram submetidas ao processo de biopurga. Como referência de avaliação da biopurga, uma amostra foi tratada com purga alcalina.

Os ensaios foram desenvolvidos no aparelho de laboratório para tingimento até 135°C ALT-B, marca Mathis.

3.2.2.1. Purga Alcalina

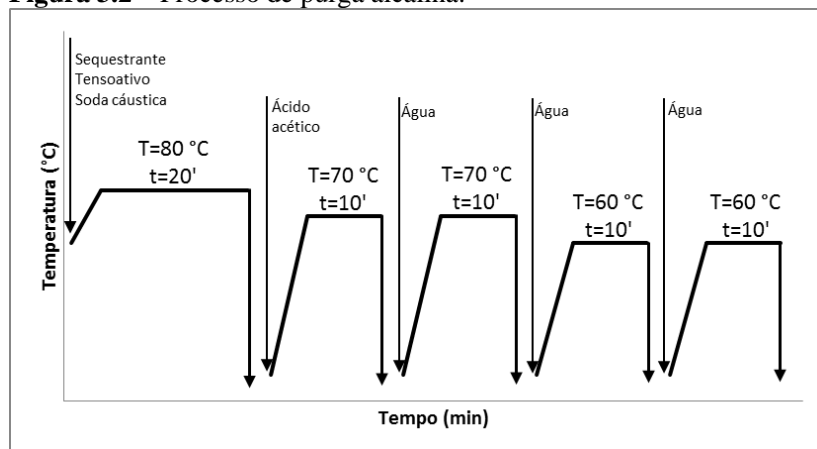
A purga alcalina foi realizada com base no processo utilizado na empresa Malwee® para posterior tingimento da malha em cores escuras. Ajustes foram feitos para a adaptação da metodologia aos equipamentos disponíveis no laboratório.

O perfil deste processo para malha de algodão, com relação de banho (RB) de 1:8, está apresentado na Figura 3.2. Os reagentes Seraquest MC-P (0,8 g/L), Tensoman MWE (1 g/L) e soda cáustica 50 °Be (3,06 g/L) foram dosados a 60 °C com subsequente aquecimento a 80 °C, temperatura a qual se mantêm durante 20 min para que ocorra o

processo de purga. Posteriormente, o banho é descartado e a malha passa por uma neutralização com ácido acético para pH 7 a 70 °C por 10 min. Três lavagens ainda são feitas, a primeira a 70 °C por 10 min e a segunda e terceira a 60 °C por 10 min.

Já nos processos de tratamento da malha crua e de tingimento foram utilizados os produtos comerciais apresentados na Tabela 3.4.

Figura 3.2 – Processo de purga alcalina.



3.2.2.2. Purga Enzimática

Em um primeiro momento, com o intuito de verificar a influência do sequestrante na atividade das enzimas, as amostras foram submetidas a dois processos distintos: (I) com a adição de sequestrante após o tempo de reação enzimática; (II) com a adição de sequestrante junto aos outros agentes químicos no início do processo.

Todos os dois processos foram executados com uma relação de banho (RB) 1:8 e pH 6,5, controlado com tampão.

O perfil representativo do processo (I) está exposto na Figura 3.3. O banho composto pelo tensoativo (1 g/L), pelo tampão e pelas enzimas, junto com o corpo de prova é elevado à temperatura de 55 °C, na qual permanece por 40 min, sendo que aos 30 min deste tempo, é adicionado o agente Seraquest MC-P (0,8 g/L). Ao término dos 40 min, o banho é descartado e o corpo de prova passa por uma lavagem com água a 95 °C por 5 min. Esta lavagem desativa as enzimas que se encontram na malha.

Já o processo (II) segue o mesmo perfil do processo anterior, porém com a adição do sequestrante no início do processo (Figura 3.4).

Após a definição do melhor processo através da avaliação da malha tratada, este foi utilizado para os posteriores ensaios que seguem o planejamento experimental exposto no item 3.3.

Figura 3.3 – Processo de biopurga com adição de sequestrante após tratamento enzimático.

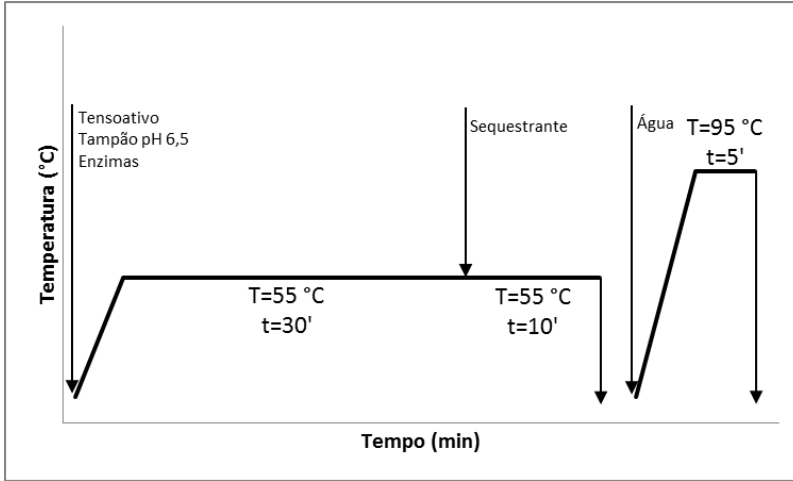
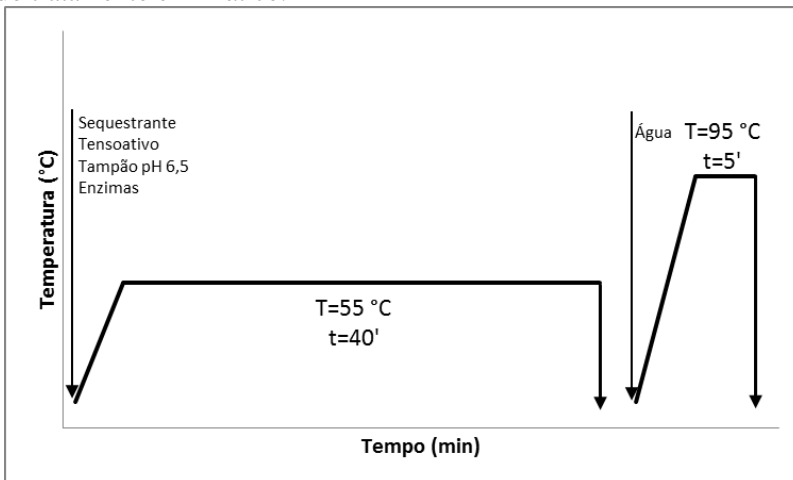


Figura 3.4 – Processo de biopurga com adição de sequestrante no início do tratamento enzimático.



3.2.3. Avaliação da Malha Tratada

As amostras de malha de algodão, sem tratamento e tratadas com biopurga ou purga convencional, foram caracterizadas quanto à hidrofiliidade, perda de massa, grau de branco, teor de pectina removida e resposta ao tingimento com a determinação de cor e a solidez do artigo.

3.2.3.1. Hidrofiliidade

O teste de hidrofiliidade realizado é um método de visualização rápida, adaptado da norma NBR 13.000 (ABNT/NBR, 13000).

O método consiste em determinar o tempo necessário que uma gota de água destilada (20 ± 2 °C) leva para ser absorvida pelo tecido. Para isto, fixa-se o tecido em um bastidor de bordado e posiciona-se uma bureta a 40 mm da superfície do tecido. O tempo de formação da gota deve ser de 5 segundos. O cronômetro foi acionado no momento em que a gota tocou a malha e cessado quando a água foi absorvida. O resultado foi a média de 5 ensaios consecutivos, em diferentes áreas da malha, tanto no centro como nas laterais.

3.2.3.2. Perda de Massa

A perda de massa dos corpos de prova foi calculada pela massa destes antes e depois do tratamento de biopurga ou purga alcalina. A massa foi medida após secagem em estufa de ventilação de ar a 105 °C, durante 4 horas, e resfriamento em dessecador. A Equação (3.4) foi utilizada para o cálculo de perda de massa percentual (ALY; MOUSTAFA; HEBEISH, 2004):

$$\text{Perda de massa (\%)} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) \cdot 100 \quad (3.4)$$

Onde:

W_1 = massa do corpo de prova antes do tratamento;

W_2 = massa do corpo de prova após o tratamento;

3.2.3.3. Determinação de Pectina Removida

O residual de pectina na malha foi analisado pelo método do tingimento com azul de metileno. Este método baseia-se na interação estequiométrica entre o cátion do corante e o ânion do carboxilato da pectina. Quanto maior for a quantidade de pectina residual, maior será a quantidade de azul de metileno absorvida nas fibras, resultando em uma malha azul de maior intensidade após o tingimento.

A quantidade absorvida de azul de metileno é quantificada através da determinação da absorbância da solução corante antes e depois do tingimento em espectrofotômetro a 663 nm. O tingimento é realizado com amostras de 10 g, tingidas com 0,6 mmol/L de azul de metileno em relação de banho 1:50 durante 100 min em um banho agitado a 70 °C.

Os tingimentos foram realizados com a malha crua (referenciada como 100% de pectina), com a malha alvejada (referenciada como 0% de pectina) e com as malhas purgadas através do processo alcalino ou do enzimático (WANG et al., 1998).

3.2.3.4. Grau de Branco

O grau de branco, ou grau de alvura, foi determinado nos corpos de prova submetidos ao processo de purga alcalina e biopurga, usando um espectrofotômetro de re-emissão com lâmpada padrão, modelo CM-3600d, marca Minolta, usando cerâmica branca como padrão de calibração.

3.2.3.5. Avaliação da Cor Após Processo de Tingimento

Os corpos de prova tratados pelo processo de purga alcalina e purga enzimática foram submetidos a um tingimento padrão com corante reativo. A cor obtida após o tingimento foi avaliada com um espectrofotômetro de re-emissão com lâmpada padrão, modelo CM-3600d, marca Minolta.

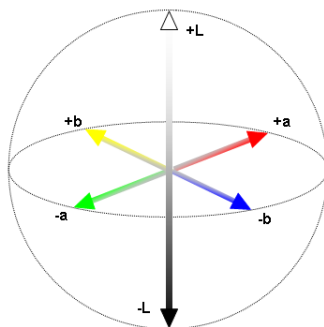
A quantificação de cor foi realizada através do método CIELAB que está organizado em um espaço tridimensional com as coordenadas L^* , a^* e b^* .

A coordenada L^* se refere à luminância, assumindo valores de 0 (preto) a 100 (branco). Já as coordenadas a^* e b^* estão relacionadas às cores onde a^* negativo aponta uma tendência para o verde e a^* positivo

para o vermelho, b^* negativo apresenta uma tendência para o azul e o b^* positivo para o amarelo.

A diferença de cor (ΔE^*ab) corresponde à distância entre uma amostra e a referência (padrão) neste espaço tridimensional.

Figura 3.5 – Espaço de cor CIELAB.



Fonte: <http://jiscdigitalmedia.ac.uk>

3.2.3.5.1. Tingimento

O tingimento realizado representa um processo desenvolvido pela empresa Malwee[®] na sua linha de produção. Este processo está explicitado na Figura 3.6 e na Figura 3.7, sendo, respectivamente, a procedimento de tingimento e o procedimento das posteriores lavagens.

Figura 3.6 – Processo de tingimento.

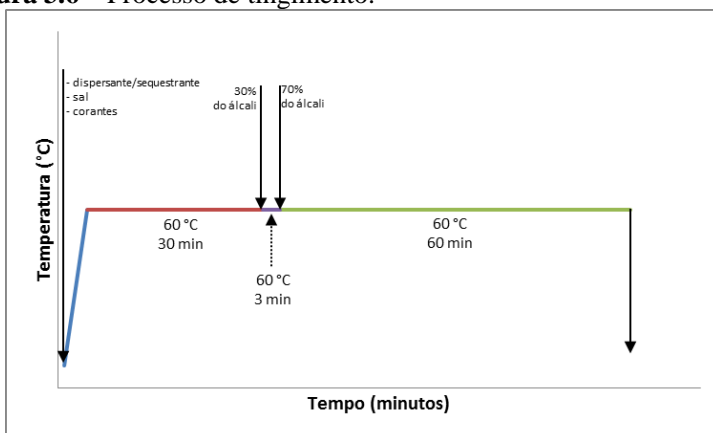
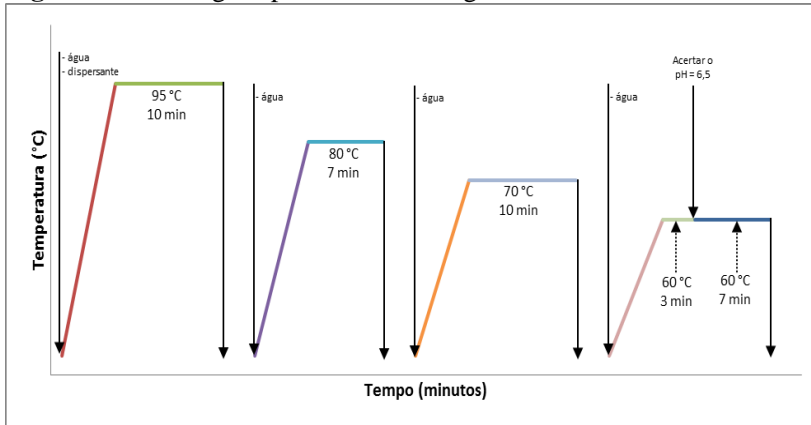


Figura 3.7 – Lavagens posteriores ao tingimento.

A relação de banho (RB) é 1:8, a mesma utilizada na preparação da malha. Os produtos utilizados no processo têm as suas quantidades especificadas pela Tabela 3.5.

Os tingimentos foram realizados em triplicata.

Tabela 3.5 – Produtos utilizados no processo de tingimento.

Produto	Quantidade
Dispersante/Sequestrante Ladiquest 2005	1,5 g/L
Sal	80 g/L
Corante Vermelho Tiafix AF/B	0,6% em massa de fibra
Corante Marinho Tiafix AF	4,4% em massa de fibra
Álcali Líquido Laugal MV	6,7 g/L
Dispersante Verolan NVR	0,75 g/L

3.2.3.6. Solidez

As amostras de malha tingidas foram submetidas aos testes de solidez à lavagem, solidez à luz e solidez à água clorada.

Os procedimentos foram realizados pelo Laboratório de Tinturaria da empresa Malwee localizada em Jaraguá do Sul, Santa Catarina.

3.2.3.6.1. Solidez da Cor à Lavagem

O objetivo do teste de solidez da cor à lavagem, realizado conforme a Norma NBR ISO 105-C10, é determinar a resistência da cor dos têxteis na lavagem com sabão e barrilha.

As amostras foram, junto ao tecido testemunha 100% algodão, submetidas a uma lavagem com 5 g/L de dispersante para lavação e 2 g/L de barrilha leve (carbonato de sódio). O procedimento foi realizado em canecos inox, sob condições estabelecidas de temperatura, tempo, agentes químicos e agitação mecânica. Posteriormente, as amostras são avaliadas com uma escala de cinza a fim de se verificar a solidez e degradação de cor, atribuindo-se uma nota de 1-5, onde 1 é a nota mínima – grande alteração da cor ou baixa solidez – e 5 é a nota máxima – cor inalterada ou alta solidez.

O equipamento utilizado no procedimento foi o aparelho modelo TUBOTEST ATW-3 da marca KIMAK.

3.2.3.6.2. Solidez da Cor à Luz

A norma NBR ISO 105-B2 regulamenta o teste de solidez à luz que determina a resistência da cor de têxteis à ação da luz solar.

As amostras são recortadas e coladas em um molde de folha A4, no tamanho de 13 x 4 cm. Elas então são acondicionadas na máquina Xenotest[®] que expõe o corpo de prova aos raios luminosos gerados por uma lâmpada de xenônio, representando a luz natural do dia. O teste é realizado tanto na amostra à seco, quanto à úmido, tendo como tempo de duração em cada teste, 25 h.

Após a finalização do teste a amostra é analisada para alteração de cor com base na escala de cinza.

3.2.3.6.3. Solidez da Cor à Água Clorada

A resistência da cor de têxteis à ação do cloro ativo em concentrações usadas para a desinfecção de piscina é determinada pelo teste de solidez à água clorada conforme a norma NBR ISO 105-E03:2009.

As amostras foram submetidas à uma lavagem com solução de água clorada, cuja relação de banho consiste em 1:100. O procedimento foi realizado em canecos inox a 27 °C por 60 min. Após o término do tempo de lavação, foi retirado o excesso da solução da amostra e esta foi seca em condições ambientes sem a presença de muita luminosidade.

Com o corpo de prova completamente seco foi avaliada a alteração de cor com base na escala de cinza.

3.3. PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO

Um planejamento estatístico foi desenvolvido para auxiliar no estudo da determinação do melhor *pool* enzimático no tratamento de preparação da malha crua. O planejamento é do tipo fatorial completo 2^3 com teste no ponto central. Todos os pontos foram avaliados em triplicata, totalizando 27 ensaios.

O planejamento está baseado na atividade de cada enzima em relação à massa de substrato têxtil, no caso a malha de algodão. Os valores máximos foram determinados com base na recomendação do fabricante, com um acréscimo percentual para se obter uma faixa mais ampla de estudo. Já os valores mínimos são referentes a ausência da enzima no processo, resultando em zero de atividade da respectiva enzima.

Os valores das atividades são referentes às medidas realizadas nas condições recomendadas para cada enzima e somente para a principal atividade do caldo enzimático.

Tabela 3.6 – Valores das atividades máximas, mínimas e médias das variáveis independentes do planejamento estatístico.

Variáveis independentes	Níveis		
	-1	0	+1
Atividade da Celulase (U/g de substrato têxtil)	0	1,790	3,580
Atividade da Lipase (U/g de substrato têxtil)	0	0,118	0,236
Atividade da Pectinase (U/g de substrato têxtil)	0	0,434	0,868

A equação do modelo matemático para prever a resposta foi dada pela Equação (3.5).

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{123}x_1x_2x_3 \quad (3.5)$$

Onde y é a variável resposta, $b_0, b_1, b_2, b_3, b_{12}, b_{13}, b_{23}$ e b_{123} são os coeficientes de regressão, sendo b_0 o termo de interceptação e os demais os termos lineares. Já x_1, x_2 e x_3 são as variáveis independentes e x_{12}, x_{13}, x_{23} e x_{123} suas interações.

Na análise do planejamento experimental foi utilizado um pacote computacional STATISTICA versão 7.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados experimentais concernentes ao estudo da ação combinada das enzimas celulase, pectinase e lipase na preparação da malha crua para a etapa de tingimento com cores escuras, seguindo-se a metodologia apresentada no Capítulo 3.

4.1. ESTUDO DAS PREPARAÇÕES ENZIMÁTICAS

As enzimas celulase, lipase e pectinase foram avaliadas quanto à quantificação de proteína total e atividade enzimática nas condições recomendadas pela empresa fornecedora e nas condições do processo de biopurga. Também foi analisada a influência do sequestrante na atividade das enzimas.

4.1.1. Determinação da Quantidade de Proteínas

A concentração de proteína das preparações enzimáticas utilizadas foi avaliada segundo o método de Bradford exposto no item 3.2.1.1. Os resultados obtidos nos ensaios estão dispostos na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Valores obtidos para a quantidade de proteína total nas preparações enzimáticas comerciais.

Enzima	Proteína Total (mg/mL)
Cellusoft [®] Cr Conc	0,32 ± 0,02
Lipolase [®] 100 L	24,72 ± 0,77
BioPrep [®] 3000 L	36,01 ± 0,76

Os desvios padrões de pequena escala confirmam que o método utilizado possui boa reprodutibilidade. Aliado a isto, a simplicidade do procedimento experimental torna esta metodologia uma boa escolha na determinação da concentração da quantidade de proteína.

O caldo enzimático que apresentou maior concentração proteica foi o BioPrep[®], seguido pelo Lipolase[®] que apresentou cerca de 10 mg/mL de proteína a menos. Já o Cellusoft[®] possui uma concentração muito mais reduzida, menos de 1% da concentração obtida pelo BioPrep[®].

A determinação da concentração proteica é um fator importante quando associado à discussão da atividade enzimática específica.

Avaliando-se a quantidade de proteínas isoladamente, não se pode afirmar que uma alta concentração proteica esteja relacionada a uma alta atividade enzimática. Isso ocorre, pois a enzima declarada do caldo pode não ser o único componente de natureza proteica presente, além da possibilidade de haver enzimas desnaturadas que não apresentam atividade.

4.1.2. Determinação das Atividades Enzimáticas

As preparações enzimáticas comerciais foram caracterizadas, em suas condições recomendadas de pH e temperatura, conforme os itens 3.2.1.3, 3.2.1.4 e 3.2.1.5, para a atividade celulolítica, lipolítica e pectinolítica, respectivamente.

Os valores obtidos estão expostos na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Atividade principal e secundária dos caldos enzimáticos.

Caldo enzimático	Atividade Total		
	Celulolítica (U _C /mL)	Lipolítica (U _L /mL)	Pectinolítica (U _P /mL)
Cellusoft[®] Cr Conc	1556,57 ± 21,09	-	104,36 ± 2,70
Lipolase[®] 100 L	0,94 ± 0,18	33,24 ± 1,18	52,56 ± 6,98
BioPrep[®] 3000 L	2,21 ± 0,09	-	578,97 ± 11,13

A empresa fornecedora Novozymes declara que a Cellusoft[®] possui atividade celulolítica, a BioPrep[®] possui atividade pectinolítica, enquanto que a Lipolase[®] possui atividade lipolítica. Entretanto, os valores de atividade fornecidos pela empresa não podem ser comparados com os obtidos neste trabalho, pelo fato de as metodologias utilizadas serem diferentes. No trabalho de Fernandes (2002) foi estudada a atividade enzimática da lipase utilizando-se diferentes tipos de substrato. Os resultados mostram que uma mesma preparação enzimática pode apresentar diferentes valores de atividade dependendo do substrato empregado.

Em contrapartida às informações oferecidas pela empresa se mostram incompletas, uma vez que se pode observar na Tabela 4.2 que as preparações enzimáticas apresentam atividades secundárias de

natureza pectinolítica e celulolítica, não apresentando atividade secundária de natureza lipolítica.

Outros estudos também já observaram que preparações enzimáticas comerciais podem apresentar atividades secundárias. Furlan (2012) observou a presença de atividades secundárias nas enzimas – pectinase, celulase e amilase - estudadas.

Já Kalantzi et al. (2010) constataram que na preparação enzimática BioPrep[®] há a presença de atividades secundárias, enquanto que na Lipolase[®] não pode se observar este mesmo comportamento.

Isso ocorre em decorrência do fato destas preparações serem oriundas de processos de fabricação por microrganismos que também produzem, secundariamente, outras enzimas. Assim, pode-se afirmar que os caldos enzimáticos estudados não são puros.

Contudo, a atividade enzimática principal declarada para cada preparação se mostra muito mais forte do que nos caldos cuja presença desta atividade não foi informada. A preparação Cellusoft[®], por exemplo, apresenta uma atividade celulolítica de $1556,57 \pm 21,09$ U/mL, enquanto que os outros dois caldos enzimáticos não apresentam nem 0,15% desta atividade. Já a atividade pectinolítica apresenta-se, relativamente, um pouco mais forte nos caldos em que esta atividade não é declarada, porém ainda muito menor do que o encontrado na BioPrep[®].

A atividade específica destas enzimas, atividade em relação a quantidade de proteína, está explicitada na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Atividade específica das enzimas.

Enzima	Atividade Específica (U/mg)
Celulase	$4864,28 \pm 311,08$
Lipase	$1,34 \pm 0,06$
Pectinase	$16,08 \pm 0,46$

A celulase possui a maior atividade específica encontrada, $4867,28 \pm 311,08$ U/mg.

Ferreira (2012a) estudou a atividade de endoglucanases de vários caldos enzimáticos de celulases e encontrou variadas atividades específicas, sendo que a maior encontrada não apresenta nem 1,5% da preparação Cellusoft[®], comprovando que este é realmente um caldo com elevada atividade específica, conforme informado pela empresa fornecedora.

Já a pectinase da preparação enzimática BioPrep[®] apresentou uma atividade específica de $16,08 \pm 0,46$ U/mg, um pouco superior à encontrada por Kalantzi et al. (2010), 11,93 U/mg. Isso ocorre, pois apesar de ser utilizada a mesma metodologia, os valores de pH e temperatura nos quais a atividade foi verificada se distinguem, sendo que Kalantzi et al. (2010) mensuraram a atividade em pH 9,5 e a 30 °C.

Fernandes (2002) encontrou uma atividade de 44,2 U/mL para a Lipolase. A pequena diferença encontrada neste trabalho, 33,24 U/mL, pode ser decorrente da metodologia empregada na determinação da atividade hidrolítica da lipase. Apesar de ser utilizado o mesmo substrato, pNPP, no estudo de Fernandes (2002) foi utilizado a goma arábica e um surfactante que podem ter contribuído na atividade da lipase.

4.1.2.1. Atividade observada nas condições do processo enzimático

Discutindo-se as faixas dos valores recomendados para pH e temperatura e dos valores de processo declarados pela empresa fornecedora das enzimas, bem como os valores observados na literatura para a aplicação de enzimas no processo de biopurga, foi definido que o meio racional do processo teria pH 6,5 e temperatura de 55 °C. O pH foi controlado com a utilização de tampão fosfato.

Como os valores de pH e temperatura do processo diferem dos valores recomendados para as enzimas, foi avaliada a atividade destas nas condições do processo e comparada com o valor obtido nas condições recomendadas pela empresa fornecedora. As atividades podem ser observadas nos gráficos expostos na Figura 4.1, Figura 4.2 e Figura 4.3.

A celulase foi a única enzima que não teve variação em sua atividade, considerando-se o desvio padrão. Este comportamento já era esperado, pois a celulase é a enzima que possui as condições de processo mais próximas às suas condições recomendadas. A pequena diferença está relacionada ao pH, porém neste intervalo exibido, conforme as informações fornecedores, a atividade pode ser considerada de mesma ordem de valor.

Figura 4.1 – Comparação da atividade celulolítica da preparação enzimática Cellusoft[®] nas condições recomendadas e nas condições do processo de biopurga.

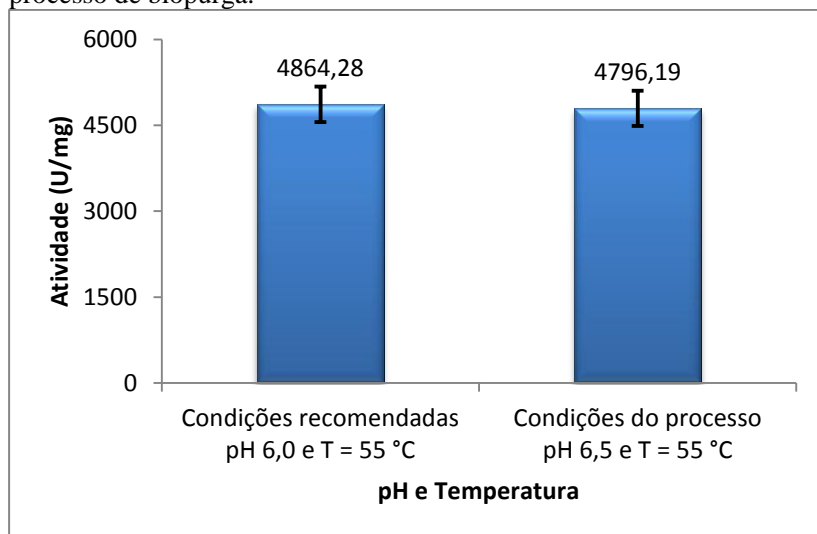
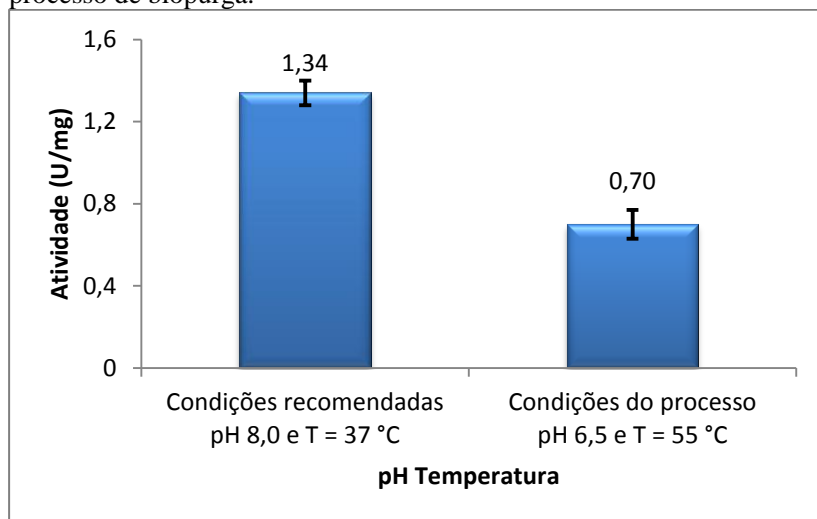
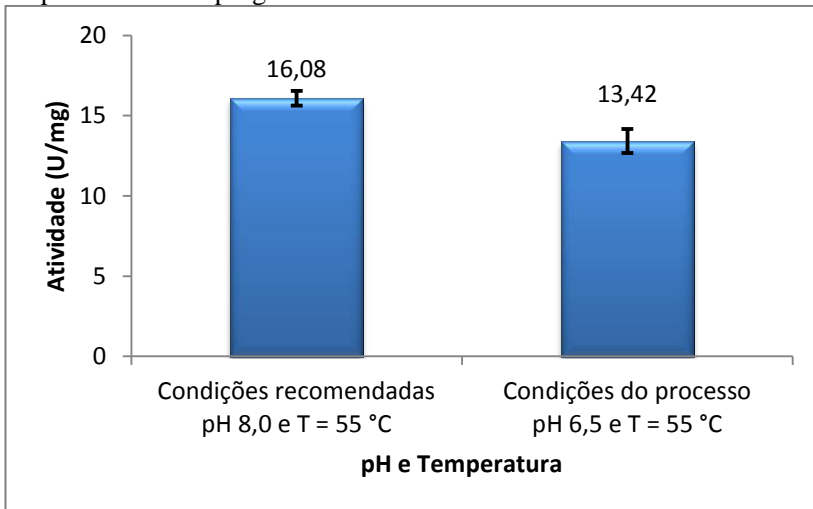


Figura 4.2 – Comparação da atividade lipolítica da preparação enzimática Lipolase[®] nas condições recomendadas e nas condições do processo de biopurga.



Já a lipase apresentou uma queda de 47,71% em sua atividade, a maior variação encontrada. Isso ocorre, pois, tanto em temperatura quanto em pH, as condições recomendadas para a enzima estão distantes das estabelecidas no processo enzimático.

Figura 4.3 – Comparação da atividade pectinolítica da preparação enzimática BioPrep[®] nas suas condições recomendadas e nas condições do processo de biopurga.



A pectinase teve uma queda de 16,56% em sua atividade, sendo este resultado do pH inferior do processo.

A constatação das quedas das atividades abre a discussão para a otimização do processo nos fatores pH e temperatura. Um estudo para determinar estes fatores pode resultar em um processo mais eficaz. Porém, a avaliação não deve ser relacionada à atividade das enzimas e sim às características que se requer da malha tratada. Ao mudar o pH e temperatura pode-se privilegiar uma só enzima que pode ser a principal no processo de biopurga, ou pode-se estabelecer um valor que auxiliará na ação conjunta das três enzimas.

4.1.3. Avaliação da Influência do Sequestrante na Atividade das Enzimas

O algodão cru, como visto no item 2.1.1.1.3, possui metais em sua composição que podem acarretar problemas nos processos de

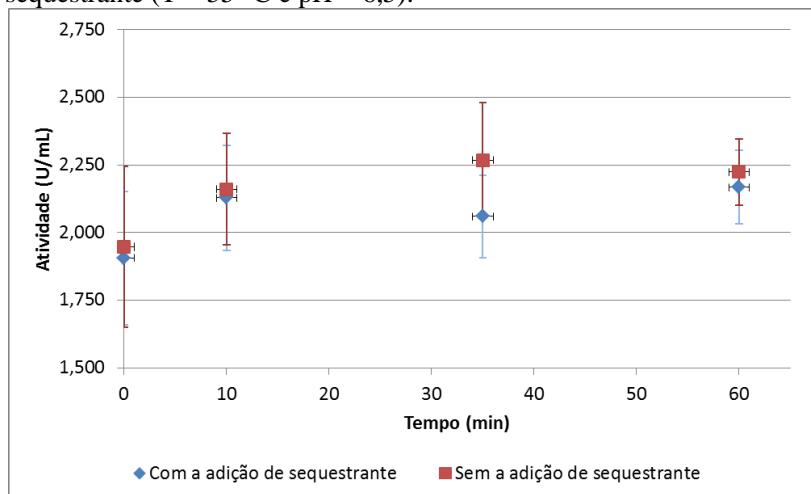
tingimento e de alvejamento. Logo, se faz necessário o uso de um produto químico auxiliar intitulado sequestrante.

O sequestrante, segundo Peruzzo (2003), interage com os íons metálicos presentes no meio aquoso, mantendo-os em solução e evitando assim a formação de compostos insolúveis. A utilização do sequestrante se faz necessária no processamento têxtil a fim de se obter um artigo de qualidade, com tingimento homogêneo e sem danos às fibras.

Porém estudos apontam que a presença de sequestrante no meio reacional pode influenciar na atividade das enzimas.

Com o intuito de avaliar esta influência foram realizados ensaios experimentais conforme o item 3.2.1.6, e os resultados obtidos estão expostos nas Figura 4.4, Figura 4.5 e Figura 4.6.

Figura 4.4 – Comparação da atividade celulolítica da preparação enzimática Cellusoft[®] na presença de sequestrante e na ausência de sequestrante (T = 55 °C e pH = 6,5).



Observa-se que a atividade da enzima celulase parece ter a tendência a ser inferior na presença do sequestrante, principalmente aos 35 min. Porém, considerando-se o desvio padrão do experimento, nada pode se afirmar acerca da influência do sequestrante Seraquest MC-P sobre a atividade da celulase, uma vez que os desvios sobrepõem-se uns aos outros.

Figura 4.5 – Comparação da atividade lipolítica da preparação enzimática Lipolase® na presença de sequestrante e na ausência de sequestrante (T = 55 °C e pH = 6,5).

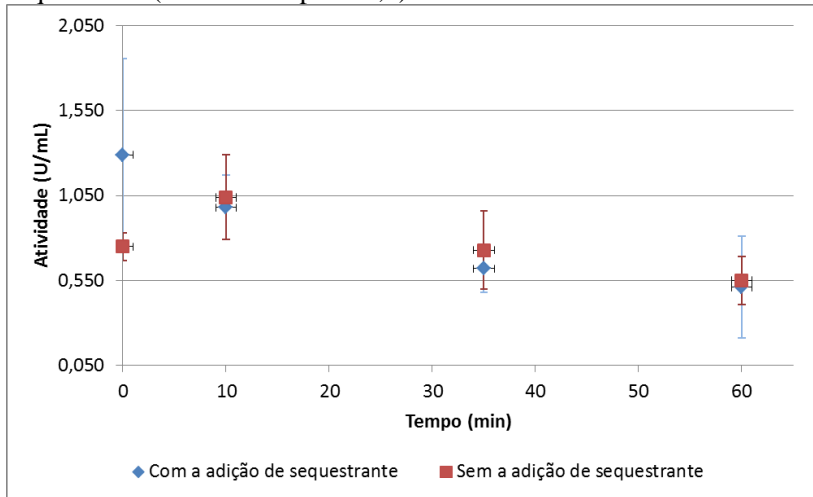
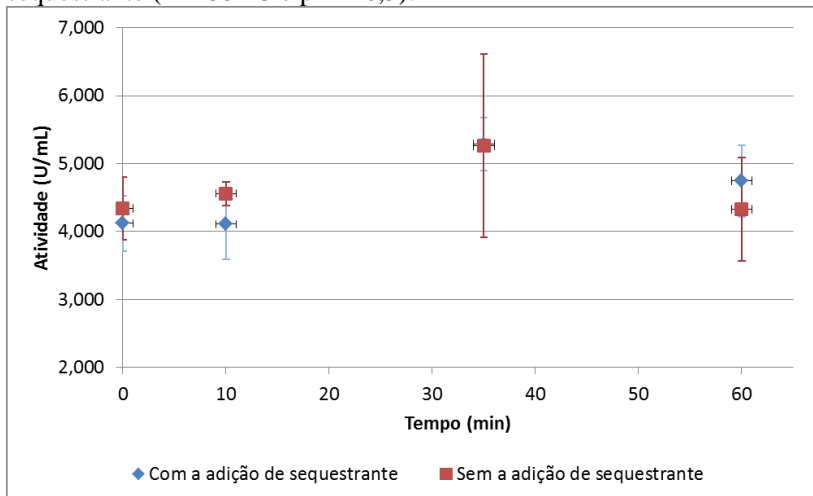


Figura 4.6 – Comparação da atividade pectinolítica da preparação enzimática BioPrep® na presença de sequestrante e na ausência de sequestrante (T = 55 °C e pH = 6,5).



Já para as enzimas lipase e pectinase, a presença de sequestrante ora apresentou atividade superior ao observado sem a presença de

sequestrante e ora apresentou atividade inferior. Baseado neste fato, aliado ao desvio padrão, não se pode afirmar que o sequestrante influencie nas atividades destas enzimas.

Estudos que comprovaram uma influência do sequestrante na atividade da enzima são mais comuns quando se trabalha com agentes quelantes fortes como o EDTA.

Sequestrantes fortes, conforme Tavčer e Preša (2008), podem extrair íons da estrutura das enzimas, induzindo a desativação desta. Um exemplo é a pectinase alcalina que possui íons cálcio (Ca^{2+}) como elemento de ligação que mantém a estrutura tridimensional da enzima, sendo que estes íons podem ser extraídos por quelantes fortes.

Lin et al. (1996) observaram que quelantes metálicos não influenciaram significativamente na atividade da lipase alcalina.

Os resultados observados mostram que o sequestrante Seraquest MC-P se adequa a processos que empreguem as três preparações enzimáticas estudadas, uma vez que não influenciou na atividade destas.

4.2. CARACTERIZAÇÃO DAS MALHAS TRATADAS

O processo de preparação enzimática, biopurga, foi avaliado pela influência do sequestrante em seu resultado final (características das malhas tratadas) e, após a definição do melhor processo, se com adição de sequestrante no início ou após 30 min de reação, foi avaliada a influência das enzimas celulase, lipase e pectinase no processo.

A avaliação foi feita com o auxílio de um planejamento experimental e a caracterização da malha tratada.

Essa caracterização também foi realizada na malha submetida ao processo de purga convencional, a fim de se comparar este processo com o enzimático.

4.2.1. Avaliação da influência do sequestrante nas características posteriores ao tratamento enzimático

Como foi anteriormente avaliado, não se pode concluir se a presença do sequestrante Seraquest MC-P no meio reacional interfere na atividade das enzimas, pois as diferenças de atividade são pequenas e o desvio padrão do experimento é mais elevado que estas diferenças.

Segundo Maller (2008), a atividade de muitas enzimas pode ser fortemente influenciada pela presença de diferentes íons durante a reação de catálise, agindo como cofatores ou inibidores.

Segundo Sharma, Chisti e Banerjee (2001), vários estudos já foram realizados para verificar o efeito de íons metálicos na atividade da lipase. Íons metálicos como Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ag^+ e Hg^+ inibem fortemente a lipase, enquanto que íons como Ca^{2+} e Mg^{2+} não.

O algodão cru, conforme visto na revisão bibliográfica, apresenta em sua composição metais que são liberados durante a lavagem e que podem afetar a atividade das enzimas. Em virtude de o algodão cru ser o substrato no qual as enzimas irão atuar no processo de biopurga e, por possuir características totalmente distintas às dos substratos utilizados na determinação da atividade enzimática, foi realizado um estudo da influência do sequestrante diretamente na ação das enzimas sobre o algodão cru.

A malha crua foi tratada pelos processos de biopurga detalhados no item 3.2.2.2. Logo, os distintos procedimentos – (I) adição de sequestrante no início do processo, (II) adição do sequestrante após 30 min de reação – foram avaliados através da caracterização das malhas tratadas de acordo com as metodologias explicitadas no item 3.2.3.

Todas as caracterizações foram feitas pelo menos em triplicata e os resultados obtidos estão expostos na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 – Comparação entre os resultados dos processos de lavagem enzimática com a adição de sequestrante no início do procedimento e com a adição de sequestrante após 30 min de reação.

Caracterização	Biopurga com adição de sequestrante no início do processo (I)	Biopurga com adição de sequestrante após 30 min de reação (II)
Perda de massa (%)	7,08 ± 0,17	6,88 ± 0,08
Grau de alvura (°Berger)	24,99 ± 0,73	24,44 ± 0,37
Diferença de cor após tingimento (ΔE^*ab)	0,37 ± 0,14	0,51 ± 0,22
Solidez à lavagem	4,5 ± 0,0	4,5 ± 0,0
Solidez à luz	4,5 ± 0,0	4,5 ± 0,0
Solidez à água clorada	3,33 ± 0,29	3,33 ± 0,29
Grau de remoção de pectina (%)	87,47 ± 8,88	79,88 ± 3,28
Hidrofilidade (s)	14,67 ± 2,52	15,58 ± 2,61

A condição utilizada para o estudo da influência do sequestrante foi a condição máxima do planejamento experimental.

Observa-se que os valores apresentados nas caracterizações são, em alguns casos, iguais para os dois processos, como no caso dos testes de solidez e, no restante são de mesma ordem ao se observar o desvio padrão.

Assim, como não houve uma constatação de influência negativa do sequestrante no processo, a biopurga com adição de sequestrante no início do processo foi selecionada como a metodologia padrão para as seguintes etapas deste trabalho.

Csiszár et al. (2001) observaram a influência da adição do agente quelante EDTA ao banho enzimático no processo de pré-tratamento do algodão desengomado. A perda de massa gerada pelo tratamento contendo enzima e EDTA foi igual ou maior do que na ação isolada da enzima. A luminosidade do algodão tratado também foi avaliada e notou-se em todos os ensaios um acréscimo de luminosidade ao se utilizar o EDTA no processo.

4.2.2. Caracterização da malha purgada por lavagem alcalina ou biopurga

As malhas tratadas pelo processo de biopurga, conforme o planejamento experimental, ou de purga convencional foram caracterizadas quanto à perda de massa ocasionada pelo processo, ao grau de alvura, ao grau de pectina removida, à hidrofiliabilidade, à cor obtida com um tingimento padrão realizado nas malhas tratadas, bem como à solidez destas amostras tingidas.

Todos os resultados estão expostos na Tabela 4.5. Os códigos de níveis do planejamento experimental do processo de biopurga estão explicitados no item 3.3.

Tabela 4.5 – Caracterização das malhas tratadas por biopurga, conforme planejamento experimental, das malhas tratadas por purga convencional e da malha crua.

	Caracterização					
	Perda de Massa (%)	Grau de Alvura (°Berger)	Diferença de Cor (ΔE^{*ab})*	Solidez à Água Clorada	Grau de Remoção de Pectina (%)**	Hidrofilidade (s)
Biopurga (0 0 0)	7,19 ± 0,03	24,35 ± 0,10	0,32 ± 0,06	3,50 ± 0,50	40,39 ± 0,61	18,33 ± 3,51
Biopurga (-1 -1 -1)	5,52 ± 0,12	22,54 ± 0,56	0,40 ± 0,07	3,67 ± 0,58	19,19 ± 2,09	108,33 ± 21,50
Biopurga (+1 -1 -1)	5,96 ± 0,16	23,13 ± 0,29	0,52 ± 0,28	3,33 ± 0,29	20,13 ± 4,39	51,67 ± 6,66
Biopurga (-1 +1 -1)	5,63 ± 0,10	24,36 ± 0,60	0,39 ± 0,18	3,67 ± 0,58	20,59 ± 2,84	41,67 ± 4,16
Biopurga (-1 -1 +1)	6,93 ± 0,02	23,37 ± 0,41	0,22 ± 0,18	4,33 ± 0,29	74,61 ± 1,93	35,33 ± 4,51
Biopurga (+1 +1 -1)	6,20 ± 0,10	24,23 ± 0,24	0,62 ± 0,20	4,33 ± 0,29	24,61 ± 6,07	34,33 ± 3,21
Biopurga (+1 -1 +1)	6,92 ± 0,16	24,12 ± 0,26	0,62 ± 0,22	3,50 ± 0,50	82,20 ± 6,55	15,67 ± 3,79
Biopurga (-1 +1 +1)	6,71 ± 0,05	24,50 ± 0,27	0,56 ± 0,32	4,33 ± 0,29	76,32 ± 5,90	19,67 ± 3,06
Biopurga (+1 +1 +1)	7,08 ± 0,17	24,99 ± 0,73	0,37 ± 0,14	3,33 ± 0,29	87,47 ± 8,88	14,33 ± 2,52

Purga Convencional	6,80 ± 0,10	27,45 ± 0,43	-	4,00 ± 0,00	39,01 ± 0,93	16,67 ± 3,06
Malha Crua	-	12,16 ± 0,44	1,43 ± 0,57	4,00 ± 0,50	-	***

* Foi utilizada como padrão a malha tingida que foi tratada previamente com a purga convencional.
 ** Como referências foram empregadas a malha crua (100% de pectina) e a malha alvejada (0% de pectina).
 *** A malha crua não apresentou nenhuma hidrofiliidade.

4.2.2.1. Perda de Massa

Os tratamentos realizados sobre a malha crua, tanto os correspondentes ao planejamento experimental quanto ao tratamento convencional, purga alcalina, geram uma perda de peso ao substrato têxtil.

Segundo Calafell e Garriga (2004), a perda de peso pode ser uma indicação indireta da perda das impurezas da fibra de algodão, mas também pode indicar a degradação da própria fibra de celulose, ocorrência que conduz à um produto final de qualidade inferior.

As perdas de massa obtidas durante os ensaios realizados estão expostas na Tabela 4.5 e representadas graficamente na Figura 4.7.

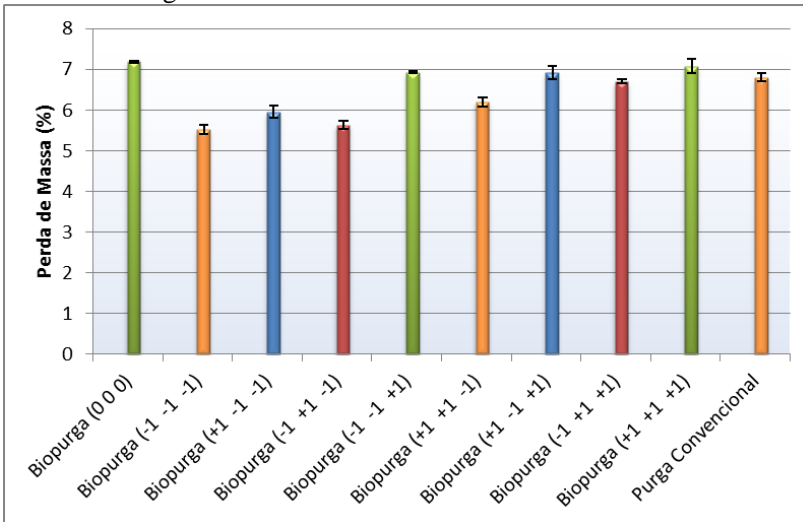
A menor perda de massa obtida é referente ao processo de lavagem com tensoativo e sequestrante, 5,52%. Este é o processo mais brando realizado e essa perda de massa é consequência da remoção de materiais que possam, através de atrito ou solubilização, serem retirados da malha crua.

Tzanov et al. (2001) observaram que a presença de um surfactante no banho da biopurga gerou uma perda de massa 270,6% superior ao do processo realizado somente com água destilada e a enzima pectinase. Isto mostra que a utilização de um surfactante compatível com a enzima ocasiona um processo de lavagem mais eficaz.

Ao se avaliar a influência das enzimas isoladamente, em virtude da celulose, como visto na revisão bibliográfica, ser o componente de maior porcentagem na fibra de algodão (95%), espera-se que a celulase gere uma

perda de massa superior às outras enzimas. Porém, como se pode observar, a biopurga composta exclusivamente pela celulase apresentou uma perda de massa de 5,96%, somente um pouco superior à da biopurga sem a adição de enzimas. Isso pode ser explicado pela presença da cutícula que não permite o acesso da celulase às camadas das fibras que possuem maior concentração de celulose, sendo que esta enzima consegue atacar somente fibrilas que estejam expostas.

Figura 4.7 – Resultado da perda de massa nos processos de preparação da malha de algodão.



Já a lipase, isoladamente, não acarretou em um acréscimo de perda de massa em relação à apresentada pela lavagem com tensoativo e sequestrante. A biopurga composta pela lipase gerou uma perda de 5,63% de massa, que com o desvio padrão pode ser considerada de mesma ordem da biopurga sem presença de enzimas. A lipase ataca as ceras que constituem cerca de 0,6% da fibra de algodão. Porém estas ceras estão parcialmente disponíveis, já que a pectina age como uma cola que impede em parte a disponibilidade do substrato da lipase.

A grande responsável pela retirada de impurezas é a pectinase, uma vez que essa enzima possui seu substrato disponível ao ataque e esta é uma das impurezas não celulósicas em maior concentração. A perda de massa apresentada pela ação exclusiva da pectinase foi de 6,93%.

A perda de massa apresentada nos ensaios de combinação de enzimas não apresentou grandes variações, sendo que somente a combinação de celulase e lipase se distanciou da média com uma perda de massa menor. Isso ocorre, pois, como discutido anteriormente, o substrato destas enzimas não se encontram muito disponíveis e elas necessitam do auxílio da pectinase.

Essa pequena diferença entre as perdas apresentadas nos tratamentos de combinação enzimática, principalmente comparando-se a biopurga composta por todas as enzimas em sua condição máxima e na condição média, parece sugerir que, em termos de perda de massa, a combinação das enzimas com suas atividades médias consegue alcançar o máximo efeito no tempo do processo, 7,19%.

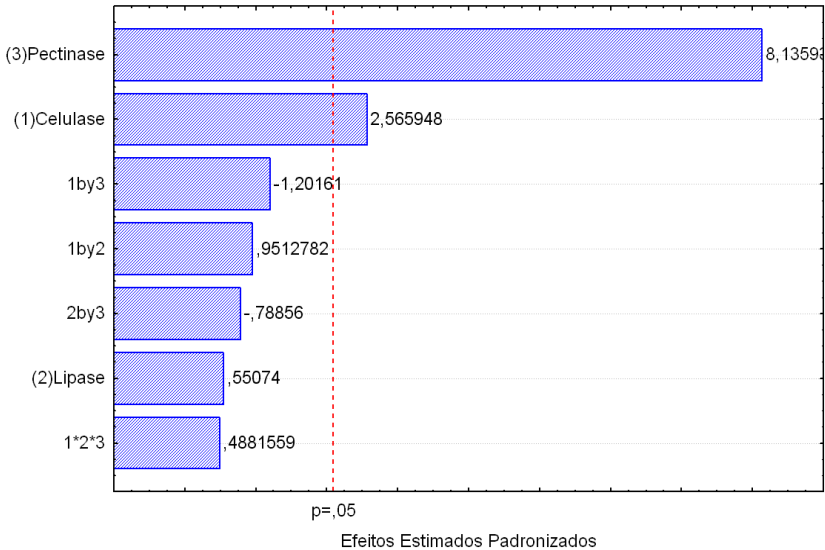
Vigneswaran, Ananthasubramanian e Anbumani (2012) observaram que a combinação enzimática lipase/celulase para o processo de biopurga não apresentou variações na perda de massa do artigo têxtil a medida que se aumentava a concentração das enzimas, já as combinações celulase/pectinase e pectinase/lipase apresentaram variação, principalmente com relação à enzima pectinase. Isso corrobora o observado nos resultados deste trabalho, com a pectinase como a enzima com maior expressão na perda de massa originada pelo tratamento enzimático.

Um ponto a se discutir é a perda de massa apresentada pela purga convencional. Ela é inferior em comparação com algumas biopurgas. Por se designar ao tingimento de cores escuras, a lavagem alcalina selecionada para este trabalho não é tão agressiva quanto à que se realiza para o tingimento de cores claras, purga mais comumente encontrada nos estudos que desenvolvem a biopurga em comparação à purga convencional.

Abdel-Halim, Fahmy e Fouda (2008) encontraram para a purga alcalina uma perda de massa de 10%. Porém, este tratamento utiliza uma concentração de hidróxido de sódio em relação à massa de substrato muito mais elevada que à utilizada neste trabalho, além de o tempo do processo ser de 60 min.

Apesar de alguns processos enzimáticos apresentarem valores superiores de perda de massa em relação à lavagem alcalina, sabe-se que o processo convencional ao fazer a retirada das impurezas também ataca a celulose, podendo enfraquecer a fibra. Enquanto que no processo de biopurga as enzimas pectinase e lipase atacam especificamente as impurezas com o auxílio da celulase. Caso a ação da celulase degrade a fibra, pode-se diminuir a sua concentração, sendo possível controlar essa degradação, o que não ocorre com a lavagem convencional.

Figura 4.8 – Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre a perda de massa das malhas no processo de biopurga.



A análise estatística realizada permite verificar através do gráfico de Pareto (Figura 4.8) que a ação isolada das enzimas pectinase e celulase se mostraram estaticamente significativas para a perda de massa resultante do tratamento enzimático. Esta análise comprova o que foi discutido com relação à ação exclusiva das enzimas e elucida que as pequenas diferenças mostradas nos processos com lipase e combinação de enzimas não foram expressivas.

4.2.2.2. Grau de Alvura

Alguns pigmentos naturais da fibra de algodão podem ser removidos na lavagem do substrato têxtil, uma vez que estes pigmentos se encontram adsorvidos às substâncias pécticas e proteicas, impurezas retiradas durante o processo de purga alcalina ou biopurga (KARAPINAR e SARIISIK, 2004).

Assim, mediu-se o grau de alvura, em °Berger, das malhas tratadas por lavagem enzimática, a fim de se observar a influência de cada enzima e, para grau de comparação, foram realizadas a medida de grau de alvura de malha crua e da malha tratada por lavagem alcalina.

Os resultados obtidos encontram-se dispostos na Tabela 4.5 e representados graficamente na Figura 4.9.

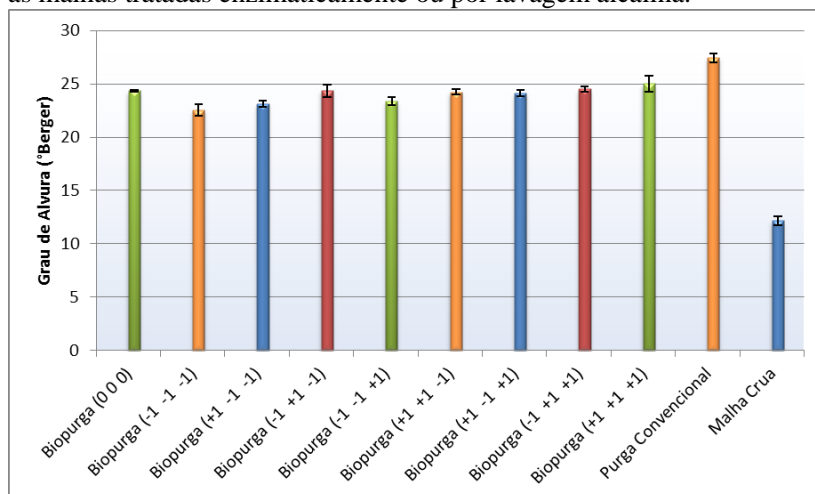
Primeiramente pode-se notar que todas as lavagens realizadas na malha resultaram em um acréscimo relevante do grau de alvura em relação à malha crua que apresentou 12,16 °Berger.

Nos processos de biopurga observa-se que não houve grandes diferenças no grau de alvura apresentado pelas distintas combinações enzimáticas, variando de 23,13 °Berger – biopurga composta somente por celulase – a 24,99 °Berger – biopurga composta pelas três enzimas na sua condição máxima. Estes tratamentos enzimáticos tiveram um pequeno acréscimo em relação ao processo de lavagem sem a adição de enzimas que apresentou 22,55 °Berger.

O tratamento com maior grau de branco foi a purga convencional, 27,48 °Berger. Contudo, as biopurgas apresentaram um valor muito próximo, sendo cerca de, em média, 12% menor. O melhor valor apresentado entre os tratamentos enzimáticos é 8,96% menor que o observado na malha tratada convencionalmente.

Segundo Freitas (2009), o grau de alvura possui uma relação com o surfactante, sendo que o aumento da concentração de surfactante aumenta o grau de branco das amostras biopurgadas.

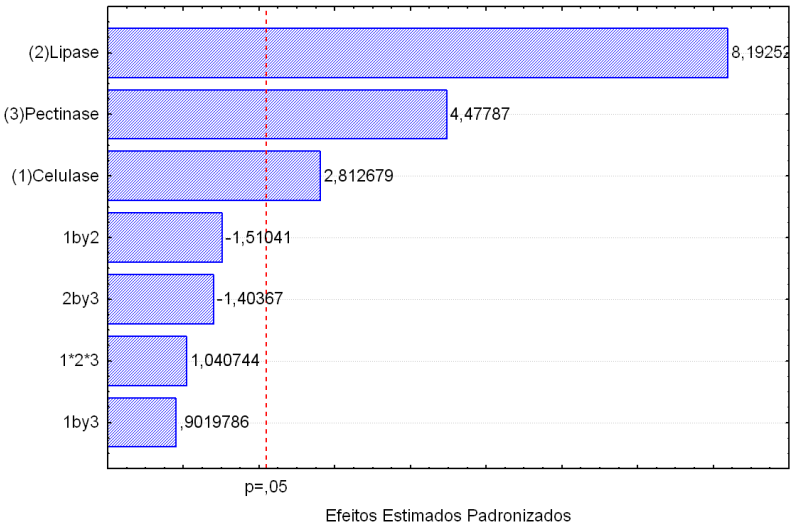
Figura 4.9 – Resultado do ensaio de grau de alvura para a malha crua e as malhas tratadas enzimaticamente ou por lavagem alcalina.



A obtenção de um branqueamento maior pode ser obtida com o aumento do tempo de reação e/ou com a aplicação de uma maior atividade enzimática, como observado por Kalantzi et al. (2008). Porém, deve-se salientar que a busca de um grau de alvura elevado é mais propício para o tingimento de cores claras. No tingimento de cores escuras, a alta concentração de corantes diminui a influência do grau de branco do substrato e o pequeno desvio que talvez seja gerado pode ser minimizado ou excluído com um ajuste na concentração dos corantes. Assim, a opção de elevar o tempo de reação e/ou atividade das enzimas não deve ser considerada para aumentar somente o grau de alvura, uma vez que esta característica não é de extrema importância para o posterior tingimento de cores escuras e, além disso, elevaria os custos do processo.

A análise estatística de significância é exposta através do gráfico de Pareto da Figura 4.10.

Figura 4.10 – Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre o grau de alvura das malhas após o processo de biopurga.



O gráfico mostra que as enzimas lipase, pectinase e celulase possuem uma significância no grau de alvura, enquanto que as combinações destas não. A lipase é a enzima que mais influencia na obtenção de um melhor grau de alvura.

4.2.2.3. Grau de Tingimento

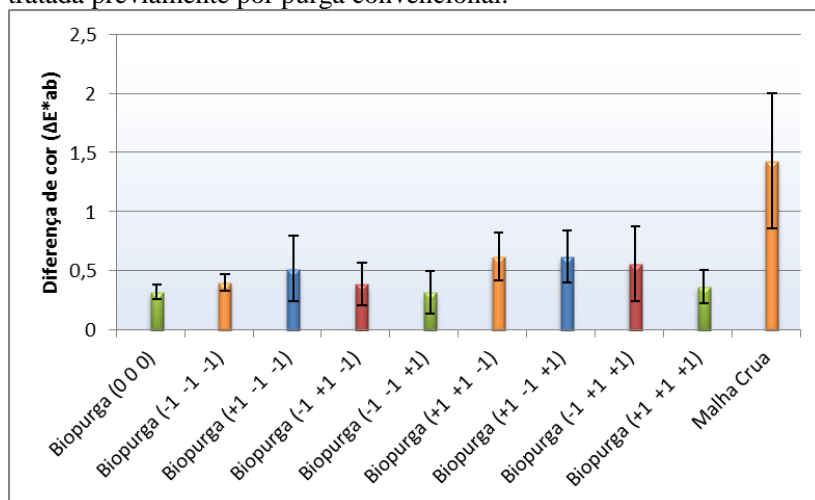
O tingimento descrito na seção 3.2.3.5.1 foi realizado na malha crua e nas malhas previamente tratadas pelo processo alcalino ou pelos processos correspondentes ao planejamento experimental.

Em virtude de o objetivo deste trabalho ser o desenvolvimento de um processo enzimático que seja equivalente ou superior ao processo de lavagem alcalina, o padrão definido para a análise da cor das malhas tingidas foi o correspondente processo realizado na malha pré-tratada por purga convencional.

Para a análise de cor foi avaliado o parâmetro ΔE^*ab que dimensiona a diferença de cor em relação ao padrão. Este fator é calculado com base nos parâmetros L^* , a^* e b^* . Quanto maior o valor de ΔE^*ab , maior será a diferença da amostra ao padrão.

Os valores expostos na Tabela 4.5 e representados graficamente pela Figura 4.11 são o resultado da diferença de cor obtida nos tingimentos da malha crua e das malhas biopurgadas.

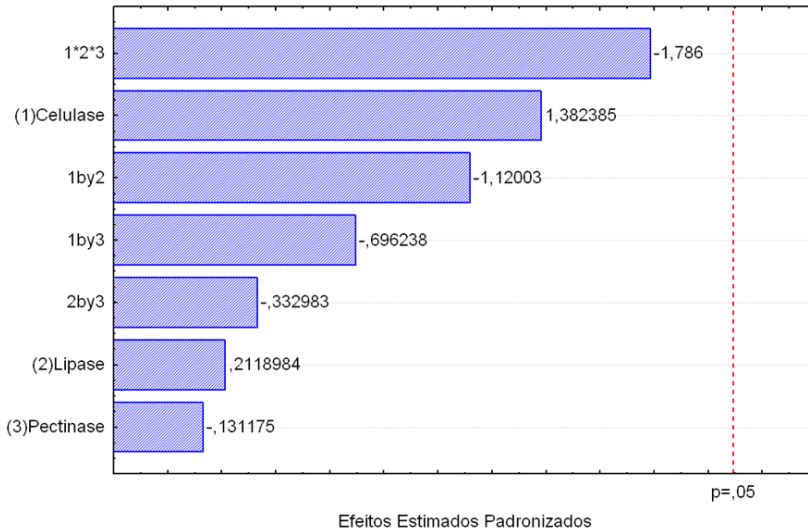
Figura 4.11 – Resultado do ensaio de determinação de diferença de cor após o tingimento da malha crua e das malhas biopurgadas (planejamento experimental), tendo-se como padrão a malha tingida tratada previamente por purga convencional.



Pode-se observar que a diferença de cor obtida (ΔE^*ab) varia de 0,22 a 0,62 para as malhas biopurgadas. Estes valores correspondem a

uma faixa bem pequena e, com os desvios padrões elevados, não se pode avaliar a influência do tipo de tratamento enzimático realizado na fase de preparação da malha. Isto também pode ser concluído com o auxílio do gráfico de Pareto exposto na Figura 4.12. Nenhuma ação isolada ou composta das enzimas foi significativa na resposta ao tingimento para um nível de significância de 5%.

Figura 4.12 – Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre o grau de cor obtido após o tingimento com as malhas tratadas pelo processo de biopurga.

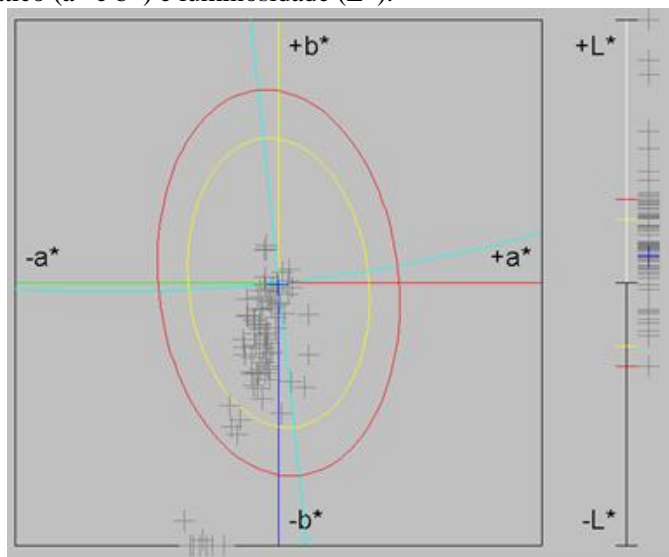


Um dos fatores que contribui para a cor final do tingimento é o grau de alvura da malha tratada e este, como discutido anteriormente, também não apresentou grande variação. Somente a malha crua apresentou um grau de alvura distinto e, como pode se observar, a diferença de cor obtida pela malha crua foi muito superior, 1,43.

O espaço CIELAB mostrou que o tingimento da malha crua resultou em um artigo mais claro, menos vermelho e mais azul do que o tingimento da purga alcalina. Isso revela que a diferença de cor não corresponde somente ao grau de alvura, pois, se este fosse o caso, o resultado seria uma cor apenas com luminosidade menor. Assim, as impurezas presentes na malha crua impediram que o processo de tingimento tivesse a mesma eficiência que o realizado na malha tratada,

uma vez que a concentração de corante fixado foi menor, ocasionando um tom mais claro.

Figura 4.13 – Medidas de cor realizadas no espaço CIELAB – eixo cromático (a^* e b^*) e luminosidade (L^*).



A Figura 4.13 representa o espaço CIELAB gerado para o padrão utilizado, sendo os pontos as medidas realizadas das amostras. Pode-se notar que a maioria das amostras apresentou uma luminosidade maior e se mostraram mais azuis. Quanto ao eixo a^* , a maioria dos pontos se mostrou menos vermelho, contudo a diferença é muito pequena.

Uma análise mais específica quanto à resposta ao tipo de tratamento não pode ser realizada, pois as variações obtidas nas amostras preparadas por um mesmo tratamento foram significativas.

Outro fator a ser observado é a geração de manchas na malha tingida. Segundo Lin e Hsieh (2001), a presença de impurezas de natureza hidrofóbica, como ceras e pectinas, impede um tingimento uniforme do artigo têxtil. Esse comportamento pode ocasionar manchas e, neste trabalho, estas foram observadas com maior distinção no tingimento da malha crua e da malha tratada pela lavagem sem a presença de enzimas.

4.2.2.4. Solidez

A solidez à lavagem de um artigo têxtil está relacionada à força da interação entre o corante utilizado no tingimento e a fibra do substrato, enquanto que a solidez à luz está diretamente ligada ao grupo cromóforo do corante.

As metodologias utilizadas nos testes de solidez são normalizadas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas, porém, conforme Piccoli (2008), não se possui no Brasil legislação ou publicação oficial acerca de padrões para notas mínimas exigidas. As empresas, conforme a aplicação de seu produto, necessidades dos consumidores e critérios de qualidade estabelecem valores dentro das escalas de avaliação da solidez.

Neste trabalho será reconhecida como solidez satisfatória a malha tingida que receber nota igual ou superior que 4,5.

Foram realizados três testes de solidez nas malhas tingidas, solidez à lavagem com uma malha de algodão como tecido testemunha, solidez à luz e solidez à água clorada.

Todas as malhas tingidas obtiveram nota 4,5 nos testes de solidez à lavagem e solidez à luz. Isso constata que o corante utilizado se adequa ao substrato, pois possui forte interação com a fibra de algodão, e que o processo de tingimento é eficiente, uma vez que não há uma quantidade de corante hidrolisado na malha tingida que irá diminuir a nota de solidez.

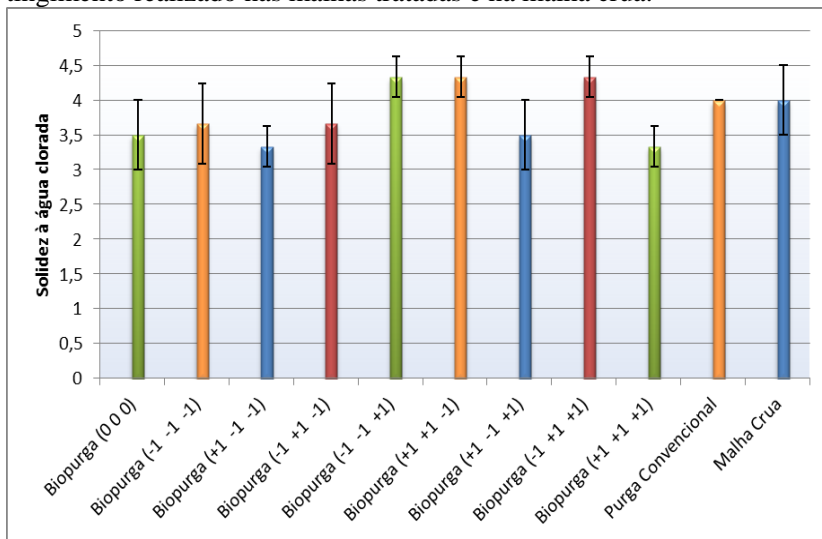
Todos os tratamentos enzimáticos realizados se igualaram à purga alcalina já que todos obtiveram a mesma nota de solidez à luz e de solidez à lavagem.

Já a solidez à água clorada obteve notas diferentes de acordo com o tratamento de preparação realizado anteriormente ao tingimento. As notas observadas estão expostas na Tabela 4.5 e representadas graficamente na Figura 4.14.

Observa-se que todos os ensaios apresentaram notas de 3,33 à 4,33. Nenhum proporcionou a nota 4,5. Isso já era esperado, pois a lavagem com água clorada é um teste de solidez muito mais agressivo que o teste de solidez à lavagem.

Em comparação ao tratamento do planejamento experimental sem a adição de enzimas, a biopurga composta por lipase não alterou o resultado, 3,67, enquanto que a biopurga composta exclusivamente pela pectinase aprimorou a nota de solidez para 4,33 e a biopurga composta pela celulase abateu a nota para 3,50.

Figura 4.14 – Resultado do ensaio de solidez à água clorada do tingimento realizado nas malhas tratadas e na malha crua.



A melhora da solidez com a malha tratada por pectinase pode ser decorrente da liberação de mais hidroxilas durante o ataque à camada de pectina, favorecendo uma melhor fixação do corante reativo.

Já a celulase ao fragmentar a molécula de celulose libera partículas conhecidas como pó de algodão. Os corantes reagem com este pó e durante a lavagem com água clorada estas partículas podem se desprender e causar assim uma nota de solidez mais baixa.

Na ação conjunta da celulase com a lipase, a última parece inibir um pouco o efeito negativo da celulase sobre a solidez à água clorada da malha tingida. Já quando no banho enzimático há a presença de celulase e pectinase, há uma aparente melhora na nota de solidez, porém não se pode afirmar devido ao desvio padrão.

Quando a biopurga consiste no conjunto lipase e pectinase, a lipase não interfere no efeito positivo da pectinase.

Os tratamentos compostos pelas três enzimas nas condições máximas e médias não apresentarem grande diferença, sendo a nota de solidez ligeiramente melhor no processo médio sugere que a menor concentração de celulase foi mais propícia.

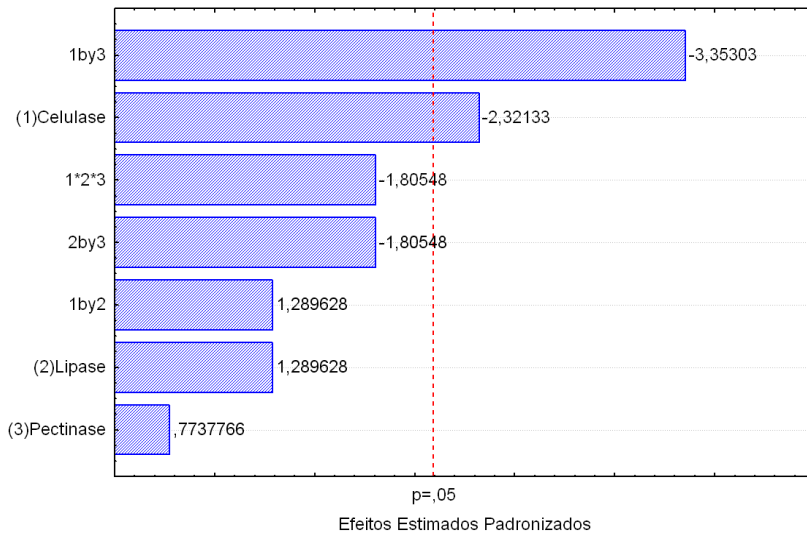
Comparando-se os tratamentos enzimáticos e o de purga convencional à malha crua, nota-se que a presença de celulase influi negativamente para a nota de solidez à água clorada e a pectinase parece

auxiliar na obtenção de uma nota mais alta, já a lavagem alcalina nada interfere na nota.

Kalantzi et al. (2010) observaram que os tecidos tratados por enzimas apresentam um grau de solidez à lavagem mais elevado que os que passam pelo tratamento alcalino convencional.

O gráfico de Pareto na Figura 4.15 mostra que a ação isolada da celulase e a ação desta em conjunto com a pectinase possuem um efeito significativo estatisticamente. Como se pode observar pelo sinal dos números, esse efeito é negativo sobre a nota de solidez à água clorada.

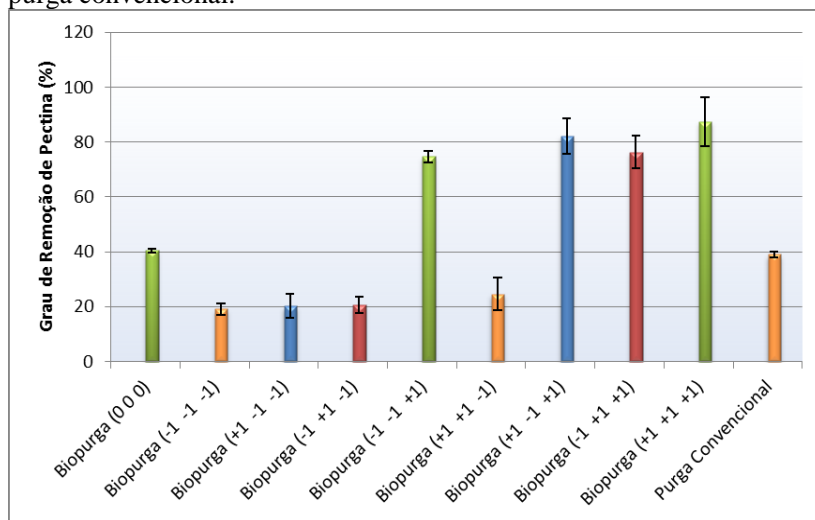
Figura 4.15 – Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre a nota de solidez à água clorada das malhas tingidas após o tratamento enzimático.



4.2.2.5. Grau de Remoção de Pectina

A pectina, como visto na revisão bibliográfica, é uma impureza não celulósica que atribui ao algodão cru a característica hidrófoba. Assim, uma das medidas para tornar o substrato têxtil hidrofílico é a retirada da pectina. O grau de remoção causado pelos tratamentos foi dimensionado através da metodologia exposta no item 3.2.3.3, tendo-se como referência a malha alvejada (100% de remoção) e a malha crua (0% de remoção). Os valores obtidos estão expostos na Tabela 4.5 e representados graficamente pela Figura 4.16.

Figura 4.16 – Resultados dos ensaios de determinação do grau de remoção de pectina nas malhas tratadas pelo processo de biopurga e de purga convencional.



A fervura da malha com tensoativo e sequestrante resultou em uma remoção de pectina de 19,19%, o menor valor encontrado. Porém, a ação exclusiva da enzima celulase e a ação exclusiva da enzima lipase praticamente não acrescentaram poder de remoção da pectina, apresentando valores de 20,13% e 20,59%, respectivamente, que, analisando o desvio padrão, podem ser considerados de mesma ordem de valor do tratamento sem enzimas. Já a interação das duas enzimas, celulase e lipase, apresentou um grau de remoção de 24,61%, um pouco superior ao encontrado na ação isolada delas.

A enzima pectinase é a que mostrou o maior poder de remoção da pectina, agindo isoladamente, com 74,61%. Este resultado já era aguardado, uma vez que a pectinase atua especificamente na pectina. Em relação à lavagem sem a presença de enzimas, houve um acréscimo de 74,28% da remoção de pectina.

Em estudos realizados por Furlan (2012) a remoção de substâncias pécicas alcançou seu maior patamar, 91%, com a concentração máxima de pectinase analisada.

Vigneswaran, Ananthasubramanian e Anbumani (2012) observaram que a taxa de remoção da pectina aumenta com o acréscimo de concentração da enzima pectinase e com a elevação do tempo e da temperatura do processo de biopurga. O melhor resultado encontrado foi

de 78,41% de remoção de pectina ao se utilizar 6% de pectinase a 60 °C durante 60 min.

A combinação da pectinase com uma segunda enzima apresentou valores superiores ao da ação isolada da pectinase, sendo que a combinação com a celulase apontou maior remoção de pectina (82,20%) do que a combinação com a lipase (76,32%).

O valor superior da remoção de pectina resultante da ação da pectinase na presença de celulase pode ser uma evidência de um possível sinergismo entre estas duas enzimas. Alguns estudos já constataram uma melhora na ação da pectinase com a presença de celulase no banho, como citado na revisão bibliográfica.

Segundo Li e Hardin (1998), a ação das pectinases gera mais espaços disponíveis na camada da parede primária para o ataque da celulase, enquanto que a ação das celulases cria mais sítios disponíveis na camada de substâncias pécnicas para a digestão da pectinase. Essa ação conjunta, sinergismo, resulta em uma lavagem mais eficaz tanto no quesito velocidade total do processo quanto na uniformidade do tratamento.

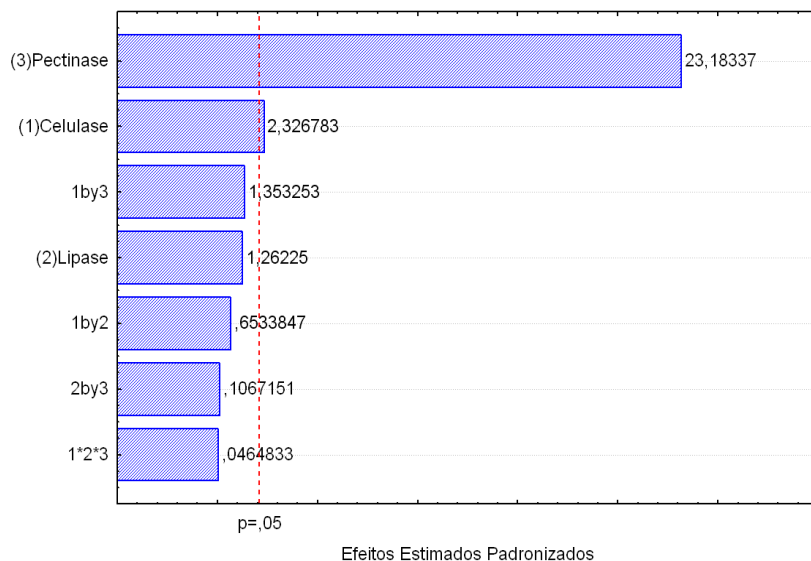
Porém, esse acréscimo do poder de remoção de pectina na biopurga composta por pectinase e celulase também pode ser um efeito de acréscimo de pectinase, uma vez que a preparação enzimática Cellusof[®] apresenta uma pequena atividade pectinolítica, fato detectado no estudo das preparações enzimáticas discutido no item 4.1.2.

A biopurga na qual as três enzimas, celulase, lipase e pectinase, atuam com sua atividade máxima foi o tratamento que resultou em uma maior remoção de pectina, 87,47%. Já a biopurga composta pelas três enzimas com seus valores médios apresentou 40,39% de remoção de pectina, 48,18% do observado em sua condição máxima.

Comparando-se os tratamentos enzimáticos à purga convencional, constata-se que os processos nos quais a pectinase atua com sua maior atividade possui um grau de perda de pectina muito mais elevado que o da lavagem alcalina. Já o processo no qual atuam todas as enzimas em seus valores médios possui a mesma ordem de grau de remoção da pectina.

Com isso, pode-se afirmar que em relação à remoção de pectina o tratamento enzimático pode se equivaler ou ser superior à lavagem alcalina, dependendo, principalmente, da atividade de pectinase empregada no processo. Além disso, a presença de celulase no banho pode tornar a ação da pectinase sobre a camada de pectina mais eficaz.

Figura 4.17 – Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre o grau de remoção de pectina nas malhas tratadas pelo processo de biopurga.



A prevalência do efeito da pectinase na remoção da pectina e a pequena contribuição da celulase podem ser observadas na análise feita com o auxílio do gráfico de Pareto (Figura 4.17). Este mostra que a ação destas enzimas são estatisticamente significativas para um nível de significância de 5%.

Como a interação entre as enzimas pectinase e celulase, conforme o gráfico de Pareto, não é estatisticamente significativa, a melhora no poder de remoção de pectina na ação conjunta destas enzimas, provavelmente se dá pelo efeito de adição de atividade pectinolítica encontrada no caldo enzimático Cellusof[®].

4.2.2.6. Hidrofilidade

A principal característica que se espera conferir ao algodão durante os processos de purga convencional ou biopurga é a hidrofilidade. A retirada das impurezas não celulósicas atribui à malha o poder de absorção da água, possibilitando que os processos conseguintes de beneficiamento sejam eficientes.

Logo, será realizada a análise estatística a fim de se encontrar um modelo para prever o tempo de absorção de uma gota pela malha tratada

de acordo com as atividades das enzimas celulase, pectinase e lipase e de suas interações. Os valores encontrados para os diferentes tratamentos realizados conforme o planejamento experimental encontram-se expostos na Tabela 4.6 e representados graficamente na Figura 4.18.

Tabela 4.6 – Tempo de umectação apresentado pelas malhas tratadas previamente pelo processo de biopurga (planejamento experimental).

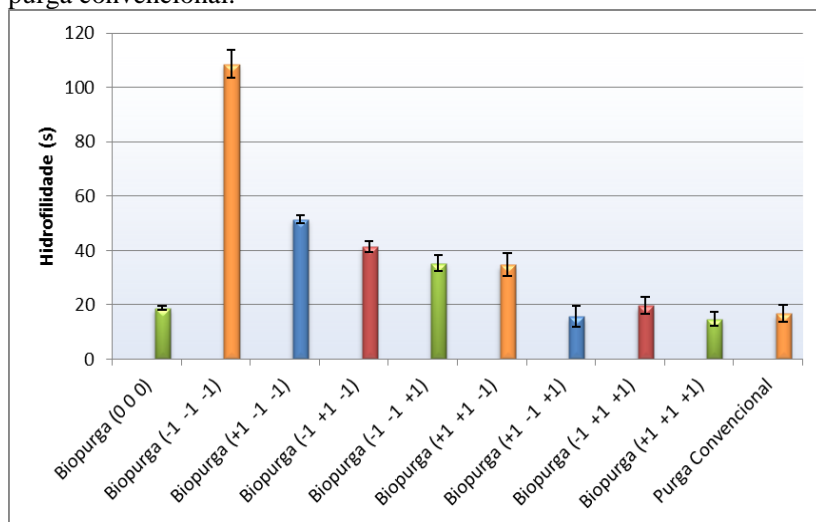
Ensaio	Atividade (U/g de substrato)			Hidrofilidade (s)
	Celulase	Lipase	Pectinase	
1	0 (-1)	0 (-1)	0 (-1)	132
2	3,580 (+1)	0 (-1)	0 (-1)	50
3	0 (-1)	0,236 (+1)	0 (-1)	37
4	3,580 (+1)	0,236 (+1)	0 (-1)	38
5	0 (-1)	0 (-1)	0,868 (+1)	40
6	3,580 (+1)	0 (-1)	0,868 (+1)	13
7	0 (-1)	0,236 (+1)	0,868 (+1)	23
8	3,580 (+1)	0,236 (+1)	0,868 (+1)	12
9	1,790 (0)	0,118 (0)	0,434 (0)	15
10	0 (-1)	0 (-1)	0 (-1)	103
11	3,580 (+1)	0 (-1)	0 (-1)	59
12	0 (-1)	0,236 (+1)	0 (-1)	45
13	3,580 (+1)	0,236 (+1)	0 (-1)	32
14	0 (-1)	0 (-1)	0,868 (+1)	31
15	3,580 (+1)	0 (-1)	0,868 (+1)	20
16	0 (-1)	0,236 (+1)	0,868 (+1)	17
17	3,580 (+1)	0,236 (+1)	0,868 (+1)	14
18	1,790 (0)	0,118 (0)	0,434 (0)	18
19	0 (-1)	0 (-1)	0 (-1)	90
20	3,580 (+1)	0 (-1)	0 (-1)	46
21	0 (-1)	0,236 (+1)	0 (-1)	43
22	3,580 (+1)	0,236 (+1)	0 (-1)	33
23	0 (-1)	0 (-1)	0,868 (+1)	35
24	3,580 (+1)	0 (-1)	0,868 (+1)	14
25	0 (-1)	0,236 (+1)	0,868 (+1)	19
26	3,580 (+1)	0,236 (+1)	0,868 (+1)	17
27	1,790 (0)	0,118 (0)	0,434 (0)	22

A malha tratada pela purga convencional apresentou $16,67 \pm 3,06$ s como tempo de umectação.

A malha crua também foi avaliada quanto à hidrofilidade e não apresentou nenhuma, sendo que a gota formada na superfície da malha evaporou-se e não foi absorvida.

O maior tempo encontrado para a umectação foi para a lavagem com tensoativo e sequestrante sem a adição de enzimas, 108,67 s. Um tempo bastante elevado que demonstra que a lavagem é ineficiente na retirada das impurezas que conferem à malha a incapacidade de absorver água. Entretanto, comparado com a malha crua que não absorve água, há uma melhora, só que não o suficiente para que seja um substrato adequado ao processo de tingimento.

Figura 4.18 – Resultados dos ensaios de hidrofilidade das malhas tratadas pelo processo enzimático (planejamento experimental) e por purga convencional.

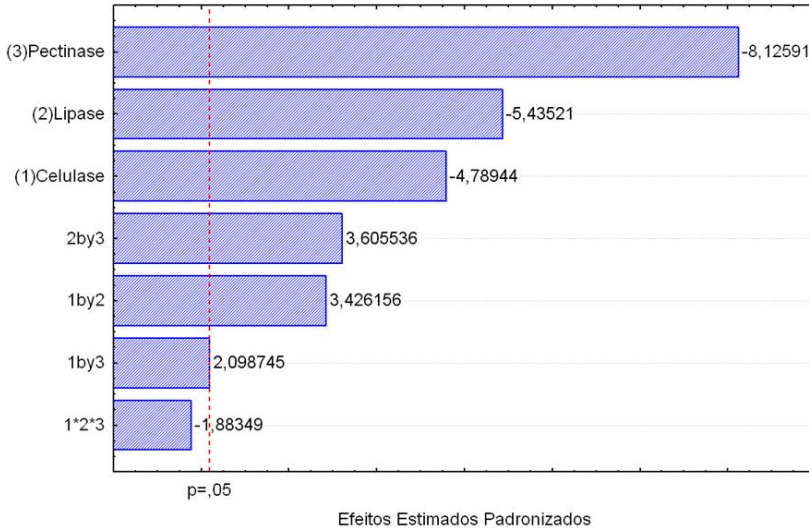


Como observado na Figura 4.18, o acréscimo das enzimas isoladamente ao banho de tratamento trouxe uma queda alta no tempo de absorção, sendo que a celulase foi a que apresentou maior tempo, 51,33 s, seguida pela lipase com 41,33 s. A pectinase foi a que mostrou melhor resultado quando aplicada isoladamente, 35,33 s.

As enzimas lipase e pectinase são responsáveis por agir nos lipídeos e na pectina, respectivamente, sendo que estas impurezas são as grandes responsáveis por não permitir a absorção de água pelo material cru, como visto na revisão da literatura. Assim, é esperado que estas enzimas contribuam em tornar o material mais hidrofílico. Como a

pectina forma uma capa ao redor da fibra de algodão, a remoção desta é o que mais colabora na hidrofiliidade da malha, como pode ser observado nos efeitos obtidos na ação isolada das enzimas (Figura 4.19).

Figura 4.19 – Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre a hidrofiliidade das malhas tratadas pelo processo de biopurga.



Já a celulase é uma enzima que ataca a celulose e não se espera que ela possua grande ação, isoladamente, na remoção de impurezas, uma vez que a fibra de algodão está revestida pela camada de pectina, dificultando o ataque à celulose. Porém, mesmo a pequena ação da celulase ao quebrar fibrilas disponíveis ao ataque pode gerar uma pequena remoção das impurezas presentes nestas fibrilas. Além disso, o caldo enzimático Cellusoft[®], que tem declarada a atividade celulolítica, também possui a atividade pectinolítica como secundária e esta, mesmo em pequena concentração, pode auxiliar na atribuição de hidrofiliidade à malha tratada pela biopurga composta por celulase.

Ao se utilizar a combinação de duas enzimas, observa-se que o processo composto por lipase e celulase apresenta 34,67 s como tempo para umectação, um valor melhor do que o encontrado na atuação isolada destas enzimas, porém este aparenta ser somente o resultado da soma dos efeitos das duas enzimas e não a presença de sinergismo.

Já a combinação da celulase com a pectinase aponta para a presença de sinergismo entre as enzimas, uma vez que ocorreu uma

queda bastante acentuada no tempo de absorção da gota, 15,67 s. Segundo Axt-Martinelli (2001) a adição de celulasas ao banho de biopurga tem demonstrado o aumento da eficiência de pectinases. Acredita-se que as celulasas eliminam as impurezas indesejáveis pela hidrólise da celulase subjacente.

O processo baseado na ação conjunta da lipase com a pectinase proporcionou uma umectação em 19,67 s. Um tempo superior ao da combinação celulase e pectinase e inferior ao da combinação celulase e lipase.

Já era esperado que as enzimas pectinase e lipase apresentassem um bom resultado, uma vez que isoladamente foram as que mais contribuíram à hidrofiliidade da malha. Entretanto, a combinação celulase e pectinase foi a que apresentou o melhor resultado das ações conjuntas entre duas enzimas, um cenário que comprova o sinergismo entre estas enzimas.

A biopurga composta pelas três enzimas em sua condição máxima foi o processo que obteve o menor tempo de umectação, 14,67 s. Porém, este se encontra muito próximo ao tempo encontrado para a biopurga composta pelas três enzimas em sua condição média, 18,33 s, considerando-se o desvio padrão destes ensaios. Assim, observa-se que a condição máxima pode estar muito próxima de uma saturação na qual o acréscimo de enzimas não modificará o resultado da hidrofiliidade do substrato. O aumento do tempo de reação, até 60 min conforme o fornecedor das enzimas, pode ser um fator que igualará a hidrofiliidade da condição média à da condição máxima ou, até mesmo melhorar o resultado.

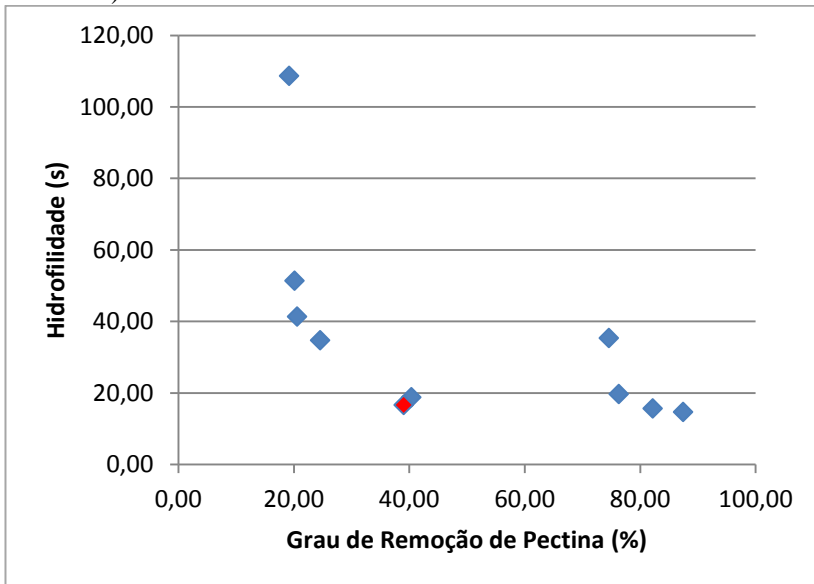
A malha tratada convencionalmente através de uma lavagem alcalina apresentou uma hidrofiliidade de 16,67 s. Este valor é da mesma ordem de grandeza de algumas biopurgas do planejamento experimental como pode ser observado na Figura 4.18. Logo, o objetivo de se obter um processo ambientalmente amigável que se aproxime do processo convencional ou supere este, no concernente à hidrofiliidade, pode ser alcançado.

Vigneswaran, Ananthasubramanian e Anbumani (2012) estudaram a influência das enzimas celulase, pectinase, protease e lipase no tratamento do algodão cru. O melhor resultado para a hidrofiliidade, 0,907 s, foi obtido pela biopurga composta por 6% de pectinase, 2% de protease, 0,6% de lipase e 0,8% de celulase com 45 min de reação a 60 °C. O pior resultado, 8,186 s, foi observado na biopurga que não possuía nem pectinase nem protease. O processo utilizado envolve a aeração do banho durante o processo.

Com a análise do planejamento fatorial foi possível verificar que todas as enzimas em ação isolada e as interações destas, com exceção da interação das três ($1*2*3$), interferiram significativamente na hidrofiliidade da malha, como pode ser observado na Figura 4.19. A ação exclusiva das enzimas e a combinação das três agem em favor de uma hidrofiliidade maior, sendo que a enzima pectinase é a que apresenta o maior efeito no processo, seguida pela enzima lipase.

Relacionando-se a hidrofiliidade com a remoção de pectina (Figura 4.20), averigua-se que a impureza pectina não é o único fator que influencia a hidrofiliidade da malha. Isto pode ser constatado ao se observar malhas tratadas que possuem o mesmo grau de remoção de pectina e hidrofiliidades distintas.

Figura 4.20 – Comparativo entre os resultados de hidrofiliidade (s) e de grau de remoção de pectina (%) das malhas tratadas enzimaticamente (pontos azuis) e da malha tratada por lavagem alcalina (ponto vermelho).



Os dois pontos quase coincidentes com 40% de remoção de pectina e cerca de 20 s de hidrofiliidade são correspondentes ao tratamento enzimático com as três enzimas em sua condição média e a

purga alcalina, mostrando que esta biopurga se aproximou bastante da purga convencional nos dois fatores discutidos.

Outro ponto a ser observado é que a partir de um certo valor de remoção de pectina, o acréscimo deste não contribui muito na hidrofiliidade. As biopurgas com a ação das três enzimas na condição média e na condição máxima são um exemplo desta constatação. Enquanto que a condição média teve uma remoção de pectina de cerca de 40%, a condição máxima apresentou mais que o dobro de remoção da pectina, porém a diferença de hidrofiliidade entre as malhas tratadas pelos dois processos é muito pequena, quase insignificante se considerado o desvio padrão. Este cenário parece apontar que a remoção da pectina ocorre de forma que, mesmo ao não removê-la completamente, permite que a água seja absorvida.

A Tabela 4.7 e a Figura 4.19 apresentam os efeitos principais e de interação das variáveis independentes frente à resposta hidrofiliidade para um modelo estatístico com um limite de confiança de 95%. Percebe-se que a três enzimas e as interações entre elas, com exceção da interação tripla, foram estatisticamente significativas, uma vez que os respectivos fatores apresentaram um valor de p abaixo do nível de significância de 0,05.

Tabela 4.7 – Parâmetros estatísticos para o planejamento fatorial 2³.

	Desvio Padrão		t (19)	p	Limite de Confiança	
	Efeito	Erro			-95%	+95%
Média/Interação	37,7037	2,189973	17,21652	0,000000	33,1200	42,2874
Celulase (1)	-22,2500	4,645634	-4,78944	0,000127	-31,9734	-12,5266
Lipase (2)	-25,2500	4,645634	-5,43521	0,000030	-34,9734	-15,5266
Pectinase (3)	-37,7500	4,645634	-8,12591	0,000000	-47,4734	-28,0266
Celulase e Lipase (1 e 2)	15,9167	4,645634	3,42616	0,002832	6,1932	25,6401
Celulase e Pectinase (1 e 3)	9,7500	4,645634	2,09874	0,049437	0,0266	19,4734
Lipase e Pectinase (2 e 3)	16,7500	4,645634	3,60554	0,001885	7,0266	26,4734
Celulase, Lipase e Pectinase (1*2*3)	-8,7500	4,645634	-1,88349	0,075033	-18,4734	0,9734

De acordo com os coeficientes estimados obtidos na análise estatística, propõe-se o modelo:

$$\begin{aligned}
 \text{Hidrofildade} = & 37,70 - 11,12[\text{Celulase}] - 12,62[\text{Lipase}] - 18,88[\text{Pectinase}] \\
 & + 7,96[\text{Celulase}][\text{Lipase}] + 4,88[\text{Celulase}][\text{Pectinase}] + 8,38[\text{Lipase}][\text{Pectinase}] \\
 & - 4,37[\text{Celulase}][\text{Lipase}][\text{Pectinase}]
 \end{aligned} \quad (4.1)$$

O modelo matemático empírico determinado pela equação 4.1 para a hidrofiliidade da malha de algodão foi validado pela análise de variância ANOVA, apresentada na Tabela 4.8. O coeficiente de relação obtido foi $R^2 = 0,88837$, indicando que o modelo consegue explicar 88,837% da variação total em torno da média.

Tabela 4.8 – Análise de variância dos valores de hidrofiliidade das malhas biopurgadas.

$R^2 = 0,88837$; Ajuste= 0,84724					
MS Residual = 129,4915					
	SS	GL	MS	F	P
Celulase (1)	2970,38	1	2970,375	22,93877	0,000127
Lipase (2)	3825,37	1	3825,375	29,54152	0,000030
Pectinase (3)	8550,37	1	8550,375	66,03041	0,000000
Celulase e Lipase (1 e 2)	1520,04	1	1520,042	11,73855	0,002832
Celulase e Pectinase (1 e 3)	570,38	1	570,375	4,40473	0,049437
Lipase e Pectinase (2 e 3)	1683,38	1	1683,375	12,99989	0,001885
Celulase, Lipase e Pectinase (1*2*3)	459,37	1	459,375	3,54753	0,075033
Erro	2460,34	19	129,491		
Total SS	22039,63	26			

* SS = Soma dos quadrados mínimos; GL = Graus de liberdade; MS = (SS/GL).

A avaliação do modelo também pode ser feita através da observação do gráfico dos valores preditos pelo modelo versus os valores observados, sendo que os primeiros são representados pela reta, enquanto que os segundos são representados pelos pontos. A Figura 4.21 mostra que a relação entre os valores observados e preditos para o modelo é adequada, sendo que os pontos centrais e com a ausência de enzima foram os que apresentaram um maior desvio entre os valores preditos e os observados.

As superfícies de resposta geradas pelo modelo podem ser observadas na Figura 4.22, na Figura 4.24 e na Figura 4.26, enquanto

que as respectivas curvas de contorno estão apresentadas na Figura 4.23, na Figura 4.25 e na Figura 4.27.

Figura 4.21 – Relação entre os valores observados e preditos do modelo linear para a hidrofiliidade da malha biopurgada.

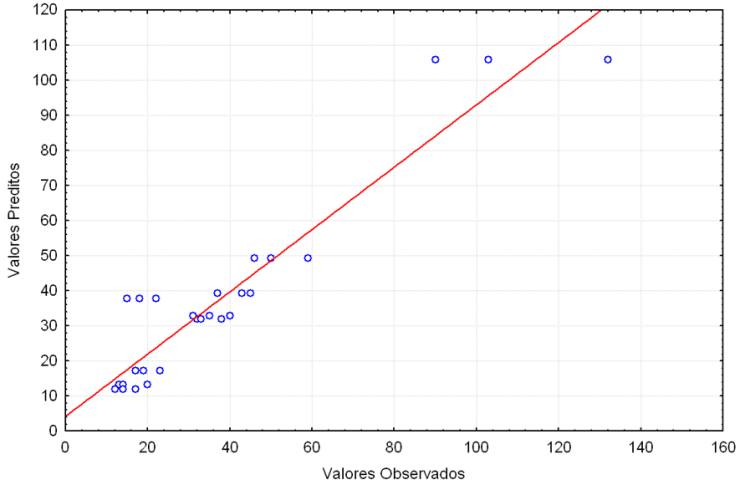


Figura 4.22 – Superfície de resposta para a hidrofiliidade em função da atividade das enzimas celulase e pectinase.

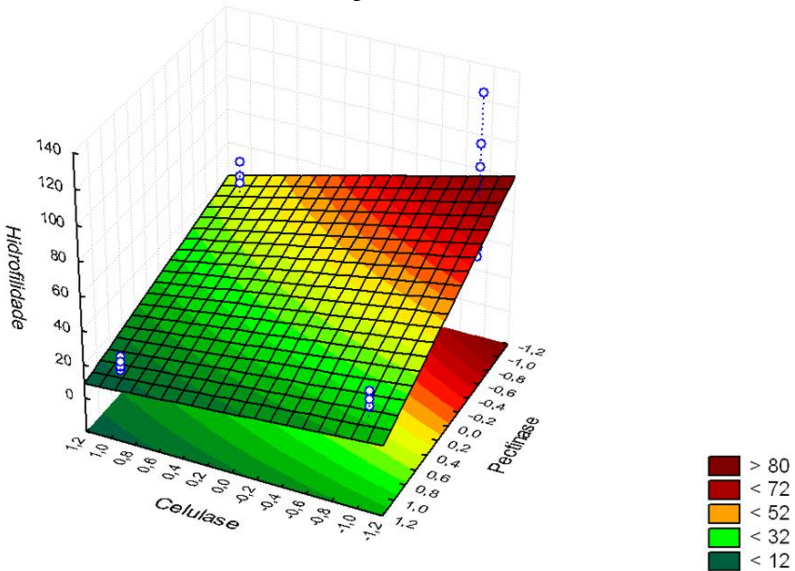


Figura 4.23 – Curva de contorno para a hidrofiliidade em função da atividade das enzimas celulase e pectinase.

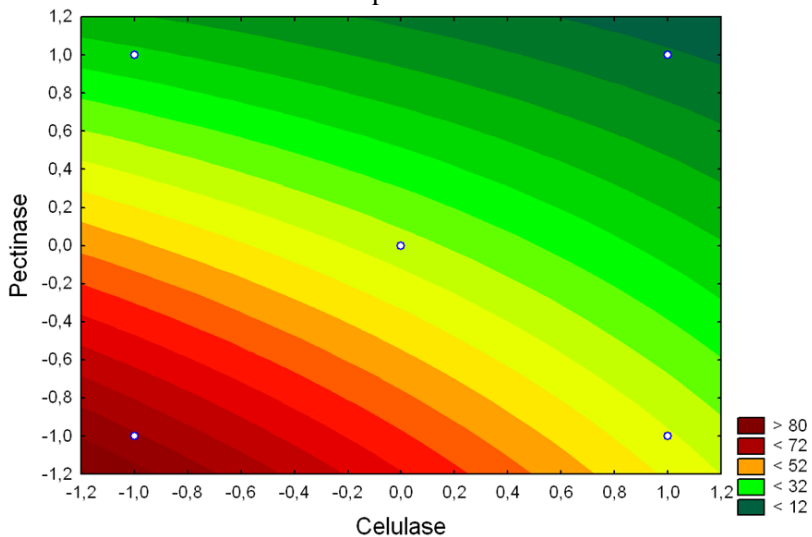


Figura 4.24 – Superfície de resposta para a hidrofiliidade em função da atividade das enzimas lipase e pectinase.

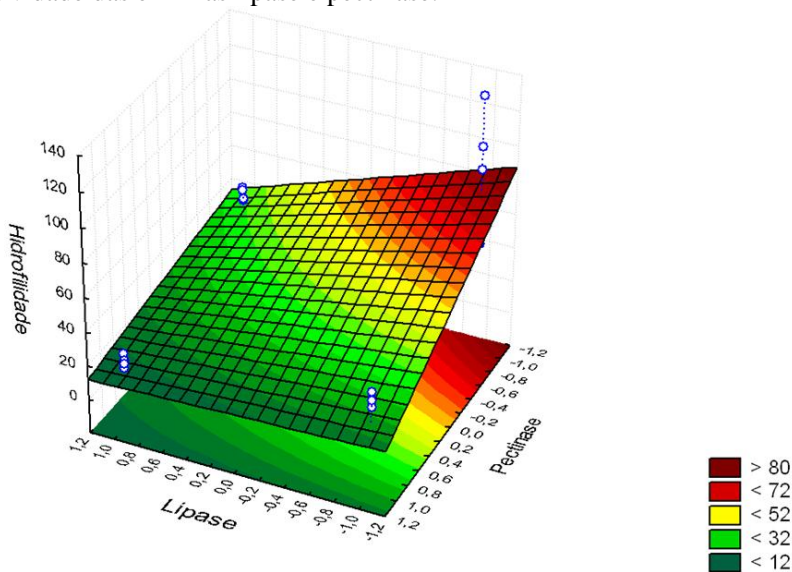


Figura 4.25 – Curva de contorno para a hidrofiliidade em função da atividade das enzimas lipase e pectinase.

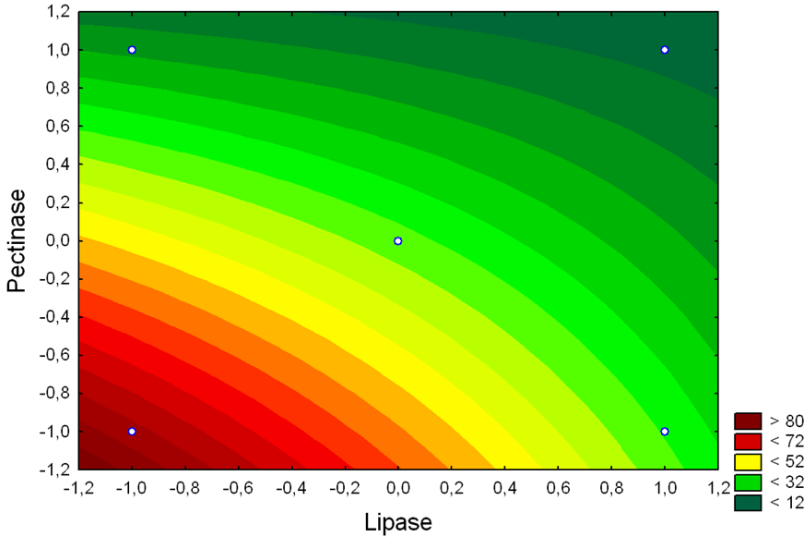


Figura 4.26 – Superfície de resposta para a hidrofiliidade em função da atividade das enzimas celulase e lipase.

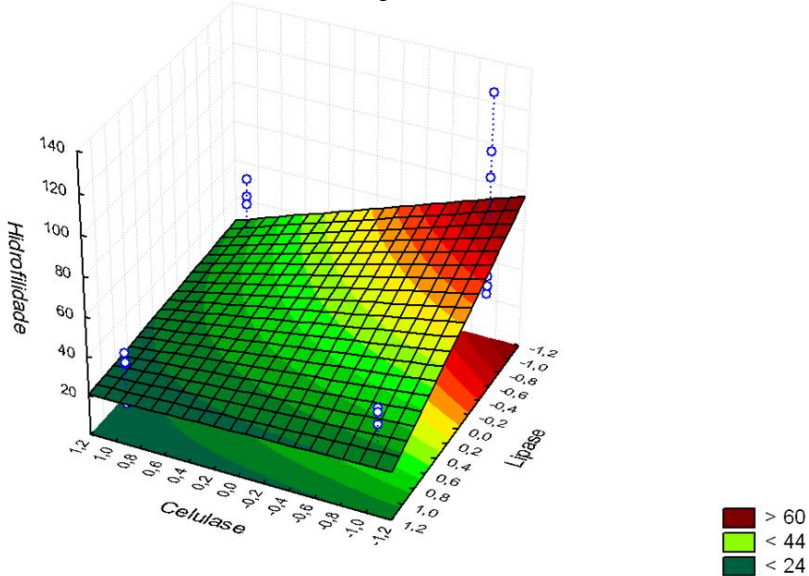
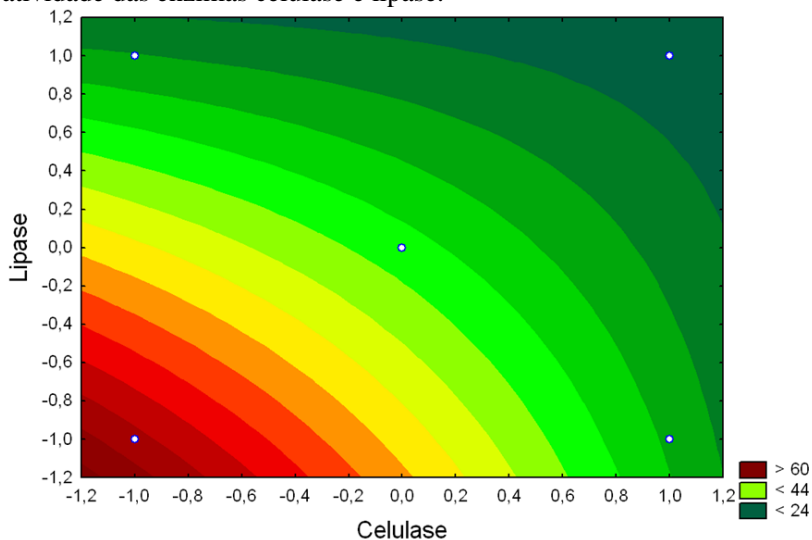


Figura 4.27 – Curva de contorno para a hidrofiliidade em função da atividade das enzimas celulase e lipase.



Observa-se pelas figuras que a região onde se obtêm melhor hidrofiliidade, ou seja, menor tempo de absorção da gota de água pela malha, é a representada pelos tons verdes mais escuros e estes valores são obtidos com as maiores concentrações das enzimas.

A combinação celulase/pectinase foi a que mostrou um melhor resultado para a hidrofiliidade conforme a observação das superfícies de resposta, uma vez que a maior atividade analisada de cada enzima corresponde a um tempo de umectação menor que 12 s, seguida pela combinação lipase/pectinase com 16 s e pela combinação celulase/lipase com 24 s.

5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, são obtidas as seguintes conclusões:

- A caracterização das enzimas expôs a presença de atividades secundárias nos caldos comerciais e mostrou uma queda na atividade das enzimas nas condições definidas para a biopurga. A lipase apresentou a maior perda de atividade, 47,71%, já que suas condições ótimas são as que mais se distanciam das condições de operação do processo enzimático.
- A presença do sequestrante Seraquest MC-P não interferiu na atividade das enzimas e a sua adição no banho de biopurga não mostrou grandes alterações nas propriedades finais da malha tratada. Assim, foi determinando o processo com adição do sequestrante no início da reação enzimática como o mais eficaz.
- A análise de todas as caracterizações realizadas com as malhas tratadas pelas diferentes biopurgas examinadas evidencia que as enzimas estudadas neste trabalho podem atuar de forma combinada no processo, compondo um *pool* enzimático, uma vez que a ação de uma enzima não interferiu negativamente na ação da outra enzima e, na maioria das vezes, a atuação conjunta trouxe benefícios à malha.
- Observou-se que a pectinase foi a enzima mais determinante na perda de peso e hidrofiliabilidade da malha, pois seu substrato está em maior concentração e mais disponível do que o substrato das outras enzimas.
- A perda de massa de algumas biopurgas foi superior à da preparação alcalina, porém esta última já é um processo mais brando por se destinar ao tingimento de cores escuras.
- O grau de alvura não apresentou grandes variações conforme o tratamento enzimático utilizado e, em média, foi 12% inferior ao resultante da purga alcalina. Porém, este não é um fator determinante já que a biopurga desenvolvida neste trabalho tem como objetivo preparar a malha de algodão para o tingimento de cores escuras.
- Conclui-se que o grau de remoção de pectina não necessita ser muito elevado, uma vez que malhas com diferentes graus de perda de pectina apresentaram valores muito próximos de hidrofiliabilidade.

- Sob as condições de pH 6,5, temperatura 55 °C e com um tempo de reação de 40 min, a combinação enzimática que melhor atendeu os requisitos de hidrofiliidade (14,67 s), grau de remoção de pectina (87,47%), grau de alvura (24,99 °Be) e rendimento do tingimento foi o ensaio com a atividade máxima das três enzimas. Porém, o ensaio com atividade média das três enzimas também apresentou bons resultados, muito próximo em alguns casos do ensaio com atividade máxima e similar em todas as caracterizações aos resultados obtidos para a purga alcalina. Uma vez que o ensaio médio chega a valores satisfatórios e que o custo de processo é inferior ao ensaio nas condições máximas, já que a quantidade de enzima utilizada é a metade, pode-se considerar esta a melhor combinação das enzimas por aliar bons resultados com um menor custo de processo.

O objetivo deste trabalho foi atingido, pois as caracterizações das malhas tratadas pelo processo enzimático mostraram resultados de mesma ordem ou superiores ao da malha tratada pela lavagem alcalina, comprovando que se pode substituir o processo convencional pela biopurga composta pelas enzimas celulase, lipase e pectinase. Porém, muitos aspectos ainda devem ser estudados (Capítulo 6 – Sugestões para trabalhos futuros) para entender melhor os parâmetros que influenciam no processo a fim de torná-lo mais eficientes.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com base nos resultados obtidos, sugere-se para desenvolvimento em trabalhos futuros a análise dos seguintes aspectos:

- Influência dos fatores pH, temperatura e tempo de reação na atuação do *pool* enzimático no processo de biopurga;
- Influência da relação de banho (RB) no resultado da purga enzimática;
- Possibilidade de um processo simultâneo que envolva a biopurga e o tingimento;
- Junção do processo de biopurga desenvolvido junto ao processo de alvejamento enzimático;
- Possibilidade de reutilização do banho no processo de purga enzimática, avaliando-se a atividade das enzimas após o processo;
- Verificação do grau de toxicidade dos efluentes oriundos do processo de biopurga e do processo de purga convencional;
- Possibilidade de uso de enzimas não comerciais, uma vez que não se necessita enzima com purezas elevadas;
- Análise econômico do processo desenvolvido;
- Ampliação da escala do processo enzimático desenvolvido para a escala piloto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-HALIM, E. S.; FAHMY, H. M.; FOUDA, M. M. G. Bioscouring of linen fabric in comparison with conventional chemical treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p.707-711, 2008.

ABIT (Brasil) (Org.). **ABIT- Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção**. Disponível em: <<http://www.abit.org.br/>>. Acessado em 20 de novembro de 2011.

AGUIAR, C. M. **Hidrólise Enzimática de Resíduos Lignocelulósicos Utilizando Celulasas Produzidas pelo Fungo *Aspergillus niger***. 2010. 175 f. Dissertação (Mestrado) Curso de Engenharia Química, Programa Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2010.

ALY, A. S.; MOUSTAFA, A. B.; HEBEISH, A. Bio-technological treatment of cellulosic textiles. **Journal Of Cleaner Production**, S. L., v. 12, n. 7, p.697-705, 2004.

ARANTES, V.; SADDLER, J. N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. **Biotechnology for Biofuels**, v. 3, p.1-11, 2010.

ARAÚJO, L. T. C. **Aplicações de Lipases**. 2009. 64 f. Monografia - Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

ARAÚJO, M.; CASTRO, E. M. M. **Manual de Engenharia Têxtil**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1986.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13000**: Material Têxtil – Determinação da Hidrofilidade de Tecidos. Rio de Janeiro, 1993.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 105-B02**: Têxteis – Ensaio de Solidez da Cor (Parte B-02: Solidez da Cor à Luz Artificial), 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 105-C10**: Têxteis – Ensaio de Solidez da Cor (Parte C-10: Solidez da Cor à Lavagem com Sabão ou Sabão e Barrilha), 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 105-E03**: Têxteis – Ensaio de Solidez da Cor (Parte E-03: Solidez da Cor à Água Clorada (água de piscina)), 2009.

AXT-MARTINELLI, U. Processos de biopurga ambientalmente corretos. **Química Têxtil**, n. 66, 2002. Trabalho originalmente apresentado no Seminário Internacional de Aplicação de Biotecnologia na Indústria Têxtil, 2001, Blumenau, Santa Catarina, Brasil.

BÉGUIN, P.; AUBERT, J. The Biological Degradation of Cellulose. **FEMS: Microbiology Reviews**, S. L., v. 13, n. 1, p.25-58, 1994.

BHAT, M. K.; BHAT, S. Cellulose Degrading Enzymes and their Potencial Industrial Applications. **Biotechnology Advances**. V. 15, p.538-620, 1997.

BORTOLAZZO, N. G. **Isolamento e Seleção de Fungos Celulolíticos para Hidrólise Enzimática do Bagaço de Cana-de-Açúcar**. 2011. 76 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

BORZANI, W. et al. **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001.

BRADFORD, M. M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p.248-254, 1976.

CALAFELL, M.; GARRIGA, P. Effect of some process parameters in the enzymatic scouring of cotton using an acid pectinase. **Enzyme Microbiology Technology**, S. L., v. 34, p.356-331, 2004.

CALADO, V. M. M.; DILLON, A. J. P.; SALGUEIRO, A. A.. Produção de Celulases por Linhagens de *Humicola grisea* sob Cultivo Submerso. **Revista Ciências & Tecnologia**, S. L., v. 1, p.1-6, 2007.

CAVACO-PAULO, A. **Influência da Agitação Mecânica e da Composição Enzimática no Tratamento do Algodão com Celulases**.1995. 75 f. Tese (Doutorado) – Curso de Engenharia Têxtil, Departamento de Escola de Engenharia, Universidade do Minho, Portugal, 1995.

CAVACO-PAULO, A. Mechanism of Cellulase Action in Textile Process. **Carbohydrate Polymers**. v. 37, p.273-277, 1998.

CAVACO-PAULO, A.; GÜBITZ, G. M. **Textile Processing with Enzymes**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2003. Cap. 3, p. 228.

CHEQUER, F. M. D. **Utilização do Teste de Micronúcleo na Avaliação da Toxicidade dos Azo Corantes Disperse Red 1, Disperse Orange 1 e Disperse Red 13**. 2008. 124 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

CHIOU, S.; WU, W. Immobilization of *Candida rugosa* Lipase on Chitosan with Activation of the Hydroxyl Groups. **Biomaterials**, New York, v. 25, p.197-204, 2004.

Colour Theory: Understanding and Modelling Colour. Disponível em: <<http://jiscdigitalmedia.ac.uk>>. Acesso em: 15 julho 2012.

CSISZÁR, E. et al. Enzymes and Chelating Agent in Cotton Pretreatment. **Journal of Biotechnology**, v. 89, p.271-279, 2001.

DORS, G. **Hidrólise Enzimática e Biodigestão de Efluentes da Indústria de Produtos Avícolas**. 2006. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

FERNADES, M. L. M. **Hidrólise de Triglicerídeos e Síntese de Éster de Ácido Graxo em Sistema de Micelas Reversas**. 111 f. 2002. Dissertação (Mestrado) – Curso de Química, Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

FERREIRA, E. L. **Têxteis Orgânicos no Brasil e no Mundo**. Disponível em: <<http://www.coaxis.com.br/>>. Acesso em: 14 set. 2012a.

FERREIRA, F. C. S. **Avaliação dos Efeitos da Aplicação da Enzima Celulase nas Propriedades de Substratos Têxteis de Algodão**. 2012. 111 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012b.

FIESC (Org.). **Santa Catarina em Dados**: 2012. Disponível em: <<http://www2.fiescnet.com.br/web/recursos/>>. Acesso em: 10 jul. 2013.

FREITAS, K. R. **Estabilização Enzimática para Aplicação em Biopurga de Tecidos de Malha de Algodão**. 2009. 175 f. Tese (Doutorado) – Curso de Engenharia Química, Programa Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

FURLAN, F. R. **Avaliação da Eficiência do Processo de Coagulação-Floculação e Adsorção no Tratamento de Efluentes Têxteis**. 2008. 151 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

FURLAN, F. R. **Caracterização e Aplicação de Enzimas de Forma Combinada na Biopreparação de Tecidos Felpudos de Algodão**. 2012. 134 f. Tese (Doutorado) - Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

GHOSE, T. K. Measurement of cellulase activities. **Pure and Applied Chemistry**, v. 50, n. 2, p.257-268, 1987.

GUMMADI, S. N.; PANDA, T.. Purification and biochemical properties of microbial pectinase: A Review. **Process Biochemistry**, S. L., v. 38, n. 7, p.987-996, 28 Feb. 2003.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Industrial Applications of Microbial Lipases. **Enzyme and Microbial Technology**, S. L., v. 39, p.235-251, 2006.

HOONDAL, G. S. et al. Microbial Alkaline Pectinases and their Industrial Applications: A Review. **Applied Microbiology And Biotechnology**, S. L., v. 59, p.409-418, 2002.

JAEGER, K.; REETZ, M. T. Microbial Lipases Form Versatile Tools for Biotechnology. **Trends In Biotechnology**, S. L., v. 16, n. 9, p.396-403, 1998.

KALANTZI, S. et al. Effect of Pectate Lyase Bioscouring on Physical, Chemical and Low-stress Mechanical Properties of Cotton Fabrics. **Bioresource Technology**, S. L., v. 99, p.8185-8192, 25 abr. 2008.

KALANTZI, S. et al. Improved properties of cotton fabrics treated with lipase and its combination with pectinase. **Fibres & Textiles**: in Eastern Europe, S. L., v. 18, n. 5, p.86-92, 2010.

KAPOOR, M.; GUPTA, M. N. Lipase Promiscuity and its Biochemical Applications. **Process Biochemistry**, S. L., v. 47, p.555-569, 2012.

KARAPINAR, E.; SARIISIK, M. O. Scouring of Cotton with Cellulases, Pectinases and Proteases. **Fibres and Textiles** in Eastern Europe, v. 12, p.79-82, 2004.

KIRK, O.; BORCHERT, T. V.; FUGLSANG, C. C. Industrial enzyme applications. **Current Opinion In Biotechnology**, S. L., v. 13, n. 4, p.345-351, 2002.

LEÃO, M. M. D. et al. **Controle Ambiental na Indústria Têxtil**: Acabamento de Malhas. Belo Horizonte: SEGRAC, 2002. 356 p.

LEWIN, M. **Handbook of Chemistry Fiber**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. 1052 p.

LI, Y.; HARDIN, I. R. Treating Cotton with Cellulases and Pectinases: Effects on Cuticle and Fiber Properties. **Textile Research Journal**, v. 68, n. 9, p.671-679, 1998.

LIMA, P. J. B. F.; SOUZA, M. C. M. **Produção Brasileira de Algodão Orgânico e Agroecológico em 2006**. Disponível em: <http://www.esplar.org.br/artigos/2007/agosto/algodao_agroecologico.pdf>. Acesso em: 20 de julho 2013.

LIN, C. H.; HSIEH, Y. L. Direct Scouring of Greige Cotton Fabrics with Proteases. **Textile Research Journal**, v. 71, n. 5, p.425-434, 2001.

LIN, S. F. et al. Purification and Partial Characterization of an Alkaline Lipase from *Pseudomonas pseudoalcaligenes* F-111. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 62. n. 3, p.1903-1905, 1996.

LOSONCZI, A. K. **Bioscouring of Cotton Fabrics**. 2004. 82 f. Tese (Pós-Doutorado) - Budapest University of Technology and Economics, Budapest, 2004.

MALLER, A. **Produção, Purificação e Caracterização do Complexo Pectinolítico do Fungo *Aspergillus niveus***. 2008. 98 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

MEDVE, J. **Cellulose Hydrolysis by *Trichoderma reesei* Cellulases: Studies on Adsorption, Sugar Production and Synergism of Cellobiohydrolase I, II and Endoglucanase II**. S. L.: Lund University, 1997. 42 p.

MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p.426-428, 1959.

MOJSOV, K. Enzyme Scouring of Cotton Fabrics: A Review. **International Journal Of Marketing And Technology**, S. L., v. 2, n. 9, p.256-275, 2012.

MUSSATO, S. I.; FERNANDES, M.; MILAGRES, A. M. M. Enzimas: Poderosa Ferramenta na Indústria. **Ciência Hoje**, São Paulo, v. 41, p. 28-33, 2007.

OLIVEIRA, M. A. **Resolução Enzimática de Álcoois Secundários**. 2007. 105 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

PAQUES, F. W.; MACEDO, G. A. Lipases de látex vegetais: propriedades e aplicações industriais. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p.93-99, fev. 2006.

PEREIRA, G. S. **Introdução à Tecnologia Têxtil**: Curso Têxtil em Malharia e Confecção. Disponível em: <https://wiki.ifsc.edu.br/mediawiki/images/3/3e/Introducao_tecn_textil.pdf>. Acesso em: 02 abr. 2013.

PERFETO, M. W. **Avaliação do Efeito da Inibição da Celulase no Biopolimento de Substrato de Algodão**. Dissertação (Mestrado) – Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

PERUZZO, L. C. **Influência de Agentes Auxiliares na Adsorção de Corantes de Efluentes da Indústria Têxtil em Colunas de Leito Fixo**. Dissertação (Mestrado) – Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

PIMENTEL, A. **Caracterização de uma Pectinase Comercial e sua Utilização no Processo de Purga da Indústria Têxtil**. Dissertação (Mestrado) Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

PICCOLI, H. H. **Determinação do Comportamento Tintorial de Corantes Naturais em Substrato de Algodão**. Dissertação (Mestrado) Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

QUIROZ-CASTAÑEDA, R. E.; FOLCH-MALLO, J. L. Hydrolysis of Biomass Mediated by Cellulases for the Production of Sugars. In: CHANDEL, A. K.; SILVA, S. S. (Comp.). **Sustainable Degradation of Lignocellulosic Biomass**: Techniques, Applications and Commercialization. S. L.: Intech, 2013. Cap. 6, p. 119-155.

RAJA, K. S. et al. Use of Bacterial Lipase for Scouring of Cotton Fabrics. **Indian Journal Of Fibre & Textile Research**, S. L., v. 37, p.299-302, 2012.

RATANAKHANOKCHAI, K. et al. *Paenibacillus curdlanolyticus* Strain B-6 Multienzyme Complex: A Novel System for Biomass Utilization. In: MATOVIC, Mi. D. (Comp.). **Biomass Now: Cultivation and Utilization**. S. L.: Intech, 2013. Cap. 16, p. 369-394.

REIS, P. et al. Lipases at Interfaces: A Review. **Advances In Colloid And Interface Science**, S. L., v. 147-148, p.237-250, 2009.

ROCKY, A. M. K. B. P. Comparison of Effectiveness Between Conventional Scouring & Bio-Scouring on Cotton Fabrics. **International Journal of Scientific & Engineering Research**, S. L., v. 8, p.1-5, 2012.

SANDRI, I. G. **Enzimas pectinolíticas: Seleção de linhagens fúngicas produtoras, caracterização e aplicação em processos da indústria de alimentos**. 2010. 114 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biotecnologia, Departamento de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2010.

SANTI, L. **Produção, Caracterização e Aplicação de Preparados Pectinolíticos Produzidos por *Penicillium oxalicum* Utilizando Resíduos Agroindustriais**. 2005. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

SEMIONATO, S. **Avaliação da Atividade Lipolítica de bactérias Isoladas dos Dispositivos de Remoção de Gordura da ETE-UFES**. 2006. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Ambiental, Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2006.

SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Production, purification, characterization, and applications of lipases. **Biotechnology Advances**, S. L., v. 19, p.627-662, 2001.

SHORE, J. **Cellulosics Dyeing**. England: Society of Dyers & Colourists, 1995. 408 p.

SILVA, L. A. D. **Produção e Caracterização de Enzimas Celulósicas por *Aspergillus phoenicis***. 2008. 105 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Microbiologia Agrícola e do Ambiente – Programa Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

SILVA, R. et al. Aplicações de Fibras Lignocelulósicas na Química de Polímeros e em Compósitos. **Química Nova**, São Paulo, v 32, n. 3, p.661-671, 2009.

SILVA, R. **Tratamento de Fibras Têxteis com Ultra-Sons e Enzimas**. 2006. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade do Minho, Braga, 2006.

SOUZA, M. C. M. **Algodão Orgânico: O Papel das Organizações na Coordenação e Diferenciação do Sistema Agroindustrial do Algodão**. 1998. 197 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Administração da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

SUDBRACK, T. S. **Imobilização de Lipase em Montmorilonita e Aplicação em Reações Oleoquímicas**. 2012. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

TAN, H.; CAO, Y. Effects of Cellulase on the Modification of Cellulose. **Carbohydrate Research**, S. L., v. 337, p.1291-1296, 2002.

TAVČER, P. F. Biotechnology in Textiles: an Opportunity of Saving Water. In: EINSCHLAG, F. S. G. (Comp.). **Waste Water: Treatment and Reutilization**. S. L.: Intech, 2011. Cap. 20, p. 387-404.

TAVČER, P. F.; PREŠA P. Bioscouring and bleaching of cotton with pectinase enzyme and peracetic acid in one bath. **Coloration Technology**, v. 124, p.36-42, 2008.

TZANOV, T. et al. Bio-preparation of Cotton Fabrics. **Enzyme and Microbial Technology**, S.L., v. 29, p.357-362, 2001.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: Aplicações Industriais e Perspectivas. **Química Nova**, S.L., v. 30, n. 2, p.388-394, 2007.

VASCONCELOS, A. J. C. **Obtenção de Tecidos de Poliéster de Baixo Peso por Tratamento Enzimático**. 2005. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química Têxtil, Departamento de Engenharia Têxtil, Universidade do Minho, Braga, 2005.

VIGNESWARAN, C.; ANANTHASUBRAMANIAM, M.; ANBUMANI, N. Neural Network Approach for Optimizing the Bioscouring Performance of Organic Cotton Fabric through Aerodynamic System. **Journal of Textile and Apparel, Technology and Management**, S. L. v. 7, p.01-26, 2012.

VONDERWULBECKE, T.; KIESLICH, K.; ERDMANN, H. Comparison of lipases by different assays. **Enzyme Microbial Technology**, S. L., v. 14, p.631-639, 1992.

WAKELYN, P. J. et al. **Cotton Fiber Química e Tecnologia**. Boca Raton: CRC Press, 2006. 176 p.

WANG, X. Y. et al. Bioscouring of Cotton with Pectinase Enzyme. *J. Sc. Dyers Colour*, S. L., v. 114, n. 11, p.333-336, 1998.

WANG, Q. et al. Degradation Kinetics of Pectins by an Alkaline Pectinase in Bioscouring of Cotton Fabrics. **Carbohydrate Polymers**, S. L., v. 67, p.572-575, 2007.

ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B. V.; LICHTIG, J. Determinação de Proteínas Totais Via Espectrofotometria: Vantagens e Desvantagens dos Métodos Existentes. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, p.787-793, 1998.

ZHOU, C.; WU, Q. Recent Development in Applications of Cellulose Nanocrystals for Advanced Polymer-Based Nanocomposites by Novel Fabrication Strategies. In: NERALLA, S. (Comp.). **Nanocrystals: Synthesis, Characterization and Applications**. S. L.: Intech, 2012. Cap. 6, p. 103-120.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Curvas de Calibração

No Apêndice A são apresentadas as curvas de calibração de açúcares redutores para a determinação de atividade das enzimas celulase e pectinase, a curva de calibração para a determinação da quantidade de proteína dos caldos enzimáticos e a curva de calibração para a determinação do grau de pectina nas malhas tratadas.

Figura A.1 – Curva de calibração para análise de açúcares redutores totais nos ensaios de atividade celulolítica descrita na seção 3.2.1.3.

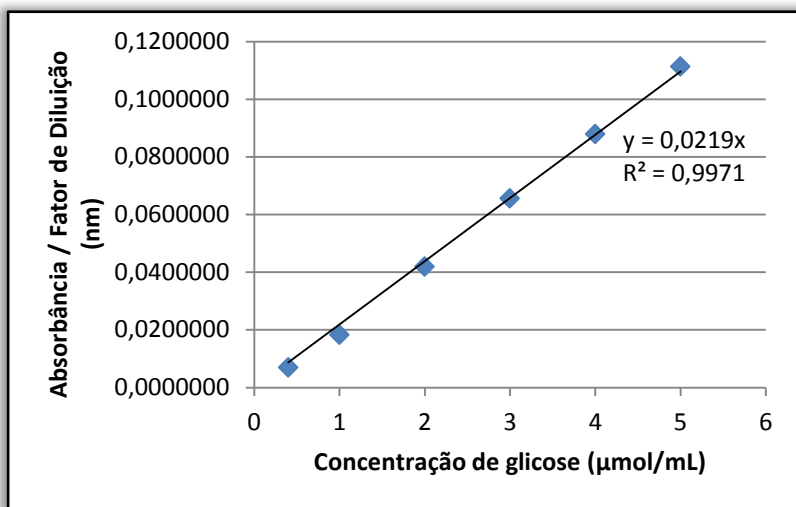


Figura A.2 – Curva de calibração para análise de açúcares redutores totais nos ensaios de atividade pectinolítica descrita na seção 3.2.1.5.

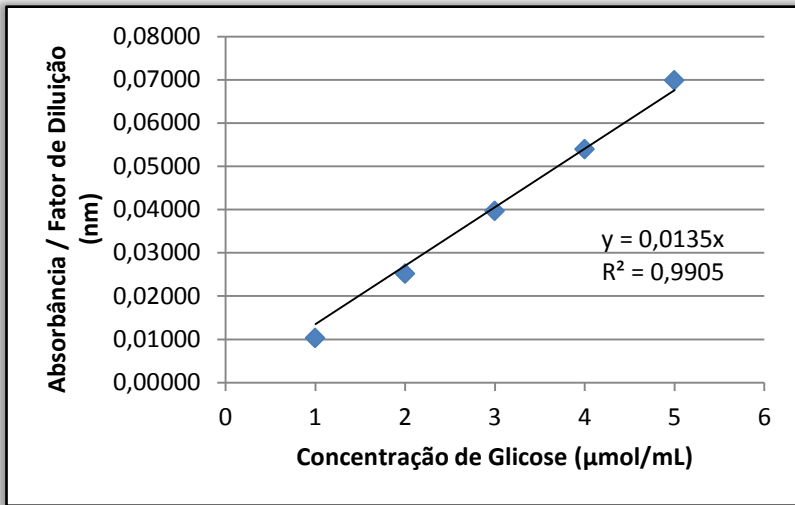


Figura A.3 – Curva de calibração para determinação da quantidade de proteínas pelo Método de Bradford (1976).

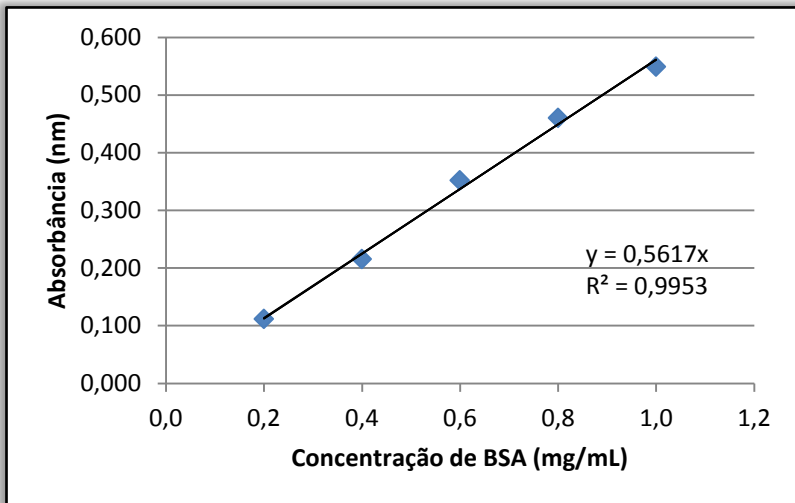
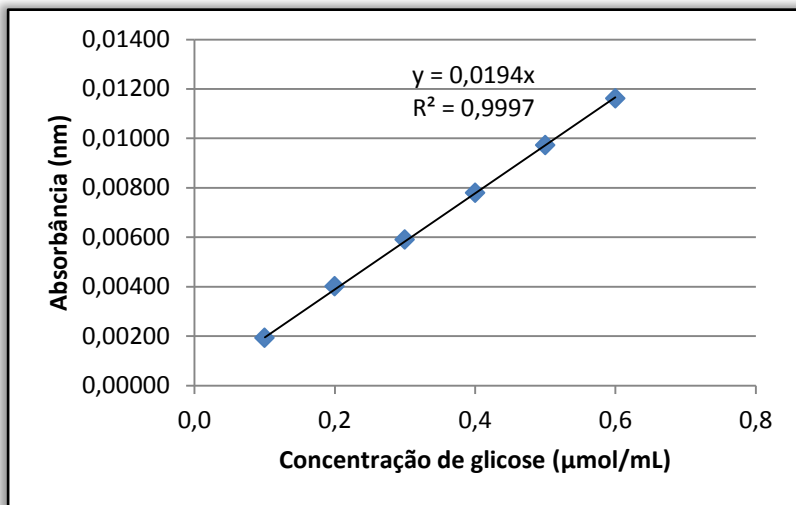


Figura A.4 – Curva de calibração do azul de metileno para determinação do grau de pectina conforme item 3.2.4.3.



ANEXOS

ANEXO A – Ficha técnica dos corantes

Neste anexo é apresentada a ficha técnica dos corantes reativos utilizados no processo de tingimento, cujos nomes comerciais são Vermelho Tiafix AF/B e Marinho Tiafix AF.

Figura A.5 – Ficha técnica do corante reativo Vermelho Tiafix AF/B.

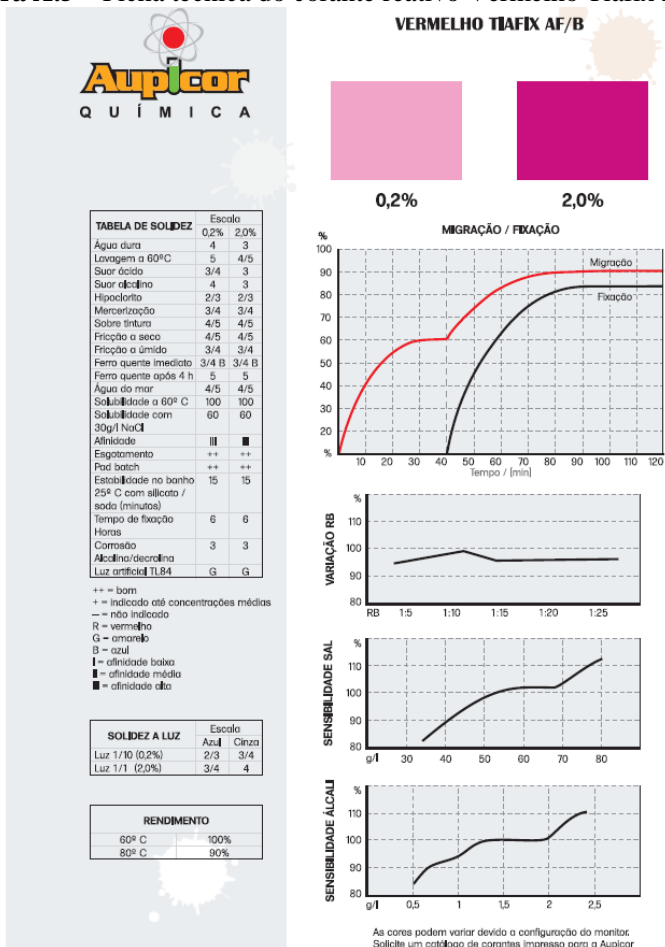


Figura A.6 – Ficha técnica do corante reativo Marinho Tiafix AF.



TABELA DE SOLIDEZ		Escala	
	0,2%	2,0%	
Água dura	5	4/5	
Lavagem a 60°C	5	5	
Suor ácido	4	3/4	
Suor alcalino	5	4	
Hipoclorito	1	1/2	
Mercerização	4	4	
Sobre tintura	4	4	
Fricção a seco	4/5	4/5	
Fricção a úmido	3/4	3/4	
Ferro quente imediato	4/5	4/5	
Ferro quente após 4 h	5	5	
Água do mar	4/5	4/5	
Solubilidade a 60° C	100	100	
Solubilidade com 30g/l NaCl	70	70	
Afinidade	III	■	
Esgotamento	++	++	
Pad batch	++	++	
Estabilidade no banho 25° C com silicato / soda (minutos)	20	20	
Tempo de fixação	5	5	
Horas			
Corrosão	4/5	4/5	
Alcalina/decrolina			
Luz artificial TL84	G	G	

++ = bom
 + = indicado até concentrações médias
 - = não indicado
 R = vermelho
 G = amarelo
 B = azul
 I = afinidade baixa
 II = afinidade média
 III = afinidade alta

SOLIDEZ A LUZ			Escala	
	Azul	Cinza		
Luz 1/10 (0,2%)	2	2/3		
Luz 1/1 (2,0%)	3	3/4		

RENDIMENTO	
60° C	100%
80° C	90%

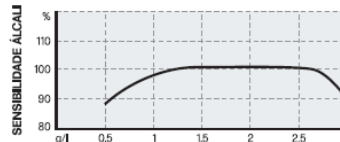
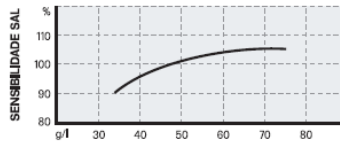
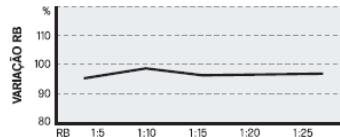
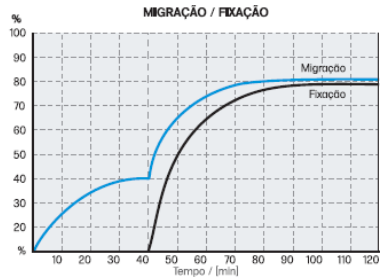
MARINHO TIAFIX AF



0,2%



2,0%



As cores podem variar devido a configuração do monitor.
 Solicite um catálogo de cores impresso para a Aupicor