

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E DE ALIMENTOS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

Crisleine Zottis dos Reis

**BIOALVEJAMENTO ENZIMÁTICO DE TECIDOS DE MALHA  
DE ALGODÃO**

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Doutor em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Augusto Ulson de Souza.

Coorientadores: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Selene Maria de Arruda Guelli Ulson de Souza, Prof. Dr. Agenor Furigo Junior.

Florianópolis  
2016

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

Reis, Crisleine Zottis

Bioalvejamento Enzimático de Tecidos de Malha de Algodão / Crisleine Zottis dos Reis; orientador, Antônio Augusto Ulson de Souza ; coorientador, Agenor Furigo Junior ; coorientadora, Selene Maria de Arruda Guelli Ulson de Souza - Florianópolis, SC, 2016.

172 p.

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

Inclui referências

1. Engenharia Química. 2. Bioalvejamento. 3. Glicose oxidase. 4. Enzimas. 5. Processo têxtil. I. Ulson de Souza, Antônio Augusto. II. Ulson de Souza, Ulson de Souza. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. V. Título.

Crisleine Zottis dos Reis

## **BIOALVEJAMENTO ENZIMÁTICO DE TECIDOS DE MALHA DE ALGODÃO**

Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de “Doutor em Engenharia Química”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós Graduação em Engenharia Química e de Alimentos.

Florianópolis, 15 de junho de 2016.

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cintia Soares  
Coordenadora do Curso

### **Banca Examinadora:**

---

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

---

Prof. Dr. Agenor Furigo Junior,  
Corientador  
Universidade Federal de Santa  
Catarina

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Selene Maria de  
Arruda Guelli Ulson de Souza,  
Corientadora  
Universidade Federal de Santa  
Catarina

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Alexandra Valerio  
Universidade Federal de Santa  
Catarina

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Danielle Maass  
Universidade Federal de Santa  
Catarina

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Débora de Oliveira  
Universidade Federal de Santa  
Catarina

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Camila Borelli  
Fundação Educacional Inaciana  
Padre Sabóia de Medeiros

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marta Cristina Teixeira  
Duarte  
Universidade Estadual de Campinas



*Dedico com todo o amor ao meu  
querido marido e à minha família.*



## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Catarina, ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, pelo suporte técnico e infraestrutura e ao CNPq, pelo auxílio financeiro.

Ao orientador professor Dr. Antônio Augusto Ulson de Souza, pela orientação, compreensão, apoio e incentivo.

Aos Professores, Dr<sup>a</sup>. Selene Maria de Arruda Guelli Ulson de Souza e Dr. Agenor Furigo Junior, pela orientação, pelo apoio e incentivo.

Aos amigos e colegas do LABSIN/LABMASSA, por todo companheirismo e amizade. Em especial às amigas Laís e Franciélle, por todo o apoio, sugestões e ajuda ao longo da realização deste trabalho.

À empresa MALWEE, pelo suporte financeiro e infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.

Às pessoas que auxiliaram no desenvolvimento do trabalho, em especial ao Edmundo Barbosa da Silva e ao Mauricio Neitzke Neuenfeld, da empresa Malwee, pelo constante apoio na viabilização dos testes piloto.



*“O estudo, a busca da verdade e da beleza são domínios em que nos é consentido sermos crianças por toda a vida.”*

*(Albert Einstein)*



## RESUMO

A presente pesquisa envolve o estudo do branqueamento de malhas de algodão utilizando peróxido de hidrogênio gerado enzimaticamente. Inicialmente realizou-se a biopurga utilizando as enzimas celulase, pectinase e lipase, a fim de retirar as impurezas, pectinas e óleos da fibra. Em uma primeira etapa, realizou-se o branqueamento utilizando o peróxido de hidrogênio gerado pela oxidação da  $\beta$ -D-Glicose pela enzima glicose oxidase. No segundo momento foi avaliada a utilização de um ativador de peróxido de hidrogênio, Tetra acetil etileno diamina (TAED), como agente potencializador do bioalveamento enzimático. Foi avaliada também a substituição da enzima glicose oxidase ultrapura por uma enzima comercial, bem como os parâmetros de toxicidade, DBO e DQO e a aplicação dos bioprocessos propostos em escala piloto. As etapas de geração de peróxido de hidrogênio, de ácido peracético e a do branqueamento (para os dois casos) foram avaliadas através de planejamentos experimentais. Para o primeiro processo proposto (com  $H_2O_2$ ), foi possível verificar que o efeito mais significativo para geração de peróxido foi o tempo e, para o branqueamento, foi a concentração de peróxido de hidrogênio. Para o segundo processo (com TAED), o fator mais significativo para a geração de ácido peracético foi a concentração de peróxido de hidrogênio e, para o branqueamento, o fator mais significativo foi a concentração de ácido peracético. Os tecidos tratados foram avaliados quanto ao grau de branco e à hidrofiliabilidade. Foi possível obter um processo com baixo consumo de água e tecidos com grau de branco de  $52 \pm 1$  °Berger para o primeiro processo e de  $60 \pm 1$  °Berger para o bioalveamento com o TAED. Para os processos utilizando a enzima ultrapura, foi encontrada uma relação DBO/DQO maior, indicando uma menor dificuldade no seu tratamento biológico. Os testes em escala piloto mostraram que os processos investigados neste trabalho tem viabilidade técnica para o uso industrial. As amostras tratadas apresentaram uma hidrofiliabilidade maior que a obtida no processo convencional, além de possibilitar uma malha com propriedades de conforto melhores, um melhor aspecto visual e um polimento mais efetivo. O consumo de água foi consideravelmente reduzido quando comparado ao processo convencional.

**Palavras-chave:** Bioalveamento. Glicose oxidase. Tetra acetil etileno diamina. Enzimas. Processo têxtil.



## ABSTRACT

This research involves the study of knitted cotton fabric bleaching using hydrogen peroxide enzymatically generated. Initially the bioscouring was performed using the enzymes cellulase, pectinase and lipase to remove impurities, for example pectins and oils fiber. In the first step, it was performed bleaching using hydrogen peroxide, which was enzymatically produced by glucose oxidase during oxidation of glucose. In the second stage, it was evaluated a performance using a hydrogen peroxide activator, Tetra-acetythylenediamine (TAED), as a potentiating agent of enzymatic bleaching. It was also evaluated the replacement of the ultrapure glucose oxidase by a commercial enzyme, the toxicity, BOD and COD parameters and the application of the bioprocess proposed in the pilot scale. The steps of generating hydrogen peroxide, producing peracetic acid and bleaching (for both processes) were assessed using experimental designs. For the first process (with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), we observed that the most significant effect to generate peroxide was time and, for bleaching, the concentration of hydrogen peroxide. For the second process (with TAED), for the generation of peracetic acid, the most significant factor was the concentration of hydrogen peroxide and for the bleaching, the most significant factor was the concentration of peracetic acid. The whiteness and hydrophilicity of the treated knitted were evaluated. The whiteness index of the enzymatically bleached fabric was 52±1 Berger degree for the first process and 60±1 Berger degree for the process with activator. For the process using ultrapure enzyme, it was found a higher BOD/COD ratio, indicating less difficulty in their biological treatment. The pilot scale showed that these processes are efficiently applied and the treated samples showed a higher hydrophilicity than that obtained in the conventional process. In addition it is possible to obtain a fabric with better comfort properties (more soft) and better visual appearance; and the polishing was more effective than the conventional process. The amount of rinse water could be drastically reduced compared to traditional process.

**Keywords:** Bleaching. Glucose oxidase. Tetra-acetythylenediamine. Enzymes. Textile processing.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura do tecido plano (a) e do tecido de malha (b).....	34
Figura 2 - Corte transversal da fibra de algodão .....	35
Figura 3 - Esquema representativo de uma fibra de Algodão .....	35
Figura 4 - Estrutura da celulose. ....	37
Figura 5 - Regiões cristalinas e amorfas em microfibrilas de celulose. ....	38
Figura 6 - Etapas do beneficiamento têxtil onde podem ser utilizadas enzimas. .....	39
Figura 7 - Representação esquemática dos domínios de celulases.....	41
Figura 8 - Mecanismo de hidrólise enzimática da celulose.....	42
Figura 9 - Pontos de ataque das pectinases na molécula de pectina. ....	44
Figura 10 – Reações catalisadas pela lipase.....	45
Figura 11 - Oxidação da molécula de glicose pela ação da enzima glicose oxidase.....	47
Figura 12 - Representação esquemática da glicose oxidase, as suas duas subunidades (azul claro e escuro) e a coenzima FAD (rosa). ....	47
Figura 13 – Processo de biopurga, branqueamento e tingimento de tecidos de algodão.....	50
Figura 14 – Fluxograma da metodologia empregada no presente estudo. ....	58
Figura 15 – Equipamento de tingimento em canecas – HT, utilizado para a realização dos experimentos. ....	65
Figura 16 – Fluxograma do processo de biopurga e bioalvejamento em único banho. ....	65
Figura 17 – Fluxograma do processo de biopurga e bioalvejamento em único banho, utilizando um ativador de peróxido de hidrogênio. ....	66
Figura 18 – Esquema representativo do processo de bioalvejamento com peróxido de hidrogênio, onde se avaliou o melhor pH para o branqueamento. ....	70
Figura 19 - Esquema representativo do processo de biopurga e formação de peróxido de hidrogênio pela reação entre a enzima glicose oxidase e a glicose, em 35°C e pH 5,5.....	71
Figura 20 – Esquema representativo do processo realizado em HT para o planejamento experimental de branqueamento do tecido com peróxido de hidrogênio.....	73
Figura 21 - Produção de ácido peracético (PAA). TAED: tetra acetil etileno diamina, HP: peróxido hidrogênio, DAED: diacetil etileno diamina. ....	74
Figura 22 - Esquema representativo do processo de bioalvejamento para avaliação do pH para a geração do ácido peracético.....	77
Figura 23 - Esquema representativo do processo de bioalvejamento para avaliação da temperatura para a geração do ácido peracético. ....	78
Figura 24 - Esquema representativo do processo de bioalvejamento para avaliação da concentração de TAED. ....	80
Figura 25 - Esquema representativo do processo realizado na máquina de tingimentos HT para avaliação da formação de ácido peracético. ....	82

Figura 26 – Esquema representativo do processo de branqueamento utilizando o ativador de peróxido TAED. Procedimento realizado no equipamento HT. ....	83
Figura 27 – Processo de bioalvejamento utilizado para a avaliação da substituição do uso de tampão acetato por água. ....	84
Figura 28 - Esquema representativo do processo de bioalvejamento para avaliação da geração de peróxido de hidrogênio, utilizando a enzima glicose oxidase comercial. ....	86
Figura 29 - Esquema representativo do processo de bioalvejamento para avaliação do ácido peracético, utilizando enzima glicose oxidase comercial. ....	88
Figura 30 – Esquema do processo, utilizando peróxido de hidrogênio como agente branqueador, para o ajuste dos tempos de reação. ....	89
Figura 31 – Esquema do processo, utilizando ácido peracético como agente branqueador, para o ajuste dos tempos de reação. ....	90
Figura 32 - Imagem do aparato para o teste de hidrofiliidade por capilaridade. ....	93
Figura 33 - Espaço de cor CIELAB. ....	94
Figura 34 – (a) Equipamento utilizados nos testes pilotos para 1 Kg de malha e (b) detalhe interno do equipamento. ....	96
Figura 35 - Esquema representativo do processo de bioalvejamento com H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . ....	98
Figura 36 - Esquema representativo do processo de bioalvejamento com ácido peracético. ....	99
Figura 37 – Cinética enzimática para a enzima glicose oxidase. Condições: pH 5,0 e temperatura 35°C. ....	102
Figura 38 – Formação de peróxido de hidrogênio pela enzima glicose oxidase para diferentes valores de pH e temperatura. Tempo de reação de 5 min. [GOx] = 6,86 U/mL de meio reacional. [Glicose] = 32 g/L. ....	103
Figura 39 – Reação entre a enzima glicose oxidase e a glicose para a formação de peróxido de hidrogênio em meio aerado e não aerado. Temperatura da reação de 35°C e pH 5,5. Tempo de reação 60 min. ....	104
Figura 40 – Grau de Alvura obtido para processo com e sem aeração. Reação de formação de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> realizado com pH 5,5, T=35 °C e tempo de 40 min. O procedimento utilizado foi o descrito no item 3.5.3, de acordo com o processo esquematizado na Figura 18. ....	105
Figura 41 – Formação de peróxido de hidrogênio no processo de bioalvejamento em único banho, para os pH de 5,0; 5,5; e 6,0. T = 35°C, t = 40 min, [Glicose] = 16 g/L e [GOx] = 13,5 U/mL. ....	106
Figura 42 – Avaliação da melhor concentração de glicose oxidase e de glicose para o grau de alvura. O processo foi realizado seguindo-se o programa descrito no item 3.5.5, com o pH de 5,5 na formação de peróxido. ....	107
Figura 43 – Efeito do pH na etapa de branqueamento no processo de bioalvejamento utilizando peróxido de hidrogênio. ....	108
Figura 44 - Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre a geração de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> entre a enzima glicose oxidase e a glicose. Reação realizada em 35°C e pH 5,5. ....	110

Figura 45 - Superfície de resposta para a concentração de peróxido de hidrogênio em função da concentração de glicose e do tempo. ....	112
Figura 46 - Superfície de resposta para a concentração de peróxido de hidrogênio em função da concentração de enzima e do tempo. ....	112
Figura 47 - Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre o branqueamento, utilizando como agente branqueador o H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . ....	114
Figura 48 - Superfície de resposta para o °Berger em função da temperatura e do tempo. ....	116
Figura 49 - Superfície de resposta para o °Berger em função da concentração de peróxido de hidrogênio e da temperatura. ....	116
Figura 50 – Esquema representativo das condições do processo de branqueamento com peróxido de hidrogênio como agente branqueador. ....	118
Figura 51 – Estudo do melhor pH (a) e da melhor temperatura (b) para a geração de ácido peracético no processo de bioalvejamento. Tempo de reação de 60 min. ....	122
Figura 52 - Avaliação de diferentes concentrações de TAED no processo conjunto de biopurga e bioalvejamento. ....	123
Figura 53 - Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre a geração de ácido peracético entre H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e TAED. ....	125
Figura 54 - Superfície de resposta para a concentração de ácido peracético em função da concentração de peróxido de hidrogênio e a de TAED. ....	126
Figura 55 - Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre o branqueamento, utilizando como agente branqueador o ácido peracético. ....	128
Figura 56 - Superfície de resposta para o °Berger em função da temperatura e do tempo. ....	129
Figura 57 - Superfície de resposta para o °Berger em função da concentração de ácido peracético e da temperatura. ....	129
Figura 58 – Esquema representativo do processo de bioalvejamento utilizando ácido peracético como agente branqueador. ....	131
Figura 59 – Dados de grau de branco e hidrofiliidade para amostras bioalvejadas utilizando água destilada e água de produção em substituição ao tampão acetato. Processo de bioalvejamento utilizando ácido peracético como agente branqueador, nas condições ótimas encontradas para este processo. ....	132
Figura 60 – Grau de branco obtido para o processo de bioalvejamento com peróxido de hidrogênio utilizando a enzima comercial. Estudo da concentração de glicose oxidase e de glicose. ....	134
Figura 61 - Grau de branco obtido para o processo de bioalvejamento com peróxido de hidrogênio utilizando a enzima comercial. Estudo da concentração de TAED. ....	135
Figura 62 – Procedimento de bioalvejamento utilizando peróxido de hidrogênio para a enzima comercial. ....	136
Figura 63 – Procedimento de bioalvejamento utilizando ácido peracético para a enzima comercial. ....	137
Figura 64 – Condições do processo de bioalvejamento ajustados, apresentado de forma geral para ambos os processos. ....	138

Figura 65 – Imagem da malha durante o processo em escala piloto.....	147
Figura 66 – Resíduos na malha tratada.....	148
Figura 67 - Capilaridade da malha tratada pelo processo de bioalvejamento em comparação com a malha alvejada da empresa. ....	149
Figura 68 – Comparação entre a malha crua, a malha bioalvejada com peróxido de hidrogênio e a malha alvejada convencionalmente.....	149
Figura 69 - Capilaridade da malha tratada pelo processo de bioalvejamento em comparação com a malha alvejada da empresa. ....	151
Figura 70 - Comparação entre a malha crua, a malha bioalvejada com ácido peracético e a malha alvejada convencionalmente. ....	151
Figura 71 – Processo geral para os bioprocessos com a desativação das enzimas após a biopurga.....	152

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição seca do algodão bruto.....	36
Tabela 2 - Classificação das enzimas pécticas .....	43
Tabela 3 - Principais reagentes químicos e equipamentos utilizados no presente trabalho. ....	55
Tabela 4 - Características das enzimas utilizadas no trabalho. ....	57
Tabela 5 - Valores das concentrações máximas, mínimas e médias das variáveis independentes do planejamento estatístico. ....	72
Tabela 6 - Valores das concentrações máximas, mínimas, médias e pontos axiais das variáveis independentes do planejamento estatístico. ....	72
Tabela 7 - Valores das concentrações máximas, mínimas e médias das variáveis independentes do planejamento estatístico. ....	81
Tabela 8 - Valores das concentrações máximas, mínimas, médias e pontos axiais das variáveis independentes do planejamento estatístico. ....	82
Tabela 9 – Tricromia para cor clara e cor média.....	91
Tabela 10 – Dados de volume e concentração de reagentes utilizados no teste piloto para um volume de malha de 1 kg e relação de banho 1:8. ....	96
Tabela 11 - Valores obtidos para a quantidade de proteína total nas preparações enzimáticas. ....	101
Tabela 12 - Atividade total e atividade específica das enzimas celulase, pectinase e lipase. ....	102
Tabela 13 – Variáveis codificadas e reais, e suas respectivas respostas do planejamento fatorial $2^3$ completo para avaliar a formação de peróxido de hidrogênio pela reação entre a glicose oxidase e a glicose. Condição: pH = 5,5 e T= 35 °C. ....	109
Tabela 14 – Análise de variância dos valores da concentração de $H_2O_2$ .....	111
Tabela 15 – Variáveis codificadas e suas respectivas respostas do planejamento composto central para avaliar a etapa de branqueamento, no processo de bioalvejamento com peróxido de hidrogênio. pH = 11. ....	113
Tabela 16 – Análise de variância para o processo de bioalvejamento utilizando $H_2O_2$ como agente branqueador. ....	115
Tabela 17 – Valores críticos para o processo de branqueamento utilizando o $H_2O_2$ como agente branqueador. ....	117
Tabela 18 – Variáveis codificadas, reais e suas respectivas respostas do planejamento fatorial $2^3$ completo para avaliar a formação de ácido peracético pela reação entre o peróxido de hidrogênio e o TAED. Condições: T = 50 °C e pH = 7,5.....	124
Tabela 19 – Análise de variância dos valores da concentração de $H_2O_2$ .....	125
Tabela 20 – Variáveis codificadas e suas respectivas respostas do planejamento composto central para avaliar a etapa de branqueamento, no processo de alvejamento com ácido peracético. ....	127
Tabela 21 – Análise de variância para o processo de bioalvejamento utilizando ácido peracético como agente branqueador. ....	128

Tabela 22 – Valores críticos para o processo de branqueamento utilizando o ácido peracético como agente branqueador. ....	130
Tabela 23 – Parâmetros do sistema Cielab para o tingimento de cor clara. ....	140
Tabela 24 – Parâmetros do sistema Cielab para o tingimento de cor média. ...	141
Tabela 25 – Número de organismos vivos, condutividade, oxigênio dissolvido e pH para as amostras avaliadas para a toxicidade aguda com <i>Daphnia magna</i> .	143
Tabela 26 – Valores de CL <sub>50</sub> 48 horas dos efluentes do alveijamento padrão, do bioalveijamento com peróxido de hidrogênio, do bioalveijamento com ácido peracético e respectivos intervalos de confiança (IC- 95%), para o cladóceros <i>Daphnia magna</i> , em testes de toxicidade aguda. ....	144
Tabela 27 – Dados de DQO e DBO para os bioprocessos propostos utilizando a enzima comercial e para o alveijamento convencional. ....	145
Tabela 28 – Dados de DQO e DBO para os bioprocessos propostos utilizando a enzima glicose oxidase ultrapura. ....	146
Tabela 29 – Resultados obtidos para o processo de bioalveijamento utilizando peróxido de hidrogênio. ....	148
Tabela 30 – Resultados obtidos para o processo de bioalveijamento utilizando peróxido de hidrogênio. ....	150
Tabela 31 – Resultados obtidos para o tingimento com a cor clara. ....	153
Tabela 32 – Resultados obtidos para o tingimento com a cor média. ....	154

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIT	- Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confeção
ART	- Açúcar redutor total
ABNT	- Associação Brasileira de Normas Técnicas
°Be	- Graus Baumé [g/L]
°Berger	- Unidade de medida do grau de branco
BSA	- Albumina Sérica Bovina
βG	- β-glucosidase, celobiase
CBD	- Cellulose Binding Domain
CBH	- Celobiohidrolase
CD	- <i>Catalytic Domain</i>
CIELAB	- Sistema de medida de cor que utiliza o espaço tridimensional L*, a* e b*
CMC	- Carboximetilcelulose
CMCase	- Carboximetilcelulase
CO	- Algodão
DBO	- Demanda Bioquímica de Oxigênio
DNS	- Ácido 3,5 dinitrossalicílico
DQO	- Demanda Química de Oxigênio
E.C.	- Comissão de Enzimas
EG	- Endoglucanase
FD	- Fator de diluição
GOx	- Enzima Glicose oxidase
ISO	- Organização Internacional para Padronização
LABMASSA	- Laboratório de Transferência de Massa
NBR	- Norma Brasileira
P.A.	- Para Análise
PA	- Poliacrilamida
PE	- Pectinesterase
PG	- Poligalacturonase
PGL	- Pectatoliase
pH	- Potencial Hidrogeniônico
PL	- Pectina liase
p-NPP	- p-nitrofenilpalmitato
rpm	- Rotação por minuto
SENAI	- Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial
TAED	- Tetra acetil etileno diamina
Tris	- Tris(hidroximetil)aminometano
UFSC	- Universidade Federal de Santa Catarina



## LISTA DE SÍMBOLOS

- A - Atividade da enzima [U/mL].
- $A_p$  - Altura percorrida.
- $A_t$  - Altura total.
- $C_{C_2H_4O_3}$  - Concentração de ácido peracético [g/L].
- $C_{H_2O_2}$  - Concentração de Peróxido de hidrogênio [g/L].
- [C] - Concentração de açúcar redutor liberado [ $\mu$ mol/mL].
- $D_E$  - Diluição da enzima.
- V - Volume da amostra [mL].
- $V_E$  - Volume da solução de enzima [mL].
- $V_T$  - Volume total da solução [mL].
- $V_{Na_2S_2O_3}$  - Volume da solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação [mL].
- $V_{KMnO_4}$  - Volume de  $KMnO_4$  gasto na titulação [mL].
- N - Normalidade da solução de  $KMnO_4$ .
- f - Fator de correção.
- t - Tempo de reação [min].
- T - Temperatura [ $^{\circ}$ C]
- a\* - Correspondem à crominância de uma cor.
- b\*
- L\* - Luminância.
- $\Delta E_{cmc}$  - Representa a diferença total de cor entre a amostra padrão e a tratada.
- $\epsilon$  - Coeficiente de extinção molar [ $M^{-1} cm^{-1}$ ]
- U - Unidade de atividade enzimática [ $\mu$ mol/min]



# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>29</b>
1.1 OBJETIVOS	32
1.1.1 Objetivo Geral	32
1.1.2 Objetivos Específicos	32
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>33</b>
2.1 PROCESSO TÊXTIL	33
2.1.1 Fibras de algodão	34
2.1 ENZIMAS UTILIZADAS NOS PROCESSOS TÊXTEIS	38
2.1.1 Celulase	41
2.1.2 Pectinase	43
2.1.3 Lipase	44
2.1.4 Glicose oxidase	46
2.1.5 Processos biotecnológicos aplicados às fibras têxteis	48
2.1.6 Toxicidade e parâmetros ambientais DBO e DQO para efluentes têxteis	51
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>55</b>
3.1 MATERIAL	55
3.1.2 Reagentes e equipamentos	55
3.1.3 Tecido de malha e auxiliares	56
3.1.4 Enzimas	56
3.1.5 Corantes e aditivos para o tingimento	57
3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS PREPARAÇÕES ENZIMÁTICAS	59
3.2.1 Determinação de Proteína	59
3.2.2 Determinação de açúcares redutores totais	59
3.2.3 Quantificação da atividade enzimática	60
3.3 PRÉ-TRATAMENTO CONVENCIONAL DA MALHA	64
3.4 PRÉ-TRATAMENTO ENZIMÁTICO	65
3.5 ETAPA 1: AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO DA MALHA COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO	66
3.5.1 Produção enzimática de peróxido de hidrogênio	66
3.5.2 Quantificação da concentração de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	67
3.5.3 Avaliação da aeração na reação de formação de peróxido de hidrogênio	68
3.5.4 Avaliação do melhor pH no processo de formação de peróxido de hidrogênio	69
3.5.5 Avaliação da melhor concentração de enzima e de glicose para a geração de peróxido de hidrogênio	69

<b>3.5.6 Avaliação do melhor pH para o branqueamento</b>	<b>69</b>
<b>3.5.7 Planejamentos Experimentais</b>	<b>71</b>
3.6 ETAPA 2: AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO UTILIZANDO ÁCIDO PERACÉTICO	74
<b>3.6.1 Quantificação da concentração de ácido peracético</b>	<b>74</b>
<b>3.6.2 Avaliação do pH e da temperatura no processo de formação de ácido peracético</b>	<b>76</b>
<b>3.6.3 Avaliação da concentração do ativador tetra acetil etileno diamina - TAED</b>	<b>79</b>
<b>3.6.4 Planejamentos Experimentais</b>	<b>81</b>
3.7 SUBSTITUIÇÃO DA ENZIMA GLICOSE OXIDASE P.A PELA ENZIMA GLICOSE OXIDASE COMERCIAL	85
<b>3.7.1 Determinação da concentração de glicose oxidase e de glicose para formação de peróxido de hidrogênio</b>	<b>85</b>
<b>3.7.2 Determinação da concentração de TAED para a formação de ácido peracético</b>	<b>87</b>
<b>3.7.3 Ajuste do tempo de processo para ambos os processos estudados</b>	<b>87</b>
3.8 TINGIMENTO	91
3.9 AVALIAÇÃO DA MALHA TRATADA	92
<b>3.9.1 Capilaridade</b>	<b>92</b>
<b>3.9.2 Grau de branco</b>	<b>93</b>
<b>3.9.3 Avaliação da cor após o processo de tingimento</b>	<b>93</b>
<b>3.9.4 Testes de solidez</b>	<b>94</b>
3.10 TESTES DE TOXICIDADE, DBO E DQO PARA OS BIOPROCESSOS PROPOSTOS	95
<b>3.10.1 Toxicidade</b>	<b>95</b>
<b>3.10.2 Parâmetros de DBO e DQO</b>	<b>95</b>
3.11 ESCALA PILOTO	95
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>101</b>
4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS PREPARAÇÕES ENZIMÁTICAS	101
<b>4.1.1 Determinação de Proteínas</b>	<b>101</b>
<b>4.1.2 Determinação das atividades enzimáticas</b>	<b>101</b>
4.2 GRAU DE ALVURA E AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> EM SISTEMA COM E SEM AERAÇÃO.	104
4.3 ETAPA 1: AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO DA MALHA COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO	105
<b>4.3.1 Verificação do melhor pH na etapa de geração de peróxido de hidrogênio no processo de bioalveamento</b>	<b>105</b>
<b>4.3.2 Avaliação preliminar da melhor concentração da glicose oxidase e de glicose para o bioalveamento</b>	<b>106</b>
<b>4.3.3 Efeito do pH na etapa de branqueamento no processo de bioalveamento</b>	<b>107</b>
<b>4.3.4 Planejamento fatorial 2<sup>3</sup> completo para avaliação da geração de peróxido de hidrogênio pela enzima glicose oxidase.</b>	<b>108</b>

<b>4.3.5</b>	<b>Planejamento composto central para avaliação do branqueamento no processo de bioalvejamento com peróxido de hidrogênio.</b>	<b>113</b>
<b>4.3.6</b>	<b>Melhores condições para a etapa de branqueamento do processo de bioalvejamento com peróxido de hidrogênio</b>	<b>117</b>
<b>4.4</b>	<b>ETAPA 2: AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO UTILIZANDO ÁCIDO PERACÉTICO</b>	<b>120</b>
<b>4.4.1</b>	<b>Verificação do melhor pH e da temperatura na etapa de geração de ácido peracético no processo de bioalvejamento</b>	<b>121</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Avaliação preliminar da concentração de tetra acetil etileno diamina (TAED).</b>	<b>122</b>
<b>4.4.1</b>	<b>Planejamento fatorial 2<sup>3</sup> completo para avaliação da produção de ácido peracético.</b>	<b>123</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Planejamento composto central para avaliação do branqueamento no processo de bioalvejamento com ácido peracético.</b>	<b>126</b>
<b>4.4.3</b>	<b>Condição ótima do processo de branqueamento utilizando ácido peracético como agente branqueador</b>	<b>130</b>
<b>4.5</b>	<b>SUBSTITUIÇÃO DO TAMPÃO ACETATO 0,05 M POR ÁGUA.</b>	<b>132</b>
<b>4.6</b>	<b>SUBSTITUIÇÃO DA ENZIMA GLICOSE OXIDASE P.A PELA ENZIMA GLICOSE OXIDASE COMERCIAL</b>	<b>133</b>
<b>4.6.1</b>	<b>Determinação da concentração de glicose oxidase e de glicose para o processo de bioalvejamento utilizando peróxido de hidrogênio como agente branqueador.</b>	<b>133</b>
<b>4.6.2</b>	<b>Determinação da concentração de TAED para o processo de bioalvejamento utilizando ácido peracético como agente branqueador.</b>	<b>134</b>
<b>4.6.3</b>	<b>Ajuste do tempo de processo</b>	<b>135</b>
<b>4.6.4</b>	<b>Tingimento</b>	<b>138</b>
<b>4.7</b>	<b>TESTES DE TOXICIDADE, DBO E DQO PARA OS BIOPROCESSOS PROPOSTOS</b>	<b>141</b>
<b>4.7.1</b>	<b>Avaliação Toxicológica</b>	<b>141</b>
<b>4.7.1</b>	<b>Avaliação da Demanda Química de Oxigênio (DQO) e da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)</b>	<b>145</b>
<b>4.8</b>	<b>ESCALA PILOTO</b>	<b>147</b>
<b>4.8.1</b>	<b>Processo de bioalvejamento com peróxido de hidrogênio</b>	<b>148</b>
<b>4.8.2</b>	<b>Processo de bioalvejamento com ácido peracético</b>	<b>150</b>
<b>4.8.3</b>	<b>Processo de bioalvejamento realizado em laboratório</b>	<b>152</b>
<b>4.8.4</b>	<b>Comparação entre os bioprocessos e o processo convencional</b>	<b>154</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES PARCIAIS</b>	<b>155</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>157</b>
<b>7</b>	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b>	<b>159</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>161</b>



# 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, em 2012 a participação do setor têxtil e de confecção no PIB da indústria de transformação foi de 5,15% (ABIT, 2014). Em 2014 o número de empresas foi de 33 mil em todo o país, sendo o quinto maior produtor têxtil do mundo e o segundo maior empregador da indústria de transformação, empregando 1,6 milhões de funcionários diretos (TEXBRASIL, 2015).

A indústria têxtil representa uma parte importante da economia brasileira e mundial e como toda a indústria tradicional está numa constante busca por processos eficientes, econômicos e ecologicamente mais corretos (ANDREAUS et al. 2010).

É cada vez mais clara a tendência mundial de preservação dos recursos ambientais e da qualidade de vida. Este processo reflete-se na indústria têxtil como um todo, desde a geração do produto até o consumidor final. Para tanto, o grande desafio destas empresas está em viabilizar matérias-primas e processos que minimizem os impactos ambientais, utilizem fontes naturais renováveis e, ainda, possam ter como vantagem competitiva funcionalidades que de alguma forma melhorem a qualidade de vida do ser humano (PICCOLI, 2008).

O uso de processos enzimáticos na indústria têxtil tem se tornado cada vez maior, especialmente visando à substituição de produtos químicos agressivos ao meio ambiente, reduzindo consideravelmente o impacto ambiental assim como os danos às fibras. Além disso, a produção de enzimas teve um grande aumento de escala e conseqüente redução de custo, permitindo que atualmente seu uso esteja disseminado em diversos segmentos industriais. (CUNHA; PEREIRA JR; ANDRADE, 2000).

A utilização de enzimas no processo têxtil visando à remoção das impurezas não celulósicas denomina-se biopreparação, biopurga ou do inglês “*bioscouring*” e apresenta vantagens como a necessidade de temperaturas mais baixas no processo. Dessa forma, contribui também com a redução do consumo de energia. A utilização de processos enzimáticos melhora a qualidade das fibras, pois a atuação das enzimas é altamente específica, evitando o dano às fibras e permitindo a produção de produtos acabados de melhor qualidade com relação ao aspecto visual, toque e propriedades de resistência, reduz o desgaste do equipamento e confere maior flexibilidade na sua utilização. Possibilita ainda a economia de energia e aumento de produtividade, requerendo, porém maior controle do processo (CUNHA; PEREIRA JR; ANDRADE, 2000). Enzimas também são utilizadas para o

branqueamento do tecido de algodão, também chamado de alveijamento ou do inglês “*bleaching*”. Possuem como vantagem a geração enzimática do peróxido de hidrogênio utilizado como agente branqueador, evitando assim a adição de altas concentrações de produtos químicos como hidróxido de sódio e de peróxido de hidrogênio.

O pré-tratamento de tecidos de algodão em único banho vem sendo estudado e as enzimas mais utilizadas são as pectinases (Tzanov; Calafell; Guebitz; Cavaco-Paulo, 2001; Hebeish et al. 2009), a combinação das enzimas pectinase e celulase (Hebeish et al. 2009), a combinação das enzimas amiloglicosidase e pulanase (Anis; Davulcu; Eren, 2008; Eren; Anis; Davulcu, 2009; Ali; Z. Khatri; A. Khatri; Tanwari, 2014), a enzima amiloglicosidase associada a pectinases e a celulase (Buschle-Diller; Yang; Yamamoto, 2001). Em todos os trabalhos citados a geração de peróxido de hidrogênio foi realizada com a enzima glicose oxidase.

Tzanov et al. (2001) realizaram a biopreparação de tecidos de algodão comparando a utilização de dois tipos de pectinases, uma que atua em meio ácido e a outra em meio alcalino e para o branqueamento utilizaram o peróxido de hidrogênio formado enzimaticamente pela reação entre a glicose oxidase e a glicose, obtendo-se bons resultados, porém o grau de branco foi inferior ao obtido pelo alveijamento convencional, sendo um processo adequado para quando não se necessita de um grau de branco elevado.

Saravanan e colaboradores (2012) avaliaram a biopurga e o branqueamento em único banho, utilizando a enzima amilase e a glicose oxidase. O grau de branco obtido foi próximo ao obtido pelo processo convencional, o processo também resultou na retirada completa das impurezas presentes nas amostras.

Frente à necessidade de ampliar os estudos em processos enzimáticos, em único banho, aplicados à indústria têxtil, este trabalho tem o objetivo de estabelecer uma rota para o bioalveijamento, realizando a biopurga e o branqueamento em único banho. Visando obter um bioprocessos de igual ou superior qualidade quando comparado aos processos já existentes, onde se aplica elevadas concentrações de produtos químicos para a sua execução.

Para a realização da biopurga foram utilizadas as enzimas celulase, pectinase e lipase. Já para a realização do branqueamento utiliza-se a enzima glicose oxidase. A biopurga é uma etapa inicial que antecede o branqueamento e não foi estudada neste trabalho, pois foi

desenvolvida em um trabalho paralelo a este pelo mesmo grupo de pesquisa.

Tratamentos enzimáticos onde o banho pode ser reutilizado ou combinado com outras etapas de processo, que geralmente seriam separadas, podem alcançar consideráveis economias de custos, pois há uma diminuição do uso de água, produtos químicos e consumo de energia, uma vez que as condições do processo são mais suaves. Conhecendo-se melhor as variáveis mais importantes do processo de branqueamento, será possível ter uma economia de custos ainda maior, pois se conhecerá os fatores relevantes que poderão ser otimizados para um melhor resultado global. Com isso, um segundo objetivo foi avaliar por meio de planejamentos experimentais cada etapa para verificar quais fatores eram significativos, tanto na geração de peróxido de hidrogênio e de ácido peracético, quanto na etapa de branqueamento da malha.

Não há descrito na literatura até o momento trabalhos que tenham estudado a biopurga e bioalveamento em único banho utilizando as quatro enzimas utilizadas nesta pesquisa e também não foram encontrados trabalhos que analisem por meio de planejamentos experimentais a influencia dos principais fatores nas etapas do processo de branqueamento. Em virtude disso, é extremamente importante o crescimento de estudos nesta área. A principal motivação desta pesquisa se dá pela falta de trabalhos na literatura e também pela aplicabilidade das enzimas na indústria têxtil, visando diminuir o consumo de produtos químicos. É de fundamental importância também o estudo de processos desenvolvidos em único banho, pois reduzem consideravelmente o uso de água na realização dos processos têxteis.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Desenvolver um processo de bioalvejamento de tecidos de malha de algodão em único banho utilizando a enzima glicose oxidase para a geração de peróxido de hidrogênio.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar as enzimas utilizadas em relação à concentração de proteína e à atividade total;
- Estudar a geração de peróxido de hidrogênio pela reação entre a glicose oxidase e a glicose, e o processo de branqueamento utilizando este composto como agente branqueador;
- Analisar a geração de ácido peracético pela reação entre o ativador de peróxido e o peróxido de hidrogênio, bem como a aplicação deste composto como agente branqueador na etapa de branqueamento;
- Estudar o efeito da ação da enzima glicose oxidase P.A e da comercial nos bioprocessos;
- Avaliar o tingimento das amostras de tecido de algodão bioalvejadas pelos bioprocessos propostos;
- Analisar parâmetros ambientais, como toxicidade, DBO e DQO dos bioprocessos propostos em comparação ao processo convencional de alvejamento;
- Verificar a aplicação dos bioprocessos propostos em escala piloto.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo será apresentada a fundamentação teórica, a qual visa abordar os principais conceitos adotados para o desenvolvimento deste trabalho. Inicialmente serão apresentados alguns aspectos sobre a composição e características estruturais do tecido de algodão. Em seguida, serão tratados sobre os processos têxteis e a aplicação das enzimas na indústria têxtil, especificando as enzimas celulase, pectinase, lipase e glicose oxidase.

### 2.1 PROCESSO TÊXTIL

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 (LEÃO et al. 2002).

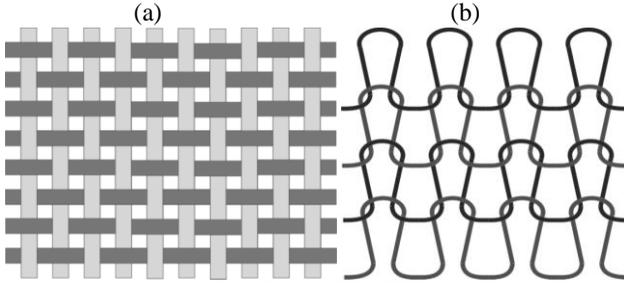
As fibras têxteis podem ser divididas em três grandes grupos denominados fibras naturais, artificiais e sintéticas. As fibras naturais mais utilizadas são baseadas em celulose e proteína, presentes nos pares algodão e linho e na lã e seda, respectivamente. As fibras artificiais são fibras naturais com modificações nas cadeias poliméricas, as mais utilizadas comercialmente são a viscose e o acetato de celulose (GUARATINI; ZANONI, 2000). Por fim, as fibras sintéticas são formadas por polímeros de alto grau de polimerização, obtidos por síntese a partir de monômeros derivados do petróleo, como o propileno e a poliácridonitrila (orlon) (MARTINS, 1997).

O processo de produção de fios, também chamado de fiação, 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. Entre estas operações temos: abertura e separação das fibras, limpeza, paralelização parcial e limpeza, limpeza e paralelização final, regularização, afinamento, torção e embalagem (HORROCKS; ANAND, 2000).

A tecelagem e a malharia são as etapas de transformação dos fios em tecidos planos e malhas, respectivamente. Estes dois são diferenciados pela forma de entrelaçamento dos fios que compõe o tecido, como pode ser visto na Figura 1. 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 (PEREIRA, 2014).

**Figura 1** - Estrutura do tecido plano (a) e do tecido de malha (b).



Fonte: PEREIRA, 2014

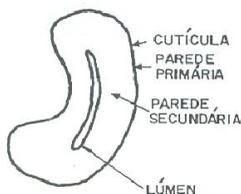
A etapa de acabamento, conhecida também como beneficiamento têxtil, busca melhorar certas propriedades que até então, não tinham sido consideradas como essenciais. Entre elas estão o aspecto, brilho, toque, resistência, estabilidade dimensional, entre outras. (ARAÚJO; CASTRO, 1986).

Nas fases de acabamento têxtil são utilizadas, além do substrato têxtil (fios, fibras, tecidos ou confecções), diversas substâncias como água, resinas, corantes, tensoativos, enzimas, dentre outras. (ABRAHÃO; SILVA, 2002). Entre os substratos têxteis, o algodão é o mais utilizado no beneficiamento e industrialização, mesmo com a modernização da indústria têxtil no Brasil e a inserção das fibras sintéticas (FERREIRA, 2012).

### 2.1.1 Fibras de algodão

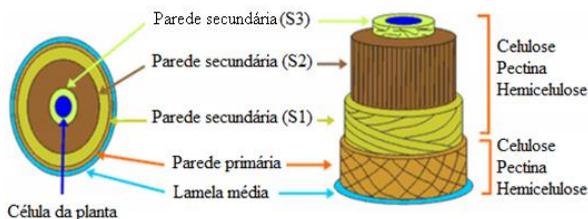
O algodão é uma fibra natural de origem vegetal. As fibras de algodão constituem o revestimento piloso do fruto do algodoeiro (*Gossypium*). O algodão é a fibra celulósica mais importante e também a mais utilizada de todas as fibras têxteis atuais. Existem diferentes variedades de algodão que dependem da sua origem geográfica e do seu grau de maturidade (VASCONCELOS, 2005).

As fibras de algodão são constituídas por uma cutícula externa, chamada *skin* (pele), por uma parede primária, uma parede secundária e um canal central chamado lúmen, como pode ser visto na Figura 2.

**Figura 2** - Corte transversal da fibra de algodão

Fonte: Lange (2004).

As fibras sofrem torção pela tensão superficial de forma helicoidal, sendo distribuídas de maneira irregular sobre o seu comprimento, como é mostrado na Figura 3 (TROTMAN, 1984).

**Figura 3** - Esquema representativo de uma fibra de Algodão

Fonte: Adaptado de MOKHOTHU; JOHN, 2015.

A parede primária compreende apenas 1% da espessura total das fibras de algodão. Impurezas não celulósicas, tais como gorduras, ceras, proteínas, pectinas, corantes naturais, minerais e compostos solúveis em água se encontram em grande parte na matriz de celulose da parede primária e, em menor extensão, na parede secundária e limitam fortemente a absorção de água e a branqueamento da fibra de algodão (YAMAMOTO; BUSCHLE-DILLER; TAKAGISHI, 2001). A pectina está localizada principalmente na parede principal da fibra (MOJSOV, 2012).

A parede secundária, essencialmente celulósica, é a mais espessa e cristalina de todas e é composta pela camada S1, exterior e pela S2, interior. Em S1 os feixes de fibrilas estão dispostos helicoidalmente em redor de fibra, formando com o seu eixo um ângulo de 20-35°. A camada S2 constitui cerca de 95% do peso da fibra. A secção transversal de uma fibra de algodão inchada com soda cáustica mostra uma série de anéis concêntricos, devido ao aumento de volume de S2. O número destes anéis pode ser correlacionado com o número de dias de

crescimento da fibra de algodão. Tal como em S1, em S2 os feixes de fibrilas estão dispostos helicoidalmente ao redor do eixo da fibra, mas formando com este um ângulo de 20-30°. Em S2 observa-se ainda que os feixes de fibrilas têm inversões no sentido do enrolamento. A parede S3, ou parede do lúmen, praticamente só se observa em fibras de algodão muito maduras. Nesta camada a disposição do feixe de fibrilas é similar a S1, sendo assim distinto da camada S2. O lúmen, que constitui a parte mais interior das fibras de algodão, é composto por ceras, pectina e restos de protoplasma (CAVACO-PAULO, 1995).

O algodão bruto tem na sua composição, além de celulose, os componentes comuns das células vegetais, estes componentes são gorduras, ceras, óleos, pectoses, pectinas, proteínas e compostos relativos nitrogenados, ácidos orgânicos e material corante natural (TROTMAN, 1984). Os fios e tecidos de algodão podem ter, adicionalmente, sujidade, encolantes e óleos de máquinas, resultantes dos processos de fábrica. A composição seca do algodão bruto está apresentada na Tabela 1.

**Tabela 1** - Composição seca do algodão bruto.

Componente	Composição (% peso seco)	
	Quantidade típica (%)	Faixa (%)
Celulose	95,0	88,0 – 96,0
Proteínas (% N.6,25) <sup>a</sup>	1,3	1,1 – 1,9
Substâncias Pécicas	0,9	0,7-1,2
Cinzas	1,2	0,7 – 1,6
Cera	0,6	0,4 – 1,0
Açúcares Totais	0,3	0,1 – 1,0
Ácidos Orgânicos	0,8	0,5 – 1,0
Pigmentos	Traços	
Outros	1,4	

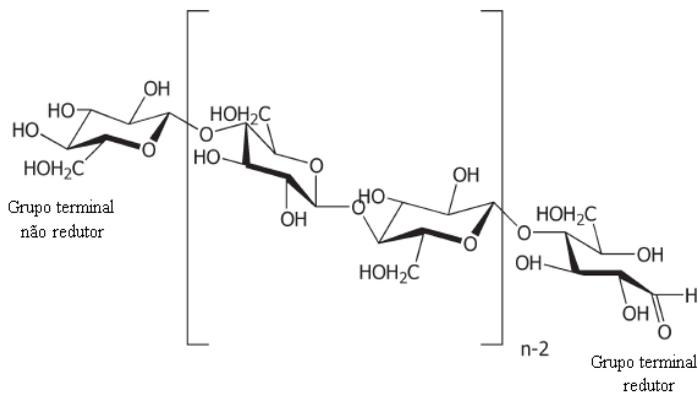
<sup>a</sup>: Método padrão de estimativa da porcentagem de proteína pelo teor de Nitrogênio (% N).

Fonte: LEWIN, 2007

A celulose é um polímero de  $\beta$ -D-glicose insolúvel em água. As propriedades físicas deste material resultam do peso molecular muito alto e do fato de não ter ramificações. O aspecto estrutural mais importante da celulose é a ligação 1,4- $\beta$  das unidades de glicose. O arranjo linear das unidades de glicose com a ligação  $\beta$  na celulose faz

com que haja uma distribuição uniforme de grupos OH nas extremidades de cada cadeia. Quando duas ou mais cadeias de celulose entram em contato, os grupos hidroxilas estão em posição ideal para unir integralmente as cadeias, formando pontes de hidrogênio. A ligação de muitas cadeias de celulose, por esta razão, constitui um polímero rígido, fibroso e insolúvel (Figura 4) (SOLOMONS 1996; SILVA 2006).

**Figura 4** - Estrutura da celulose.

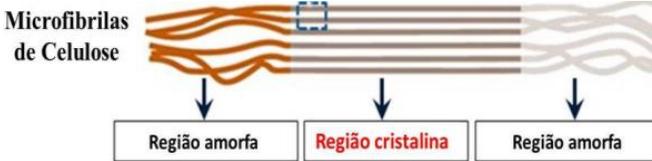


Fonte: Adaptado de Buschle-Diller (2003).

Apesar de as duas extremidades da cadeia de celulose ser de grupos hidroxila, o grupo terminal C<sub>1</sub> – OH é um grupo aldeído hidratado; este grupo tem poder redutor, ao contrário do grupo alcoólico terminal C<sub>4</sub> – OH (BEQUIN; AUBERT, 1994). Nas fibras de algodão, o comprimento da cadeia molecular (grau de polimerização, DP) varia conforme a origem da celulose, podendo chegar a 20.000 unidades monoméricas de D-glicopiranosose, que corresponde a uma massa molar de 3.240 kDa (LEWIN, 2007).

Em sua estrutura supramolecular, a celulose apresenta regiões altamente ordenadas, estabilizadas por numerosas ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, e áreas menos ordenadas ou amorfas, onde as cadeias apresentam uma orientação aleatória. A proporção da parte cristalina em cadeias de celulose é normalmente expressa em porcentagem (grau de cristalinidade ou CrI) e depende da origem e processo de obtenção da celulose. Sugere-se que a celulose amorfa, devido a sua maior área superficial, é mais suscetível à hidrólise enzimática do que a forma ordenada ou cristalina (MARTINS, 2005). A Figura 5 apresenta um esquema das regiões cristalinas e amorfas em microfibrilas de celulose.

**Figura 5** - Regiões cristalinas e amorfas em microfibrilas de celulose.



Fonte: NERALLA, 2012.

Estudos de modelagem desenvolvidos por Coughlan (1985) demonstraram que sítios de menor organização molecular, localizados na superfície da estrutura cristalina, são mais suscetíveis ao ataque enzimático. No entanto, complexos enzimáticos produzidos por vários microrganismos tem se demonstrado capazes de catalisar a hidrólise de celulose, tanto cristalina quanto amorfa, em açúcares solúveis de baixa massa molar como a glicose e a celobiose (MARTINS, 2005).

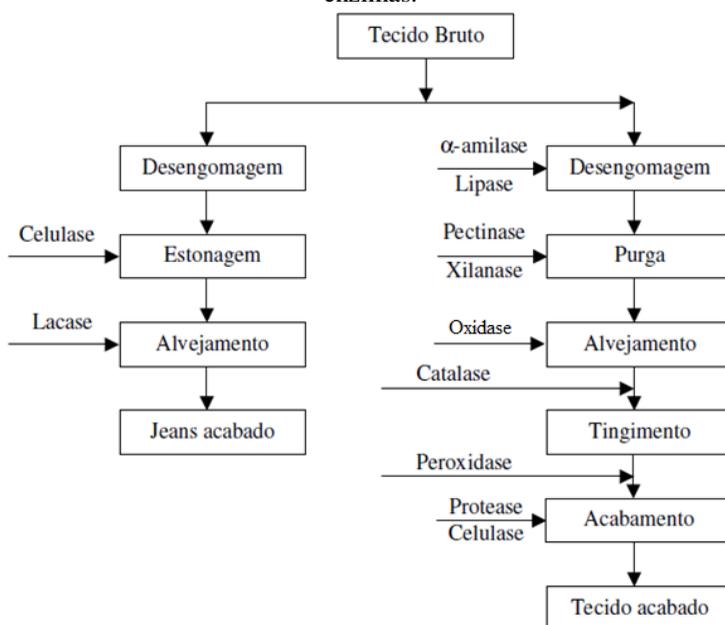
## 2.1 ENZIMAS UTILIZADAS NOS PROCESSOS TÊXTEIS

A utilização de enzimas na indústria têxtil permite o desenvolvimento de tecnologias ambientalmente corretas no processamento da fibra e de estratégias para melhorar a qualidade do produto final. O consumo de energia e de matérias-primas, bem como uma maior consciência das questões ambientais relacionadas ao uso e descarte de produtos químicos em aterros sanitários, água ou liberação para o ar, durante o processamento químico de têxteis, são os principais motivos para a aplicação de enzimas em acabamento de matérias têxteis (ARAÚJO, CASAL E CAVACO-PAULO, 2008).

A substituição e/ou complemento de processos têxteis convencionais pelos enzimáticos, utilizando enzimas como as celulases, as amilases, as proteases, as catalases, as pectinases, as peroxidases, as cutinases e as lacases têm sido o âmbito de vários estudos (Tzanov; Calafell; Guebitz; Cavaco-Paulo, 2001; Hebeish et al. 2009; Davulcu; Eren, 2008; Eren; Anis; Davulcu, 2009; Ali; Z. Khatri; A. Khatri; Tanwari, 2014; Buschle-Diller; Yang; Yamamoto, 2001). No entanto, a difusão da enzima no interior do tecido é possivelmente a maior limitação operacional dos tratamentos enzimáticos. Por isso, os tratamentos enzimáticos cuja ação das enzimas se pretenda na superfície do material têxtil, como é o caso da utilização das celulases no tratamento superficial de tecidos de fibras celulósicas, têm tido maior aceitação no nível industrial (BASTO, 2007).

A substituição dos processos convencionais por processos enzimáticos na indústria têxtil é possível nas diferentes fases do processamento têxtil, desde a fase de tingimento, acabamento dos tecidos até o tratamento de efluentes. O tratamento enzimático tem como principais objetivos limpar a superfície do material, reduzir pilosidades, melhorar as características de toque e auxiliar no tratamento de cargas poluidoras (GÜBITZ, 2003). Na Figura 6 encontra-se um resumo dos processos têxteis e as etapas onde se aplicam algumas das enzimas mais utilizadas na indústria têxtil.

**Figura 6** - Etapas do beneficiamento têxtil onde podem ser utilizadas enzimas.



Fonte: Adaptado de Furlan, 2012.

A maioria dos tratamentos enzimáticos aplicados às fibras celulósicas tem como finalidade a obtenção de novos efeitos de acabamento, ou a substituição de produtos químicos usados nos processos tradicionais.

A aplicação de enzimas, como as  $\alpha$ -amilases, as hemicelulases, as pectinases, as celulases, as proteases e as lipases assim como as

combinações destas, tem sido estudada como alternativa à fervura alcalina convencional (BASTO, 2007).

As amilases são utilizadas para remover a base de amido presentes no tecido na etapa de desengomagem. As catalases tem sido utilizadas para remover  $H_2O_2$  após o branqueamento (ARAÚJO, CASAL E CAVACO-PAULO, 2008).

As lipases são utilizadas para ajudar na remoção de lubrificantes, a fim de promover uma melhor absorção do tecido (HASAN et. al. 2006).

As pectinases são as enzimas mais efetivas para a biopurga de algodão por causa da degradação e eliminação de pectinas, sob condições adequadas de incubação e assim, melhorando a absorção das matérias têxteis, sem causar destruição à celulose (KALANTZI et al. 2008).

O acabamento de tecidos de algodão com celulases permite eliminar da superfície dos tecidos, fibras imaturas, fibrilas e prevenir a fibrilação e a formação de *pilling*. O acabamento é mais homogêneo e permite melhoramento das características do tecido no que diz respeito ao tato. O efeito de *stone-wash* nos artigos de jeans e outros artigos de vestuário é tradicionalmente conseguido através da lavagem com pedrapomes. No entanto, o tratamento dos artigos jeans com celulases permite uma redução de tempo de tratamento, uma elevada flexibilidade e reprodutibilidade (GALANTE; FORMANTICI, 2003).

Os avanços na biotecnologia possibilitaram a criação de misturas especiais de enzimas para aplicações específicas. No estudo realizado por Hartzell e Hsieh (1998), por exemplo, foi avaliada a ação combinada das enzimas pectinases e celulases, o que permitiu obter algodões com melhor capacidade de retenção de água. Karapinar e Sariisik (2004) avaliaram várias combinações entre celulases, pectinases e proteases com o objetivo de remover impurezas e melhorar a molhabilidade e a absorção de tecidos de algodão. Todos estes processos enzimáticos requerem uma otimização das condições de operação por limitação dos perfis de atividade das enzimas.

A termoestabilidade das enzimas necessita de um controle rigoroso da temperatura do processo. O aumento da temperatura, até certo ponto, promove um aumento da atividade enzimática e, conseqüentemente, da eficiência da hidrólise. Porém, ao se ultrapassar a temperatura limite de ação das enzimas, ocorrerá uma redução gradativa da atividade enzimática até que se alcance a desnaturação dessas. O mesmo controle rigoroso deve ser realizado com o pH, visto que um

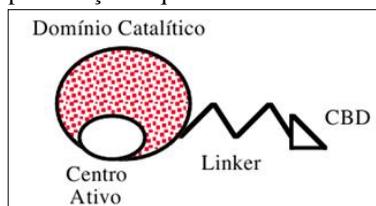
meio muito ácido provoca a desnaturação das enzimas (CARVALHO, 2011).

### 2.1.1 Celulase

As celulases são enzimas que catalisam a hidrólise da celulose. Tal como outros tipos de enzimas possuem uma estrutura tridimensional proteica, sendo constituídas por aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas. As celulases mais intensivamente estudadas são as produzidas por fungos, como *Aspergillus Niger*, *Humicola insolens*, *Penicillium funiculosum* e *Trichoderma reesei* (CAVACO- PAULO, 1995).

As celulases são constituídas por dois domínios, funcionais e estruturalmente distintos. Possuem um domínio catalítico (que constitui a maior parte da proteína), que é onde ocorre a cisão hidrolítica das cadeias de celulose, e outro domínio chamado de CBD (Cellulose Binding Domain) que é responsável pela ligação da enzima ao substrato. Estes estão ligados entre si através de um polipeptídeo chamado de *linker*. O CBD adere à microfibrila e provoca uma desorganização local na estrutura cristalina da fibra aumentando a exposição das moléculas de celulose e facilitando a catálise. O *linker* posiciona o sítio catalítico onde houve essa desordenação provocada pelo CBD (CAVACO- PAULO, 1995). Uma representação esquemática dos domínios das celulases é apresentada na Figura 7.

**Figura 7** - Representação esquemática dos domínios de celulases



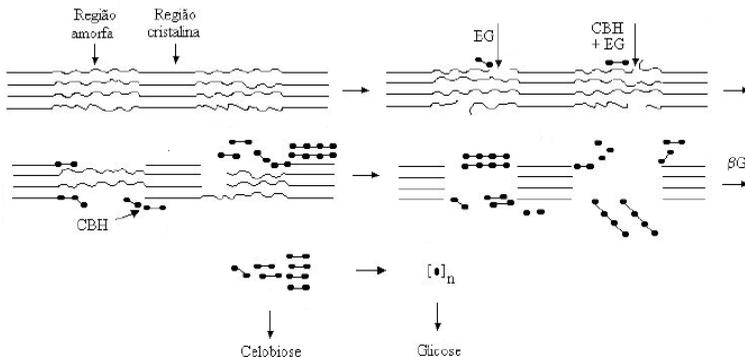
Fonte: CAVACO- PAULO, 1995.

As enzimas celulases são uma mistura de diversos componentes enzimáticos, formando assim, o que se denomina de “complexo enzimático”. Este complexo enzimático é formado por três tipos de enzimas: endoglucanases (EGs) ou endocelulases ( $\beta$ -1,4-D-glucan 4-glucanohidrolase), celobiohidrolases (CBHs) ou exocelulases (1,4-  $\beta$ -D-

glucancelobiohidrolase) e as  $\beta$ -glucosidasas (BGs) ou celobioses ( $\beta$ -D-glucósido glucosidase) (CARRILLO, 2002).

Cada componente atua de forma específica, conforme apresentado na Figura 8. Sendo que, a primeira etapa consiste na degradação hidrolítica das regiões amorfas da fibra, por meio das endoglucanases (EGs), que atacam o enlace  $\beta$ -1,4-glicosídico das regiões amorfas do polímero de celulose, produzindo múltiplas cadeias de polímeros de diversos graus de polimerização. Na etapa seguinte atuam as celobiohidrolases (CBs) ou exoglucanases (CBHI), cuja ação se limita ao extremo não redutor da cadeia, apresentando uma elevada atividade frente à celulose amorfa e dando como produto a celobiose. Esta enzima apresenta grande afinidade pela celulose, e também degrada lentamente as cadeias terminais não redutoras das regiões cristalinas acessíveis do polímero, produzindo celobiose. Finalmente, as  $\beta$ -glucosidasas hidrolisam as cadeias de celobiose e celo-oligossacarídeos, produzindo glicose. Este processo além de completar a degradação da celulose, também elimina a acumulação de celobiose que atuaria como inibidor das CBHs, na segunda etapa do mecanismo de hidrólise (CARRILLO, 2002).

**Figura 8** - Mecanismo de hidrólise enzimática da celulose.



Fonte: Adaptado de Freitas, 2009.

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).

## 2.1.2 Pectinase

As enzimas pectinolíticas ou pectinases são as responsáveis pela degradação das substâncias pécticas, sendo produzidas somente por vegetais e microrganismos. Elas estão envolvidas nos processos fisiológicos dos vegetais e são empregadas na indústria destacando-se por serem as enzimas mais utilizadas pelas indústrias de processamento de frutas (HENNIES, 1996).

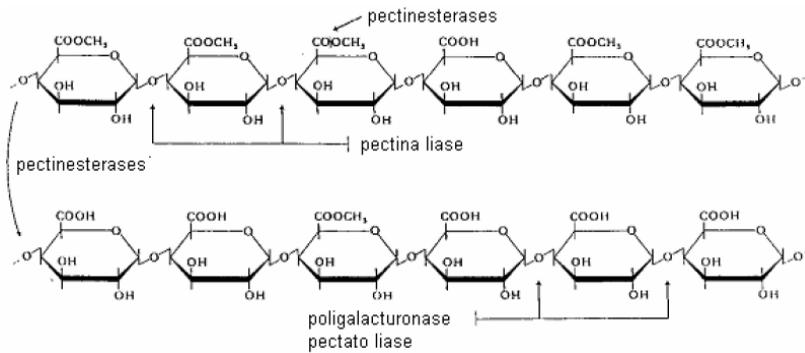
A classificação destas enzimas (Tabela 2) é baseada no modo de ataque à cadeia de ácido galacturônico dos polímeros pécticos, sendo descritos três tipos de enzimas: as desesterificantes (pectinesterases), as despolimerizantes (hidrolases e liases) e as protopectinases. A classificação ainda pode ser baseada na preferência pelo substrato (pectina ou pectato) e na região em que atuam na molécula, podendo, neste caso, atuar de forma randômica (atividade endo) ou a partir da extremidade não redutora da molécula (atividade exo) (FOGARTY; WARD, 1972, ROMBOUTS; PILNIK, 1980, KASHYAP et al. 2001).

**Tabela 2 - Classificação das enzimas pécticas**

<b>Tipo de pectinase</b>	<b>Nome sugerido pela EC</b>	<b>Sigla</b>	<b>Nome comum</b>	<b>Número EC</b>
Hidrolase	endo poligalacturonase	endo-PG	poligalacturonase	3.2.1.15
	exo poligalacturonase	exo-PG	poligalacturonase	3.2.1.67
	endo polimetilgalacturonase	endo-PMG	pectina hidrolase	
	exo polimetilgalacturonase	exo-PMG	pectina hidrolase	
Liase	endo poligalacturonase liase	endo-PGL	pectato liase	4.2.2.2
	exo poligalacturonase liase	exo-PGL	pectato liase	4.2.2.9
	endo polimetilgalacturonato liase	endo-PMGL	Pectina liase	4.2.2.10
	Exo polimetilgalacturonato liase	exo-PMGL	pectina liase	

Fonte: UENOJO; PASTORE, 2007.

Os pontos de ataque das enzimas pécticas na molécula de pectina estão representados na Figura 9.

**Figura 9** - Pontos de ataque das pectinases na molécula de pectina.

Fonte: ROMBOUITS; PILNIK, 1980.

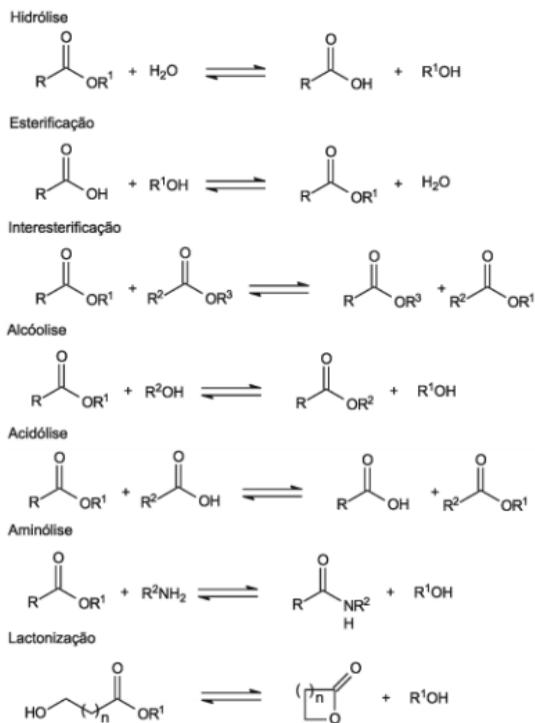
Na indústria têxtil, a adição de enzimas pectinolíticas facilita a separação das fibras de celulose, através da degradação das moléculas de pectina interligadas à hemicelulose. Estas enzimas vêm sendo aplicadas na degomagem de fibras derivadas da juta, rami e outros vegetais, utilizados na fabricação de diversos materiais, como roupas, fios e lonas. Estas fibras contêm aproximadamente 20% a 35% de material gomoso incrustado constituído principalmente de pectina, o qual precisa ser removido para a utilização industrial das mesmas. Tradicionalmente, a remoção é feita por processos de degomagem química com soluções alcalinas aquecidas, que geram resíduos prejudiciais ao ambiente e apresentam um alto consumo de energia. Uma das soluções para estes problemas vem sendo a utilização de processos biotecnológicos que envolvem a utilização de pectinases ou combinações de pectinases e xilanases, que, além de representar uma alternativa econômica, não provoca danos ao ambiente (KAPOOR et al. 2001).

### 2.1.3 Lipase

Lipases (triacilglicerol éster hidrolases, EC 3.1.1.3) são enzimas que catalisam a quebra de gorduras e óleos liberando ácidos graxos, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e glicerol. Além disso, elas são também eficientes em várias reações tais como esterificação, transesterificação e interesterificação em solventes orgânicos. A Figura 10 apresenta as principais reações catalisadas pela lipase. Estas enzimas são encontradas em tecidos animais, vegetais e em microrganismos, tendo papel fundamental no metabolismo de lipídios destes seres vivos:

como enzimas digestivas, a deposição e mobilização dos tecidos de reservas energéticas e no metabolismo intracelular, atuando sobre as membranas celulares (VILLENEUVE et al. 2000).

**Figura 10** – Reações catalisadas pela lipase.



Fonte: PAQUES; MACEDO, 2006.

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).

A atividade catalítica das lipases pode ser influenciada por fatores como a ausência da interface água/óleo, a eventual inibição pelos

produtos formados e a influência do tipo de agente emulsificante (HARALDSON, 1991).

A maioria das lipases apresenta atividade ótima em temperaturas entre 30°C 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 provenientes de microrganismos constituem um grupo de valiosas enzimas de aplicação biotecnológica, devido principalmente à versatilidade de suas propriedades, no que se refere à atuação enzimática e especificidade ao substrato e facilidade de produção em escala, sendo um dos grupos mais utilizados no segmento industrial (HASAN et al. 2006).

Na indústria têxtil, antes do tecido de algodão seguir para a etapa de tingimento e finalização, as impurezas, ceras, pectinas, proteínas e hemicelulose devem ser removidas. Os tecidos também contêm resíduos de produtos utilizados para a lubrificação das máquinas e se não forem devidamente removidos podem resultar em problemas na etapa de tingimento e acabamento (DURÁN; DURÁN, 2000).

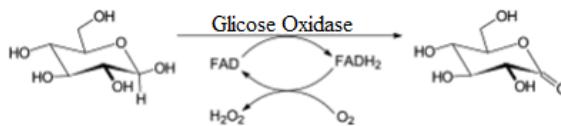
Nessa indústria, as lipases são usadas para ajudar na remoção de lubrificantes, a fim de promover uma melhor absorção da tinta no tecido. Seu uso reduz também riscos e rachaduras nos sistemas de abrasão de *jeans*. As preparações comerciais usadas para o *design* de *jeans* e outros tecidos de algodão contêm as enzimas alfa amilase e lipase (HASAN et al. 2006).

#### 2.1.4 Glicose oxidase

A glicose oxidase (GOx), descoberta em 1928 por Muller, em extratos do fungo *Aspergillus niger* (WILSON; TURNER, 1992), é uma flavoproteína que catalisa a oxidação da  $\beta$ -D-glicose pelo oxigênio molecular em glucono- $\delta$ -lactona, o qual subsequente e espontaneamente se hidrolisa em ácido glicônico, gerando nessa hidrólise peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (WOHLFAHRT et al. 2004). Mais especificamente, esta reação pode ser dividida em duas etapas, uma redutora e uma oxidativa. Na etapa redutora, GOx catalisa a oxidação de  $\beta$ -D-glicose para D-glicono- $\delta$ -lactona, que não é hidrolisada enzimaticamente a ácido glicônico. Posteriormente, a Flavina dinucleotídeo adenina (FAD) anel da GOx é reduzida a FADH<sub>2</sub> (WITT et al. 2000). Na etapa da reação oxidativa, a GOx reduzida é reoxidada pelo oxigênio para produzir  $H_2O_2$ . O  $H_2O_2$  é clivado pela enzima catalase para produzir

água e oxigênio (BANKAR et al. 2009). Na Figura 11 é mostrada a reação de oxidação da glicose pela GOx.

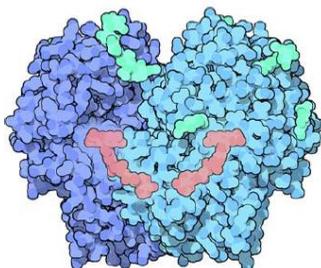
**Figura 11** - Oxidação da molécula de glicose pela ação da enzima glicose oxidase.



Fonte: LESKOVAC et al. (2005).

A GOx é uma enzima globular dimérica que tem o FAD por cofator, o diâmetro médio da GOx é 8 nm. Uma unidade monomérica da GOx possui o formato esferoide e compacto com dimensões 60 Å x 52 Å x 37 Å (WILSON; TURNER, 1992). A Figura 12 representa a simulação computacional da molécula de GOx com o seu cofator, obtida a partir do fungo *Aspergillus niger*. Segundo Bankar e colaboradores (2009), a faixa do pH ótimo da glicose oxidase é de 4 a 5,5.

**Figura 12** - Representação esquemática da glicose oxidase, as suas duas subunidades (azul claro e escuro) e a coenzima FAD (rosa).



Fonte: GOODSSELL, (2006).

Os substratos de glicose oxidase podem ser separados em dois grandes grupos: os doadores de elétrons no meio de reação redutora, e os aceptadores de elétrons na meia-reação oxidativa. Os substratos do primeiro grupo são os açúcares. Vários açúcares e derivados da D-Glicose são substratos potenciais, sendo a β-D-Glicose o substrato mais eficiente. No segundo grupo entre os principais substratos estão as benzoquinonas, as naftoquinonas e o oxigênio molecular (LESLOVAC et al. 2005).

A Gox é inibida por quantidades micromolares de metais pesados como o mercúrio, chumbo e prata. A susceptibilidade da enzima para esses metais foi usada para construir um biossensor para detectá-los. Quantidades milimolares de hidrazina, hidroxilamina e fenil-hidrazina inibem parcialmente a enzima. A uma concentração de 10 mM o seguinte grau de inibição foi observado: 8- hidroxiquinolina (11%) de nitrato de sódio (13%) e de semicarbazida (20%). A atividade da enzima também diminui na presença de aldohexoses como D-arabinose e 2-desoxi-D-glucose, que agem como inibidores competitivos. Íons de iodetos inibem a GOx em pH baixo. Com pH 3, por exemplo, é completamente inibida por cloreto de potássio 0,1 M (WILSON; TURNER, 1992).

Detergentes não iônicos têm pouco efeito sobre a atividade enzimática da glicose oxidase, mas a atividade é perdida na presença de detergentes iônicos como SDS e brometo de hexadeciltrimetilamônio. Detergentes aniônicos como SDS inativam a GOx em pH baixo e detergentes catiônicos como brometo de hexadeciltrimetilamônio inativam em pH elevado. A GOx é instável a temperaturas superiores a 40 °C (WILSON; TURNER, 1992).

### **2.1.5 Processos biotecnológicos aplicados às fibras têxteis**

A utilização de enzimas na indústria têxtil vem crescendo e é um exemplo de biotecnologia branca, permitindo o desenvolvimento de processos ambientalmente menos agressivos e tecnologias de tratamento para melhorar a qualidade do produto final.

#### **2.1.3.1 Biopreparação**

O tecido de algodão cru antes de ser tingido em processos úmidos, deve ser limpo a fim de transformá-lo em hidrofílico. O método industrial convencional inclui um tratamento com hidróxido de sódio a alta temperatura seguido de extensiva lavagem (GERHARTZ, 2004).

A fervura alcalina ou purga alcalina permite remover gorduras, ceras, pectinas e proteínas do tecido de algodão, tendo como objetivo aumentar a hidrofiliidade e o branco do tecido (GALANT; FORMANTICI, 2003).

O branqueamento é o tratamento posterior à fervura alcalina, onde os corantes naturais que permanecem na fibra são eliminados. O branqueamento tradicional é através de substâncias químicas, utilizando-se oxidantes como o hipoclorito de sódio, o clorito de sódio, o peróxido

de hidrogênio, o ácido peracético e redutores como o hidrossulfito de sódio e o dióxido de sódio (BASTO, 2007). Estes produtos químicos, obviamente, têm muitos inconvenientes, incluindo produção de gases tóxicos, tempo e consumo de energia, redução de força de tecido e contaminação ambiental (GURSOY; HALL, 2001).

O peróxido de hidrogênio é o agente de branqueamento oxidativo mais frequentemente usado para algodão e misturas de algodão. O peróxido de hidrogênio proporciona um elevado grau de brancura que é estável e não tende a tornar-se amarelada durante o armazenamento. Além disso, o peróxido de hidrogênio tem as vantagens de ser de baixo custo, a flexibilidade de aplicação e a possibilidade do procedimento ser realizado em um banho. Por outro lado, a alta temperatura de branqueamento em condições alcalinas requer a utilização elevada de energia e pode causar danos consideráveis nas fibras. Diferentes soluções como o uso de ativadores do branqueamento têm sido estudadas para superar tais problemas (GURSOY; HALL, 2001).

A fervura alcalina e o branqueamento do algodão envolvem o uso de elevadas concentrações de álcali, peróxido de hidrogênio e outros produtos químicos, combinados com elevadas temperaturas para assegurar a eficiente remoção das impurezas antes do tingimento. Estes processos podem causar a despolimerização da celulose e perdas significativas de peso e resistência dos artigos (BUSCHLE-DILLER et al. 1994).

O tratamento enzimático em substituição ao tratamento alcalino convencional ocorre em condições suaves de reação. A biopreparação, biopurga, purga enzimática ou *bioscouring* objetiva a remoção das impurezas não celulósicas com enzimas como pectinases para remoção da pectina; proteases para proteínas; lipases para os óleos e ceras, xilanases para hemiceluloses, etc. Como alguns pigmentos naturais não podem ser desprendidos da fibra, por estar associada a impurezas, a remoção dessas impurezas remove esses pigmentos, reduzindo o amarelado da fibra. Geralmente as enzimas usadas para a biopurga são selecionadas com base no pH, temperatura, tempo de tratamento requerido, qualidade do produto final, absorção de água e alvura (HOONDAL et al. 2002).

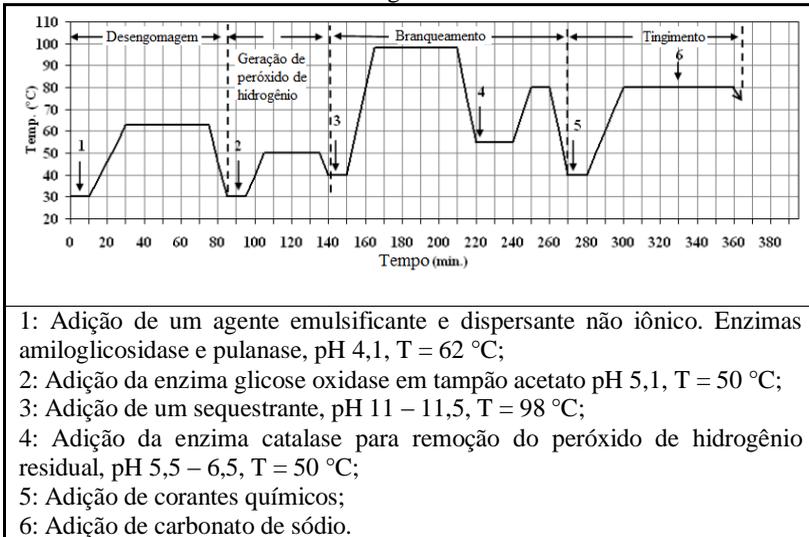
Peroxidase, lacase, glicose-oxidase, hemi-celulase e catalase são exemplos das enzimas que possivelmente podem ser utilizadas no processo de branqueamento. O peróxido de hidrogênio acessível comercialmente é fabricado quimicamente; entretanto este reagente

pode ser produzido de outro modo, através da oxidação de glicose catalisada pela enzima glicose-oxidase (FAROOQ et al. 2013)

A combinação de enzimas específicas para remover as impurezas não celulósicas no algodão permite manter inalterada a estrutura da celulose e reduz o consumo de energia, pois a purga enzimática exige temperaturas menores que a purga convencional (AXT-MARTINELLI, 2002).

O processo de biopurga e o branqueamento em único banho, foi estudado por Eren, Anis e Davulcu (2009), onde foi avaliada a utilização das enzimas amiloglicosidase, pulanase e glicose oxidase para a biopurga, branqueamento e tingimento de tecidos de algodão. O processo aplicado pelos autores está apresentado na Figura 13.

**Figura 13** – Processo de biopurga, branqueamento e tingimento de tecidos de algodão.



Fonte: EREN; ANIS; DAVULCU (2009).

Os autores obtiveram um grau de branco de 71 *Stensby* para o processo enzimático e de 80 graus *Stensby* para o processo convencional e os rendimentos das cores no tingimento foram comparáveis com as amostras tratadas convencionalmente.

O uso de ativadores de peróxido de hidrogênio também vem sendo estudado. Špička e Tavčer (2012) avaliaram a utilização das enzimas pectinase e glicose oxidase e do ativador tetra acetil etileno

diamina (TAED) no pré tratamento de tecidos de algodão. O grau de branco obtido foi de 51 (representado em unidades CIE), para as amostras tratadas enzimaticamente e de 84,5 para o processo convencional. Segundo os autores, tetra acetil etileno diamina (TAED) é um dos ativadores mais utilizados com sucesso para reação com  $H_2O_2$  e tem sido usado principalmente na indústria de detergentes. O branqueamento de fibras de algodão com o ativador de branqueamento TAED tem sido intensamente investigado nos últimos anos.

Uma pesquisa mostrou que tetra acetil etileno diamina (TAED) como ativador de peróxido tem potencial no branqueamento de têxteis à base de algodão com maior eficácia de branqueamento sob condições suaves. Ambos TAED e o subproduto da reação (diacetil etileno diamina), bem como o ácido peracético não são tóxicos e são biodegradáveis obtendo-se dióxido de carbono, água, nitratos e amoníaco como produto final. Portanto, TAED fornece um agente de branqueamento ambientalmente correto (HASHIM et al. 2003).

### **2.1.6 Toxicidade e parâmetros ambientais DBO e DQO para efluentes têxteis**

As indústrias têxteis de vestuário e de artefatos de tecidos são atividades potencialmente poluidoras (emissão de gases e efluentes sólidos e líquidos) e/ou utilizadoras de recursos ambientais (uso de água) em seu processo produtivo segundo o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA, 2000).

As indústrias têxteis estão entre as indústrias que mais consomem água, utilizando cerca de  $100\text{ m}^3$  de água e emitindo cerca de 100 Kg de DQO por tonelada de tecido (BERGNA et al. 1999).

Grande parte dos despejos líquidos gerados neste tipo de indústria são provenientes das etapas de limpeza, tingimento e acabamento. Como consequência estes efluentes caracterizam-se por possuir variações de demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO) e por elevada presença de cor e sólidos totais (ST), sendo que a grande maioria dos sólidos refere-se aos sólidos dissolvidos (SD) (BAËTA, 20112).

A complexidade dos efluentes têxteis é atribuída principalmente ao alto conteúdo de corantes, surfactantes e aditivos, que na maioria das vezes são compostos orgânicos de estruturas complexas e estão presentes em elevadas concentrações (LEÃO et al. 2002). Surfactantes, mesmo quando biodegradáveis, na sua decomposição formam produtos metabólicos tóxicos para peixes (SANIN, 1997).

Segundo Storti (2001) o efluente têxtil bruto possui um valor médio de DBO<sub>5</sub> de 300-500 mg/L e de DQO 600-1200 mg/L. Para Santos (2006), a DQO e a DBO para efluentes têxteis possuem valores em torno de 1135 mg O<sub>2</sub>/L e 380 mg O<sub>2</sub>/L, respectivamente. Os efluentes têxteis de Santa Catarina apresentaram características físico-químicas médias, ao longo do ano de 1995 de: pH 7,2 a 11,7; DQO 1050±380 mg/L; DBO 315±120 mg/L (MARTINS, 1997). Sendo que, em termos de DBO, as maiores cargas vêm da etapa de desengomagem.

Além dos parâmetros de DBO e DQO é importante avaliar a toxicidade do efluente gerado. A toxicologia envolve o estudo qualitativo e quantitativo dos efeitos adversos de substâncias químicas ou outros materiais antropogênicos sobre os organismos expostos. Os testes de toxicidade consistem em se expor organismos representativos durante um período determinado a várias concentrações de uma ou mais substâncias e avaliar os efeitos causados. Os efeitos tóxicos vão desde a mortalidade até efeitos chamados sub-letais, tais como mudanças no crescimento, no desenvolvimento, na reprodução, no comportamento etc. (ABRAHÃO; SILVA, 2002).

Os efeitos deletérios podem ser de dois tipos, agudo ou crônico. O efeito agudo é definido como uma resposta severa e rápida a um estímulo, a qual se manifesta num intervalo curto variando de 0 a 96 h. Para se avaliar efeitos agudos utiliza-se em geral o parâmetro CL50, que é a concentração do agente tóxico que causa letalidade ou outro efeito em 50% dos organismos em teste. O efeito crônico é normalmente resultado de exposições repetidas ou de longa duração, geralmente com baixas concentrações de exposição. Normalmente determina-se o NOEC, que é a maior concentração sem efeito tóxico sobre o organismo e o LOEC, que é a mais baixa concentração com efeitos adversos sobre os organismos. (DELLAMATRICE, 2005).

Os testes de toxicidade crônica e aguda são realizados com o emprego de organismos os quais sejam habitantes dos ecossistemas aquáticos de forma que seja avaliado o efeito de um determinado poluente sobre a comunidade aquática. Estes organismos são conhecidos como organismos-teste. Os microcrustáceos *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* são organismos-teste de ampla utilização no que diz respeito à avaliação ecotoxicológica de efluentes pelo fato de serem sensíveis à diversos compostos e assim possibilitando a obtenção de resultados precisos garantindo a repetibilidade e reprodutibilidade dos resultados (MARTINS, 2008).

Com base no exposto, a presente pesquisa visa obter um processo de bioalveamento em único banho, onde a etapa inicial é a etapa de biopurga, realizada utilizando as enzimas celulase, lipase e pectinase, seguida da etapa de branqueamento, a qual utiliza a enzima glicose oxidase para a geração do peróxido de hidrogênio (agente branqueador). Visando potencializar o branqueamento da malha, em um segundo momento também foi avaliado a utilização de um ativador de peróxido, o qual reage com o peróxido de hidrogênio gerado enzimaticamente, e forma como produto o acetil etileno diamina responsável pelo branqueamento.

O desenvolvimento de processos têxteis utilizando enzimas vem ao encontro da necessidade de se desenvolver processos menos agressivos ao meio ambiente e com um consumo menor de água.



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Transferência de Massa – LABMASSA, situado no Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Esta seção apresenta os reagentes e equipamentos, bem como a descrição dos procedimentos laboratoriais realizados durante a fase experimental desta pesquisa.

#### 3.1 MATERIAL

##### 3.1.2 Reagentes e equipamentos

Os reagentes utilizados durante o desenvolvimento do trabalho, bem como os equipamentos, estão listados na Tabela 3.

**Tabela 3** - Principais reagentes químicos e equipamentos utilizados no presente trabalho.

<i>Reagente</i>	<i>Marca</i>
Acetato de sódio Anidro P.A.	Vetec
Ácido acético glacial P.A.	Vetec
Fosfato de sódio dibásico dihidratado P.A.	Vetec
Fosfato de potássio monobásico anidro P.A.	Vetec
Pectina cítrica	Vetec
Azul de Coomassie Brilhante G 250	Vetec
Álcool etílico absoluto P.A.	Lafan
Ácido fosfórico P.A.	Vetec
Cloreto de sódio P.A.	Vetec
Albumina Sérica Bovina (BSA)	Sigma-Aldrich
Carboximetilcelulose	Sigma-Aldrich
Cloreto de cálcio	Vetec
p-Nitrofenilpalmitato	Sigma-Aldrich
Carbonato de sódio anidro P.A.	Lafan
Tris(hidroximetil)aminometano 99+%	Sigma-Aldrich
Hidróxido de sódio micropérola P.A.	Synth
Ácido clorídrico P.A.	Nuclear
Tartarato de sódio e potássio P.A.	Synth
Ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS)	Sigma-Aldrich
D(+)-Glucose anidra (Dextrose) P.A.	Vetec

<i>Continuação</i>	
Permanganato de potássio	Lafan
Oxalato de sódio P.A. ACS	Vetec
Peractive AC White - Tetra acetil etileno diamina (TAED)	Clariant
Tiosulfato de sódio P.A.	Lafan
Iodeto de potássio P.A. ACS	Vetec
Amido solúvel P.A.	Synth
Ácido sulfúrico P.A. ACS	Synth
Dicromato de potássio P.A. ACS	Vetec
Celusoft	Novozymes, AkmeY
Lipolase	Novozymes, AkmeY
Bioprep 3000L	Novozymes, AkmeY
Glicose oxidase	Sigma-Aldrich
Glicose oxidase – Spring Gluz	Granotec
<b>Equipamento</b>	<b>Marca<sub>modelo</sub></b>
Agitador magnético	Dist
Balança analítica	Mettler Toledo
Banho microprocessado – Dubnoff	Dist <sub>DI-951</sub>
pHmetro	Quimis
Colorímetro OnColor	Minolta <sub>CM-3600a</sub>
Espectrofotômetro	Pró-análise <sub>v. 1200</sub>
Foulard	Mathis <sub>FVH</sub>
Forno termofixador (Rama)	Mathis <sub>LTE-S</sub>
Tingimento em canecas - HT	Mathis <sub>ALT</sub>
Bomba de aeração de aquário	Boyu

### 3.1.3 Tecido de malha e auxiliares

O tecido de malha 100% algodão orgânico, cru, o tensoativo e o sequestrante foram gentilmente doados pela empresa Malwee<sup>®</sup>. A malha 100% algodão possui gramatura de 165 g/m<sup>2</sup>.

### 3.1.4 Enzimas

As enzimas utilizadas nesta pesquisa foram produzidas pela Novozymes, sendo elas: 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). Também se utilizou a enzima glicose oxidase (EC 1.1.3.4). Na primeira

fase da pesquisa foi utilizada a enzima glicose oxidase da marca Sigma e na segunda fase foi utilizada a enzima da marca Granotec, comercializada pelo nome Spring Gluz.

A Tabela 4 apresenta as características das enzimas celulase, pectinase e lipase fornecidas pelo fabricante. As condições ótimas de atuação da enzima glicose oxidase foram determinadas em laboratório, conforme item 3.2.

**Tabela 4** – 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 ótimo	5,5 – 6,5	7,0 – 11,0	6,0 – 9,0
Temperatura ótima (°C)	50 – 60°C	30 – 40°C	50 – 60°C

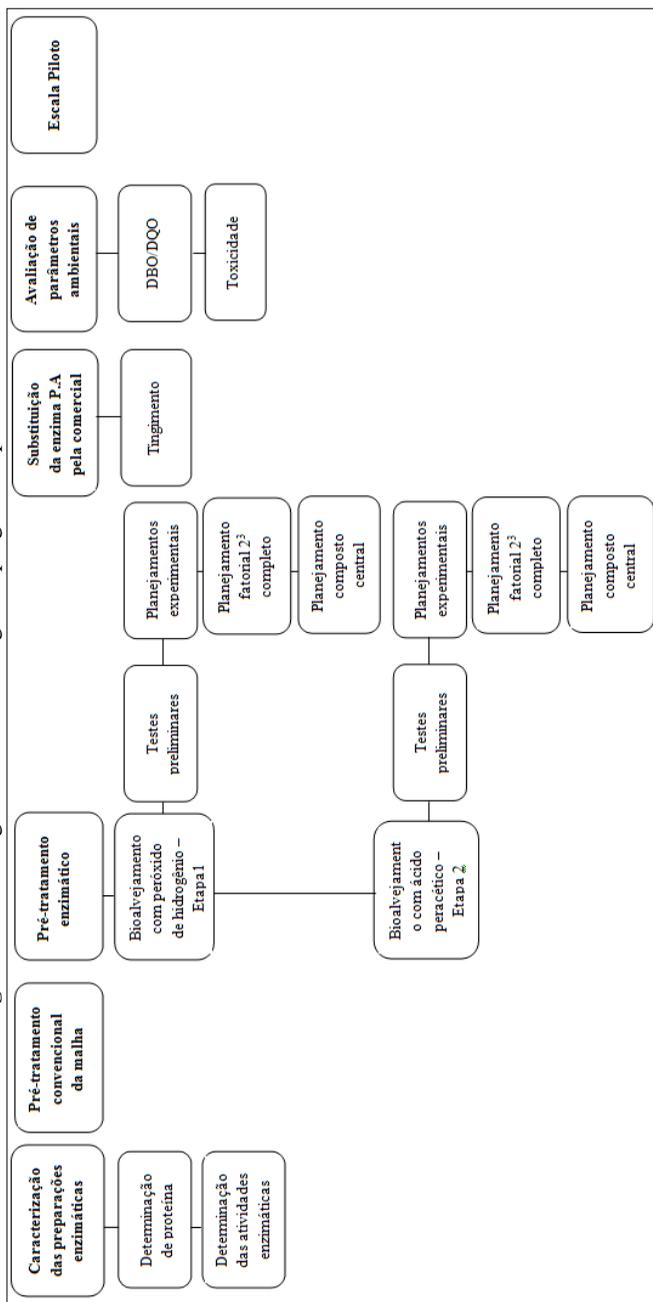
Fonte: Novozymes.

### 3.1.5 Corantes e aditivos para o tingimento

Os corantes e outros produtos químicos aditivos, denominados no setor têxtil de produtos auxiliares, utilizados nesta pesquisa foram gentilmente doados pela empresa Malwee®. Os corantes são: Amarelo drimaren CL-2R, Azul drimaren HF-RL e o Vermelho drimaren HF-4B. Os auxiliares são: sequestrante, dispersante, agente anti-quebra, álcali, agente de ensaboamento, fixador, compatibilizador de cargas e a enzima catalase.

A Figura 14 apresenta um fluxograma de como a metodologia está apresentada.

**Figura 14** – Fluxograma da metodologia empregada no presente estudo.



## 3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS PREPARAÇÕES ENZIMÁTICAS

### 3.2.1 Determinação de Proteína

Para a determinação de proteína foi utilizado o Método de Bradford (1976), o qual se baseia na ligação do corante Azul de Coomassie BG-250 com grupos funcionais básicos ou aromáticos das proteínas. Para isso ocorrer, a proteína deve ter estrutura macromolecular. A ligação ocorre muito rapidamente cerca de dois minutos e permanece por até uma hora (BRADFORD, 1976). Segundo Zaia; Zaia e Lichtig (1998), no pH de reação a interação entre a proteína de alto peso molecular e o corante provoca o deslocamento do equilíbrio deste para a forma aniônica, que absorve fortemente em 595 nm.

O Reagente de Bradford foi preparado com 100 mg do corante Coomassie Brilliant Blue G-250 dissolvido em 50 mL de etanol e 100 mL de ácido *o*-fosfórico (85%). Após homogeneização da mistura foi adicionado água destilada até completar o volume de 1000 mL. A solução foi filtrada em sistema a vácuo e armazenada em frasco âmbar.

A concentração de proteína total foi determinada pela adição de 100 µL da amostra em 5 mL do Reagente de Bradford. Agitou-se e após 5 min foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 595 nm. A curva de calibração foi realizada utilizando Albumina Sérica de Bovino (BSA) como padrão na faixa de 0 a 1 mg/mL.

### 3.2.2 Determinação de açúcares redutores totais

Para determinação das atividades enzimáticas da celulase e da pectinase utilizou-se o método de determinação de açúcares redutores para quantificar os açúcares formados na reação de hidrólise do substrato.

#### 3.2.2.1 Método de determinação de açúcares redutores totais

Este método foi utilizado para a determinação da atividade enzimática das enzimas celulase e pectinase e para determinar a quantidade de açúcares formados na etapa de biopurga dos bioprocessos propostos.

A quantificação de açúcares redutores totais (ART) foi realizada através da adaptação do método de Miller (Miller, 1959), o qual tem como princípio a utilização do reagente ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS), que quando reage com o açúcar redutor provoca alteração na cor

da solução de amarelo para laranja. A quantificação da presença de açúcares redutores no meio é feita pela leitura da absorbância em 540 nm.

O reagente DNS foi preparado seguindo-se o procedimento: primeiramente pesou-se 150 g de tartarato de sódio e potássio (Sal de Rochelle) e foi dissolvido em 100 mL de água destilada, sob agitação magnética. Em seguida pesou-se 8 g de hidróxido de sódio, o qual foi diluído em 100 mL de água destilada, sob agitação magnética. Após completa dissolução dos reagentes em ambas as soluções, adicionou-se a solução de NaOH na solução de tartarato de sódio e potássio, ainda sob agitação. Envolveu-se o béquer com papel alumínio, para evitar o contato com a luz. A esta solução adicionou-se aos poucos 5 g de ácido 3,5-dinitrossalicílico. Após completa dissolução do ácido, transferiu-se a solução para um balão volumétrico para ajuste do volume final em 500 mL. Armazenou-se em frasco âmbar ao abrigo da luz.

Para a quantificação de açúcares redutores nas amostras seguiu-se o seguinte procedimento: em um tubo de ensaio adicionou-se 1 mL da amostra com 1,5 mL de DNS. Estes tubos são mantidos exatamente 5 min em água fervente e em seguida são transferidos para um banho de gelo para que a reação seja interrompida. Realizou-se uma diluição de 1 mL de amostra para 4 mL de água destilada para leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 540 nm.

A quantificação de açúcares redutores fez-se com auxílio de uma curva de calibração utilizando glicose como padrão em água destilada. A curva de calibração foi realizada utilizando glicose nas concentrações de 0 a 1 g/L (equivalente de 0 a 5,5  $\mu\text{mol/mL}$ ).

### **3.2.3 Quantificação da atividade enzimática**

#### *3.2.3.1 Determinação da atividade enzimática da celulase*

A enzima celulase é formada pelas enzimas endocelulases (EG), celobiohidrolase (CBH) e as  $\beta$ -glucosidases ( $\beta\text{G}$ ), as quais atuam de maneira sinérgica na degradação do polímero de celulose. A determinação da atividade enzimática das enzimas celulases foi realizada para a atividade endoglucanásica, pela quantificação de glicose formada na reação de hidrólise enzimática. Para eliminar os interferentes gerados durante a reação com o substrato, foram realizadas simultaneamente provas em branco. Os ensaios de atividade enzimática foram realizados seguindo a metodologia proposta por Ghose (1987),

com algumas modificações. As reações foram realizadas em tampão fosfato 0,05 M, pH 6,0 e temperatura de 55 °C.

Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como sendo a quantidade de enzima necessária para produzir 1 μmol de glicose por minuto, nas condições de reação utilizadas. A atividade específica foi calculada dividindo-se a atividade total (U/mL) pela concentração de proteína contida na enzima e expressa como U/mg de proteína.

Para a determinação da atividade celulolítica da endo β-(1,4)-glucanase ou carboximetilcelulase (CMC<sub>ase</sub>), foi utilizado como substrato uma solução de carboximetilcelulose 4% (massa/volume) em tampão fosfato 0,05 M, pH 6,0.

A mistura da reação foi composta de 900 μL da solução de substrato e 100 μL de enzima. Incubou-se a mistura, sob agitação, a 55±1 °C, durante 30 min. Após o tempo de reação, essa foi interrompida com a adição de 1,5 mL de DNS e seguiu-se a metodologia para determinação de açúcares redutores descrita no item 3.2.2.1. O branco da amostra foi realizado substituindo-se a enzima pelo mesmo volume da solução tampão fosfato 0,05 M pH 6,0.

Em todas as determinações foram utilizados para o cálculo de atividade enzimática a seguinte equação.

$$A = \frac{[C] \cdot V_T \cdot D_E}{t \cdot V_E} \quad (01)$$

Onde:

A = Atividade enzimática [U/mL]

[C] = concentração de açúcar redutor liberado [μmol/mL];

V<sub>T</sub> = volume total da solução [mL];

D<sub>E</sub> = diluição da enzima [adimensional];

t = tempo de reação [min];

V<sub>E</sub> = volume da solução de enzima [mL].

### 3.2.3.2 Determinação da atividade enzimática da pectinase

A atividade da pectinase foi determinada medindo-se a liberação de açúcares redutores presentes no ácido poligalacturônico, utilizando a pectina cítrica como substrato, seguindo-se a metodologia de Wang et al. (2007), com algumas modificações. Sendo que a dosagem de açúcar redutor no meio foi determinada aplicando a metodologia proposta por Miller (1959).

O caldo bruto de enzima, 100  $\mu\text{L}$ , foi incubado em tubo de ensaio a 55  $^{\circ}\text{C}$  na presença de 900  $\mu\text{L}$  da solução de pectina cítrica durante 5 min. A solução de pectina consiste em 0,25% (p/v) de pectina cítrica, 20 mM de NaCl e 0,1 mM de  $\text{CaCl}_2$  em tampão fosfato 0,05 M pH 8,0. Após o tempo de reação de 5 min, interrompeu-se a reação, adicionando-se 1,5 mL de DNS e seguiu-se o método de Miller como descrito anteriormente. O branco da amostra foi preparado substituindo a enzima pelo mesmo volume da solução tampão fosfato 0,05 M pH 8,0.

Uma unidade de atividade (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir 1  $\mu\text{mol}$  de açúcar redutor por min.

A atividade foi determinada pela Equação (02), expressa em U/mL.

$$A = \frac{[C] \cdot V_T \cdot D_E}{t \cdot V_E} \quad (02)$$

### 3.2.3.3 Determinação da atividade enzimática da lipase

A determinação da atividade enzimática da lipase foi realizada de acordo com o método de Winkler e Stuckmann (1979), também utilizado por Chiou e Wu, (2004), com algumas modificações. Esse método fundamenta-se na hidrólise do p-nitrofenilpalmitato (p-NPP) 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 que é mensurada espectrofotometricamente.

O substrato enzimático utilizado foi uma solução de p-nitrofenilpalmitato 0,5% (massa/volume) em álcool etílico absoluto. Em um tubo de ensaio, adicionou-se 100  $\mu\text{L}$  de lipase, 1000  $\mu\text{L}$  de solução p-NPP e 1000  $\mu\text{L}$  de tampão Tris pH 9,0. A solução resultante foi incubada a 37 $^{\circ}\text{C}$  por 5 min em banho-maria. Após, a reação de hidrólise foi interrompida através da adição de 2000  $\mu\text{L}$  de uma de solução 0,5 N de carbonato de sódio. Foram retirados 2000  $\mu\text{L}$  desta solução e centrifugados por 10 min em 10.000 rpm. O sobrenadante foi diluído em 200  $\mu\text{L}$  de água destilada e submetido à análise espectrofotométrica. Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para hidrolisar 1 $\mu\text{mol}$  de p-NNP por minuto.

### 3.2.3.4 *Determinação da atividade enzimática da glicose oxidase*

A atividade enzimática da glicose oxidase foi determinada com base na metodologia proposta por Tzanov et al. (2002), com modificações. Inicialmente fez-se a cinética enzimática, em seguida foi encontrada as condições ótimas de operação da enzima e por fim, determinou-se a atividade da enzima.

#### *- Cinética enzimática para a enzima glicose oxidase P.A.*

A solução mãe utilizada para a realização da cinética enzimática, foi preparada adicionando-se 2,4 mL da solução de enzima glicose oxidase 1 mg/mL (enzima dissolvida em tampão acetato 0,05 M pH 5,0), com 2,24 g de glicose (32 g/L), e completando-se o volume para 70 mL com tampão acetato 0,05 M pH 5,0. Em seguida, 5 mL dessa solução foram colocados em erlenmeyers com capacidade de 50 mL utilizados para realizar a cinética. Os erlenmeyers foram incubados a 35 °C sob agitação e em cada tempo determinado a reação de geração de peróxido de hidrogênio foi interrompida, acrescentando-se 10 mL de água e 25 mL de ácido sulfúrico 2 N. Em seguida, as amostras foram tituladas com permanganato de potássio para determinação da concentração de peróxido de hidrogênio, conforme descrito no item 3.5.2.2.

#### *- Determinação do pH e da temperatura ótima de atuação da enzima glicose oxidase P.A*

Para a determinação da atividade enzimática, primeiramente foram encontradas as condições ótimas de atuação da enzima. Foram avaliados os pH de 4,5; 5,0; 5,5; 5,7 e 6,0 e as temperaturas de 30 °C, 35 °C, 37 °C e 40 °C.

Em erlenmeyers de 125 mL foram preparados 5 mL de meio reacional, contendo 171 µL da solução de enzima 1 mg/mL (6,86 U/mL de meio reacional), 0,16 g de glicose (32 g/L) e completou-se o volume (para os 5 mL) com tampão acetato 0,05 M no pH avaliado. Os erlenmeyers foram incubados por 5 min na temperatura avaliada e a reação foi interrompida adicionando-se 10 mL de água e 25 mL de ácido sulfúrico 2 N. A concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi determinada conforme descrito no item 3.5.2.2.

### *- Determinação da atividade enzimática da glicose oxidase*

A atividade enzimática da glicose oxidase foi determinada a pH 5,5 realizando-se a cinética enzimática, quantificando a concentração de peróxido de hidrogênio gerada na reação. A concentração de  $H_2O_2$  foi determinada seguindo a metodologia de Morita e Assumpção (1983), através da titulação com permanganato de potássio em meio ácido, conforme descrito no item 3.5.2.2.

Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para gerar  $1\mu\text{mol}$  de peróxido de hidrogênio por minuto, nas condições reacionais.

Foi avaliada a atividade enzimática com o meio aerado, onde se utilizou uma bomba de aquário para efetuar a aeração média de 1,5 L/min, seguindo-se o mesmo procedimento.

### 3.3 PRÉ-TRATAMENTO CONVENCIONAL DA MALHA

Realizou-se o procedimento convencional de alvejamento, seguindo-se o utilizado pela indústria têxtil parceira desse projeto, para fins de comparação com o processo enzimático. Em virtude disso, o procedimento será descrito de forma geral.

O processo aplicado foi realizado utilizando o equipamento de tingimento a canecos (HT), apresentado na Figura 15. Foi utilizada uma relação de banho de 1:8 e 10 g de malha. O alvejamento consistiu na preparação da malha com produtos auxiliares em uma temperatura branda, em seguida foi acrescentado o hidróxido de sódio, o qual tratou a malha por 3 min e então foi aumentada a temperatura e adicionado o peróxido de hidrogênio, responsável pelo alvejamento. Após, esse banho foi descartado e seguiu-se com a realização de três enxágues. O quarto enxágue consistiu na neutralização do peróxido residual com a enzima catalase.

A amostra foi seca com auxílio do forno termofixador (conhecido como Rama) por 5 min a  $105\text{ }^\circ\text{C}$ . Obtendo-se assim, a malha tratada pelo alvejamento convencional.

**Figura 15** – Equipamento de tingimento em canecas – HT, utilizado para a realização dos experimentos.

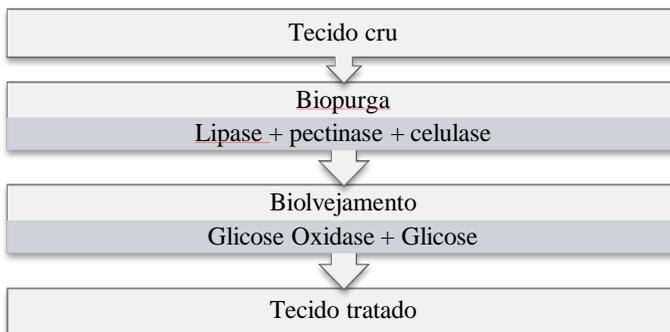


### 3.4 PRÉ-TRATAMENTO ENZIMÁTICO

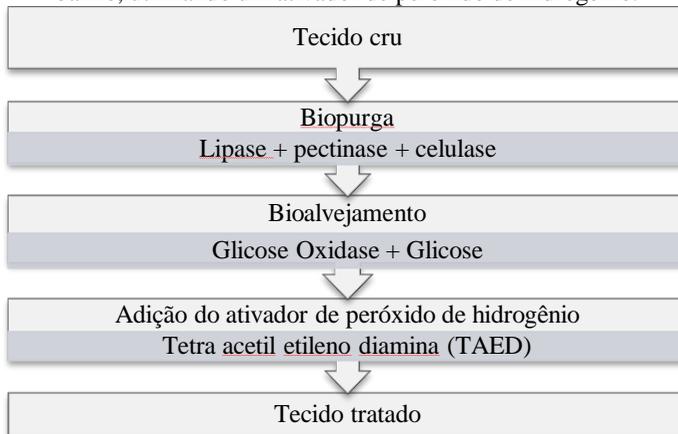
Seguindo o proposto por Eren, Anis e Davulcu (2009) com modificações, o interesse é manter as enzimas utilizadas na biopurga (celulase, pectinase e lipase) e acrescentar ao meio, na etapa seguinte, a enzima glicose oxidase para realizar o pré-tratamento, conforme o fluxograma apresentado na Figura 16.

Em um segundo momento, com base no trabalho realizado por Špička e Tavčer (2012), a utilização de um ativador de peróxido de hidrogênio também foi analisada, conforme o fluxograma apresentado na Figura 17.

**Figura 16** – Fluxograma do processo de biopurga e bioalvejamento em único banho.



**Figura 17** – Fluxograma do processo de biopurga e bioalvejamento em único banho, utilizando um ativador de peróxido de hidrogênio.



A etapa de biopurga aplicada nesse trabalho foi desenvolvida pelo grupo de pesquisa LABMASSA e está descrita no trabalho de Silva (2013). As condições estabelecidas para essa etapa foram pH 6,5, T = 55 °C, t = 40 min, celulase 1,79 U/g de malha, pectinase 0,118 U/g de malha, lipase 0,434 U/g de malha, sequestrante 0,8 g/L e tensoativo 1,5 g/L.

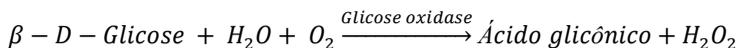
Conforme apresentado anteriormente, foram propostas duas etapas diferentes para o pré-tratamento enzimático. Na etapa 1, foi avaliado o processo de branqueamento com peróxido de hidrogênio e na etapa 2, o processo de branqueamento foi avaliado utilizando o ácido peracético como agente branqueador.

A seguir são apresentadas as duas etapas desenvolvidas.

### 3.5 ETAPA 1: AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO DA MALHA COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

#### 3.5.1 Produção enzimática de peróxido de hidrogênio

A geração de peróxido de hidrogênio enzimaticamente ocorre devido à reação entre Glicose oxidase e β-D-Glicose conforme a seguinte reação:



A reação acontece, de preferência, em meio aerado.

### 3.5.2 Quantificação da concentração de $H_2O_2$

A concentração de  $H_2O_2$  foi obtida conforme Morita e Assumpção (1983), através da titulação com permanganato de potássio em meio ácido.

#### 3.5.2.1 Preparo da solução de Permanganato de potássio

Preparou-se uma solução de permanganato de potássio 0,01 N, para tanto, dissolveu-se 0,32 g de  $KMnO_4$  em 1 L de água destilada. Essa solução foi agitada e levada ao aquecimento, onde ferveu suavemente por 15 min. Resfriou-se em temperatura ambiente e em seguida foi filtrada através de lã de vidro. O filtrado foi transferido para um balão volumétrico de 1 L. Em seguida a solução foi padronizada e armazenada em frasco âmbar.

#### - Fatoração

O padrão primário utilizado para a fatoração foi o oxalato de sódio ( $Na_2C_2O_4$ ), cuja massa molar é 134,02 g/mol. Preparou-se uma solução de  $Na_2C_2O_4$  0,1 N. Pesaram-se 6,7 g do reagente, previamente dessecado em estufa a  $110^\circ C$  por 2 h. Diluiu-se o reagente com 100 mL de água destilada quente e depois completado o volume para 1 L em balão volumétrico.

Para a fatoração foram pipetados 5 mL de solução de oxalato de sódio em um erlenmeyer de 125 mL, adicionou-se 0,25 mL da solução ácido sulfúrico (1:1). Manteve-se a temperatura da solução em  $60^\circ C$ . Em seguida, titulou-se a solução com  $KMnO_4$  0,01 N, com agitação constante, até que a solução titulada ficasse rósea e mantivesse a cor por mais de 30 s. A temperatura da solução titulada deve estar no mínimo em  $60^\circ C$  até o final da titulação, não abaixo disso.

O branco foi preparado pela adição de 5 mL de água, com o restante dos reagentes, nas mesmas concentrações e mantendo na mesma temperatura.

Subtraiu-se o volume usado (mL) da solução de  $KMnO_4$  na titulação da prova em branco do volume usado na padronização. Calculou-se o fator de correção, dividindo-se o valor teórico pelo valor gasto na titulação.

### 3.5.2.2 Determinação da concentração de peróxido de hidrogênio

A reação entre o peróxido de hidrogênio e o permanganato de potássio ocorre em solução acidificada com ácido sulfúrico diluído, conforme a equação a baixo:



Uma amostra de 5 mL foram transferidos para um erlenmeyer de 125 mL de capacidade. Adicionaram-se ao erlenmeyer 10 mL de água destilada e 25 mL de solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 N.

Titulou-se lentamente esta solução com  $\text{KMnO}_4$  0,01 N até a coloração rósea.

O branco fez-se titulando sem a adição da amostra.

A concentração de peróxido de hidrogênio foi encontrada em g/L, pela equação a seguir.

$$C_{\text{H}_2\text{O}_2} = \frac{V_{\text{KMnO}_4} * f * N * 17,008}{V} \quad (03)$$

Onde:

$C_{\text{H}_2\text{O}_2}$  = Concentração de Peróxido de hidrogênio [g/L]

$V_{\text{KMnO}_4}$  = Volume de  $\text{KMnO}_4$  gasto na titulação [mL];

$f$  = Fator de correção;

$N$  = Normalidade da solução de  $\text{KMnO}_4$ ;

$V$  = Volume da amostra [mL].

### 3.5.3 Avaliação da aeração na reação de formação de peróxido de hidrogênio

Foi avaliada a influência da aeração no grau de alvura da malha tratada. Seguiu-se o processo descrito no item 3.5.6, Figura 18. A atividade da enzima glicose oxidase foi mantida constante em 13,5 U/mL de meio reacional e a concentração de glicose em 16 g/L, com pH 11 na etapa de branqueamento. Na etapa de formação de peróxido para o caso onde se utilizou a aeração, o banho reacional (sem o tecido) foi transferido para um erlenmeyer de 125 mL e aerado (1,5 L/min) em banho termostático, com temperatura de 35 °C por 40 min. Para o caso sem aeração, o processo foi seguido normalmente na máquina HT. Ao fim do procedimento, mediu-se o grau de alvura utilizando o colorímetro OnColor.

### **3.5.4 Avaliação do melhor pH no processo de formação de peróxido de hidrogênio**

A melhor condição para a formação do peróxido de hidrogênio foi encontrada em pH 5,5, porém a enzima pode alterar seu comportamento dentro do processo, em virtude disso, verificou-se o melhor pH para a formação de peróxido de hidrogênio no processo completo de bioalvejamento. Os pHs avaliados foram de 5,0; 5,5; e 6,0, na temperatura de 35 °C, por 40 min, para as concentrações de glicose de 16 g/L e a concentração de enzima de 13,5 U/mL de meio reacional. Seguiu-se o processo descrito no item 3.5.6, Figura 18, com pH 11 na etapa de branqueamento. Visando levar em consideração a influência de todas as etapas do processo, a melhor condição foi determinada pelo melhor grau de alvura (°Berger) obtido e não pela maior concentração de peróxido de hidrogênio gerado na etapa de formação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> exclusivamente.

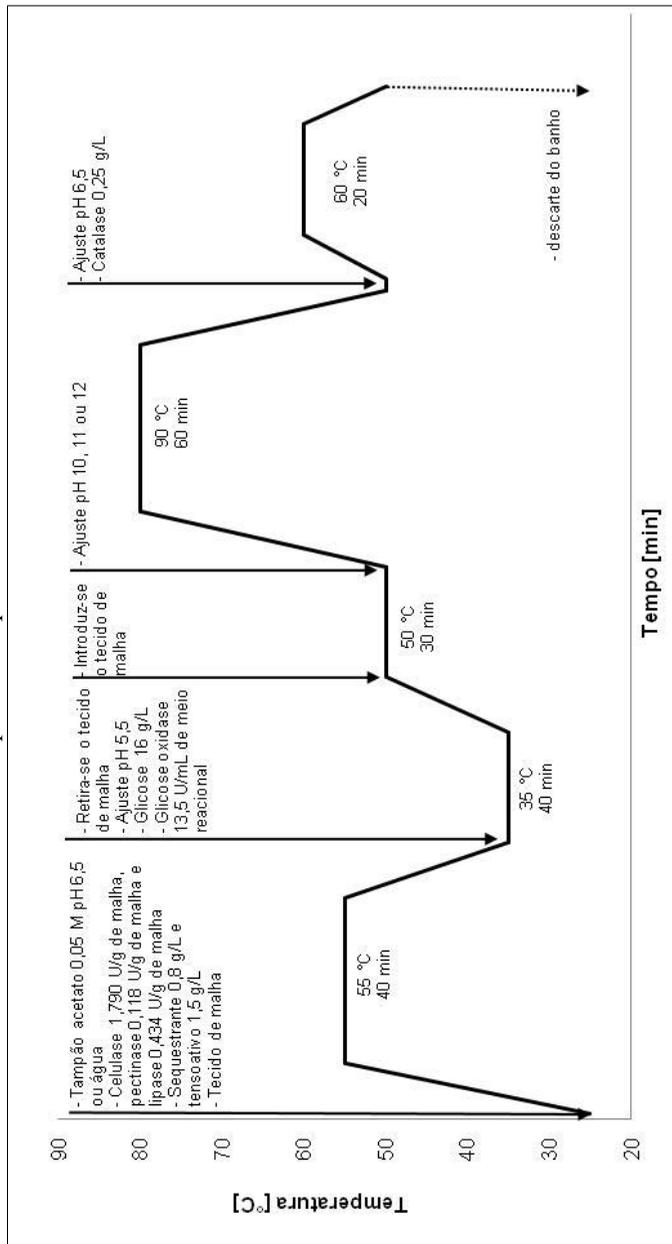
### **3.5.5 Avaliação da melhor concentração de enzima e de glicose para a geração de peróxido de hidrogênio**

Avaliou-se a melhor concentração de enzima glicose oxidase e de glicose no meio reacional, para a obtenção do melhor grau de alvura. A concentração de glicose oxidase foi avaliada em 3,4 U/mL de meio reacional, 6,75 U/mL de meio reacional, 13,5 U/mL de meio reacional, 23 U/mL de meio reacional e 46 U/mL de meio reacional. A concentração de glicose foi avaliada em 8 g/L, 16 g/L, 32 g/L e 64 g/L. O processo foi realizado seguindo-se o programa descrito no item 3.5.6, Figura 18, com pH 11 na etapa de branqueamento. E pH 5,5 na etapa de geração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### **3.5.6 Avaliação do melhor pH para o branqueamento**

A avaliação do melhor pH foi realizada para a etapa de branqueamento no processo de bioalvejamento. Os pHs avaliados foram 10, 11 e 12. A atividade da enzima glicose oxidase foi mantida constante em 13,5 U/mL de meio reacional e a concentração de glicose em 16 g/L. O procedimento seguido é o apresentado na Figura 18. O melhor pH foi determinado pelo maior grau de alvura apresentado pelo tecido. O grau de alvura do tecido tratado foi avaliado em espectrofotômetro.

**Figura 18** – Esquema representativo do processo de bioalvejamento com peróxido de hidrogênio, onde se avaliou o melhor pH para o branqueamento.



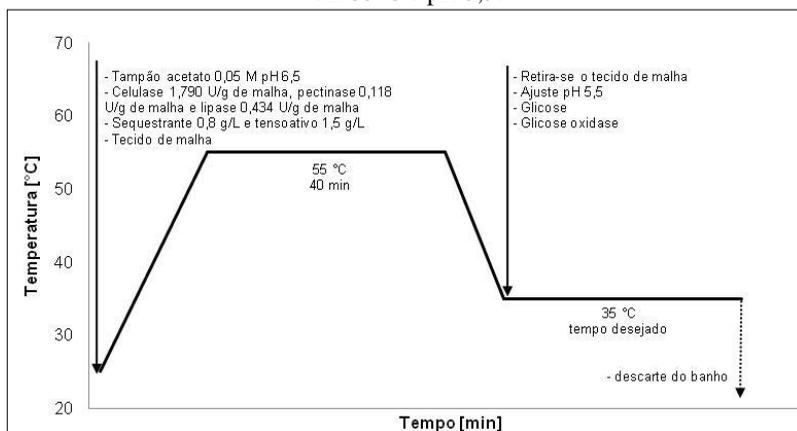
### 3.5.7 Planejamento Experimentais

Com base nos estudos preliminares das condições do processo, apresentado anteriormente, foi possível estabelecer os níveis mínimos e máximos para a aplicação dos planejamentos experimentais para melhor descrever o processo de geração de peróxido de hidrogênio e o processo de branqueamento da malha de algodão.

#### 3.5.7.1 Planejamento fatorial $2^3$ completo para avaliação da produção de peróxido de hidrogênio pela enzima Glicose Oxidase

Realizou-se um planejamento fatorial  $2^3$  completo para avaliação da formação de peróxido de hidrogênio pela enzima Glicose oxidase, conforme procedimento apresentado na Figura 19. Todos os experimentos foram realizados em triplicata, totalizando 27 ensaios.

**Figura 19** - Esquema representativo do processo de biopurga e formação de peróxido de hidrogênio pela reação entre a enzima glicose oxidase e a glicose, em 35°C e pH 5,5.



Ao fim do processo foi quantificada a formação de  $H_2O_2$  medindo-se a concentração pela metodologia descrita no item 3.5.2.

O planejamento está baseado na variação da concentração da enzima glicose oxidase, da concentração de glicose adicionada ao banho e do tempo necessário para ocorrer a reação de geração de peróxido de hidrogênio.

Os valores mínimos e máximos foram estipulados com base no estudo preliminar e estão apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5** - Valores das concentrações máximas, mínimas e médias das variáveis independentes do planejamento estatístico.

Variáveis independentes	Níveis		
	-1	0	+1
Concentração de Glicose oxidase [U/ml de meio reacional]	3,4	13,2	23
Concentração de glicose [g/L]	8	20	32
Tempo [min]	15	37,5	60

### 3.5.7.2 Planejamento composto central para avaliação do branqueamento no processo de bioalvejamento

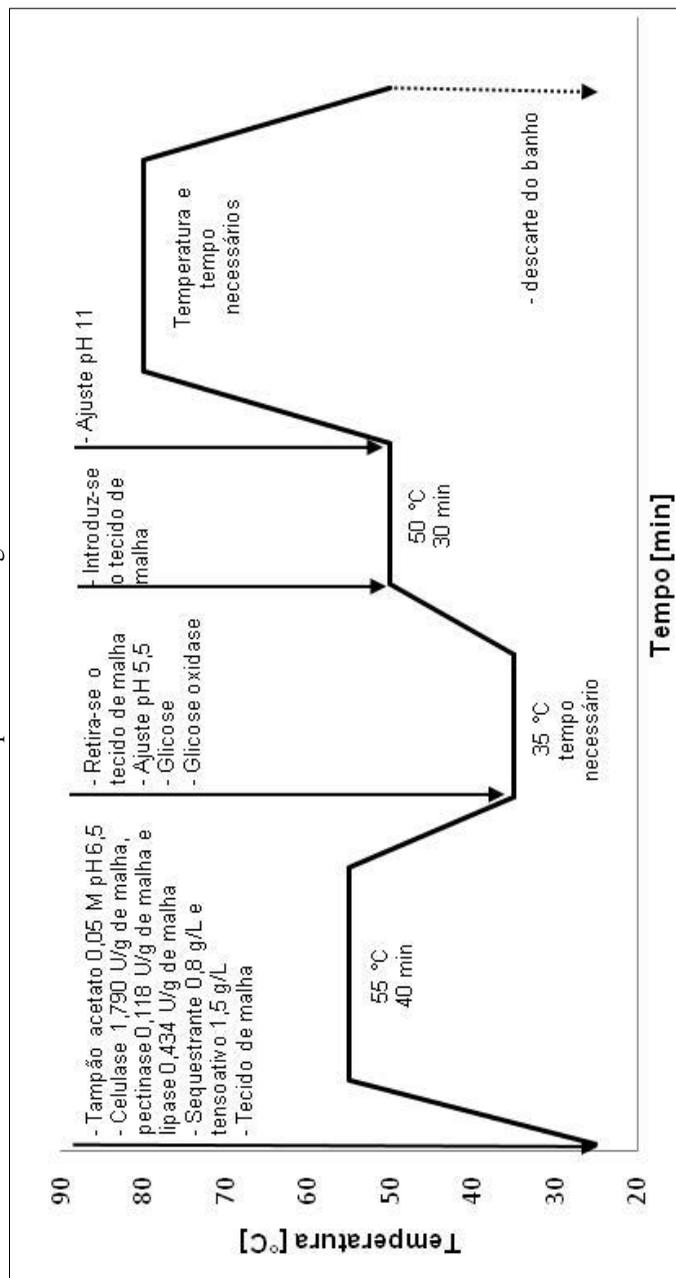
Para avaliação do grau de branco da amostra de tecido de algodão, realizou-se um planejamento composto central com triplicata no ponto central. Os valores mínimos e máximos foram estipulados com base no estudo preliminar e estão apresentados na tabela a seguir. Foram realizados 17 ensaios.

**Tabela 6** - Valores das concentrações máximas, mínimas, médias e pontos axiais das variáveis independentes do planejamento estatístico.

Variáveis independentes	Níveis				
	-1,68	-1	0	+1	+1,68
Temperatura [°C]	59,8	70	85	100	110,2
Tempo [min]	26,4	40	60	80	93,6
Concentração de peróxido de hidrogênio [g/L]	0,25	0,38	0,58	0,74	0,90

O procedimento foi realizado no equipamento de tingimento de canecas (HT - Mathis), conforme esquema representativo da Figura 20. Ao fim do processo os tecidos de malha foram avaliados em relação ao grau de branco que apresentavam.

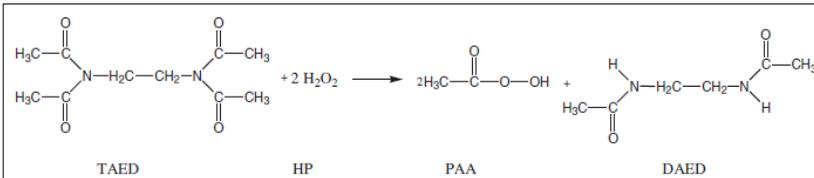
**Figura 20** – Esquema representativo do processo realizado em HT para o planejamento experimental de branqueamento do tecido com peróxido de hidrogênio.



### 3.6 ETAPA 2: AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO UTILIZANDO ÁCIDO PERACÉTICO

Na reação de bioalveamento pode-se utilizar o tetra acetil etileno diamina (TAED) para ativar a ação do peróxido de hidrogênio, e com isso, favorecer o alveamento. A reação entre o TAED e o Peróxido de hidrogênio está apresentada na Figura 21.

**Figura 21** - Produção de ácido peracético (PAA). TAED: tetra acetil etileno diamina, HP: peróxido hidrogênio, DAED: diacetil etileno diamina.



Fonte: ŠPIČKA; TAVČER, 2012.

#### 3.6.1 Quantificação da concentração de ácido peracético

A quantificação de ácido peracético foi realizada com base na metodologia sugerida por Morita e Assumpção (1983).

##### 3.6.1.1 Preparo da solução de tiosulfato de sódio

A solução de tiosulfato de sódio 0,01 N, foi preparada pesando-se 2,5 g de tiosulfato de sódio pentahidratado (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O) e 0,1 g de carbonato de sódio anidro, os quais foram diluídos com água destilada recentemente fervida e resfriada em balão de 1000 mL. Foi fatorado e armazenou-se em frasco âmbar.

##### - Solução de amido 5 g/L

Pesou-se 0,5 g de amido em um béquer, adicionou-se 1 mL de água para formação de uma pasta homogênea. Em um béquer de 200 mL, aqueceram-se 100 mL de água até a fervura, em seguida adicionou-se a pasta de amido obtida anteriormente, agita-se rigorosamente, permanecendo por 5 min em fervura. Após resfriar, transfere-se a solução para balão de 100 mL e completa-se o volume com água. A solução foi acondicionada em frasco âmbar, na geladeira, por no máximo uma semana.

### - Fatoração

O padrão primário utilizado para a fatoração foi o dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) previamente seco em estufa a 140-150 °C por 1 h. Preparou-se uma solução de dicromato de potássio 0,1 N, pesando-se 0,15 g deste reagente, recolhendo-o diretamente em erlenmeyer de 250 mL com tampa esmerilhada. Adicionou-se 100 mL de água, após dissolução, acrescentou-se rapidamente 3 g de iodeto de potássio e 5 mL de ácido clorídrico concentrado. O frasco foi fechado, agitado e deixado em repouso por 10 min ao abrigo da luz. Foi Realizada a titulação com o tiossulfato de sódio até que a cor se altere para amarelo esverdeado. Então, adicionou-se 2 mL da solução indicadora de amido 5 g/L e seguiu-se com a titulação, lentamente, até a alteração da cor para verde pálido. Foi calculado o fator de correção utilizando a média de 3 medidas. Sendo que, segundo Morita e Assumpção, (1983) 1 mL de  $Na_2S_2O_3$  0,1 N reage com 4,904 mg de  $K_2Cr_2O_7$ . O fator de correção foi encontrado dividindo-se o volume teórico pelo volume experimental de tiossulfato utilizado na titulação.

#### 3.6.1.2 Determinação da concentração de ácido peracético

A concentração de ácido peracético foi determinada adicionando-se 5 mL da amostra em 25 mL de ácido sulfúrico 2 N, após homogeneização, adicionou-se 1,667 mL da solução de iodeto de potássio e agita-se. A solução de KI foi preparada dissolvendo em 100 mL de água, 10 g de KI e 0,04 g  $Na_2CO_3$  e armazenado em frasco âmbar. Em seguida, o iodo liberado foi titulado com a solução de tiossulfato de sódio 0,01 N até a cor amarela. Neste ponto, foi adicionado 0,833 mL da solução de amido 5 g/L, seguiu-se com a titulação até a solução ficar incolor.

A prova em branco foi realizada titulando a solução sem adição da amostra.

A concentração de ácido peracético foi determinada pela Equação (04).

$$C_{C_2H_4O_3} = \frac{V_{Na_2S_2O_3} * f * 3,8}{V} \quad (04)$$

Onde:

$C_{C_2H_4O_3}$  = Concentração de ácido peracético [g/L];

$V_{Na_2S_2O_3}$  = Volume da solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação [mL];

$f$  = Fator de correção;

$V$  = Volume da amostra [mL].

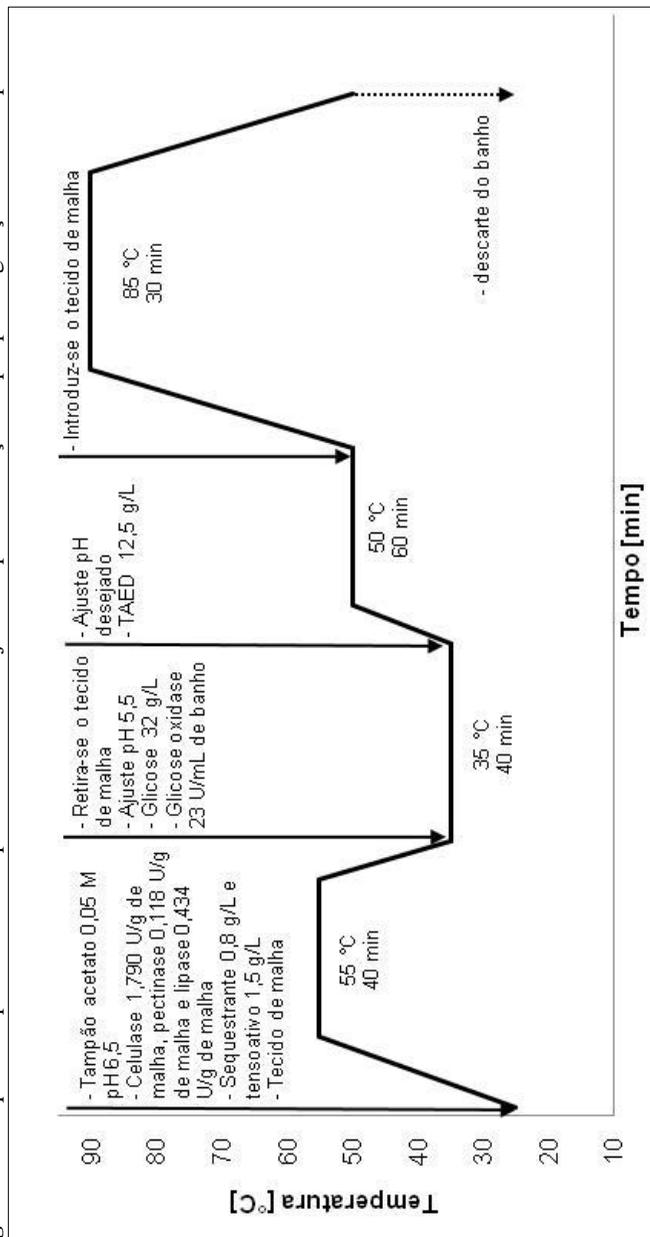
### 3.6.2 Avaliação do pH e da temperatura no processo de formação de ácido peracético

A geração de ácido peracético acontece pela reação do tetra acetil etileno diamina (TAED) com o peróxido de hidrogênio, conforme apresentado na Figura 21. Avaliou-se primeiramente qual o melhor pH para acontecer a reação, sendo os pHs avaliados de 6,0; 7,0; 7,5; 8,0 e 9,0. Manteve-se constante a concentração de glicose em 32 g/L, a concentração de enzima GOx em 23 U/mL e a concentração de TAED em 12,5 g/L.

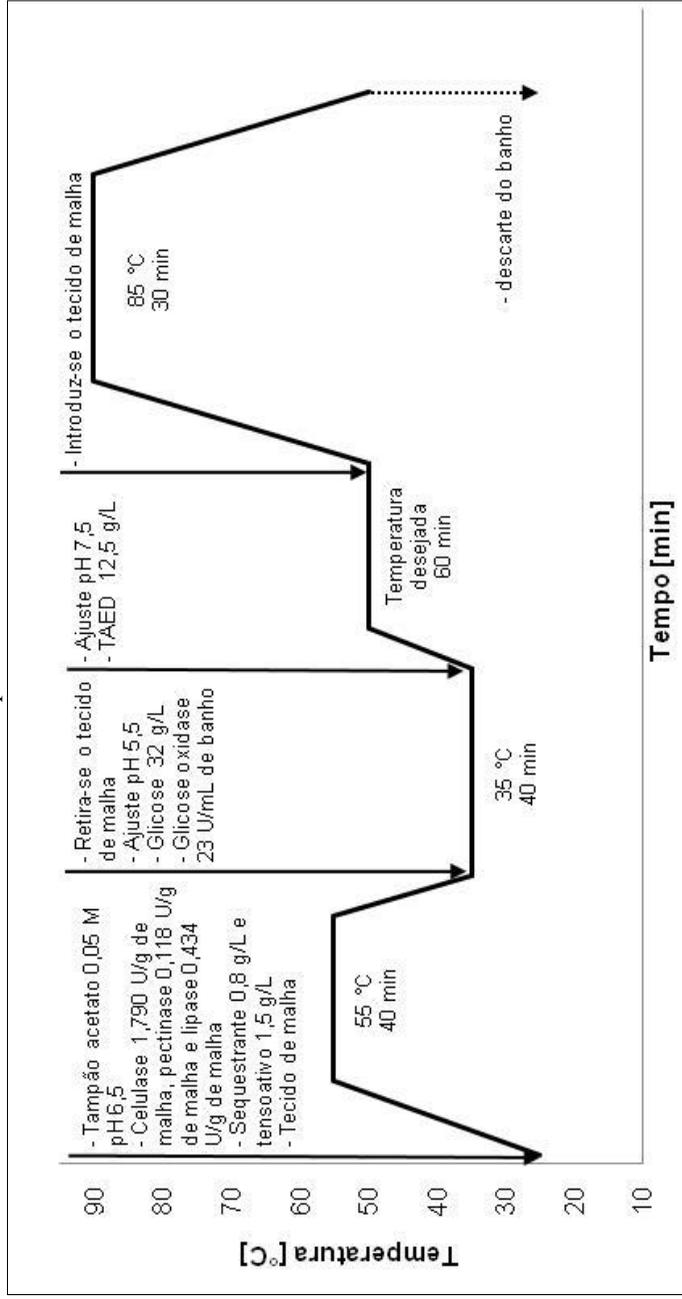
O esquema representativo do processo seguido para a avaliação de pH está apresentado na Figura 22. A relação de banho foi de 1:8. O melhor pH foi definido como o maior grau de branco obtido pelo tecido tratado.

Após estabelecer o melhor pH para a geração de ácido peracético, foi avaliada a temperatura da reação, sendo elas de 40, 50 e 60 °C. Seguiu-se o mesmo processo anterior, porém com o pH 7,5 na etapa de geração de ácido peracético, conforme apresentado na Figura 23.

**Figura 22** - Esquema representativo do processo de bioalvejamento para avaliação do pH para a geração do ácido peracético.



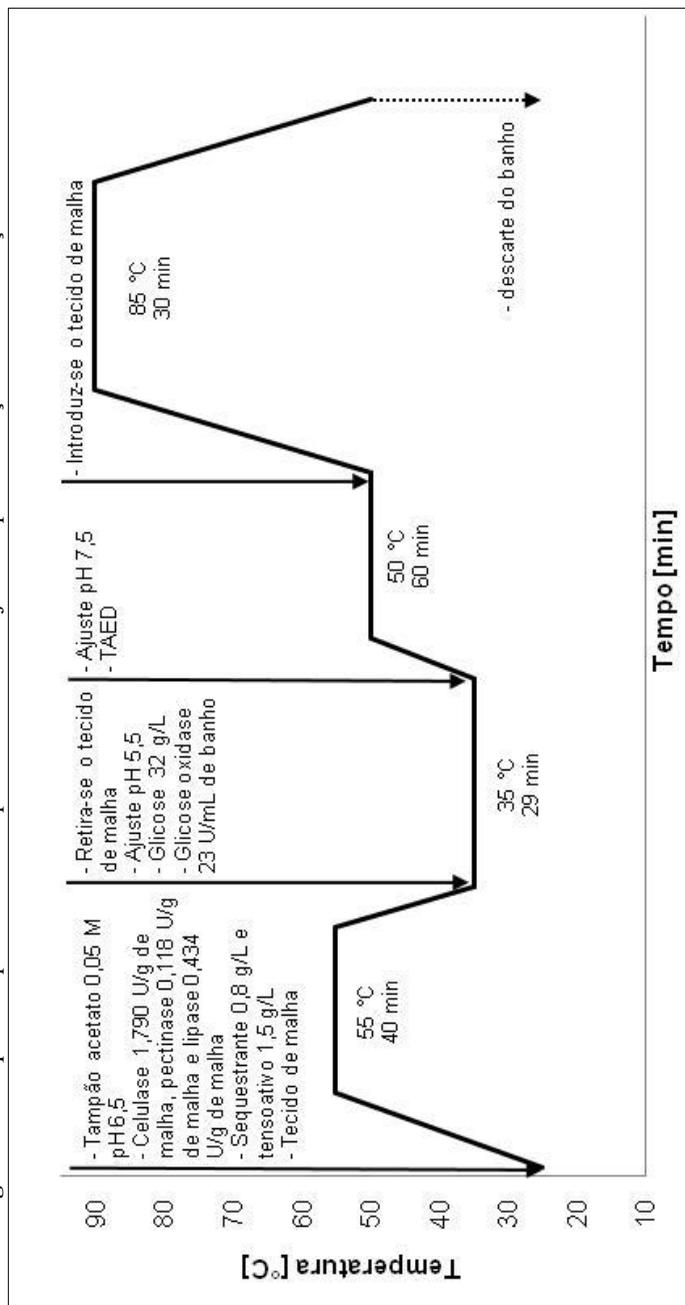
**Figura 23** - Esquema representativo do processo de bioalvejamento para avaliação da temperatura para a geração do ácido peracético.



### **3.6.3 Avaliação da concentração do ativador tetra acetil etileno diamina - TAED**

Avaliou-se a ação do ativador de  $H_2O_2$ , tetra acetil etileno diamina (TAED), no processo de bioalvejamento. Foram avaliadas as concentrações de 6,25 g/L, 12,5 g/L, 25 g/L, 37,5 g/L, 75 g/L e 125 g/L de TAED e foi mantida constante a concentração de peróxido de hidrogênio. Com base no modelo estatístico obtido para a geração de  $H_2O_2$ , a concentração de enzima glicose oxidase foi de 23 U/mL de meio reacional e de glicose de 32 g/L, sendo o tempo de reação de 29 min. O esquema representativo do processo adotado encontra-se na Figura 24, a relação de banho mantida foi de 1:8. O tecido foi avaliado pelo grau de branco obtido.

**Figura 24** - Esquema representativo do processo de bioalvejamento para avaliação da concentração de TAED.



### 3.6.4 Planejamentos Experimentais

Com base nos estudos preliminares das condições do processo, apresentado anteriormente, foi possível estabelecer os níveis mínimos e máximos para a aplicação dos planejamentos experimentais para melhor descrever o processo de geração de ácido peracético e o processo de branqueamento da malha de algodão.

#### 3.6.4.1 Planejamento fatorial $2^3$ completo para avaliação da produção de ácido peracético

Realizou-se um planejamento fatorial  $2^3$  completo para avaliação da formação de ácido peracético pela adição do ativador de peróxido tetra acetil etileno diamina. O TAED reage com o peróxido de hidrogênio formando o ácido peracético, conforme apresentado na Figura 21.

O planejamento baseia-se na variação da concentração de TAED, da concentração de peróxido de hidrogênio e do tempo necessário para ocorrer a reação de geração de ácido peracético. Os valores mínimos e máximos foram estipulados com base no estudo preliminar e estão apresentados na tabela a seguir. Todos os experimentos foram realizados em triplicata, totalizando 27 ensaios.

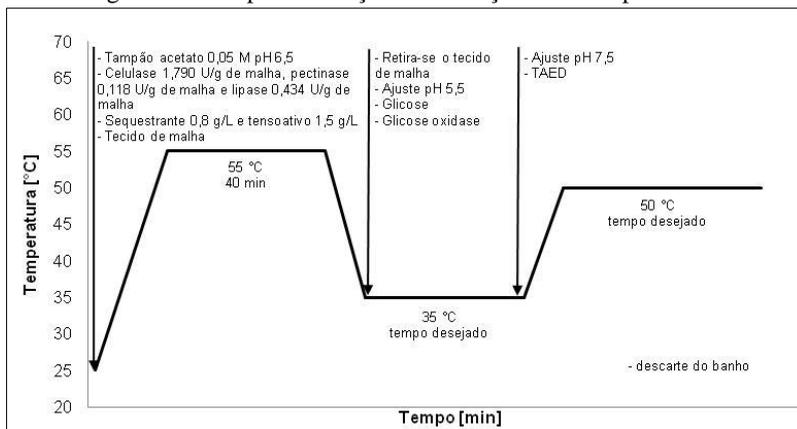
**Tabela 7** - Valores das concentrações máximas, mínimas e médias das variáveis independentes do planejamento estatístico.

Variáveis independentes	Níveis		
	-1	0	+1
Tempo [min]	30	60	90
Concentração de peróxido de hidrogênio [g/L]	0,382	0,577	0,771
Concentração do ativador de peróxido TAED [g/L]	6,25	34,37	62,50

O procedimento foi realizado no equipamento de tingimento de canecas (HT), conforme esquema representativo da Figura 25. Ao fim

do processo a concentração de ácido peracético foi determinada seguindo a metodologia descrita no item 3.6.1.

**Figura 25** - Esquema representativo do processo realizado na máquina de tingimentos HT para avaliação da formação de ácido peracético.



#### 3.6.4.2 Planejamento composto central para avaliação do branqueamento no processo de bioalveamento

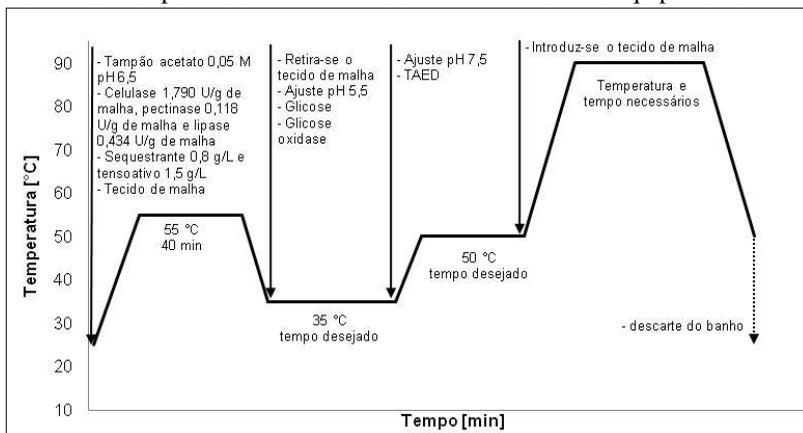
Para avaliação do grau de branco da amostra de tecido de algodão com a adição do ativador de peróxido de hidrogênio TAED, realizou-se um planejamento composto central com triplicata no ponto central. Os valores mínimos e máximos foram estipulados com base no estudo preliminar e estão apresentados na tabela a seguir. Foram realizados 17 ensaios.

**Tabela 8** - Valores das concentrações máximas, mínimas, médias e pontos axiais das variáveis independentes do planejamento estatístico.

Variáveis independentes	Níveis				
	-1,68	-1	0	+1	+1,68
Temperatura [°C]	59,8	70	85	100	110,2
Tempo [min]	4,8	15	30	45	55,2
Concentração de ácido peracético [g/L]	2,459	4,565	7,662	10,759	12,865

O procedimento experimental foi realizado no equipamento de tingimento em canecas HT, conforme esquema representativo apresentado na Figura 26. Ao fim do processo os tecidos de malha foram avaliados em relação ao grau de branco que apresentavam.

**Figura 26** – Esquema representativo do processo de branqueamento utilizando o ativador de peróxido TAED. Procedimento realizado no equipamento HT.

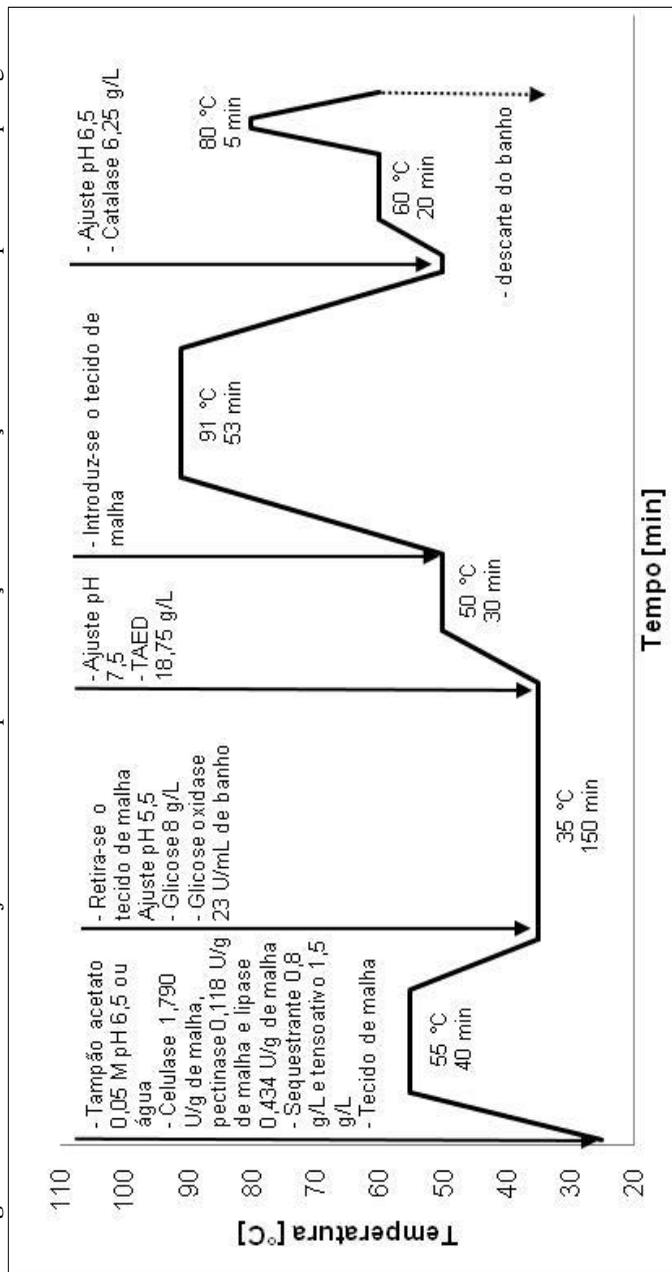


### 3.6.4.3 Substituição do uso do tampão acetato 0,05 M por água

Visando a melhor aplicabilidade dos bioprocessos, pois há a dificuldade e o alto custo em se aplicar um processo utilizando tampão em escala industrial, foi avaliada a substituição deste por água.

Levando estes pontos em consideração, foi avaliado o processo de bioalvejamento utilizando água destilada e água da produção (cedida pela empresa parceira desse projeto), ambos com pH em torno de 6,5. O procedimento seguido está apresentado na Figura 27. O tecido foi avaliado pelo grau de branco obtido pelo tratamento.

**Figura 27** – Processo de bioalvejamento utilizado para a avaliação da substituição do uso de tampão acetato por água.



### 3.7 SUBSTITUIÇÃO DA ENZIMA GLICOSE OXIDASE P.A PELA ENZIMA GLICOSE OXIDASE COMERCIAL

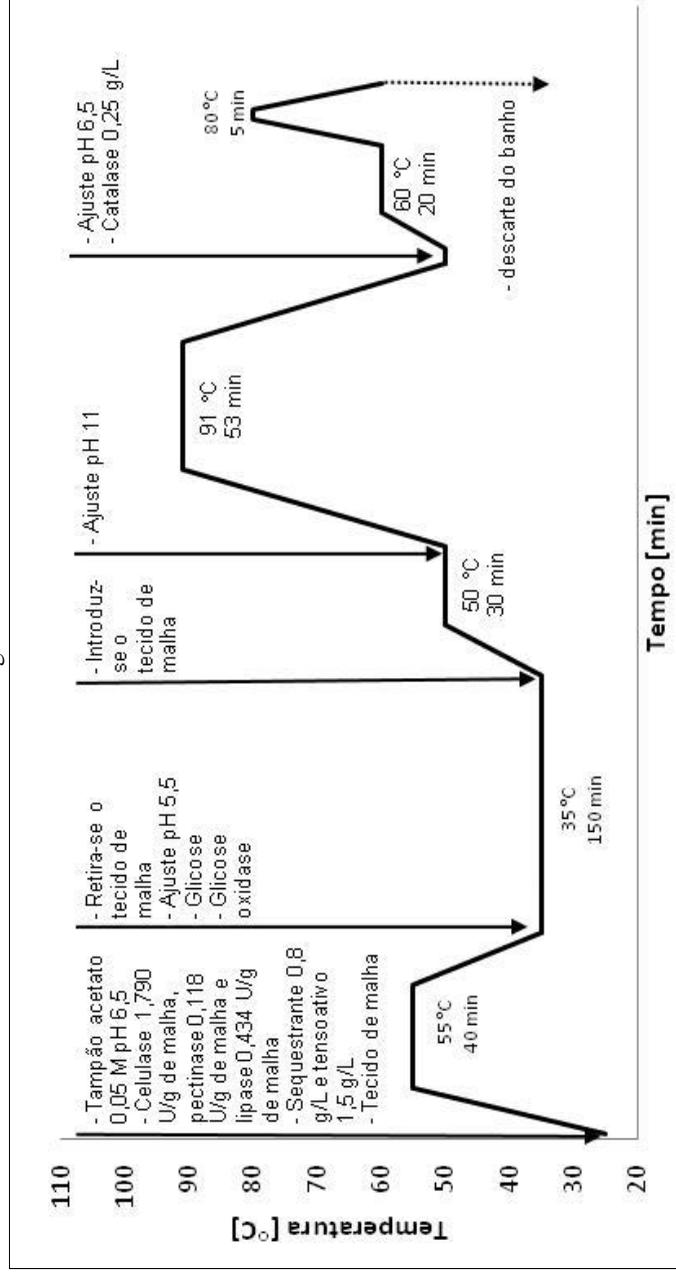
Um dos objetivos deste projeto é desenvolver um processo aplicável industrialmente, em virtude da enzima glicose oxidase da marca Sigma ser ultrapura, ela possui um valor agregado maior, o que em grandes volumes inviabiliza a aplicação industrial. Então, foi avaliada a substituição dessa enzima por uma de valor econômico menor em virtude de não ser uma enzima ultrapura e assim, tornar o processo de menor custo quando comparado ao processo utilizando a enzima ultrapura. A enzima utilizada nessa etapa foi a glicose oxidase comercial Spring Gluz da marca Granotec.

Por se tratar de uma enzima diluída em amido de milho não foi determinada a atividade enzimática, o processo foi realizado utilizando a enzima em massa.

#### **3.7.1 Determinação da concentração de glicose oxidase e de glicose para formação de peróxido de hidrogênio**

Na etapa de geração de peróxido de hidrogênio foram avaliadas as concentrações de 6,25 g/L e 12,5 g/L g de enzima glicose oxidase comercial e de 8 g/L e 16 g/L de glicose. O processo de bioalvejamento foi aplicado conforme esquema representativo na Figura 28. A melhor condição foi a que gerou um tecido tratado com maior grau de branco.

**Figura 28** - Esquema representativo do processo de bioalvejamento para avaliação da geração de peróxido de hidrogênio, utilizando a enzima glicose oxidase comercial.



### **3.7.2 Determinação da concentração de TAED para a formação de ácido peracético**

Avaliou-se a ação do ativador de peróxido, tetra acetil etileno diamina (TAED), no processo de bioalveamento. Foram avaliadas as concentrações de 6,25 g/L, 18,75 g/L e 34,37 g/L de TAED e mantidas constantes as concentrações de enzima glicose oxidase e glicose (6,25 g/L e 8 g/L, respectivamente). O programa do processo seguido encontra-se na Figura 29. O tecido foi avaliado em relação ao grau de branco.

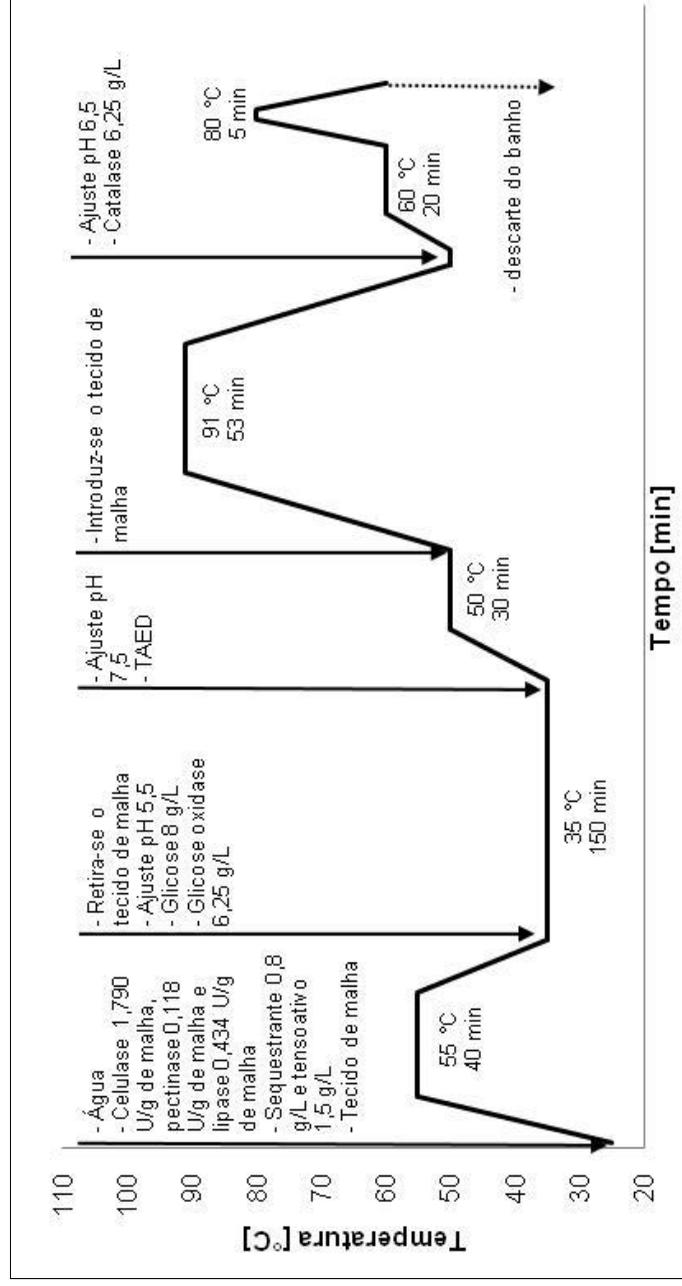
### **3.7.3 Ajuste do tempo de processo para ambos os processos estudados**

As condições de processo adotadas nessa etapa foram em função das condições ótimas obtidas nos planejamentos experimentais para a enzima glicose oxidase da marca Sigma. Porém, como a enzima utilizada nessa etapa foi a glicose oxidase comercial, foi necessário ajustar o tempo de processo, analisou-se os tempos que poderiam ser diminuídos, visando tornar o processo mais viável industrialmente.

Os dois processos foram avaliados simultaneamente, conforme representado na Figura 30 e na Figura 31. Avaliou-se a diminuição do tempo de geração de peróxido de hidrogênio de 150 min para 90 e 40 min. Após estabelecido esse tempo, avaliou-se a diminuição do tempo de branqueamento de 53 min para 30 min.

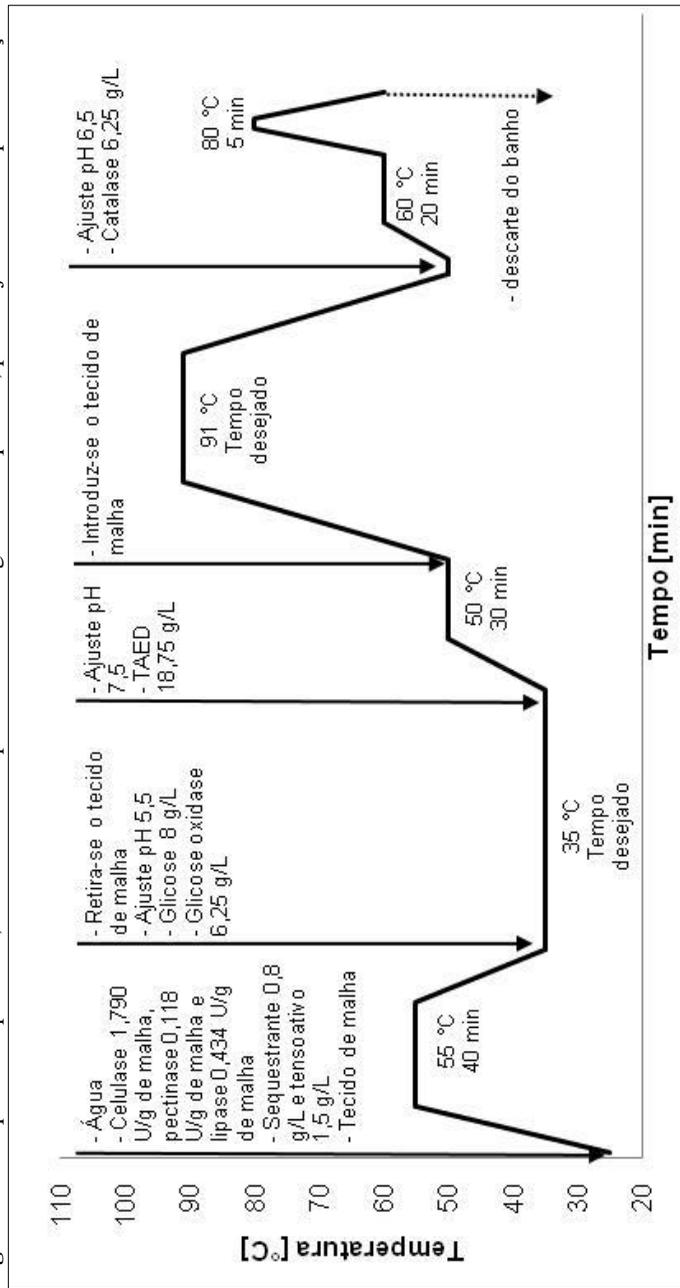
Após o processo, as amostras foram enxaguadas em temperatura ambiente, relação de banho 1:8, e secas no forno termofixador (Rama) por 5 min à 100 °C.

**Figura 29** - Esquema representativo do processo de bioalvejamento para avaliação do ácido peracético, utilizando enzima glicose oxidase comercial.





**Figura 31** – Esquema do processo, utilizando ácido peracético como agente branqueador, para o ajuste dos tempos de reação.



### 3.8 TINGIMENTO

O pré-tratamento desenvolvido neste projeto designa-se apenas para o tingimento de malhas utilizando cores claras e médias, sendo que para as cores escuras o pré-tratamento realizado é a purga alcalina ou biopurga. Os tingimentos foram realizados utilizando os corantes descritos na tabela abaixo, seguindo-se as proporções para cada tricromia de cor.

A Tabela 9 apresenta as tricromias utilizadas para a realização dos tingimentos, cor clara e cor média.

**Tabela 9** – Tricromia para cor clara e cor média

<b>Corante e auxiliar</b>	<b>Cor clara (tom de bege)</b>	<b>Cor média (tom de vermelho)</b>
Amarelo drimaren cl-2r	0,0248% por kg de malha	0,240% por kg de malha
Azul drimaren hf-rl	0,0143% por kg de malha	0,029% por kg de malha
Vermelho drimaren hf-4b	0,008% por kg de malha	0,570% por kg de malha
Sal (Cloreto de sódio)	30 g/L	58 g/L
Álcali (Laugal)	3,3g/L	3,3g/L

Após o processo de bioalveamento as amostras sofrem um enxágue de 5 min a temperatura ambiente e então são submetidas ao processo de tingimento. A seguir são apresentadas as metodologias empregadas para os tingimentos da malha, com base no processo industrial.

#### 3.8.1 Tingimento cores claras

O tingimento adotado nesse trabalho foi o utilizado industrialmente, para fins de comparação com os realizados em laboratório. Em virtude disso, o processo não será descrito de forma detalhada.

O tingimento consiste em uma etapa inicial de preparação da malha com produtos auxiliares, em seguida foi aumentado a temperatura e acrescentado um agente anti quebra e a enzima catalase. Após alguns minutos foi adicionado o corante e logo após, o álcali. Ao fim, o banho foi descartado e realizou-se um enxágue.

Após o tingimento, realizou-se a etapa de neutralização e lavagem. O processo consistiu em inicialmente ajustar o pH do banho, após alguns minutos esse banho foi descartado e realizado uma lavagem, seguida de dois enxágues. No terceiro enxágue foi realizado um novo ajuste de pH e descartou-se o banho. Por fim, foi realizado mais um enxágue a temperatura ambiente.

### **3.8.2 Tingimento cores médias**

O processo de tingimento para cores médias possui as etapas de tingimento, neutralização e lavagem e fixação da cor. As etapas de tingimento, neutralização e lavagem seguem os mesmos procedimentos descritos no item anterior, porém com concentrações dos reagentes diferentes.

A etapa de fixação foi realizada adicionando-se ao banho um fixador, o qual trata a malha por alguns minutos e então é realizado dois enxágues.

## **3.9 AVALIAÇÃO DA MALHA TRATADA**

As amostras de malha de algodão, sem tratamento e tratadas com bioalveijamento ou alveijamento convencional, foram caracterizadas quanto ao grau de branco, à hidrofiliidade (absorção de água), e grau de cor após tingimento e testes de solidez.

### **3.9.1 Capilaridade**

A hidrofiliidade foi analisada pelo teste de capilaridade. Este é um método de visualização rápida, para avaliar a tendência da água de se deslocar pela malha de algodão, seguindo a norma JIS L 1907.

Uma tira de malha foi cortada com 5 cm no sentido da coluna e 15 cm no sentido do curso. Foram feitas duas marcas, uma inicial e uma final com a distância de 12 cm. A amostra foi suspensa em uma haste e a extremidade inferior foi mergulhada em uma solução de corante com 5% de Azul Direto GLL, conforme a Figura 32. Contou-se o tempo a partir do momento que o corante alcança a marca inferior, e anotou-se a altura em que houve a umectação após os tempos de 1, 2, 3 e 5 min.

**Figura 32** - Imagem do aparato para o teste de hidrofiliidade por capilaridade

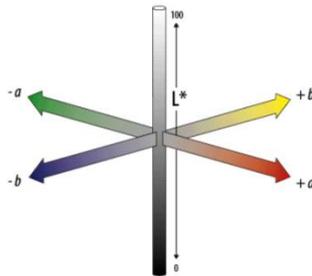


### **3.9.2 Grau de branco**

O grau de branco ou grau de alvura, foi determinado nos corpos de prova submetidos ao processo de bioalveamento e alveamento convencional, usando um espectrofotômetro de reemissão com lâmpada padrão, modelo CM-3600a, marca Minolta, usando cerâmica branca como padrão de calibração, padrão iluminante D65/10° e o índice White: Berger.

### **3.9.3 Avaliação da cor após o processo de tingimento**

Após o tingimento, as amostras foram avaliadas em relação à cor, comparando-as ao tecido padrão tingido. Foram utilizados dois padrões, o primeiro foi obtido tingindo o tecido alvejado convencionalmente no laboratório, e o segundo foi obtido tingindo o tecido alvejado convencionalmente pela empresa parceira. O equipamento utilizado foi o espectrofotômetro de reemissão com lâmpada padrão, modelo CM-3600a, marca Minolta, que segue o sistema  $L^*a^*b^*$ , denominado CIELAB, o qual é expresso por um sistema tridimensional L, a, b, conforme apresentado na Figura 33. Sendo que o  $L^*$ , Luminância, pode variar de 0 (preto) a 100 (branco); o eixo  $a^*$  assume valores negativos (verde) e positivos (vermelho) e o eixo  $b^*$  varia entre valores negativos (azul) e positivos (amarelo).

**Figura 33 - Espaço de cor CIELAB**

Fonte: [http://dba.med.sc.edu/price/irf/Adobe\\_tg/models/cielab.html](http://dba.med.sc.edu/price/irf/Adobe_tg/models/cielab.html)

Cada amostra de tecido foi analisada nos quatro quadrantes e a partir destes valores, realizada a média para a obtenção do  $\Delta E$  fornecido automaticamente pelo programa do equipamento após realizar a média de nove medidas.

### 3.9.4 Testes de solidez

As amostras de malha tingidas foram submetidas aos testes de solidez à lavagem ao algodão (CO) e a poliacrilamida (PA).

Os procedimentos foram realizados pelo Laboratório de Tinturaria da empresa Malwee localizada em Jaraguá do Sul, Santa Catarina, seguindo a norma NBR ISO 105-C10.

O objetivo do teste de solidez da cor à lavagem é determinar a resistência da cor dos têxteis na lavagem com sabão e barrilha. Na avaliação da solidez de cor de tecidos ou vestuário, a mudança da cor original (desbotamento) e/ou manchamento ou transferência de cor no tecido de teste padrão são medidas pela comparação visual do corpo de prova testado com a escala azul AATCC para mudança de cor e manchamento e escala de transferência cromática. A diferença na mudança de cor e o acúmulo de transferência de cor são dados um valor numérico que varia entre 1 e 5. Classe 5 indica sem mudança da cor original (desbotamento) e/ou sem transferência de cor. Classe 1 indica notável mudança de cor (desbotamento) e/ou alta transferência de cor.

### 3.10 TESTES DE TOXICIDADE, DBO E DQO PARA OS BIOPROCESSOS PROPOSTOS

#### 3.10.1 Toxicidade

Os testes de toxicidade aguda foram realizados para os efluentes gerados nos bioprocessos, no Laboratório de Meio Ambiente e Toxicologia do Departamento Área de Pesquisa da Universidade da Região de Joinville – Univille, sob a responsabilidade da analista de laboratório Aline Scheller.

Os testes de toxicidade aguda com a *Daphnia magna* foram realizados seguindo-se a norma ABNT NBR 12713:2009, o qual avalia o efeito deletério causado pela amostra na mobilidade dos organismos-teste, em um período de 48 h de exposição. Foram realizadas quatro repetições tanto para o controle como para cada concentração das amostras testadas, sendo que em cada réplica foram adicionados 10 mL de solução-teste com 5 organismos com menos de 24 horas de idade.

A toxicidade foi comparada entre a amostra do alvejamento convencional e a amostra do bioalvejamento, tanto para o processo que utiliza o  $H_2O_2$  como agente branqueador, como para o processo que utiliza o ácido peracético. A concentração letal média ( $CL_{50}$ ) que causa efeito agudo em 50 % dos organismos no tempo de 48 h de exposição foi calculada pela análise de probito através do método matemático Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al. 1977), aplicando o software Statística®.

#### 3.10.2 Parâmetros de DBO e DQO

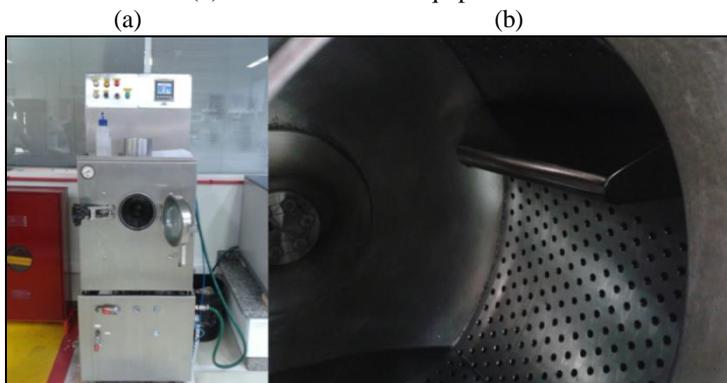
Os efluentes gerados nos bioprocessos foram avaliados em relação à DBO e DQO. Estas análises foram realizadas pela empresa QMC Laboratório de análises seguindo os métodos Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater 5210 B (DBO) e 5220 D (DQO), Edição 22.

### 3.11 ESCALA PILOTO

A fim de verificar se em uma escala maior os bioprocessos teriam o mesmo comportamento, foram realizados testes em escala piloto para os dois bioprocessos estudados, isto é, para o processo utilizando como agente branqueador peróxido de hidrogênio e para o processo utilizando como agente branqueador ácido peracético.

Os testes ocorreram em uma máquina em tambor da marca Mathis modelo MTP-HT, conforme apresentado na Figura 34, sendo tratado 1 kg de malha, com relação de banho de 1:8. Depois de finalizado o processo de bioalvejamento, foi retirada amostra da malha para caracterização. As malhas restantes dos dois processos estudados foram então tingidas seguindo-se o procedimento industrial.

**Figura 34** – (a) Equipamento utilizados nos testes pilotos para 1 Kg de malha e (b) detalhe interno do equipamento.



### 3.11.1 Processo bioalvejamento com peróxido de hidrogênio

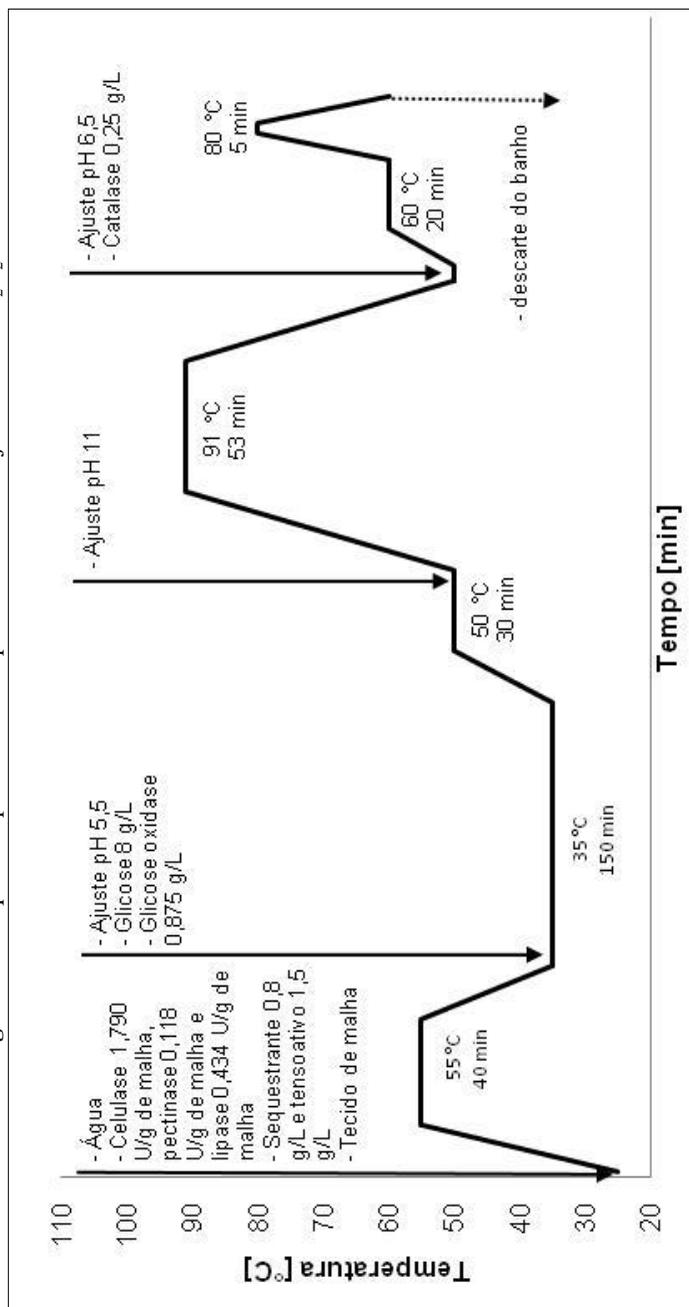
Para esse processo foram adaptadas as concentrações utilizadas em escala laboratorial para as novas condições em escala piloto. Para 1 Kg de malha com relação de banho 1:8 utilizou-se as concentrações de reagentes como apresentado na Tabela 10.

**Tabela 10** – Dados de volume e concentração de reagentes utilizados no teste piloto para um volume de malha de 1 kg e relação de banho 1:8.

Reagente	Volume (Concentração)
Celulase	1,15 mL (1,790 U/g de malha)
Pectinase	1,02 mL (0,118 U/g de malha)
Lipase	3,55 mL (0,434 U/g de malha)
Glicose	64 g (8 g/L)
Glicose oxidase comercial	7 g (0,875 g/L)
Catalase	2 mL (0,25 g/L)
Tensoativo	1,5 g/L
Sequestrante	0,8 g/L

A concentração da enzima comercial sofreu uma alteração quando aplicado em escala piloto, pois o lote da enzima era outro e com isso foi necessário o ajuste. O processo adotado está apresentado na Figura 35. Ao fim do bioalvejamento o tecido foi tingido com o corante verde bandeira e seguiu-se o processo normal da empresa. Os dados de solidez e cor do tecido foram comparados com o processo realizado em laboratório para este corante.

**Figura 35** - Esquema representativo do processo de bioalvejamento com  $H_2O_2$ .

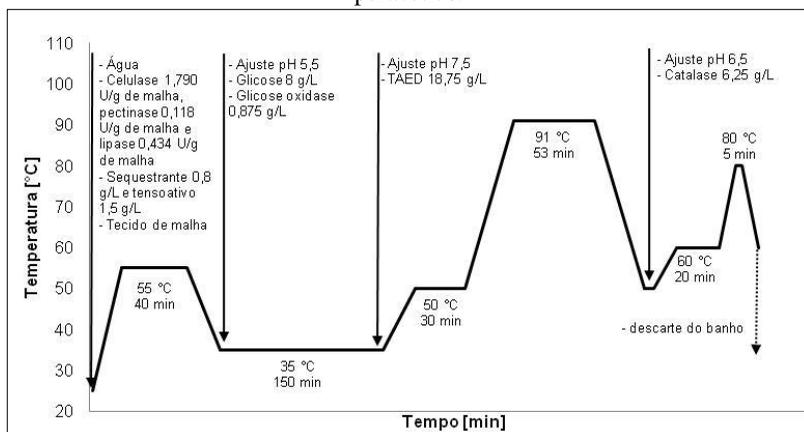


### 3.11.2 Processo bioalveamento com ácido peracético

Nesse processo aplicaram-se as mesmas condições e concentrações do processo descrito anteriormente. Porém adicionou-se 150 g (18,75 g/L) de TAED para a formação do ácido peracético.

O processo adotado está apresentado na Figura 36. Ao fim do bioalveamento o tecido foi tingido com o corante verde bandeira e seguiu-se o processo normal da empresa. Os dados de solidez e cor do tecido foram comparados com o processo realizado em laboratório para este corante.

**Figura 36** - Esquema representativo do processo de bioalveamento com ácido peracético.





## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados experimentais relacionados ao estudo da aplicação das enzimas celulase, pectinase, lipase e glicose oxidase no pré-tratamento de malhas de algodão na indústria têxtil.

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS PREPARAÇÕES ENZIMÁTICAS

As enzimas celulase, pectinase, lipase e a glicose oxidase foram caracterizadas quanto à quantificação de proteína total e à atividade enzimática.

#### 4.1.1 Determinação de Proteínas

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 11. Os baixos valores do desvio padrão indicam que esta metodologia apresenta uma boa reprodutibilidade, além da simplicidade em sua realização.

**Tabela 11** - Valores obtidos para a quantidade de proteína total nas preparações enzimáticas.

Enzima	Proteína Total (mg/mL)
Celulase	0,32 ± 0,02
Lipase	24,72 ± 0,77
Pectinase	36,01 ± 0,76
Glicose oxidase ultrapura	0,54 ± 0,01

As enzimas celulase, pectinase e lipase são as mesmas enzimas utilizadas pelo trabalho de Silva (2013), desenvolvido em paralelo ao presente trabalho pelo mesmo grupo de pesquisa.

#### 4.1.2 Determinação das atividades enzimáticas

As atividades enzimáticas foram determinadas nas condições ótimas de cada enzima. Para as enzimas celulase, pectinase e lipase as condições ótimas de atuação foram fornecidas pelo fabricante. A enzima celulase tem como condições ótimas pH 6,0 e temperatura 55 °C, já a lipase pH 8,0 e temperatura 37 °C e a pectinase pH 8,0 e temperatura 55 °C. A Tabela 12 apresentada os resultados de atividade total e de atividade específica.

**Tabela 12** - Atividade total e atividade específica das enzimas celulase, pectinase e lipase.

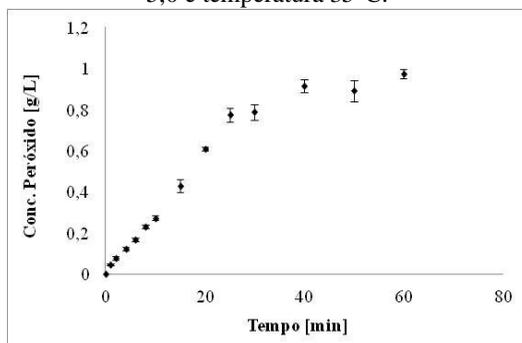
Enzima	Atividade Total (U.mL <sup>-1</sup> )	Atividade Específica (U.mg <sup>-1</sup> )
<b>Celulase</b>	1502,45 ± 36,38	4695,16 ± 314,70
<b>Lipase</b>	30,80 ± 2,03	1,24 ± 0,09
<b>Pectinase</b>	585,13 ± 18,99	16,25 ± 0,63

As atividades enzimáticas para as enzimas apresentadas anteriormente, também são apresentadas por Silva (2013), visto que a pesquisa foi desenvolvida em paralelo ao presente trabalho, pelo mesmo grupo de pesquisa.

#### 4.1.2.1 Determinação do pH e da temperatura ótima de atividade da enzima Glicose Oxidase (GOx) P. A.

Primeiramente, foi estudada a cinética enzimática para determinar a fase de velocidade inicial da atividade enzimática. A Figura 37 apresenta a cinética obtida. Com base na figura, percebe-se que nos primeiros 10 min de reação é onde se encontra o período de velocidade inicial da atividade enzimática. Com isso, optou-se pelo tempo de 5 min de reação para a realização dos testes para avaliação do pH e da temperatura ótima da enzima.

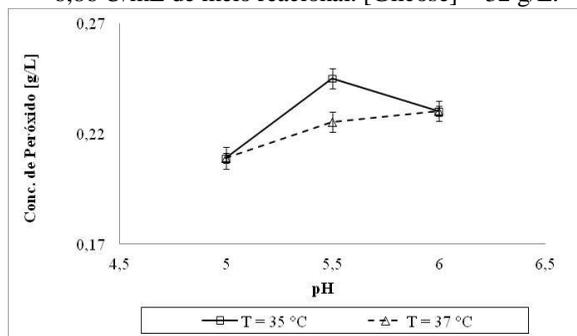
**Figura 37** – Cinética enzimática para a enzima glicose oxidase. Condições: pH 5,0 e temperatura 35°C.



Com o objetivo de encontrar a condição ótima de atuação da enzima glicose oxidase, foi avaliada a formação de peróxido de hidrogênio em vários meios de reação. Foram estudados os valores de pH de 4,5 a 6,0 e a temperatura de 30 °C, 35 °C, 37 °C e 40 °C, porém

são apresentados os resultados apenas para as temperaturas de 35 °C e 37 °C, visto que para as outras temperaturas as atividades não influenciaram na avaliação. A Figura 38 apresenta o comportamento encontrado. A melhor condição foi definida na temperatura de 35 °C e no pH de 5,5.

**Figura 38** – Formação de peróxido de hidrogênio pela enzima glicose oxidase para diferentes valores de pH e temperatura. Tempo de reação de 5 min. [GOx] = 6,86 U/mL de meio reacional. [Glicose] = 32 g/L.

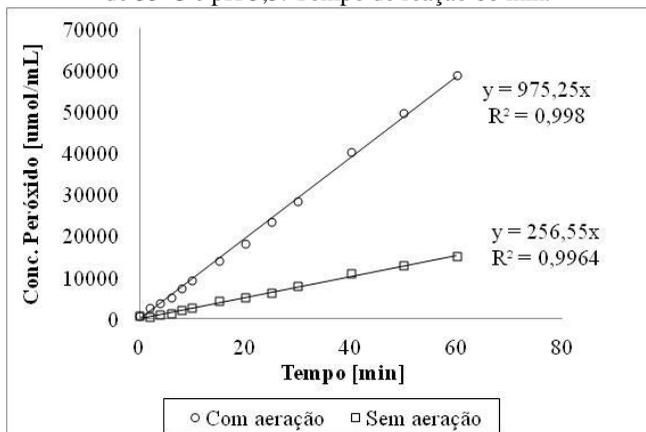


A pesquisa realizada por Buschle-Diller e colaboradores (2001), encontrou como melhor condição para a enzima glicose oxidase o pH de 5,1 e a temperatura de 35°C. Já Farooq et al. (2013), utilizaram a enzima glicose oxidase e a melhor condição encontrada foi pH 5,0 e temperatura de 37 °C.

Visto que o melhor pH foi de 5,5 e a temperatura de 35 °C, avaliou-se, nestas condições, a atividade enzimática quantificando-se a concentração de peróxido de hidrogênio formado na reação.

Como apresentado anteriormente, a reação entre a enzima glicose oxidase e a glicose acontece preferencialmente na presença de oxigênio, porém devido à dificuldade de aerar o processo em escala industrial, foram avaliados meios aerados e não aerados. A Figura 39 apresenta a atividade enzimática obtida para ambos os casos.

**Figura 39** – Reação entre a enzima glicose oxidase e a glicose para a formação de peróxido de hidrogênio em meio aerado e não aerado. Temperatura da reação de 35°C e pH 5,5. Tempo de reação 60 min.



Obteve-se uma atividade de 975,25 U/mg para o composto enzimático em pó no sistema aerado e de 256,55 U/mg do composto enzimático em pó no sistema sem aeração. As atividades específicas foram 1806 U/mg de proteína e 475,1 U/mg de proteína, respectivamente. A enzima perdeu 73,7% da sua capacidade para o sistema sem aeração quando comparado com o sistema com aeração.

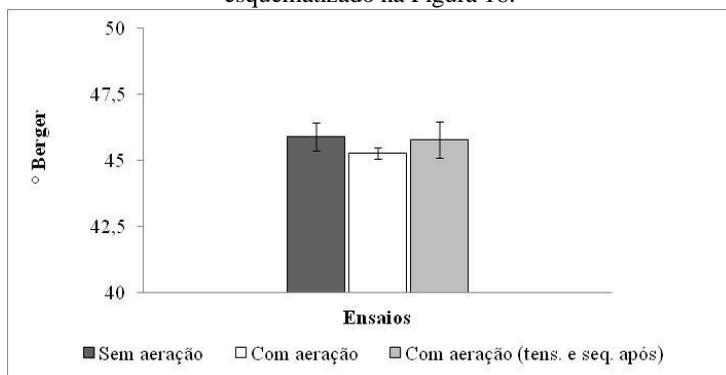
A atividade declarada pelo fabricante é de 200 U/mg de composto enzimático em pó.

#### 4.2 GRAU DE ALVURA E AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> EM SISTEMA COM E SEM AERAÇÃO.

Realizaram-se ensaios onde foi avaliada a influência da aeração no grau de alvura da malha tratada. A aeração favorece a produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e com isso o grau de alvura obtido deve ser maior. A Figura 40 apresenta o grau de alvura obtido para cada ensaio. Observa-se que a diferença entre os tratamentos foi muito pequena, não justificando o uso de aeração no processo. Isso porque, durante a aeração ocorre a formação de espuma, devido a presença de tensoativo e sequestrante, em decorrência disso a aeração teve que ser interrompida periodicamente para que não houvesse perda de volume, tornando a aeração ineficiente. Uma alternativa para diminuir o volume de espuma foi avaliar o uso da aeração colocando o tensoativo e o sequestrante após a formação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e não no início como a metodologia original. Porém, essa

alteração favoreceu minimamente ao aumento do grau de alvura, pois ainda houve a formação de espuma. Com isso, para o processo de bioalveamento não se adotou a aeração.

**Figura 40** – Grau de Alvura obtido para processo com e sem aeração. Reação de formação de  $H_2O_2$  realizado com pH 5,5,  $T=35\text{ }^\circ\text{C}$  e tempo de 40 min. O procedimento utilizado foi o descrito no item 3.5.3, de acordo com o processo esquematizado na Figura 18.



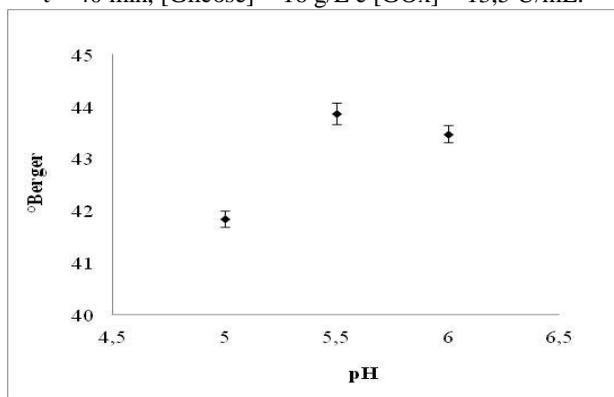
### 4.3 ETAPA 1: AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO DA MALHA COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

Essa etapa da pesquisa diz respeito ao primeiro bioprocessamento proposto, descrito na Figura 16. Neste processo a enzima glicose oxidase reage com a glicose formando o peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio formado enzimaticamente foi o agente branqueador do bioalveamento.

#### 4.3.1 Verificação do melhor pH na etapa de geração de peróxido de hidrogênio no processo de bioalveamento

Verificou-se o melhor pH para a formação de peróxido de hidrogênio no processo de bioalveamento em único banho. A melhor condição foi determinada pelo melhor grau de alvura (°Berger) observado. A Figura 41 apresenta os resultados obtidos.

**Figura 41** – Formação de peróxido de hidrogênio no processo de bioalveamento em único banho, para os pH de 5,0; 5,5; e 6,0. T = 35°C, t = 40 min, [Glicose] = 16 g/L e [GOx] = 13,5 U/mL.

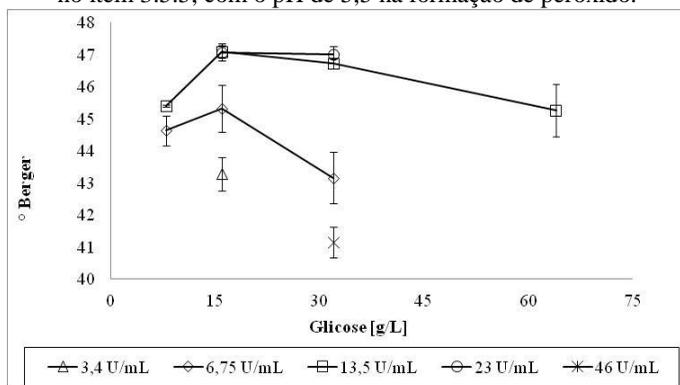


Conforme observado na Figura 41 o melhor pH foi identificado em 5,5. Evidenciando que a enzima não altera seu comportamento no meio reacional e em virtude disso esse pH foi mantido fixo durante a realização dos planejamentos experimentais.

#### **4.3.2 Avaliação preliminar da melhor concentração da glicose oxidase e de glicose para o bioalveamento**

Avaliou-se a melhor concentração da enzima glicose oxidase e de glicose no meio reacional, para a obtenção do melhor grau de alvura (ou grau de branco). A Figura 42 apresenta o grau de alvura para cada situação testada. Percebe-se que a partir de um determinado momento mesmo com o aumento da atividade enzimática, para uma mesma concentração de glicose, não há alteração relevante no grau de alvura das malhas avaliadas. O mesmo acontece para uma mesma concentração de enzima aumentando-se a concentração de glicose. A faixa de melhor condição obtida foi para uma atividade enzimática entre 13,5 e 23 U/mL de meio reacional e para 16 g/L de glicose, que corresponde a um °Berger em torno de 47.

**Figura 42** – Avaliação da melhor concentração de glicose oxidase e de glicose para o grau de alvura. O processo foi realizado seguindo-se o programa descrito no item 3.5.5, com o pH de 5,5 na formação de peróxido.

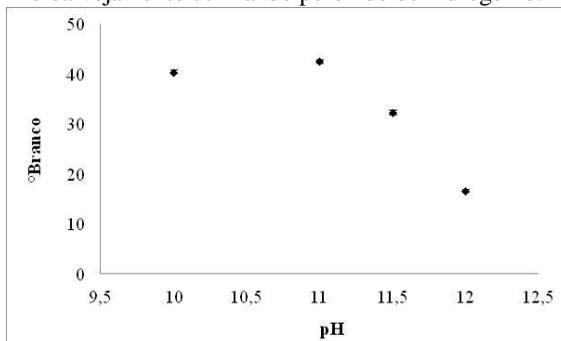


Com base nessa avaliação, os níveis do planejamento experimental para avaliação da geração de  $H_2O_2$  foram variados de 3,37 a 23 U/mL de meio reacional para a enzima glicose oxidase e de 8 a 32 g/L para a glicose. Sendo que o tempo foi variado entre 15 e 60 min, com base nos trabalhos da literatura.

#### 4.3.3 Efeito do pH na etapa de branqueamento no processo de bioalvejamento

Avaliou-se o melhor pH para realização da etapa de branqueamento no processo de bioalvejamento com peróxido de hidrogênio. Conforme apresentado na Figura 43 o melhor pH observado foi pH 11, onde o grau de branco do tecido tratado foi  $42,56 \pm 0,33$ . Com o aumento do pH o grau de branco diminuiu consideravelmente, a melhor faixa observada foi entre pH 10 e 11.

**Figura 43** – Efeito do pH na etapa de branqueamento no processo de bioalvejamento utilizando peróxido de hidrogênio.



No estudo realizado por Saravanan e colaboradores (2012), foi avaliado o branqueamento em único banho utilizando as enzimas  $\alpha$ -amilase e glicose oxidase e os pesquisadores encontraram a melhor condição para o branqueamento em pH 11 e temperatura de 90 °C por 60 min.

Eren et al. (2009), avaliou o pré-tratamento de tecidos de algodão utilizando peróxido de hidrogênio gerado enzimaticamente. As condições estabelecidas para a etapa de branqueamento foram em pH 11 -11,5, na temperatura de 98°C e com tempo de reação de 45 min.

Shin e colaboradores (2004), trabalharam com a enzima glicose oxidase para geração do peróxido de hidrogênio a fim de realizar o branqueamento de tecidos de algodão, as condições estabelecidas para o branqueamento foram pH 11, temperatura de 100 °C e 60 min de reação. Os autores obtiveram um tecido com grau de branco de 58.

Com base nesse estudo, manteve-se constante o pH em 11 durante a realização do planejamento experimental.

#### **4.3.4 Planejamento fatorial $2^3$ completo para avaliação da geração de peróxido de hidrogênio pela enzima glicose oxidase.**

O produto de interesse da reação entre a enzima glicose oxidase e a glicose é o peróxido de hidrogênio, o qual é responsável pelo branqueamento de tecidos de algodão.

Logo, realizou-se a análise estatística a fim de se encontrar um modelo para prever a concentração de peróxido de hidrogênio de acordo com as concentrações de glicose oxidase, glicose, tempo de reação e das iterações entre esses fatores.

Na Tabela 13 está apresentado o planejamento adotado com as variáveis codificadas e as respostas obtidas.

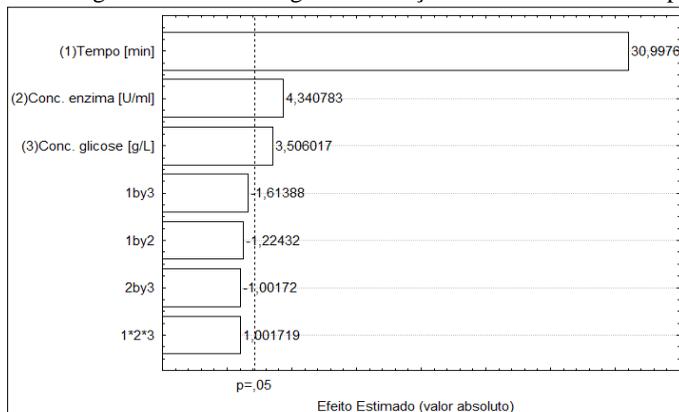
**Tabela 13** – Variáveis codificadas e reais, e suas respectivas respostas do planejamento fatorial  $2^3$  completo para avaliar a formação de peróxido de hidrogênio pela reação entre a glicose oxidase e a glicose. Condição: pH = 5,5 e T= 35 °C.

<b>Glicose oxidase [U/mL de meio reacional]</b>	<b>Glicose [g/L]</b>	<b>Tempo [min]</b>	<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [g/L]</b>	<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [g/L]</b>	<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [g/L]</b>
-1 (3,375)	-1 (8)	-1 (15)	0,3650	0,3976	0,3845
1 (23)	-1 (8)	-1 (15)	0,4367	0,4399	0,4790
-1 (3,375)	1 (20)	-1 (15)	0,4530	0,4693	0,4464
1 (23)	1 (32)	-1 (15)	0,4530	0,5214	0,4856
-1 (3,375)	-1 (8)	1 (60)	0,6974	0,7365	0,7332
1 (23)	-1 (8)	1 (60)	0,7300	0,7691	0,7234
-1 (3,375)	1 (32)	1 (60)	0,7462	0,7723	0,7397
1 (23)	1 (32)	1 (60)	0,7821	0,7886	0,7430
0 (13,187)	0 (20)	0 (37,5)	0,6289	0,6289	0,5735

Com a análise do planejamento fatorial foi possível verificar que a concentração de enzima, de glicose e o tempo como variáveis principais interferiram significativamente na geração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, para um modelo estatístico com um limite de confiança de 95%, como é observado na Figura 44. A ação exclusiva da enzima, da glicose e do tempo age em favor de uma geração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> maior, sendo que o tempo é o que apresenta o maior efeito no processo, seguida pela concentração de glicose e pela concentração de enzima.

Os autores Buschle-Diller, Yang e Yamamoto (2001) e Tzanov et al. (2001), também verificaram em seus estudos que para uma mesma concentração de glicose oxidase e glicose, havia uma geração de peróxido de hidrogênio maior para tempos de reações maiores. Tzanov et al. (2001) também verificaram que, para a mesma concentração de glicose e o mesmo tempo de reação, a geração de peróxido de hidrogênio era aumentada com o aumento da concentração de glicose oxidase.

**Figura 44** - Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre a geração de  $H_2O_2$  entre a enzima glicose oxidase e a glicose. Reação realizada em  $35^\circ C$  e pH 5,5.



De acordo com os coeficientes estimados obtidos na análise estatística, propõe-se o modelo a seguir, considerando-se apenas as variáveis significativas:

$$\begin{aligned}
 \text{Concentração Peróxido de Hidrogênio } \left(\frac{g}{L}\right) &= 0,288 + 0,0067[\text{Tempo, min}] \\
 &+ 0,000027 \left[ \text{Glicose oxidase, } \frac{U}{mL} \right] \\
 &+ 0,0178[\text{Glicose, g/L}]
 \end{aligned} \tag{05}$$

O modelo matemático empírico determinado pela Equação (05) para a concentração de  $H_2O_2$  foi validado pela análise de variância ANOVA, apresentada na Tabela 14. O coeficiente de relação obtido foi  $R^2 = 0,98128$ , indicando que o modelo consegue explicar 98,128 % da variação total em torno da média.

**Tabela 14** – Análise de variância dos valores da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

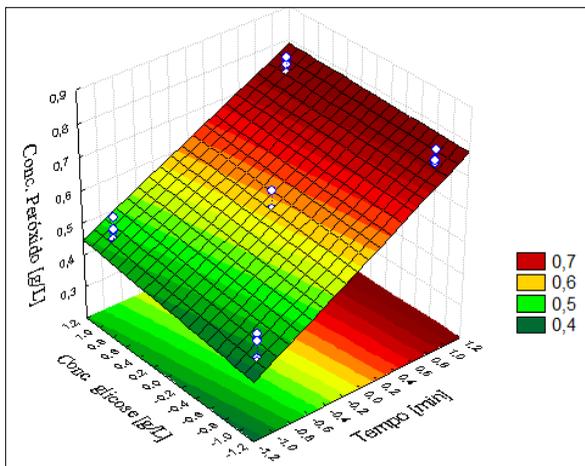
<b>R<sup>2</sup> = 0,98128; Ajuste= 0,97438</b>					
<b>MS Erro puro = 0,0005715</b>					
	SS	G L	MS	F	P
<b>Tempo (1)</b>	0,5491	1	0,5491	960,85	0,000
<b>Conc. de enzima (U/mL) (2)</b>	0,0108	1	0,0108	18,85	0,000
<b>Conc. de glicose (g/L) (3)</b>	0,0070	1	0,0070	12,29	0,002
<b>Iteração 1 e 2</b>	0,0009	1	0,0009	1,50	0,237
<b>Iteração 1 e 3</b>	0,0015	1	0,0015	2,60	0,124
<b>Iteração 2 e 3</b>	0,0006	1	0,0006	1,00	0,329
<b>Iteração 1*2*3</b>	0,0006	1	0,0006	1,00	0,329
<b>Falta de ajuste</b>	0,0006	1	0,0006	1,04	0,321
<b>Erro puro</b>	0,0103	18	0,0006		
<b>Total SS</b>	0,5813	26			

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

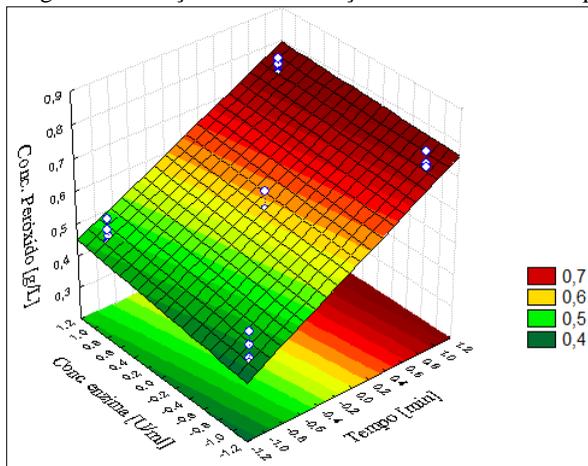
As superfícies de resposta geradas pelo modelo podem ser observadas na Figura 45 e na Figura 46.

Avaliando o comportamento das superfícies de resposta, percebe-se que aumentando a concentração de glicose ou a concentração da glicose oxidase, um tempo menor de reação é necessário. Então o tempo pode ser melhor ajustado aumentando-se a concentração de reagentes, pois a reação acontecerá de forma rápida.

**Figura 45** - Superfície de resposta para a concentração de peróxido de hidrogênio em função da concentração de glicose e do tempo.



**Figura 46** - Superfície de resposta para a concentração de peróxido de hidrogênio em função da concentração de enzima e do tempo.



Com esse planejamento fatorial foi possível obter o modelo estatístico para a concentração de peróxido de hidrogênio em função da concentração de enzima, de glicose e do tempo. Com isso, variando esses fatores pode-se encontrar a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> desejada. No próximo item foi avaliada a etapa de branqueamento, onde a

concentração de  $H_2O_2$  necessária foi determinada por este modelo estatístico encontrado.

#### 4.3.5 Planejamento composto central para avaliação do branqueamento no processo de bioalveamento com peróxido de hidrogênio.

A análise estatística foi realizada a fim de se encontrar um modelo estatístico para obterem-se as condições ótimas do processo que possibilitem um tecido com o maior grau de branco. Este modelo avalia a concentração de peróxido de hidrogênio, o tempo e a temperatura de branqueamento, para obter-se o melhor resultado de grau de branco. Manteve-se fixo o pH em 11, melhor condição encontrada na avaliação do pH de branqueamento.

Na Tabela 15 está apresentado o planejamento adotado com as variáveis codificadas e as respostas obtidas.

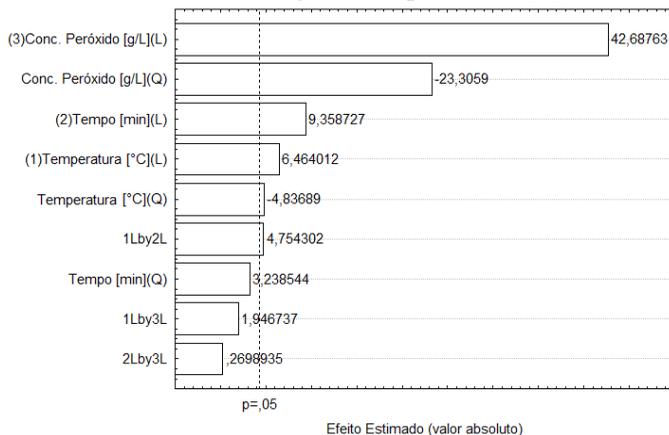
**Tabela 15** – Variáveis codificadas e suas respectivas respostas do planejamento composto central para avaliar a etapa de branqueamento, no processo de bioalveamento com peróxido de hidrogênio. pH = 11.

Temperatura [°C]	Tempo [min]	Conc. Peróxido [g/L]	°Berger
-1 (70)	-1 (40)	-1 (0,382)	38,48
-1 (70)	-1 (40)	1 (0,741)	41,64
-1 (70)	1 (40)	-1 (0,382)	40,54
-1 (70)	1 (80)	1 (0,741)	41,23
1 (100)	-1 (40)	-1 (0,382)	42,71
1 (10)	-1 (40)	1 (0,741)	41,93
1 (100)	1 (80)	-1 (0,382)	42,75
1 (100)	1 (80)	1 (0,741)	45,62
-1,68 (59,8)	0 (60)	0 (0,577)	40,73
1,68 (110,2)	0 (60)	0 (0,577)	37,14
0 (85)	-1,68 (26,4)	0 (0,577)	41,03
0 (85)	1,68 (93,6)	0 (0,577)	41,94
0 (85)	0 (60)	-1,68 (0,250)	25,30
0 (85)	0 (60)	1,68 (0,902)	44,48
0 (85)	0 (60)	0 (0,577)	42,61
0 (85)	0 (60)	0 (0,577)	42,15
0 (85)	0 (60)	0 (0,577)	42,38

Com a análise do planejamento composto central foi possível verificar (ignorando os efeitos não significativos) que a concentração de peróxido de hidrogênio, a temperatura e o tempo como variáveis principais interferiram significativamente no branqueamento, para um modelo estatístico com um limite de confiança de 95%, como é observado na Figura 47. A ação exclusiva do peróxido de hidrogênio, da temperatura e do tempo age em favor de um branqueamento maior, sendo que a concentração de peróxido de hidrogênio é o que apresenta o maior efeito no processo, seguido pelo tempo e a temperatura. Já a concentração de peróxido quadrática influencia negativamente no branqueamento, bem como a temperatura quadrática.

Abdel-Halim e Al-Deyab (2013) avaliaram o branqueamento com peróxido de hidrogênio e os resultados mostraram que com o aumento da concentração de peróxido aumentava o grau de branco das amostras. Farooq et al. (2013) verificou que o grau de branco foi aumentado pelo aumento da temperatura e também o aumento do tempo de reação contribuía para um maior branqueamento. Rekha (2002) verificou que o grau de branco aumentava com o aumento da concentração e da temperatura.

**Figura 47** - Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre o branqueamento, utilizando como agente branqueador o  $H_2O_2$ .



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

$$\begin{aligned}
 \circ \text{ Berger} = & 12,57 + 0,248[\text{Temperature}, ^\circ\text{C}] \\
 & - 0,002[\text{Temperature}, ^\circ\text{C}]^2 - 0,079[\text{Time}, \text{min}] \\
 & + 56,398[\text{H}_2\text{O}_2, \text{g/L}] - 38,125[\text{H}_2\text{O}_2, \text{g/L}]^2 \\
 & + 0,0013[\text{Temperature}, ^\circ\text{C}][\text{Time}, \text{min}]
 \end{aligned} \quad (06)$$

Na Equação (06) os fatores negativos influenciam a média de forma negativa, isto é, diminuindo o valor do grau Berger, já os efeitos positivos, favorecem ao aumento do grau de branco, sendo que a concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  linear é o fator que mais influência o branqueamento.

O modelo matemático empírico determinado pela Equação (06) para o grau de branco foi validado pela análise de variância ANOVA, apresentada na Tabela 16. O coeficiente de relação obtido foi  $R^2 = 0,644$ , indicando que o modelo consegue explicar 64,4 % da variação total em torno da média. Justifica-se o baixo valor do coeficiente de relação, uma vez que este planejamento foi baseado em outro modelo estatístico para determinação da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , o que pode ocasionar variações.

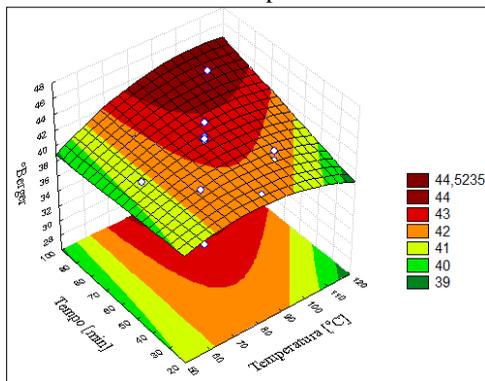
**Tabela 16** – Análise de variância para o processo de bioalvejamento utilizando  $\text{H}_2\text{O}_2$  como agente branqueador.

<b><math>R^2 = 0,644</math>; Ajuste = 0,429</b>					
<b>MS Erro puro = 0,0521</b>					
	SS	GL	MS	F	P
<b>(1)Temperatura [°C]</b> <b>(L)</b>	2,178	1	2,178	41,780	0,0231
<b>Temperatura [°C]</b> <b>(Q)</b>	1,912	1	1,912	36,676	0,0262
<b>(2)Tempo [min] (L)</b>	4,567	1	4,567	87,585	0,0112
<b>(3)Com. Peróxido hidrogênio [g/L] (L)</b>	94,997	1	94,997	1821,972	0,0005
<b>Com. Peróxido hidrogênio [g/L] (Q)</b>	33,564	1	33,564	643,738	0,0015
<b>Iteração 1 (L) e 2 (L)</b>	1,178	1	1,178	22,603	0,0415
<b>Falta de ajuste</b>	75,826	8	9,478	181,786	0,0055
<b>Erro puro</b>	0,104	2	0,052		
<b>Total SS</b>	213,069	16			

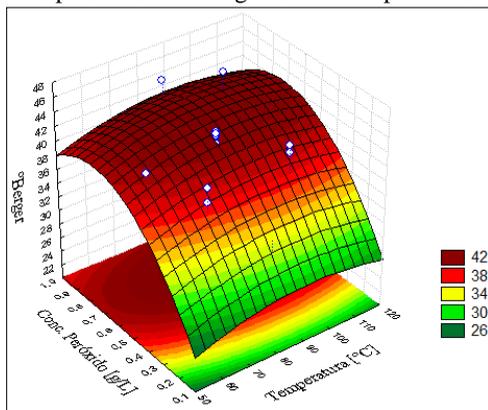
\* SS = Soma dos quadrados mínimos; GL = Graus de liberdade; MS = (SS/GL)

As superfícies de resposta geradas pelo modelo podem ser observadas na Figura 48 e na Figura 49.

**Figura 48** - Superfície de resposta para o °Berger em função da temperatura e do tempo.



**Figura 49** - Superfície de resposta para o °Berger em função da concentração de peróxido de hidrogênio e da temperatura.



Percebe-se pela Figura 49 que com o aumento da concentração de peróxido de hidrogênio há uma diminuição no grau de branco da amostra, possivelmente este efeito é uma consequência do aumento simultâneo da concentração de ácido glicônico, que pode levar a uma desestabilização do banho de branqueamento, conforme Buschle-Diller et al. (2001).

O ácido glicônico produzido na reação atua como um agente quelante para íons metálicos de modo que o uso de agente de estabilização adicional pode ser evitado (FAROOQ et al. 2013).

Com este planejamento experimental foi possível encontrar o modelo estatístico que descreve a etapa de branqueamento. Com isso, foi possível determinar as melhores condições para a realização dessa etapa, como é apresentado no próximo item.

#### 4.3.6 Melhores condições para a etapa de branqueamento do processo de bioalvejamento com peróxido de hidrogênio

Com os planejamentos experimentais foi possível encontrar a condição ótima do processo para se obter o maior grau de branco da malha tratada. Os valores críticos estão apresentados na tabela a seguir.

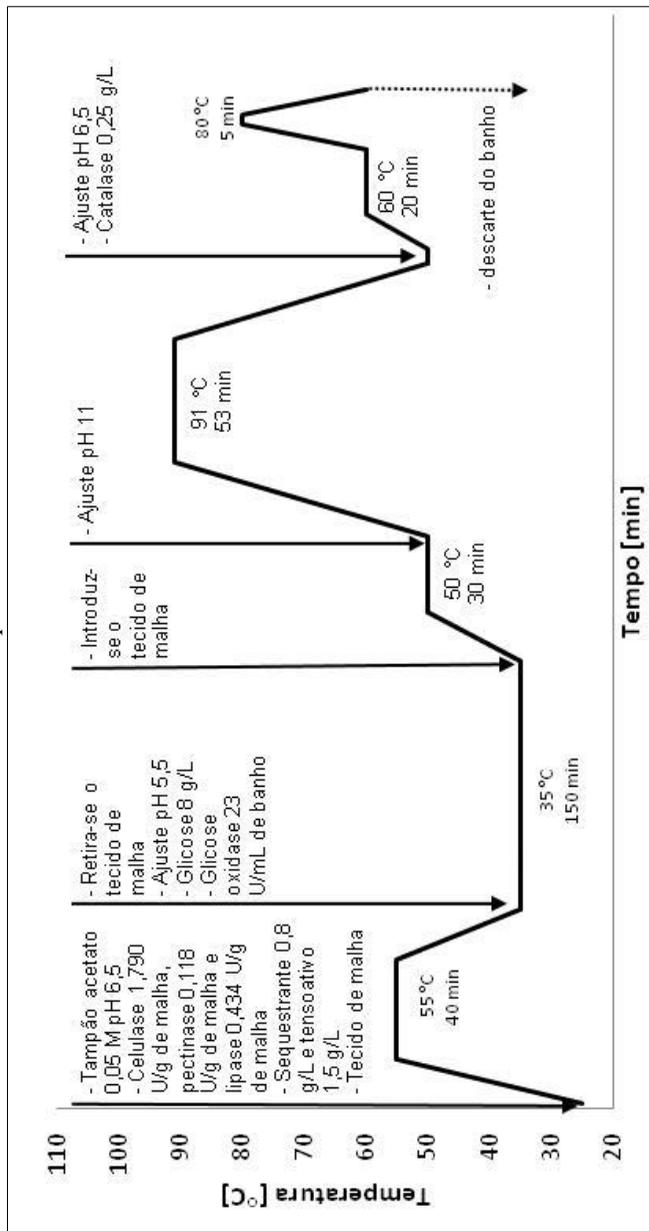
**Tabela 17** – Valores críticos para o processo de branqueamento utilizando o  $H_2O_2$  como agente branqueador.

Fator	Mínimo observado	Valor crítico	Máximo observado
Temperatura [°]	59,80	85,14	110,20
Tempo [min]	26,40	32,78	93,60
Conc. $H_2O_2$ [g/L]	0,22	0,74	0,92

Os dados de valor crítico indicam as condições do processo para se obter o maior  $^\circ$ Berger, segundo o modelo estatístico encontrado. Nessas condições o maior  $^\circ$ Berger que se pode encontrar é de 42,92. Porém, realizando alguns experimentos, com base no modelo estatístico, foi possível melhorar as condições a fim de se obter um  $^\circ$ Berger maior. Sendo as condições para a etapa de branqueamento de: Temperatura 91  $^\circ$ C, tempo 53 min e concentração de  $H_2O_2$  de 1,4 g/L. Essas condições possibilitaram encontrar valores entre  $52 \pm 1$   $^\circ$ Berger, indicando que não houve uma boa escolha dos parâmetros estabelecidos no planejamento experimental.

Com base nos planejamentos experimentais realizados, foram encontradas as condições para a realização do processo de branqueamento de malha utilizando peróxido de hidrogênio, as quais estão apresentadas esquematicamente na Figura 50.

**Figura 50** – Esquema representativo das condições do processo de branqueamento com peróxido de hidrogênio como agente branqueador.



Para a etapa inicial de biopurga foram adotadas as condições estabelecidas pela pesquisa realizada por Silva (2013), no laboratório LABMASSA, desenvolvida em paralelo a este trabalho, como citado anteriormente na metodologia. As condições são: temperatura de 55 °C, tempo de 40 min, pH 6,5, sendo adicionado celulase 1,790 U/g de malha, pectinase 0,118 U/g de malha, e lipase 0,434 U/g de malha, tensoativo 1,5 g/L e sequestrante 0,8 g/L. O grau de branco unicamente para a etapa de biopurga foi de  $24 \pm 1$  °Berger

A condição para geração de peróxido de hidrogênio de 8 g/L de glicose, 23 U/mL de banho de glicose oxidase e o tempo de 150 min (encontradas pelo planejamento experimental) forneceram uma concentração de 1,4 g/L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Porém, como o tempo de 150 min é um tanto longo, pode-se diminuí-lo aumentando-se as concentrações da enzima e/ou da glicose.

A malha de algodão foi retirada do meio na etapa de geração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, para melhor avaliação da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gerada, entretanto, ela pode permanecer no banho, pois a sua retirada ou não, não influencia no grau de branco ao final do processo.

A etapa de neutralização do peróxido de hidrogênio residual com a enzima catalase, foi realizada utilizando as condições aplicadas pela indústria têxtil parceira desse projeto, sendo: concentração de catalase de 0,25 g/L, pH 6,5, temperatura de 60 °C, tempo de 20 min e em seguida é realizado a desnaturação da enzima em 80 °C por 5 min. Ao final do processo não foi detectado a presença de peróxido de hidrogênio no meio. Condições semelhantes também foram aplicadas no trabalho de Eren, Anis e Davulcu (2009) para a neutralização do peróxido com a catalase, sendo o pH aplicado de 5,5 – 6,5 na temperatura de 50°C por 20 min, seguida da desnaturação a 80°C por 10 min.

Ao final do processo as amostras foram enxaguadas, pois caso houvesse a presença de glicose o tecido ficaria amarelado, devido a caramelização da glicose, como explicado por Spicka e Forte-Tavcer, (2012) e Tzanov et al. (2001). Para que a concentração de glicose residual seja menor, pode-se diminuir a concentração de glicose (pois se há glicose residual ela pode estar em excesso na reação), utilizar concentrações maiores de glicose oxidase ou aumentar o tempo de reação para aumentar a conversão de açúcar em peróxido de hidrogênio, conforme Saravanan et al. (2012).

A hidrofiliidade encontrada pela avaliação da capilaridade, obtendo o padrão mínimo de 5,2 cm da solução de corante percorrida pela malha em 10 min, é considerada boa. Porém, esta hidrofiliidade é

menor do que o obtido no processo convencional, sendo de 7 cm, geralmente processos enzimáticos tendem a ter uma hidrofiliidade menor que o processo convencional, este comportamento também foi avaliado por Anis et al. (2009).

Para o processo estabelecido o valor de branco de 52 °Berger pode ser maximizado utilizando aeração no meio. Saravanan e colaboradores (2010) avaliaram o branqueamento de tecidos de algodão com peróxido de hidrogênio gerado enzimaticamente e observaram um aumento no grau de branco quando as amostras foram tratadas com aeração. Amostras sem aeração apresentaram grau de branco de 26,66 (representado em unidades CIE), enquanto que para o processo aerado foi de 34,02.

O grau de branco de 52 °Berger ainda é considerado baixo, se comparado com o obtido industrialmente ( $66 \pm 1$  °Berger), por isso esse procedimento aplica-se apenas para os tecidos de malha destinados ao tingimento com cores médias a escuras. Essa diferença se deve principalmente a altas concentrações de  $H_2O_2$  e de NaOH utilizado no processo convencional.

A avaliação com planejamentos experimentais dos processos possibilitou desenvolver modelos estatísticos que são de fundamental importância na determinação das condições para um melhor processo de branqueamento, adaptando-se as condições necessárias da empresa.

Esse processo pode ser desenvolvido em um único banho reduzindo consideravelmente o uso de água para este tipo de tratamento têxtil. O alvejamento convencional utiliza quatro vezes mais água que o bioprocessamento proposto. Além de possibilitar uma malha com propriedades de conforto melhores e um melhor aspecto visual, o polimento foi mais efetivo do que no processo convencional (resultados obtidos visualmente). O estudo realizado por Mangovska et al. (2004) confirmou que o tratamento enzimático de tecidos de algodão proporciona uma maior suavidade. Ramadan (2008) verificou que tratamentos enzimáticos retiram a pectina da celulose o que resulta em uma superfície mais polida.

#### 4.4 ETAPA 2: AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE BRANQUEAMENTO UTILIZANDO ÁCIDO PERACÉTICO

Essa etapa da pesquisa diz respeito ao segundo bioprocessamento proposto, descrito na Figura 17. Este processo utiliza um ativador de peróxido de hidrogênio chamado tetra acetil etileno diamina - TAED, o qual reage com o peróxido de hidrogênio gerado enzimaticamente

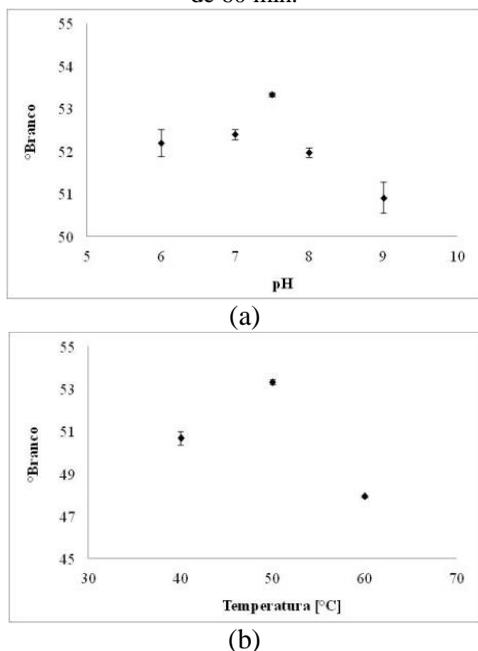
formando o ácido peracético, conforme apresentado na Figura 21. O ácido peracético gerado na reação foi o agente branqueador do bioalveamento.

O ácido peracético como um agente químico pode ser introduzido de forma segura em um processo já existente. Uma vantagem importante do ácido peracético, é a presença de grupos  $\text{-COOH}$ , que são de ação rápida, sem a formação de espuma, líquidos solúveis em água e se decompõe em produtos que não são agressivos ambientalmente (GUERSOY; DAYIOGLU, 2000; HASHEM,1999).

#### **4.4.1 Verificação do melhor pH e da temperatura na etapa de geração de ácido peracético no processo de bioalveamento**

Verificou-se o melhor pH e a melhor temperatura para a geração de ácido peracético no processo de bioalveamento. Após o processo de bioalveamento o tecido tratado foi avaliado em relação ao seu grau de branco obtido. Conforme apresentado na Figura 51, o melhor pH observado foi em pH 7,5 e a melhor temperatura de 50 °C, que possibilitou obter um grau de branco de  $53,34 \pm 0,05$  para ambas as avaliações. Sendo assim, foram fixadas estas condições no desenvolvimento dos planejamentos experimentais.

**Figura 51** – Estudo do melhor pH (a) e da melhor temperatura (b) para a geração de ácido peracético no processo de bioalvejamento. Tempo de reação de 60 min.



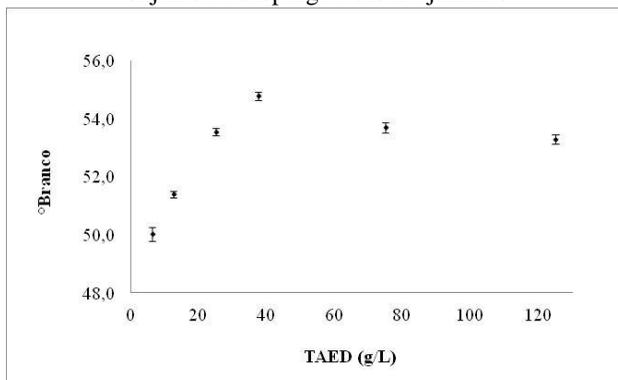
Essas condições da reação de pH 7,5, temperatura de 50 °C com tempo de 60 min, também foram encontradas por Špička e Tavčer (2012), na avaliação do branqueamento de tecidos de algodão utilizando o ativador de peróxido hidrogênio TAED, o qual reagiu com o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (gerado enzimaticamente) para geração do ácido peracético.

#### 4.4.2 Avaliação preliminar da concentração de tetra acetil etileno diamina (TAED).

O tetra acetil etileno diamina (TAED) é um ativador de peróxido muito utilizado comercialmente. A fim de verificar se o TAED iria aumentar o grau de branco do tecido tratado foram realizados alguns ensaios utilizando diferentes concentrações do ativador e mantendo-se constante a concentração de glicose oxidase (23 U/mL de meio reacional) e de glicose (32 g/L). A Figura 52 apresenta graficamente o grau de branco obtido para cada concentração de TAED avaliada.

Observa-se que há um valor ótimo em 37,5 g/L e com o aumento da concentração de TAED, o grau de branco tende a diminuir.

**Figura 52** - Avaliação de diferentes concentrações de TAED no processo conjunto de biopurga e bioalveamento.



Com base nessa avaliação, estabeleceu-se que os níveis do planejamento experimental variariam entre 6,25 g/L a 62,5 g/L, que é a faixa de crescimento e decaimento do grau de branco.

O fato de o grau de branco diminuir com o aumento da concentração de TAED, pode estar relacionado ao fato de desestabilização do meio quando há a formação de uma alta concentração do subproduto. Em seguida o grau de branco permanece constante (a partir de 62 g/L), isto porque todo o peróxido de hidrogênio do meio já reagiu, com isso, mesmo aumentando a concentração de TAED o grau de branco será o mesmo.

#### **4.4.1 Planejamento fatorial 2<sup>3</sup> completo para avaliação da produção de ácido peracético.**

Neste planejamento avaliou-se a geração da concentração do ácido peracético, o qual foi o agente branqueador dessa etapa. O ácido peracético é formado pela reação entre o peróxido de hidrogênio e o ativador de peróxido TAED, na temperatura de 50 °C e pH de 7,5.

Logo, realizou-se a análise estatística a fim de se encontrar um modelo para prever a concentração de ácido peracético de acordo com as concentrações de peróxido de hidrogênio, concentração de TAED, com o tempo de reação e com as interações entre estes fatores.

Na Tabela 18 está apresentado o planejamento adotado com as variáveis codificadas e as respostas obtidas.

**Tabela 18** – Variáveis codificadas, reais e suas respectivas respostas do planejamento fatorial  $2^3$  completo para avaliar a formação de ácido peracético pela reação entre o peróxido de hidrogênio e o TAED. Condições: T = 50 °C e pH = 7,5.

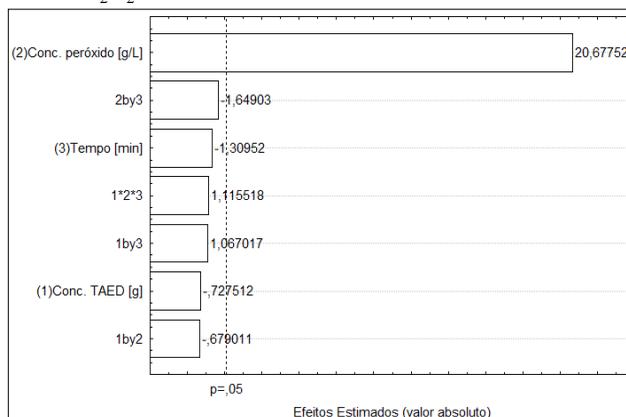
Conc. de peróxido de hidrogênio [g/L]	Conc. de TAED [g/L]	Tempo [min]	Conc. de ácido peracético [g/L]	Conc. de ácido peracético [g/L]	Conc. de ácido peracético [g/L]
-1 (0,382)	-1 (6,25)	-1 (30)	5,116	4,514	4,063
1 (0,771)	-1 (6,25)	-1 (30)	4,364	4,213	5,116
-1 (0,382)	1 (62,50)	-1 (30)	10,759	10,383	11,135
1 (0,771)	1 (6,25)	-1 (30)	10,458	9,179	9,856
-1 (0,382)	-1 (6,25)	1 (90)	4,966	4,289	4,740
1 (0,771)	-1 (6,25)	1 (90)	4,665	4,589	4,665
-1 (0,382)	1 (62,50)	1 (90)	10,157	8,502	9,631
1 (0,771)	1 (62,50)	1 (90)	10,383	9,856	8,653
0 (0,577)	0 (34,37)	0 (60)	8,803	7,524	9,405

Com a análise do planejamento fatorial foi possível verificar que o único fator significativo na geração do ácido peracético foi a concentração de peróxido de hidrogênio, para um modelo estatístico com um limite de confiança de 95%, como observado na Figura 53.

De acordo com os coeficientes estimados obtidos na análise estatística, propõe-se o modelo a seguir, considerando-se apenas a variável significativa:

$$\begin{aligned} \text{Concentração de ácido peracético } \left(\frac{g}{L}\right) & \\ &= -0,562 + 13,728[H_2O_2, g/L] \end{aligned} \quad (07)$$

**Figura 53** - Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre a geração de ácido peracético entre  $H_2O_2$  e TAED.



O modelo matemático empírico determinado pela Equação (07) para a concentração de ácido peracético foi validado pela análise de variância ANOVA, apresentada na Tabela 19. O coeficiente de relação obtido foi  $R^2 = 0,9501$ , indicando que o modelo consegue explicar 95,01 % da variação total em torno da média.

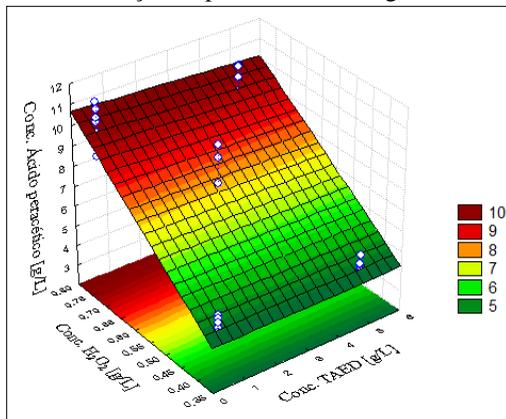
**Tabela 19** – Análise de variância dos valores da concentração de  $H_2O_2$ .

$R^2 = 0,9501$ ; Ajuste= 0,93172					
MS Erro puro = 0,401					
	SS	GL	MS	F	P
Conc. TAED [g/L] (1)	0,212	1	0,212	0,529	0,476
Conc. de $H_2O_2$ [g/L] (2)	171,493	1	171,493	427,560	0,000
Tempo [min] (3)	0,688	1	0,688	1,715	0,207
Iteração 1 e 2	0,185	1	0,185	0,461	0,506
Iteração 1 e 3	0,457	1	0,457	1,139	0,300
Iteração 2 e 3	1,091	1	1,091	2,719	0,116
Iteração 1*2*3	0,499	1	0,499	1,244	0,279
Falta de ajuste	1,952	1	1,952	4,866	0,041
Erro puro	7,220	18	0,401		
Total SS	183,796	26			

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

A superfície de resposta gerada pelo modelo, para a variável significativa, pode ser observada na Figura 54, onde observa-se que quanto maior a concentração de  $H_2O_2$ , maior a concentração de ácido peracético, já a concentração de TAED mostrou-se não significativa para o processo.

**Figura 54** - Superfície de resposta para a concentração de ácido peracético em função da concentração de peróxido de hidrogênio e a de TAED.



#### 4.4.2 Planejamento composto central para avaliação do branqueamento no processo de bioalveamento com ácido peracético.

Realizou-se a análise estatística a fim de se encontrar um modelo estatístico para obter as condições ótimas do processo que possibilitem um tecido com o maior grau de branco. Este modelo avalia a concentração de ácido peracético, o tempo e a temperatura de branqueamento.

Na Tabela 20 está apresentado o planejamento adotado com as variáveis codificadas e as respostas obtidas.

Com a análise do planejamento composto central foi possível verificar (ignorando os efeitos não significativos) que a concentração de ácido peracético, a temperatura e o tempo como variáveis principais interferiram significativamente no branqueamento, para um modelo estatístico com um limite de confiança de 95%, como é observado na Figura 55.

A ação exclusiva do ácido peracético, da temperatura e do tempo age em favor de um branqueamento maior, sendo que a concentração de

ácido peracético é o que apresenta o maior efeito no processo, seguido pela temperatura e o tempo.

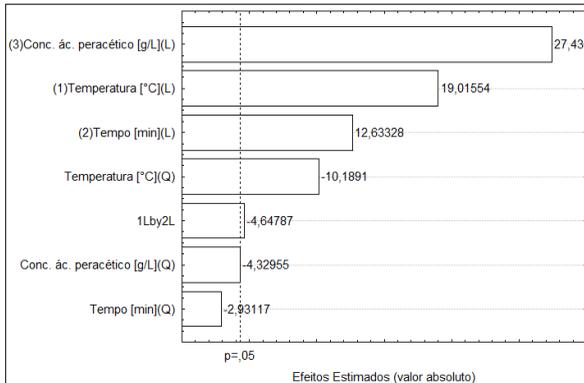
**Tabela 20** – Variáveis codificadas e suas respectivas respostas do planejamento composto central para avaliar a etapa de branqueamento, no processo de alvejamento com ácido peracético.

Temperatura [°C]	Tempo [min]	Conc. Ácido peracético [g/L]	°Berger
-1,00 (70)	-1,00 (15)	-1,00 (4,565)	39,00
-1,00 (70)	-1,00 (15)	1,00 (10,759)	45,16
-1,00 (70)	1,00 (45)	-1,00 (4,565)	46,57
-1,00 (70)	1,00 (45)	1,00 (10,759)	50,02
1,00 (100)	-1,00 (15)	-1,00 (4,565)	46,65
1,00 (100)	-1,00 (15)	1,00 (10,759)	54,19
1,00 (100)	1,00 (45)	-1,00 (4,565)	50,73
1,00 (100)	1,00 (45)	1,00 (10,759)	54,77
-1,68 (59,8)	0,00 (30)	0,00 (7,662)	39,78
1,68 (110,2)	0,00 (30)	0,00 (7,662)	49,19
0,00 (85)	-1,68 (4,8)	0,00 (7,662)	44,97
0,00 (85)	1,68 (55,2)	0,00 (7,662)	51,20
0,00 (85)	0,00 (30)	-1,68 (2,459)	35,86
0,00 (85)	0,00 (30)	1,68 (12,865)	58,90
0,00 (85)	0,00 (30)	0,00 (7,662)	51,46
0,00 (85)	0,00 (30)	0,00 (7,662)	50,29
0,00(85)	0,00 (30)	0,00 (7,662)	50,69

De acordo com os coeficientes estimados na análise estatística, propõe-se o modelo a seguir, considerando-se apenas as variáveis significativas:

$$\begin{aligned}
 \text{°Berger} = & -57,259 + 1,698[\text{Temperatura}, \text{°C}] \\
 & - 0,008[\text{Temperatura}, \text{°C}]^2 + 0,640[\text{Tempo}, \text{min}] \\
 & - 0,002[\text{Tempo}, \text{min}]^2 \\
 & + 2,635[\text{ácido peracético}, \text{g/L}] \\
 & - 0,079[\text{ácido peracético}, \text{g/L}]^2 \\
 & - 0,004[\text{Temperatura}, \text{°C}][\text{Tempo}, \text{min}]
 \end{aligned} \tag{08}$$

**Figura 55** - Gráfico de Pareto dos efeitos estimados sobre o branqueamento, utilizando como agente branqueador o ácido peracético.



O modelo matemático empírico determinado pela Equação (08) para o grau de branco foi validado pela análise de variância ANOVA, apresentada na Tabela 21. O coeficiente de relação obtido foi  $R^2=0,8616$ , indicando que o modelo consegue explicar 86,16 % da variação total em torno da média. Justifica-se o baixo valor do coeficiente de relação, uma vez que este planejamento foi baseado em outros dois modelos estatísticos para determinação da concentração de peróxido de hidrogênio e para a concentração de ácido peracético, o que pode ocasionar variações.

**Tabela 21** – Análise de variância para o processo de bioalveamento utilizando ácido peracético como agente branqueador.

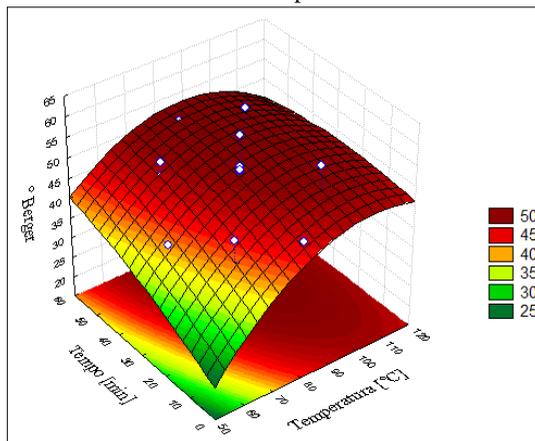
<b><math>R^2 = 0,8616</math>; Ajuste= 0,754</b>					
<b>MS Erro puro = 0,349</b>					
	SS	GL	MS	F	P
<b>(1)Temperatura [°C] (L)</b>	126,317	1	126,317	361,591	0,003
<b>Temperatura [°C] (Q)</b>	36,267	1	36,267	103,817	0,009
<b>(2)Tempo [min] (L)</b>	55,754	1	55,754	159,599	0,006
<b>Tempo [min] (Q)</b>	3,001	1	3,001	8,592	0,099
<b>(3)Conc. Ácido peracético [g/L] (L)</b>	262,876	1	262,875	752,499	0,001
<b>Conc. Ácido peracético [g/L] (Q)</b>	6,548	1	6,548	18,745	0,049
<b>Iteração 1 (L) e 2 (L)</b>	7,547	1	7,547	21,603	0,043
<b>Falta de ajuste</b>	77,751	7	11,107	31,795	0,031

<b>Erro puro</b>	0,699	2	0,349
<b>Total SS</b>	566,837	16	

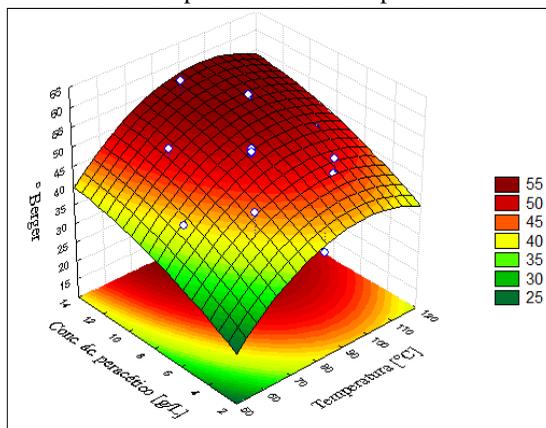
\* SS = Soma dos quadrados mínimos; GL = Graus de liberdade; MS = (SS/GL)

As superfícies de resposta geradas pelo modelo podem ser observadas na Figura 56 e na Figura 57.

**Figura 56** - Superfície de resposta para o °Berger em função da temperatura e do tempo.



**Figura 57** - Superfície de resposta para o °Berger em função da concentração de ácido peracético e da temperatura.



Pelas figuras nota-se que quanto maior o tempo e a temperatura, maior o grau de branco obtido, o mesmo acontece para a concentração de ácido peracético e a temperatura.

#### 4.4.3 Condição ótima do processo de branqueamento utilizando ácido peracético como agente branqueador

Os valores críticos estão apresentados na tabela a seguir.

**Tabela 22** – Valores críticos para o processo de branqueamento utilizando o ácido peracético como agente branqueador.

Fator	Mínimo observado	Valor crítico	Máximo observado
Temperatura [°C]	60,0	91,40	110,20
Tempo [min]	5,0	53,24	55,20
Conc. ác. peracético [g/L]	2,46	16,58	12,86

Os dados apresentados no valor crítico indicam as condições do processo para obter o maior °Berger, segundo o modelo estatístico encontrado. Nessas condições o maior °Berger que se pode encontrar é de 59,21. Na prática, obtiveram-se tecidos com  $60 \pm 1$ °Berger.

A Figura 58 apresenta esquematicamente todo o processo de bioalvejamento utilizando ácido peracético como agente branqueador.



Como o ácido peracético é da família dos peróxidos, a etapa de degradação de peróxido residual com a enzima catalase foi mantida, reduzindo por completo a presença deste no meio.

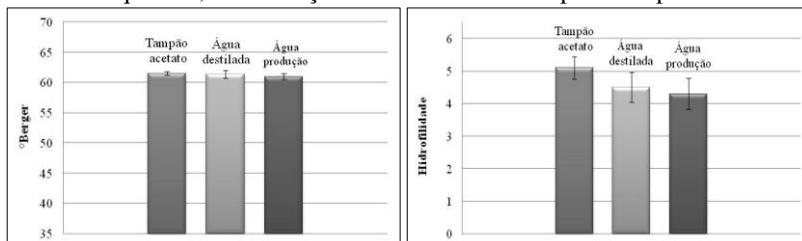
Este processo apresentou um grau de branco maior que o primeiro bioprocessamento proposto, utilizando o  $H_2O_2$  como agente branqueador, sendo mais indicado para o tingimento com cores claras.

#### 4.5 SUBSTITUIÇÃO DO TAMPÃO ACETATO 0,05 M POR ÁGUA.

Visto que o uso de tampão no processo industrial pode se tornar um transtorno, além de aumentar os custos de processo, optou-se por avaliar o uso de água destilada e a água de produção. Na Figura a seguir são apresentados os resultados para o grau de branco e para a hidrofiliidade. O processo foi realizado para a condição ótima utilizando o ácido peracético como agente branqueador.

**Figura 59** – Dados de grau de branco e hidrofiliidade para amostras bioalvejadas utilizando água destilada e água de produção em substituição ao tampão acetato.

Processo de bioalvejamento utilizando ácido peracético como agente branqueador, nas condições ótimas encontradas para este processo.



Nota-se que a diferença entre os processos para o grau de branco utilizando água destilada ( $61,37 \pm 0,67$ ) ou água da produção ( $60,92 \pm 0,5$ ) não diferiu consideravelmente entre si, nem com a amostra utilizando o tampão acetato, o qual resultou em grau de branco de  $61,5 \pm 0,3$ . Já em relação à hidrofiliidade há uma diminuição quando comparado ao processo utilizando tampão, tanto para as amostras tratadas com água destilada, quanto para as tratadas com água da produção, baixando de 5,1 aproximadamente, para 4,5 e 4,3, respectivamente. No processo utilizando o tampão há um controle maior do pH durante a reação, quando é substituído por água, essa variação do pH aumenta e com isso a ação das enzimas no meio variam. A hidrofiliidade está relacionada

com a limpeza adequada dos fios do tecido de algodão, sendo a enzima pectinase a responsável pela retirada da pectina e com isso possibilitar o aumento da hidrofiliidade. A variação de pH pode ter interferido na atuação da pectinase e com isso a hidrofiliidade neste caso foi menor.

No entanto, considerando a dificuldade em se trabalhar em uma linha de produção com tampão e o erro experimental associado, concluiu-se que o processo pode ser realizado tanto com água destilada (em laboratório) quanto com a água de produção (industrialmente), já que a perda de hidrofiliidade não é considerável a ponto de invalidar o processo.

#### 4.6 SUBSTITUIÇÃO DA ENZIMA GLICOSE OXIDASE P.A PELA ENZIMA GLICOSE OXIDASE COMERCIAL

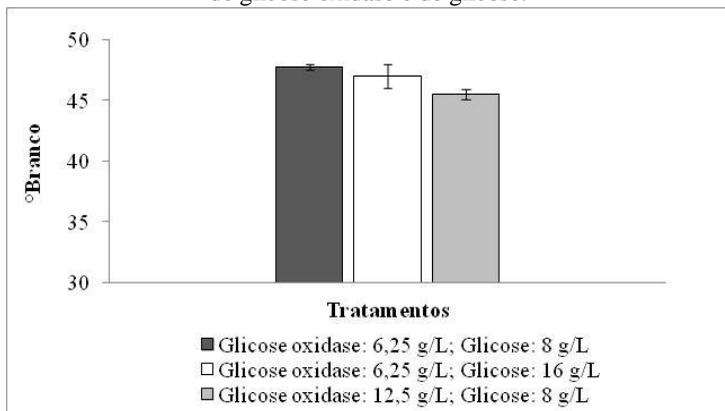
Visando a diminuição dos custos de processo, optou-se por substituir a enzima ultrapura pela enzima comercial. Por se tratar de uma enzima diluída em amido de milho utilizou-se a enzima em relação a sua massa e não em relação a sua atividade enzimática.

Os processos foram realizados utilizando água destilada em substituição ao tampão acetato.

##### **4.6.1 Determinação da concentração de glicose oxidase e de glicose para o processo de bioalvejamento utilizando peróxido de hidrogênio como agente branqueador.**

Avaliou-se a concentração de glicose e de enzima glicose oxidase para realizar o processo de bioalvejamento, a fim de obter-se o mesmo grau de branco que havia sido obtido com a enzima ultrapura, isto é  $52 \pm 1$ . Avaliou-se a concentração de glicose oxidase de 6,25 e 12,5 g/L e a concentração de glicose de 8 e 16 g/L. Observa-se pela figura a seguir, que a diferença entre os processos com a mesma concentração de enzima e o dobro de glicose não se diferenciaram consideravelmente levando em conta o desvio padrão. Já para o caso de um aumento de enzima para 12,5 g/L com a glicose de 8 g/L diminuiu consideravelmente o grau de branco. Portanto, a condição adotada foi de 6,25 g/L de glicose oxidase e de 8 g/L de glicose, a qual possibilitou um grau de branco de  $47,72 \pm 0,65$ .

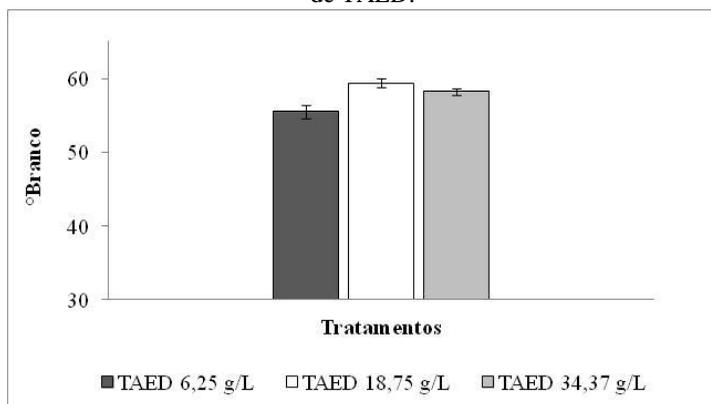
**Figura 60** – Grau de branco obtido para o processo de bioalveamento com peróxido de hidrogênio utilizando a enzima comercial. Estudo da concentração de glicose oxidase e de glicose.



#### 4.6.2 Determinação da concentração de TAED para o processo de bioalveamento utilizando ácido peracético como agente branqueador.

Para o processo de bioalveamento utilizando o ácido peracético como agente branqueador, avaliou-se a concentração de TAED adicionada ao banho, a fim de obter o mesmo grau de branco de quando utilizado a enzima ultrapura no processo. A concentração de glicose oxidase, 6,25 g/L e de glicose, 8 g/L de, foram mantidas constante, variou-se a concentração de TAED em 6,25 g/L, 18,75 g/L e 34,37 g/L. Pela Figura 61, percebe-se que o resultado mais baixo ocorreu para a menor concentração de TAED, para as outras duas, manteve-se próximo o grau de branco. Portanto, a concentração estabelecida foi de 18,75 g/L (1,5 g de TAED para 80 mL de banho), o qual possibilitou um grau de branco de  $59,3 \pm 0,7$  °Berger.

**Figura 61** - Grau de branco obtido para o processo de bioalvejamento com peróxido de hidrogênio utilizando a enzima comercial. Estudo da concentração de TAED.



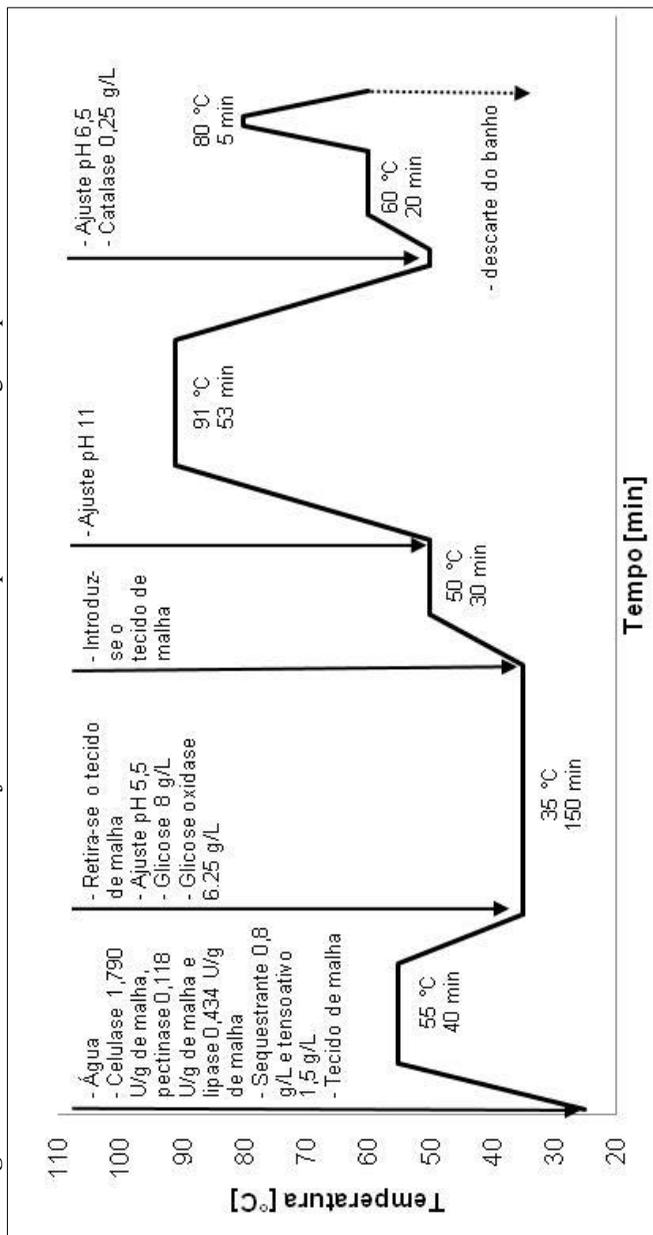
#### 4.6.3 Ajuste do tempo de processo

Substituindo as concentrações de glicose oxidase, de glicose e de TAED encontradas, no procedimento obtido para a condição ótima de cada processo de bioalvejamento, obtém-se os procedimentos apresentados na Figura 62 e na Figura 63.

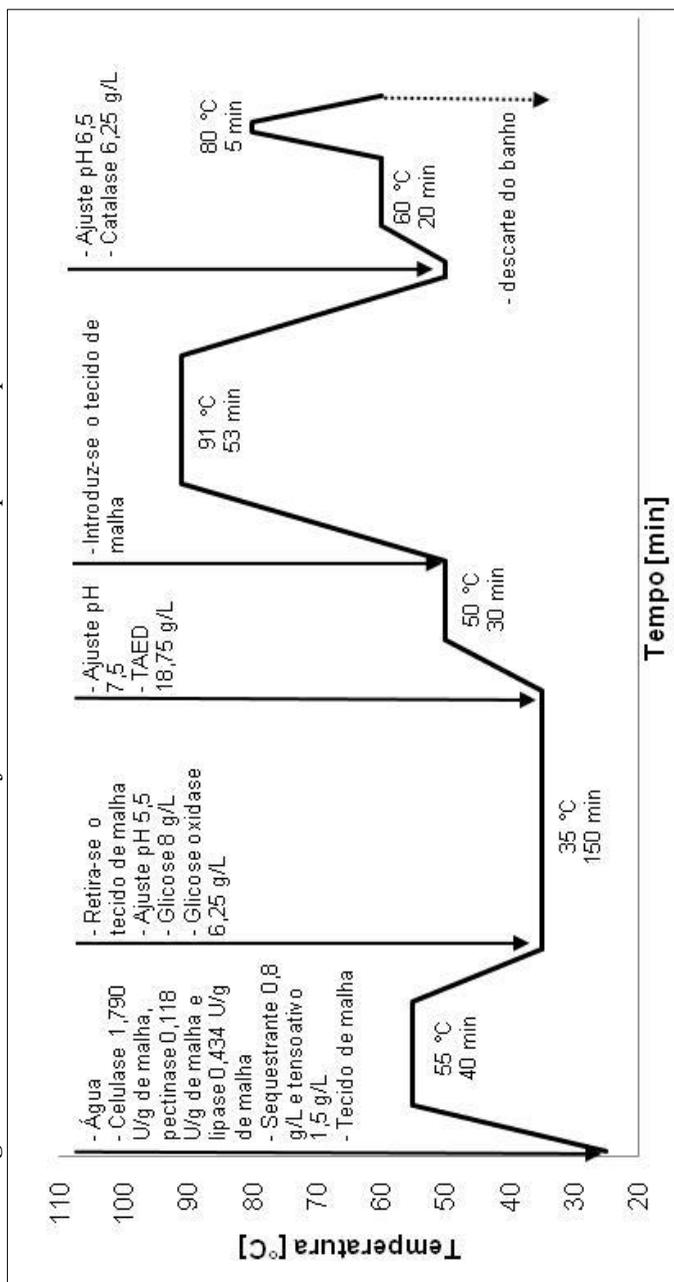
Visto que o processo total de bioalvejamento tornou-se um tanto longo, foi avaliada a diminuição dos tempos em algumas etapas do processo, visando à diminuição do tempo total de operação.

As condições adotadas foram as que resultaram no mesmo grau de branco ( $47 \pm 1$  – para o processo utilizando  $H_2O_2$  e  $59 \pm 1$  – para o processo utilizando ácido peracético) e mesma hidrofiliabilidade (5,1 cm em 10 min para ambos os bioprocessos) que se vinha obtendo para esses processos com essa enzima. Com os ajustes, foi possível reduzir o tempo de geração de peróxido de hidrogênio de 150 min para 90 min e a etapa de branqueamento também foi reduzida de 53 min para 30 min. Com isso, houve uma diminuição do tempo total do processo passando de 6 h para 4 h aproximadamente. A Figura 64 apresenta o processo de forma geral, tanto para o processo de bioalvejamento com peróxido de hidrogênio, quanto para o processo com ácido peracético, já que as condições do processo se tornaram as mesmas para os dois casos.

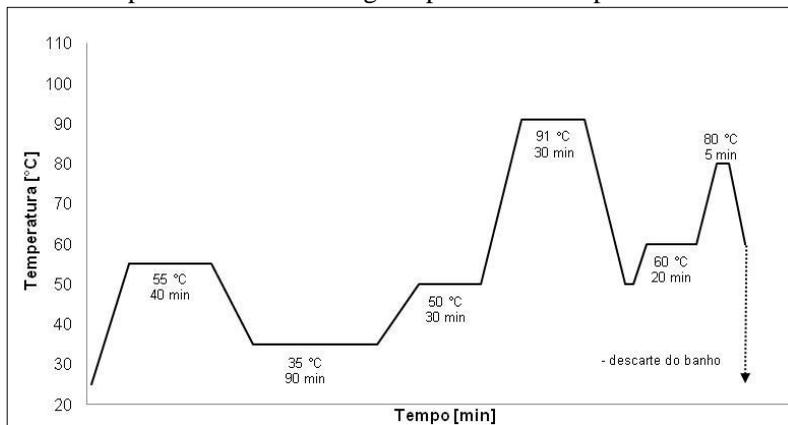
**Figura 62** – Procedimento de bioalvejamento utilizando peróxido de hidrogênio para a enzima comercial.



**Figura 63** – Procedimento de bioalvejamento utilizando ácido peracético para a enzima comercial.



**Figura 64** – Condições do processo de bioalvejamento ajustados, apresentado de forma geral para ambos os processos.



Ressalta-se que para todos os bioprocessos apresentados não foi utilizado aeração no meio, com isso, o valor de grau de branco pode ser maximizado com a implementação da aeração no sistema. Saravan e colaboradores (2010) avaliaram o branqueamento de tecidos de algodão com peróxido de hidrogênio gerado enzimaticamente e observaram um aumento no grau de branco quando as amostras foram tratadas com aeração. Amostras sem aeração apresentaram grau de branco de 26,66, enquanto que para o processo aerado foi de 34,02 (o tecido cru apresentava grau de branco de 29,06).

#### 4.6.4 Tingimento

O tingimento foi realizado para ambos os processos (com peróxido de hidrogênio e com ácido peracético) para uma tricromia resultando em uma cor clara e uma tricromia resultando em uma cor média. Os tingimentos foram realizados para os processos utilizando a enzima comercial, efetuando um enxágue ao fim do bioalvejamento para iniciar o tingimento.

Foram tingidas as amostras tratadas, uma amostra do tecido tratado pelo alvejamento convencional em laboratório e uma amostra do tecido tratado pelo alvejamento convencional feito pela empresa. Avaliou-se a diferença da cor de tingimento comparando-se ao tecido alvejado pela empresa e analisou-se também a solidez apresentada de cada amostra.

#### 4.6.4.1 Tingimento cor clara.

O tingimento para a cor clara foi realizado utilizando os corantes Amarelo Drimaren CL-2R, Azul Drimaren HF-RL e Vermelho Drimaren HF-4B. A Tabela 23 apresenta os parâmetros para escala de cor CIELAB para as amostras tratadas.

Valores maiores de  $\Delta E_{\text{cmc}}$  indicam um maior desbotamento ou escurecimento da cor do tecido com relação ao padrão. A luminosidade do tecido é representada pelo parâmetro  $L^*$ , que pode variar de 0 a 100. Valores próximos de zero representam a tendência para a cor preta e valores mais próximos de 100 representam a tendência para a cor branca. Nesse caso pode-se observar que houve uma diminuição da luminosidade de cor de  $92,12 \pm 0,184$ , para  $90,64 \pm 0,085$  (processo com  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e para  $91,27 \pm 0,198$  (processo com ácido peracético), indicando que houve um escurecimento do tecido em relação ao padrão.

O parâmetro  $a^*$  representa a alteração de cor no eixo vermelho/verde, valores de  $a^* > 0$  indicam uma tendência para o vermelho, enquanto que valores de  $a^* < 0$  indicam tendência para o verde, pode-se observar que o tecido ganhou uma tendência ao verde, quando comparado ao padrão, que era  $-0,09$  para  $-0,22 \pm 0,028$  para o processo com  $\text{H}_2\text{O}_2$  e, uma tendência ao vermelho para o processo com ácido peracético, o qual teve para este parâmetro o valor de  $0,04 \pm 0,042$ .

O parâmetro  $b^*$ , que também foi analisado nesse trabalho, representa o eixo amarelo/azul, valores de  $b^* > 0$  indicam que as amostras tendem para o amarelo e valores de  $b^* < 0$ , indicam que as amostras tendem para o azul. Os valores apresentados mostram, em relação ao padrão, que as amostras tendem para o amarelo, uma vez que o alveijamento convencional deixou o tecido mais branco que o bioalveijamento.

O  $\Delta E_{\text{cmc}}$  apresentou-se com variações consideráveis quando comparado ao padrão. Considera-se que houve pouca variação quando esta diferença é  $< 1$ , acima disso é considerável, e quanto maior, maior é a diferença entre o padrão e a amostra. Para o processo com  $\text{H}_2\text{O}_2$  o  $\Delta E_{\text{cmc}}$  foi de  $2,62 \pm 0,113$ , maior que o segundo processo, que foi de  $1,13 \pm 0,240$ . Como no primeiro processo o grau de branco obtido do tecido foi baixo em relação ao padrão, isso reflete no  $\Delta E_{\text{cmc}}$  medido, uma vez que pelo tecido estar mais escuro que o padrão, a cor tingida também ficará um pouco mais escura. Já para o segundo processo, o qual obteve um grau de branco melhor, a diferença no  $\Delta E_{\text{cmc}}$  ficou mais baixa, pois a cor tingida se aproxima mais da cor padrão.

**Tabela 23** – Parâmetros do sistema Cielab para o tingimento de cor clara.

Tratamentos	L*	a*	b*	$\Delta E_{cmc}$
Alveijamento convencional pela empresa (Padrão)	92,12 ± 0,184	-0,09 ± 0,057	4,93 ± 0,410	-
Bioalveijamento com peróxido de hidrogênio	90,64 ± 0,085	-0,22 ± 0,028	7,06 ± 0,078	2,62 ± 0,113
Bioalveijamento com ácido peracético	91,27 ± 0,198	0,04 ± 0,042	5,62 ± 0,141	1,13 ± 0,240

Para o tingimento de cores claras não se aplicam os testes de solidez.

#### 4.6.4.2 Tingimento cor média.

O tingimento para a cor média foi realizado utilizando os corantes Amarelo Drimaren CL-2R, Azul Drimaren HF-RL e Vermelho Drimaren HF-4B. A Tabela 24 apresenta os parâmetros Cielab para as amostras tratadas.

Quanto a luminosidade do tecido, neste caso pode-se observar que houve uma diminuição da luminosidade de cor de  $73,90 \pm 0,502$ , para  $72,39 \pm 0,558$  (processo com  $H_2O_2$ ) e no segundo caso para  $73,21 \pm 0,53$  (processo com ácido peracético).

Para o parâmetro  $a^*$  pode-se observar que para o processo com  $H_2O_2$  o tecido ganhou uma tendência ao vermelho, pois teve o valor medido em  $23,35 \pm 0,36$ , quando comparado ao padrão que era  $22,84 \pm 0,67$ . Já para o segundo processo o tecido tende para o verde, pois o valor medido  $22,69 \pm 0,33$ , ficou abaixo do valor do padrão.

Para o parâmetro  $b^*$ , os valores apresentados mostram, em relação ao padrão, que as amostras tendem para o amarelo, uma vez que o alveijamento convencional deixou o tecido mais branco que o bioalveijamento.

O  $\Delta E_{cmc}$  para o processo com  $H_2O_2$  foi de  $1,76 \pm 0,54$ , e para o processo com ácido peracético foi de  $0,85 \pm 0,39$ . O tingimento para a cor média apresentou-se melhor do que para a cor clara. Estes mesmos tecidos foram avaliados pelo laboratório da empresa parceira e os resultados estão descritos na etapa da escala piloto.

**Tabela 24** – Parâmetros do sistema Cielab para o tingimento de cor média.

Tratamentos	L*	a*	b*	$\Delta E_{cmc}$
Alvejamento convencional pela empresa (Padrão)	73,90 ± 0,502	22,84 ± 0,67	2,66 ± 0,39	-
Bioalvejamento com peróxido de hidrogênio	72,39 ± 0,558	23,35 ± 0,36	3,37 ± 0,078	1,76 ± 0,54
Bioalvejamento com ácido peracético	73,21 ± 0,53	22,69 ± 0,33	2,99 ± 0,06	0,85 ± 0,39

Eren et al. (2009), realizou o pré-tratamento utilizando o peróxido de hidrogênio gerado enzimaticamente e posteriormente realizou o tingimento em mesmo banho. Os corantes avaliados foram o amarelo reativo 138:1, o vermelho reativo 231 e o azul escuro reativo (sem identificação do número), para as concentrações de 0,030%, 0,125% e 0,250% (em relação à massa de tecido). Os autores obtiveram amostras com valores de  $\Delta E_{cmc} < 1$ , com exceção das cores amarelo 0,03% e vermelho 0,250%, que apresentaram  $\Delta E_{cmc}$  de 1,11 e 1,15, respectivamente.

Os testes de solidez à lavagem CO (algodão) e PA (poliacrilamida) apresentaram bons resultados, ficando com nota 4,5 para ambas as análises, de uma escala até 5, indicando que o corante foi bem fixado à fibra de algodão.

#### 4.7 TESTES DE TOXICIDADE, DBO E DQO PARA OS BIOPROCESSOS PROPOSTOS

##### 4.7.1 Avaliação Toxicológica

Os efluentes gerados nos processos de bioalvejamento e alvejamento convencional foram avaliados em relação as suas toxicidades ao lançá-los em um corpo receptor, rio, por exemplo. O padrão foi a amostra do efluente gerado durante todo o processo de alvejamento na indústria, incluindo as etapas de enxágues, neutralização da soda cáustica e neutralização do peróxido de hidrogênio. As amostras avaliadas foram do processo de bioalvejamento com peróxido de hidrogênio como agente branqueador e do processo utilizando ácido peracético como agente branqueador. Para os processos os procedimentos seguidos foram o descrito esquematicamente na Figura

50 e na Figura 58. Este teste foi avaliado apenas para os processos utilizando a enzima glicose oxidase comercial.

Ressalta-se que todo o processo de alveijamento convencional incluindo as etapas de enxágues, neutralização da soda cáustica e neutralização do peróxido de hidrogênio, deixam esse efluente diluído quatro vezes mais que as amostras do bioalveijamento. Pois nos processos de bioalveijamento não há a necessidade de realizar as etapas de enxágues e neutralização da soda, já a neutralização do peróxido é realizada no mesmo banho do branqueamento, não havendo a necessidade de trocá-lo. Portanto, nos processos de bioalveijamento o efluente gerado possui um volume de 80 mL, já para o processo convencional, o volume gerado de efluente foi de 400 mL. Os resultados foram tratados levando-se em consideração essa diluição inicial de 4 vezes da amostra padrão, isto é, uma concentração inicial de 25%.

A Tabela 25 apresenta a concentração do efluente e o número de organismos vivos para cada amostra.

Foi encontrada a concentração letal mediana da amostra que causa efeito agudo a 50 % dos organismos no tempo de exposição, nas condições de ensaio ( $CL_{50}$ ), a qual está apresentada na Tabela 26, juntamente com os intervalos de confiança, para as amostras padrão, tratadas com peróxido de hidrogênio e tratadas com ácido peracético.

**Tabela 25** – Número de organismos vivos, condutividade, oxigênio dissolvido e pH para as amostras avaliadas para a toxicidade aguda com *Daphnia magna*.

Amostra	Concentração %	FD	Nº de organismos vivos	Cond. [2 ms]	O <sub>2</sub> diss. [mg/L]	pH
Padrão	25	4	0	-	-	-
	12,5	8	0	0,759	57,2	9,38
	6,25	16	0	0,652	57,2	9,0
	1,25	80	4	0,589	57,2	8,28
	1,25		5			
	1,25		3			
	1,25	80	5	0,579	56,5	7,94
	0,25	400	5			
	0,25		5			
	0,25		5			
0,25	5					
0,125	800	5	0,572	56,6	7,85	
0,125		5				
0,125		5				
0,125		5				
Bioalv. com Peróxido de hidrogênio	50	2	0	0,594	57,2	7,45
	25	4	0	0,313	57,3	7,57
	5	20	0	1,042	57,0	7,86
	1	100	4	0,667	57,4	8,01
	1		5			
	1		4			
	1		4			
	0,5	200	5	0,643	56,5	7,84
0,5	5					
0,5	4					
0,5	4					
Bioalv. com Ácido peracético	50	2	0	-	56,9	4,4
	25	4	0	1,895	55,8	4,37
	5	20	0	0,851	55,7	4,95
	1	100	5	0,624	55,3	7,43
	1		5			
	1		4			
	1		4			
	0,5	200	5	0,589	56,5	7,57
0,5	5					
0,5	5					
0,5	5					

\*FD = Fator de diluição

**Tabela 26** – Valores de CL<sub>50</sub> 48 horas dos efluentes do alvejamento padrão, do bioalvejamento com peróxido de hidrogênio, do bioalvejamento com ácido peracético e respectivos intervalos de confiança (IC- 95%), para o cladócero *Daphnia magna*, em testes de toxicidade aguda.

Amostra	CL <sub>50</sub> (%)	Intervalo de Confiança (IC-95%)
Padrão	3,24	3,12 – 3,38
Peróxido de hidrogênio	2,57	2,55 – 2,58
Ácido peracético	2,76	2,73 – 2,79

De acordo com os resultados, observou-se que a espécie exótica *Daphnia magna* foi mais sensível a amostra para o tratamento com peróxido de hidrogênio, já que em uma concentração de 2,57% causa efeito agudo a 50 % dos organismos. Já para a amostra padrão em uma concentração de 3,24% causa efeito agudo a 50 % dos organismos. Os processos enzimáticos mostraram-se com uma toxicidade maior, já que é necessária uma concentração menor para que ocorra o efeito agudo para 50 % dos organismos. Porém, na prática, essas concentrações de CL<sub>50</sub> encontradas não apresentam grande diferença entre si, se considerada a variação na composição dos efluentes têxteis.

Uma das causas para uma toxicidade maior dos processos enzimáticos está relacionado ao pH do meio. A *Daphnia magna* possui uma faixa de pH para o seu meio de 7,6 a 8,0 e a amostra padrão após a diluição com o meio do organismo foi a que ficou mais próximo dessa faixa. Já para os processos enzimáticos a faixa de pH após a diluição com o meio ficou abaixo da ideal para o organismo. Seria necessário uma neutralização do pH antes do descarte do meio reacional para os processos enzimáticos, em exemplo do que é feito para o processo convencional.

Outro fator que influencia é a condutividade do meio, visto que entre os processos enzimáticos a amostra do tratamento com peróxido de hidrogênio apresentou uma condutividade maior do que a encontrada para o processo com ácido peracético. No entanto, diferentes causas da variabilidade na sensibilidade de espécies para um determinado poluente incluem características fisiológicas dos animais selecionados (estado de nutrição, sexo, estágio no ciclo de vida), as condições de cultura (temperatura, alimentação, fotoperíodo e dureza da água) e também propriedades das substâncias utilizadas nos ensaios (degradabilidade,

solubilidade e pureza) (COWGILL, 1987; RAND, 1995 *apud* MANSANO et al. 2012).

#### 4.7.1 Avaliação da Demanda Química de Oxigênio (DQO) e da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)

Avaliaram-se para os bioprocessos desenvolvidos os parâmetros ambientais DQO e DBO em comparação ao processo convencional. Nessa análise foi considerado apenas o banho de alveijamento (convencional) e não com os enxágues, como aconteceu para o item anterior. Ressalta-se que esta análise foi realizada para o efluente (banho de tratamento) gerado nos processos de alveijamento e bioalveijamento, sem etapas seguintes como tingimento.

A Tabela 27 apresenta os dados obtidos para a enzima comercial.

**Tabela 27** – Dados de DQO e DBO para os bioprocessos propostos utilizando a enzima comercial e para o alveijamento convencional.

Amostra	DQO [mg O <sub>2</sub> /L]	DBO [mg O <sub>2</sub> /L]	DBO/DQO
Alveijamento convencional	6.673,0	207,9	0,03
Processo com peróxido de hidrogênio	11.366,0	199,4	0,02
Processo com ácido peracético	30.971,0	203,5	0,01

Quanto mais baixa a relação DBO/DQO mais difícil é o tratamento biológico, pois apresenta uma parcela maior de material não biodegradável.

Com o objetivo de verificar a influência da glicose oxidase comercial no banho de reação, foram realizados novos testes utilizando a enzima glicose oxidase ultrapura (Tabela 28).

A análise dos resultados foi realizada comparando cada processo enzimático com o seu respectivo padrão, isto é, os processos enzimáticos utilizando a enzima comercial foram avaliados comparando-se com o seu padrão e os processos utilizando a enzima ultrapura foram comparados com o seu padrão. E não, realizando-se a comparação entre os processos enzimáticos, pois foram realizados em dias diferentes e também o tempo de análise após o preparo foi diferente, este tempo influencia consideravelmente na DBO, pois está relacionada à parte biodegradável do meio.

**Tabela 28** – Dados de DQO e DBO para os bioprocessos propostos utilizando a enzima glicose oxidase ultrapura.

Amostra	Enzima glicose oxidase ultrapura		
	DQO [mg O <sub>2</sub> /L]	DBO [mg O <sub>2</sub> /L]	DBO/DQO
Alvejamento convencional	10.570,0	2,5	2,36.10 <sup>-4</sup>
Processo com peróxido de hidrogênio	5.553,2	4.884,0	0,88
Processo com ácido peracético	10.408,0	6.022,0	0,58

Realizando-se a comparação entre os processos da Tabela 27 para a DQO, observa-se um aumento de aproximadamente 41% para o processo com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em relação ao convencional e de 78% para o processo com ácido peracético. Já analisando este mesmo parâmetro na Tabela 28, onde se utilizou a enzima ultrapura, houve uma diminuição da DQO em cerca de 47% e o processo com ácido peracético quase não houve alteração quando comparado ao processo convencional. Como todo o processo foi realizado da mesma forma, alterando-se apenas a enzima, essa variação se deve à composição da enzima comercial, provavelmente pela alta presença de amido de milho, meio de diluição da enzima. Porém, outro fator que também influenciou para esse aumento foi a presença de resíduos de TAED ao final do processo com a enzima comercial, o que não foi observado para o processo utilizando a enzima ultrapura. Isso indica que o TAED pode estar em excesso no meio para o processo com a enzima comercial.

Em relação ao parâmetro DBO, avaliando a enzima comercial (Tabela 27), não houve grande variação entre os processos. Já para a enzima ultrapura (Tabela 28) houve um aumento para os bioprocessos quando comparado ao processo convencional. A presença de uma parte maior de material biodegradável faz com que a relação DBO/DQO seja mais alta e com isso, tem-se um efluente com menor dificuldade de tratamento biológico.

Spicka e Forte-Tavcer (2012) avaliaram os parâmetros DBO e DQO para o processo de alvejamento utilizando peróxido de hidrogênio gerado enzimaticamente pela glicose oxidase e utilizando o ativador TAED e obtiveram relações de DBO/DQO maiores para os processos enzimáticos quando comparado aos processos tradicionais.

Conclui-se, portanto, que a utilização da enzima comercial traz um aumento no custo do tratamento de efluente, pois possui uma relação DBO/DQO baixa, porém tem um valor agregado menor. Já a enzima

ultrapura propicia uma diminuição de custo no tratamento de efluente, contudo tem um valor agregado maior. Sendo assim, deve-se fazer um levantamento de custos para definir se a enzima mais apropriada seria a comercial ou a ultrapura.

#### 4.8 ESCALA PILOTO

Foram realizados dois testes de bioalvejamento da malha, o primeiro utilizando o peróxido de hidrogênio como agente branqueador, já o segundo, por meio de um ativador de peróxido de hidrogênio, utiliza-se o ácido peracético como agente branqueador. A enzima utilizada foi a glicose oxidase comercial. Os processos foram realizados utilizando o equipamento apresentado na Figura 34, com capacidade para 1 Kg de malha.

A Figura 65 apresenta uma imagem da malha durante a realização do teste em escala piloto.

**Figura 65** – Imagem da malha durante o processo em escala piloto



Ao final do processo de bioalvejamento retirou-se uma amostra da malha para avaliação e o restante seguiu-se para tingimento. O tecido tingido também foi avaliado.

#### 4.8.1 Processo de bioalveamento com peróxido de hidrogênio

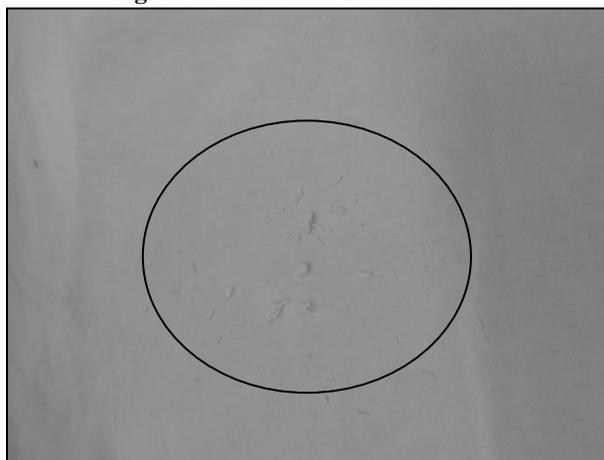
O processo de bioalveamento ocorreu conforme procedimento descrito na Figura 35. Os ajustes de pH foram realizados parando o processo e ajustando com uma solução de ácido acético ou hidróxido de sódio. A Tabela 29 apresenta os resultados obtidos, nota-se que o grau de alvura obtido foi um pouco menor do que o obtido em laboratório, sendo de 46 °Berger, enquanto que, em laboratório obteve-se em torno de 52 °Berger. A amostra tingida apresenta uma cor mais forte que a da amostra padrão em 2%, indicado pela força colorística.

Na Figura 66 percebe-se que houve a ação das enzimas celulase, pectinase e lipase, na primeira etapa do processo, pois houve a formação de pó (fibrilas de algodão). Porém, percebeu-se que o ajuste de pH é extremamente importante, uma variação do valor proporciona resultados ruins, com baixo valor de brancura.

**Tabela 29** – Resultados obtidos para o processo de bioalveamento utilizando peróxido de hidrogênio

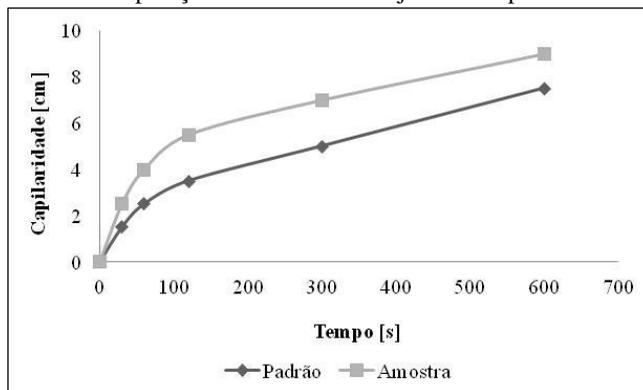
Identificação	Alvura	$\Delta E$	Força colorística	Solidez CO	Solidez PA
Padrão Industrial	62,53	0	100%	4,5	4,5
Amostra	46,2	0,84	102%	4,5	4,5

**Figura 66** – Resíduos na malha tratada



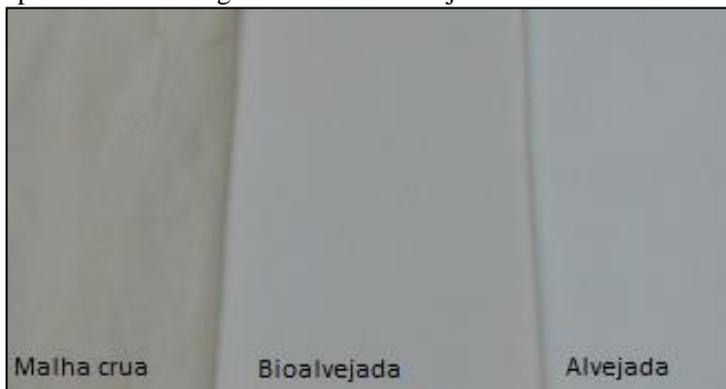
Em relação a hidrofiliidade, esta foi medida através da capilaridade, a Figura 67 apresenta os dados obtidos. Percebe-se que houve uma boa hidrofiliidade da amostra, superior ao padrão da indústria, indicando que as enzimas atuaram de maneira adequada no processo.

**Figura 67** - Capilaridade da malha tratada pelo processo de bioalveijamento em comparação com a malha alvejada da empresa.



A Figura 68 apresenta uma comparação entre os tratamentos, a malha crua, a malha bioalvejada e a malha alvejada convencionalmente. Nota-se uma melhora em relação a malha crua, porém não se igualou ao branqueamento convencional. Com isso, esse processo destina-se a cores médias e escuras, onde a alvura não influencia tanto na cor.

**Figura 68** – Comparação entre a malha crua, a malha bioalvejada com peróxido de hidrogênio e a malha alvejada convencionalmente.



Após o tingimento houve uma variação da cor em relação ao padrão, obtendo-se um  $\Delta E$  de 1,12, correspondendo a uma força colorística de 3%, isto é, 3% mais escura que o padrão. Já os testes de solidez também apresentaram bons resultados, para ambas as avaliações.

Os testes de solidez apresentaram resultados satisfatórios tanto para solidez ao algodão quanto para a poliacrilamida, notas de 4,5.

#### 4.8.2 Processo de bioalvejamento com ácido peracético

O processo de bioalvejamento ocorreu conforme procedimento descrito na Figura 36. Os ajustes de pH foram realizados parando o processo e ajustando com uma solução de ácido acético ou hidróxido de sódio. A Tabela 29 apresenta os resultados obtidos, nota-se que o grau de alvura foi menor do que o obtido em laboratório, sendo de 43,95 °Berger, quando que em laboratório obteve-se em torno de 61 °Berger. Conclui-se que não houve a formação de peróxido de hidrogênio na proporção que se esperava pelos testes de laboratório e com isso também não houve a formação do ácido peracético, responsável pelo branqueamento. Esse teste piloto não pode ser repetido pela falta do reagente TAED.

Observou-se a ação das enzimas da biopurga, uma vez que havia resíduo de fibrilas soltas sob o tecido ao final do processo.

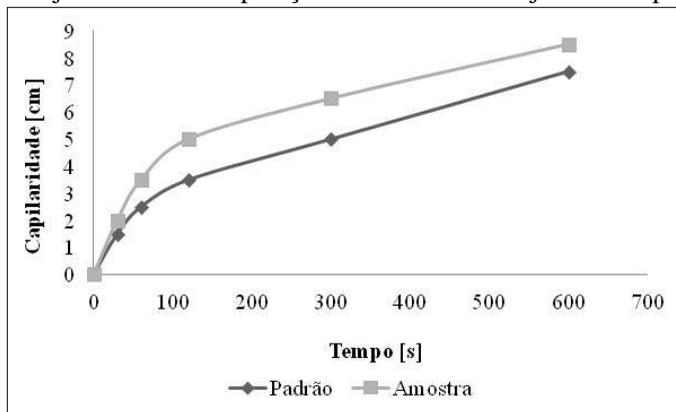
Após o tingimento houve uma variação da cor em relação ao padrão, obtendo-se um  $\Delta E$  de 1,12, correspondendo a uma força colorística de 3%, isto é, 3% mais escura que o padrão. Já os testes de solidez também apresentaram bons resultados, para ambas as avaliações.

**Tabela 30** – Resultados obtidos para o processo de bioalvejamento utilizando peróxido de hidrogênio

Identificação	Alvura	$\Delta E$	Força colorística	Solidez CO	Solidez PA
Padrão industrial	62,53	0	100%	4,5	4,5
Amostra	43,95	1,12	103%	4,5	4,5

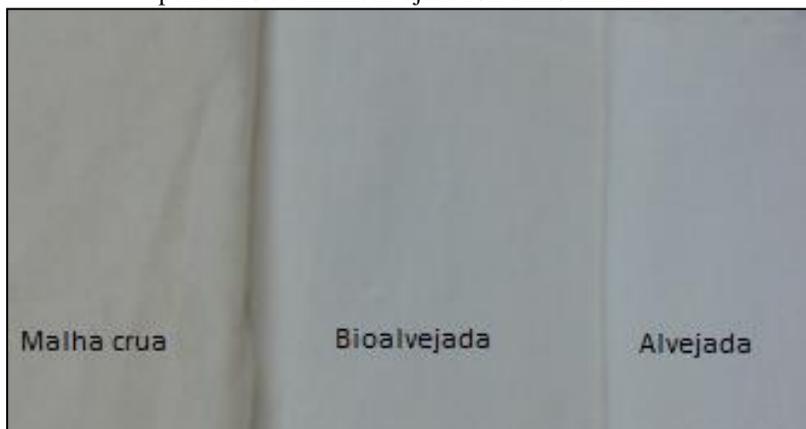
Quanto à hidrofiliidade, esta foi medida através da capilaridade, a Figura 69 apresenta os dados obtidos. Percebe-se que houve uma boa hidrofiliidade da amostra, superior ao padrão industrial.

**Figura 69** - Capilaridade da malha tratada pelo processo de bioalvejamento em comparação com a malha alvejada da empresa.



Na Figura 70 está apresentada uma comparação entre o tecido cru, o tecido bioalvejado e a malha alvejada convencionalmente. Observa-se que o tecido bioalvejado apresenta uma grande melhora em relação à malha crua, porém não alcançou a expectativa em ficar mais próximo da malha alvejada convencionalmente.

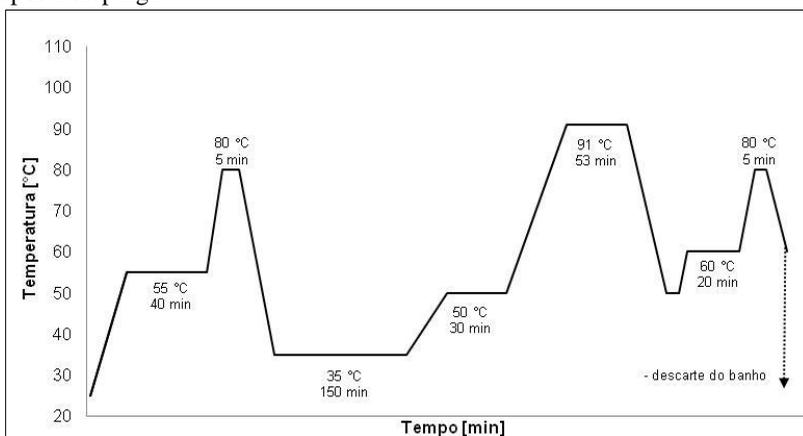
**Figura 70** - Comparação entre a malha crua, a malha bioalvejada com ácido peracético e a malha alvejada convencionalmente.



Na realização dos testes pilotos percebeu-se a formação excessiva de pó (fibrilas soltas), o que não foi possível observar nos testes em

laboratório. Uma parte desse pó se deve a agitação mais vigorosa da malha no equipamento piloto, porém grande parte se deve a ação das enzimas utilizadas na biopurga. Em virtude disso, foi inserida uma etapa de desativação das enzimas da biopurga ao final desse processo, pois como elas não foram desativadas continuaram atuando durante todo o bioalveijamento, gerando assim, um volume considerável de pó. O processo final está apresentado na Figura 71 de forma geral para ambos os bioprocessos.

**Figura 71** – Processo geral para os bioprocessos com a desativação das enzimas após a biopurga.



### 4.8.3 Processo de bioalveijamento realizado em laboratório

Em virtude de os processos em escala piloto não terem alcançado os objetivos desejados, optou-se por realizar os processos em laboratório, seguindo-se os mesmos procedimentos descritos aqui e aplicados na escala piloto. Tendo como objetivo a avaliação do grau de branco, da cor após tingimento e da solidez. Os tingimentos foram realizados conforme a Tabela 9. A Tabela 31 apresenta os resultados obtidos para as malhas tingidas com a cor clara, bege e a Tabela 32 apresenta os resultados para as malhas tingidas com a cor média, vermelho. O padrão foi a malha alvejada convencionalmente e tingida da mesma forma que as demais amostras. A avaliação do  $\text{°Berger}$  foi realizada pelo LABMASSA e as demais análises foram realizadas pelo laboratório químico da Malwee.

Percebe-se pelos resultados que o grau de branco ( $^{\circ}$ Berger) foi melhor que o obtido em escala piloto, isto porque, o controle do processo em escala laboratorial é muito maior que em um processo em escala maior, ressaltando a importância do ajuste de pH corretamente.

Para a cor clara, ambos os processos apresentaram um  $\Delta E < 1$ , indicando que as amostras estão mais próximas da amostra padrão, para o primeiro processo com peróxido de hidrogênio obteve-se um  $\Delta E$  de 0,86 e para o segundo processo um  $\Delta E$  de 0,69.

Em relação a força colorística, a cor da amostra tingida pelo primeiro processo apresenta uma cor mais forte que a da amostra padrão em 4,37%, enquanto que para o segundo processo a amostra ficou 2,69% mais escura. Isto porque, o grau de branco das amostras é menor do que o grau de branco da amostra padrão.

**Tabela 31** – Resultados obtidos para o tingimento com a cor clara.

<b>Identificação</b>	<b><math>^{\circ}</math>Berger</b>	<b><math>\Delta E</math></b>	<b>Força colorística</b>	<b>Solidez CO</b>	<b>Solidez PA</b>
Padrão	66,50	0	100%	4,5	4,5
Processo com peróxido de hidrogênio	47,27	0,86	104,37%	-	-
Processo com ácido peracético	62,16	0,69	102,69%	-	-

Em relação à avaliação da cor para o tingimento com a cor média, vermelho, também houve uma diferença significativa para o processo com peróxido de hidrogênio, uma vez que o grau de branco obtido é menor que o grau de branco da amostra padrão, com isso o fundo da cor fica mais escuro. Já a mostra tratada com ácido peracético apresenta um  $\Delta E < 1$ , sendo de 0,92, indicando uma proximidade maior com a cor da amostra padrão.

A força colorística significa quanto a amostra ficou mais escura em relação ao padrão. A amostra tingida pelo primeiro processo apresenta uma cor mais forte que a da amostra padrão em 31,74%, enquanto que para o segundo processo a amostra ficou 14,07% mais escura. Isto porque, além do grau de branco das amostras serem menor do que o grau de branco da amostra padrão, a cor é mais forte, evidenciando mais suas diferenças entre as amostras e o padrão.

Os testes de solidez apresentaram bons resultados, com nota de 4,5 para todos os testes.

**Tabela 32** – Resultados obtidos para o tingimento com a cor média.

Identificação	°Berger	$\Delta E$	Força colorística	Solidez CO	Solidez PA
Padrão	66,50	0	100%	4,5	4,5
Processo com peróxido de hidrogênio	47,27	1,65	131,74%	4,5	4,5
Processo com ácido peracético	62,35	0,92	114,07%	4,5	4,5

#### 4.8.4 Comparação entre os bioprocessos e o processo convencional

Comparando-se os dois bioprocessos propostos com o processo de alveijamento convencional, nota-se que:

- Há uma grande economia de água, já que todo o processo pode ser realizado em uma única etapa, não necessitando das etapas subsequentes de enxágues e neutralização, como ocorre no processo convencional. Há uma redução de quatro volumes de água no processo de bioalveijamento em relação ao alveijamento. Isto é, enquanto que no bioalveijamento se gasta 80 mL para tratar uma malha de 10g, no processo convencional se gasta 400 mL, em grande escala é um volume bastante alto de água que se economiza;
- Decorrente da economia de água há uma economia no tratamento de efluente, já que o volume gerado se torna bem menor, reduzindo os custos do processo de tratamento de efluentes;
- Em relação ao tempo de processo torna-se necessário uma otimização, visto que para o processo aplicado em escala piloto, o tempo foi de 6 h aproximadamente. Realizou-se o ajuste do tempo para outro lote da enzima glicose oxidase, onde pode ser reduzido o processo, passando a ter em torno de 4 h, considerando as rampas de aumento e diminuição da temperatura, se igualando ao processo convencional, que demora em torno de 4 h também.
- Caso o processo seja ajustado, como realizado no item 4.6.3, há uma economia de energia, pois as temperaturas de operação são mais brandas, sendo de 50 °C, 55 °C, 91 °C e 60 °C;
- Os bioprocessos apresentaram uma relação DBO/DQO maior para o processo utilizando a enzima ultrapura, indicando uma dificuldade menor de tratamento do efluente.

## 5 CONCLUSÕES PARCIAIS

Por meio dos testes realizados, foi possível obter um processo de alveijamento em único banho utilizando a enzima glicose oxidase para a geração do peróxido de hidrogênio.

A enzima glicose oxidase apresentou condição de operação ótima em pH 5,5 e temperatura de 35 °C. A atividade enzimática da enzima celulase foi de 1502,45 U/mL, da lipase de 30,80 U/mL, da pectinase de 585,13 U/mL e para a glicose oxidase foi de 256,77 U/mg do pó enzimático sem aeração e de 975,25 U/mg do pó enzimático com aeração.

Para a etapa 1, encontraram-se as melhores condições para a geração de peróxido de hidrogênio em pH 5,5, temperatura de 35 °C, por 150 min. Para o branqueamento, as melhores condições foram obtidas em pH 11, temperatura de 91°C e tempo de 53 min. A análise estatística mostrou que o fator que mais influencia na geração de peróxido de hidrogênio foi o tempo. Já para o branqueamento, a análise estatística mostrou que o fator mais significativo foi a concentração de peróxido de hidrogênio.

Para a etapa 2, encontraram-se as melhores condições para a geração de ácido peracético em pH 7,5, temperatura de 50 °C por 30 min. Para o branqueamento, não foi realizado ajuste de pH, sendo a melhor temperatura de 91°C e tempo de 53 min. A análise estatística mostrou que o fator mais significativo na geração de ácido peracético foi a concentração de peróxido de hidrogênio. Já para o branqueamento, os fatores mais significativos foram a concentração de ácido peracético, seguido pela temperatura e o tempo.

Apesar do primeiro processo, o qual utiliza peróxido de hidrogênio, ter tido uma boa efetividade, este não alcançou o grau de alvura da malha alvejada convencionalmente. O grau de alvura obtido foi de  $52 \pm 1$  °Berger, enquanto que a amostra alvejada convencionalmente possui um grau de branco em torno de  $66 \pm 1$  °Berger. Já o segundo processo, utilizando o ativador, mostrou-se superior ao primeiro. O grau de alvura obtido foi  $60 \pm 1$  °Berger, aproximando-se mais da amostra alvejada convencionalmente.

Foi possível substituir a enzima glicose oxidase ultrapura pela enzima Glicose oxidase comercial, obtendo-se resultados bem semelhantes em relação ao grau de branco.

O tingimento para cores claras e médias foi realizado para a cor bege e a cor vermelha; ambos os processos apresentaram uma variação no  $\Delta E_{cmc}$  medido, sendo a amostra padrão a malha alvejada

convencionalmente e tingida nas mesmas condições das amostras bioalvejadas. Para a cor clara, o processo com  $H_2O_2$  apresentou um  $\Delta E_{cmc}$  de  $2,62 \pm 0,113$ , maior que o segundo processo, que foi de  $1,13 \pm 0,240$ . Já para o tingimento com a cor média, o  $\Delta E_{cmc}$  para o processo com  $H_2O_2$  foi de  $1,76 \pm 0,54$ , e para o segundo caso o  $\Delta E_{cmc}$  foi de  $0,85 \pm 0,39$ . O tingimento para a cor média apresentou-se melhor do que para a cor clara. Os testes de solidez à lavagem CO e PA ficaram com nota 4,5, considerados bons.

Após a otimização dos tempos envolvidos no decorrer das etapas de ambos os processos de bioalveamento, foi possível reduzir o tempo geral de 6 h para 4 h, aproximadamente, tornando os processos com um tempo de operação próximo ao alveamento convencional.

## 6 CONCLUSÕES

Comparando-se os processos de bioalvejamento propostos com o processo de alvejamento convencional, as principais vantagens são:

- Uma grande economia de água, redução de quatro volumes, é obtida já que todo o processo pode ser realizado em uma única etapa, não necessitando das etapas subsequentes de enxagues e neutralização, como ocorre no processo convencional.
- Decorrente da economia de água, há um volume menor de efluente gerado, e para o processo utilizando a enzima ultrapura, uma relação DBO/DQO maior é obtida, indicando uma menor dificuldade no seu tratamento biológico;
- Para os processos ajustados onde o tempo geral fica próximo ao processo convencional, há uma economia de energia, pois as temperaturas de operação são mais brandas, sendo de 50 °C, 55 °C, 91 °C e 60 °C.

Os processos de bioalvejamento propostos são inovadores, pois se consegue obter um produto tratado com a utilização apenas de enzimas, não havendo a necessidade de se utilizar substâncias químicas agressivas ao meio ambiente, agregando assim um valor maior ao produto final que se enquadra no nicho de produtos sustentáveis.

Conclui-se, portanto, que o processo enzimático é viável tecnicamente, gera economia em termos de água, não há a necessidade de alterações no maquinário existente nas empresas, as temperaturas utilizadas no processo são mais brandas e gera um menor volume de efluente.



## 7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Realizar testes de perda de massa, capacidade de resistência da malha e MEV para melhor visualizar o polimento realizado;
- Avaliar esses processos com outros tipos de enzimas e também outros tipos de tecidos, como por exemplo, o tecido felpudo, visto que a geração de glicose na etapa de biopurga foi baixa;
- Estudar o uso de outra glicose oxidase comercial;
- Avaliar outros tipos de ativadores de peróxido;
- Utilizando o mesmo banho do bioalveamento, estudar como uma etapa posterior à etapa de desativação do  $H_2O_2$  a viabilidade de acoplar a etapa de tingimento.



## REFERÊNCIAS

- ŠPIČKA, N.; TAVČER, P. F. Complete enzymatic pre-treatment of cotton fabric with incorporated bleach activator. **Textile Research Journal**, v. 83, n. 6, p. 566-573, 2013.
- ABDEL-HALIM, E.S.; AL-DEYAB, S. S. One-step bleaching process for cotton fabrics using activated hydrogen peroxide. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 1844-849, 2013.
- ABIT (Brasil) (Org.). **Relatório de atividades ABIT 2014. In Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção**. Disponível em:  
[http://www.abit.org.br/conteudo/informativos/relatorio\\_atividades/2014/abit\\_digital-final.pdf](http://www.abit.org.br/conteudo/informativos/relatorio_atividades/2014/abit_digital-final.pdf). Acesso: Novembro, 2015.
- ABRAHÃO, A. J.; SILVA, G. A. Influência de alguns contaminantes na toxicidade aguda de efluentes da indústria têxtil. **Química Têxtil**, São Paulo, v. 25, p.08-34, 2002.
- ABRAHÃO, A.J.; SILVA, G.A. Influência de alguns contaminantes na toxicidade aguda de efluentes da indústria têxtil. **Química Têxtil**, Barueri, v. 67, p. 8-34, 2002.
- ALI, S.; KHATRI, Z.; KHATRI, A.; TANWARI, A. Integrated desizing-bleaching-reactive dyeing process for cotton towel using glucose oxidase enzyme. *Journal of Cleaner Production*, v. 66, p. 562 – 567, 2014.
- ANDREAUS, J.; DALMOLIN, M. C.; JUNIOR, I. B. O.; BARCELLOS, I.O. Aplicação de ciclodextrinas em processos têxteis. **Química Nova**, v. 33, n. 4, p. 929-937, 2010.
- ANIS, P.; DAVULCU, A.; EREN, H. A. Enzymatic Pre-Treatment of Cotton. Part 1. Desizing and Glucose Generation in Desizing Liquor. **Fibres & Textiles in Eastern Europe**, v. 16, n. 4 (69), p. 100-103, 2008.
- ANIS, P.; DAVULCU, A.; EREN, H. A. Enzymatic Pre-Treatment of Cotton. Part 2. Peroxide Generation in Desizing Liquor and Bleaching. **Fibres & Textiles in Eastern Europe**, v. 17, n. 2 (73), p. 87-90, 2009.

ARAÚJO, M. de; CASTRO, E. M. de M. **Manual de Engenharia Têxtil**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 1, 1986.

ARAÚJO, R.; CASAL, M.; CAVACO-PAULO, A. Application of enzymes for textile fibres processing. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 26, n.5, p. 332-349, 2008.

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

BAÊTA, B. E. L. **Tratamento de Efluentes de Indústria Têxtil Utilizando Reatores Anaeróbios de Membranas Submersas (SAMBR) com e sem Carvão Ativado em Pó (CAP)**. 2012. 105 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Ouro Preto, 2012.

BANKAR, S. B.; BULE, M. V.; SINGHAL, R. S.; ANANTHANARAYAN, L. Glucose oxidase — An overview. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 489–501, 2009.

BASTO, C. **Interação de ultra-sons com sistemas enzimáticos para aplicações têxteis**. Tese (Doutorado em Engenharia Têxtil). Departamento têxtil. Universidade do Minho. Azurém, 2007.

BEQUIN, P.; AUBERT, J. P. The biological degradation of cellulose. **FEMS Microbiology Reviews**, England, n. 13, p.25-58, 1994.

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.

BUSCHLE-DILLER, G. Substrates and their structure. In: CAVACO-PAULO, A.; GÜBITZ, G. M. **Textile processing with enzymes**. Woodhead Publishing Ltd: Cambridge-England, p. 42 – 85, 2003.

BUSCHLE-DILLER, G.; YANG, X. D.; YAMAMOTO, R. Enzymatic Bleaching of Cotton Fabric with Glucose Oxidase. **Textile Research Journal**, v. 71, n. 5, p. 388-393, 2001.

BUSCHLE-DILLER, G.; ZERONIAN, S.H.; PAN, N.; YOON, M.Y. Enzymatic hydrolysis of cotton, linen, ramie, and viscose rayon fabrics. **Textile Research Journal**, v. 64, n. 5, p.270-279, 1994.

CARRILLO, N. F. **Caracterización estructural de fibras lyocell y su comportamiento frente a procesos de degradación**. Tese de doutorado. Departament Enginyeria Química. UPC Universitat Politècnica de Catalunya, 2002.

CARVALHO, M. L. **Estudo cinético da Hidrólise Enzimática de celulose de bagaço de cana-de-açúcar**. 2011. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Engenharia Química - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

CAVACO-PAULO, A. M. **Influência da agitação mecânica e da composição enzimática o tratamento do algodão com celulases**. Tese (doutorado em Eng. Têxtil). Escola de Engenharia, Universidade do Minho. Braga, 1995.

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.

CUNHA, R. T.; PEREIRA JR, N.; ANDRADE, C. M. M. C. Aplicação de enzimas em processos industriais têxteis. **Química Nova**, v. 82, p. 38-56, 2000.

DELLAMATRICE, P. M. **Biodegradação e toxicidade de corantes têxteis e efluentes da Estação de Tratamento de Águas Residuárias de Americana, SP**. 2005. 137 f. Tese (Doutorado) - Ecologia de Agroecossistemas, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2005.

DURÁN, N.; DURÁN, M. Enzyme applications in the textile industry. **Review of Progress in Coloration and Related Topics**, v. 30, 2000.

EREN, H. A.; ANIS, P.; DAVULCU, A. Enzymatic One-bath Desizing - Bleaching - Dyeing Process for Cotton Fabrics. **Textile Research Journal**, v. 79(12), p. 1091–1098, 2009.

FAROOQ, A.; ALI, S.; ABBAS, N.; FATIMA, G. A.; ASHRAF, M. A. Comparative performance evaluation of conventional bleaching and enzymatic bleaching with glucose oxidase on knitted cotton fabric. **Journal of Cleaner Production**, v. 42, p. 167-171, 2013.

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, 2012.

FOGARTY, W. M.; WARD, O. P. Pectic substances and pectinolytic enzymes. **Process Biochemistry**, p. 13-17, 1972.

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. **Caracterização e aplicação de enzimas de forma combinada na biopreparação de tecidos felpudos de algodão**. 2012. 134 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2012.

GALANTE, Y. M.; FORMANTICI, C. Enzyme Applications in Detergency and in Manufacturing Industries. **Current Organic Chemistry**, v. 7, p. 1399-1422, 2003.

GERHARTZ, W. **Enzymes in Industry**. Production and Applications edited by Wolfgang Ahle, second edition, 2004.

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

GOODSELL, D.S. Glucose oxidase. Molecule of the month: *PCSB Protein Data Bank*, 2006.

GUARATINI, C.C.I.; ZANONI, M.V.B. Corantes Têxteis. **Química Nova**, v. 23, n.1, p. 71-78, 2000.

GÜBITZ, G.M. Uma introdução à biotecnologia e à enzimologia e suas aplicações na indústria têxtil. **Química Têxtil**, n. 73, 2003.

GUERSOY, N.; DAYIOGLU, H. Evaluating peracetic acid bleaching of cotton as an environmentally safe alternative to hypochlorite bleaching. **Textile Research Journal**, n. 70(6), p. 475, 2000.

GURSOY, N.C.; HALL, M. E. Optimisation of peroxide bleaching **Int. Text. Bull**, v. 5, p. 80-86, 2001.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Sperman-Karber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity assays. **Environmental Science and Technology**, v. 11, n.7, p. 714-719, 1977.

HARALDSON, G. G. The applications of lipases for modification of fats and oils, including marine oils. **Marine Lipids Biotechnology**, cap.7, p. 337-352, 1991.

HARTZELL, M. M.; HSIEH, Y. Enzymatic Scouring to Improve Cotton Fabric Wettability. **Textile Research Journal**, v. 68, n. 4, p.233-241, 1998.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Industrial application of microbial lipase. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, p. 235 – 251, 2006.

HASHEM, M. Low temperature bleaching of flax fibres with peracetic acid. **Journal of the Textile Association**, n. 60(2), p. 55, 1999.

HASHEM, M.; EL-BISI, M.; HEBEISH, A. Catalytic activation of peracetic acid using chitosan-metal complex for low temperature bleaching of cotton fabric. **Indian Journal of Fibre and Textile Research**, n. 28, p. 444, 2003.

HEBEISH, A.; HASHEM, M.; SHAKER, N.; RAMADAN, M.; EL-SADEK, B. HADY, M. A. New development for combined bioscouring and bleaching of cotton-based fabrics. **Carbohydrate Polymers**, v. 78, p. 961–972, 2009.

HENNIES, P. T. **Produção de pectinases de *Penicillium italicum* através de fermentação em meio semi-sólido**. Dissertação (Mestrado em Eng. de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, 1996.

HOONDAL, G. S.; TIWARI, R. P.; TEWARI, R.; DAHIYA, N.; BEG, Q. K. Microbial alkaline pectinases and their industrial applications: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, p. 409-418, 2002.

HORROCKS, A. R.; ANAND, S. C. **Handbook of technical textiles**. Cambridge: CRC Press. Woodhead Publishing. 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). **Relação das Atividades Potencialmente Poluidoras e/ou Utilizadoras de Recursos Ambientais**. 2000.

JAPANESE STANDARD ASSOCIATION. JIS L 1907: **Test methods for water absorbency of textiles: Method b**. Tokyo. 2009.

KALANTZI, S.; MAMMA, D.; CHRISTAKOPOULOS, P.; KEKOS, D. Effect of pectate lyase bioscouring on physical, chemical and low-stress mechanical properties of cotton fabrics. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8185–8192, 2008.

KAPOOR, M.; BEG, Q. K.; BHUSHAN, B.; SINGH, K.; DADHICH, K. S.; HOONDAL, G. S. Application of an alkaline and thermostable polygalacturonase from *Bacillus* sp. MG-cp-2 in degumming of ramie (*Boehmeria nivea*) and sunn hemp (*Crotalaria juncea*) bast fibres. **Process Biochemistry**, v. 36, p. 803-807, 2001.

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 & Textiles**, v. 12, n. 3(47), 2004.

KASHYAP, D. R.; VOHRA, P. K.; CHOPRA, S.; TEWARI, R. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 215-227, 2001.

LANGE, C. R. **Estudo das Condições Operacionais do Processo de Tingimento de Fibra Mista Acrílico/Algodão em Bobina Cruzada**. Dissertação de Mestrado. Programa de pós-graduação em Engenharia Química. Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

LEÃO, M. D., CARNEIRO, E. V., SCHWABE, W. K., RIBEIRO, E. D. L., E SOARES, A. F. S. A. T. Z. S. C. **Controle ambiental na Indústria Têxtil: Acabamentos de Malhas**. 2002 p. 356-380.

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

LESKOVAC, V.; TRIVIC, S.; WOHLFAHRT, G.; KANDRAC, J.; PERICIN, D. Glucose oxidase from *Aspergillus niger*: the mechanism of action with molecular oxygen, quinones, and one-electron acceptors. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 37, n. 4, p. 731-750, 2005.

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

MANGOVSKA, B., DEMBOVSKI, G., JORDANO, L. Structural characteristics of cotton knitted fabrics after enzymatic and alkaline scouring. **Bull. Chem. Tech**, v. 23, p. 19 – 28, 2004.

MANSANO, A. S.; OLIVEIRA, L. L. D.; ROCHA, O. Avaliação da Toxicidade Aguda do Antibiótico Ciprofloxacina aos Cladóceros *Daphnia Magna* e *Ceriodaphnia Silvestii*. **VIII Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 8, n. 12, p. 76-88, 2012.

MARTINS, D. V. R. **Avaliação ecotoxicológica de efluentes de celulose branqueada de eucalipto ao longo do tratamento biológico**. 2008. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal de Viçosa, 2008.

MARTINS, E. **Purificação e caracterização bioquímica de poligalcturonases termoestáveis produzidas pelo fungo *Thermoascus***

***aurantiacus* através de fermentação submersa e fermentação em estado sólido.** 2006. 108f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, 2006.

MARTINS, G. B. H. **Práticas Limpas Aplicadas às Indústrias Têxteis de Santa Catarina.** 1997. 126 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Produção, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1997.

MARTINS, G. B. **Práticas Limpas Aplicadas as Indústrias Têxteis de Santa Catarina.** 1997. 138 f. Dissertação (Mestrado) - Engenharia de Produção, Universidade Federal de Santa Catarina, 1997.

MARTINS, L. F. **Caracterização do Complexo Celulásico de *Penicillium Echinulatum*.** 2005. 139 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

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**, v. 2, n. 9, p. 256-275, 2012.

MOKHOTHU, T. H.; JOHN, M. J. Review on hygroscopic aging of cellulose fibres and their biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 131, p. 337–354, 2015.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. **Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização, preparação, purificação.** São Paulo: E. Blucher: Ed. da USP, 1983.

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: [http://api.ning.com/files/S0D4VIM6yH7AB\\*TXErL3E92JR317uNHY9](http://api.ning.com/files/S0D4VIM6yH7AB*TXErL3E92JR317uNHY9)

nGKgjSCM3hrjkFNrNuUJkQd8eBRzN-xKb8UYlFmgxyGjOCQlG0ro-cArxi1SVGI/ApostilhaTcnica.pdf. Acesso: novembro, 2014.

PICCOLI, H. H. **Determinação do comportamento tintorial de corantes naturais em substrato de algodão**. 2008.189 f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

RAMADAN, A.R. Characterization of biobleaching of cotton/linen fabrics. **J. Text. App. Technol. Man**, v.6, p. 1 – 12, 2008.

REKHA, R. Role of enzymes in textiles wet processing. **Man-made Textile in India**, v. 45, p. 308 - 401, 2002.

ROMBOUTS, F. M.; PILNIK, W. **Pectic enzymes**. In: *Microbial Enzymes and Bioconversions*, v. 5, p. 227-282, ed. A. H. Rose. Academic Press, London, 1980.

SANIN, L. B. B. A indústria têxtil e o meio ambiente. **Química Têxtil**, São Paulo: ABQCT, v. 46, p. 13-34, 1997.

SANTOS, E. O. **Caracterização, Biodegradabilidade e Tratabilidade do Efluente de uma Lavanderia Industrial**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

SARAVANAN, D.; SIVASARAVANAN, S.; SUDHARSHAN PRABHU, M.; VASANTHI, N. S.; SENTHIL RAJA, K.; ARUNAVA DAS; RAMACHANDRAN, T. One-Step Process for Desizing and Bleaching of Cotton Fabrics Using the Combination of Amylase and Glucose Oxidase Enzymes. **Journal of Applied Polymer Science**, vol. 123, p. 2445–2450, 2012.

SARAVANAN, D; VASANTHI, N. S.; RAJA, K. S.; DAS, A.; RAMACHANDRAN, T. Bleaching of cotton fabrics using hydrogen peroxide produced by glucose oxidase. **Indian Journal of Fibre & Textile Research**, v. 35, p. 281-283, 2010.

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.

SHIN, Y.; RHWANG, S.; AHN, I. Enzymatic Bleaching of Desized Cotton Fabrics with Hydrogen Peroxide Produced by Glucose Oxidase. **J. Ind. Eng. Chem.**, v. 10, n 4, p. 577-581, 2004.

SILVA, L. G. M. **Biopurga de Malha de Algodão Utilizando Processo Enzimático com Associação de Enzimas**. 2013. 130p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

SILVA, R. J. M. **Tratamento de Fibras Têxteis com Ultra-Sons e Enzimas**. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia, Universidade do Minho - Braga, 2006.

SOLOMONS, T. W. Graham. **Química Orgânica**. 6ª Edição, Editora Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro, Brasil, v. 2, p. 388-393, 1996.

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

TEXBRASIL. **Programa de internacionalização da Indústria da Moda Brasileira**. Disponível em: <http://www.texbrasil.com.br/texbrasil/SobreSetor.aspx?tipo=15&pag=1&nav=0&tela=SobreSetor>. Acesso: Novembro, 2015.

TROTMAN, E. R. **Dyeing and Chemical Technology of Textile Fibres**. 6. Ed. England: Charles Griffin & Company Limited, 1984.

TZANOV, T.; CALAFELL, M.; GUEBITZ, G. M.; CAVACO-PAULO, A. Bio-preparation of cotton fabrics. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 29, p. 357–362, 2001.

TZANOV, T.; COSTA, S. A.; GUEBITZ, G. M.; CAVACO-PAULO, A. Hydrogen peroxide generation with immobilized glucose oxidase for textile bleaching. **Journal of Biotechnology**, v. 93, p. 87–94, 2002.

UENOJO, M.; PASTORE G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, 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.

VILLENEUVE, P.; MUDERHWA, J. M.; GRAILLE, J.; HAAS, M. J. Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 9, p. 113-148, 2000.

WANG, Q.; FAN, X.R.; HUA, Z.Z.; CHEN, J. Optimizing bioscouring condition of cotton knitted fabrics with an alkaline pectinase from *Bacillus subtilis* WSHB04-02 by using response surface methodology. **Biochemical Engineering Journal**, v. 34, p. 107-113, 2007.

WILSON, R. T.; TURNER, A.P.F. Glucose oxidase: an ideal enzyme. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 7, n. 3, p. 165-185, 1992.

WINKLER, U. K.; STUCKMANN, M. Glycogen, Hyaluronate, and Some Other Polysaccharides Greatly Enhance the Formation of Exolipase by *Serratia Marcescens*. **Journal of Bacteriology**, p. 663-670, 1979.

WITT, S.; WOHLFAHRT, G.; SCHOMBURG, D.; HECHT, H.; KALISZ, H. Conserved arginine-516 of *Penicillium amagasakiense* glucose oxidase is essential for the efficient binding of  $\beta$ -D-glucose. **J Biochem**, v. 9, p. 347-553, 2000.

WOHLFAHRT, G.; TRIVIC, S.; ZEREMSKI, J.; PERICIN, D.; LESKOVAC, V. The chemical mechanism of action of glucose oxidase from *Aspergillus niger*. *Molecular and Cellular Biochemistry*. **Springer Netherlands**, v. 260, n. 1, p. 69-83, 2004.

YAMAMOTO, R., BUSCHLE-DILLER, G., TAKAGISHI, T. Eco-friendly processing of cotton: application to industrial manufacturing. In: **Proceedings of the American Chemical Society National Meeting**. San Diego, Calif. ACS, Washington D.C, April 2001.

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. Cap. 6, p. 103-120, 2012.