



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Bruna Lyra Colombi

Biopreparação enzimática de malha de algodão: avaliação de parâmetros processuais e
reúso da solução enzimática

Florianópolis
2021

Bruna Lyra Colombi

Biopreparação enzimática de malha de algodão: avaliação de parâmetros processuais e reúso da solução enzimática

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

Orientador: Prof. Dr. José Alexandre Borges Valle

Coorientadores: Prof.^a Dr.^a Rita de Cássia Siqueira Curto Valle, Prof. Dr. Jürgen Andreus

Florianópolis

2021

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

Lyra Colombi, Bruna

Biopreparação enzimática de malha de algodão : Avaliação de parâmetros processuais e reúso da solução enzimática / Bruna Lyra Colombi ; orientador, José Alexandre Borges Valle , coorientador, Rita de Cássia Siqueira Curto Valle, coorientador, Jürgen Andreaus, 2021.

167 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Engenharia Química. 2. Algodão. 3. Biopurga. 4. Pectinase. 5. Biobranqueamento. I. Borges Valle , José Alexandre. II. Siqueira Curto Valle, Rita de Cássia. III. Andreaus, Jürgen IV. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. V. Título.

Bruna Lyra Colombi

Biopreparação enzimática de malha de algodão: avaliação de parâmetros processuais e reuso da solução enzimática

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Daniela Bresolin, Dr.(a)

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Antônio Augusto Ulson de Souza, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Fabricio Maestá, Dr.

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.(a) Késia Karina de Oliveira Souto Silva, Dr.(a)

Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutor em Engenharia Química.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. José Alexandre Borges Valle, Dr.

Orientador

Florianópolis, 2021.

AGRADECIMENTOS

Sou grata a DEUS, acima de tudo, que me concedeu saúde, sabedoria, força e coragem durante todos os momentos, e colocou pessoas especiais, tão caprichosamente, em minha vida.

Aos meus orientadores, doutores José Alexandre Borges Valle, Rita de Cássia Siqueira Curto Valle e Jürgen Andreaus, pelos ensinamentos constantes, competência na orientação, disponibilidade e efetiva participação no desenvolvimento deste trabalho. Me ensinaram brilhantemente a percorrer o caminho da pesquisa científica.

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, pela elevada qualidade do ensino oferecido e contribuição com a minha formação acadêmica e profissional.

À Universidade Regional de Blumenau – Departamento de Química, por ceder as instalações de laboratórios, e seus pesquisadores. Nomeadamente, ao técnico de laboratório Renato de Amorim Gomes, pela receptividade e assistência em muitos experimentos.

Ao Programa de Bolsas Universitárias de Santa Catarina (UNIEDU) pela bolsa de estudo e apoio financeiro.

Às empresas Novozymes® e Macler Produtos Químicos Ltda., que gentilmente forneceram material para a pesquisa.

Ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da Universidade Federal de Santa Catarina.

Aos professores doutores Fernando Ribeiro Oliveira (In memoriam), Késia Karina de Oliveira Souto Silva e Daniela Bresolin, pela pertinência dos questionamentos na ocasião da qualificação.

Aos discentes do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina, em especial à Karine Thaise Rainert, que compartilhou comigo as mesmas expectativas, com trocas de ideias e ajuda mútua.

Aos meus pais, Francisco José Colombi e Salete Lyra Colombi, que sempre primaram pela minha educação e, com muito amor, cuidado, apoio incondicional e incentivo, não mediram esforços para que eu chegasse até aqui. Eles são meu exemplo, meu alicerce e minhas asas.

Ao meu namorado e companheiro de todas as horas, Rodrigo Gohr, que sempre esteve ao meu lado durante o percurso acadêmico, pelo amor, amizade, carinho e compreensão nas várias horas em que estive ausente.

E todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a conclusão deste trabalho, estiveram e estão próximos, fazendo a vida valer a pena. INFINITA GRATIDÃO!

“Nunca, jamais desanimeis, embora venham ventos contrários.”

SANTA PAULINA

RESUMO

O tecido de algodão cru contém 4-12 % de impurezas (gorduras, ceras, pectinas, proteínas, etc.) e pigmentos (flavonoides) naturais, que dão uma natureza hidrofóbica e uma coloração indesejada, dificultando o tingimento têxtil. Esses constituintes não celulósicos são comumente removidos pela combinação de purga alcalina com hidróxido de sódio e de branqueamento com peróxido de hidrogênio, em altas temperaturas e acompanhados de volumosa lavagem, que podem causar problemas ambientais e danos às fibras. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi usar enzima como agente para a biopreparação do algodão. Inicialmente, foi medida a atividade de uma pectato liase comercial (BioPrep[®] 3000 L) em diferentes condições de temperatura (40, 50 e 60 °C), pH (7, 8 e 9) e concentração de surfactante não iônico (0,0; 0,5 e 1,0 g/L), utilizando um planejamento fatorial e visando à estratégia futura de biopurga têxtil. Depois, a enzima (1,0; 5,0 e 10,0 g/L) foi empregada na biopurga de tecidos de malha 100 % algodão por 30 minutos, em condições ótimas previamente estabelecidas de 55 °C e pH 8,5, sob uma variedade de possibilidades de pós-tratamento com variação da temperatura (55, 70 e 90 °C) e da concentração de surfactante (0-1,0 g/L). A pectinase também foi avaliada quanto ao seu potencial para a biopurga com reutilização do banho enzimático. A solução aquosa com BioPrep[®] 3000 L foi reutilizada dez vezes e apenas 10 %, em volume, foi restituído com solução nova de enzimas em cada novo ciclo. Finalmente, a capacidade de branqueamento da lacase Novozym[®] 51003 (55 °C, pH 5, 30 min) foi testada, em alternativa ao branqueamento químico, a fim de eliminar as substâncias coloridas do algodão cru. As amostras tratadas foram caracterizadas quanto à perda de massa, teor de pectina, absorção de água, índices de branco, amarelo e claridade, espectroscopia infravermelha, morfologia e tingimento. Concluiu-se que os efeitos dos fatores pH, temperatura e concentração de surfactante foram estatisticamente significativos à atividade da pectinase. Esses resultados proporcionaram suporte aos experimentos pósteros de biopurga, onde alto nível de limpeza e boa molhabilidade (≈ 5 s) do tecido de malha de algodão foram alcançados na concentração de enzima mais baixa (1 g/L). Verificou-se que uma concentração de surfactante de 0,2 g/L e uma temperatura de lavagem de 70 °C, após a biopurga, tiveram um grande impacto na remoção de ceras e gorduras da superfície do algodão e foram adequadas para conferir alta hidrofiliidade ($5,47 \pm 0,76$ s) com baixa perda de massa ($2,57 \pm 0,09$ %). Quantidades consideráveis de substâncias pécticas (≈ 95 %) foram digeridas pela pectinase, mesmo com o reuso do caldo enzimático em dez vezes. Os constituintes não celulósicos foram removidos da cutícula e da parede primária do algodão, com destruição leve ou não detectável das fibras. Essas alterações composicionais foram associadas à melhoria das propriedades de absorção de água das amostras e resultaram em uma absorção muito boa de corante, em todos os tratamentos. A capacidade de tingir das malhas biopurgadas (K/S = $5,46 \pm 0,21$) foi tão boa quanto as malhas alcalinas (K/S = $4,91 \pm 0,45$), com valores de K/S ligeiramente mais altos. O grau de branco dos tecidos, no entanto, era pouco (32-35 graus Berger). Os experimentos com a enzima lacase demonstraram que há apenas um semibranqueamento (≈ 36 graus Berger) com lacase e investigações futuras são necessárias. De acordo com buscas anteriores na literatura, esta é a primeira tentativa detalhada de biopurga com reaproveitamento do banho e das enzimas, contribuindo assim para a economia de água e do processo. Reutilizando o banho de biopurga, se possibilitará uma diminuição no consumo intensivo de insumos e na geração de águas residuais, por meio de uma técnica economicamente atraente, simples, promissora e sustentável. O processo demonstrou possuir eficácia comparável à da purga alcalina convencional e há viabilidade de aplicação industrial. Essa abordagem poderá ajudar a impulsionar os processos biotecnológicos nas indústrias têxteis.

Palavras-chave: Algodão. Biopurga. Reutilização de enzimas. Pectinase. Economia de água. Biobranqueamento. Lacase. Processo ecológico. Indústria têxtil.

ABSTRACT

Raw cotton fabric contains 4-12 % (w/w) of impurities (waxes, pectins, proteins, etc.) and natural pigments (flavonoids), which give it a hydrophobic nature and an unwanted color, difficulting the coloration and finishing textiles. These non-cellulosic constituents are commonly removed by a combination of alkaline scouring with sodium hydroxide and hydrogen peroxide bleaching, at high temperatures and followed by several washing steps, that can cause damage to fibers and the environment. Given this, the main objective of this was to evaluate enzyme efficiency as an agent for biopreparation of cotton. Initially, a factorial experimental design was used to evaluate the activity of a commercial pectate lyase (BioPrep[®] 3000 L) at different reaction conditions of temperature (40, 50, and 60 °C), pH (7, 8, and 9), and nonionic surfactant concentration (0.0, 0.5, and 1.0 g/l), aiming at the future strategy of textile bioscouring. Bioscouring experiments of knitted cotton fabrics were carried out at different enzyme concentrations (1.0, 5.0, and 10.0 g/l) for 30 minutes at previously established optimum enzyme activity conditions of 55 °C and pH 8.5, and with varying post-treatments including effects of temperature (55, 70, and 90 °C) and surfactant (0-1.0 g/l). Furthermore, the reuse of the bioscouring bath was evaluated. The aqueous solution with BioPrep[®] 3000 L was reused ten times and only 10 % by volume was completed with fresh enzyme solution in each new cycle. Finally, bleaching of knitted cotton fabric with laccase Novozym[®] 51003 was investigated at 55 °C, pH 5 for 30 min, as an alternative to chemical bleaching, in order to reduce the coloring matter from raw cotton. The treated samples were characterized in terms of weight loss, whiteness index, water absorption, pectin content, morphology, FTIR spectrum, and dyeability. It was found that all three factors temperature, pH, and nonionic surfactant concentration had a statistically significant influence on the activity of the pectate lyase. These results provided substantial support for the subsequent bioscouring assays, where a high level of cleanliness and good wettability (≈ 5 s) of knitted cotton fabric at the lowest enzyme concentration (1 g/l) were achieved. A surfactant concentration of 0.2 g/l and a washing temperature of 70 °C, after bioscouring in the post-washing step, were found sufficient to aid in the removal of waxes and fats from the cotton surface and were adequate to achieve high hydrophilicity ($5,47 \pm 0,76$ s) at low weight loss ($2,57 \pm 0,09$ %), unlike other bioscouring studies that used temperatures equal or higher than 80 °C. Considerable amounts of pectic substances (≈ 95 %) were digested by pectinase, even with the reuse of the enzyme bath up to ten times. The non-cellulosic constituents were removed from the cuticle and primary cell wall of the cotton, with slight or not detectable destruction of the fibers. The compositional changes were associated with the improvement of water absorption properties of the samples and resulted in a very good dye absorption, in all treatments. The dyeability of bioscouring fabrics ($K/S = 5,46 \pm 0,21$) was as good as that of alkaline treated swatches ($K/S = 4,91 \pm 0,45$), with slightly higher K/S values. Whiteness, however, was low (32-35 Berger degrees). The laccase bleaching experiments have only resulted in semi-bleaching (≈ 36 Berger degrees), and future investigations are needed. According to our knowledge based on previous literature reports, this is the first detailed investigation of the reuse of bioscouring baths, thus helping to reduce cost and aid in water conservation. Reusing bioscouring baths, diminishes significantly the consumption of inputs materials and the and generation wastewater, and is an economically attractive, promising, and sustainable approach. In general, bioscouring developed in this study has demonstrated efficacy comparable to conventional alkaline scouring and potential for industrial application.

Keywords: Cotton. Enzymatic scouring. Enzyme reuse. Pectinase. Water economy. Biobleaching. Laccase. Ecological process. Textile industry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – Resumo gráfico com a sequência de trabalho dos artigos 1, 2 e 3.....	20
Figura 2.1 – Fluxograma com as etapas envolvidas no processo de produção têxtil.....	21
Figura 2.2 – Consumo global de fibras em 2017.....	22
Figura 2.3 – Os dez principais países produtores de algodão na safra 2019/2020 (em 1.000 toneladas).....	23
Figura 2.4 – Diagrama da microestrutura do algodão, mostrando a distribuição de celulose e de outros materiais não celulósicos nas várias camadas da fibra. (A dimensão da parede celular não está em escala).	24
Figura 2.5 – Micrografia eletrônica de varredura da seção transversal de fibras de algodão cru.	25
Figura 2.6 – Subunidades da fibra de celulose na parede secundária da fibra de algodão.....	27
Figura 2.7 – Representação esquemática da cadeia de pectina.	29
Figura 2.8 – Estrutura química primária de uma molécula de pectina. Os resíduos de ramnose, galactose, arabinose, xilose e outros não estão incluídos.	29
Figura 2.9 – Interconexões entre celulose e outros componentes não celulósicos na parede primária da fibra de algodão.	35
Figura 2.10 – Biopurga de algodão com pectinase: A) pectinase em contato com pectinas; B) pectinase digerindo pectinas; e C) após uma biopurga completa com pectinase.	35
Figura 2.11 – Modo de ação das enzimas pectinases em uma molécula de pectina.	39
Figura 2.12 – Publicações acadêmicas sobre biopurga e algodão no banco de dados Scopus (situação: 25 de março, 2021).....	41
Figura 2.13 – Retirada direta de água para produção de tecidos de algodão.	57
Figura 3.1 – Representação esquemática da estrutura do algodão, destacando a parede primária e o gradiente de concentração dos materiais não celulósicos na matriz de celulose.	60
Figura 3.2 – Modo de ação enzimática das pectato liases em uma molécula de pectina, de acordo com LINHARDT; GALLIHER; COONEY (1986).	61
Figura 3.3 – Publicações relatadas para pectato liase pelo Web of Science.	62
Figura 3.4 – Perfil representativo dos tratamentos enzimáticos.....	66
Figura 3.5 – Gráficos das interações: a) T e pH; b) T e concentração de surfactante; e c) pH e concentração de surfactante.....	71
Figura 3.6 – Superfície de resposta com a dependência da atividade enzimática da pectato liase (U/mL) frente às variáveis independentes temperatura (°C) e pH.	72
Figura 3.7 – Superfície de resposta com a dependência da atividade enzimática da pectato liase (U/mL) frente às variáveis independentes pH e concentração de surfactante (g/L).....	72
Figura 3.8 – Propriedades físico-químicas dos tecidos de algodão tratados com pectato liase e controle: (a) perda de massa, (b) grau de branco e (c) hidrofiliabilidade, respectivamente.....	75

Figura 3.9 – Gota de água destilada sobre a superfície da malha crua, durante o teste de hidrofili­dade.	77
Figura 3.10 – Imagens de MEV da superfície de tecidos de algodão (a) cru e (b) após tratamento com a enzima pectato liase (x1000 e x5000), respectivamente.....	79
Figura 4.1 – Diagrama esquemático da microestrutura do algodão, mostrando a distribuição de celulose e de outros materiais não celulósicos nas várias camadas de fibra. (A dimensão da parede celular não está em escala).....	82
Figura 4.2 – Modo de ação enzimática das pectato liases em uma molécula de pectina.	83
Figura 4.3 – Perfil representativo dos tratamentos enzimáticos.....	86
Figura 4.4 – Variação na intensidade de cor após tingimento com o corante vermelho de rutênio, para visualizar a extensão de remoção de pectina dos tecidos de algodão.....	95
Figura 4.5 – Hidrofili­dade, capilaridade e conteúdo de pectina residual dos tecidos de algodão tratados com 1 g/L de pectinase (A-D) e convencionalmente (alcalino).	96
Figura 4.6 – Medições espectrais FTIR das amostras de tecidos de algodão cru (linha preta) e após os tratamentos A (linha verde), B (linha rosa), C (linha azul), D (linha amarela) e purga alcalina (linha vermelha).	99
Figura 4.7 – Espectros de FTIR. Os tecidos de algodão foram tratados com pectinase (1 g/L) com pós-lavagem a 55 °C (linha preta), 70 °C (linha vermelha) ou 90 °C (linha verde).	101
Figura 4.8 – Efeito de diferentes vias de limpeza na resistên­cia ao arrebentamento/estouro dos tecidos de algodão.	103
Figura 4.9 – Imagens MEV da superfície dos tecidos de algodão (a) cru, (b) tratados com purga alcalina, e tratados com enzima pectato liase nos tratamentos (c) B e (d) D* (Aumento de x1.000, x2.500 e x5.000), nessa ordem.	105
Figura 5.1 – Representação esquemática da estrutura do algodão, mostrando a distribuição de celulose e de outros materiais não celulósicos nas várias camadas de fibra. Essa representação esquemática foi redesenhada com base nas publicações anteriores de AGRAWAL (2005) e BESEGATTO et al. (2018).	110
Figura 5.2 – Estrutura química primária de uma molécula de pectina.	112
Figura 5.3 – Interconexões entre a celulose e outros componentes não celulósicos na parede celular primária da fibra do algodão. Redesenhado com base na publicação anterior de AGRAWAL et al. (2007).	112
Figura 5.4 – Publicações acadêmicas sobre biopurga e pectinase no banco de dados Scopus (situação: 24 de maio, 2021).....	114
Figura 5.5 – Perfil de processo para biopurga enzimática de malhas de algodão.	116
Figura 5.6 – Perfil de processo para purga alcalina de malhas de algodão.	117
Figura 5.7 – Efeito do tempo de incubação na atividade residual da enzima pectinase.....	121
Figura 5.8 – Pigmentação da solução de biopurga nos banhos 1 (inicial) e 10 (final), respectivamente.	125

Figura 5.9 – Hidrofilidade e capilaridade dos tecidos de algodão tratados com BioPrep® 3000 L em função da reutilização dos banhos enzimáticos (1-10).....	127
Figura 5.10 – Hidrofilidade e conteúdo de pectina residual dos tecidos de algodão tratados por enzimas com reutilização do banho (1-10).....	128
Figura 5.11 – Imagens MEV da superfície dos tecidos de algodão cru e tratados por enzimas nos banhos 1, 4, 7 e 10, nessa ordem. (Aumento de 2.500 e 5.000 x).	129
Figura 5.12 – Medições espectrais FTIR das amostras. Fibras de algodão tratadas com reúso de pectinase nos banhos (a) 1; (b) 4; (c) 7 e (d) 10. (e) Fibras de algodão cru.	131
Figura 5.13 – Aparência visual dos tecidos tingidos com 1,7 % (s.p.m.) de corante reativo azul C.I. 222.	133
Figura 5.14 – Comparação das curvas de tingimento dos tecidos de algodão tratados por enzimas com reutilização do banho (1, 4, 7 e 10) e convencionalmente (A).....	134
Figura 5.15 – Hidrofilidade e intensidade colorística K/S dos tecidos de algodão tratados por enzimas com reutilização do banho (1, 4, 7 e 10) e convencionalmente (A).....	134
Figura 6.1 – Efeito do biobranqueamento com lacase nas amostras de algodão cru.	138
Figura 6.2 – Efeito do biobranqueamento com lacase nas amostras de algodão biopurgado.	139

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Valores típicos para a composição química de uma fibra de algodão madura.	26
Tabela 2.2 – Propriedades físicas e mecânicas de fibras de algodão.	27
Tabela 2.3 – Etapas de preparação do tecido de algodão com os respectivos químicos e as principais enzimas desenvolvidas para cada processo.	31
Tabela 2.4 – Exemplos de preparações enzimáticas comerciais para biopurga de algodão.	34
Tabela 2.5 – Classificação das enzimas pécicas.	39
Tabela 2.6 – Características dos estudos acerca da biopurga de algodão, 1998-2021.	42
Tabela 2.7 – Reações catalisadas enzimaticamente para branqueamento de algodão.	49
Tabela 3.1 – Níveis reais e codificados das variáveis estudadas e matriz do planejamento experimental fatorial 2^3 completo com ponto central.	65
Tabela 3.2 – Atividade da enzima pectato liase em diferentes temperatura (x_1), pH (x_2) e concentração de surfactante (x_3).	68
Tabela 3.3 – Efeito das variáveis estudadas sobre a atividade da enzima pectato liase.	69
Tabela 3.4 – ANOVA do planejamento experimental fatorial 2^3 completo com ponto central.	73
Tabela 4.1 – Abreviações e descrições de todos os tratamentos.	85
Tabela 4.2 – Comparação das propriedades físico-químicas dos tecidos de algodão tratados por enzimas (A-D) e convencionalmente (alcalino).	91
Tabela 4.3 – Efeito da concentração de surfactante na etapa de pós-lavação, sobre as propriedades físico-químicas dos tecidos de algodão.	100
Tabela 4.4 – Efeito da temperatura na etapa de pós-lavação, sobre as propriedades físico-químicas dos tecidos de algodão.	101
Tabela 4.5 – Medições de cores dos tecidos tingidos.	102
Tabela 5.1 – Comparação das propriedades físico-químicas dos tecidos de algodão tratados por enzimas com reutilização do banho (1-10) e convencionalmente (alcalino).	122
Tabela 5.2 – Comparação dos valores de absorção de água dos tecidos de algodão tratados por enzimas com reutilização do banho (1-10) e convencionalmente (alcalino), mediante o tempo de hidrofildade, capilaridade e ângulo de contato.	126
Tabela 5.3 – Medições de cores dos tecidos tingidos.	132

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1. OBJETIVOS	17
1.2. ESTRUTURA DA TESE	17
2. REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1. INDÚSTRIA TÊXTIL	21
2.2. ALGODÃO.....	23
2.3. BIOPREPARAÇÃO DO ALGODÃO NA INDÚSTRIA TÊXTIL	30
2.4. BIOPURGA	32
2.4.1. Enzimas Pectinases	39
2.4.2. O estado da arte da biopurga de algodão	41
2.5. BIOBRANQUEAMENTO	49
2.6. BIOPROCESSOS DE PREPARAÇÃO COMBINADOS	53
2.7. ÁGUA NA INDÚSTRIA TÊXTIL	56
3. COMPREENENDO OS EFEITOS DOS PARÂMETROS DE PROCESSO NA BIOPURGA DO ALGODÃO E SUAS INTERAÇÕES NA ATIVIDADE DA PECTATO LIASE POR ANÁLISE DE PLANEJAMENTO FATORIAL	59
3.1. INTRODUÇÃO	59
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	63
3.2.1. Material	63
3.2.2. Parte experimental 1 – Atividade enzimática em ácido poligalacturônico .	63
3.2.2.1. Ensaio de atividade enzimática.....	63
3.2.2.2. Desenho experimental para caracterização da enzima.....	64
3.2.2.3. Análises estatísticas	65
3.2.3. Parte experimental 2 – Biopurga de algodão com pectato liase	65
3.2.3.1. Biopurga enzimática dos tecidos de algodão	65
3.2.3.2. Determinação dos efeitos da biopurga nos tecidos de algodão.....	66
3.2.3.3. Análises estatísticas	67
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
3.3.1. Efeito multivariado do pH, da temperatura e da concentração de surfactante na atividade da enzima pectato liase	67
3.3.2. Biopurga com pectato liase	74
3.4. CONCLUSÃO	80
4. AVANÇOS NA BIOPURGA SUSTENTÁVEL DE TECIDOS DE ALGODÃO: AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PÓS-TRATAMENTOS PARA MELHORAR A MOLHABILIDADE DO TECIDO	81
4.1. INTRODUÇÃO	81
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	84
4.2.1. Substrato têxtil e enzima	84
4.2.2. Tratamentos enzimáticos nos tecidos de algodão	85
4.2.3. Tratamento convencional nos tecidos de algodão	86
4.2.4. Análise dos tecidos	87
4.2.4.1. Perda de massa.....	87
4.2.4.2. Hidrofilidade (absorção de gotas de água, teste da gota).....	87
4.2.4.3. Capilaridade (altura de absorção vertical, altura de subida).....	87
4.2.4.4. Remoção de pectina	88

4.2.4.5. Grau de branco	88
4.2.4.6. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	88
4.2.4.7. Tingimento	89
4.2.4.8. Resistência física ao estouro	89
4.2.4.9. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	89
4.2.5. Análise estatística.....	89
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	90
4.3.1. Efeito das biopurgas nas propriedades físico-químicas do tecido de malha de algodão.....	90
4.3.1.1. Perda de massa	92
4.3.1.2. Hidrofilidade e capilaridade.....	93
4.3.1.3. Remoção de pectina	94
4.3.1.4. Grau de branco	97
4.3.1.5. Caracterização das fibras de algodão com espectroscopia FTIR.....	98
4.3.2. Influência da concentração de surfactante e da temperatura na etapa de pós-lavagem, após a biopurga	99
4.3.3. Biopurga versus purga convencional alcalina	102
4.4. CONCLUSÃO	107
5. UMA ABORDAGEM SUSTENTÁVEL PARA A BIOPURGA DE ALGODÃO: REUTILIZAÇÃO DA ENZIMA PECTATO LIASE CONTIDA NO BANHO DE TRATAMENTO	108
5.1. INTRODUÇÃO	110
5.2. MATERIAL E MÉTODOS	114
5.2.1. Material	114
5.2.2. Atividade e estabilidade da enzima durante o tempo de incubação	115
5.2.3. Tratamentos enzimáticos nos tecidos de algodão – Biopurga	115
5.2.4. Tratamento convencional nos tecidos de algodão.....	116
5.2.5. Procedimento de tingimento	117
5.2.6. Análise das amostras	117
5.2.6.1. Perda de massa	117
5.2.6.2. Grau de branco, amarelecimento e claridade	118
5.2.6.3. Conteúdo de pectina.....	118
5.2.6.4. Hidrofilidade	118
5.2.6.5. Capilaridade	119
5.2.6.6. Medição do ângulo de contato	119
5.2.6.7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	119
5.2.6.8. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	119
5.2.6.9. Coordenadas colorimétricas e força colorística (K/S)	120
5.2.7. Análise estatística.....	120
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	120
5.3.1. Estudo do tempo de incubação da enzima	120
5.3.2. Avaliação dos ciclos de biopurga.....	122
5.3.3. Caracterização das fibras	128
5.3.4. Avaliação do processo de coloração	132
5.4. CONCLUSÃO	135
6. BRANQUEAMENTO ENZIMÁTICO DE TECIDOS DE ALGODÃO COM LACASE	136
6.1. INTRODUÇÃO	136
6.2. MATERIAL E MÉTODOS	137

6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	137
6.4. CONCLUSÃO	140
7. CONCLUSÕES GERAIS	141
REFERÊNCIAS	143
APÊNDICE A: Primeira página do artigo 1 (capítulo 3)	155
APÊNDICE B: Primeira página do artigo 2 (capítulo 4)	156
APÊNDICE C: Material suplementar para o capítulo 3	157
APÊNDICE D: Material suplementar para o capítulo 4	159
APÊNDICE E: Material suplementar para o capítulo 6	160
APÊNDICE F: Resultados adicionais, que não foram incluídos nos artigos científicos	161
APÊNDICE G: Imagens de alguns equipamentos que foram usados na pesquisa	164

1. INTRODUÇÃO

A indústria têxtil é uma das indústrias mais antigas, diversificadas e maiores do mundo (PENSUPA et al., 2017), estando presente em todos os países, abrangendo diferentes categorias de consumo e tendo uma enorme relevância nas dimensões sócio-política, econômica e cultural (FUJITA; JORENTE, 2015). Essa indústria tem quase 200 anos no Brasil, que é referência mundial em design de moda praia, “jeanswear” e “homewear”, o quarto maior produtor e consumidor de denim do mundo e o quarto maior produtor de malhas do mundo (ABIT, 2020). O algodão, por sua vez, é uma importante fibra natural e um dos materiais mais utilizados na indústria têxtil e de vestuário (DEMIR et al., 2018).

As fibras de algodão precisam passar por vários processos químicos de preparação têxtil para obter as propriedades adequadas para uso (AGRAWAL, 2005), pois a absorção de água e a branqueamento do algodão cru são insuficientes (BUSCHLE-DILLER et al., 1999). Uma purga alcalina com hidróxido de sódio, seguida pelo branqueamento com peróxido de hidrogênio, geralmente têm sucesso tanto na remoção das impurezas hidrofóbicas, quanto na descoloração das impurezas coloridas (HARDIN, 2010). Entretanto, grandes quantidades de produtos químicos poluentes, energia e água são necessárias, resultando em correspondentes emissões de gases de efeito estufa, rejeitos sólidos e líquidos contaminados (HASANBEIGI; PRICE, 2015). A descarga de produtos químicos nocivos torna os efluentes altamente tóxicos, com sérios impactos na saúde humana e no meio ambiente (KHATTAB; ABDELRAHMAN; REHAN, 2020), se estes não forem tratados adequadamente (HASANBEIGI; PRICE, 2015). Além disso, a preparação química realizada em condições severas de pH e temperatura pode causar despolimerização da celulose e redução da resistência física das fibras, levando a uma menor qualidade dos produtos de algodão (ABDULRACHMAN et al., 2017; SINGH et al., 2018; XIAOKANG; HAITAO; JIANYONG, 2019).

Enzimas são proteínas biodegradáveis e seu uso pode contribuir para superar esses problemas. A biopreparação de fibras têxteis é uma área muito promissora, porque os componentes das fibras como gorduras, ceras, pectinas, proteínas, corantes, entre outros, são substratos ideais para diferentes classes de enzimas (ANDREAUS et al., 2019). Muitos processos de biopreparação foram então propostos, para substituir os processos convencionais com produtos químicos, conservar água e energia, reduzir o impacto ambiental e diminuir os danos às fibras (BESEGATTO et al., 2018). As condições operacionais com enzimas são mais suaves, incluindo temperaturas mais baixas, pH mais neutro e menor consumo de água (devido às etapas reduzidas de enxágue e uso de água de resfriamento) (HASANBEIGI; PRICE, 2015;

HUSSAIN; WAHAB, 2018). Os tratamentos podem ser feitos nas máquinas e instalações existentes com a omissão de reagentes agressivos e perigosos. Como as enzimas têm excelente seletividade de substrato, a biopreparação é segura, fácil de controlar e somente agirá em substratos específicos da superfície das fibras de algodão (HARDIN, 2010; MOJSOV, 2012). As pectinases, por exemplo, são enzimas que degradam pectina e são as mais eficazes na biopurga dos tecidos de algodão (AGRAWAL et al., 2007). As lacases têm se revelado com potencial de aplicação para o biobranqueamento (GONÇALVES et al., 2014; PEREIRA et al., 2005; SPINA et al., 2016; TIAN et al., 2012; TÜLEK et al., 2021; TZANOV et al., 2003a).

Todavia, embora existam algumas tecnologias de biopreparação exploradas com êxito nas indústrias têxteis, os pesquisadores ainda estão tentando encontrar meios confiáveis para expandir os horizontes do laboratório para a escala industrial (SHAHID et al., 2016). Para convencer os fabricantes do segmento têxtil a migrar de processos convencionais para processos enzimáticos, o último deverá ser simples, de custo igual ou menor, gerar efluente em menor volume e comprovadamente mais fácil de tratar, e o tecido produzido de mesma ou melhor qualidade (HARDIN, 2010). Como as enzimas apresentam custos mais elevados do que os materiais convencionais (HARDIN, 2010), sua reutilização pode ser uma solução para tornar o seu uso mais econômico, já que como biocatalisadores não são consumidas durante as reações (MADHU; CHAKRABORTY, 2017). A reciclagem e o reaproveitamento das enzimas tornariam o processo mais viável economicamente e facilitaria a substituição dos produtos químicos no preparo do algodão (MADHU; CHAKRABORTY, 2017).

Paralelamente, conservar água e mitigar a poluição da água serão cruciais para a indústria têxtil moderna e farão parte da estratégia para tornar seus processos produtivos mais ecologicamente corretos, especialmente em partes do mundo onde a água é escassa (HASANBEIGI; PRICE, 2015; REIS et al., 2017). Segundo Holkar et al. (2016), a água residual é um grande impasse ambiental para o crescimento da indústria têxtil e o interesse hoje está em tecnologias que possam produzir água reutilizável. As tecnologias de reutilização da água oferecem reduções potenciais na retirada direta de água da natureza, com um retorno sobre o capital investido em meses (CHEN et al., 2019), e também podem resultar em múltiplos co-benefícios ambientais (redução da poluição) e sociais (melhoria da saúde humana), que se forem quantificados em valores monetários, aumentarão o custo-benefício dessas tecnologias emergentes (HASANBEIGI; PRICE, 2015).

Há uma imensa pressão sobre a indústria de processamento têxtil para desenvolver tecnologias sustentáveis, de baixo custo e altamente competitivas (SHAHID et al., 2016), e o uso de enzimas, em diferentes etapas, pode ser a chave para alcançar a ecoeficiência na cadeia

têxtil, minimizar o uso de recursos naturais e mudar as práticas de produção (ANDREAUS et al., 2019).

1.1. OBJETIVOS

Estabelecer melhorias na biopreparação do algodão cru, com foco na biopurga e na reutilização do banho de enzimas para remoção de impurezas não celulósicas, com benefícios à qualidade do produto e ao processo. Para atingir o objetivo geral, os objetivos específicos definidos estão listados abaixo:

- i. Fazer uma revisão da literatura, para identificar o estado da arte da biopreparação do algodão;
- ii. Avaliar o efeito multivariado do pH, da temperatura e da concentração de surfactante não iônico sobre a atividade da pectinase comercial Bioprep[®] 3000 L, utilizando planejamento fatorial 2³ completo com ponto central;
- iii. Aplicar a enzima pectinase comercial Bioprep[®] 3000 L na biopurga de tecidos de malha 100 % algodão, selecionando as melhores condições operacionais;
- iv. Avaliar os efeitos da temperatura e da adição de surfactante na etapa de lavagem, após a biopurga, no tocante ao desempenho dos substratos biopurgados, sobretudo em termos de mudança na hidrofiliabilidade;
- v. Explorar o reúso do banho enzimático no processo de biopurga têxtil;
- vi. Testar o uso da enzima lacase comercial Novozym[®] 51003 no biobranqueamento de malhas 100 % algodão;
- vii. Analisar os tecidos de algodão tratados enzimaticamente quanto às suas propriedades físico-químicas e têxteis;
- viii. Quantificar e comparar os resultados dos tratamentos enzimáticos com o processo convencional da indústria têxtil.

1.2. ESTRUTURA DA TESE

A tese foi estruturada no formato de artigos científicos, com a inclusão dos manuscritos resultantes da pesquisa, e está dividida em sete capítulos: (1) introdução, (2) revisão da literatura, (3) artigo 1, (4) artigo 2, (5) artigo 3, (6) artigo 4 e (7) conclusões gerais. Uma lista de referências é fornecida no final.

A revisão da literatura começa com uma visão geral da indústria têxtil, com destaque para a fibra de algodão e sua composição química. Em seguida, os processos de biopreparação do algodão são apresentados e um relatório do estado da arte sobre a biopurga é fornecido. Os artigos usados foram coletados principalmente na base de periódicos “Scopus”.

O artigo 1 foi intitulado “COMPREENDENDO OS EFEITOS DOS PARÂMETROS DE PROCESSO NA BIOPURGA DO ALGODÃO E SUAS INTERAÇÕES NA ATIVIDADE DA PECTATO LIASE POR ANÁLISE DE PLANEJAMENTO FATORIAL”. **Plano de estudos:** Foi feita a caracterização de uma pectato liase comercial (BioPrep[®] 3000 L) em diferentes temperatura (40, 50 e 60 °C), pH (7, 8 e 9) e concentração de surfactante não iônico (0,0; 0,5 e 1,0 g/L), e a avaliação do seu potencial para aplicação na biopurga têxtil sob condições otimizadas por projeto experimental. O surfactante é um aditivo complementar na composição do banho de biopurga e a estabilidade da enzima ao agente surfactante é um parâmetro importante que permite que as enzimas sejam usadas em diferentes tipos de indústrias (OUMER; ABATE, 2017). **Resultados gerais e conclusões:** A máxima atividade enzimática ($618,17 \pm 70,67$ U/mL) foi identificada na temperatura de 60 °C, pH 9 e na ausência de surfactante. Diante disso, a biopurga foi realizada a 55 °C e pH 8,5, ambos ligeiramente abaixo da condição ótima, considerando que condições menos severas seriam benéficas, sobretudo no que se refere à reutilização futura da enzima, para não causar prejuízos ao desempenho da enzima por desnaturação e para que esta tenha alta atividade ainda. A enzima (1 g/L) mostrou alto potencial biotecnológico na biopurga de algodão e a ação benéfica do surfactante na biopurga, sobre a absorção de água dos tecidos (≈ 5 s), ao menos compensou por uma atividade enzimática eventualmente reduzida.

O artigo 1 foi publicado no periódico “THE JOURNAL OF THE TEXTILE INSTITUTE”. Bruna Lyra Colombi, Quesli Martins, Cintia Kopsch Imme, Diofer Barboza Da Silva, José Alexandre Borges Valle, Jürgen Andreaus, Manuel José Lis Arias, Rita De Cássia Siqueira Curto Valle. Understanding the effects of process parameters in the bioscouring of cotton and their interactions on pectate lyase activity by factorial design analysis. **The Journal of The Textile Institute**, 2021. DOI: 10.1080/00405000.2021.1907987.

O artigo 2 foi intitulado “AVANÇOS NA BIOPURGA SUSTENTÁVEL DE TECIDOS DE ALGODÃO: AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PÓS-TRATAMENTOS PARA MELHORAR A MOLHABILIDADE DO TECIDO”. **Plano de estudos:** A ideia foi estabelecer um roteiro para a biopurga de algodão, utilizando a preparação de pectinase comercial BioPrep[®] 3000 L em condições brandas de pH (8,5), tempo (30 min) e temperatura (55 °C), sob uma variedade de pós-tratamentos com variação da temperatura (55, 70 e 90 °C) e da concentração

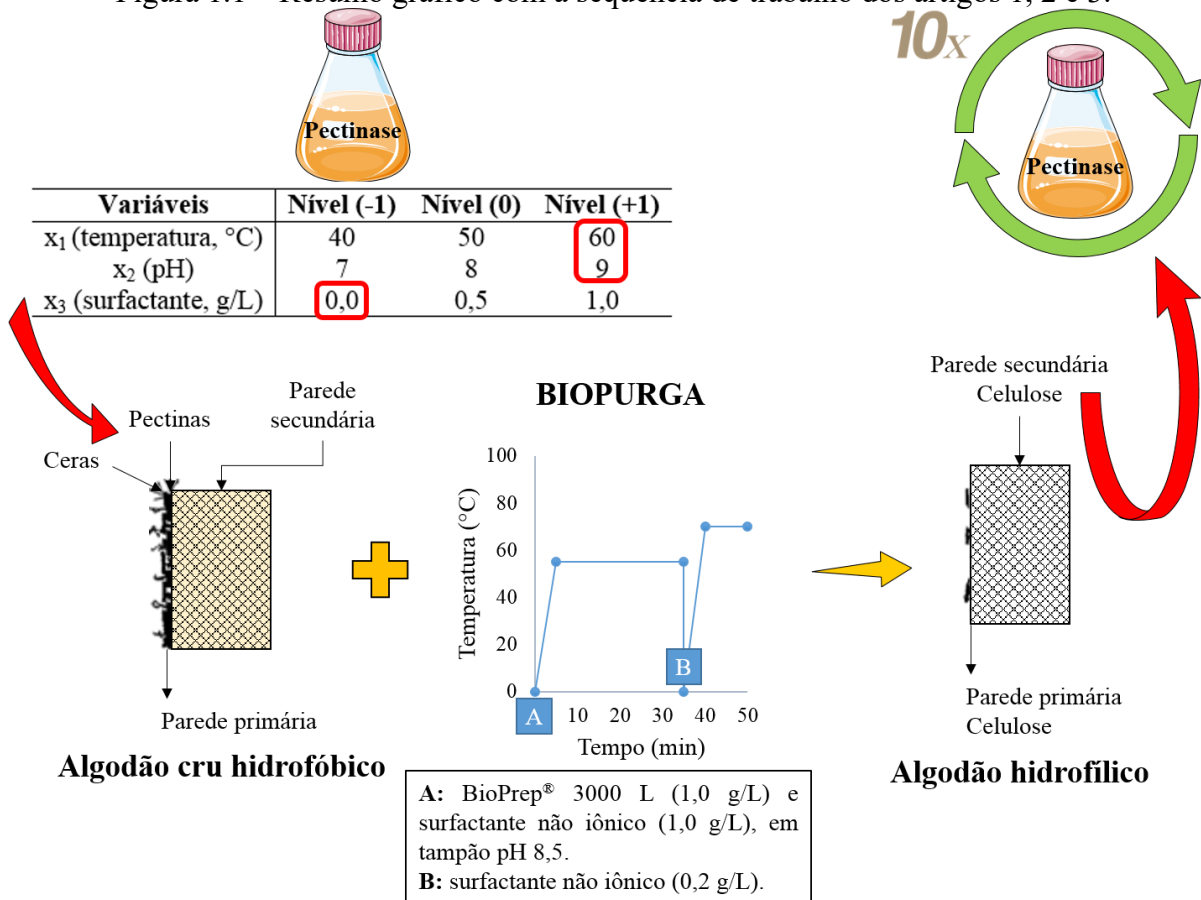
de surfactante não iônico (0-1,0 g/L). Com isso reunir várias informações-chave do processo (informações geralmente estão espalhadas por vários artigos diferentes) para explorar reais possibilidades de aplicação industrial. **Resultados gerais e conclusões:** Este estudo forneceu um entendimento sobre a previsibilidade do desempenho de limpeza da biopurga, ao decidir alguns parâmetros do processo. A enzima foi capaz de degradar especificamente as substâncias pécnicas (≥ 95 %) do algodão, mas propriedades de absorção de água satisfatórias só foram alcançadas com uma etapa posterior de lavagem a quente. Foi observado que 0,2 g/L de surfactante e 70 °C foram essenciais e suficientes na etapa de pós-tratamento, para ruptura e remoção da camada de ceras do algodão cru, enquanto a maior parte da biopurga atual é realizada com um procedimento de emulsificação em alta temperatura acima de 80 °C, o que é uma vantagem ambiental e econômica interessante.

O artigo 2 foi publicado no periódico “CLEANER ENGINEERING AND TECHNOLOGY”. Bruna Lyra Colombi, Rita De Cássia Siqueira Curto Valle, José Alexandre Borges Valle, Jürgen Andreaus. *Advances in sustainable enzymatic scouring of cotton textiles: Evaluation of different post-treatments to improve fabric wettability. Cleaner Engineering and Technology*, v. 4, n. 100160, 2021. DOI: 10.1016/j.clet.2021.100160.

O artigo 3 foi intitulado “UMA ABORDAGEM SUSTENTÁVEL PARA A BIOPURGA DE ALGODÃO: REUTILIZAÇÃO DA PECTATO LIASE CONTIDA NO BANHO DE TRATAMENTO”. **Plano de estudos:** A indústria têxtil utiliza grandes quantidades de água, energia, produtos químicos e matérias-primas, e nas últimas décadas, tornou-se importante economizar esses insumos. Com o procedimento de biopurga já bem estabelecido nos artigos anteriores, a reutilização do banho de biopurga foi avaliada, diferentemente da maioria das biopurgas que são realizadas usando uma solução enzimática fresca. Cerca de 90 % do banho de limpeza bruto contendo pectinase foi recuperado, completado com 10 % de solução enzimática nova e reutilizado na biopurga. **Resultados gerais e conclusões:** Até dez ciclos consecutivos de reutilização foram possíveis, resultando em uma diminuição de 95 % de pectina no tecido e uma hidrofiliabilidade aceitável para processamentos industriais de tingimento, estamparia e acabamento (≈ 30 s). A reutilização do banho biológico de biopurga torna o processo baseado em enzimas mais competitivo e atende as necessidades da indústria têxtil moderna, por um processamento mais ecológico e sustentável.

Uma representação gráfica com a sequência de trabalho dos artigos 1, 2 e 3 é mostrada na Figura 1.1.

Figura 1.1 – Resumo gráfico com a sequência de trabalho dos artigos 1, 2 e 3.



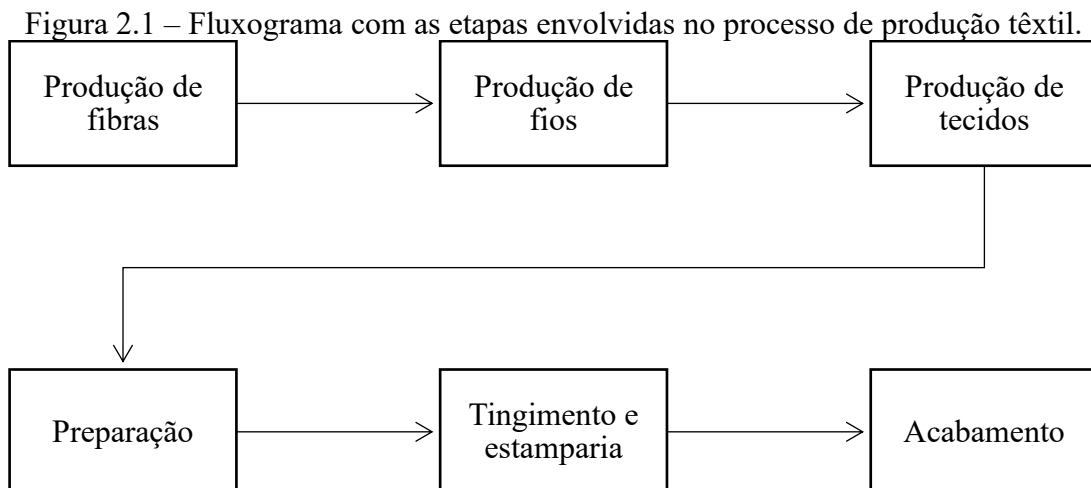
O artigo 4 é um resumo expandido intitulado “BRANQUEAMENTO ENZIMÁTICO DE TECIDOS DE ALGODÃO COM LACASE”. A purga enzimática não é suficiente em relação ao grau de branco e um branqueamento adicional é comumente necessário para remover as impurezas amarelas das fibras de algodão, antes do tingimento e acabamento (BABU et al., 2007; ŠPIČKA et al., 2015). No artigo 4, fez-se o biobranqueamento do algodão com uma enzima lacase comercial Novozym® 51003 e, embora os dados disponíveis sejam preliminares, indicam que a abordagem é promissora para uma investigação mais completa.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. INDÚSTRIA TÊXTIL

Muito além das nossas roupas, os produtos desta indústria revestem móveis, protegem-nos do sol, estão em nossos calçados. Para além das fronteiras de nossa visão, percebemos que materiais têxteis estão presentes nos meios de transporte, nas edificações e em muitos outros processos industriais. Se expandirmos ainda mais nossa observação, é possível notar que, não importa o tamanho de uma cidade, sempre haverá algum negócio relacionado ao setor, seja uma oficina de costura ou uma pequena loja de bairro. Seria difícil imaginar um mundo em que não houvesse produtos têxteis a nosso dispor para criarmos as mais variadas soluções e atendermos a diversas necessidades essenciais. (CNI, 2017, p. 11).

A indústria têxtil compreende um grupo diversificado e segmentado de estabelecimentos que produzem e/ou processam produtos relacionados à têxteis: fibras, fios e tecidos (BABU et al., 2007). Estabelecimentos têxteis recebem e preparam fibras, transformam fibras em fios, convertem o fio em tecidos ou produtos relacionados e, em seguida, tingem e finalizam esses materiais em vários estágios de produção (BABU et al., 2007; HOLKAR et al., 2016). O processo de conversão de fibras brutas em produtos acabados (sintetizado na Figura 2.1) é complexo e, por isso, a maioria das fábricas é especializada (BABU et al., 2007; PENSUPA et al., 2017).

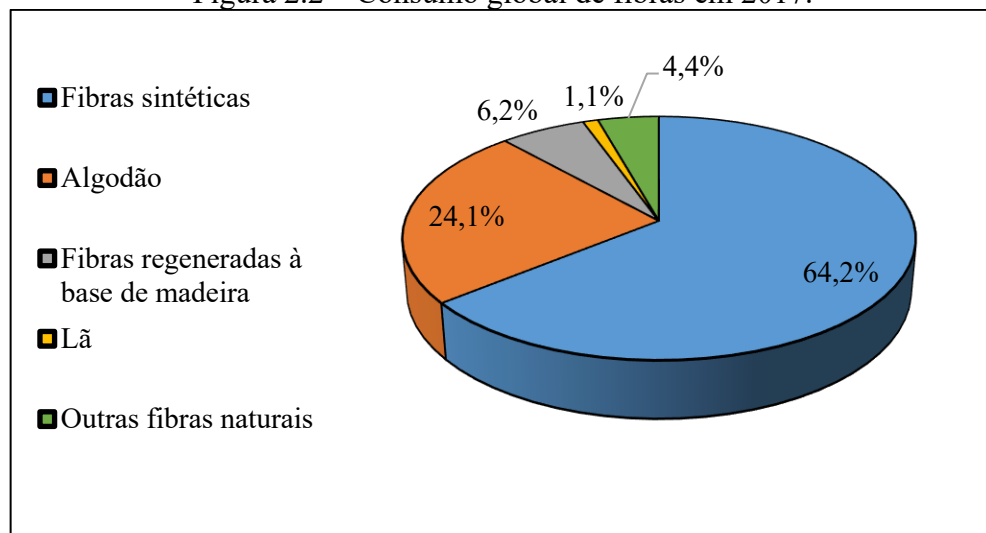


Fonte: Adaptado de PENSUPA et al. (2017).

Os produtos têxteis e o próprio setor são imprescindíveis na vida diária e estão sempre se expandindo, desde aplicações médico-hospitalares até aplicações na construção civil, tecnologias de nano fabricação e tecnologias aeroespaciais (PALAMUTCU, 2017). Com o aumento da população mundial, houve um aumento na demanda por produtos têxteis que levou

a um alto volume de produção de fibras têxteis (PENSUPA et al., 2017). Em 1975, aproximadamente 23,94 milhões de toneladas de fibras têxteis foram produzidas no mundo inteiro e esse número aumentou progressivamente para 108,3 milhões de toneladas em 2020 (FERNÁNDEZ, 2021), em que as fibras sintéticas à base de petróleo representavam mais de 60 % do consumo total (PALAMUTCU, 2017). Após a Segunda Guerra Mundial (1939-1945), surgiram as fibras sintéticas e o desenvolvimento de indústrias fabricantes de fibras sintéticas, e essas afetaram a produção de fibras naturais e as tendências de consumo (PENSUPA et al., 2017). Na atualidade, o consumo de fibras sintéticas é superior ao das fibras naturais e a Figura 2.2 mostra a distribuição do consumo de fibras em todo o mundo, em 2017.

Figura 2.2 – Consumo global de fibras em 2017.

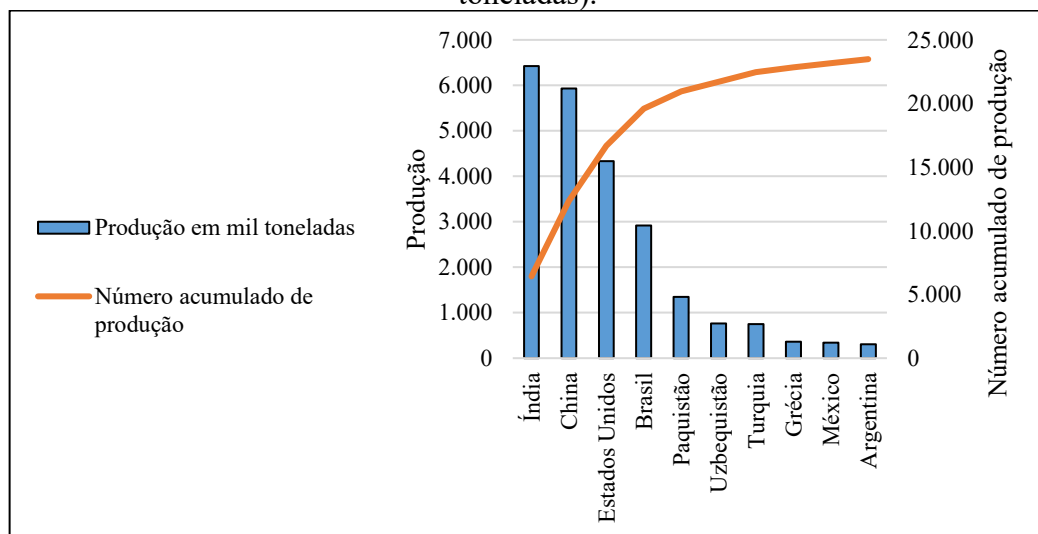


Fonte: Adaptado de PALAMUTCU (2017).

A expansão da indústria têxtil exerce também uma influência significativa na economia global (PENSUPA et al., 2017). A China, por exemplo, é o maior produtor e foi o principal exportador mundial de têxteis em 2019, com um valor a cerca de 120 bilhões de dólares de exportações (SABANOGLU, 2020). Segundo a Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção (ABIT, 2020), o Brasil é o quarto maior produtor de denim e de malhas do mundo (produção média têxtil de 2,04 milhões de toneladas), com um faturamento anual na ordem de 185,7 bilhões de dólares, mais de 25.000 empresas formais e 1,5 milhões de empregos diretos. O Brasil tem a maior cadeia têxtil completa do ocidente, a começar pela produção de fibras (plantação de algodão) até os desfiles de moda, transitando por fiações, tecelagens, beneficiadoras, confecções e forte varejo, representando um mercado dinâmico, sólido e de grande influência na economia (ABIT, 2020).

A indústria têxtil utiliza diferentes recursos/matérias-primas e a indústria têxtil baseada em algodão é a considerada neste estudo. A história de têxteis confeccionados de algodão é antiga (pré-histórica) e os primeiros registros remontam a 5.800 a.C., em restos de cápsulas e tecidos que foram encontrados numa caverna localizada no México (WULFHORST; GRIES; VEIT, 2006). O algodão foi a fibra dominante até o final do século XX, quando perdeu a posição privilegiada ao poliéster, mas continua muito à frente das outras fibras têxteis (EICHHORN et al., 2009; PALAMUTCU, 2017). Mais de 20 milhões de toneladas de algodão são produzidas anualmente e os principais países produtores incluem Índia, China, Estados Unidos e Brasil (Figura 2.3). Os consumidores continuam comprando grandes quantidades de produtos de algodão devido às características desejáveis: são absorventes de umidade, têm um bom caimento (leves e confortáveis) e têm longa durabilidade (SHAHBANDEH, 2020). Ramos comuns de aplicação comercial são em vestuário e artigos de cama, mesa, banho e decoração (WULFHORST; GRIES; VEIT, 2006).

Figura 2.3 – Os dez principais países produtores de algodão na safra 2019/2020 (em 1.000 toneladas).



Fonte: Adaptado de SHAHBANDEH (2020).

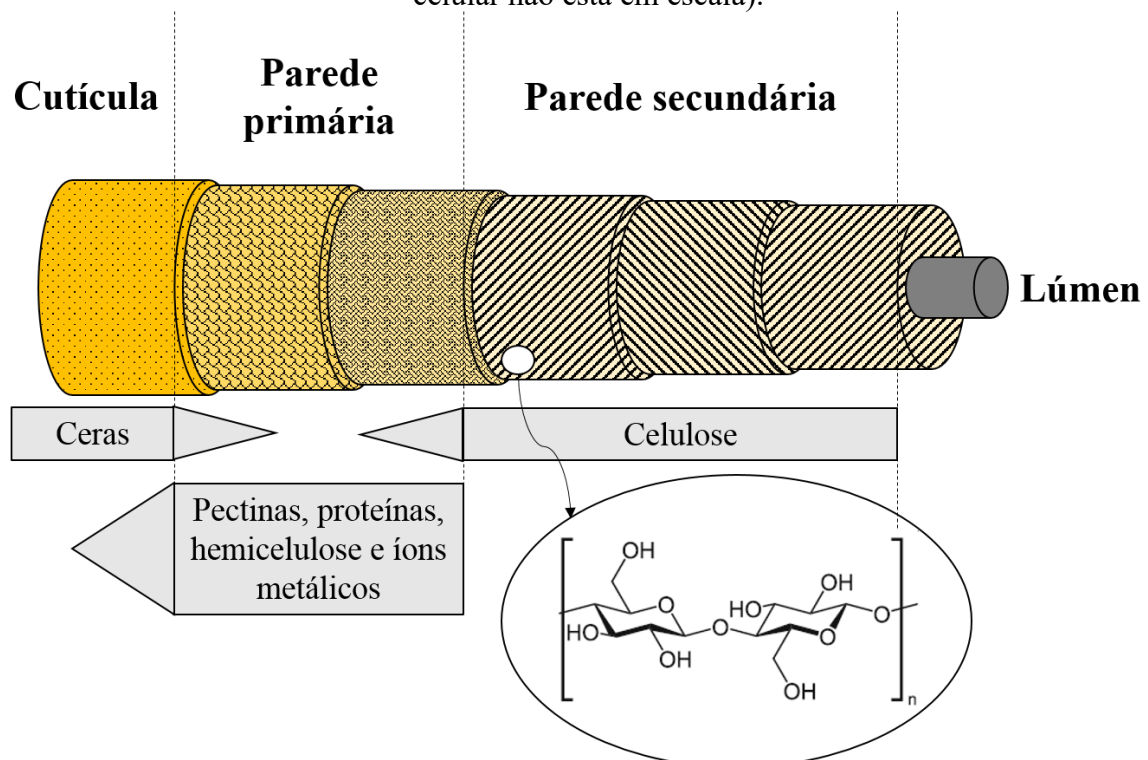
2.2. ALGODÃO

O algodão é uma fibra celulósica, unicelular, que se origina como uma pelugem na semente das plantas do gênero *Gossypium* (MOJSOV, 2012), cultivadas em regiões tropicais e subtropicais do mundo (EICHHORN et al., 2009). Das 50 espécies conhecidas, apenas 4 são cultivadas e de grande importância comercial (*G. hirsutum*, *G. herbaceum*, *G. barbadense* e *G. arboreum*), com as outras 46 espécies de algodão crescendo espontaneamente em estado

selvagem nos trópicos e subtropicais (EGBUTA et al., 2017). Cada semente hospeda cerca de 2.000 a 7.000 fibras, de cor geralmente branca cremosa ou amarelada (AGRAWAL, 2005).

A fibra de algodão (largura média de 11,5-20,0 μm) possui uma estrutura multicamadas com quatro camadas elementares (de fora para dentro, Figura 2.4): cutícula, parede primária, parede secundária e lúmen, que são diferentes estruturalmente e quimicamente (MOJSOV, 2012). A cutícula é uma fina membrana externa (2,5 % da massa da fibra), amorfa e composta por ceras, proteínas e pectinas, que protege o algodão contra ataques ambientais e contra a penetração de água (LI; HARDIN, 1997). A parede primária tem 0,1 μm de espessura, o que representa apenas 1 % da espessura total da fibra, e consiste em 52 % de celulose com uma mistura complexa de pectinas, ceras, proteínas, cinzas e outros compostos orgânicos compreendendo o restante (ETTERS, 1999). A parede secundária é a camada mais espessa (91,5 % da massa da fibra) formada por celuloses paralelas e sobrepostas (são camadas concêntricas de celulose com torções de forma alternada) e o lúmen é um canal central composto por resíduos protoplásmicos (LI; HARDIN, 1997; MOJSOV, 2012).

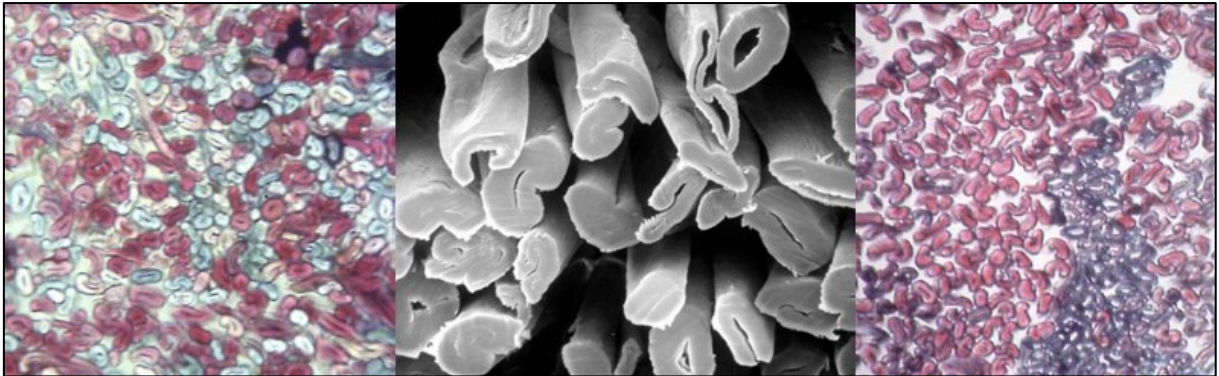
Figura 2.4 – Diagrama da microestrutura do algodão, mostrando a distribuição de celulose e de outros materiais não celulósicos nas várias camadas da fibra. (A dimensão da parede celular não está em escala).



Fonte: Este diagrama foi redesenhado com base na publicação de AGRAWAL (2005).

O lúmen é a parte “viva” da célula, cheia de líquido (PENSUPA et al., 2017), responsável pelo transporte de águas e nutrientes para a fibra durante o seu crescimento (PEREIRA et al., 2015). Na maturidade a fibra seca, a parede celular desincha e o lúmen colapsa, conferindo uma seção transversal típica em forma de rim (feijão) à fibra de algodão, de diâmetro irregular com torções ou convolações periódicas ao longo do comprimento (Figura 2.5) (KARMAKAR, 1999). As fibras de algodão maduras são então células secas, nas quais o lúmen se torna um espaço oco dentro da parede celular colapsada (PENSUPA et al., 2017). As fibras que eram cilíndricas se tornam fitas planas e torcidas, que podem se interligar quando fiadas para formar o fio, que é a base dos materiais têxteis de algodão (EICHHORN et al., 2009).

Figura 2.5 – Micrografia eletrônica de varredura da seção transversal de fibras de algodão cru.



Fonte: GOYNES (2003).

A composição química da fibra de algodão (Tabela 2.1) varia em função da variedade do algodão, do ambiente de cultivo (geologia, constituição do solo, condições climáticas, técnicas de cultivo, etc.) e do nível de maturação das fibras (DARIA; KRZYSZTOF; JAKUB, 2020). O teor de celulose, 88 a 96 %, aumenta com o aumento do grau de maturação (DARIA; KRZYSZTOF; JAKUB, 2020; MOJSOV, 2012). As impurezas não celulósicas variam de 4 a 12 %, sobre a massa total em base seca (KARMAKAR, 1999), e estão localizadas, sobretudo, no lado mais externo da fibra, na cutícula e na parede primária (STĂNESCU et al., 2010), sendo provável que a concentração aumenta à medida que a zona externa se aproxima (ETTERS, 1999).

Tabela 2.1 – Valores típicos para a composição química de uma fibra de algodão madura.

Constituintes	Quantidade total (% em base seca)	Quantidade na parede primária (% em base seca)
Celulose	88,0 – 96,5	52
Proteína	1,0 – 1,9	12
Ceras	0,4 – 1,2	7
Cinza (sais inorgânicos)	0,7 – 1,6	3
Pectinas	0,4 – 1,2	12
Outros (resinas, pigmentos, hemicelulose, açúcares, ácidos orgânicos, substâncias lenhosas incrustadas)	0,5 – 8,0	14

Fonte: ETTERS (1999); KARMAKAR (1999).

Dentre todas as fibras vegetais, o algodão apresenta o maior teor de celulose (DARIA; KRZYSZTOF; JAKUB, 2020): depósitos de celulose na parede celular secundária do algodão são a mais pura (concentrada) forma de celulose que ocorre no reino vegetal e que está disponível na natureza (TARCHEVSKY; MARCHENKO, 1991). A celulose, de fórmula geral $(C_6H_{10}O_5)_n$, é um polissacarídeo linear formado por moléculas de celobiose recorrentes, consistindo de dois anéis de glicose unidos entre si através de ligações glicosídicas do tipo β -1,4 (ver Figura 2.4) (PEREIRA et al., 2015). Duas unidades de glicose adjacentes são ligadas a partir da eliminação de uma molécula de água (H_2O) entre seus grupos hidroxilas (-OH) ligados ao carbono 1 e 4 (PEREIRA et al., 2015). Até 10.000 unidades de glicose, repetidas aproximadamente a cada 1,03 nm, podem ser encontradas nas cadeias celulósicas do algodão (KARMAKAR, 1999; PEREIRA et al., 2015), o que corresponde a uma massa molecular na faixa de 50.000-1.500.000 g/mol (MOJSOV, 2012).

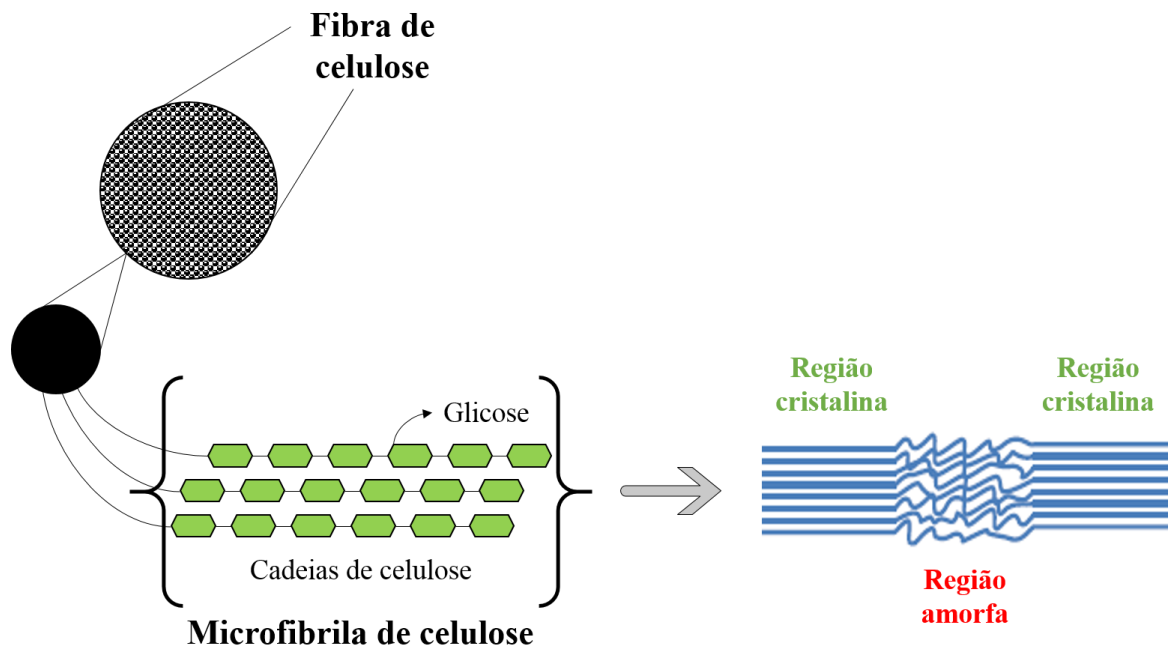
A celulose do algodão consiste em regiões cristalinas ($\approx 70\%$) e regiões amorfas ($\approx 30\%$) menos organizadas (Figura 2.6) (MOJSOV, 2012). Os grupos hidroxilas (-OH) ligados às unidades de anel podem se ligar às hidroximetilas (-CH₂OH) de cadeias próximas via ligações de hidrogênio, para formar as microfibrilas celulósicas compreendendo de 60 a 70 cadeias de celulose (Figura 2.6) (TARCHEVSKY; MARCHENKO, 1991). As cadeias se aderem entre si por ligações de hidrogênio e também por forças de Van der Waals (MOJSOV, 2012; PENSUPA et al., 2017). As microfibrilas formadas têm diâmetros de 10 a 30 nm e são orientadas no espaço de forma definida em ângulos (PEREIRA et al., 2015). Esses arranjos das moléculas de celulose, em relação umas às outras e ao eixo da fibra, dão as propriedades físicas da fibra de algodão como matéria-prima têxtil, bem como o seu comportamento químico e reatividade (MOJSOV, 2012). Algumas propriedades físicas e mecânicas estão listadas na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 – Propriedades físicas e mecânicas de fibras de algodão.

Comprimento médio (mm)	20,0 – 64,0
Largura média (μm)	11,5 – 20,0
Massa específica (g/cm^3)	1,5 – 1,6
Resistência à tração (MPa)	300 – 700
Alongamento na ruptura (%)	7,0 – 8,0
Módulo de Young (GPa)	5,0 – 13,0

Fonte: DARIA; KRZYSZTOF; JAKUB (2020).

Figura 2.6 – Subunidades da fibra de celulose na parede secundária da fibra de algodão.



Os componentes contendo nitrogênio constituem o maior percentual de impurezas do algodão bruto, quando expressos como proteína (1,1 – 1,9 %), e ocorrem no lúmen da fibra como resíduo protoplasmático e, em pequena porção, na parede primária (WAKELYN et al., 2006). A fibra de algodão contém proteínas e peptídeos, aminoácidos livres e nitrogênio não proteico (WAKELYN et al., 2006). Os componentes proteicos detectados são leucina, valina, prolina, alanina, oxi-proteína, treonina, ácido glutâmico, glicina, serina, ácido aspártico, asparagina, lisina e arginina, que podem ser convertidos em compostos solúveis e removidos por ebulição com álcalis (KARMAKAR, 1999).

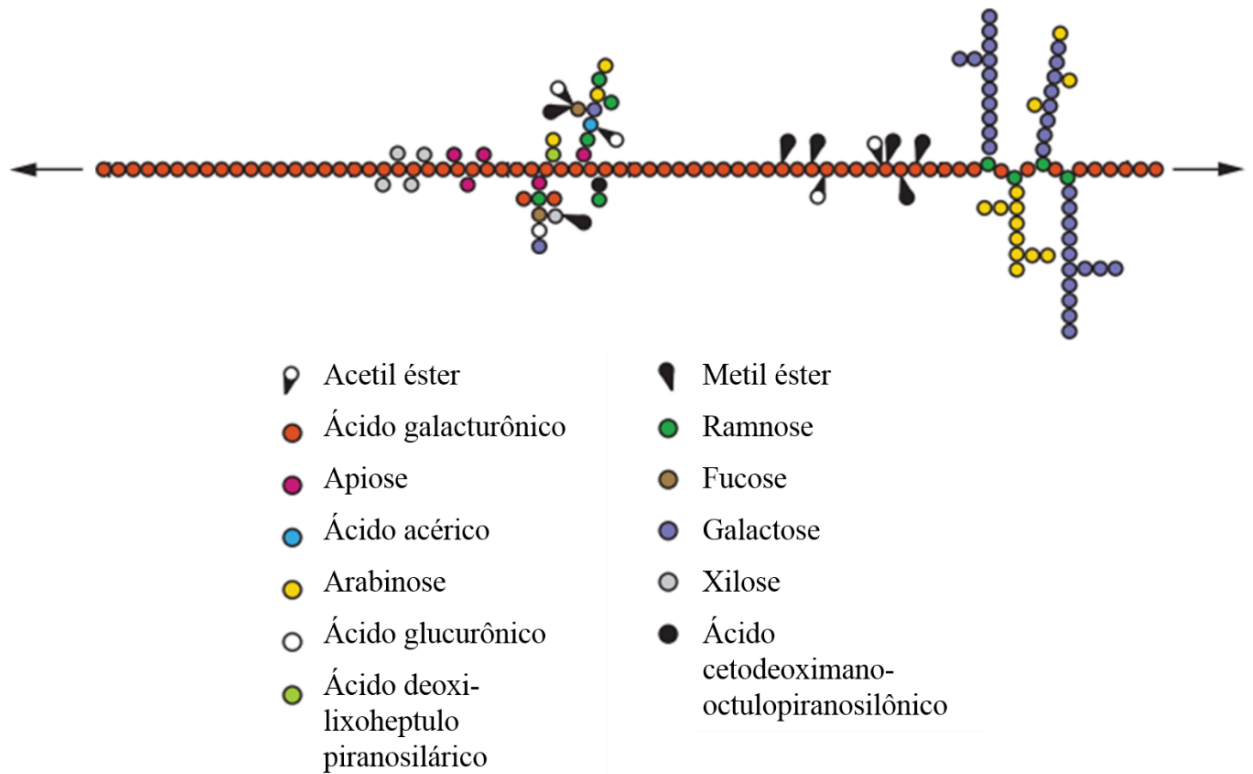
Álcoois primários ($\text{C}_{26}\text{-C}_{36}$) e ácidos graxos ($\text{C}_{16}\text{-C}_{36}$) são os principais componentes lipídicos da fibra de algodão madura (AGRAWAL et al., 2007). Óleos e ceras naturais são misturas de álcoois graxos, ácidos graxos saturados, ésteres de alta massa molecular, hidrocarbonetos saturados e insaturados, aldeídos, glicerídeos, compostos acíclicos, resinas,

cutina e suberina (AGRAWAL, 2005; ETTERS, 1999; HARDIN, 2010), que podem ter uma faixa bastante elevada e ampla de pontos de fusão, de 64 até 214 °C (AGRAWAL et al., 2007; SENTHIL RAJA et al., 2012), e podem ser classificados em: (1) saponificáveis (≈ 40 % do conteúdo total) e (2) não saponificáveis (≈ 60 %) (AGRAWAL et al., 2007). Dos compostos não saponificáveis, os álcoois, ésteres e ácidos graxos de alta massa molecular são os mais difíceis de serem removidos (HARDIN, 2010). Esses materiais cerosos dão um toque macio à fibra e reduzem as forças de atrito durante a fiação agindo como lubrificantes (AGRAWAL, 2005; WAKELYN et al., 2006), ao mesmo tempo que dão uma alta hidrofobicidade ao algodão cru (MOJSOV, 2012).

A cinza residual contém potássio (2.000 a 6.500 ppm) como íon metálico mais abundante, seguido pelo magnésio (400 a 1.200 ppm) e cálcio (400 a 1.200 ppm) (WAKELYN et al., 2006). Outros íons metálicos que estão presentes em pequenos vestígios no algodão são sódio, ferro, magnésio, cobre e zinco (AGRAWAL, 2005).

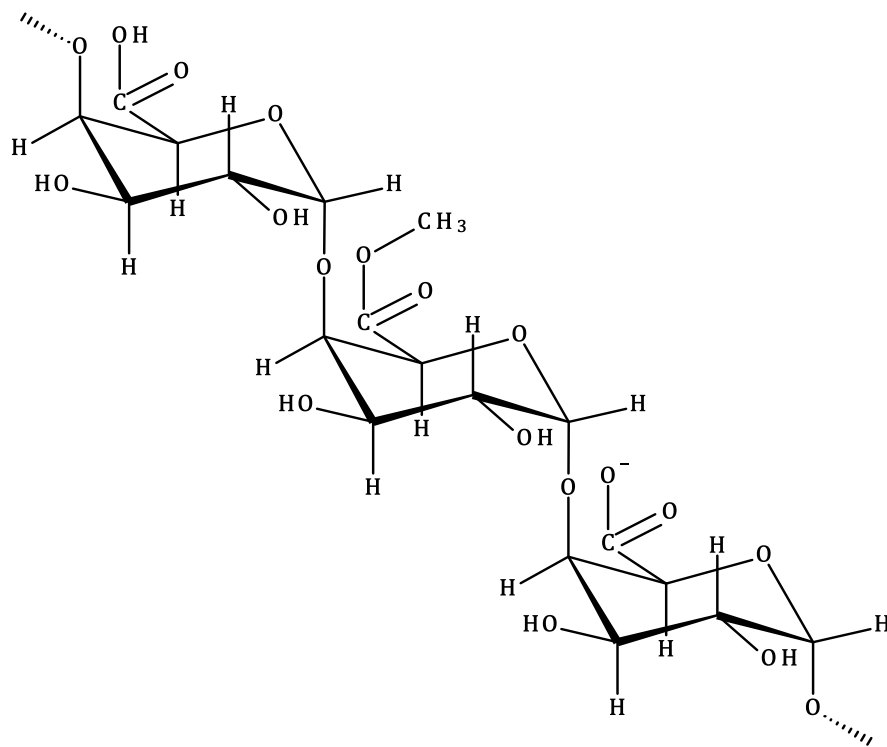
A pectina (Figura 2.7) está presente, principalmente, nas zonas da parede celular primária do algodão como um gel de preenchimento de espaço, e trata-se de um polímero de cadeia longa (com um grau de polimerização de 200-400) que tem dezessete diferentes monossacarídeos em sua estrutura química. A pectina é, quiçá, a mais complexa macromolécula natural, de alta massa molecular, comumente amorfa, insolúvel em água, solúvel em soluções alcalinas e cuja hidrólise final dá o ácido galacturônico (Figura 2.8). É constituída de, no mínimo, 65 % de resíduos de ácido galacturônico ligados entre si por ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ num padrão linear, com pontos de ramificação nos quais predominam cadeias laterais de arabinose e galactose. (CANTERI et al., 2012; EICHHORN et al., 2009; HOONDAL et al., 2002). A alta metilação (85 %) do ácido poligalacturônico o torna fortemente hidrofóbico, contribuindo para a falta de absorção de água do algodão cru (LI; HARDIN, 1997).

Figura 2.7 – Representação esquemática da cadeia de pectina.



Fonte: Adaptado de CANTERI et al. (2012).

Figura 2.8 – Estrutura química primária de uma molécula de pectina. Os resíduos de ramnose, galactose, arabinose, xilose e outros não estão incluídos.



2.3. BIOPREPARAÇÃO DO ALGODÃO NA INDÚSTRIA TÊXTIL

Quimicamente, toda fibra de algodão contém 92 % de celulose, em média, e o resto são impurezas naturais não celulósicas, que constituem por volta de 10 % da massa total e estão presentes na (ou perto da) parede celular primária (MOJSOV, 2014). Os constituintes não celulósicos são pectinas, gorduras e ceras, proteínas e corantes naturais (MOJSOV, 2014), que conferem ao algodão cru uma proteção hidrofóbica e uma superfície lubrificada ao processamento (WAKELYN et al., 2006), limitando fortemente a absorção de água e a alvura da fibra de algodão (MOJSOV, 2014; STĂNESCU et al., 2010). Devido à natureza hidrofóbica e cores indesejadas, os têxteis não estão prontos para os processos de tingimento, estamparia e acabamento (AGRAWAL, 2005). O tecido de algodão bruto precisa ser preparado, limpo e convertido em hidrofílico, a fim de alcançar adequada absorção de água e uniformidade de cor (fixação igualmente distribuída da tinta) durante o tingimento (LOSONCZI, 2004). Assim, procedimentos para eliminação das impurezas foram elaborados.

A Tabela 2.3 sumariza os estágios de preparação, os químicos envolvidos no procedimento industrial clássico e as possíveis enzimas desenvolvidas nas últimas décadas. Com a preparação, as substâncias não celulósicas que circundam o núcleo de celulose são removidas e, como resultado, a fibra de algodão se torna hidrofílica, mais branca e apropriada para tingimento e outros processos (MOJSOV, 2012). O resultado final é uma fibra de celulose quase pura (teor acima de 99 %) e com excelente absorvência (WAKELYN et al., 2006).

Na fabricação de tecido plano, os fios de urdume devem ser revestidos com um agente de colagem (material aglutinante), antes da produção no tear, para que adquiram maior resistência mecânica e não quebrem durante os esforços significativos da tecelagem (ANDREAUS et al., 2019). Então, na preparação convencional de tecidos planos há uma etapa de desengomagem, anterior à purga e ao branqueamento, para remoção do agente de colagem, enquanto os tecidos de malha são apenas purgados e branqueados.

Tabela 2.3 – Etapas de preparação do tecido de algodão com os respectivos químicos e as principais enzimas desenvolvidas para cada processo.

Processo	Descrição	Químicos	Principais Enzimas
Purga	Retirada de impurezas naturais como gorduras, ceras, pectinas e proteínas do tecido de algodão, para que a absorção de água seja aumentada.	Agentes alcalinos (hidróxido de cálcio, hidróxido de sódio e carbonato de sódio), surfactantes e emulsificantes.	Pectinases, proteases, lipases, cutinases, xilanases e celulases.
Branqueamento	Eliminação dos pigmentos naturais (flavonoides) que ainda permanecem na fibra celulósica, para fornecer uma base branca consistente para aplicação de tintura. Remoção da tonalidade amarelada.	Agentes de branqueamento oxidantes (peróxido de hidrogênio, peróxido de sódio, ácido peracético, hipoclorito de sódio e clorito de sódio) ou redutores (dióxido de enxofre, hidrossulfito de sódio e bissulfito de sódio) e agentes tensoativos.	Glicose oxidase, arilesterase e lacases.

Fonte: Adaptado de ANDREAUS et al. (2019); LOSONCZI (2004); SHAHID et al. (2016); VARADARAJAN; VENKATACHALAM (2016).

Entre os vários estágios de processamento do algodão, a preparação representa uma das etapas mais agressivas dentro da indústria de beneficiamento têxtil, altamente consumidora de energia, água e produtos químicos (AGRAWAL, 2005; LOSONCZI; CSISZÁR; SZAKÁCS, 2004). O uso de produtos químicos e de elevadas temperaturas têm muitas desvantagens, incluindo ações corrosivas nos equipamentos, formação de vapores tóxicos, alto consumo energético, despolimerização da celulose, redução da resistência da fibra e poluição ambiental (RAMADAN, 2008). Cerca de 75 % dos poluentes orgânicos oriundos do acabamento têxtil são provenientes da tradicional preparação de produtos de algodão (LOSONCZI; CSISZÁR; SZAKÁCS, 2004) e os efluentes representam sérias ameaças ao meio ambiente, sendo caracterizados por alto pH e alta demanda química e demanda biológica de oxigênio (VARADARAJAN; VENKATACHALAM, 2016).

As enzimas são biocatalisadores extremamente eficientes e altamente específicos que podem superar esses problemas. As enzimas são proteínas globulares que consistem em longas cadeias lineares de aminoácidos que se dobram em uma estrutura tridimensional com propriedades únicas (SHRIMALI; DEDHIA, 2016). Cerca de quatro mil enzimas são conhecidas, em torno de duzentas já são usadas pelas indústrias e a demanda está em constante crescimento (BESEGATTO et al., 2018). De acordo com um estudo recente, o mercado global

de enzimas industriais foi avaliado em US\$ 5,9 bilhões em 2020 e espera-se que atinja US\$ 8,7 bilhões até 2026 (MARKETSANDMARKETS, 2020). Novozymes®, DSM e DuPont são os maiores produtores, e América do Norte e Europa são os maiores consumidores, embora China, Japão e Índia consumam quantidades crescentes de enzimas à medida que suas economias crescem (BESEGATTO et al., 2018).

Os tratamentos enzimáticos, em substituição aos tradicionais, vêm para suprir a carência de processamentos têxteis mais sustentáveis, aliados à tecnologia limpa e ganhos ambientais, valendo-se do potencial catalítico das enzimas (BESEGATTO et al., 2018). Os bioprocessos (biopurga e biobranqueamento) minimizam os danos às fibras por serem realizados em condições suaves de pressão, pH e temperatura, bem como são ecologicamente aceitos pela diminuição da quantidade de químicos e energia consumidos e de efluentes gerados (SHAHID et al., 2016; SHRIMALI; DEDHIA, 2016; VARADARAJAN; VENKATACHALAM, 2016). Os tratamentos enzimáticos podem economizar energia porque operam em temperaturas mais baixas e o efluente é mais fácil de tratar e limpar (HARDIN, 2010) pela biodegradabilidade das enzimas. Proporcionam pleno suporte e inovação à indústria têxtil, melhorando a qualidade dos seus produtos, a segurança das condições de trabalho e em total acordo com as regulamentações ambientais (ALY; MOUSTAFA; HEBEISH, 2004).

Todavia, embora os bioprocessos ofereçam muitas vantagens, existem algumas deficiências a serem superadas relacionadas à viabilidade econômica, principalmente devido ao alto custo das enzimas, e diversos problemas tecnológicos (KALANTZI; KEKOS; MAMMA, 2019) como taxas reacionais mais lentas e baixa eficácia, que impedem sua total aceitação em aplicações industriais (SHAHID et al., 2016).

2.4. BIOPURGA

A purga alcalina tem sido usada com sucesso há séculos e é frequentemente feita com hidróxido de sódio (NaOH) diluído (0,5 a 4,0 %) em temperaturas próximas ao ponto de ebulição da água (100 °C) (HARDIN, 2010). Contudo, ainda que a purga alcalina seja eficaz e os custos do NaOH sejam baixos, esta requer grandes volumes de água de enxágue para diminuir o pH do tecido e consome uma quantidade considerável de energia (AGRAWAL et al., 2007; SHAHID et al., 2016). Durante o processo, enquanto a temperatura está elevada e sob condições altamente alcalinas, se o tecido estiver em contato com o ar ou com traços de metais como cobre e ferro, podem ocorrer danos oxidativos à celulose, que podem resultar na despolimerização da celulose e em perda de resistência do tecido (HARDIN, 2010). Além disso,

devido à natureza não específica da purga alcalina, pode ser que aconteça uma remoção completa e desnecessária das ceras da superfície do algodão, criando uma sensação de mão áspera no tecido (HARDIN, 2010).

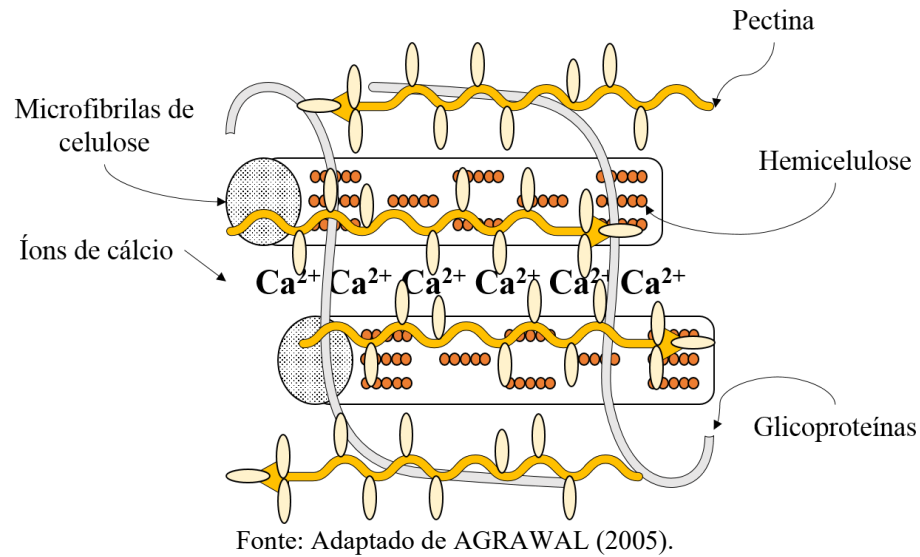
A biopurga é o processo baseado na ideia de remover especificamente as impurezas não celulósicas com enzimas específicas (HOONDAL et al., 2002). Na biopurga, pectinases podem ser empregadas para remoção de pectina, proteases para proteínas, lipases para óleos e gorduras, xilanases para hemicelulose e assim por diante, de forma individual ou associada (ANDREASUS et al., 2019). As enzimas, dada a sua especificidade, vão atuar exclusivamente nos compostos que se deseja eliminar, tendo uma influência passível de controle sobre a fibra de algodão (HARDIN, 2010), e são selecionadas com base no pH, temperatura, tempo e qualidade do produto final (HOONDAL et al., 2002; SHAHID et al., 2016). A disponibilidade de uma série de preparações enzimáticas comerciais já está disponível no mercado e alguns exemplos podem ser vistos na Tabela 2.4.

A maioria dos processos de biopurga são fundamentados na decomposição da pectina por enzimas pectinases (MOJSOV, 2012). As enzimas pectinases agem nos compostos pécticos da cutícula e da parede primária do algodão, que atuam como uma barreira hidrofóbica impermeável (“cola biológica”) covalentemente ligada à celulose e fortemente ligada por hidrogênio às outras substâncias (Figura 2.9) (MADHU; CHAKRABORTY, 2017; MOJSOV, 2012). A digestão da pectina pelas pectinases desestabiliza a estrutura do algodão, afrouxa a matriz celulósica e liberta os produtos não celulósicos para subsequente remoção por emulsificação em uma lavagem com água quente e surfactante (NIAZ et al., 2011). A maior parte dos materiais de cera têm pontos de fusão abaixo do ponto de ebulição da água (100 °C) e os tratamentos de alta temperatura podem ser eficazes na sua remoção ou pelo menos na sua redistribuição na superfície da fibra de algodão (HARDIN, 2010). Assim sendo, ao remover a pectina é mais fácil retirar todas as outras impurezas soltas, sem causar despolimerização da celulose, demasiada perda de massa e queda na resistência dos materiais (SHAHID et al., 2016).

Tabela 2.4 – Exemplos de preparações enzimáticas comerciais para biopurga de algodão.

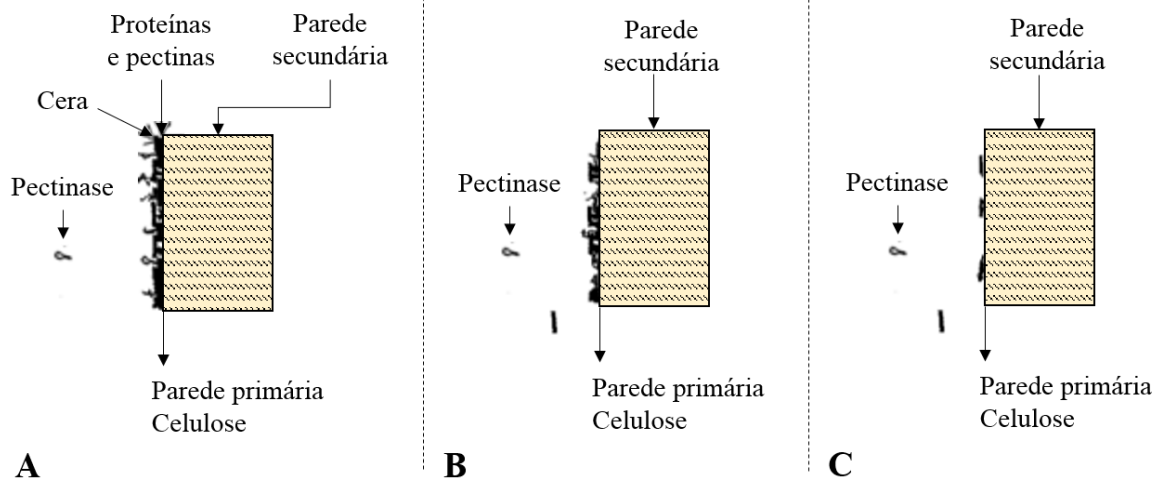
Enzima	Preparação Comercial	Produtor da Enzima	Referência
Pectinase alcalina (Pectato liase)	BioPrep 3000L	Novozymes	(AGRAWAL et al., 2008) (KALANTZI et al., 2008) (KALANTZI et al., 2010) (KALANTZI; KEKOS; MAMMA, 2019) (SILVA et al., 2017) (TZANOV et al., 2001)
Pectinase alcalina	Scourzyme L	Novozymes	(BRISTI; PIAS; LAVLU, 2019) (CHOE et al., 2004) (HEBEISH et al., 2009) (NIAZ et al., 2011)
Pectinase ácida	Pectinase 62L	Biocatalysts	(TZANOV et al., 2001)
Pectinase (Pectina liase)	PectoZym HF	Rakuto Kasei (Israel) Ltd.	(DEGANI, 2021)
Pectinase (Poligalacturonase)	Rapidase c-80L	DSM-Gist-Brocades	(DEGANI, 2021)
Celulase	Cellusoft L	Novozymes	(HEBEISH et al., 2009)
Celulase	Cellusoft CR	Novozymes	(SILVA et al., 2017)
Lipase	Lipolase 100L	Novozymes	(KALANTZI et al., 2010) (KALANTZI; KEKOS; MAMMA, 2019) (SILVA et al., 2017)
Cutinase	Cutinase ISC-02-BE1	InterSpex Products, Inc.	(DEGANI, 2021)
Protease	Alcalase 2.5L	Novozymes	(KALANTZI; KEKOS; MAMMA, 2019)
Xilanase	Pentopan Mono BG	Novozymes	(KALANTZI; KEKOS; MAMMA, 2019)
Enzima multicomponente	Beisol PRO	CHT Group	(PUSTIANU et al., 2018)

Figura 2.9 – Interconexões entre celulose e outros componentes não celulósicos na parede primária da fibra de algodão.



Li e Hardin (1997) descreveram que as pectinases penetram na cutícula do algodão por meio de fissuras ou microporos, entram em contato com as substâncias pécnicas e as hidrolisam, o que resulta na remoção parcial da cutícula ou na quebra da continuidade da cutícula (Figura 2.10). As pectinases hidrolisam as substâncias pécnicas em moléculas mais simples (UENOJO; PASTORE, 2007) e pectinases alcalinas, ácidas e neutras podem ser usadas na biopurga de algodão (PUŠIĆ; TARBUK; DEKANIĆ, 2015; TZANOV et al., 2001). Sob o ponto de vista ecológico, o uso de pectinase neutra é benéfico, pois não há necessidade de neutralização das águas residuais (PUŠIĆ; TARBUK; DEKANIĆ, 2015).

Figura 2.10 – Biopurga de algodão com pectinase: A) pectinase em contato com pectinas; B) pectinase digerindo pectinas; e C) após uma biopurga completa com pectinase.



Fonte: Adaptado de LI; HARDIN (1997).

As enzimas pectinases diminuem o percentual dos constituintes não celulósicos (impurezas) e dão melhor absorção de água, suavidade ao toque e brancura aceitável aos tecidos de algodão (ABDULRACHMAN et al., 2017; CHOE et al., 2004; IBRAHIM et al., 2019; NIAZ et al., 2011; WANG et al., 2007). Em temperaturas inferiores a 60 °C, numa gama de concentrações enzimáticas e em tempos variáveis (15 minutos até 20 h), originam-se têxteis com baixo conteúdo de pectina e com excelente capacidade de tingimento, de modo tão eficaz quanto o processo alcalino convencional (ABDULRACHMAN et al., 2017; CHOE et al., 2004; DEGANI, 2021; KALANTZI et al., 2008; WANG et al., 2007). A concentração ótima varia, mas via de regra, as pectinases já são bem-sucedidas em baixas concentrações, na faixa de 0,05 e 2 % (MADHU; CHAKRABORTY, 2017). Alguns autores argumentam que o aumento na dose da enzima pectinolítica melhora a eficiência da biopurga (IBRAHIM et al., 2019) e produz tecidos com atributos mecânicos melhorados, ou seja, mais resistentes aos esforços de cisalhamento, flexão, tração e compressão (KALANTZI et al., 2008). Um pré-tratamento com água fervente durante 30 minutos facilita a acessibilidade das enzimas às fibras do substrato (WANG et al., 2007) e uma lavagem curta póstera, a mais de 80 °C, viabiliza a eliminação de ceras e gorduras (CHOE et al., 2004). Agrawal et al. (2007) demonstraram que um pré-tratamento das fibras com n-hexano também ajuda na remoção de cera e melhora o desempenho da pectinase, medido em termos de hidrofiliidade e remoção de pectina do tecido.

A imobilização de uma pectinase em nanopartículas magnéticas, com vista à biopurga de algodão, foi estudada por Chakraborty, Rao e Goyal (2017). A enzima imobilizada apresentou termoestabilidade superior à da enzima livre, podendo ser recuperada por um ímã e reutilizada em até cinco ciclos. Têm-se utilizado também pectinases em conjunto com a energia ultrassônica (EASSON et al., 2015; ERDEM; İBRAHIM BAHTIYARI, 2018; PUSTIANU et al., 2018). Os resultados são favoráveis e apontam para uma eficiência de biopurga maior que 37 %, quando equiparada ao método com enzimas e sem ultrassom (EASSON et al., 2015), e um efeito hidrofílico muito bom no algodão (ERDEM; İBRAHIM BAHTIYARI, 2018) com redução expressiva no tempo de tratamento e/ou na concentração enzimática (PUSTIANU et al., 2018). De acordo com Karaboğa et al. (2007), a introdução da energia ultrassônica durante o tratamento enzimático do tecido de algodão melhora a transferência de massa para as partes internas do material têxtil, a eficiência enzimática e a produtividade, sem afetar adversamente o substrato. A agitação mecânica, idem, pode encurtar o tempo do processo e reduzir a dosagem de pectinase necessária para dar uma alta molhabilidade ao tecido (HARTZELL-LAWSON; DURRANT, 2000). O tratamento combinado de plasma/enzima sobre o tecido de algodão cru,

igualmente ofereceu vantagens significativas, com produção de materiais de alta qualidade (alta hidrofiliidade) com propriedades intrínsecas inalteradas (DEMIR et al., 2018).

Kalantzi et al. (2010) citam a necessidade do uso de outras enzimas concomitantes no processo de biopurga, que garantam a remoção das impurezas insolúveis, como por exemplo as substâncias lipídicas (AGRAWAL et al., 2008), e de celulases que auxiliem na quebra da cutícula e da parede primária do algodão (LI; HARDIN, 1997; NIAZ et al., 2011). Cutinase e lipase são ferramentas efetivas na remoção de ceras superficiais (GURURAJ et al., 2020; NERURKAR; JOSHI; ADIVAREKAR, 2015; SENTHIL RAJA et al., 2012) e o efeito aditivo na pectinase acelera a taxa catalítica, reduz o tempo e minimiza a temperatura de operação (AGRAWAL et al., 2008; KALANTZI et al., 2010), originando tecidos com alto índice de absorção de água (DEGANI, 2021). O uso sinérgico de celulase e pectinase, da mesma forma, dá origem a uma limpeza mais eficaz do algodão, em termos de velocidade e uniformidade do tratamento (LI; HARDIN, 1997), entretanto, bastante cuidado no uso de celulases é requerido, por possibilidade de excessivas perdas de massa e de resistência da fibra (HARTZELL; HSIEH, 1998; HEBEISH et al., 2009).

Quando uma combinação enzimática é usada, o uso total de enzimas de maior custo tende a diminuir (HONG et al., 2019) e tornar o processo industrial mais econômico. Silva et al. (2017) avaliaram o efeito de uma associação enzimática comercial de celulase, lipase e pectinase na biopurga de tecidos de malha 100 % algodão. A articulação das três enzimas proporcionou resultados interessantes (com elevado padrão de qualidade) de remoção de pectina, hidrofiliidade e grau de branco, alcançando qualidade pariforme e, por vezes superior à usual com álcalis, consumindo menos água e energia. Kalantzi, Kekos e Mamma (2019) também sugeriram realizar a biopurga de algodão com combinações multienzimáticas, por meio da ação sinérgica das enzimas pectinase, lipase, protease e xilanase. A metodologia proposta permitiu que as características estruturais da celulose do algodão não fossem severamente afetadas pelo tratamento enzimático, enquanto quantidades suficientes de impurezas não celulósicas foram removidas, à baixas cargas de enzimas para reduzir o custo de produção (KALANTZI; KEKOS; MAMMA, 2019).

Outro aspecto importante a ser estudado se refere ao uso de aditivos no banho de biopurga, sequestrantes fracos e tensoativos (surfactantes), para assegurar o bom desempenho das enzimas e a hidrofiliidade do artigo têxtil, respectivamente (CSISZÁR et al., 2001; SHAFIE; FOUUDA; HASHEM, 2009; TZANOV et al., 2001). A título de exemplo, o EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) é um agente sequestrante que retira íons metálicos e é adicionado quando concentrações significativas de cálcio e magnésio estão presentes no algodão, deixando

as áreas mais livres à penetração das enzimas (HEBEISH et al., 2009). Já os tensoativos, aumentam o efeito da lavagem, devido à redução da tensão superficial das fibras com penetração mais fácil das enzimas nos microporos e fissuras (TZANOV et al., 2001), e auxiliam na emulsificação de ceras e gorduras não saponificáveis, tornando-as solúveis em água e passíveis de rápida eliminação dos tecidos (HEBEISH et al., 2009). Segundo Holmberg (2018), os surfactantes não iônicos são mais compatíveis com as enzimas do que os surfactantes iônicos.

O histórico existente de trabalhos e o empenho científico dos últimos anos asseguram que a biopurga representa uma opção economicamente viável, considerando os custos/consumo de produtos químicos, enzimas, água, energia e tratamento de efluentes (CHOE et al., 2004), e promissora às necessidades da indústria têxtil. Podendo ser feita, inclusive, em misturas de algodão com seda, lã, caxemira (MADHU; CHAKRABORTY, 2017) e poliéster (HEBEISH et al., 2009), colide com a desvantagem do tempo necessário das reações, o que dificulta a sua utilização em sistemas contínuos, e é limitada a fios e tecidos que serão tingidos em tonalidades mais profundas (CHOE et al., 2004; HARDIN, 2010). Tons mais escuros podem exigir uma purga menos vigorosa (HARDIN, 2010).

Recentemente, Xiaokang, Haitao e Jianyong (2019), a fim de acelerar a taxa de biopurga e encurtar o processo, usaram um método contínuo por foulardagem em tecidos de malha 100 % algodão. Os tecidos foram umedecidos a 50 °C e, em seguida, molhados nas enzimas pectinase por alguns segundos, retirados e passados pelo Foulard várias vezes. Os resultados mostraram que, a taxa catalítica do método por foulardagem foi seis vezes mais rápida do que pelo método de esgotamento (50 °C por 80 min), reduzindo o tempo total de processamento (de 80 min para 15 min) e, além disso, a molhabilidade dos tecidos de algodão era melhor do que aqueles tratados por esgotamento. Na foulardagem repetida, a pressão dos rolos promoveu a permeabilidade e aumentou a área acessível às enzimas, e os produtos biopurgados tiveram boa resistência e toque suave (XIAOKANG; HAITAO; JIANYONG, 2019).

Com o advento da biotecnologia na área de enzimas e de tecnologia das fermentações, diversas abordagens foram exploradas por pesquisadores para encontrar novas fontes microbianas para enzimas, com amplas faixas de atividade sob diferentes condições de temperatura e pH (ABDULRACHMAN et al., 2017; HONG et al., 2019; RAJULAPATI et al., 2020; SHAHID et al., 2016). Cepas que foram isoladas da casca de tomate, da casca de maracujá e de solos agrícolas, e foram aplicadas na purga enzimática, encorajam o uso de recursos locais para a produção de enzimas e mostram boas perspectivas para apoiar a produção ecologicamente correta na indústria têxtil (GURURAJ et al., 2020; IBRAHIM et al., 2019; JARAMILLO et al., 2016).

2.4.1. Enzimas Pectinases

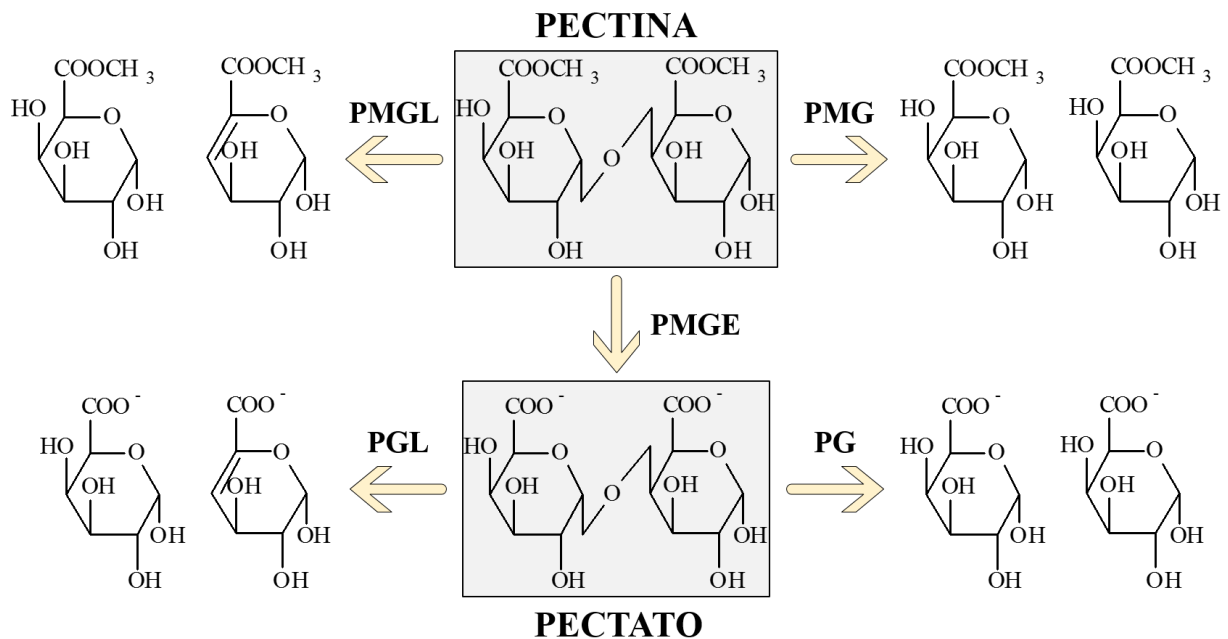
As pectinases formam um conjunto complexo de enzimas que degradam substâncias pectícas e que são produzidas por plantas, fungos, bactérias, nematoides e insetos (50 % são produzidas a partir de fungos e leveduras, 35 % de bactérias e 15 % são de origem vegetal ou animal) (JOHN et al., 2020). Dependendo do mecanismo de ação, elas podem ser classificadas como esterase, hidrolase e liase (Tabela 2.5) (UENOJO; PASTORE, 2007) e incluem principalmente poligalacturonases, pectina esterases, pectina liases e pectato liases, com diferentes especificidades de substrato (estrutura principal da pectina ou pectato, Figura 2.11) (KOHLI; GUPTA, 2015). Com base na exigência de pH para atividade enzimática máxima, as pectinases podem ainda ser classificadas em grupos ácidos e alcalinos (KOHLI; GUPTA, 2015).

Tabela 2.5 – Classificação das enzimas pectícas.

Tipo de pectinase	Nome sugerido pela EC	Sigla	Nome comum
Esterase	Polimetilgalacturonase esterase	PMGE	Pectina esterase
Hidrolase	Poligalacturonase	PG	Poligalacturonase
	Polimetilgalacturonase	PMG	Pectina hidrolase
Liase	Poligalacturonase liase	PGL	Pectato liase
	Polimetilgalacturonase liase	PMGL	Pectina liase

EC = Comissão de Enzimas, sigla em inglês.
Fonte: Adaptado de UENOJO; PASTORE (2007).

Figura 2.11 – Modo de ação das enzimas pectinases em uma molécula de pectina.



Fonte: Adaptado de UENOJO; PASTORE (2007).

A pectina esterase (PMGE) atua sobre a molécula de pectina, removendo os resíduos metil e convertendo pectina em pectato (ácido péctico, polímero não esterificado, pectina de baixa metoxilação) (ANDREAUS et al., 2019; UENOJO; PASTORE, 2007). Tem pH ótimo de atividade entre 4,0-7,0 e temperatura ideal variando de 40 a 60 °C (ARAÚJO; CASAL; CAVACO-PAULO, 2008). Tem grande importância biológica, pois permite a ação posterior de pectinases (PG e PGL) que só atuam sobre compostos pécticos menos esterificados (VARGAS, 2013).

As poligalacturonases (PG) hidrolisam as ligações glicosídicas α -1,4 entre dois resíduos de ácido galacturônico, usando mecanismos de divisão endo (hidrólise aleatória, randômica) ou exo (hidrólise sequencial a partir das unidades externas) (UENOJO; PASTORE, 2007). Apresentam valores de pH ótimo na região ácida, de 2,5-6,0, e temperatura ótima entre 30 e 50 °C (ARAÚJO; CASAL; CAVACO-PAULO, 2008).

A pectina hidrolase (PMG) catalisa a clivagem hidrolítica de ligações glicosídicas α -1,4 na pectina altamente esterificada, podendo apresentar ação endo-PMG ou exo-PMG (UENOJO; PASTORE, 2007).

As liases (pectato liases e pectina liases) quebram as ligações glicosídicas por reação de transeliminação do hidrogênio e dão galacturonídeos com uma ligação insaturada (dupla) entre os carbonos das posições 4 e 5 na extremidade não redutora do ácido galacturônico formado. Pectato liase (PGL) catalisa a clivagem de ligações α -1,4 do ácido péctico de modo endo ou exo, requer Ca^{2+} para atividade, tem pH ótimo na região alcalina (7,5-10,0) e temperatura ótima entre 40 e 50 °C. A pectina liase (PMGL) atua por β -eliminação no substrato (pectina) de modo endo ou exo, possui um pH ótimo de atuação em torno de 5,5 e temperatura ótima entre 40 e 50 °C. (UENOJO; PASTORE, 2007).

As pectinases são uma das enzimas mais produzidas comercialmente, apresentando uma taxa de crescimento acelerada no mercado, de 2,86 % em média por ano (JOHN et al., 2020), e têm atraído muita atenção como prováveis catalisadores biológicos em uma variedade de processos industriais (HOONDAL et al., 2002). As pectinases alcalinas estão entre as enzimas industriais mais importantes, visto que elas têm ampla aplicação, especialmente no processamento têxtil para biopurga de algodão, onde podem substituir o uso de produtos químicos agressivos, muita água e energia (HOONDAL et al., 2002; JOHN et al., 2020; KOHLI; GUPTA, 2015).

2.4.2. O estado da arte da biopurga de algodão

O “Estado da Arte” da biopurga de algodão aplicada à indústria têxtil foi realizado a partir de uma investigação de artigos e a Figura 2.12 mostra o número (acumulado) de artigos relatados pelo Scopus, quando as palavras biopurga e algodão foram usadas como base para a pesquisa bibliográfica. Os dados foram verificados em 25 de março de 2021. As características de alguns desses estudos são apresentadas na Tabela 2.6 e dão embasamento sobre a metodologia utilizada e resultados para comparação.

Figura 2.12 – Publicações acadêmicas sobre biopurga e algodão no banco de dados Scopus (situação: 25 de março, 2021).

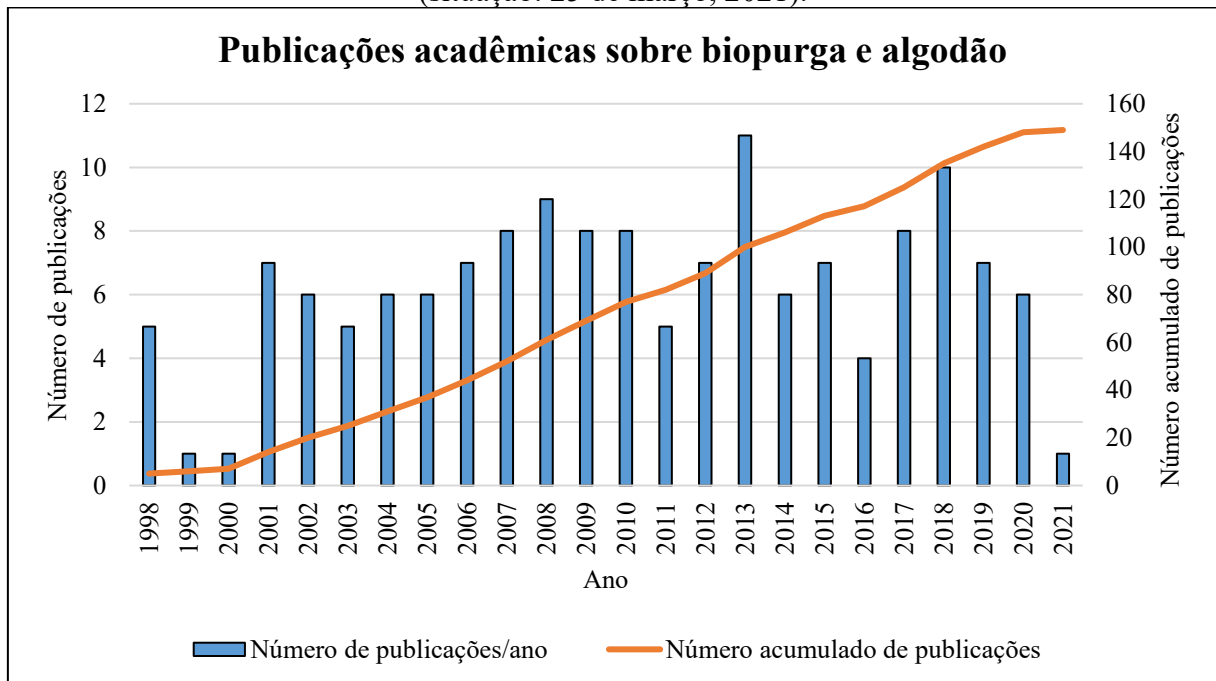


Tabela 2.6 – Características dos estudos acerca da biopurga de algodão, 1998-2021.

(Continua)

Referência	Enzima	Condições de processo	Observações da pesquisa
(CSISZÁR; SZAKÁCS; RUSZNÁK, 1998)	Celulase	[Celulase] = 1-10 g/L 50 °C; pH 5; 0,5-8 h Surfactante não iônico, 1 g/L Relação de banho 1:100	Aumento de 14-21 % no grau de branco do tecido de algodão, e aumento de até 29 % na brancura quando combinados celulase (pré-tratamento) e purga alcalina com NaOH. A abordagem sugerida potencializou a eficiência dos produtos químicos convencionais, tal como melhorou a brancura, o brilho e as características de cor dos tecidos.
(TZANOV et al., 2001)	Pectinase	[Pectinase alcalina] = 20 U/g 55 °C; pH 8; 2 h [Pectinase ácida] = 70 U/g 40 °C; pH 5; 2 h Surfactante não iônico, 0,1 %	A biopurga com dois tipos de pectinases, atuando em condições alcalinas ou ácidas, foi tão eficiente quanto o processo químico em termos de absorção de água (<1 s) dos tecidos. O surfactante não iônico mostrou-se compatível com as enzimas e um componente necessário no banho enzimático, de alto impacto na remoção de ceras e gorduras.
(CHOE et al., 2004)	Pectinase	[Pectinase] = 0,5 g/L 60 °C; pH 8,5; 15-20 min Relação de banho 1:8 Um agente sequestrante (1 g/L), um agente umectante (1 g/L) e um agente antirrugas (1 g/L, opcional) foram adicionados.	Um curto tratamento do tecido a mais de 80 °C, após o tratamento com pectinase a 60 °C, foi essencial para a remoção de ceras. A capacidade de tingimento das malhas de algodão biopurgadas foi tão boa quanto às malhas alcalinas. A desvantagem é que a biopurga só foi facilmente aplicável em produtos de cor escura. A suavidade ao toque alcançada nos produtos finais permitiu uma redução na quantidade de agentes amaciantes e antirrugas aplicados na etapa de acabamento.
(WANG et al., 2007)	Pectinase	[Pectinase] = 0,25-1,75 g/L 55-65 °C; pH 8,6-9,8; 0,5-2 h Surfactante não iônico, 0,1 % Proporção de 20 mL por g de tecido	A concentração enzimática de 1 g/L, 57 °C, pH 9,1 e 1,25 h foram os parâmetros otimizados para a biopurga, que permitiram uma remoção de pectina desejada (73,6 %) e uma molhabilidade adequada (<1 s) dos tecidos de algodão. Um pré-tratamento com água fervente durante 30 minutos melhorava a acessibilidade da pectinase às pectinas das fibras.

Tabela 2.6 – Características dos estudos acerca da biopurga de algodão, 1998-2021.

(Continua)

Referência	Enzima	Condições de processo	Observações da pesquisa
(AGRAWAL et al., 2008)	Pectinase Cutinase	[Cutinase] = 100 U/g + [Pectinase] = 52 U/g 30 °C; pH 8; 15 min Triton X-100, 1 g/L	A enzima cutinase foi uma ferramenta efetiva na degradação e remoção das ceras superficiais do algodão em baixa temperatura (30 °C) e o seu efeito aditivo na pectinase reduziu o tempo de incubação da pectinase (15 min) e aumentou a taxa catalítica, resultando numa biotecnologia inovadora, viável, rápida e competitiva.
(KALANTZI et al., 2008)	Pectinase	[Pectinase] = 5-1000 U/g 50 °C; pH 8; 1-3 h Agente umectante não iônico, 0,1 % (m/v) Proporção de líquido para tecido de 40:1	A aplicação de uma pectinase comercial, BioPrep [®] 3000L, pôde originar têxteis sem pectina e com baixo conteúdo de cera, de modo tão eficaz quanto o processo alcalino convencional e com potencial para aplicação industrial. O uso de concentrações enzimáticas mais altas gerou tecidos com propriedades mecânicas melhoradas.
(HEBEISH et al., 2009)	Pectinase Celulase	[Pectinase] = 0,5-3 g/L 55 °C; pH 8,5; 60 min [Pectinase] = 0,5-1,5 g/L 55 °C; pH 8,5; 60 min + [Celulase] = 0,5-1,5 g/L 55 °C; pH 4,8; 60 min Agente umectante não iônico, 0,5 g/L Proporção de 50 mL por g de tecido	Os bioprocessos foram comparáveis à limpeza alcalina convencional, no entanto, deve-se ter cuidado com a utilização de celulases, pois apesar da elevação na absorção de água dos tecidos usando a mistura de enzimas (pectinase + celulase), uma queda na resistência à tração também foi observada. A incorporação de agente quelante EDTA ou β-ciclodextrina na solução de banho favoreceu as propriedades técnicas e melhorou o desempenho dos substratos têxteis à base de algodão (algodão e algodão/poliéster).

Tabela 2.6 – Características dos estudos acerca da biopurga de algodão, 1998-2021.

(Continua)

Referência	Enzima	Condições de processo	Observações da pesquisa
(KALANTZI et al., 2010)	Lipase Pectinase	[Lipase] = 50-300 U/g 50 °C; pH 7; 120 min [Lipase] = 50 U/g + [Pectinase] = 100 U/g 50 °C; pH 7; 30 min Agente umectante não iônico, 0,1 % (m/v) Proporção de 40 mL por g de tecido	A limpeza mediada por lipase originou tecidos de algodão livres de cera e com quantidades consideráveis de pectina e proteína removidas. Isso melhorou a hidrofiliabilidade (<1 s) e a branqueamento (42,7 %) dos tecidos. A combinação de lipase com pectinase, em um processo de etapa única, permitiu reduzir o tempo de biopurga e gerou tecidos com propriedades desejadas e excelente desempenho de tingimento.
(SENTHIL RAJA et al., 2012)	Lipase	[Lipase] = 480 U 50 °C; pH 5; 60 min Proporção de 30 mL por g de tecido	Após o uso de lipase como agente de limpeza, os resultados de FTIR mostraram uma redução na intensidade das bandas atribuíveis às substâncias cerosas presentes nas fibras do algodão cru, melhorando a absorção de água (2 s) dos tecidos em nível elevado.
(EASSON et al., 2015)	Pectinase	[Pectinase] = 0-100 µL/100 mL 45 °C; pH 3,85; 5-60 min Triton X-100, 1 gota Proporção de 100 mL por 350 mg de tecido 0-100 % (0-980 W) de potência e 0-270 kHz de frequência no ultrassom	As condições ótimas de biopurga (100 % de potência ultrassônica a 220 kHz por 60 min com 31 mg/mL de enzima) resultaram numa remoção de pectina maior que 98 %, em relação à purga alcalina com NaOH (considerada 100 %), e desempenho maior que 37 % em comparação com a biopurga sem ultrassom. A frequência de 220 kHz significou que o ultrassom pode ser incorporado com facilidade na indústria têxtil, sem necessidade de dispendiosas barreiras acústicas e de proteção auditiva do trabalhador.

Tabela 2.6 – Características dos estudos acerca da biopurga de algodão, 1998-2021.

(Continua)

Referência	Enzima	Condições de processo	Observações da pesquisa
(NERURKAR; JOSHI; ADIVAREKAR, 2015)	Lipase	[Lipase] = 2-10 % sobre a massa do tecido 20-80 °C; pH 3-11; 30-180 min Proporção de 40 mL por g de tecido	A lipase (8%, 60 °C, pH 9, 120 min) foi capaz de remover parcela substancial de impurezas cerosas do algodão e degradá-las em ácidos graxos, assegurando absorção máxima (1 s) e o mínimo de prejuízo ao tecido, de forma tão eficaz quanto o tratamento alcalino tradicional.
(ABDULRACHMAN et al., 2017)	Pectinase	[Pectinase] = 100-300 U/mL 40 °C; pH 5; 1 h 0,2 % (m/v) de agente umectante Proporção de 20 mL por g de tecido	O processo catalisado pela pectinase (endo-poligalacturonase) resultou em tecidos de algodão com absorção de água máxima de 16,5 s, que está na faixa aceita para processamento industrial (<30 s), e com maior resistência à tração e menor perda de massa, em comparação com a purga química.
(CHAKRABORTY; RAO; GOYAL, 2017)	Pectinase	[Pectinase livre e imobilizada em nanopartículas magnéticas] = 0,05-0,5 mg/mL 50 °C; pH 8,6 contendo 0,6 mM de CaCl ₂ Proporção de 10 mL por g de tecido	A enzima imobilizada apresentou estabilidade térmica aumentada (em comparação com a enzima livre), podendo ser reutilizada em até cinco ciclos, retendo 70 % da sua atividade inicial, e ser recuperada com um ímã. A biopurga com pectinase imobilizada mostrou-se eficiente para remoção de pectina e aumento da hidrofiliabilidade de tecidos 100 % algodão, fornecendo uma técnica econômica, atraente e sustentável.
(SILVA et al., 2017)	Celulase Lipase Pectinase	[Celulase] = 0-3,580 U/g + [Lipase] = 0-0,236 U/g + [Pectinase] = 0-0,868 U/g 55 °C; pH 6,5; 40 min Surfactante, 1 g/L Agente quelante, 0,8 g/L Proporção de 8 mL por g de tecido	A combinação de três enzimas comerciais (3,580 U/g de celulase, 0,236 U/g de lipase e 0,868 U/g de pectinase) trouxe benefícios à malha de algodão, em termos de hidrofiliabilidade (14 s), grau de branco (25 graus Berger) e remoção de pectina (87 %). O teste com a atividade média das três enzimas também apresentou bons resultados, semelhantes à purga alcalina convencional, mas consumindo menos água e energia, em pH neutro e com mais salubridade ambiental.

Tabela 2.6 – Características dos estudos acerca da biopurga de algodão, 1998-2021.

(Continua)

Referência	Enzima	Condições de processo	Observações da pesquisa
(DEMIR et al., 2018)	Pectinase Lipase	Plasma atmosférico: velocidade de 4 m/min; potência de 1 kW; 5 passagens por cada lado + Pectinase: 50 °C; pH 6-7; 30-60 min; relação de banho de 1:20 (g:mL) + Lipase: 50 °C; pH 5; 60 min; relação de banho de 1:30 (g:mL)	A combinação sinérgica de plasma/enzimas produziu modificações significativas nas fibras de algodão, melhorando a hidrofiliabilidade (de $\theta=161,3^\circ$ para $103,6^\circ$) e a brancura (de 10,9 para 17,3 graus Berger), sem causar danos superficiais ao tecido. Revelou-se uma tecnologia aceitável, quando comparada à convencional, e com grande potencial para aplicações na indústria têxtil.
(ERDEM; İBRAHİM BAHTIYARI, 2018)	Pectinase	[Pectinase] = 0,5-3 g/L 55 °C; pH 8,2; 15-120 min Agente umectante, 1 g/L Agente sequestrante, 0,5 g/L Banho de ultrassom (40 kHz)	O uso da energia ultrassônica teve uma correlação positiva com os valores de hidrofiliabilidade e brancura de mechas de algodão. O procedimento envolvendo resultados otimizados, baseado em tempo, energia e fatores econômicos, foi: 1 g/L de enzima pectinase por 30 min na presença de ultrassom.
(PUSTIANU et al., 2018)	Mistura de enzimas (produto comercial Beisol PRO)	[Beisol PRO] = 1-3 % 55 °C; pH 8; 15-55 min Citrato de sódio como agente complexante e detergente não iônico Proporção de 10 mL por g de tecido Banho de ultrassom (25-45 kHz)	A biopurga ultrassônica pode ser um caminho para a produção eficiente de algodão hidrofílico em menores tempo e/ou concentração de enzimas. Em condições de ultrassom, as receitas ideais para a biopurga de tecidos mistos de algodão e cânhamo foram: concentrações de enzima entre 1,7-2,5 % e tempo de tratamento entre 29-30 min.
(SINGH et al., 2018)	Pectinase Xilanase	[Pectinase] = 0,8-8 U/g + [Xilanase] = 1-10 U/g 40-60 °C; pH 7-9,5; 15-150 min EDTA, 0,1-5 mM Agente umectante, 0,1-2 % Proporção de tecido para líquido na faixa de 1:10-1:30	A limpeza máxima foi alcançada usando 4 U/g de pectinase e 5 U/g de xilanase, por 60 min a 50 °C, numa relação de banho de 1:15 (g:mL) em tampão pH 8,5 contendo EDTA 1 mM e Tween® 80 1 %. Os tecidos de algodão apresentaram um ganho de 1,17 % em brancura e 3,23 % em brilho, e uma redução de 4,18 % em amarelecimento, em comparação com os tecidos purgados pelo método alcalino.

Tabela 2.6 – Características dos estudos acerca da biopurga de algodão, 1998-2021.

(Continua)

Referência	Enzima	Condições de processo	Observações da pesquisa
(HONG et al., 2019)	Cutinase	[Cutinase de <i>Humicola insolens</i> – HiC] = 30-200 U/mL 80 °C; pH 8,5; 1 h	30 U/mL de HiC a 80 °C por 5 min + 20 U/mL de TfC a 50 °C por 1 h deu os melhores resultados e foi considerado um método eficiente de biopurga.
		HiC (80 °C; pH 8,5; 5 min) + Cutinase de <i>Thermobifida fusca</i> – TfC (50 °C; pH 8,5; 1 h)	A combinação das cutinases para biopurga de algodão foi avaliada pelo monitoramento da molhabilidade e tingibilidade dos tecidos, e obteve desempenho melhor do que o método alcalino, inclusive com menor perda de peso.
		Razão líquido-amostra de 10:1 (v/m)	Embora HiC sozinha possuía boa performance, o uso total de enzimas diminuiu quando a combinação foi usada.
(IBRAHIM et al., 2019)	Pectinase	[Pectinase] = 10, 20 mL/L 50 °C; pH 5; 45 min Proporção de tecido e líquido de 1:20	Cepas de fungos foram isoladas do solo agrícola para a produção de pectinase ácida e os resultados experimentais demonstraram impactos positivos na utilização dessa enzima bruta na biopurga de várias malhas de algodão. A eficiência da biopurga e a hidrofiliabilidade do tecido foram melhoradas com o aumento da dosagem enzimática de zero a 20 g/L. Além disso, houve melhoria significativa no índice de branco e uma diminuição perceptível no índice de amarelecimento dos tecidos.
(KALANTZI; KEKOS; MAMMA, 2019)	Pectinase Lipase Protease Xilanase	[Pectinase] = 10-60 U/g + [Lipase] = 10-40 U/g + [Protease] = 5-15 U/g + [Xilanase] = 50-200 U/g 50 °C; pH 7; 60 min Agente umectante não iônico, 0,1 % (m/v) Proporção de 40 mL por g de tecido	A análise da hidrofiliabilidade (0,1 s), índice de branco (45,55 graus Berger) e capacidade de tingimento (K/S 4,79) dos tecidos de algodão biopurgados, indicou uma remoção suficiente das impurezas não celulósicas à baixas cargas de enzimas quando usadas simultaneamente: 60 U/g de pectinase, 10 U/g de lipase, 11,7 U/g de protease e 140 U/g de xilanase. A ação sinérgica das quatro enzimas em procedimento de etapa única, não afetou gravemente as características estruturais do algodão e indicou menos danos à celulose, em comparação com o processo de purga tradicional.

Tabela 2.6 – Características dos estudos acerca da biopurga de algodão, 1998-2021.

(Conclusão)

Referência	Enzima	Condições de processo	Observações da pesquisa
(GURURAJ et al., 2020)	Cutinase	[Cutinase] = 5 g/L 40 °C; pH 7; 4 h Agente umectante, 1 g/L Proporção de tecido e líquido de 1:40	Uma cepa isolada da casca de tomate foi utilizada para a produção da enzima cutinase e a enzima foi aplicada na biopurga de tecidos de algodão. Uma parede primária áspera e aberta na fibra de algodão, sem a camada cerosa lisa, confirmou a atividade da cutinase nos tecidos tratados. Os tecidos tiveram um aumento na capacidade de umedecimento (10 s) e pareciam mais macios.
(RAJULAPATI et al., 2020)	Pectinase	[Pectinametilesterase] = 4,2 U/mL = 10 mg/mL [Pectato liase] = 6,0 U/mL = 10 mg/mL [Pectinametilesterase] = 5 mg/mL + [Pectato liase] = 5 mg/mL 50 °C, 60 min Razão de 1 g de tecido/25 mL	Houve uma remoção mais eficaz da pectina do tecido de algodão pela mistura das enzimas pectinametilesterase e pectato liase, semelhante à remoção com purga com NaOH. As análises de molhabilidade e resistência à tração indicaram que o processo enzimático poderia ser utilizado para substituir o processo químico nas indústrias têxteis.
(DEGANI, 2021)	Cutinase Pectinase	Cutinase: 37 °C; pH 8; 20 h Pectina Liase: 37 °C; pH 8; 20 h Poligalacturonase: 37 °C; pH 5; 20 h Detergente não iônico, 0,1% (m/v) Razão de 1 g de tecido/10 mL	O tratamento com cutinase levou à hidrólise das ceras da cutícula do algodão. A extensão de degradação da pectina aumentou quatro vezes como resultado da ação de pectina liase ou poligalacturonase. Um efeito sinérgico foi encontrado no tratamento combinado de cutinase e pectina liase: a digestão da cutícula pela cutinase resultou na formação e aumento de microporos na camada externa da fibra de algodão, o que permitiu uma rápida penetração da pectinase na camada mais interna de pectina. Este efeito foi expresso em alta absorção de água (24 s) e aumento da perda de peso dos tecidos.

2.5. BIOBRANQUEAMENTO

O branqueamento é o último passo antes do tingimento, com a finalidade de descolorir os pigmentos naturais (flavonoides) indesejados presentes nas fibras têxteis, responsáveis pela aparência amarelada de fios ou tecidos (AGRAWAL, 2005; MADHU; CHAKRABORTY, 2017; SHAHID et al., 2016). Tradicionalmente, o branqueamento de algodão é conseguido em condições reacionais intensas (90-100 °C, pH 10-12 e em altas concentrações de H₂O₂ e NaOH) e requer lavagem e enxagues extensivos, o que pode provocar severos danos às fibras e ao meio ambiente (AGRAWAL, 2005; MADHU; CHAKRABORTY, 2017). Glicose oxidase, lacase e arilesterase são enzimas consideradas com potencial para o biobranqueamento por via enzimática (Tabela 2.7), a partir de três mecanismos diferentes: (1) geração in loco de peróxido de hidrogênio; (2) transferência de elétrons; e (3) geração in loco de ácido peracético, respectivamente (ANDREAUS et al., 2019; VARADARAJAN; VENKATACHALAM, 2016).

Tabela 2.7 – Reações catalisadas enzimaticamente para branqueamento de algodão.

Enzima	Reação
Glicose oxidase	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{Glicose oxidase}} \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O}_2$
Lacase	
Arilesterase	

Fonte: GONÇALVES et al. (2014); OPWIS; KNITTEL; SCHOLLMAYER (1999); ŠPIČKA et al. (2015).

A enzima glicose oxidase é capaz de catalisar a oxidação da glicose à glucolactona, que por sua vez produz ácido glucônico e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) como um produto secundário (MADHU; CHAKRABORTY, 2017). O biobranqueamento de tecidos de algodão com peróxido de hidrogênio gerado enzimaticamente pela glicose oxidase foi estudado por Tzanov et al. (2001) e três importantes características foram elencadas a partir deste estudo. (1)

A aeração de oxigênio desempenha um papel muito importante na reação e na produção de peróxido, aumentando em duas vezes a atividade da glicose oxidase; (2) a quantidade de peróxido enzimático requerida foi duas vezes maior do que no branqueamento químico padrão, para auferir o mesmo grau de branco ao tecido (≈ 66 graus Berger); e (3) a melhor ativação do peróxido foi obtida em alta temperatura ($90\text{ }^{\circ}\text{C}$) e em meio alcalino, contudo, nestas circunstâncias (alta temperatura e $\text{pH} > 11,5$) a glicose caramelizou, tornando a solução de banho acastanhada e conferindo cor à amostra, ao invés de branquear o tecido. A glicose adicionada pode proteger o algodão do branqueamento, por isso quantidades maiores de peróxido produzido enzimaticamente são necessárias (MADHU; CHAKRABORTY, 2017).

Ramadan (2008) fez o biobranqueamento de algodão, linho e suas misturas, com a enzima glicose oxidase. O autor encontrou bons resultados em relação ao grau de branco (≈ 60 graus Berger), índice de amarelecimento e comportamento mecânico (resistência à tração e porcentagem de alongamento) dos tecidos branqueados, comparáveis àqueles do branqueamento químico. As condições otimizadas foram: 25 U/mL de glicose oxidase, 10 g/L de glicose, $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ de temperatura, valor de pH 10 e duração do tratamento de 90 minutos.

Através da imobilização da enzima glicose oxidase em diferentes suportes (algodão, óxido de alumínio e vidro, por exemplo), alguns pesquisadores descreveram uma produção suficiente de peróxido com baixa concentração de enzima, aplicação repetida da enzima sem perda significativa da atividade e melhor estabilidade enzimática ao armazenamento (OPWIS; KNITTEL; SCHOLLMAYER, 1999; TZANOV et al., 2002). As enzimas imobilizadas, em vez de livres, aumentaram levemente a alvura dos tecidos de algodão (de 73,6 para 74,1 graus Berger) (TZANOV et al., 2002), mas podem ser usadas várias vezes e por um período de tempo maior (OPWIS; KNITTEL; SCHOLLMAYER, 1999), o que tornaria o processo mais econômico (MADHU; CHAKRABORTY, 2017). A reutilização dos banhos de desengomagem contendo glicose (da preparação de tecidos planos), como substrato para a geração enzimática de peróxido de hidrogênio, também parece ser uma possibilidade vantajosa em larga escala, pela economia no uso da água e no tratamento de efluentes (OPWIS; KNITTEL; SCHOLLMAYER, 1999).

As lacases são enzimas multi-cobre que catalisam a oxidação de uma ampla gama de substâncias orgânicas e inorgânicas, à medida que reduzem oxigênio molecular à água (TZANOV et al., 2003a). Elas foram testadas para o biobranqueamento do algodão cru, pela primeira vez, por Tzanov et al. (2003a), com o pressuposto de que poderiam atacar os grupos hidroxila fenólicos e descolorir ou eliminar as substâncias coloridas do algodão (PEREIRA et al., 2005). Tzanov et al. (2003a) mostraram que a enzima lacase sozinha não melhorou a

brancura dos tecidos nos níveis pretendidos, mas surpreendentemente, relataram um aumento na brancura final do algodão quando as lacases foram aplicadas antes do branqueamento convencional à base de H_2O_2 . Uma explicação é que a enzima lacase transformou a matéria corante do algodão em outros intermediários coloridos, que são mais suscetíveis à oxidação com peróxido e, portanto, mais fáceis de remover durante o branqueamento químico posterior (GONÇALVES et al., 2014; TZANOV et al., 2003a). O grau de branco alcançado (≈ 76 graus Berger) no processo combinado de lacases/ H_2O_2 foi semelhante a dois branqueamentos consecutivos com peróxido (TZANOV et al., 2003a) e isso significa que, o acoplamento do pré-branqueamento com lacase (pH 5, 50 °C, 1 h) ao branqueamento químico pode levar a uma maior brancura dos tecidos ou à diminuição no consumo de peróxido de hidrogênio (PEREIRA et al., 2005).

O pré-branqueamento mediado por lacase (pH 5, 60 °C, 30 min) parece ser uma técnica eficaz para melhorar o rendimento do branqueamento tradicional no tecido de algodão e as vantagens são: (1) dosagem mais baixa de H_2O_2 (apenas metade); (2) temperatura reduzida (30 °C menor); e (3) redução do tempo em 33 % (TIAN et al., 2012), com repercussões positivas tanto nos custos quanto na sustentabilidade ambiental de todo o processo (SPINA et al., 2016). Os resultados de Spina et al. (2016) também estão de acordo com as investigações anteriores, onde as enzimas lacases (pH 5, 50 °C, 60 min) trabalhando em sinergia com o método convencional foram aplicadas com sucesso no branqueamento de tecidos de algodão, aumentando a brancura em até 4,34 vezes das fibras convencionalmente branqueadas. Ademais, o potencial de clareamento do algodão com lacase/ H_2O_2 assistido por ultrassom foi demonstrado por Gonçalves et al. (2014). A tecnologia de ultrassom melhorou a eficiência enzimática, aumentou os níveis de branco do algodão (até 118,23 graus Berger) e o desempenho global do clareamento (menos energia e produtos químicos foram necessários), sem afetar a resistência à tração dos tecidos.

Betcheva et al. (2007), da mesma forma, estudaram o biobranqueamento do linho (semelhante ao algodão, o linho é uma fibra natural que detém a celulose como o componente estrutural mais importante) com lacase pura e lacase combinada com peróxido. Segundo os pesquisadores, o procedimento enzimático prévio simplificou o branqueamento padrão com peróxido, diminuindo a temperatura (de 80 para 50 °C) e o tempo (de 60 para 15 minutos), e produziu materiais têxteis com alta brancura e propriedades mecânicas muito bem preservadas.

Recentemente, Tülek et al. (2021) imobilizaram uma lacase em estrutura metal-orgânica revestida de sílica e, em seguida, exploraram seu uso industrial para o branqueamento de tecidos 100 % algodão combinado com H_2O_2 e NaOH. As enzimas livres apresentaram atividade

máxima a 55 °C, enquanto as enzimas imobilizadas apresentaram maior estabilidade térmica e maior eficiência de branqueamento em condições de processamento adversas. O processo foi realizado em banho único (lacase + H₂O₂ e NaOH) a 80 °C, pH 5 e 45 min, seguido de 1-3 lavagens em água quente a 90-95 °C e enxágue final com água fria. Após cinco reutilizações, a lacase imobilizada reteve 75-80 % de sua atividade inicial e mostrou uma poderosa capacidade de branqueamento, podendo diminuir custos e preocupações ambientais na indústria têxtil.

O branqueamento com arilesterase é feito na presença de peróxido de hidrogênio e o sistema enzimático catalisa a peridrólise do diacetato de propilenoglicol, formando propilenoglicol e ácido peracético durante a reação (FARRELL; DE BOSKEY; ANKENY, 2016; ŠPIČKA; TAVČER, 2013a; ŠPIČKA; TAVČER, 2015; ŠPIČKA et al., 2015). A principal vantagem do ácido peracético, como agente clareador, é que um grau de branco adequado do tecido de algodão (68-82 graus Berger) pode ser obtido a 65 °C e em pH neutro (ŠPIČKA; TAVČER, 2013a), e essas condições mais benignas minimizam os prejuízos às fibras e ao meio ambiente (ŠPIČKA; TAVČER, 2015). Com o pH abaixo de 10 e na temperatura de 65 °C, o peróxido de hidrogênio é muito estável e não contribui para o branqueamento das fibras, mas uma elevação da temperatura no final do tratamento (85 °C, 15 min) ativa o peróxido de hidrogênio restante no banho de biobranqueamento e aumenta para além a alvura dos tecidos de algodão (ŠPIČKA; TAVČER, 2013a).

O biobranqueamento com arilesterase (1 g/L) é, normalmente, realizado a 65 °C durante 1 h, com 1,5 g/L de surfactante, 3 g/L de diacetato de propilenoglicol, 6 mL/L de H₂O₂ (35 %), 0,5 g/L de um agente estabilizador (opcional) e 2 g/L de carbonato de sódio para deixar o pH inicial do banho alcalino (≈ pH 10), já que durante o clareamento o pH diminui (≈ pH 8) com a formação do ácido peracético (ŠPIČKA; TAVČER, 2013a; ŠPIČKA; TAVČER, 2015; ŠPIČKA et al., 2015). Como o pH final é quase neutro, não há necessidade de uma etapa adicional para neutralização do banho antes da sua descarga no sistema de esgoto e, nesta perspectiva, menos tempo, energia e água são consumidos (ŠPIČKA; TAVČER, 2015).

O branqueamento em baixa temperatura com ácido peracético produzido enzimaticamente com enzimas arilesterase apresenta alta capacidade de branqueamento, independente da composição do tecido (algodão, bambu, poliácido láctico e proteína de soja), e corresponde ao branqueamento convencional com peróxido de hidrogênio (ŠPIČKA et al., 2015). Pode também ser combinado de forma eficiente com a biopurga com enzimas pectinases em um banho único de preparação, como uma alternativa viável para o processamento têxtil (ŠPIČKA; TAVČER, 2013a). Um produto comercial, Gentle Power BleachTM (Huntsman, Basiléia, Suíça) que utiliza a formulação de enzima líquida PrimaGreen[®] EcoWhite

(Biesterfeld, Hamburgo, Alemanha), tem funcionado e está disponível no mercado (FARRELL; DE BOSKEY; ANKENY, 2016; ŠPIČKA; TAVČER, 2013a; ŠPIČKA; TAVČER, 2015; ŠPIČKA et al., 2015). Dettore (2011) comparou os impactos ambientais associados ao branqueamento enzimático com Gentle Power BleachTM em relação ao convencional e os resultados mostraram uma vantagem maior que 20 % na maioria das categorias de impacto analisadas, incluindo mudanças climáticas, saúde humana, qualidade do ecossistema e uso da água. As reduções nos impactos das mudanças climáticas seriam quase iguais à emissão anual de 7 usinas termelétricas a carvão (DETTORE, 2011).

O branqueamento por meios enzimáticos (glicose oxidase, lacase e arilesterase) tem recebido atenção, mas até o momento não há uma tecnologia completamente eficaz e industrialmente viável disponível para o algodão (ANDREAUS et al., 2019). Os esforços de pesquisa futuros devem ser direcionados para aperfeiçoar a eficiência do processo, a aplicabilidade industrial e a minimização de custos. Quando se compara o custo das técnicas química e enzimática, a segunda tem um custo um pouco maior, mas considerando as questões ambientais é evidente que muito dinheiro poderá ser economizado (RAMADAN, 2008). A adoção global do biobranqueamento proporcionará benefícios econômicos e ambientais, com contenções anuais de até 10 trilhões de litros de água doce e reduções de até 30 milhões de toneladas de gases de efeito estufa no mundo (SHAHID et al., 2016).

2.6. BIOPROCESSOS DE PREPARAÇÃO COMBINADOS

Se ambos os processos de preparação do algodão (isto é, remoção de impurezas não celulósicas e matérias corantes) puderem ser unidos em um único processo de forma eficiente, o consumo de água, energia, tempo e agentes auxiliares poderá ser reduzido para mais (HEBEISH et al., 2009) e menos efluentes serão produzidos (MOJSOV, 2015). Na literatura especializada, diversas estratégias já são encontradas, como a integração das enzimas de biopurga com o branqueamento com ácido peracético (HEBEISH et al., 2009; MOJSOV, 2015; SHAFIE; FOUDA; HASHEM, 2009; USLUOGLU; ARABACI, 2014), a possibilidade de uma biopreparação completa usando enzimas de degradação do amido, pectinase e glicose oxidase (MOJSOV, 2019; ŠPIČKA; TAVČER, 2013b), pectinase e arilesterase em banho único (ŠPIČKA; TAVČER, 2013a) ou celulase, pectinase, lipase e glicose oxidase em um banho sequenciado (REIS et al., 2017).

Um desenvolvimento de biopurga combinada com branqueamento por ácido peracético formado *in situ* usando tetracetililenodiamina (TAED) e H₂O₂ foi proposto por Hebeish et al.

(2009) para tecidos à base de algodão. Os autores sugeriram uma preparação em estágio único (biopurga e branqueamento simultâneos) realizada a 60 °C, pH 8, por 60 minutos. A formulação aquosa ótima, que deu melhores valores de absorção de água e grau de branco, constituía-se de enzima pectinase alcalina (2 g/L), TAED (15 g/L), H₂O₂ (5 g/L), agente umectante não iônico (0,5 g/L) e silicato de sódio (2 g/L). Além das vantagens em relação às principais propriedades técnicas dos tecidos (perda de massa, resistência à tração e teor de carboxila), a tecnologia foi ecologicamente correta e reproduzível, dado que a biopurga com pectinase e o branqueamento com ácido peracético são realizados em temperatura, pH e tempo semelhantes.

Shafie, Fouda e Hashem (2009) propuseram um processo de uma etapa para biopurga (com celulase, pectinase ou suas misturas) e branqueamento com ácido peracético de tecidos de algodão. O ácido peracético é um agente de branqueamento alternativo ambientalmente seguro e foi gerado *in loco* pela reação do perborato de sódio com o ativador TAED. A melhor formulação encontrada continha 25 g/L de TAED, 15 g/L de perborato de sódio, 2 g/L de pectinase e 5 g/L de agente umectante não iônico, e as condições ideais foram 60 °C por 90 min. Os tecidos tratados apresentaram excelente molhabilidade (≈ 2 s) e índice de brancura (≈ 73 graus Berger), indicando que tanto as enzimas quanto o ácido peracético mantêm suas atividades mesmo após a combinação. Usluoglu e Arabaci (2014) também combinaram a biopurga e o branqueamento de tecidos de algodão/poliamida em um só banho, com enzimas (lipase, protease, celulase ou pectinase) e ácido peracético formado *in situ* a partir da reação de TAED com perborato de sódio. O tratamento foi realizado a 60 °C, pH 7,5 e durante 45 min. A receita otimizada possuía 20 g/L de TAED, 12 g/L de perborato de sódio, 2 g/L de enzimas e 1 g/L de agente umectante não iônico. Os resultados obtidos mostraram excelentes molhabilidade (1 s) e índice de brancura (≥ 66 graus Berger) dos tecidos, em tempos muito mais curtos, com consumo de álcali reduzido e alta eficiência, o que seria benéfico para a indústria têxtil.

De maneira similar, Mojsov (2015) realizou a biopurga com pectinases (ácidas e alcalinas) e o branqueamento com ácido peracético simultâneos em tecidos de algodão. O bioprocessamento (55 °C, 60 minutos) não causou danos às fibras, conferiu grau médio de brancura (≈ 58 graus Berger) e adequada absorção de água aos tecidos, e foi acompanhado por uma demanda significativamente menor de energia, água, produtos químicos, tempo e custos. O processo combinado consumiu apenas 57,5 % de água, em comparação com o processo de dois banhos separados, e apenas 35,2 % em comparação com o processo convencional. As águas residuais foram geradas em menor quantidade, dispensaram a etapa de neutralização (pH final ≈ 6) e eram biodegradáveis. Devido a temperatura mais baixa (de 95 °C para 55 °C),

menos energia foi consumida e o processo combinado usou somente 27,7 % do vapor necessário para a purga alcalina e o branqueamento com peróxido de hidrogênio.

Špička e Tavčer (2013a) estudaram a viabilidade de um pré-tratamento de biopurga e biobranqueamento com um só banho, contendo enzimas pectinase e arilesterase concomitantes. O sistema enzimático foi auspicioso e removeu suficientemente a pectina do algodão (amostras absorventes), com uma alta capacidade de branqueamento dos tecidos (67,84-72,77 graus Berger) sob condições reacionais suaves (65 °C em pH neutro por 60 min). A pesquisa mostrou que por meio da integração, o banho único foi mais curto, gastou menos energia e terá um custo mais baixo para a indústria.

No mesmo ano, Špička e Tavčer (2013b) investigaram a viabilidade de um pré-tratamento enzimático completo do tecido plano de algodão, a baixa temperatura em um só banho. O tecido de algodão foi desengomado, purgado e branqueado com uma mistura de enzimas compatíveis de degradação do amido, pectinase e glicose oxidase, respectivamente. O objetivo era degradar a goma de amido em glicose para produzir peróxido de hidrogênio, transformar o peróxido de hidrogênio em ácido peracético pela incorporação de TAED e realizar o branqueamento em condições amenas, 50 °C e pH neutro, onde o ácido peracético é mais eficaz. As pectinases foram incluídas para remover as pectinas das fibras e melhorar sua molhabilidade. Com baixo consumo de água, energia e tempo, puderam ser obtidos tecidos de algodão com boa absorção de água (< 1 s) e grau médio de alvura (39-51 graus Berger). A alta concentração de enzimas no banho pode ter impedido o ácido peracético de acessar e branquear mais o tecido, e investigações adicionais ainda são necessárias para otimizar as combinações e concentrações das enzimas.

Mojsov (2019), similarmente, investigou se os banhos de desengomagem e purga enzimáticas poderiam ser reutilizados para o biobranqueamento de tecidos planos de algodão com glicose oxidase, e demonstrou que uma preparação completa com enzimas é viável. Todos os ingredientes de desengomagem e biopurga foram adicionados ao mesmo tempo num único banho e o tratamento ocorreu a 55 °C, em pH 5 por 60 minutos. A absorção de água das amostras tratadas (< 1 s) demonstrou que há compatibilidade das enzimas de degradação do amido e pectinases e que estas podem ser efetivamente combinadas. Em seguida, diferentes abordagens foram usadas na fase de biobranqueamento com glicose oxidase e o peróxido de hidrogênio produzido pela enzima foi convertido em ácido peracético pela incorporação de TAED no banho. A máxima brancura medida foi de 53,1 graus Berger, que é um grau de branco médio e estava abaixo da brancura das amostras branqueadas pelo método convencional (74,6 graus Berger). Segundo Mojsov (2019), as concentrações de peróxido de hidrogênio obtidas

enzimaticamente são mais baixas e, à vista disso, o biobranqueamento foi menos eficiente, mas pode ser melhorado com ativadores mais eficazes.

Reis et al. (2017) fez a biopurga e o biobranqueamento sequencial de tecidos de malha de algodão em apenas um banho, sem realização de lavagens intermediárias e sem substituição de água. No início, a biopurga foi realizada utilizando as enzimas celulase, pectinase e lipase para remover impurezas e, em seguida, houve o clareamento com peróxido de hidrogênio gerado enzimaticamente pela glicose oxidase. Esboço representativo do processo pode ser encontrado em Reis et al. (2017). Os tecidos tratados tiveram boa hidrofiliidade com 52 graus Berger de brancura, que ainda é considerada relativamente baixa. Todavia, os resultados demonstraram que o consumo de água foi quatro vezes menor que no processo convencional, sendo uma alternativa interessante para a indústria de preparação têxtil, para aplicar em tecidos que serão tingidos com cores escuras e médias onde o fundo não interfere na cor.

2.7. ÁGUA NA INDÚSTRIA TÊXTIL

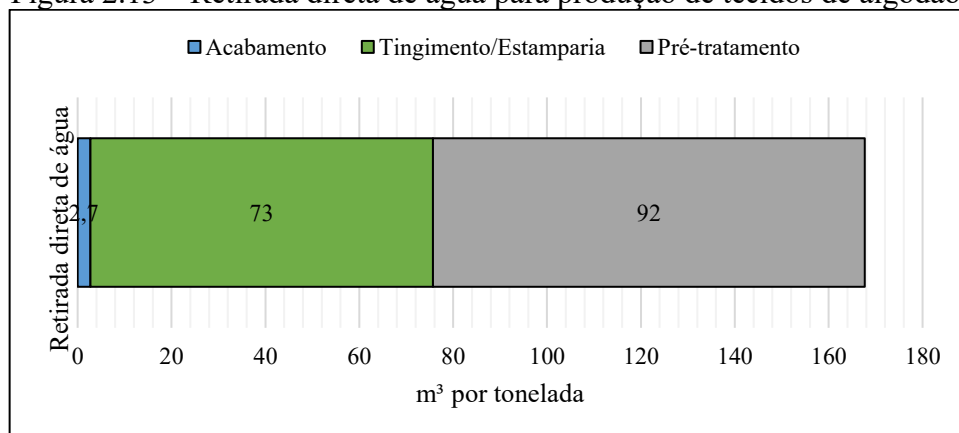
Uma crescente preocupação com a indústria têxtil é o seu consumo extremamente alto de água, grande descarga de águas residuais (>80 % da usada) e alto potencial de poluição, que acelera a escassez de água limpa e coloca uma enorme pressão sobre os recursos hídricos do planeta (HUSSAIN; WAHAB, 2018). A indústria têxtil usa grandes quantidades de eletricidade, combustível e água em seu sistema produtivo, com as correspondentes emissões de gases de efeito estufa e efluente contaminado (HASANBEIGI; PRICE, 2015).

Nos processos de pré-tratamento, tingimento/estamparia e acabamento (processamento úmido) de vários produtos têxteis, incluindo o algodão, a água é o principal meio para a aplicação de produtos químicos e, portanto, um número avantajado de resíduos químicos e impurezas entra no sistema de esgoto, aumentando a carga de poluentes e degradando a qualidade da água (CHEN et al., 2019). Os efluentes têxteis contêm produtos químicos tóxicos como ácidos, álcalis, corantes, surfactantes, etc., que se não tratados adequadamente antes do descarte, podem causar sérios danos ao meio ambiente e à sociedade (HOLKAR et al., 2016). Cerca de 3.600 corantes e 8.000 produtos químicos diferentes estão sendo usados hoje em dia e, muitos desses, representam uma grave ameaça, direta ou indireta, à saúde humana e à vida aquática (HUSSAIN; WAHAB, 2018).

Em termos de impacto ambiental, estima-se que a indústria têxtil usa mais água do que qualquer outra indústria e que quase todas as águas residuais descartadas são altamente poluídas (HOLKAR et al., 2016), sendo responsável por 17-20 % da poluição de água industrial

(PENSUPA et al., 2017) e a pior poluidora de água limpa depois da agricultura (HUSSAIN; WAHAB, 2018). Os tecidos e malhas não são transformados em produtos acabados sem várias operações com o uso intensivo de água (LAKSHMANAN; RAGHAVENDRAN, 2017). Diferentes níveis de necessidade de água têm sido relatados: fábricas consomem de 200-700 L de água por kg de tecido (HOLKAR et al., 2016; HUSSAIN; WAHAB, 2018; PENSUPA et al., 2017); para produzir tecido acabado suficiente para cobrir um sofá são usados 500 L de água, em média (HUSSAIN; WAHAB, 2018); uma camiseta de algodão requer aproximadamente 2.650 L de água; o consumo específico de água do tecido plano é de 113 L/kg e da malha é de 83 L/kg (LAKSHMANAN; RAGHAVENDRAN, 2017). A Figura 2.13 mostra que as maiores retiradas diretas de água para a produção de tecidos de algodão ocorrem durante o pré-tratamento, o que corresponde a $\approx 2,21$ bilhões de m³ por ano (CHEN et al., 2019). Também, a preparação e o acabamento juntos consomem a maior parte da energia térmica (≈ 35 %, conforme a planta) (HASANBEIGI; PRICE, 2015).

Figura 2.13 – Retirada direta de água para produção de tecidos de algodão.



Fonte: Adaptado de CHEN et al. (2019).

O crescimento populacional e econômico, bem como de “fast-fashion” (moda rápida), deverá estimular ainda mais a produção e o consumo de têxteis nas próximas décadas, com um aumento proporcional no uso absoluto de energia e água na indústria (HASANBEIGI; PRICE, 2015; PENSUPA et al., 2017). Mas desafios críticos estão à frente do crescimento da indústria têxtil, para lidar com a escassez progressiva e a poluição da água (LAKSHMANAN; RAGHAVENDRAN, 2017). O aumento da consciência ambiental dos consumidores, o endurecimento das leis ambientais para descartes de efluentes industriais e a escassez de água, estão obrigando a indústria têxtil a revisar, reestruturar e reduzir o seu consumo de água e os riscos de efluentes associados (HUSSAIN; WAHAB, 2018). Além disso, em muitos países as tarifas de abastecimento de água e descarga de efluentes estão aumentando e, para que as

empresas economizem custos e permaneçam competitivas, estas precisam economizar água e abordar questões relacionados ao lançamento de águas residuais no ecossistema (HASANBEIGI; PRICE, 2015; LAKSHMANAN; RAGHAVENDRAN, 2017).

Embora nos últimos anos tenha havido um progresso notável em diversos tratamentos para efluentes têxteis, a abordagem de minimização de águas residuais é muito mais eficaz do que produzir os resíduos para depois tratá-los (HUSSAIN; WAHAB, 2018). A limpeza enzimática, em relação à limpeza alcalina, reduz o consumo de água de enxágue em 20-50 % e reduz 20-40 % nas demandas bioquímica e química de oxigênio em águas residuais (HASANBEIGI; PRICE, 2015). A quantidade de água consumida para biopurga com pectinases e branqueamento com ácido peracético é 33,4 % menor em relação à purga alcalina e branqueamento com peróxido de hidrogênio, podendo chegar a uma economia de 67 % de água durante o tratamento de um só banho (biopurga + branqueamento de um banho) (PREŠA; FORTE TAVČER, 2009). Com base em experimentos realizados pela Novozymes, estima-se que uma pequena dose de 10 kg de enzima (Scourzyme[®] 301 L) na biopurga pode economizar até 20.000 L de água por tonelada de fio processado (NIELSEN et al., 2009). No entanto, o afastamento completo de processos e produtos convencionais exigirá muitos desdobramentos: educação de produtores e consumidores, novos padrões, investimentos em pesquisa e desenvolvimento para lidar com as barreiras tecnológicas, apoio governamental e dos formuladores de políticas públicas, incentivos financeiros, entre outros (HASANBEIGI; PRICE, 2015).

3. COMPREENDENDO OS EFEITOS DOS PARÂMETROS DE PROCESSO NA BIOPURGA DO ALGODÃO E SUAS INTERAÇÕES NA ATIVIDADE DA PECTATO LIASE POR ANÁLISE DE PLANEJAMENTO FATORIAL

RESUMO: As pectinases podem ser usadas para remover impurezas e elementos hidrofóbicos da superfície das fibras de algodão, pela degradação das substâncias pécicas. Sua caracterização bioquímica é uma ferramenta interessante para entender o mecanismo de catálise, avaliar os parâmetros que influenciam na sua atividade e otimizar os processos industriais. À vista disso, o objetivo deste trabalho foi medir a atividade de uma pectato liase comercial em diferentes condições de temperatura (40, 50 e 60 °C), pH (7, 8 e 9) e concentração de surfactante não iônico (0,0; 0,5 e 1,0 g/L), visando à estratégia futura de biopurga têxtil. Utilizou-se um planejamento fatorial 2³ completo com ponto central e concluiu-se que os efeitos principais dos três fatores são estatisticamente significativos ($p < 0,05$). A interação de segunda ordem entre a temperatura e o pH, bem como a interação entre o pH e a concentração de surfactante, também são importantes. O ponto de máxima atividade (618,17 U/mL) sobre o ácido poligalacturônico foi na temperatura de 60 °C, pH 9 e sem surfactante, sendo que a atividade da pectato liase pareceu ser mais sensível à mudanças no pH do que na temperatura e na concentração de surfactante. Esses resultados proporcionaram pleno suporte aos experimentos pósteros de biopurga, onde alto nível de limpeza e boa molhabilidade do tecido de malha de algodão foram alcançados (≈ 5 s) na concentração de enzima mais baixa (1 g/L). Assim, a aplicação da tecnologia enzimática poderia contribuir com a melhoria de qualidade dos produtos e suprir com a carência de processamentos têxteis mais sustentáveis, em total acordo com as regulamentações ambientais.

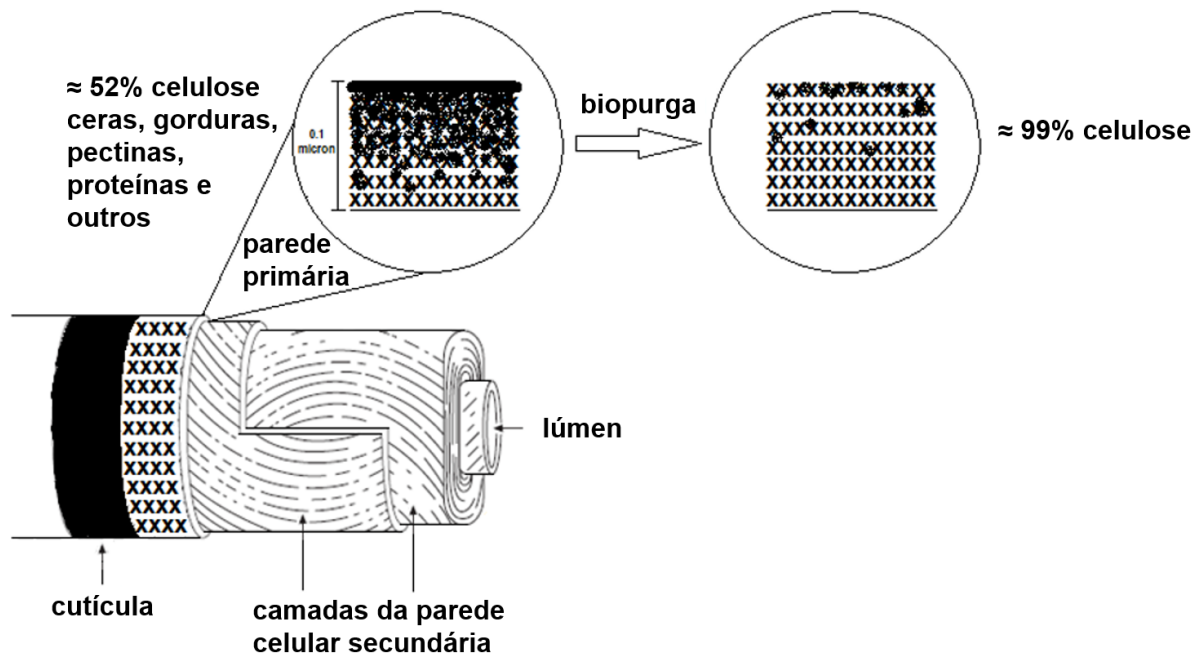
Palavras-chave: Pectinase. Atividade enzimática. Otimização de processo. Biopurga. Tecido de algodão.

3.1. INTRODUÇÃO

O algodão é a fibra natural mais utilizada para a produção de produtos têxteis diversos (ABDULRACHMAN et al., 2017; DEMIR et al., 2018). A fibra de algodão é, majoritariamente, celulose (GORDON; HSIEH, 2007) e possui quatro camadas elementares em sua estrutura morfológica, que estão ilustradas na Figura 3.1 com ênfase na cutícula e na parede celular primária. A cutícula é uma fina camada externa composta por ceras, proteínas e pectinas, que protege o algodão contra ataques ambientais e contra a penetração de água (LI; HARDIN, 1997). A parede celular primária tem 0,1 μm de espessura, o que representa apenas 1 % da espessura total da fibra, e consiste em 52 % de celulose com uma mistura complexa de pectinas, ceras, proteínas, cinzas e outros compostos orgânicos compreendendo o restante (ETTERS, 1999). São cerca de 4-12 % de impurezas naturais não celulósicas, localizadas sobretudo na cutícula e na parede primária (LI; HARDIN, 1997), que conferem ao algodão cru uma proteção hidrofóbica e uma superfície lubrificada ao processamento (WAKELYN et al., 2006). Por essa

razão, o tecido no estado bruto precisa ser preparado, limpo e convertido em hidrofílico, antes dos processos subsequentes de tingimento, estamparia e acabamento (BESEGATTO et al., 2018).

Figura 3.1 – Representação esquemática da estrutura do algodão, destacando a parede primária e o gradiente de concentração dos materiais não celulósicos na matriz de celulose.



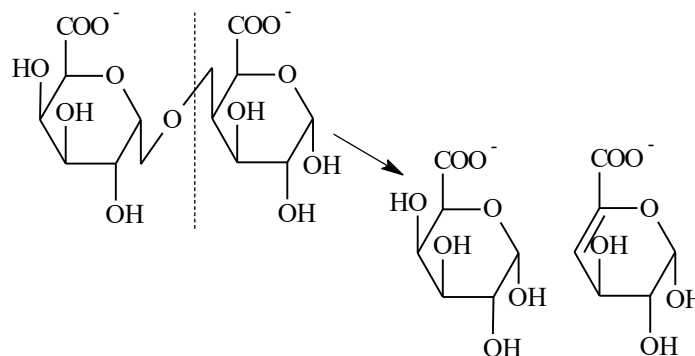
O procedimento industrial clássico de limpeza/preparação do algodão compreende uma purga alcalina com hidróxido de sódio e outros produtos químicos, em alta temperatura e acompanhada por várias etapas de lavagem (VARADARAJAN; VENKATACHALAM, 2016). O resultado final é uma fibra de celulose quase pura (teor > 99 %) e com excelente absorção de água (WAKELYN et al., 2006). Contudo, a preparação representa o estágio mais agressivo dentro de uma indústria de beneficiamento têxtil (LOSONCZI; CSISZÁR; SZAKÁCS, 2004), com elevado uso de energia, geração de efluentes tóxicos, poluição ambiental, despolimerização da celulose e queda na resistência dos materiais (RAMADAN, 2008).

Em substituição ao tratamento tradicional, uma alternativa atrativa é a biopurga enzimática. A biopurga minimiza os danos às fibras, por ser realizada em condições suaves de pressão, pH e temperatura, bem como é ecologicamente amigável pela diminuição no consumo de químicos agressivos, energia e água (SHRIMALI; DEDHIA, 2016; VARADARAJAN; VENKATACHALAM, 2016). As enzimas, dada a sua especificidade, atuam exclusivamente nos compostos que se deseja eliminar, tendo uma influência passível de controle sobre a fibra de algodão (ANDREAUS et al., 2019). As enzimas pectinases podem ser empregadas para a

remoção das pectinas, que atuam como uma cola biológica impermeável, ligando os componentes não celulósicos da parede primária dentro da matriz de celulose (ETTERS, 1999).

A pectina é uma macromolécula constituída de, no mínimo, 65 % de resíduos de ácido galacturônico ligados em $\alpha(1\rightarrow4)$ num padrão linear, com pontos de ramificação nos quais predominam cadeias laterais de arabinose e galactose (CANTERI et al., 2012; EICHHORN et al., 2009). A alta metilação (85 %) do ácido poligalacturônico o torna fortemente hidrofóbico, contribuindo para a falta de absorção de água do algodão cru (GORDON; HSIEH, 2007; LI; HARDIN, 1997). A enzima pectinase ataca a espinha dorsal do ácido poligalacturônico da pectina sem a decomposição das fibras de celulose, que é uma atividade lateral indesejável da purga alcalina (ABDULRACHMAN et al., 2017). As pectato liases, em particular, catalisam a clivagem das ligações glicosídicas (do tipo $\alpha 1-4$) no ácido pécico por trans-eliminação e formam produtos com resíduos 4,5-insaturados na extremidade não redutora (Figura 3.2) (ANDREAUS et al., 2019). Essa degradação das pectinas na superfície das fibras de algodão desestabiliza a estrutura, afrouxa a matriz celulósica e liberta as outras impurezas por emulsificação subsequente (NIAZ et al., 2011). Aqui, a inclusão de agentes surfactantes no banho de biopurga é também muito importante, para assegurar a hidrofiliidade do artigo têxtil (TZANOV et al., 2001).

Figura 3.2 – Modo de ação enzimática das pectato liases em uma molécula de pectina, de acordo com LINHARDT; GALLIHER; COONEY (1986).

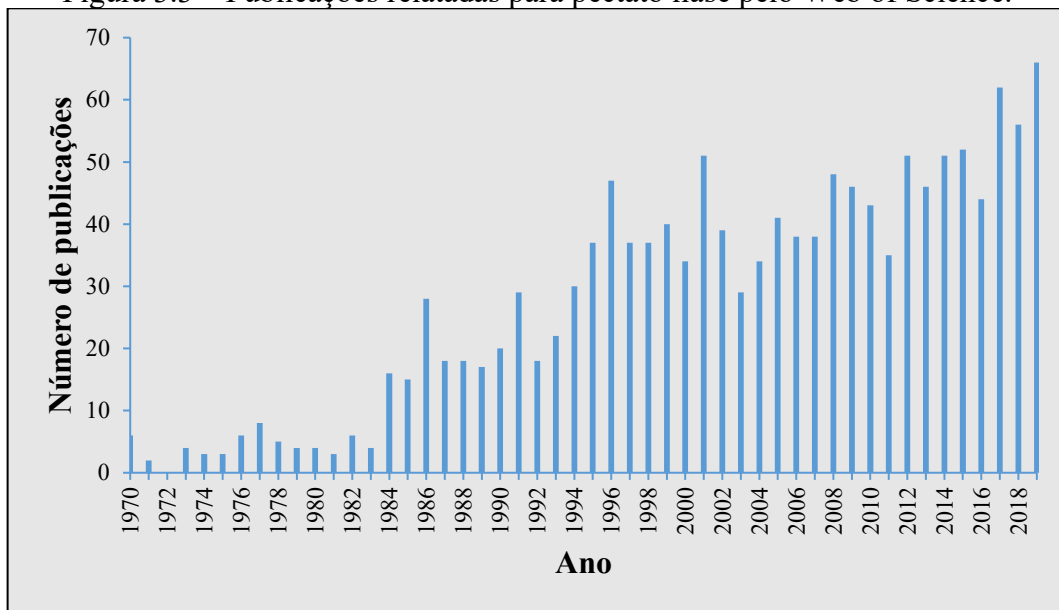


O surfactante é um aditivo complementar, mas necessário, na composição do banho de limpeza enzimática, que tem alto impacto na remoção de ceras e gorduras para atingir boa molhabilidade dos tecidos de algodão (TZANOV et al., 2001). Os surfactantes têm a capacidade de se complexar com ceras e gorduras, tornando-as solúveis em água e passíveis de rápida eliminação (HEBEISH et al., 2009). Além disso, os surfactantes reduzem a tensão superficial e permitem uma penetração mais fácil das enzimas nos microporos e fissuras das fibras, e podem

ajudar a manter as enzimas na fase líquida, disponibilizando-as para posterior ação catalítica (TZANOV et al., 2001). No entanto, o tipo e a concentração do surfactante devem ser escolhidos com cuidado para evitar efeitos negativos na atividade enzimática e conservar a capacidade de umectação e detergência desejada do banho de limpeza. Segundo Holmberg (2018), os surfactantes não iônicos são mais compatíveis com enzimas do que os surfactantes iônicos.

O histórico existente de trabalhos e o empenho científico dos últimos anos asseguram mais de 1.400 empreendimentos de pesquisa relatados pelo Web of Science quando pectato liase é usada como palavra-chave, e esse número continua aumentando (Figura 3.3). Todavia, somente 92 publicações foram encontradas quando os termos pectato liase e têxtil foram combinados. Os dados foram baixados em 28 de março de 2020.

Figura 3.3 – Publicações relacionadas para pectato liase pelo Web of Science.



Frente à necessidade de amplificar os estudos sobre tratamentos enzimáticos com pectato liase na indústria têxtil, este trabalho pretende caracterizar a enzima comercial Bioprep[®] 3000 L em condições típicas de ensaio de atividade em ácido poligalacturônico (Parte experimental 1, utilizando ácido poligalacturônico como o composto modelo para as substâncias pécnicas em fibras de algodão) e instituir um roteiro para a biopurga sob condições otimizadas (Parte experimental 2). Por meio de planejamento experimental fatorial, buscar-se-á as variáveis (temperatura, pH e concentração de surfactante) mais significativas, considerando-se a possibilidade de aumentar a atividade enzimática e a eficiência do bioprocesso. É importante conhecer essas características da enzima para avaliar qual a melhor

faixa de operação e a sua sensibilidade ao surfactante, devido a possibilidade de tornarem-se instáveis ou totalmente inativas durante os processos industriais.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Material

Foi estudada a enzima comercial BioPrep[®] 3000 L (pectinase alcalina com atividade de pectato liase de *Bacillus licheniformis*), gentilmente fornecida pela empresa Novozymes[®]. Utilizou-se o surfactante não iônico Berol[®] 175, que é a base de álcool primário natural ($\geq 60\%$ de álcool etoxilado) e foi gentilmente disponibilizado pela empresa Macler Produtos Químicos Ltda. Ácido poligalacturônico foi adquirido à Sigma-Aldrich. Tecidos de malha penteada 100 % algodão cru (fios 30.1 Ne, gramatura de 160 g/m²) foram usados como substrato têxtil e comprados no mercado local. Todos os demais reagentes utilizados possuíam grau de pureza analítico.

3.2.2. Parte experimental 1 – Atividade enzimática em ácido poligalacturônico

3.2.2.1. Ensaio de atividade enzimática

A atividade da enzima pectato liase foi determinada de acordo com Collmer, Ried e Mount (1988), usando ácido poligalacturônico como substrato (0,24 % (m/v) de ácido poligalacturônico em 50 mM de tampão Tris-HCl e 0,6 mM de cloreto de cálcio) e medindo a formação dos produtos em espectrofotômetro com comprimento de onda de 232 nm. Para iniciar o ensaio, 2,5 mL da solução de substrato com (ou sem) surfactante e 0,5 mL da enzima diluída em água (1 mL/L), equilibrados na temperatura pretendida, foram rapidamente misturados numa cubeta de quartzo com 1 cm de percurso óptico. O aumento da absorbância foi monitorado em função do tempo, de modo que a enzima produzisse uma taxa linear de reação por 30 segundos, no mínimo. O coeficiente de extinção molar para os produtos, galacturonídeos com uma ligação insaturada entre os carbonos 4-5, a 232 nm é 4.600 M⁻¹ cm⁻¹ (COLLMER; RIED; MOUNT, 1988).

A atividade foi calculada utilizando a equação (1) e discorrida em U/mL. Uma unidade de atividade (U) é a quantidade enzimática necessária para produzir 1 μmol de fragmentos pécnicos insaturados por minuto, nas condições do ensaio.

$$\frac{U}{\text{mL}} = \frac{\Delta\text{Abs}}{\Delta t} \times \frac{1}{\varepsilon} \times \frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{amostra}}} \times d \quad (1)$$

Onde: $\Delta\text{Abs}/\Delta t$ é a razão de aumento da absorbância por minuto, ε é o coeficiente de extinção molar, V_{total} é o volume total da mistura reacional (3,0 mL), V_{amostra} é o volume utilizado de enzima (0,5 mL) e d é a diluição da preparação enzimática antes da adição na reação (1.000 vezes).

3.2.2.2. Desenho experimental para caracterização da enzima

O desenho experimental é uma ferramenta estatística eficiente utilizada para otimização de processos e para avaliar os efeitos de diversos parâmetros, individualmente e suas interações. O método de “mudança de um fator de cada vez” usado para otimização consome muito tempo e pode levar a conclusões menos precisas, uma vez que não considera as interações entre os fatores e, portanto, técnicas multivariadas têm sido cada vez mais usadas em aplicações analíticas, no mundo industrial e em bioprocessos (KALANTZI; KEKOS; MAMMA, 2019).

Neste caso, a atividade da enzima pectato liase, fator dependente, foi medida frente à três fatores independentes: temperatura (40, 50 e 60 °C), pH (7, 8 e 9) e concentração de surfactante não iônico (0,0; 0,5 e 1,0 g/L), que potencialmente afetam o comportamento de catálise. Um planejamento fatorial 2^3 completo com ponto central (0) foi utilizado como desenho experimental, onde os fatores foram avaliados nos níveis mínimo (-1) e máximo (+1), totalizando 9 ensaios (Tabela 3.1) feitos em triplicata. Os limites superior e inferior de cada variável foram escolhidos por meio das características da pectato liase e de investigações preliminares (ver Apêndice C). Os experimentos foram conduzidos de forma aleatória e a resposta foi o valor de atividade (U), mensurado conforme metodologia acima.

Tabela 3.1 – Níveis reais e codificados das variáveis estudadas e matriz do planejamento experimental fatorial 2^3 completo com ponto central.

Variáveis	Nível (-1)	Nível (0)	Nível (+1)
x ₁ (temperatura, °C)	40	50	60
x ₂ (pH)	7	8	9
x ₃ (surfactante, g/L)	0,0	0,5	1,0
Ensaio	x ₁	x ₂	x ₃
1	-1	-1	-1
2	-1	-1	+1
3	-1	+1	-1
4	-1	+1	+1
5	+1	-1	-1
6	+1	-1	+1
7	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1
9	0	0	0

3.2.2.3. Análises estatísticas

O comportamento da enzima em face aos fatores estudados (pH, temperatura e concentração de surfactante) foi comparado a um modelo preditivo de primeira ordem, segundo a equação (2), e foram gerados gráficos de superfície de resposta. Onde: Y é a resposta prevista, β_0 é o coeficiente de regressão constante (média geral), β_i é o efeito individual de cada fator, β_{ij} é o efeito de interação de segunda ordem entre os fatores, x_i e x_j são as variáveis independentes (fatores) adotadas e k é o número de fatores estudados. O nível em que cada termo no modelo deve ser significativo foi definido em 1 %. Foi realizada a análise de variância ANOVA com 99 % de confiança, utilizando-se o software Statistica® versão 13.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i < j} \sum \beta_{ij} x_i x_j \quad (2)$$

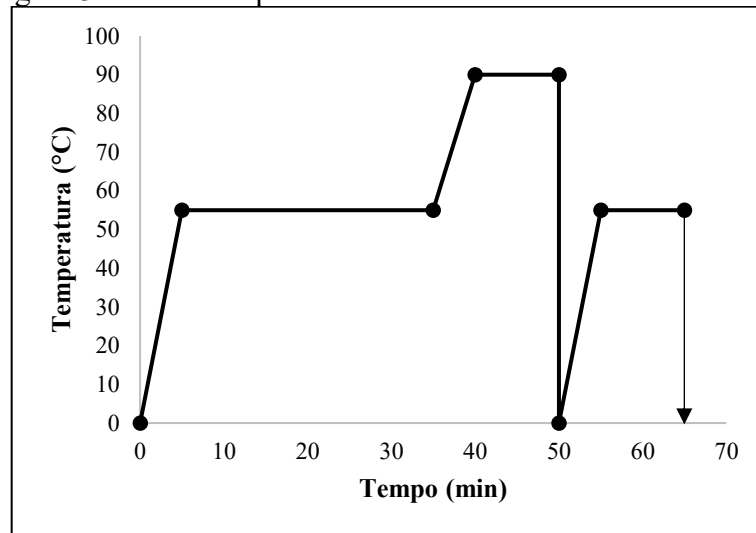
3.2.3. Parte experimental 2 – Biopurga de algodão com pectato liase

3.2.3.1. Biopurga enzimática dos tecidos de algodão

Os experimentos de biopurga (Figura 3.4) foram realizados em recipientes de aço inoxidável de 500 mL, em máquina de lavar de laboratório têxtil (wash-tester, Kimak, Brusque, Brasil) com agitação vertical de 40 rpm. Os tecidos de algodão (5,0 g) foram tratados com

diferentes concentrações enzimáticas (1,0; 5,0 e 10,0 g/L) numa relação de banho de 1:20 (g:mL), sem ou com a presença de 1 g/L de surfactante não iônico (Berol[®] 175). Todos os tratamentos com BioPrep[®] 3000 L foram processados em pH constante de 8,5 (tampão Tris-HCl 0,05 M), na temperatura de 55 °C e durante 30 minutos. Em seguida, as enzimas foram desnaturadas em fervura por 10 minutos e os tecidos foram lavados em água destilada (55 °C por 10 minutos), extensivamente enxaguados em água na temperatura ambiente e secos ao ar. Tratamentos de controle foram realizados nas mesmas condições experimentais, mas sem adição de enzima. Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

Figura 3.4 – Perfil representativo dos tratamentos enzimáticos.



3.2.3.2. Determinação dos efeitos da biopurga nos tecidos de algodão

A perda de massa foi calculada pela equação (3), onde W_1 e W_2 correspondem às massas do tecido antes e após o processo de limpeza, respectivamente. Antes de cada pesagem, as amostras ficaram condicionadas por 24 horas em atmosfera controlada com solução de cloreto de cobre saturada, na umidade relativa de $65 \pm 4\%$.

$$\text{Perda de Massa (\%)} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) \times 100 \quad (3)$$

O grau de branco (Berger) foi mensurado em um espectrofotômetro de bancada (marca Konica Minolta, modelo CM-3610D), usando cerâmica branca como padrão de calibração.

A hidrofiliidade dos tecidos foi determinada usando a NBR 13000 (ABNT, 1993) e de acordo com Nerurkar, Joshi e Adivarekar (2015) o tempo de molhagem de 5 segundos ou menos representa uma absorção adequada dos tecidos de algodão.

Para determinar a hidrofobicidade da malha crua, foi realizada a medição do ângulo de contato no instrumento goniômetro (marca Ramé-Hart, modelo 250).

Micrografias para análises morfológicas dos tecidos de algodão foram obtidas com um instrumento MEV JEOL JSM-6390LV convencional (Microscópio Eletrônico de Varredura) com um filamento de tungstênio. As amostras foram previamente revestidas com uma fina camada de ouro.

3.2.3.3. Análises estatísticas

Os dados de biopurga foram analisados pelo teste de Tukey para comparação das várias médias, considerando um nível de significância de 5 %, utilizando-se o software Statistica[®] versão 13.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Efeito multivariado do pH, da temperatura e da concentração de surfactante na atividade da enzima pectato liase

A enzima pectato liase é muito empregada em processos de biopurga de fibras naturais celulósicas, notadamente de algodão, para a degradação da camada de pectina que recobre a fibra, conferindo hidrofiliidade e possibilitando os processamentos posteriores de tingimento, estamparia e acabamento (ANDREAUS et al., 2019; BESEGATTO et al., 2018). A pectato liase requer Ca^{2+} para atividade, tem pH ótimo de atuação na região alcalina, entre 7,5 e 10, e temperatura ótima entre 40 e 50 °C (UENOJO; PASTORE, 2007). O fato desta enzima requerer íons cálcio para atividade catalítica (BENEN et al., 2000) faz dela interessante para a biopurga têxtil, visto que, pode-se ter a presença de cálcio nas águas industriais ou em resíduos pré-existentes nas fibras, sem comprometimento da sua catálise. Linhardt, Galliher e Cooney (1986) explicam que o cálcio atua como um cofator para a enzima pectato liase e/ou se liga ao substrato ácido de polissacarídeo, melhorando a susceptibilidade deste ao ataque enzimático.

A enzima Bioprep[®] 3000 L, de modo específico, atua eficientemente no pH entre 7 e 9 e tem sua temperatura ótima entre 50 e 60 °C (FOULK; AKIN; DODD, 2008). Junto à esta, são

usados surfactantes em muitas formulações de biopurga. Os surfactantes agem como agentes de detergentia para as substâncias graxas imiscíveis da superfície das fibras, emulsionando esses compostos hidrofóbicos (óleos e graxas) no meio aquoso e aumentando a umectância dos tecidos (RAZA et al., 2014). Entretanto, se o surfactante interagir com a enzima, pode haver alterações conformacionais que eventualmente levem à perda da atividade enzimática (HOLMBERG, 2018).

Do ponto de vista prático, entender a magnitude das interações entre os fatores pH, temperatura e concentração de surfactante, sobre a atividade da enzima, é vantajoso e pode dar um direcionamento para a melhoria dos bioprocessos. Na Tabela 3.2 estão descritos os resultados experimentais e preditos (utilizando a equação 4), realizados através do planejamento experimental fatorial. Os efeitos dos fatores podem ser observados na Tabela 3.3 e a análise de variância ANOVA está na Tabela 3.4.

Tabela 3.2 – Atividade da enzima pectato liase em diferentes temperatura (x_1), pH (x_2) e concentração de surfactante (x_3).

Ensaio	x_1 (°C)	x_2	x_3 (g/L)	Atividade Experimental* (U/mL)	Atividade Predita (U/mL)	Diferença (%)
1	-1 (40)	-1 (7)	-1 (0,0)	114,00 ± 3,65	111,19	2,5
2	-1 (40)	-1 (7)	+1 (1,0)	110,61 ± 1,71	115,45	4,4
3	-1 (40)	+1 (9)	-1 (0,0)	421,57 ± 9,84	414,67	1,6
4	-1 (40)	+1 (9)	+1 (1,0)	244,78 ± 16,28	253,72	3,7
5	+1 (60)	-1 (7)	-1 (0,0)	147,91 ± 7,21	152,76	3,3
6	+1 (60)	-1 (7)	+1 (1,0)	159,83 ± 13,10	157,02	1,8
7	+1 (60)	+1 (9)	-1 (0,0)	618,17 ± 70,67	627,10	1,4
8	+1 (60)	+1 (9)	+1 (1,0)	473,04 ± 32,09	466,15	1,5
9	0 (50)	0 (8)	0 (0,5)	295,39 ± 50,34	287,26	2,8

* Os valores são a média de três repetições ± desvio padrão.

Observando cada tratamento individual na Tabela 3.2, verifica-se que a enzima demonstrou maior atividade (618,17 U/mL) a 60 °C, pH 9 e na ausência de surfactante (ensaio 7). O desvio padrão desse mesmo tratamento, igualmente foi o maior. Isso pode ser devido à enzima estar muito próxima da desnaturação na temperatura de 60 °C e no pH 9,0 (FOULK; AKIN; DODD, 2008), levando à possíveis instabilidades na estrutura proteica da pectato liase e na sua capacidade de servir como catalisador. A temperatura na qual a enzima exibiu sua melhor atividade foi 60 °C, entretanto, a 70 °C e 80 °C a enzima reteve apenas 55 % e 15 % de sua atividade máxima, respectivamente (dados não publicados, ver Apêndice C), indicando que temperaturas mais elevadas causam mudanças conformacionais significativas ou mesmo levam

à desnaturação da enzima e perda de sua atividade catalítica. Em pH 10, também, a maioria das pectinases comerciais perdem atividade enzimática (DANIELL et al., 2019).

Tabela 3.3 – Efeito das variáveis estudadas sobre a atividade da enzima pectato liase.

Variável	Efeito
Temperatura	127,0*
pH	306,3*
Surfactante	-78,3*
Temperatura X pH	85,4*
Temperatura X surfactante	11,7
pH X surfactante	-82,6*

* Valores estatisticamente significativos com 99 % de confiança.

A variável que apresentou maior efeito foi o pH (Tabela 3.3). De fato, as enzimas têm grupos iônicos em seu local ativo que devem estar em uma forma estável (ZOHDI; AMID, 2013) e como reportam Linhardt, Galliher e Cooney (1986), a cadeia proteica de pectato liases é prevalentemente catiônica. A variação do pH do meio resulta em alterações na forma iônica do sítio ativo da enzima, que afeta a taxa de reação e diminui a atividade enzimática (ZOHDI; AMID, 2013). O valor de efeito positivo do pH de 306,3 indica que a enzima, nas condições estudadas, aumenta mais a sua atividade com o aumento do pH de 7 para 9, tal como no trabalho de Foulk, Akin e Dodd (2008), e pode ser atribuído ao alto pKa do resíduo básico (arginina ou lisina) no sítio catalítico da pectato liase (ABBOTT; GILBERT; BORASTON, 2010). Comparando-se os ensaios 5 e 7, em que somente o pH era diferente, a enzima teve um ganho em atividade na ordem de 4 vezes, quando o nível de pH foi aumentado de 7 para 9. Outros relatórios também mostraram que algumas pectinases são mais ativas em pH alcalino (KHAN; BARATE, 2016), corroborando com os resultados desta pesquisa. Sob a perspectiva da biopurga, a atividade da enzima em pH alcalino é benéfica, pois em pH alcalino tem-se uma maior ação de limpeza e interação com a sujeira (melhor repulsão das partículas de sujeira da superfície do algodão) (VINEYARD; FREITAS, 2015), já que o pH alcalino aumenta o potencial zeta e conseqüentemente a estabilidade das dispersões e micelas (gotículas de gordura aprisionadas por moléculas de surfactante).

Percebe-se que os outros dois fatores, temperatura e surfactante, também são significativos para a atividade da pectato liase (Tabela 3.3). A temperatura como fator isolado teve o comportamento esperado: aumentou a capacidade catalítica da enzima seguindo a Lei de Arrhenius. O surfactante, apesar de ter se apresentado desfavorável para a atividade enzimática (sinal negativo), dentre os fatores estudados foi o que causou menor efeito (-78,3) sobre o desempenho da enzima, mostrando-se pouco agressivo à atuação da enzima pectato liase. De

acordo com Holmberg (2018), o efeito exercido pelos surfactantes difere entre as diferentes classes de enzimas, mas quase sempre, os surfactantes não iônicos são mais benignos às enzimas do que os surfactantes iônicos (aniônicos e catiônicos). A maioria da literatura recente concorda que os surfactantes não iônicos são menos prejudiciais, perturbadores e desestabilizadores à atividade enzimática (AMID; MANAP; ZOHDI, 2014; HELLMUTH; DREJA, 2016; PIMENTEL, 2010), em razão de não interagirem com a enzima por atração eletrostática (HOLMBERG, 2018).

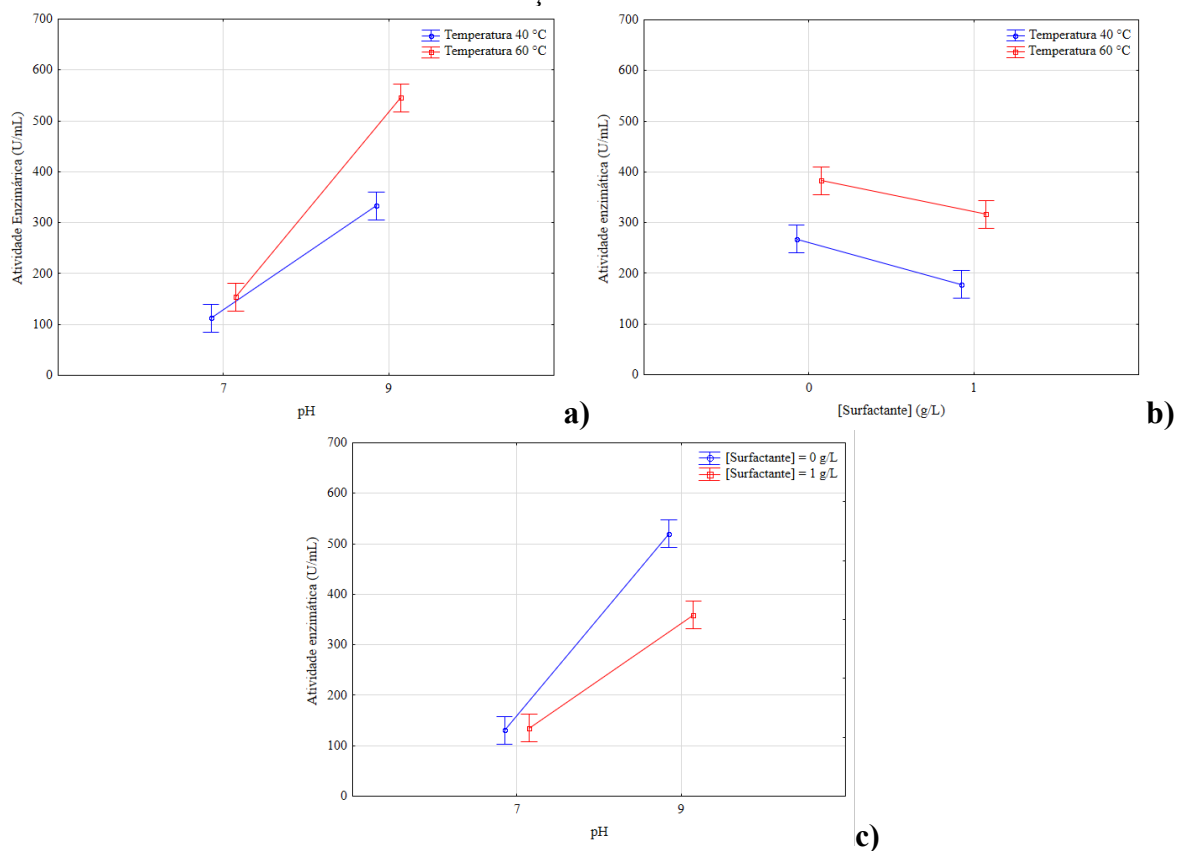
Como neste trabalho há indicação de alguma perda de atividade enzimática com o aumento da concentração de surfactante não iônico, o surfactante pode estar influenciando a atividade da enzima de duas maneiras principais: (1) pela ligação à enzima, modificando propriedades enzimáticas intrínsecas como estrutura ou flexibilidade; e (2) pela alteração do ambiente em que a enzima funciona (RUBINGH, 1996). Parece que o surfactante diminui a interação entre enzima e ácido poligalacturônico, seja por adsorção à enzima ou por adsorção ao substrato. Segundo Holmberg (2018), o surfactante não iônico pode se ligar à enzima através de interações hidrofóbicas, causando alterações conformacionais que podem levar à desnaturação da proteína. Ou seja, a parte lipofílica (ou parte hidrofóbica) da molécula de surfactante pode estar interagindo com as regiões hidrofóbicas no interior das proteínas da enzima, causando a quebra da sua estrutura secundária e terciária. O surfactante pode ter influência na função e na dinâmica conformacional da enzima, e essas alterações causarão perda de atividade enzimática. Interações enzima-surfactantes específicas, como ligação competitiva ao local ativo ou adsorção à interface onde o substrato é encontrado, também podem influenciar dramaticamente a atividade (RUBINGH, 1996). As enzimas que atuam sobre os carboidratos são bem conhecidas por terem sítios ou domínios de ligação especiais, como os Módulos de Ligação de Carboidratos, que ajudam a aumentar a concentração da enzima no substrato polimérico (TZANOV et al., 2003b). O surfactante não iônico pode adsorver ao substrato (adsorção do anfifílico em regiões hidrofóbicas do ácido poligalacturônico) e dificultar a adsorção da enzima ao substrato, impedindo o adequado contato entre a pectinase e seu substrato e/ou diminuindo a capacidade da pectinase de acessar o substrato, desacelerando a reação catalisada pela enzima Bioprep[®] 3000 L.

A interação de segunda ordem entre o pH e a temperatura, bem como a interação entre o pH e a concentração de surfactante, também são importantes no intervalo estudado (Figura 3.5-a e Figura 3.5-c), assinalando que a resposta de um fator depende do outro. Estudando o comportamento da temperatura dentro de cada nível do pH (Figura 3.5-a), nota-se que em 60 °C há um aumento bem maior da atividade ao elevar o pH de 7 para 9, do que na temperatura de

40 °C. Na Figura 3.5-c, o mesmo ocorre: na ausência de surfactante há um aumento bem mais acentuado da atividade enzimática ao elevar o pH de 7 para 9.

A interação entre temperatura e concentração de surfactante não foi significativa, evidenciando que esses dois fatores são independentes, isto é, o comportamento da temperatura independe da variação (ausência ou presença) de surfactante, e vice-versa. O efeito de interação não significativo pode ser visto pelo paralelismo das linhas apresentadas no gráfico da Figura 3.5-b.

Figura 3.5 – Gráficos das interações: a) T e pH; b) T e concentração de surfactante; e c) pH e concentração de surfactante.



Nas Figura 3.6 e Figura 3.7, respectivamente, por intermédio da inclinação das curvas da superfície de respostas, verifica-se que há uma correlação positiva com as variáveis pH e temperatura (sinergismo) e uma interação negativa entre o pH e a concentração de surfactante (antagonismo). Em pH 7, a atividade enzimática se mostrou baixa e sem influência da concentração de surfactante não iônico, mas em pH 9 a concentração de 1 g/L de surfactante reduziu a atividade em até 40 %. Mesmo assim, no pH 9 e a 60 °C tem-se as atividades máximas, independentemente da presença (473,04 U/mL) ou ausência (618,17 U/mL) de surfactante não iônico.

A metodologia de superfície de respostas (Figura 3.6 e Figura 3.7), ademais, permite uma combinação de vários níveis intermediários dos fatores, dentro de uma região ótima para a atividade da pectato liase.

Figura 3.6 – Superfície de resposta com a dependência da atividade enzimática da pectato liase (U/mL) frente às variáveis independentes temperatura (°C) e pH.

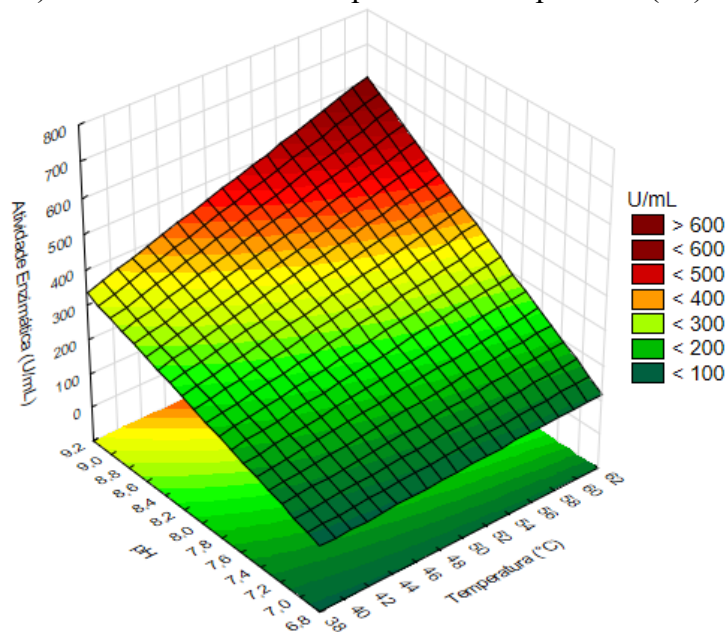
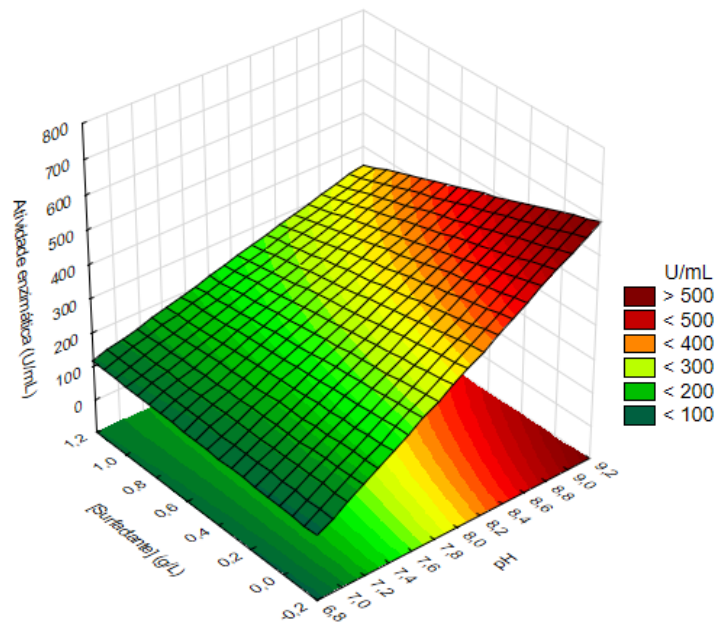


Figura 3.7 – Superfície de resposta com a dependência da atividade enzimática da pectato liase (U/mL) frente às variáveis independentes pH e concentração de surfactante (g/L).



A análise de variância (Tabela 3.4) consente comprovar estes efeitos principais ou de interação que interferem significativamente na resposta do problema analisado (atividade enzimática), de acordo com o nível de confiança estabelecido em 99 %. O uso de um nível de confiança ainda mais rigoroso poderia ser assumido, porque os valores de “p” são menores que 10^{-4} , com exceção da interação entre temperatura e concentração de surfactante que não é significativa. A análise de variância (Tabela 3.4) estabelece inclusive os valores dos coeficientes de determinação e de ajuste, por comparação entre os valores preditos e os observados do modelo. O coeficiente de determinação (R^2) deu igual a 0,9767, explicando que 97,67 % da variação apresentada na atividade da pectato liase foi resultante da variação dos fatores propostos (temperatura, pH e concentração de surfactante), com baixa interferência externa e com boa reprodutibilidade dos dados. A equação de regressão obtida com variáveis codificadas, após a eliminação dos coeficientes insignificantes, é a equação (4). Os valores obtidos na análise da curvatura do modelo preditivo linear demonstraram bom ajuste com os dados observados, não tendo havido alteração da linearidade com os ensaios realizados no ponto central. Portanto, pode-se considerar que o modelo permite prever valores de atividade enzimática (Y = variável dependente) para vários valores intermediários dos fatores estudados, de acordo com as condições impostas pelas variáveis independentes (x_1 , x_2 e x_3). A diferença média percentual entre os valores experimentais e os valores preditos, utilizando-se a equação 4, foi de 2,5 %, confirmando o bom ajuste representado pelo alto valor de R^2 .

$$Y = 287,3 + 63,5 x_1 + 153,2 x_2 - 39,2 x_3 + 42,7 x_1 x_2 - 41,3 x_2 x_3 \quad (4)$$

Tabela 3.4 – ANOVA do planejamento experimental fatorial 2^3 completo com ponto central.

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F	P
Temperatura	96772,7	1	96772,7	95,09	0
pH	562933,5	1	562933,5	553,15	0
Surfactante	36829,9	1	36830,0	36,19	$1,1 \times 10^{-5}$
Temperatura X pH	43793,9	1	43794,0	43,03	4×10^{-5}
Temperatura X surfactante	827,3	1	827,3	0,81	0,3791
pH X surfactante	40942,3	1	40942,3	40,23	6×10^{-5}
Curvatura	223,3	1	223,3	0,22	0,6451
Falta de ajuste	323,5	2	161,8	0,16	0,8542
Erro	18318,2	18	1017,7		
Total	800741,6	15			

SQ = soma quadrática; GL = graus de liberdade; MQ = média quadrática.

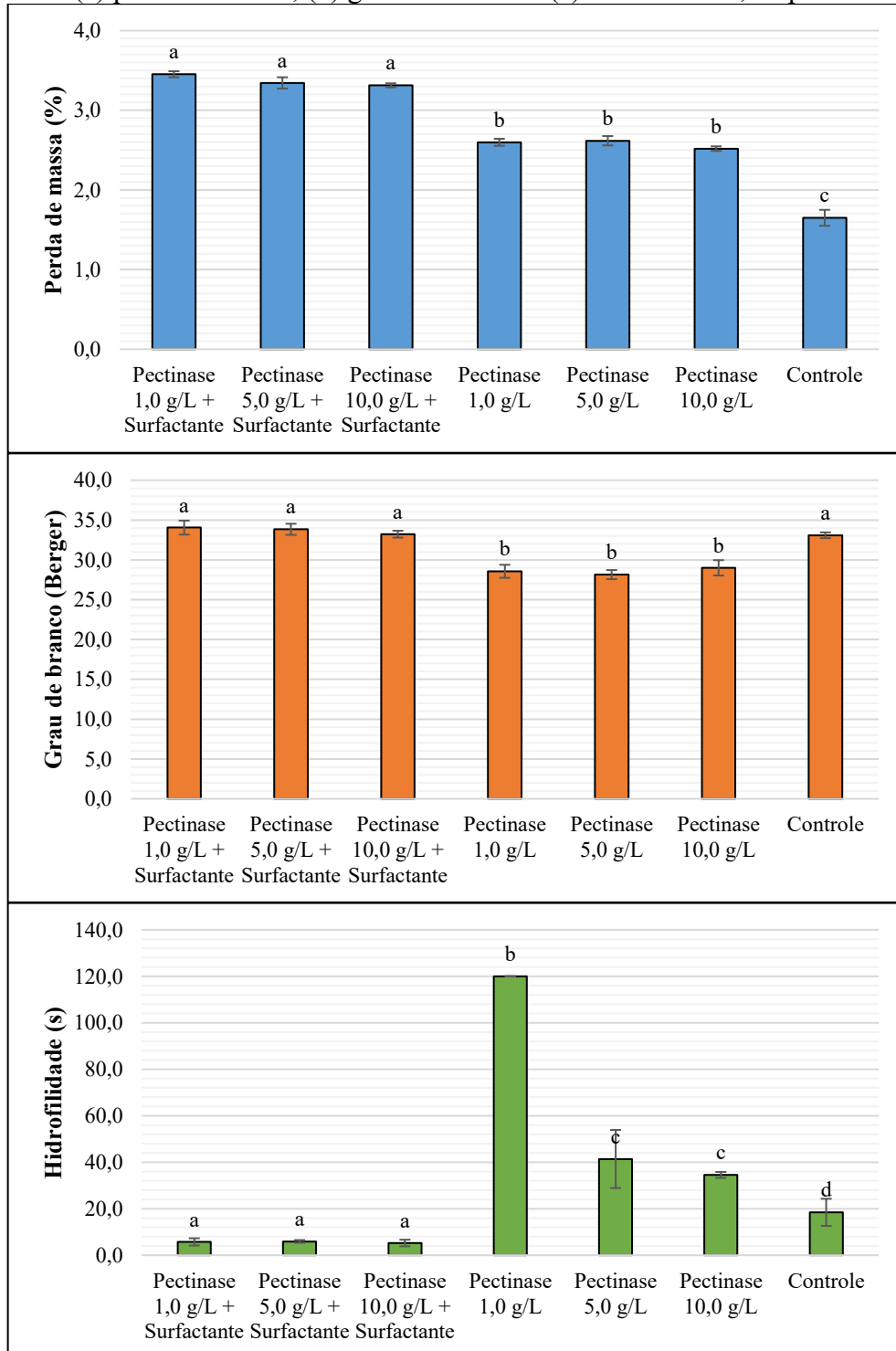
3.3.2. Biopurga com pectato liase

Todos os processos desenvolvidos pela pesquisa fundamental devem passar por uma etapa de otimização, baseada em operações estatísticas confiáveis, na qual os resultados obtidos são analisados e as melhores condições para aplicação industrial são estabelecidas (PUSTIANU et al., 2018). A fim de investigar o efeito da enzima pectato liase Bioprep® 3000 L na biopurga de tecidos de algodão (Figura 3.8), a investigação deve ser baseada nos resultados do desenho experimental com esta enzima sobre o ácido poligalacturônico, ponderando as respostas do item 3.3.1. Com base nos limites experimentais pré-estabelecidos, os dados obtidos sugerem que as condições de tratamento mais eficazes seriam à temperatura de 60 °C, pH 9,0 e não uso de surfactante, para máxima atividade enzimática. No entanto, avaliando estudos anteriores com uma enzima pectinase alcalina (HEBEISH et al., 2009), a uma temperatura de 55 °C e pH 8,5, ambos ligeiramente abaixo da condição operacional ótima encontrada pelo projeto experimental deste trabalho, foram os preferidos. Considerou-se que condições menos severas seriam benéficas, especialmente no que diz respeito à eventual reciclagem do banho de enzima, para não causar prejuízos à enzima por desnaturação e para que esta tenha alta atividade ainda. Além disso, a adição de surfactante pode auxiliar na remoção de substâncias hidrofóbicas e este efeito pode compensar ou mesmo super compensar uma perda na atividade enzimática.

A limpeza do algodão por enzimas é, em geral, caracterizada por perda de massa, a qual varia conforme a enzima usada, tipo de tecido, tempo reacional, agitação, etc. (KALANTZI et al., 2008). Essa afirmação pôde ser confirmada pela Figura 3.8-a, onde todos os tratamentos com pecto liase provocaram uma perda de massa constante no substrato têxtil. Verificou-se que o aumento na quantidade enzimática não converteu-se em acréscimo na perda de massa e a maior perda de massa ($3,45 \pm 0,04$ %) foi obtida com a enzima em baixa concentração (1,0 g/L) com um surfactante, sugerindo de antemão, ser suficiente para a digestão das impurezas de pectina disponíveis. Em contrapartida, Hebeish et al. (2009) e Kalantzi et al. (2008) encontraram que, um aumento na concentração de pectinase alcalina provocava um aumento adicional na perda de massa do tecido de algodão. É importante destacar que a magnitude das perdas foram inferiores a 4 %, em vários casos analisados por autores da área (HEBEISH et al., 2009; KALANTZI et al., 2008; LI; HARDIN, 1997; NIAZ et al., 2011; SAWADA et al., 1998), que parece ser a quantidade máxima de impurezas pécticas e cerosas que podem ser removidas, mas também está de acordo com a quantidade de substâncias pécticas e cerosas na fibra do algodão, que não é superior a 2,4 % (ANDREAUS et al., 2019). A perda de massa é uma medida de remoção das impurezas do tecido e, a nível industrial, uma perda de 3-6 % é considerada

aceitável, uma vez que a perda excessiva resulta em redução da resistência e durabilidade do tecido (KALANTZI; KEKOS; MAMMA, 2019).

Figura 3.8 – Propriedades físico-químicas dos tecidos de algodão tratados com pectato liase e controle: (a) perda de massa, (b) grau de branco e (c) hidrofilidade, respectivamente.



As barras de erro representam \pm o desvio padrão. Letras iguais não diferem estatisticamente a 5 %. Controle é o tratamento sem enzima (tratamento apenas com surfactante) nas mesmas condições da lavagem enzimática. O valor do índice de alvura para o tecido bruto foi de $16,34 \pm 1,11$ graus Berger.

No tratamento de referência, sem adição de enzima, houve uma perda de massa de 1,6 % em média, que pode estar associada à eliminação de ceras e gorduras, em decorrência do uso de surfactante (1 g/L) e/ou da lavagem quente posterior (90 °C, 10 minutos). Choe et al. (2004) mostraram que, uma pós-lavagem curta e de alta temperatura (≥ 80 °C) é essencial para a remoção de ceras do algodão. E, geralmente, um surfactante é adicionado para aumentar a solubilização de compostos hidrofóbicos e/ou evitar sua redeposição de volta no tecido (GLAD et al., 2006).

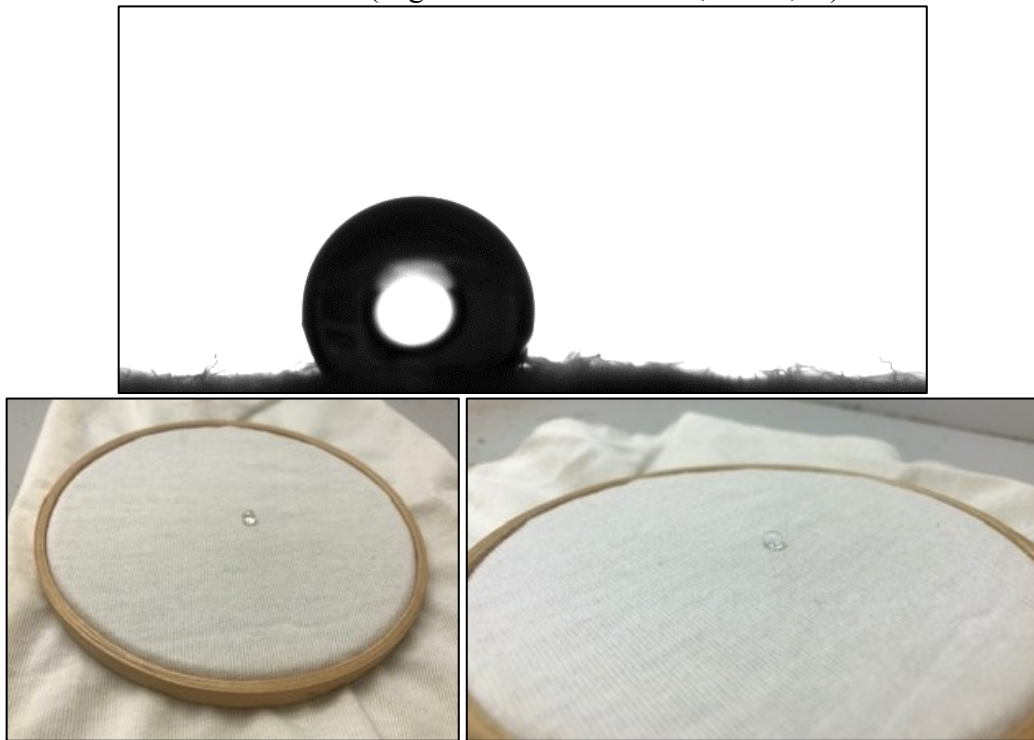
A remoção enzimática das impurezas do algodão proporcionou uma elevação no grau de branco (Figura 3.8-b), em relação à malha bruta ($16,34 \pm 1,11$ graus Berger). Embora os pigmentos naturais sejam retirados na etapa de branqueamento (KAUR et al., 2020; MOJSOV, 2019; SINGH et al., 2020), alguns deles vêm a ser removidos mesmo durante a purga, pois estão adsorvidos nas substâncias pécticas, lipídicas e proteicas do substrato (KARAPINAR; SARIISIK, 2004). Não foram observadas alterações significativas entre os valores de brancura conferidos pela enzima nas três concentrações, que ficaram situados no intervalo de 33 e 34 graus Berger (na presença de 1 g/L de surfactante não iônico) e 28 a 29 graus Berger (na ausência de 1 g/L de surfactante não iônico). Hebeish et al. (2009) também encontraram diferenças desprezíveis no índice de branco, quando a concentração de pectinase alcalina foi aumentada de 2 para 4 g/L. Já Kalantzi et al. (2008), estudando o efeito da biopurga com a enzima pectinase sobre as propriedades do algodão, perceberam que o aumento na concentração de BioPrep® 3000 L (0-1000 Unidades/g) resultou num aumento de brancura de 36,5 para 51,2 graus Berger.

Os índices de branco dos tratamentos sem enzima (≈ 33 graus Berger) e com enzima mais surfactante não tiveram diferenças estatísticas consideráveis, e o aumento da alvura pode ser atribuído principalmente ao próprio processo de lavagem. Para Pimentel (2010), diferentemente, houve um aumento no grau de branco durante o tratamento sem adição de enzima, em relação ao uso de pectinase, que foi explicado pela coloração marrom escura da enzima e sua interferência no tecido.

A hidrofiliidade é a primeira característica que se busca obter através da etapa de biopurga e os valores encontrados para os artigos de algodão estão apresentados na Figura 3.8-c. A malha crua foi analisada, mas não absorveu água e pôde ser classificada como hidrofóbica, observando-se o ângulo de contato de $134,24 \pm 6,16$ formado pela gota de água destilada sobre a superfície do substrato (Figura 3.9). A fibra de algodão, no estado bruto, é revestida por 4-12 % de impurezas naturais não celulósicas, que lhe dão um caráter hidrofóbico (LI; HARDIN, 1997). Então, antes do processo úmido de tingimento, o fio/tecido de algodão cru precisa ser

limpo e convertido em hidrofílico, para garantir a penetração adequada dos corantes e uma coloração homogênea, com propriedades de solidez à lavagem, luz e fricção (BESEGATTO et al., 2018).

Figura 3.9 – Gota de água destilada sobre a superfície da malha crua, durante o teste de hidrofilidade (ângulo de contato de $134,24 \pm 6,16$).



Quanto à capacidade de molhamento (ver material suplementar no Apêndice C), BioPrep[®] 3000 L mais surfactante mostrou excelentes resultados de hidrofilidade (≈ 5 s) em todas as concentrações testadas. Como já afirmado acima com relação à perda de massa do tecido, a menor concentração de enzima usada neste estudo (1,0 g/L) foi suficiente para remover todas as impurezas hidrofóbicas acessíveis, de modo que um aumento para 5,0 ou mesmo 10,0 g/L não causou qualquer melhoria adicional na hidrofilidade do tecido de algodão. Considerando a ação catalítica da enzima, a eficiência máxima alcançável do processo (quantidade de impurezas removidas dividida por tempo ou perda de massa/tempo) depende não apenas da concentração do catalisador, mas também do tempo de processo e do substrato (estrutura do tecido, diâmetro do fio e porosidade do tecido e da fibra). Acredita-se que a enzima pectinase na concentração de 1,0 g/L esteja muito próxima da saturação, pois seu acréscimo (5,0 e 10,0 g/L) no banho não potencializou a umectação do tecido sob as condições de reação (55 °C, 30 min, proporção de licor 1:20). Os autores Wang et al. (2007), ao otimizarem a biopurga de tecidos de malha 100 % algodão com pectinase alcalina, também constataram que

a concentração enzimática de 1,0 g/L na presença de surfactante não iônico 0,1 % (pH 9,1; 57 °C e 1,25 h de incubação) era ideal para uma maior solubilização de pectina e molhabilidade adequada do tecido.

As enzimas pectinases hidrolisam os compostos pécticos da fibra de algodão, que funcionam como um cimento/adeseivo impermeável entre a celulose e os componentes hidrofóbicos (MADHU; CHAKRABORTY, 2017). A digestão das pectinas possibilita a soltura das outras impurezas não celulósicas por emulsificação subsequente (NIAZ et al., 2011) e favorece a atuação dos demais agentes do banho, a citar os tensoativos/surfactantes (KALANTZI et al., 2008).

O molhamento do substrato de algodão em tampão pH 8,5 (hidrofilidade de $18,47 \pm 5,83$ s) com surfactante apenas, quando equiparado à biopurga com pectinase mais surfactante, acarretou num déficit de absorção de água, muito provavelmente por causa da pectina não removida das fibras, indicando que: (1) apenas uma pequena parte dos compostos hidrofóbicos foi removida, em comparação com o tecido de algodão cru não tratado (não úmido), e (2) a quebra da matriz de pectina das fibras pela pectato liase é necessária.

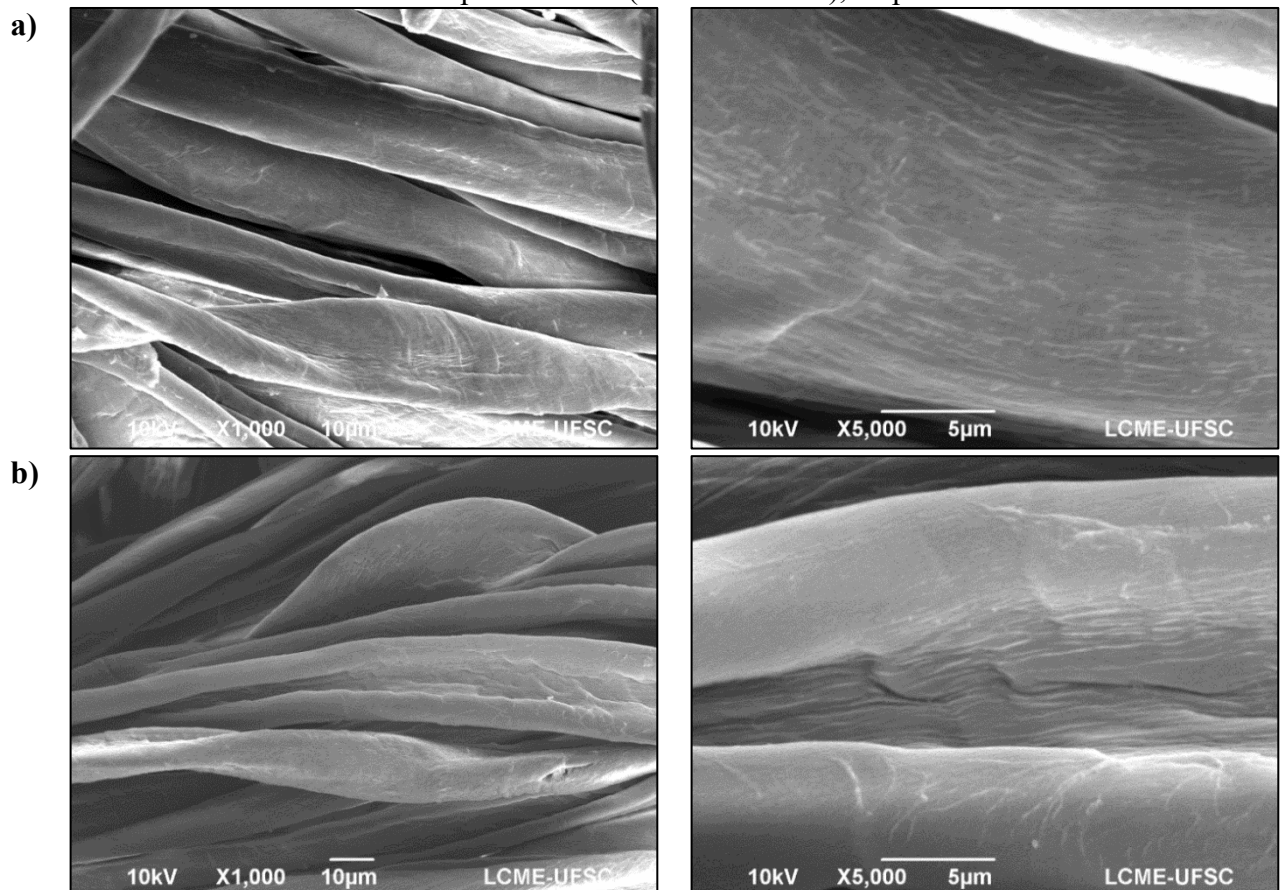
Os resultados de hidrofilidade do tratamento enzimático sem surfactante também não foram aceitáveis. Voltando às concepções iniciais, é preciso considerar que a atividade da enzima Bioprep[®] 3000 L foi estudada, primeiramente, incorporando o surfactante não iônico diretamente ao ácido poligalacturônico (solúvel) como substrato, em vez de tecido, e a enzima catalisou uma reação em solução em condições homogêneas (ver item 3.3.1). O tecido, como substrato natural da biopurga, é insolúvel, a reação é heterogênea e as enzimas devem funcionar na interface sólido/líquido. Sabe-se que os surfactantes diminuem a tensão superficial do meio aquoso (AGRAWAL et al., 2008) e aqui, possivelmente, os surfactantes não iônicos aumentaram o rendimento das enzimas, aumentando a penetração de água na matriz do substrato sólido e aumentando a área superficial para o ataque enzimático (CHUGH; SONI; SONI, 2016). Além disso, os surfactantes podem ter um efeito estimulador, neste caso, pela melhora do número de rotatividade da pectinase, aumentando a frequência de contato entre o local ativo da enzima e o substrato de algodão (OUMER; ABATE, 2017), bem como auxiliando na adsorção e dessorção da enzima para e do tecido.

Assim: (1) as substâncias da pectina serão efetivamente removidas pela pectinase nas áreas disponíveis, devido à especificidade da enzima (XIAOKANG; HAITAO; JIANYONG, 2019); (2) o surfactante pode promover a permeabilidade e ampliar a área acessível à pectinase, facilitando o contato entre as enzimas e a pectina e melhorando a velocidade da reação catalítica; e (3) o surfactante pode assegurar que os produtos de decomposição da pectina e

outras impurezas sejam prontamente removidos da superfície da fibra. O objetivo das enzimas é catalisar a degradação de um substrato específico (ERDEM; İBRAHİM BAHTIYARI, 2018), enquanto o papel do surfactante é remover o material de uma superfície de maneira inespecífica (HOLMBERG, 2018). Na biopurga, o surfactante remove a camada oleosa das fibras de algodão por emulsificação ou solubilização ou por combinação de ambos (HOLMBERG, 2018), e as enzimas pectinases hidrolisam as substâncias pécicas. O mecanismo de biopurga com pectinase começa com a degradação e eliminação das pectinas, que soltam as ceras e as tornam mais facilmente removíveis com o auxílio de surfactantes e agitação mecânica (CUI et al., 2009). Isso permite que o algodão atinja hidrofiliidade superior sem deterioração da fibra.

A Figura 3.10 mostra a morfologia da superfície do algodão cru e biopurgado. O tratamento enzimático removeu as impurezas hidrofóbicas, limpou os tecidos e tornou a superfície mais irregular, entretanto, as fibras parecem sofrer leves alterações em sua arquitetura, devido às condições mais amenas do processo. De acordo com Demir et al. (2018), com a utilização de enzimas para o tratamento do algodão cru, as condições são muito mais amenas e não criam danos à superfície dos tecidos de algodão.

Figura 3.10 – Imagens de MEV da superfície de tecidos de algodão (a) cru e (b) após tratamento com a enzima pectato liase (x1000 e x5000), respectivamente.



3.4. CONCLUSÃO

Neste estudo, uma enzima pectato liase comercial foi testada em várias situações diferentes de reação ao ácido poligalacturônico, numa tentativa de maximizar a sua atividade catalítica e encontrar as suas condições ideais de operação para a limpeza de tecidos de algodão cru. Utilizando métodos estatísticos e matemáticos, confirmou-se as influências e significâncias das três variáveis independentes pH, temperatura e surfactante não iônico no meio. A presença do surfactante, apesar de ter manifestado um efeito negativo, demonstrou ser o fator que menos influenciou na atividade da enzima pectato liase, enquanto o aumento dos fatores pH de 7 para 9 e temperatura de 40 para 60 °C favoreceram a atividade, com mais intensidade para o pH. Pode-se esperar que a ação de limpeza benéfica do surfactante não iônico durante a lavagem, pelo menos, compense por uma atividade enzimática eventualmente reduzida. Como houve interação entre os fatores, entende-se que não é adequado avaliar a atividade enzimática de cada fator em separado, no caso do uso da enzima em processos industriais, onde o sistema é de composição complexa.

Após investigações cuidadosas e o estabelecimento da melhor combinação entre os fatores, a enzima mostrou um grande potencial para aplicação no processamento de biopurga têxtil, com expressivo aumento na hidrofiliabilidade da fibra de algodão. A pectato liase caracterizada permitiu uma purga enzimática com desempenho eficaz, o que representa uma alternativa à purga química convencional, em direção ao estabelecimento de uma indústria têxtil ecologicamente correta.

4. AVANÇOS NA BIOPURGA SUSTENTÁVEL DE TECIDOS DE ALGODÃO: AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PÓS-TRATAMENTOS PARA MELHORAR A MOLHABILIDADE DO TECIDO

RESUMO: O tecido de algodão cru contém impurezas naturais (gorduras, ceras, pectinas e proteínas), que dão uma natureza hidrofóbica e dificultam o seu tingimento no processamento têxtil. Para a remoção dessas impurezas não celulósicas, comumente é feita uma purga alcalina com adição de hidróxido de sódio em altas temperaturas, demasiadamente poluente. Como uma alternativa mais verde com impacto ambiental reduzido, as enzimas podem ser usadas para melhorar a hidrofiliidade do algodão e a qualidade dos tecidos. Sendo assim, o principal objetivo deste estudo foi instituir um roteiro para a biopurga de algodão, utilizando uma preparação de pectinase comercial em condições brandas de pH, tempo e temperatura. As enzimas (1-10 g/L) foram empregadas por 30 minutos, a 55 °C e no pH 8,5 ótimo de atuação, sob uma variedade de possibilidades de pós-tratamento com variação da temperatura e da concentração de surfactante. As amostras tratadas foram caracterizadas quanto à perda de massa, absorção de água, teor de pectina, índice de branco e espectroscopia infravermelha (FTIR). Alto nível de limpeza foi alcançado, com eficácia comparável à da purga alcalina convencional. Foi conseguido aumentar a molhabilidade do artigo têxtil com redução nos danos às fibras e no consumo de energia, água e químicos. Verificou-se que uma baixa concentração de surfactante (0,2 g/L) e uma temperatura de lavagem de 70 °C, após a biopurga, tiveram um grande impacto na remoção de ceras e gorduras da superfície do algodão e foram adequadas para atingir alta hidrofiliidade com baixa perda de massa, ao contrário de outros estudos de biopurga que usaram temperaturas \geq a 80 °C. Esses resultados comprovaram claramente que a eficiência da biopurga, para alcançar a molhabilidade adequada dos tecidos de malha de algodão, depende essencialmente de uma etapa de pós-lavagem eficaz e das condições selecionadas, que impactam a sustentabilidade e a viabilidade econômica de todo o processo.

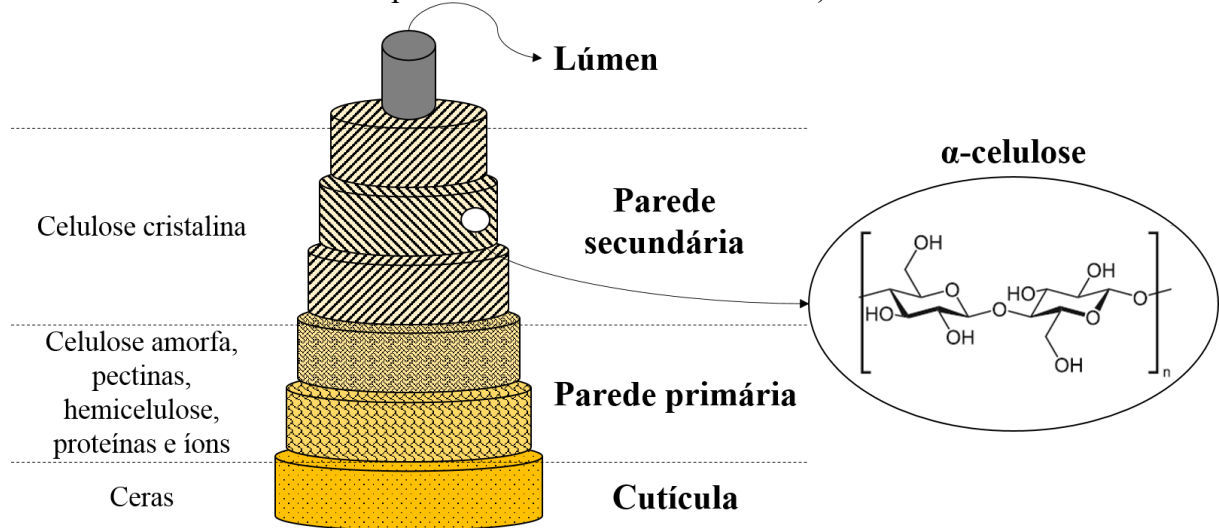
Palavras-chave: Algodão. Impurezas não celulósicas. Purga enzimática. Enzima. Surfactante. Temperatura.

4.1. INTRODUÇÃO

A fibra de algodão (Figura 4.1) é constituída por 92 % de celulose, em média, com uma mistura complexa de proteínas, ceras, cinzas, pectinas e outras substâncias (resinas, pigmentos, hemicelulose, açúcares, ácidos orgânicos e incrustados lenhosos) compreendendo o restante (KARMAKAR, 1999). São cerca de 4-12 % de impurezas naturais não celulósicas (KARMAKAR, 1999), que conferem ao algodão cru uma proteção hidrófoba e uma superfície lubrificada ao processamento (WAKELYN et al., 2006). À vista disso, previamente ao processo úmido de tingimento, o tecido de algodão bruto precisa ser limpo e convertido em hidrofílico, a fim de alcançar adequada coloração, homogênea e com boas propriedades de solidez (ANDREAUS et al., 2019). A absorção de água é um dos fatores mais cruciais na etapa de tingimento, e o objetivo da limpeza é remover as impurezas hidrofóbicas para produzir fibras

com alta molhabilidade, que podem ser tingidas e acabadas uniformemente (BENLI; BAHTIYARI, 2015).

Figura 4.1 – Diagrama esquemático da microestrutura do algodão, mostrando a distribuição de celulose e de outros materiais não celulósicos nas várias camadas de fibra. (A dimensão da parede celular não está em escala).



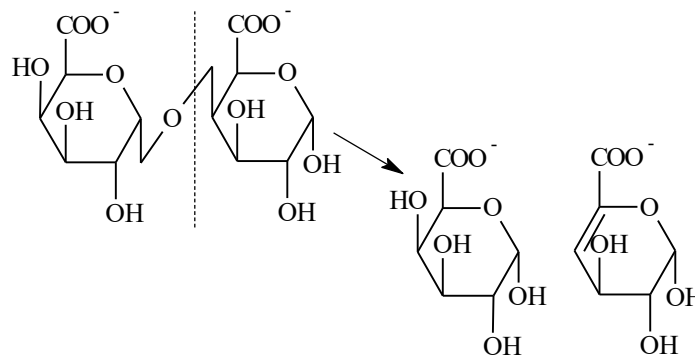
Fonte: Adaptado de AGRAWAL (2005) e PENSUPA et al. (2017).

O procedimento industrial clássico de limpeza compreende uma purga com produtos químicos alcalinos, como o hidróxido de sódio (NaOH), em alta temperatura e seguida de lavagem exaustiva com elevado consumo de água (VARADARAJAN; VENKATACHALAM, 2016). O resultado final é uma fibra de celulose quase pura (teor acima de 99 %) e com excelente poder de absorção (WAKELYN et al., 2006). Contudo, a purga representa um dos estágios mais agressivos dentro de uma indústria de beneficiamento têxtil (LOSONCZI; CSISZÁR; SZAKÁCS, 2004), tanto para a fibra quanto para o meio ambiente e as condições de trabalho. O uso de produtos químicos e de elevadas temperaturas têm muitos impasses, incluindo a formação de gases tóxicos, alto consumo energético, despolimerização da celulose, redução da resistência física do tecido e poluição do ecossistema (RAMADAN, 2008).

Os tratamentos enzimáticos, em substituição ao tradicional, vêm para suprir a carência de processamentos têxteis mais sustentáveis, aliados à tecnologia limpa e ganhos ambientais, valendo-se do potencial catalítico das enzimas (BESEGATTO et al., 2018). As enzimas, dada a sua alta seletividade ao substrato, agem exclusivamente nos compostos que se deseja eliminar, tendo uma influência passível de controle sobre a fibra de algodão (HARDIN, 2010). Na biopurga, pectinases podem ser empregadas para remoção de pectina, proteases para proteínas, lipases para óleos e gorduras, xilanases para hemicelulose e assim por diante, de forma pura ou

associada (ANDREAUS et al., 2019; BESEGATTO et al., 2018). As enzimas são selecionadas com base no pH, temperatura, tempo requerido e qualidade do produto final (HOONDAL et al., 2002; SHAHID et al., 2016). A partir desses biocatalisadores, as pectinases foram identificadas como as potenciais candidatas mais eficazes para a purga enzimática dos tecidos de algodão, porque a pectina é um dos constituintes não celulósicos mais complexos da parede primária da fibra (AGRAWAL et al., 2007). A degradação e eliminação da pectina facilita a remoção de ceras e gorduras, pela desestabilização da parede primária, com melhora concomitante na absorção de água (JARAMILLO et al., 2016). As pectinases do tipo pectato liases (Figura 4.2), em especial, catalisam a clivagem das ligações glicosídicas (do tipo α 1-4) no ácido pécico por trans-eliminação e formam produtos com resíduos 4,5-insaturados na extremidade não redutora (ANDREAUS et al., 2019; LINHARDT; GALLIHER; COONEY, 1986). Essas mudanças estruturais nas fibras de algodão aumentam a acessibilidade dos grupos funcionais polares hidroxilas da celulose e, conseqüentemente, aumentam a hidrofiliidade, o que é um aspecto importante para melhorar a absorção de água e a tingibilidade dos tecidos tratados (ABDULRACHMAN et al., 2017).

Figura 4.2 – Modo de ação enzimática das pectato liases em uma molécula de pectina.



Fonte: Adaptado de LINHARDT; GALLIHER; COONEY (1986).

No geral, a literatura especializada concorda que pectinases diminuem o percentual dos constituintes não celulósicos e dão melhor absorção de água aos fios de algodão cru (ABDULRACHMAN et al., 2017; CHOE et al., 2004; NIAZ et al., 2011; WANG et al., 2007). Em temperaturas inferiores a 60 °C, numa gama de concentrações enzimáticas (0,05-2 %) e em tempos variáveis (15 minutos até 3 h), originam-se têxteis com baixo conteúdo de pectina e com excelente capacidade de tingimento (ABDULRACHMAN et al., 2017; CHOE et al., 2004; KALANTZI et al., 2008; MADHU; CHAKRABORTY, 2017; WANG et al., 2007). Além disso, preservam a estrutura das fibras sem causar despolimerização da celulose, perdas de massa excessivas e queda na resistência dos materiais (KALANTZI et al., 2008; SHAHID et

al., 2016). Os bioprocessos minimizam os danos às fibras por serem realizados em condições operacionais mais suaves (pH próximo ao neutro e temperatura moderada), e são ecologicamente aceitos pela biodegradabilidade das enzimas e pela diminuição da quantidade de químicos, de energia utilizada e de efluentes gerados (SHRIMALI; DEDHIA, 2016; VARADARAJAN; VENKATACHALAM, 2016). Proporcionam pleno suporte e inovação à indústria têxtil, melhorando a qualidade dos seus produtos e em total acordo com as regulamentações ambientais (ALY; MOUSTAFA; HEBEISH, 2004). Todavia, ainda que ofereçam muitas vantagens, existem algumas deficiências a serem superadas (KARABOĞA et al., 2007; SHAHID et al., 2016). Embora a absorção de água seja melhorada pela limpeza enzimática, o resultado não é totalmente satisfeito tal qual é alcançado pela limpeza com álcalis convencional (KIM et al., 2006). A aplicação de pectinases resulta apenas em melhorias modestas na molhabilidade do tecido (AGRAWAL et al., 2007).

Há uma necessidade contínua de melhorar estes processos alternativos e de torná-los mais competitivos. Nesse contexto, o estudo teve como objetivo investigar diferentes tratamentos de biopurga, pela influência da concentração enzimática (1,0; 5,0 e 10,0 g/L) de pectinase (BioPrep[®] 3000 L) e de parâmetros relacionados ao pós-tratamento, sobre as propriedades físico-químicas de tecidos de malha 100 % algodão. Depois, os resultados foram comparados com o método convencional de purga alcalina (NaOH), que foi empregado como referência. Vários ensaios foram feitos para encontrar uma metodologia enzimática que fosse utilizável (com ganhos de hidrofiliidade), suficientemente leve (sem efeitos adversos nas fibras celulósicas) e ambientalmente atraente, para remover impurezas naturais de tecidos de algodão.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Substrato têxtil e enzima

Foi utilizado como substrato têxtil um tecido de malha (*Jersey*) crua 100 % algodão, com gramatura de 160 g/m² e confeccionado com fios Ne 30.1 penteado.

A enzima comercial BioPrep[®] 3000 L (pectinase alcalina com atividade de pectato liase) foi gentilmente fornecida pela empresa Novozymes[®]. Sua atividade enzimática ($211,13 \pm 13,87$ U/mL a 30 °C e $326,70 \pm 48,65$ U/mL a 55 °C – temperatura de biopurga) foi determinada em pH 8,5 de acordo com Collmer, Ried e Mount (1988), usando ácido poligalacturônico como substrato e medindo a formação dos produtos em espectrofotômetro com comprimento de onda de 232 nm (ver Apêndice D).

4.2.2. Tratamentos enzimáticos nos tecidos de algodão

Os experimentos de biopurga foram realizados em canecos de aço inoxidável de 500 mL, em uma máquina de lavação de laboratório têxtil (Kimak, wash-tester) a 40 rpm. Os tecidos de algodão (5,0 g) foram tratados com diferentes concentrações enzimáticas (1,0; 5,0 e 10,0 g/L), numa relação de banho de 1:20 (g:mL) e na presença de 1 g/L de surfactante não iônico (Berol[®] 175, C12-C16 álcool etoxilado 90%, emulsificante, agente umectante). Todos os tratamentos com BioPrep[®] 3000 L foram processados em pH constante de 8,5 (tampão Tris-HCl 0,05 M), na temperatura de 55 °C e durante 30 minutos. Depois dessa incubação, os tecidos foram conduzidos a diferentes condições de pós-processamento, de acordo com a Tabela 4.1 e a Figura 4.3.

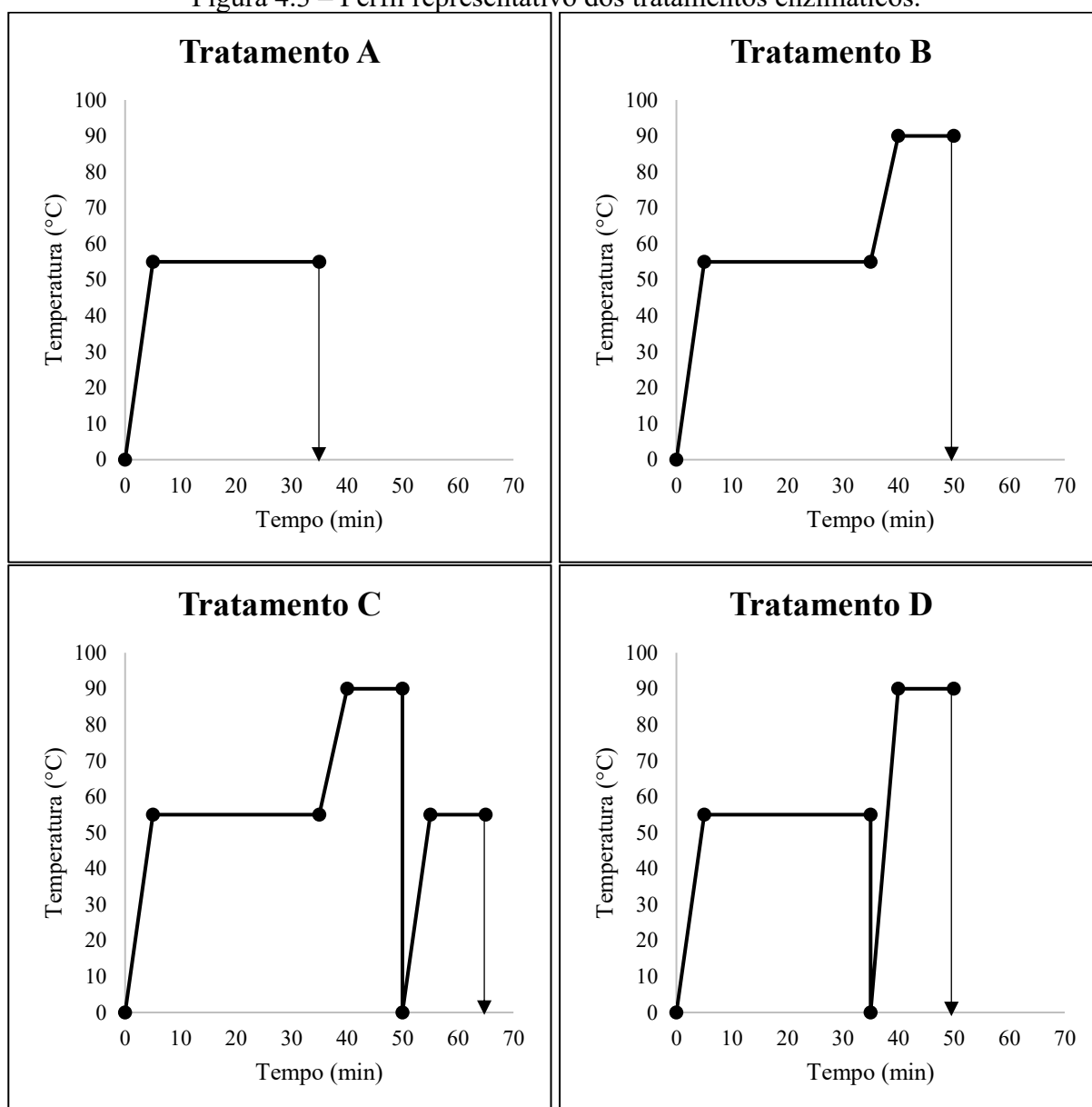
Além disso, no final os tecidos de algodão foram extensivamente enxaguados em água na temperatura ambiente, torcidos e secos ao ar. Tratamentos chamados de controle foram realizados sob as mesmas circunstâncias experimentais (A, B, C e D), mas sem adição de enzima. Todos os dados coletados foram quantificados a partir de experimentos em triplicata.

Posteriormente, o tratamento D (1 g/L de BioPrep[®] 3000 L) foi feito para verificar a influência da concentração de surfactante e da temperatura na etapa de lavação, que sucede à biopurga. (I) Os tecidos de algodão foram lavados com água destilada (90 °C por 10 minutos) e surfactante (variando de 0,0 até 1,0 g/L) e (II) os tecidos de algodão foram lavados com água destilada (10 minutos) e surfactante (0,2 g/L) em três temperaturas diferentes (55, 70 e 90 °C).

Tabela 4.1 – Abreviações e descrições de todos os tratamentos.

Abreviação do tratamento	Descrição do tratamento
A	Biopurga com pectinase BioPrep [®] 3000 L sem pós-tratamento.
B	Biopurga com pectinase BioPrep [®] 3000 L. Em seguida, as enzimas foram desnaturadas a 90 °C por 10 minutos.
C	Biopurga com pectinase BioPrep [®] 3000 L. Em seguida, as enzimas foram desnaturadas a 90 °C por 10 minutos e os tecidos de algodão foram lavados com água destilada a 55 °C por 10 minutos na mesma proporção de licor (1:20).
D	Biopurga com pectinase BioPrep [®] 3000 L. Em seguida, o conteúdo do banho foi descartado e os tecidos de algodão foram lavados com água destilada a 90 °C por 10 minutos na mesma proporção de licor (1:20).

Figura 4.3 – Perfil representativo dos tratamentos enzimáticos.



4.2.3. Tratamento convencional nos tecidos de algodão

Para fins comparativos, foi realizada uma purga alcalina baseada em condições tipicamente praticadas nas indústrias têxteis da região sul do Brasil. A purga alcalina convencional foi feita com solução de hidróxido de sódio (2 g/L) e surfactante não iônico (1 g/L), a 90 °C por 30 minutos, mantendo a relação de banho de 1:20 (g:mL). Seguidamente, os tecidos de algodão foram lavados com água destilada quente (55 °C por 10 minutos) e neutralizados com ácido acético (3 g/L) a 55 °C por mais 10 minutos, num novo banho.

4.2.4. Análise dos tecidos

4.2.4.1. Perda de massa

A perda de massa foi calculada pela equação (1), onde W_1 e W_2 correspondem às massas do tecido antes e após o processo de limpeza, respectivamente. Antes de cada pesagem, as amostras ficaram condicionadas por pelo menos 24 horas em atmosfera controlada acima da solução de cloreto de cobre saturada, na umidade relativa de $67 \pm 2 \%$ (ROCKLAND, 1960).

$$\text{Perda de Massa (\%)} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) \times 100 \quad (1)$$

4.2.4.2. Hidrofilidade (absorção de gotas de água, teste da gota)

A hidrofilidade dos tecidos foi determinada usando a NBR 13000 (ABNT, 1993). O tecido foi esticado em um bastidor de bordado, 40 mm abaixo de uma bureta contendo água destilada ($20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e gotejando a cada 5 segundos. O período (s) entre o contato de uma gota de água com a superfície do tecido e a sua completa absorção, deu o tempo de hidrofilidade, que foi calculado a partir da média de cinco medições em diferentes pontos da amostra. Quanto menor o tempo, melhor a hidrofilidade. De acordo com Nerurkar, Joshi e Adivarekar (2015), o tempo de molhagem de 5 segundos ou menos representa uma absorção adequada dos tecidos de algodão.

4.2.4.3. Capilaridade (altura de absorção vertical, altura de subida)

A capilaridade é uma medida para avaliar a capacidade de absorção de água no sentido vertical dos artigos têxteis e foi monitorada de acordo com o teste padrão JIS L 1907 (JSA, 2004). No teste de absorção, a borda inferior ($\leq 3 \text{ cm}$) de uma tira de amostra (2,5 cm por 20 cm) foi colocada verticalmente em um vaso com água e corante (solução de 1 g/L de corante direto azul em água destilada). O tempo permitido para os fluidos subirem foi pré-estabelecido em 10 minutos e a altura de elevação (mm) foi determinada.

4.2.4.4. Remoção de pectina

A pectina residual (%) no tecido foi visualizada após tingimento com o corante vermelho de rutênio (MOROZOVA et al., 2006). Tiras de 1 g de tecido foram tingidas a 50 °C por 30 min numa solução de corante (30 mg de corante por 100 mL de água destilada), lavadas intensamente três vezes com água destilada na temperatura ambiente e secas ao ar. Por fim, mediu-se a refletância das amostras a 540 nm e calcularam-se os valores de K/S (fórmula de Kubelka-Munk) utilizando-se um espectrofotômetro de remissão (modelo CM-3610D, marca Konica Minolta) (JARAMILLO et al., 2016).

O corante carregado positivamente interage com os grupos terminais carboxílicos da pectina carregados negativamente, e a eficiência de remoção pode ser avaliada a partir da intensidade colorística (K/S) (MOROZOVA et al., 2006). Quanto maior a quantidade de corante nas fibras de algodão, maior é o conteúdo de pectina presente e, portanto, uma cor avermelhada escura é obtida após o tingimento. Os tingimentos foram feitos nos tecidos cru (tido como 100 % de pectina), purgado com NaOH (tido como 0 % de pectina) e biopurgados com enzimas (estimado com referência aos anteriores a partir de uma escala linear). Trata-se de um método indireto, para medir a porcentagem de substâncias pécicas remanescentes no algodão e para avaliar o efeito da ação enzimática, que é considerado muito importante para o estudo dos procedimentos de limpeza (JARAMILLO et al., 2016). Embora, do ponto de vista prático, a medição da molhabilidade seja mais intuitiva (WANG et al., 2007).

4.2.4.5. Grau de branco

O grau de branco (Berger) foi mensurado em um espectrofotômetro de remissão de bancada (modelo CM-3610D, marca Konica Minolta), usando cerâmica branca como padrão de calibração.

4.2.4.6. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR dos tecidos de algodão tratados e não tratados foram coletados em temperatura ambiente, num espectrômetro VERTEX 70 (marca Bruker) com uma instalação de medição de ATR (refletância total atenuada) na faixa de 4000-400 cm^{-1} .

4.2.4.7. Tingimento

Tecidos de algodão (1,0 g) tratados enzimaticamente e quimicamente, mas não branqueados, foram tingidos em uma proporção de licor de 1:20 (g:ml) a 60 °C por 60 min, com 1,7 % (em massa de tecido, s.p.m.) de corante azul reativo C.I. 222 (obtido na Siderquímica, São José dos Pinhais, Paraná, Brasil), 45 g/L de cloreto de sódio como eletrólito e 10 g/L de carbonato de sódio como álcali. Em seguida, os tecidos foram lavados várias vezes para garantir a remoção de todo corante não fixado: 5 min com água fria, 5 min com 1 g/L de ácido acético, 10 min a 95 °C (fervura), 5 min a 60 °C e, finalmente, 5 min com água fria.

As coordenadas colorimétricas no espaço de cor CIELAB e a intensidade colorística (K/S) dos tecidos tingidos foram medidas usando um espectrofotômetro (modelo CM-3610D, marca Konica Minolta), a 640 nm. Os valores de K/S foram calculados com a fórmula de Kubelka-Munk, pela equação (2), onde K corresponde à absorção de luz pelo corante, S à medida da difusão da luz pelo substrato e R ao valor da remissão.

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

4.2.4.8. Resistência física ao estouro

Ensaio de resistência ao arrebentamento/estouro, pelo método do diafragma, foram realizados no equipamento Mullen Tester (REGMED MTA 2000), baseados na norma NBR 13384 (ABNT, 1995).

4.2.4.9. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise morfológica dos tecidos de algodão (revestidos com uma fina camada de ouro) foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura (MEV) convencional com filamento de tungstênio (JEOL JSM-6390LV).

4.2.5. Análise estatística

Todos os experimentos foram realizados em triplicata e todas as análises foram feitas em triplicata. Os dados em tabelas e figuras são apresentados como a média de três repetições

± desvio padrão (barras de erro nas figuras). Para comparação de algumas médias foram realizados testes de Tukey e análise de variância ANOVA, considerando um nível de significância de 5 %, utilizando-se o software Statistica® 12.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Efeito das biopurgas nas propriedades físico-químicas do tecido de malha de algodão

Os quatro métodos de biopurga (A, B, C e D), sob investigação, foram realizados com a enzima pectato liase alcalina em diferentes concentrações, e a qualidade dos tecidos resultantes foi medida em termos de perda de massa, absorção de água (hidrofilidade e capilaridade), conteúdo de pectina, grau de branco e espectros FTIR. Os resultados dessas propriedades técnicas estão apresentados de forma sintetizada na Tabela 4.2, foram comparados com a lavagem alcalina e o tecido não tratado (malha crua), e contribuem para conhecer o efeito da biopurga e dos pós-tratamentos no tecido de algodão.

Tabela 4.2 – Comparação das propriedades físico-químicas dos tecidos de algodão tratados por enzimas (A-D) e convencionalmente (alcalino).

Tratamento	Enzima (g/L)	Perda de Massa (%)	Grau de Branco (Berger)	Hidrofilidade (s)	Capilaridade (mm)	Pectina (%)
Malha crua	---	---	16,34 ± 1,11	Hidrofóbico (>300)	0,00	100,00
Alcalino	---	4,65 ± 0,09	48,50 ± 1,64	4,07 ± 0,64	132,00 ± 1,73	Sem pectina
A	1,0	2,68 ± 0,03	25,40 ± 0,27	111,87 ± 29,24	41,67 ± 8,02	4,64 ± 4,74
	5,0	2,74 ± 0,03	26,51 ± 1,38	64,80 ± 15,09	72,67 ± 5,13	2,76 ± 0,52
	10,0	2,58 ± 0,04	25,81 ± 0,61	45,80 ± 6,30	71,67 ± 6,43	3,30 ± 1,46
Controle	0,0	1,32 ± 0,03	25,75 ± 0,48	Hidrofóbico (>300)	0,67 ± 0,58	79,42 ± 3,68
B	1,0	3,41 ± 0,03	31,31 ± 0,21	3,73 ± 1,01	123,00 ± 6,08	2,74 ± 0,35
	5,0	3,21 ± 0,04	31,18 ± 0,33	4,00 ± 0,40	113,00 ± 2,65	4,70 ± 1,20
	10,0	3,16 ± 0,10	31,41 ± 0,25	3,53 ± 0,12	106,33 ± 5,86	3,66 ± 1,91
Controle	0,0	2,20 ± 0,07	31,76 ± 0,34	48,67 ± 17,40	79,33 ± 7,57	71,28 ± 2,77
C	1,0	3,45 ± 0,04	34,05 ± 0,88	5,73 ± 1,55	130,33 ± 0,58	1,78 ± 1,75
	5,0	3,34 ± 0,07	33,83 ± 0,70	5,93 ± 0,58	114,67 ± 3,51	Sem pectina
	10,0	3,31 ± 0,02	33,22 ± 0,44	5,27 ± 1,42	102,67 ± 3,06	Sem pectina
Controle	0,0	1,65 ± 0,10	33,09 ± 0,36	18,47 ± 5,83	115,67 ± 3,79	74,52 ± 2,77
D	1,0	3,17 ± 0,02	32,25 ± 0,47	14,67 ± 1,27	107,00 ± 2,00	2,72 ± 1,82
	5,0	3,18 ± 0,10	32,16 ± 0,24	11,27 ± 3,52	108,00 ± 1,73	0,23 ± 0,74
	10,0	3,26 ± 0,04	31,54 ± 0,17	11,67 ± 2,34	109,00 ± 1,73	0,37 ± 0,13
Controle	0,0	2,04 ± 0,07	33,21 ± 0,29	Hidrofóbico (>300)	18,67 ± 10,69	71,72 ± 1,23

Controle é o tratamento sem enzima, nas mesmas condições da purga enzimática.

Os valores são a média de três repetições ± desvio padrão.

4.3.1.1. Perda de massa

Os resultados da Tabela 4.2 denotam que, o aumento da concentração enzimática de 1,0 a 10,0 g/L não atuou em favor da perda de massa no tecido, sugerindo de antemão que, a enzima na concentração mais baixa investigada (1,0 g/L) é suficiente para a digestão das impurezas de pectina disponíveis. No entanto, o tipo e as condições de processo determinaram a magnitude dessas perdas.

As perdas foram inferiores a 3,5 % em todas as biopurgas utilizadas, condizentes com vários relatos da literatura científica da área (HEBEISH et al., 2009; KALANTZI et al., 2008; LI; HARDIN, 1997), e sinalizaram indiretamente a remoção de impurezas não celulósicas dos substratos têxteis (KALANTZI et al., 2008). Os tecidos processados de acordo com o tratamento A foram caracterizados pelos valores mais baixos de perda de massa ($\approx 2,7\%$), que podem ser resultantes da pouca eliminação de ceras e gorduras, pela não realização da lavagem quente subsequente. Choe et al. (2004) demonstraram que, uma pós-lavagem curta e de alta temperatura ($\geq 80\text{ }^{\circ}\text{C}$) é essencial para a remoção das ceras do algodão. Já os tecidos tratados pela convencional purga alcalina com hidróxido de sódio adquiriram perdas de massa maiores ($4,65 \pm 0,09\%$), o que pode ser um indicativo da retirada de quase todos os constituintes não celulósicos da cutícula e da parede primária da fibra (SAWADA et al., 1998). Mas além disso, pode indicar a degradação da própria celulose pelo uso de químicos agressivos, levando a um produto final de menor resistência (ABDULRACHMAN et al., 2017).

Em relação aos testes de controle, sem adição de enzima, ocorreu uma degradação do substrato (entre 1,3 e 2,2 %) significativa, pelo uso de surfactante (1 g/L) em conjunto com a temperatura do banho. Essa perda de massa pode estar associada às impurezas solúveis em água que entram na solução tampão (KALANTZI et al., 2008), material particulado e parte da camada cerosa mais externa à fibra de algodão (MATHER; WARDMAN, 2011), principalmente os ácidos graxos de cadeias menores saponificáveis (AGRAWAL et al., 2007). De acordo com Raza et al. (2014), os surfactantes agem como detergentes entre a água e as substâncias graxas imiscíveis da superfície das fibras, emulsionando os compostos hidrofóbicos no meio aquoso, daí diminuindo a massa e melhorando a branquidão dos tecidos resultantes. Curiosamente, os controles dos procedimentos B e D alcançaram maiores perdas de massa do que os controles dos procedimentos A e C. Embora se esperasse que o procedimento de controle A, sem nenhum pós-tratamento, proporcionasse a menor perda de massa, o procedimento de controle C, com 10 minutos adicionais de lavagem, deveria proporcionar uma maior perda de massa do que os controles B e D.

4.3.1.2. Hidrofilidade e capilaridade

A absorção de água é um dos fatores mais cruciais nos tecidos de algodão que afetam a etapa seguinte de tingimento (KALANTZI; KEKOS; MAMMA, 2019) e é o principal parâmetro que mede a eficiência da limpeza. O tratamento do tecido com BioPrep® 3000 L levou a uma melhoria acentuada na capacidade de absorção de água (Tabela 4.2), em comparação com o tecido cru contendo pectina e outras impurezas naturais, o que era esperado. A enzima pectinase alcalina desestruturou a superfície hidrofóbica da fibra, convertendo-a em um componente hidrofílico (HEBEISH et al., 2009).

Os testes de molhabilidade revelaram diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$ na comparação de médias pelo teste de Tukey). Quando o tampão foi aplicado sem enzimas (controle), o tempo de absorbância de água foi maior que 18 s, indicando hidrofilidade inaceitável. Mais que 5 s não são consideradas boas propriedades de umectância (WANG et al., 2007).

As amostras do tratamento A mostraram a menor absorção de água, com um tempo de hidrofilidade superior a 45 s e com uma capilaridade inferior a 73 mm. A biopurga (tratamento A), embora aplicada no pH e na temperatura ideais da enzima de acordo com as recomendações do fornecedor, não mostrou efeito de limpeza satisfatório por si só. Os substratos do tratamento D, que incluiu uma etapa de enxágue a quente, foram ligeiramente mais favoráveis, no entanto, os substratos B e C apresentaram os melhores valores. Quando as experiências de biopurga foram repetidas com um pós-tratamento de emulsificação com surfactante (B e C), onde o banho de limpeza com o surfactante já presente foi aquecido a 90 °C, a hidrofilidade e a capilaridade melhoraram em grande medida.

Isso pode ser explicado da seguinte forma: (1) Quando utilizada isoladamente em tecidos de algodão cru, a enzima pectinase (tratamento A) fornece pouca melhoria nas propriedades de umedecimento e retenção de água (HARTZELL; HSIEH, 1998), porque as ceras naturais, provavelmente, não são removidas durante a lavagem enzimática a 50-60 °C usando apenas pectinase alcalina (HEBEISH et al., 2009) sem produtos químicos adicionais, enzimas degradantes de cera específicas ou ação mecânica (AGRAWAL et al., 2007); (2) Um pós-tratamento com água a 90 °C (tratamento D) aumenta a eficácia do processo, uma vez que, os lipídios presentes na composição do algodão têm temperaturas de fusão entre 75-100 °C e a exposição à água quente (90 °C) deve fazer com que esses compostos derretam (MBURU; MWASIAGI; ANINO, 2016; WANG et al., 2007); e (3) De acordo com Li e Hardin (1998), o uso de surfactante na etapa de lavagem (tratamentos B e C) resulta em eficiência adicional, por

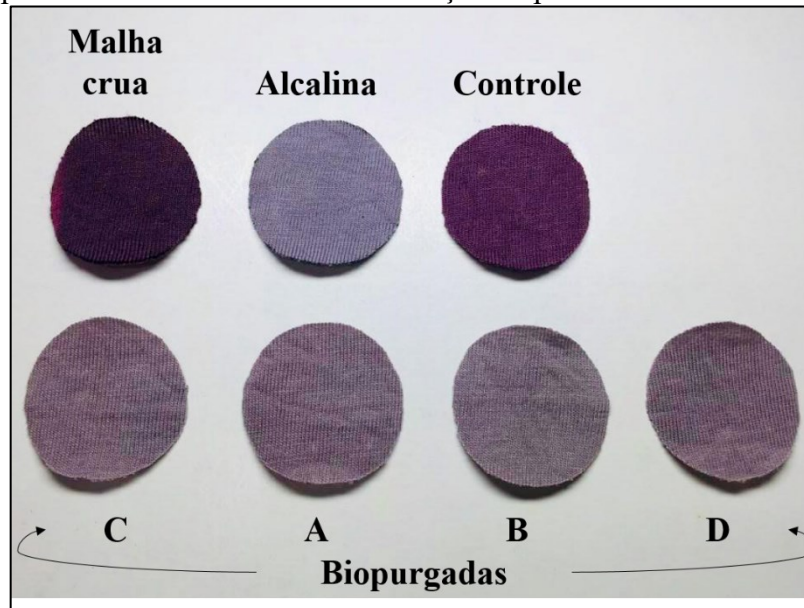
solubilização de pectina e ceras, com consequente auxílio à retirada e redução da redeposição (efeito de dispersão) dessas substâncias nos tecidos.

A absorção máxima de água (hidrofilidade e capilaridade) foi observada nas amostras B e C, comparável à medida no tecido tratado com álcalis ($p > 0,05$, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey), porém com uma menor perda de massa. Demonstrou-se então, ser possível fazer uma biopurga com hidrofilidade igualmente alta, de 5 s em média, que está na faixa aceita para processamentos industriais de tingimento, estamparia e acabamento, através de uma biopurga com pectato liase em baixa dosagem (1 g/L) seguida de pós-lavagem quente auxiliada por surfactante. Também fica claro, a partir desses resultados, que a biopurga é um melhor compromisso entre a remoção de impurezas hidrofóbicas, especialmente pectina e materiais cerosos, para alcançar boas propriedades umectantes e baixos danos às fibras, que é expresso pela menor perda de massa. Uma maior concentração enzimática não funcionou para induzir uma maior absorção, significando que 1 g/L de BioPrep[®] 3000 L é capaz de hidrolisar todas as substâncias pécicas acessíveis. Os autores Wang et al. (2007), ao otimizarem a biopurga de tecidos de malha 100 % algodão com pectinase alcalina, também constataram que uma dose enzimática de 1,0 g/L (pH 9,1; 57 °C e 1,25 h de incubação) era ideal para a solubilização de pectina.

4.3.1.3. Remoção de pectina

A remoção de pectina da superfície dos tecidos de algodão é um fator importante em relação ao aumento da hidrofilidade (SILVA et al., 2017), e foi confirmada após o tingimento das amostras tratadas com o corante vermelho de rutênio. As moléculas do corante interagem com as substâncias pécicas, conferindo uma cor vermelha/roxa escura que é expressa como valor de intensidade colorística K/S (JARAMILLO et al., 2016; MOROZOVA et al., 2006). A Figura 4.4 ilustra a gama de cores produzidas a partir do tingimento e quanto maior o conteúdo remanescente de pectina, mais os substratos se coram intensamente de roxo a vermelho.

Figura 4.4 – Variação na intensidade de cor após tingimento com o corante vermelho de rutênio, para visualizar a extensão de remoção de pectina dos tecidos de algodão.



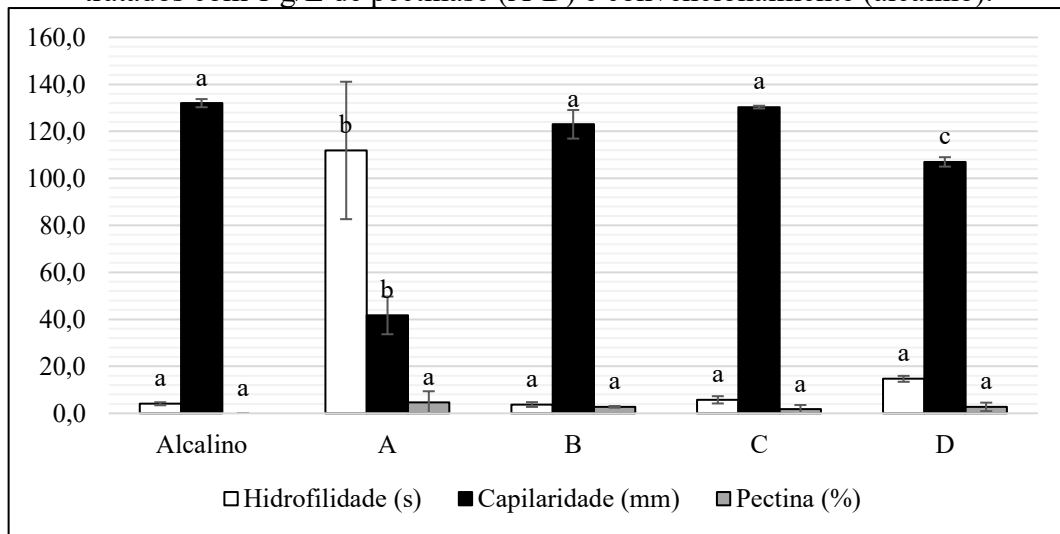
Todos os tecidos tratados com pectinase mostraram uma cor bem mais clara em comparação com os tecidos cru e controle (vermelhos escuros), fornecendo evidências de um residual máximo de pectina de 5,0 %, enquanto os tratamentos de controle sem pectato liase deixaram entre 71 e 80 % de pectina na fibra (ver Tabela 4.2). Isso ocorreu devido à remoção eficaz da pectina pela enzima pectinase BioPrep[®] 3000 L em quaisquer tratamentos, motivo pelo qual o corante se ligou menos ao tecido. Os experimentos resultaram em baixos valores de K/S e, conseqüentemente, em quantidades substanciais de pectina removidas (>95 %), tendo como referência o tratamento convencional com hidróxido de sódio. Remoções de pectina consideráveis de 75 %, 82 % e 98 % também foram demonstradas por Silva et al. (2017), Vigneswaran et al. (2013) e Easson et al. (2015), nessa ordem.

A maior extração de pectina foi obtida com 5 e 10 g/L de enzima nos procedimentos C e D, onde 99-100 % da pectina foram eliminados. Porém, dentro da faixa estudada, a enzima foi efetiva mesmo em pequenas concentrações (1 g/L), o que sustenta os resultados discutidos de perda de massa e absorção de água. Consoante Madhu e Chakraborty (2017), a concentração ótima varia, mas via de regra, as pectinases já são bem-sucedidas em baixas concentrações, na faixa de 0,05 e 2 %.

Ao correlacionar a remoção de pectina com a absorção de água (Figura 4.5), mas também com a perda de massa, percebe-se que a pectina não é o único fator que influencia na hidrofiliabilidade do tecido, já que os tecidos de malha tratados têm o mesmo grau de remoção de pectina e têm diferentes características de hidrofiliabilidade e capilaridade. Por exemplo, o tecido

tratado com o procedimento A e 5 g/L de pectato liase e os tecidos tratados com os procedimentos B e D e 1 g/L de enzima levaram à mesma remoção de pectina (97,2 %), com perda de massa total e hidrofiliidade dos tecidos tratados com os procedimento B e D significativamente maiores (ver Tabela 4.2). A partir daí fica claro que, a remoção de pectina, por si só, não é suficiente para garantir uma boa absorção de água e as melhorias na absorção e penetração de água parecem ser atribuíveis à remoção dos produtos cerosos cuticulares também.

Figura 4.5 – Hidrofiliidade, capilaridade e conteúdo de pectina residual dos tecidos de algodão tratados com 1 g/L de pectinase (A-D) e convencionalmente (alcalino).



As barras de erro representam \pm desvio padrão. Letras iguais nas colunas de mesma cor não são estatisticamente diferentes ao nível de 5 %.

A enzima pectinase alcalina e as correspondentes condições de pós-tratamento desempenharam um papel muito importante na absorção de água dos tecidos, pela remoção simultânea de componentes pécticos e cerosos das fibras. Essa afirmação está respaldada pelos valores mais baixos de perda de massa e absorção de água observados no tratamento A, em todos os níveis estudados (consultar Tabela 4.2), ainda que os valores de pectina residual sejam compatíveis aos tratamentos B, C e D. A falta de um enxágue posterior (10 min) em temperatura mais elevada (90 °C), no tratamento A, não promoveu efeitos físicos (solubilidade) sobre as sujidades graxas apolares, conservando-as presentes na cutícula e na parede primária da fibra de algodão. Mesmo que a ação enzimática seja concluída na temperatura ideal da enzima, a remoção das ceras não é realizada sem um procedimento de emulsificação em temperaturas mais elevadas, que é a temperatura de fusão das ceras (KIM et al., 2006). Logo, o principal desafio na limpeza enzimática do algodão não é apenas a degradação da pectina, mas também aumentar a hidrofiliidade pela remoção das ceras de maneira eficiente por uma via benigna (AGRAWAL et al., 2007).

Estes resultados dão uma boa ideia da ação específica e seletiva da pectinase. A enzima funcionou de forma correta na degradação do seu substrato (pectina), mas não afetou as ceras. Como tanto a pectina quanto as ceras são responsáveis pela hidrofobicidade do algodão, para fins de limpeza foi necessário fundir e emulsificar as ceras em uma etapa pós-tratamento, para obter um bom tempo de umedecimento do tecido. Isso significa que uma biopurga com pectinase bem sucedida depende da atividade enzimática para eliminar a pectina e da remoção de ceras posterior.

4.3.1.4. Grau de branco

A remoção dos pigmentos naturais, responsáveis pela coloração amarelada do algodão cru, é feita efetivamente durante a etapa de alvejamento com oxidantes químicos. A etapa de limpeza é feita para conferir hidrofiliabilidade ao algodão. Mas alguns pigmentos podem ser removidos na purga ou biopurga, pois estão adsorvidos nas substâncias pécticas, lipídicas e proteicas do substrato (KARAPINAR; SARIISIK, 2004). À vista disso, a remoção enzimática das impurezas do algodão proporcionou uma melhora na brancura do tecido, em comparação com a brancura inicial ($16,34 \pm 1,11$ graus Berger). As purgas enzimáticas resultaram num ganho de 55-108 % no branco de Berger, em relação à malha crua.

A Tabela 4.2 mostra que o índice de brancura não aumenta à medida que a concentração da enzima pectinase aumenta de 1,0 para 10,0 g/L, tendendo a permanecer constante nesta faixa. Resultados semelhantes foram obtidos por Erdem e İbrahim Bahtiyari (2018), quando os autores encontraram valores de brancura limitados com o aumento da quantidade de enzima pectinase usada. Por outro lado, o grau de branco depende muito do método de biopurga empregado, mais precisamente da fase posterior e adicional a 90 °C. Essa fase teve uma vantagem considerável, dado que, os tratamentos B, C e D exibiram valores mais altos (entre 31,18 e 34,05 graus Berger) do que o tratamento A (25,91 graus Berger, na média), em quase dez unidades. Quando comparados os tratamentos com enzima e sem enzima (controle em solução tampão), não foram observadas alterações relevantes nesta propriedade ($p > 0,05$ pelo método da ANOVA, exceto tratamento D), como em Silva et al. (2017). Neste caso, a lavagem tem um forte efeito no grau de alvura, em vez da enzima pectinase estar diretamente relacionada à remoção dos pigmentos de cor associados à pectina.

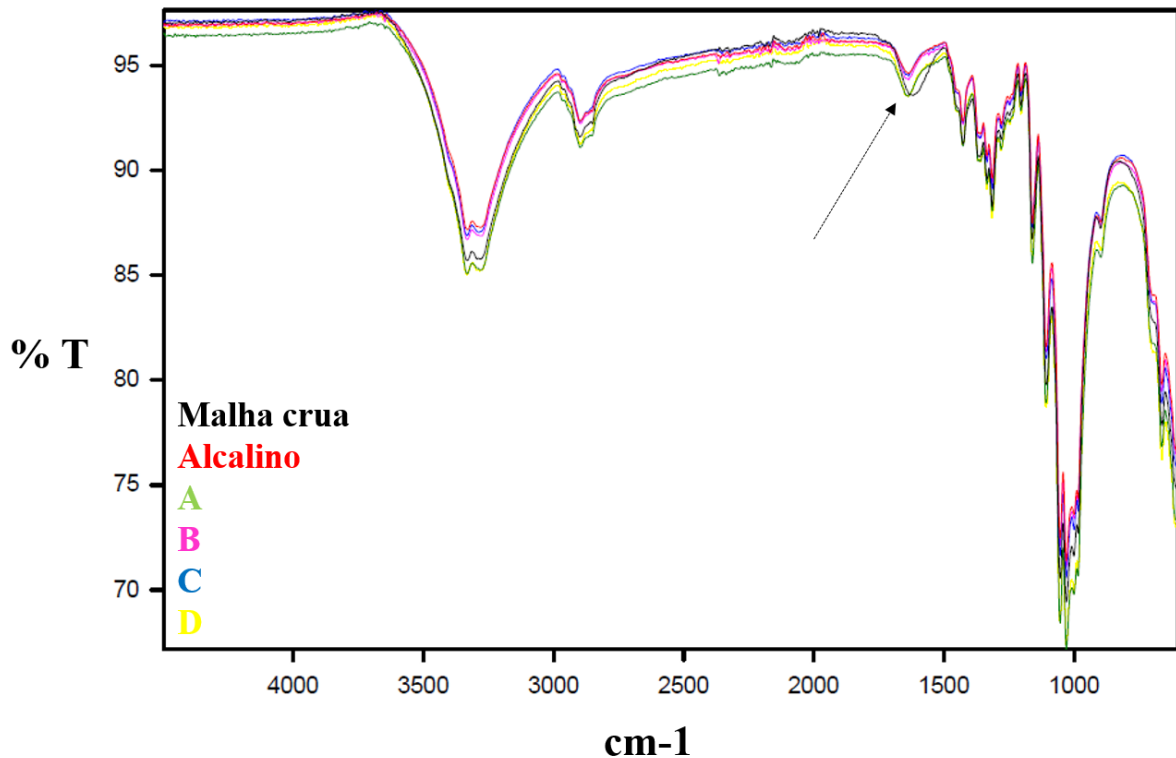
O mais alto índice de brancura foi obtido nos tecidos tratados quimicamente com a purga convencional alcalina ($48,50 \pm 1,64$ graus Berger). Como a lavagem alcalina não é específica do substrato, removerá todos os materiais de superfície do algodão e aprimorará o seu grau de

branco (HARDIN, 2010; PUŠIĆ; TARBUK; DEKANIĆ, 2015). A purga com hidróxido de sódio é mais intensiva e retira alguns compostos coloridos da fibra que a biopurga com enzimas não consegue retirar (MOJSOV, 2015). O processo com enzimas é adequado, portanto, no tingimento imediato de cores médias/escuras, quando não é necessária uma brancura muito alta (SILVA et al., 2017), e depende do uso final dos tecidos (TZANOV et al., 2003a). Quando é necessária uma maior brancura, é preciso realizar um tratamento oxidante (TZANOV et al., 2003a) e uma tentativa foi feita por Raja et al. (2017), onde foi combinada a lavagem enzimática com o clareamento com peróxido em um único banho, para o preparo de algodão absorvente e branco.

4.3.1.5. Caracterização das fibras de algodão com espectroscopia FTIR

As análises de espectroscopia FTIR foram usadas para identificar mudanças na química da superfície e no conteúdo de impurezas não celulósicas dos tecidos de algodão cru e tratados (Figura 4.6). No algodão cru (linha preta) pode-se observar a presença de ceras e pectinas com o aparecimento de um largo pico em torno de $1400-1700\text{ cm}^{-1}$ (NERURKAR; JOSHI; ADIVAREKAR, 2015). Esse pico é causado, principalmente, pela existência de pectina na forma de COO^- e pelo grupo éster carboxílico da cera nas fibras de algodão (XIAOKANG; HAITAO; JIANYONG, 2019). Os tecidos dos tratamentos A (linha verde) e D (linha amarela) apresentaram uma redução significativa na intensidade deste pico e o pico quase desapareceu nos tecidos tratados com álcalis (linha vermelha) e biopurgados com tratamentos B (linha rosa) e C (linha Azul). Isso prova que os tratamentos B e C removeram as impurezas de pectina e cera com sucesso, enquanto após os tratamentos A e D ainda podem ser encontrados traços de impurezas na superfície da fibra (provavelmente ceras e gorduras, porque as pectinas foram removidas; ver Tabela 4.2). Além disso, esses resultados estão de acordo com as análises de perda de massa e absorção de água, e confirmam que os tratamentos de biopurga B e C podem atingir o mesmo efeito na remoção de impurezas não celulósicas que o método alcalino convencional. No entanto, a pectinase sozinha (tratamento A) tem uma capacidade limitada de remover impurezas pécnicas e de cera da superfície do algodão.

Figura 4.6 – Medições espectrais FTIR das amostras de tecidos de algodão cru (linha preta) e após os tratamentos A (linha verde), B (linha rosa), C (linha azul), D (linha amarela) e purga alcalina (linha vermelha).



4.3.2. Influência da concentração de surfactante e da temperatura na etapa de pós-lavagem, após a biopurga

Uma das limitações na implementação de enzimas em aplicações industriais está relacionada à viabilidade econômica do processo, principalmente devido ao alto custo das enzimas (KALANTZI; KEKOS; MAMMA, 2019). Para uma biopurga econômica com pectinase, seria vantajoso reutilizar as enzimas várias vezes, o que poderia reduzir os custos de produção. Pensando nesta possibilidade, de reúso do banho enzimático com BioPrep® 3000 L (dados ainda não publicados), o tratamento D (que inclui uma etapa de lavagem separada da biopurga e, portanto, permite a reutilização do banho de enzima) foi otimizado sob a perspectiva da influência do surfactante e da temperatura na etapa de pós-lavagem, que acontece seguidamente à biopurga. Segundo Hebeish et al. (2009) e Jaramillo et al. (2016), depois de quebrar e remover a pectina, que atua como um ligante natural entre as substâncias não celulósicas e o núcleo celulósico da fibra, as gorduras e ceras podem ser extraídas do algodão usando uma lavagem quente com surfactante.

A adição de surfactante não iônico (Tabela 4.3) na lavagem (posterior ao tratamento enzimático) gerou incrementos na perda de massa, índice de branco e absorção de água dos tecidos. O aumento da concentração de surfactante de 0,2 para 1,0 g/L não teve efeito significativo nas propriedades mencionadas e 0,2 g/L pode ser considerado apropriado para melhorar o desempenho dos substratos biopurgados. A eficácia do surfactante, sobretudo na absorção de água dos tecidos, deve-se à remoção de substâncias gordurosas e cerosas por emulsificação e solubilização na água, e não tem efeito direto na remoção de pectina (como pode ser visto pelo residual de pectina após a lavagem na Tabela 4.3, que não é estatisticamente diferente pelo teste de Tukey: $p > 0,05$). Do mesmo modo para Choe et al. (2004), o surfactante funcionando na emulsificação, em uma etapa subsequente, foi essencial para o sucesso da biopurga e muito influenciou na absorbância das amostras. Pode-se afirmar então que, um agente umectante é essencial para umedecer as fibras de algodão (SHARMA; NACHANE, 2010) e a presença de pequena quantidade do surfactante como agente de limpeza, melhorou a molhabilidade do tecido de algodão a um nível propício para tingimento, estamparia e acabamento, semelhante à purga alcalina convencional.

Tabela 4.3 – Efeito da concentração de surfactante na etapa de pós-lavação, sobre as propriedades físico-químicas dos tecidos de algodão.

Surfactante (g/L)	Perda de Massa (%)	Grau de Branco (Berger)	Hidrofilidade (s)	Capilaridade (mm)	Pectina (%)
0,0	3,17 ± 0,02	32,25 ± 0,47	14,67 ± 1,27	107,00 ± 2,00	2,72 ± 1,82
0,2	3,62 ± 0,09	33,26 ± 0,42	3,00 ± 0,57	129,00 ± 2,83	5,14 ± 0,03
0,4	3,54 ± 0,05	34,34 ± 0,50	2,90 ± 0,42	132,50 ± 3,54	3,02 ± 0,23
0,6	3,47 ± 0,08	34,18 ± 1,30	3,50 ± 0,14	130,00 ± 0,00	4,73 ± 0,64
0,8	3,48 ± 0,01	34,88 ± 0,30	2,60 ± 0,57	131,50 ± 2,12	3,65 ± 0,48
1,0	3,43 ± 0,04	34,07 ± 0,27	2,80 ± 0,00	129,00 ± 1,41	3,43 ± 0,22

Condições utilizadas: Estas experiências foram realizadas de acordo com o tratamento D. Biopurga enzimática com 1 g/L de BioPrep® 3000 L. Em seguida, o conteúdo do banho foi descartado e os tecidos de algodão foram lavados com água destilada (90 °C por 10 minutos) e surfactante. Os valores são a média de três repetições ± desvio padrão.

Com relação ao efeito da temperatura, a lavagem ótima foi alcançada à temperatura de 70 °C (Tabela 4.4), além da qual houve mais perda de massa e nenhuma alteração expressiva na absorção de água dos tecidos. Uma temperatura de enxágue de 90 °C elevou a perda de massa em ≈ 1 %, mas sem mudanças significativas na umectação. Senthil Raja et al. (2012) afirmaram que os lipídios cuticulares das fibras de algodão são misturas complexas de componentes alifáticos e aromáticos, com comprimento das cadeias carbônicas de C₂₀-C₄₀ e pontos de fusão de 64-214 °C. Considerando isso, possivelmente, a 70 °C uma boa parte das

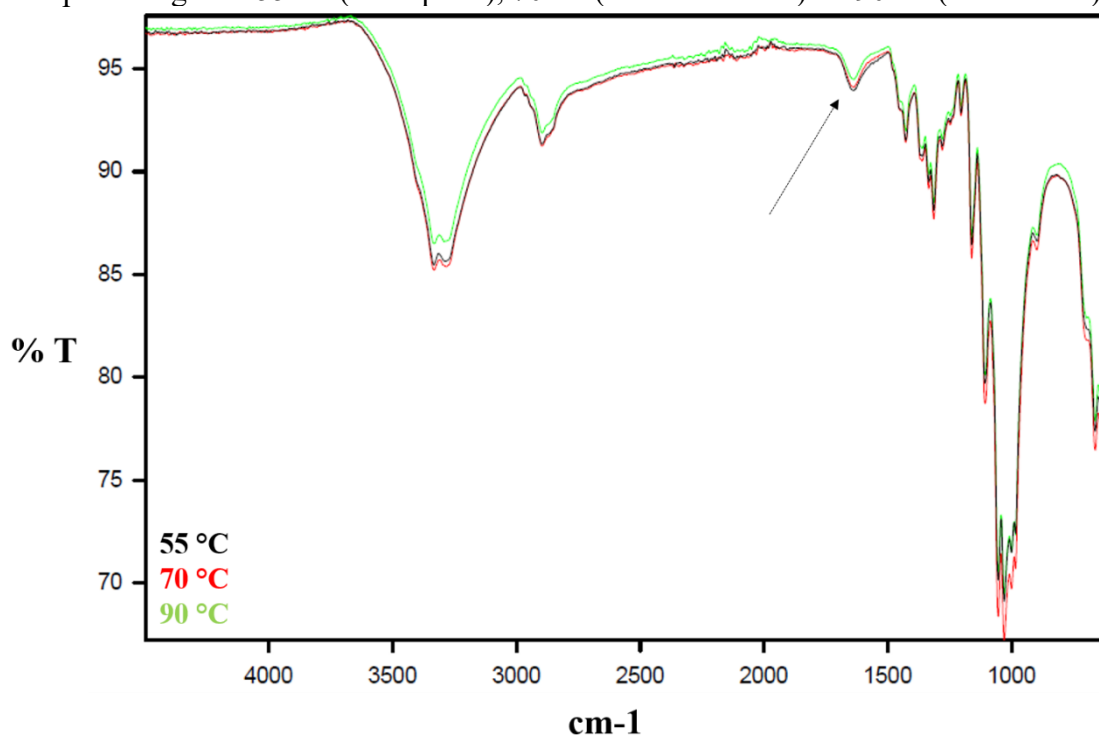
ceras da superfície do algodão já se afrouxaram, fundiram e se soltaram, facilitando à remoção e resultando em boas hidrofiliidade e capilaridade. As medições de FTIR (Figura 4.7) corroboraram esses achados: quanto menor a intensidade do pico característico que corresponde às impurezas presentes no algodão cru ($1400-1700\text{ cm}^{-1}$) (NERURKAR; JOSHI; ADIVAREKAR, 2015), melhor será a remoção de impurezas naturais (XIAOKANG; HAITAO; JIANYONG, 2019). O pico mostra um estreitamento gradual com o aumento da temperatura de lavagem de 55 °C para 90 °C (Figura 4.7), lembrando que as ceras são removidas com o aumento da temperatura de lavagem. Embora ainda haja diferença nos resultados obtidos com a lavagem a 70 °C (linha vermelha) e 90 °C (linha verde), isso não interferiu muito na hidrofiliidade dos tecidos.

Tabela 4.4 – Efeito da temperatura na etapa de pós-lavagem, sobre as propriedades físico-químicas dos tecidos de algodão.

Temperatura (°C)	Perda de Massa (%)	Grau de Branco (Berger)	Hidrofiliidade (s)	Capilaridade (mm)	Pectina (%)
55	$2,53 \pm 0,08$	$32,22 \pm 0,18$	$14,73 \pm 4,20$	$118,00 \pm 2,65$	$5,65 \pm 1,37$
70	$2,57 \pm 0,09$	$33,31 \pm 0,42$	$5,47 \pm 0,76$	$134,33 \pm 0,58$	$8,28 \pm 2,52$
90	$3,62 \pm 0,09$	$33,26 \pm 0,42$	$3,00 \pm 0,57$	$129,00 \pm 2,83$	$5,14 \pm 0,03$



Condições utilizadas: As experiências foram realizadas de acordo com o tratamento D. Biopurga enzimática com 1 g/L de BioPrep® 3000 L. Em seguida, o conteúdo do banho foi descartado e os tecidos de algodão foram lavados com água destilada (10 minutos) e surfactante ($0,2\text{ g/L}$). Os valores são a média de três repetições \pm desvio padrão.

Figura 4.7 – Espectros de FTIR. Os tecidos de algodão foram tratados com pectinase (1 g/L) com pós-lavagem a 55 °C (linha preta), 70 °C (linha vermelha) ou 90 °C (linha verde).



É provável que a temperatura operacional mais baixa (de 90 para 70 °C) seja uma abordagem interessante para reduzir o consumo de energia e o custo no processamento têxtil, mas uma preparação insuficiente pode causar tingimentos irregulares e sérios problemas que só se tornam aparentes após a coloração. Por esse motivo, as amostras tratadas com pectinase e pós-lavadas a 70 °C foram tingidas e os resultados do tingimento (coordenadas das cores e intensidade das cores) são mostrados na Tabela 4.5, contrapostos ao tecido alcalino tingido. A intensidade colorística (K/S) foi estatisticamente semelhante para as amostras tratadas com produtos químicos e biológicos, e os valores de croma revelaram apenas uma pequena variação. O desvio ΔE foi menor do que 1 e, portanto, aceitável pelo limite máximo para ΔE adotado na indústria de vestuário (PICCOLI, 2014). A aparência visual dos tecidos (Tabela 4.5) foi consistente com esses achados e os tecidos pareciam uniformemente tingidos, com cores homogêneas e isentos de quaisquer defeitos. É oportuno acrescentar que os experimentos foram feitos com 1,7 % de corante e, segundo Losonczy, Csiszár e Szakács (2004), quanto maior a concentração de corante (0,2-2,0 %), menor é a diferença de cor entre as amostras pré-tratadas por diferentes métodos (alcalino e enzimas) após o tingimento.

Tabela 4.5 – Medições de cores dos tecidos tingidos.

Tratamento	K/S (640 nm)	L*	a* (-)	b* (-)	C*	h*	ΔE	
Alcalino	4.91 $\pm 0.45^a$	46.74 ± 0.90	4.97 ± 0.48	25.02 ± 1.12	25.51 ± 1.01	258.67 ± 1.51	---	
Pectinase com Pós-lavagem a 70 °C	5.32 $\pm 0.08^a$	45.81 ± 0.21	4.96 ± 0.32	25.55 ± 0.60	26.03 ± 0.53	258.97 ± 0.93	0.75 ± 0.30	

Os valores são a média de três repetições \pm desvio padrão. Letras iguais não são estatisticamente diferentes ao nível de 5 %.

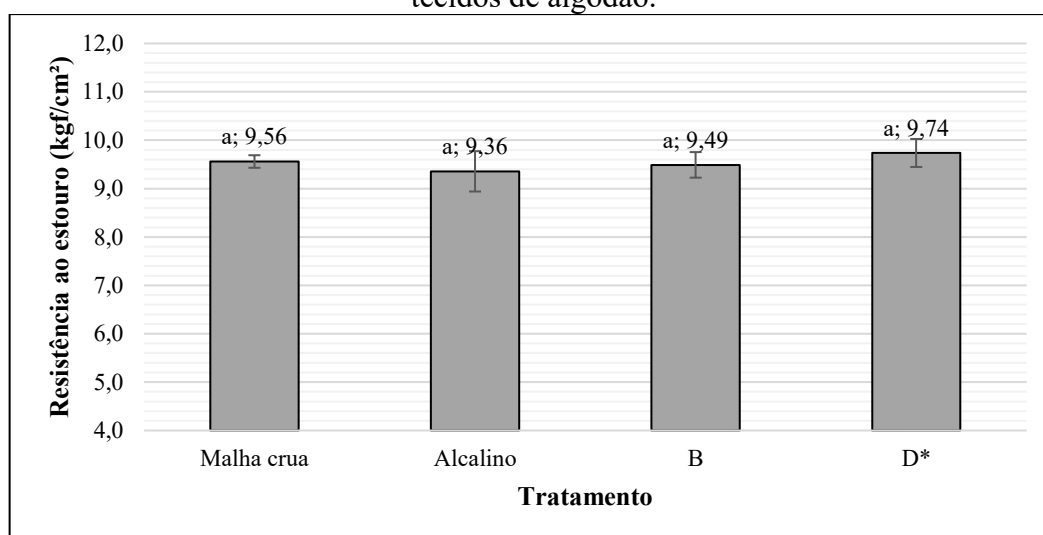
4.3.3. Biopurga versus purga convencional alcalina

A fim de investigar o efeito dos bioprocessos nas resistências e morfologias dos tecidos, foram selecionadas as condições de tratamento mais eficazes e confrontadas com a purga alcalina convencional. Foram escolhidos os tratamentos sob o ponto de vista técnico, ecológico e econômico, ponderando a qualidade das propriedades têxteis, o consumo de enzimas, energia, água e produtos químicos, bem como o tempo de processamento: (I) Tratamento B (1 g/L de pectinase) e (II) D* (1 g/L de pectinase, com lavagem com 0,2 g/L de surfactante a 70 °C)

pretendendo a reutilização das enzimas, já que estas não sofrem desativação por desnaturação térmica.

O tratamento alcalino convencional, para remoção das impurezas não celulósicas do algodão, causa problemas ambientais decorrentes do uso excessivo de hidróxido de sódio e água, e reduz a resistência física dos tecidos pela degradação inespecífica da celulose (ABDULRACHMAN et al., 2017; DALVI et al., 2007; SINGH et al., 2018). Essa declaração, no tocante à queda de resistência, não pôde ser confirmada pelos resultados da Figura 4.8, em virtude de não haver alterações sérias nos valores observados de resistência ao estouro ($p=0,07$ pelo método da ANOVA). Salvo que Abdulrachman et al. (2017) e Singh et al. (2018), por exemplo, relataram uma menor resistência à tração dos tecidos tratados pelo método de limpeza alcalino.

Figura 4.8 – Efeito de diferentes vias de limpeza na resistência ao arrebentamento/estouro dos tecidos de algodão.



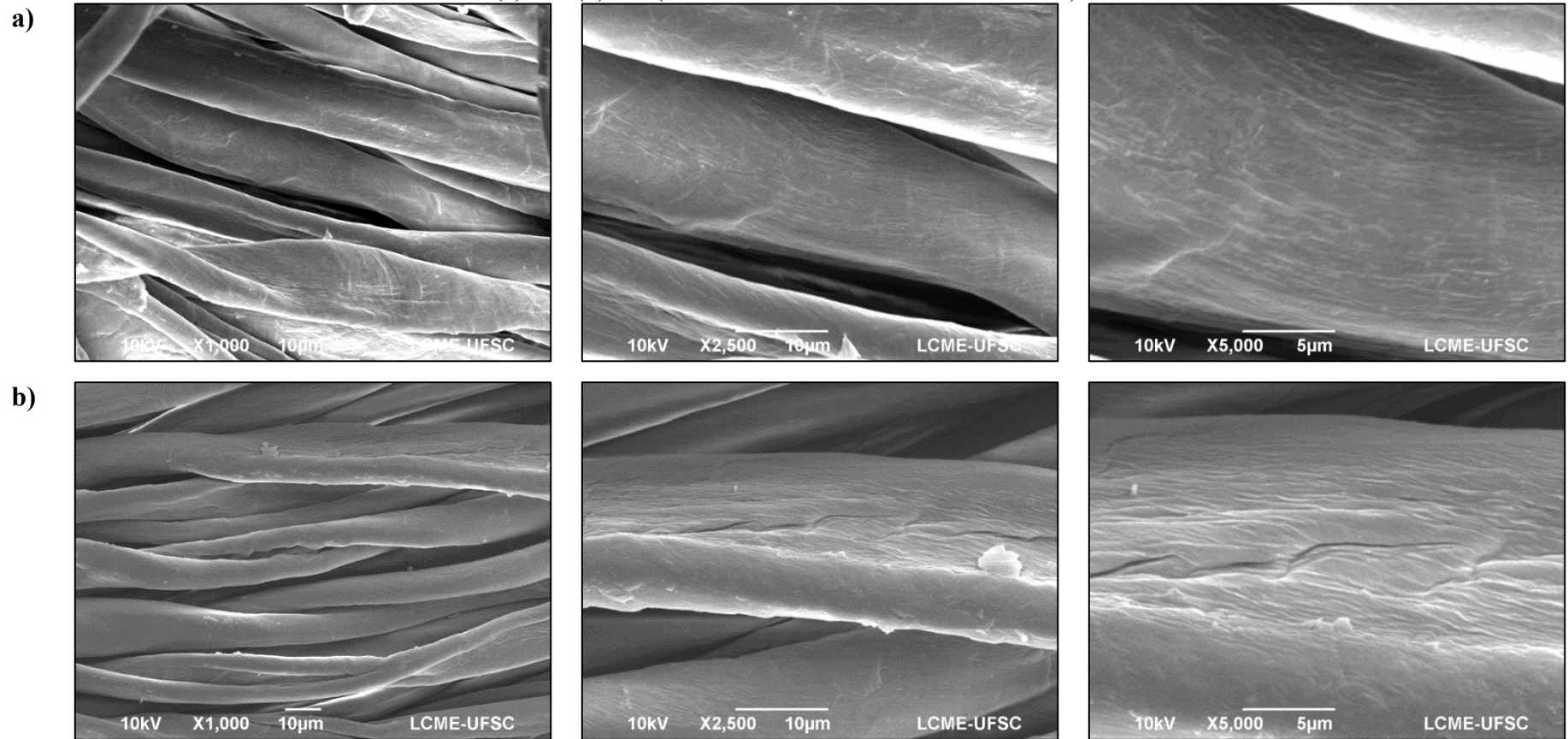
Os valores são a média de três repetições e as barras de erro representam \pm desvio padrão. Letras iguais não são estatisticamente diferentes ao nível de 5 %.

A efetividade da biopurga foi sustentada pelas imagens microscópicas dos tecidos crus, biopurgados e quimicamente tratados (Figura 4.9), que permitiram visualizar as alterações físicas nas superfícies das amostras. Ambos os tratamentos, enzimático e químico, removeram as impurezas hidrofóbicas e limpam os tecidos. No entanto, a superfície das fibras tratadas com enzimas é mais lisa e parece ter sofrido menos alterações na sua arquitetura, devido às condições mais brandas do processo. A purga convencional, em contrapartida, utiliza produtos químicos agressivos e altas temperaturas que causam danos à parede celular primária do algodão (DEMIR et al., 2018). Ao observar a morfologia da superfície do algodão tratado com álcalis, parece que surgiram algumas áreas irregulares, ásperas e com materiais granulares na

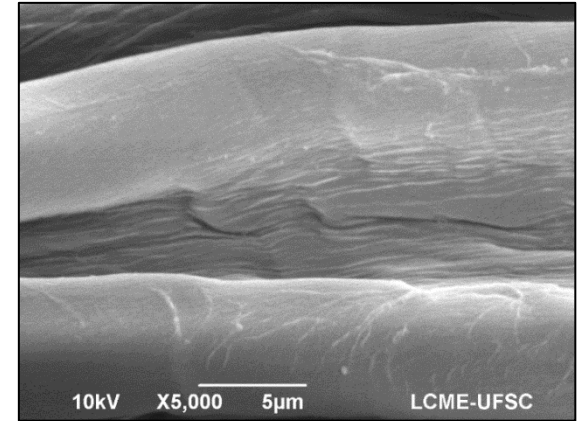
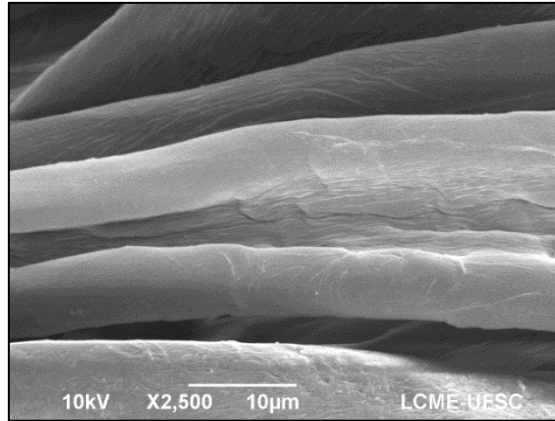
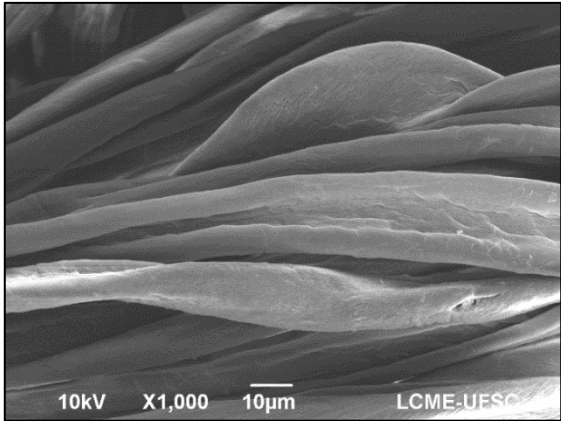
sua estrutura. Como pode ser visto (e fazendo uma analogia com a Figura 4.1), a parede secundária da fibra de algodão ficou exposta, em que a celulose cristalina é visível na forma de microfibrilas paralelas. Esse efeito de descascamento do álcali na camada primária poderá afetar a estrutura interna da fibra, hidrolisar o corpo principal do algodão e danificar a resistência do tecido, caso não for adequadamente controlado (XIAOKANG; HAITAO; JIANYONG, 2019).

Os tecidos biopurgados mostraram molhabilidade e tingibilidade comparáveis às obtidas pela purga química, mas com menor perda de massa (consultar Tabela 4.2 e Tabela 4.5). O processo enzimático foi então mais suave e gerou fibras de melhor qualidade (Figura 4.9). Isso reflete a especificidade da enzima em atacar a pectina sem decomposição da celulose, que é uma atividade lateral indesejada da purga alcalina convencional (ABDULRACHMAN et al., 2017) ou de formulações enzimáticas contendo celulase (LI; HARDIN, 1997). Essa hidrólise parcial da celulose produz produtos solúveis e é acompanhada por perda de massa, que é proporcional a uma certa perda de qualidade e durabilidade do tecido (ALY; MOUSTAFA; HEBEISH, 2004).

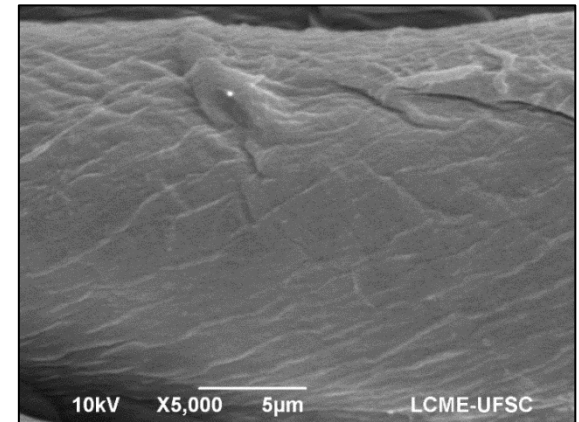
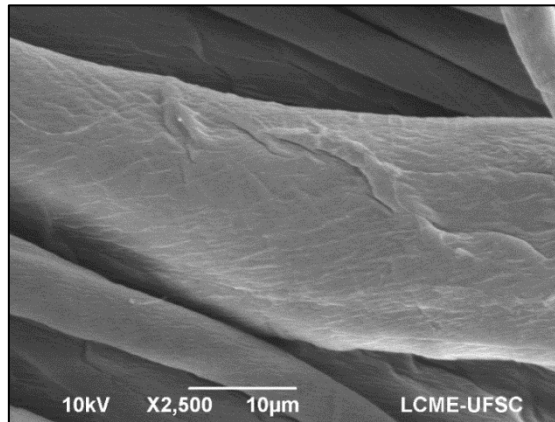
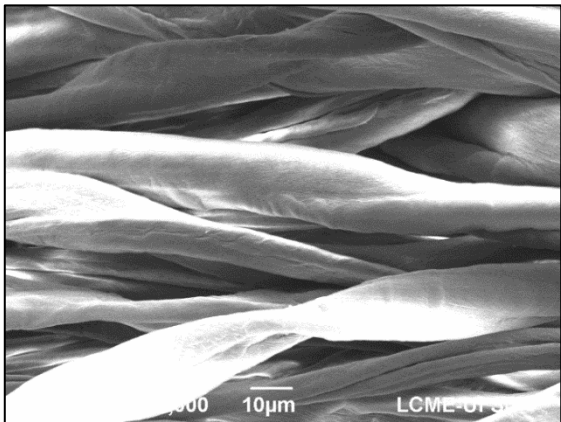
Figura 4.9 – Imagens MEV da superfície dos tecidos de algodão (a) cru, (b) tratados com purga alcalina, e tratados com enzima pectato liase nos tratamentos (c) B e (d) D* (Aumento de x1.000, x2.500 e x5.000), nessa ordem.



c)



d)



4.4. CONCLUSÃO

Este estudo forneceu novas percepções sobre as características da biopurga de tecidos de malha de algodão com uma pectinase alcalina comercial, especialmente no que diz respeito aos parâmetros decisivos da etapa de lavagem após a biopurga. Na concentração mais baixa testada (1 g/L), a pectato liase foi capaz de digerir especificamente quase todas as substâncias pecticas das camadas externas das fibras de algodão, no entanto, propriedades de absorção de água aceitáveis só foram alcançadas com uma etapa adicional de lavagem a quente. Mesmo após quebrar e remover as pectinas com a enzima a 55 °C, as substâncias cerosas e gordurosas ainda aderem à superfície da fibra e são responsáveis pela baixa umectação e absorção de água, mas podem ser removidas durante uma pós-lavagem curta a quente com um surfactante não iônico. Na etapa de pós-lavação, o controle da temperatura e o uso de surfactante foram parâmetros-chave para otimizar o desempenho dos substratos biopurgados e do processo. Uma concentração de surfactante de apenas 0,2 g/L e 70 °C foram suficientes, para melhorar a penetração e a absorção de água dos tecidos com baixa perda de massa.

Os resultados gerais confirmam outros estudos anteriores e indicam o potencial e as vantagens da biopurga, sobre a purga alcalina, em relação às principais propriedades físico-químicas dos tecidos. Baixa perda de massa, combinada com uma adequada molhabilidade, revelam o mecanismo de limpeza mais específico e a eficiência da rota enzimática, como um processo substituto à purga química convencional. Menor perda de massa significa menos danos às fibras e também impacto ambiental reduzido (menor geração de resíduos) e ganho econômico, uma vez que os têxteis são comercializados com base no peso.

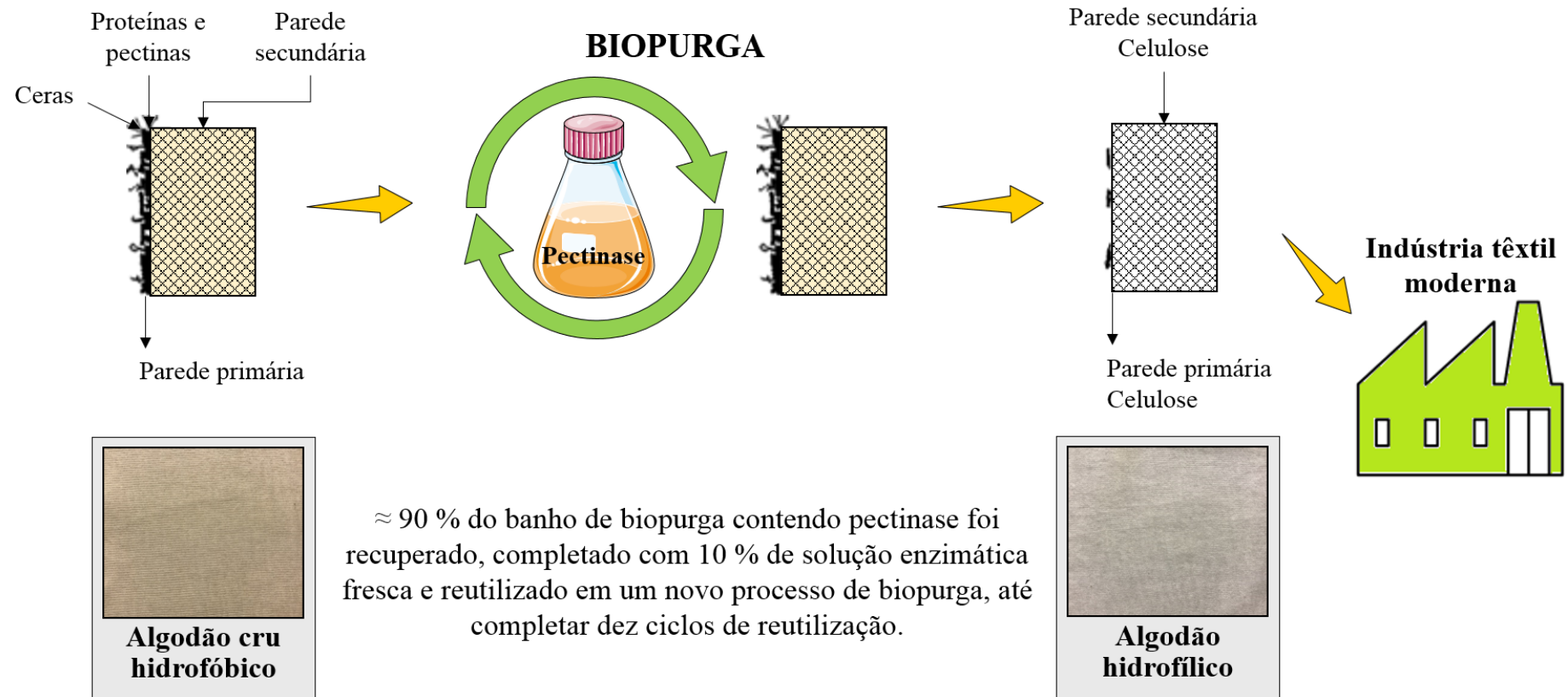
Além dos esforços científicos dos últimos anos, este estudo confirma que a biopurga representa uma opção verde, sustentável, viável e promissora às necessidades da indústria têxtil. Dadas as questões ambientais associadas à lavagem alcalina, esses bioprocessos são ferramentas ecologicamente corretas e podem ser adotados com sucesso para aplicações industriais.

5. UMA ABORDAGEM SUSTENTÁVEL PARA A BIOPURGA DE ALGODÃO: REUTILIZAÇÃO DA ENZIMA PECTATO LIASE CONTIDA NO BANHO DE TRATAMENTO

RESUMO: A limpeza enzimática do algodão tem se estabelecido (lentamente) como uma alternativa verde à limpeza alcalina na indústria têxtil, principalmente devido ao processamento mais ecológico, em pH e temperaturas mais baixas, e sua ação menos agressiva sobre as fibras do algodão. No entanto, entre outras limitações, os custos das enzimas contribuíram para impedir sua ampla aceitação e uso. Pela primeira vez, neste estudo, a reciclagem do banho de biopurga foi avaliada, diferentemente da maioria das biopurgas atuais que são realizadas usando uma solução enzimática fresca. A biopurga de tecido de malha 100 % algodão cru foi realizada por 30 minutos com uma pectinase comercial (BioPrep[®] 3000 L) a 55 °C e pH 8,5. Cerca de 90 % do banho de limpeza contendo pectato liase recuperado foi completado com 10 % de solução de enzima fresca e reutilizado em um novo processo de biopurga, nas mesmas condições. Até dez ciclos de reutilização foram possíveis sem perda significativa na eficiência de limpeza e uma análise detalhada dos tecidos pré-tratados é apresentada. O reaproveitamento do banho, reduzindo o consumo intensivo de insumos (enzimas, água e produtos químicos) e a geração de efluentes pode ser possível, tornando a biopurga uma técnica mais atrativa e sustentável. O processo demonstrado é promissor e sua aplicação industrial é viável.

Palavras-chave: Purga enzimática. Reutilização de enzimas. Economia de água. Processo ecológico. Indústria têxtil.

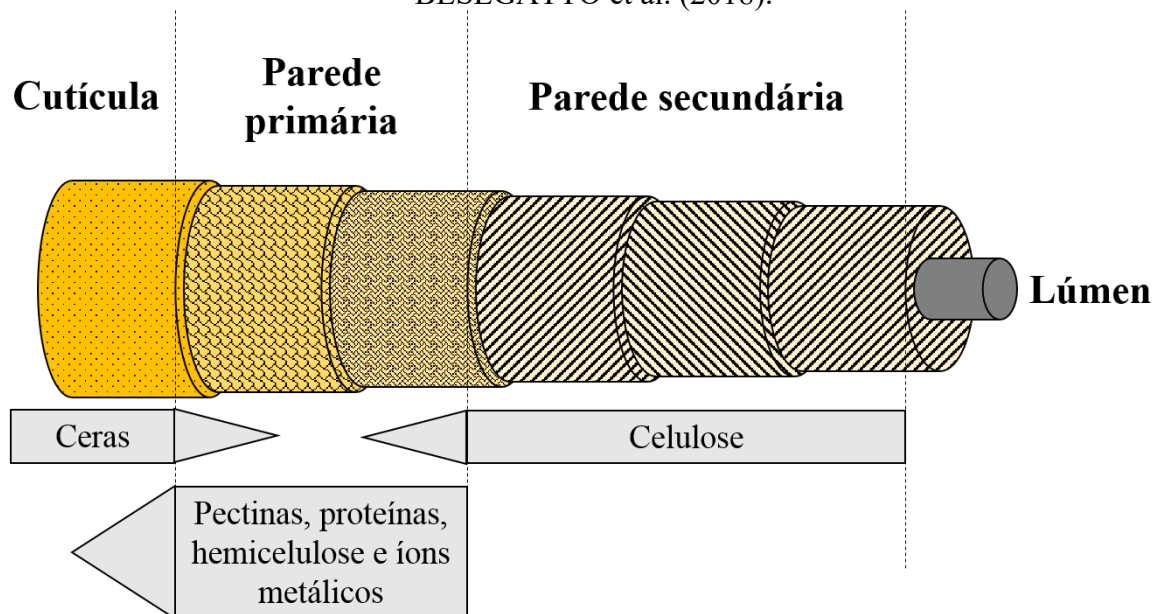
RESUMO GRÁFICO:



5.1. INTRODUÇÃO

O algodão é um importante recurso natural e um dos materiais mais utilizados na indústria têxtil e de vestuário (ANDREAUS et al., 2019). A fibra de algodão é um depósito de celulose altamente puro e possui quatro camadas concêntricas em sua estrutura morfológica (de fora para dentro, Figura 5.1): (1) a cutícula, uma fina membrana externa composta por ceras e pectinas; (2) a parede primária de 0,1 microm de espessura, constituída por 52 % de celulose com uma mistura complexa de pectinas, ceras, proteínas, cinzas e outros compostos orgânicos compreendendo o restante; (3) a parede secundária, que é a camada mais espessa formada por celuloses paralelas e sobrepostas; e (4) o lúmen, um canal central composto de resíduos protoplásmicos (ETTERS, 1999; LI; HARDIN, 1997). A quantidade de impurezas não celulósicas varia de 4 a 12 %, sobre a massa total, e é responsável pelas propriedades hidrofóbicas do algodão cru, criando dificuldades para o seu tingimento têxtil (WAKELYN et al., 2006). A limpeza do algodão na forma de fibras, fios ou tecidos, através da remoção de tais impurezas, é necessária antes do tingimento, estamparia e acabamento (SHAFIE; FOUDA; HASHEM, 2009).

Figura 5.1 – Representação esquemática da estrutura do algodão, mostrando a distribuição de celulose e de outros materiais não celulósicos nas várias camadas de fibra. Essa representação esquemática foi redesenhada com base nas publicações anteriores de AGRAWAL (2005) e BESEGATTO et al. (2018).



Convencionalmente, os constituintes não celulósicos são removidos por tratamentos com hidróxido de sódio (NaOH, ± 1 mol/L) e outros produtos químicos, em altas temperaturas (90-100 °C) e durante até uma hora, acompanhados de subseqüentes lavagens, num processo de preparação chamado de purga alcalina (AGRAWAL, 2005). O resultado final é uma fibra de celulose quase pura (teor acima de 99 %) e com excelente absorção de água (WAKELYN et al., 2006). Contudo, embora a limpeza alcalina seja eficaz e os custos de NaOH sejam baixos, esta acarreta um ônus ambiental e representa um dos estágios mais agressivos dentro da indústria de beneficiamento têxtil, pelo uso excessivo de químicos, água e energia (AGRAWAL et al., 2007; LOSONCZI; CSISZÁR; SZAKÁCS, 2004). Dependendo das condições de operação, o ataque à celulose do algodão e a redução da resistência física das fibras foram relatados (ABDULRACHMAN et al., 2017; SINGH et al., 2018; XIAOKANG; HAITAO; JIANYONG, 2019). Essa limpeza com alcalinos fortes (NaOH), em altas temperaturas e na presença de oxigênio, pode resultar em encolhimento, intumescimento e oxidação da celulose, que danificam a fibra e afetam as propriedades mecânicas dos tecidos (BORYO et al., 2013).

A limpeza com enzimas biodegradáveis em temperaturas e pH moderados tem se mostrado uma alternativa sustentável e amplamente aceita na indústria, no entanto, algumas desvantagens, como alto custo das enzimas e menor grau de branco, ainda precisam ser superadas (ANDREAUS et al., 2019). Biopurgas com pectinases sozinhas ou associadas à proteases, lipases, cutinases, xilanases e celulasas, têm sido aplicadas em condições de reação suaves e com danos mínimos à estrutura celulósica (AGRAWAL et al., 2008; CHOE et al., 2004; COLOMBI et al., 2021a; COLOMBI et al., 2021b; CSISZÁR; SZAKÁCS; RUSZNÁK, 1998; HEBEISH et al., 2009; KALANTZI et al., 2008; KALANTZI; KEKOS; MAMMA, 2019; NERURKAR; JOSHI; ADIVAREKAR, 2015; SILVA et al., 2017).

As enzimas pectinases são as mais promissoras à biopurga (AGRAWAL et al., 2007) e formam um grupo de enzimas que degradam substâncias de pectina, hidrolisando ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica (UENOJO; PASTORE, 2007). A pectina é uma macromolécula constituída de, no mínimo, 65 % de resíduos de ácido galacturônico ligados em $\alpha(1\rightarrow4)$ num padrão linear (Figura 5.2), com pontos de ramificação nos quais predominam cadeias laterais de arabinose e galactose (CANTERI et al., 2012; EICHHORN et al., 2009). A alta metilação (85 %) do ácido poligalacturônico nas pectinas leva à pectina altamente hidrofóbica, contribuindo substancialmente para o comportamento não umectante do algodão cru (GORDON; HSIEH, 2007; LI; HARDIN, 1997). A enzima pectinase ataca a espinha dorsal do ácido poligalacturônico da pectina sem a decomposição das fibras de celulose, que é uma

atividade lateral indesejável da purga alcalina (ABDULRACHMAN et al., 2017). As pectinases ácidas, alcalinas e neutras são geralmente aplicadas (PUŠIĆ; TARBUK; DEKANIĆ, 2015), em temperaturas entre 50-60 °C e por 30 a 60 minutos (SHAFIE; FOUUDA; HASHEM, 2009). Após quebrar e remover a pectina, que atua como uma barreira adesiva de cimentação entre os componentes celulósicos e não celulósicos (Figura 5.3) (ETTERS, 1999; MADHU; CHAKRABORTY, 2017), ceras e todos os outros materiais não celulósicos podem ser removidos mais facilmente usando água quente e surfactantes (CHOE et al., 2004; COLOMBI et al., 2021b).

Figura 5.2 – Estrutura química primária de uma molécula de pectina.

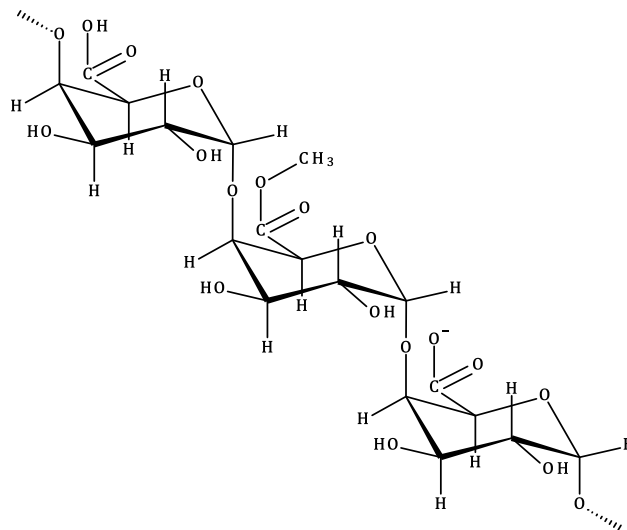
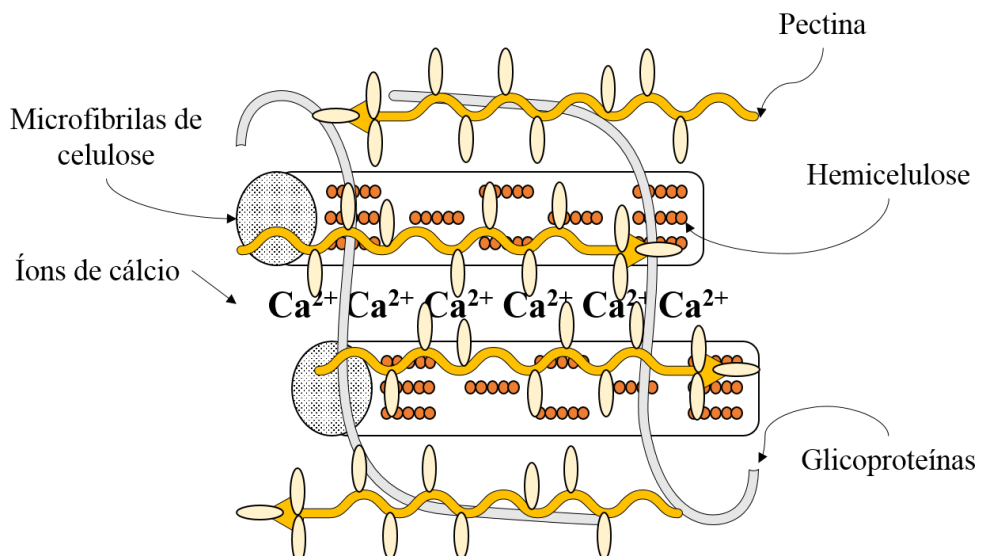


Figura 5.3 – Interconexões entre a celulose e outros componentes não celulósicos na parede celular primária da fibra do algodão. Redesenhado com base na publicação anterior de AGRAWAL et al. (2007).



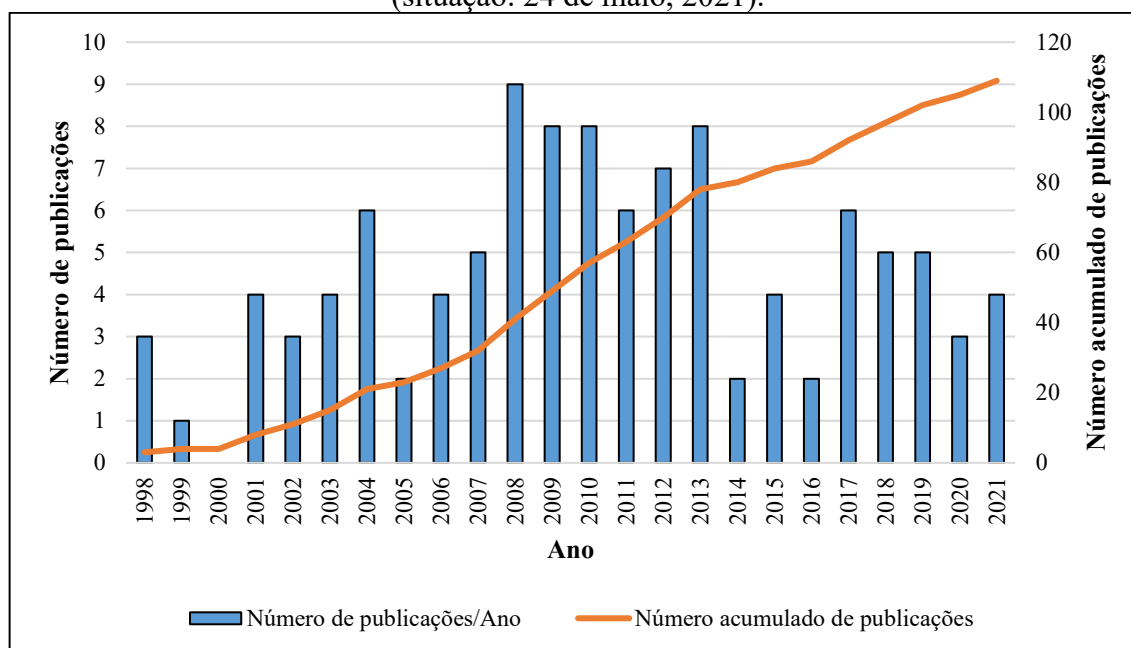
O fator limitante da implementação de enzimas na indústria está relacionado à viabilidade econômica, sobretudo pelo alto custo das enzimas hidrolíticas (KALANTZI; KEKOS; MAMMA, 2019). Segundo Madhu e Chakraborty (2017), a reciclagem e a reutilização das enzimas tornaria o processo mais econômico e seria a força motriz para substituir a preparação química do algodão. Considerando as limitações relacionadas aos custos dos processos enzimáticos, duas abordagens diferentes podem ser feitas para reduzir o impacto do custo da enzima nos custos do processo: (1) Imobilização da enzima e sua reutilização; (2) Reciclagem e reutilização de todo o licor de enzima. A imobilização de enzimas geralmente aumenta o custo do biocatalisador e pode resultar em redução da atividade, que devem ser compensados pelo uso repetido. A imobilização é, no entanto, uma questão complicada se a enzima atuar em um substrato sólido (ANDREAUS et al., 2019).

Paralelamente, reduzir a quantidade de água é um fator chave para o desenvolvimento sustentável na indústria de processamento têxtil, que utiliza grande quantidade de água (ÖNER; SAHINBASKAN, 2011) e contribui para a poluição de água, exercendo grande pressão sobre os recursos hídricos globais (CHEN et al., 2019; HUSSAIN; WAHAB, 2018). Em termos de impacto ambiental, estima-se que a indústria têxtil utilize mais água do que qualquer outra indústria globalmente, e que quase todas as águas residuais descartadas são altamente poluídas (HOLKAR et al., 2016). Os tecidos e malhas não podem ser transformados em produtos acabados sem várias operações que exigem muita água (LAKSHMANAN; RAGHAVENDRAN, 2017). As fábricas de tamanho médio consomem cerca de 200 L de água por kg de tecido (HOLKAR et al., 2016; HUSSAIN; WAHAB, 2018) e, dependendo do processo de produção, 700 L de água podem ser usados para produzir apenas 1 kg de tecido (PENSUPA et al., 2017). Logo, a investigação e implementação de novos tratamentos têxteis devem prestar atenção não apenas à redução da poluição, mas igualmente à economia de água (HASANBEIGI; PRICE, 2015; KHATTAB; ABDELRAHMAN; REHAN, 2020). Economizar água significa também menos efluente para o meio ambiente (ÖNER; SAHINBASKAN, 2011). A purga enzimática, por si, já tem uma redução de 20-50 % no consumo de água de enxágue, em comparação à limpeza alcalina (HASANBEIGI; PRICE, 2015).

Diante disso, o principal objetivo desta pesquisa foi avaliar a reutilização do banho enzimático de um procedimento de biopurga, previamente otimizado com uma pectato liase comercial (COLOMBI et al., 2021b), em até dez vezes na limpeza enzimática de tecido de malha 100 % algodão e comparar os resultados obtidos com a purga alcalina. Até o momento, não foram encontrados registros na literatura especializada acerca da reutilização dos caldos

enzimáticos brutos (sem imobilização) nos procedimentos de biopurga. A Figura 5.4 mostra o número (acumulado) de artigos relatados pelo Scopus, quando biopurga e pectinase foram usadas como base para a pesquisa bibliográfica. Todavia, nenhuma publicação foi encontrada quando os termos biopurga, pectinase e reúso foram combinados. Os dados foram baixados em 24 de maio de 2021.

Figura 5.4 – Publicações acadêmicas sobre biopurga e pectinase no banco de dados Scopus (situação: 24 de maio, 2021).



5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Material

Foi estudada a enzima comercial BioPrep[®] 3000 L (uma pectinase alcalina com atividade de pectato liase de *Bacillus licheniformis*), gentilmente fornecida pela empresa Novozymes[®]. Utilizou-se o surfactante não iônico Berol[®] 175, que é a base de álcool primário natural (90 % de álcool etoxilado) e foi gentilmente disponibilizado pela empresa Macler Produtos Químicos Ltda. Ácido poligalacturônico foi adquirido à Sigma-Aldrich. Tecidos de malha crua 100 % algodão, com gramatura de 160 g/m² e confeccionado com fios penteado 30.1 Ne, foram usados como substrato têxtil e comprados no mercado local. Todos os demais reagentes utilizados possuíam grau de pureza analítico. Em todas as experiências, foi usada água destilada, a menos que seja indicado o contrário.

5.2.2. Atividade e estabilidade da enzima durante o tempo de incubação

A atividade da pectato liase foi determinada de acordo com Collmer, Ried e Mount (1988), usando ácido poligalacturônico como substrato. A solução estoque de substrato continha tampão Tris-HCl (tris-hidroximetil-aminometano – ácido clorídrico) 50 mM pH 8,5, cloreto de cálcio 0,6 mM e 0,24 % (m/v) de ácido poligalacturônico. No ensaio de atividade, 2,5 mL da solução de substrato e 0,5 mL da solução de enzima diluída (1 mL/L), ambos equilibrados na temperatura de 55 °C, foram rapidamente misturados numa cubeta de quartzo com 1 cm de percurso óptico. O aumento da absorbância foi monitorado em espectrofotômetro com comprimento de onda de 232 nm, em função do tempo, de modo que a enzima produzisse uma taxa linear de reação por 30 segundos, no mínimo. A atividade foi calculada pela equação (1) e apresentada em U/mL. Uma unidade de atividade (U) é a quantidade enzimática necessária para produzir 1 μmol de fragmentos pécicos insaturados por minuto, nas condições do ensaio.

$$\frac{U}{\text{mL}} = \frac{\Delta\text{Abs}}{\Delta t} \times \frac{1}{\varepsilon} \times \frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{amostra}}} \times d \quad (1)$$

Onde: $\Delta\text{Abs}/\Delta t$ é a razão de aumento da absorbância por minuto; ε é o coeficiente de extinção molar para os produtos, galacturonídeos com uma ligação insaturada entre os carbonos 4-5, de $4.600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (COLLMER; RIED; MOUNT, 1988); V_{total} é o volume total da mistura reacional (3,0 mL); V_{amostra} é o volume utilizado de enzima (0,5 mL) e d é a diluição da preparação enzimática antes da adição na reação (1.000 vezes).

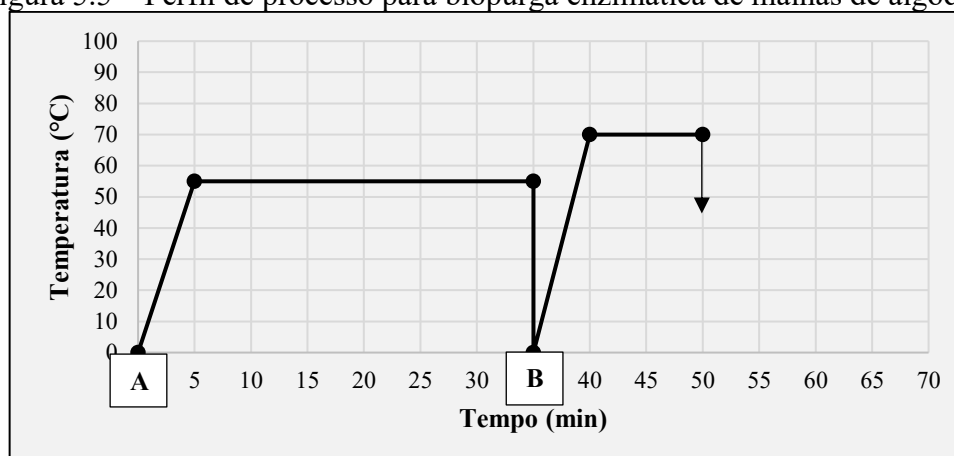
Para saber se a enzima permanecia com atividade durante um certo período de tempo, foi preparada uma solução de enzima (1,0 g/L) com surfactante (1,0 g/L) em tampão Tris-HCl 0,05 M pH 8,5, e incubada a 55 °C por 300 minutos. Medidas de atividade enzimática foram feitas a cada 30 minutos, conforme o procedimento descrito acima.

5.2.3. Tratamentos enzimáticos nos tecidos de algodão – Biopurga

Os experimentos de biopurga foram realizados em canecas de aço inoxidável de 500 mL, em uma máquina de tingimento de laboratório (processo de esgotamento) com agitação vertical de 40 rpm. Os tecidos de algodão (5,0 g) foram tratados por 30 min a 55 °C e numa proporção de tecido para licor de 1:20 (g:mL), com um banho de lavagem aquoso de pH 8,5 (tampão Tris-HCl 50 mM) contendo 1,0 g/L de pectinase BioPrep® 3000 L e 1 g/L de

surfactante não iônico (Berol[®] 175). Depois, o conteúdo do banho foi reservado para reaproveitamento. Cada tecido de algodão foi removido do banho de biopurga e lavado com solução surfactante (0,2 g/L) a 70 °C, na mesma proporção de licor (1:20) por 10 min, enxaguado extensivamente com água da torneira em temperatura ambiente e seco ao ar. O perfil representativo do processo está exposto na Figura 5.5. Tratamentos de referência (controle) foram realizados de maneira semelhante, mas sem adição de enzimas.

Figura 5.5 – Perfil de processo para biopurga enzimática de malhas de algodão.



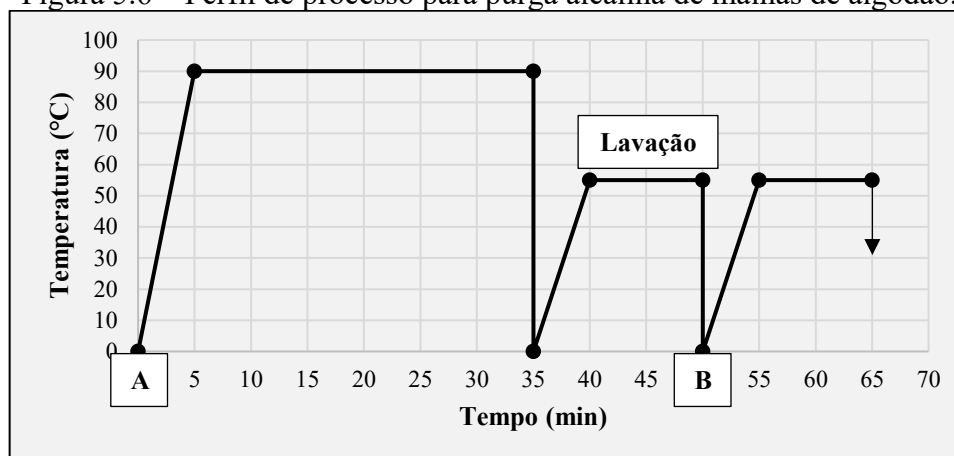
Solução A: enzima BioPrep[®] 3000 L (1,0 g/L) e surfactante não iônico (1,0 g/L), em tampão pH 8,5.
Solução B: surfactante não iônico (0,2 g/L).

Após esse primeiro ciclo, a solução aquosa com BioPrep[®] 3000 L foi cuidadosamente reutilizada e apenas 10 % ($11 \pm 1\%$), em volume, foi restituído com solução virgem de enzimas, correspondente ao percentual de retenção do banho pelo substrato precedente. O próximo ciclo de reação foi configurado seguindo o protocolo mencionado acima e foi continuado até completar dez ciclos de reuso consecutivos.

5.2.4. Tratamento convencional nos tecidos de algodão

A purga alcalina convencional (Figura 5.6) foi feita com hidróxido de sódio, em condições tipicamente utilizadas nas indústrias têxteis do Brasil (COLOMBI et al., 2021b). Uma amostra de tecido de algodão cru (massa aproximada, 5,0 g) foi imersa em solução de hidróxido de sódio (2,0 g/L) e suplementada com um agente umectante não iônico (surfactante Berol[®] 175, 1,0 g/L). O processo foi realizado a 90 °C por 30 minutos, numa proporção de tecido para licor de 1:20 (g:mL). Seguidamente, os tecidos de algodão foram lavados com água destilada quente a 55 °C por 10 minutos e neutralizados com ácido acético (3,0 g/L) a 55 °C por mais 10 minutos, num novo banho.

Figura 5.6 – Perfil de processo para purga alcalina de malhas de algodão.



Solução A: NaOH (2,0 g/L) e surfactante não iônico (1,0 g/L).
 Solução B: ácido acético (3,0 g/L).

5.2.5. Procedimento de tingimento

Amostras tratadas (1,0 g), enzimaticamente e quimicamente, foram tingidas a 60 °C por 60 minutos, usando 1,7 % (s.p.m.) de corante reativo azul C.I. 222 (obtido na Siderquímica, São José dos Pinhais, Paraná, Brasil), numa proporção de banho de 1:20 (g:mL). Os produtos químicos e agentes auxiliares foram utilizados conforme as recomendações do fabricante. Em seguida, os tecidos tingidos passaram por várias etapas de lavagem, afim de retirar todo o corante hidrolisado e não fixado às fibras. Os tecidos foram tingidos sem branqueamento.

Alíquotas das soluções de banho foram coletadas em intervalos regulares de tempo, e determinou-se a concentração de corante remanescente no banho por espectroscopia no ultravioleta visível ($\lambda = 612$ nm, com um espectrofotômetro Shimadzu UV-1601), de acordo com o comprimento de onda de máxima absorção do corante.

5.2.6. Análise das amostras

5.2.6.1. Perda de massa

A perda de massa foi expressa como uma porcentagem em relação à massa inicial e calculada pela equação (2), onde W_1 e W_2 correspondem às massas do tecido antes e após o processo de limpeza, respectivamente. Antes do teste, todas as amostras de tecidos ficaram condicionadas em atmosfera padrão controlada acima da solução de cloreto de cobre saturada, na umidade relativa de 67 ± 2 % (ROCKLAND, 1960), por pelo menos 24 horas.

$$\text{Perda de Massa (\%)} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) \times 100 \quad (2)$$

5.2.6.2. Grau de branco, amarelecimento e claridade

O grau de branco (Berger), o amarelo na escala ASTM-D-1925 e a claridade na escala ISO 2470 foram mensurados em um espectrofotômetro de bancada (modelo CM-3610D, marca Konica Minolta), usando cerâmica branca como padrão de calibração.

5.2.6.3. Conteúdo de pectina

A pectina residual (%) no tecido foi visualizada após tingimento com o corante vermelho de rutênio $[(\text{NH}_3)_5\text{RuORu}(\text{NH}_3)_4\text{ORu}(\text{NH}_3)_5]\text{Cl}_6$ (MOROZOVA et al., 2006). O vermelho de rutênio é um cátion hexavalente (SOUKUP, 2014) que se liga seletivamente aos espaços intermoleculares dos grupos carboxila da pectina (ver Figura 5.2) (HOU; CHANG; JIANG, 1999). O corante carregado positivamente interage com os grupos terminais carboxílicos da pectina carregados negativamente, levando a uma cor avermelhada escura após o tingimento, e a remoção da pectina do tecido pode ser avaliada pela intensidade da cor (K/S) (MOROZOVA et al., 2006). Quanto maior a quantidade de corante absorvido nas fibras de algodão, maior é o conteúdo de pectina.

Tiras de tecido (1 g) foram tingidas a 50 °C por 30 min, numa solução de corante contendo 30 mg de corante vermelho de rutênio por 100 mL de água destilada. As amostras tingidas foram lavadas três vezes com água destilada na temperatura ambiente e secas ao ar. Por fim, mediu-se a refletância das amostras a 540 nm e calcularam-se os valores de K/S (fórmula de Kubelka-Munk) utilizando-se um espectrofotômetro de remissão (modelo CM-3610D, marca Konica Minolta) (JARAMILLO et al., 2016). O teor de pectina (%) foi estimado em uma escala linear entre o tecido de algodão cru tingido (considerado como sendo 100 %) e o tecido purgado com NaOH tingido (considerado como sendo 0 % de resíduo de pectina).

5.2.6.4. Hidrofilidade

A hidrofilidade dos tecidos foi determinada usando a NBR 13000 (ABNT, 1993). O tecido foi montado em um bastidor de bordado, 40 mm abaixo de uma bureta contendo água destilada (20 ± 2 °C) e gotejando a cada 5 segundos. O tempo de absorção de água foi definido

como o tempo (em segundos) necessário para que uma gota de água fosse totalmente absorvida pelo tecido, e foi calculado como a média de cinco medições feitas em diferentes áreas da amostra. Quanto menor o tempo, melhor a hidrofiliabilidade.

5.2.6.5.Capilaridade

A capilaridade (JIS L 1907:2004) é um indicativo para avaliar a absorvência vertical em artigos têxteis. No teste de absorção, a borda inferior de uma tira de amostra (tamanho aproximado, 2,5 cm x 20 cm) foi imersa (≤ 3 cm) verticalmente em um recipiente com uma solução de água destilada e corante (1 g/L de corante azul direto). A altura de absorção das amostras de algodão foi medida após 10 minutos e quanto maior a altura, melhor a capilaridade ou absorção vertical do tecido.

5.2.6.6.Medição do ângulo de contato

Para determinar a hidrofiliabilidade das amostras antes e após os tratamentos, foi realizada também a medição do ângulo de contato no instrumento goniômetro (marca Ramé-Hart, modelo 250) no modo estático.

5.2.6.7.Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise morfológica dos tecidos de algodão foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura (MEV) convencional com filamento de tungstênio (JEOL JSM-6390LV). Anteriormente, as amostras foram revestidas com uma fina camada de ouro.

5.2.6.8.Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Um espectrômetro de FTIR (marca Bruker, linha VERTEX 70) foi usado para determinar as mudanças nos principais grupos característicos da superfície do algodão cru. Os espectros foram coletados ao longo do intervalo de 4000-400 cm^{-1} , à temperatura ambiente, onde a remoção das impurezas pôde ser analisada qualitativamente.

5.2.6.9. Coordenadas colorimétricas e força colorística (K/S)

As coordenadas colorimétricas no espaço de cor CIELAB e a força/intensidade colorística (K/S) dos tecidos tingidos foram medidas usando um espectrofotômetro (modelo CM-3610D, marca Konica Minolta), a 640 nm. Os valores de K/S foram calculados com a fórmula de Kubelka-Munk, pela equação (3), onde K corresponde à absorção de luz pelo corante, S à medida da difusão da luz pelo substrato e R ao valor da remissão.

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

5.2.7. Análise estatística

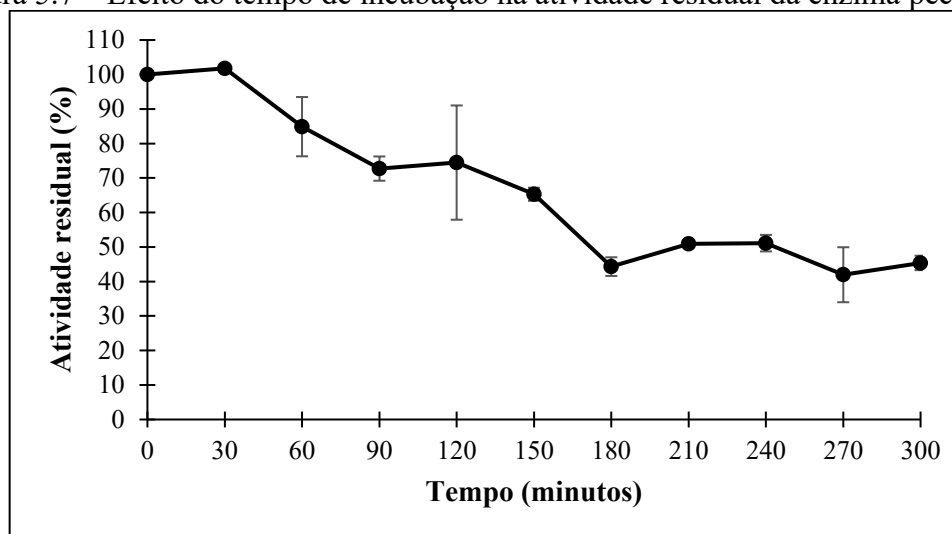
Todos os dados coletados foram quantificados a partir de experimentos em triplicata e os resultados foram expressos como média \pm DP (desvio padrão). Foram realizados testes de Tukey para comparação das várias médias e análise de variância ANOVA, considerando um nível de significância de 5 % (intervalo de confiança de 95 %), utilizando-se o software Statistica[®] (versão 12).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Estudo do tempo de incubação da enzima

O conhecimento da estabilidade de BioPrep[®] 3000 L com o tempo de incubação é importante para a realização da biopurga com reúso do banho, pois não basta que a enzima possua alta atividade à temperatura e pH ótimos, mas que ela mantenha esta atividade durante todo o processo em que ficar exposta nessas condições. Além do que, o pH e a temperatura ideais não são necessariamente as melhores condições para uso prolongado e reutilização. À vista disso, na Figura 5.7, foi avaliada a capacidade da pectinase BioPrep[®] 3000 L em catalisar reações quando incubada a 55 °C, pH 8,5 e na presença de 1 g/L de surfactante não iônico (condições que foram previamente otimizadas para melhor hidrofiliabilidade de tecidos (COLOMBI et al., 2021a)), por 300 minutos, o que corresponde ao tempo total do processo de 10 ciclos de 30 minutos cada tratamento.

Figura 5.7 – Efeito do tempo de incubação na atividade residual da enzima pectinase.



Experimentos de incubação da pectinase BioPrep® 3000 L a 55 °C por 300 min, com tampão Tris-HCl 50 mM a pH 8,5 e 1,0 g/L de surfactante não iônico Berol® 175. A atividade inicial foi fixada em 100 %.

Os resultados apontam que, nos primeiros 30 minutos de incubação a enzima mantém 100 % da sua atividade inicial, equivalente a cerca de 291,26 U/mL. Setenta por cento dessa atividade foi retido até o quarto ciclo de uso (120 minutos) e depois houve uma queda abrupta na atividade enzimática. Então a atividade diminuiu dentro de 120 até 180 minutos quase linearmente para 40-50 % da atividade inicial, e o aumento da duração do tratamento de 180 para 300 minutos foi acompanhado por uma atividade praticamente constante em $133,15 \pm 12,15$ U/mL.

O surfactante pode estar influenciando a atividade da enzima ao longo do tempo, pela ligação à enzima através de interações hidrofóbicas, modificando propriedades enzimáticas intrínsecas como estrutura ou flexibilidade, que podem levar à desnaturação da proteína (HOLMBERG, 2018; RUBINGH, 1996). A parte lipofílica da molécula de surfactante pode estar interagindo com as regiões hidrofóbicas no interior das proteínas da enzima, causando a quebra da sua estrutura secundária e terciária, e essas alterações causarão perda de atividade enzimática (COLOMBI et al., 2021a). A pectinase com atividade mais baixa pode levar a uma taxa reacional mais lenta, que por sua vez, pode ter um impacto negativo na qualidade final dos tecidos de algodão biopurgados. Entretanto, de acordo com Wang et al. (2007), a eliminação completa das pectinas da fibra de algodão é desnecessária, pois uma investigação anterior da Novozymes indicou que uma porcentagem residual de pectinas de 22 a 30 % não compromete a absorção de água dos tecidos. Além disso, o surfactante tem-se mostrado um componente necessário e essencial na composição do banho de biopurga, para garantir a remoção de ceras e gorduras superficiais e a boa molhabilidade dos tecidos de algodão (COLOMBI et al., 2021a;

COLOMBI et al., 2021b; TZANOV et al., 2001) e, como regra geral, os surfactantes não iônicos podem ser considerados mais benignos para uma enzima do que os surfactantes aniônicos e catiônicos (HOLMBERG, 2018).

Nota: não foi possível medir a atividade enzimática diretamente no próprio banho de biopurga, pois a atividade foi estudada com espectrofotometria ultravioleta e no banho reutilizado houve interferências.

5.3.2. Avaliação dos ciclos de biopurga

O processo de biopurga foi investigado pela influência da reutilização do banho enzimático de pectinase (BioPrep® 3000 L nos ciclos de reúso de 1 até 10), com base nas propriedades físico-químicas de tecidos de malha 100 % algodão. O processo de biopurga foi realizado 10 vezes com o mesmo banho, adicionando-se apenas 10 % de solução enzimática fresca em cada novo ciclo, para compensar as perdas de licor. Os resultados são mostrados na Tabela 5.1 e Tabela 5.2, e foram comparados com o método convencional de purga alcalina (NaOH) da indústria têxtil, ponderando a aplicação industrial do bioprocessos.

Tabela 5.1 – Comparação das propriedades físico-químicas dos tecidos de algodão tratados por enzimas com reutilização do banho (1-10) e convencionalmente (alcalino).

Tratamento	Perda de Massa (%)	Grau de Branco (Berger)	Amarelecimento	Claridade	Pectina (%)	
Alcalino	4,65 ± 0,09 ^a	48,495 ± 1,639 ^a	12,253 ± 0,971 ^a	70,679 ± 0,363 ^a	Sem pectina ^a	
Ciclos de reúso	1	2,84 ± 0,14 ^b	35,969 ± 0,627 ^b	17,363 ± 0,305 ^b	66,988 ± 0,470 ^b	3,35 ± 0,41 ^a
	2	2,85 ± 0,07 ^b	34,603 ± 0,365 ^b	17,894 ± 0,092 ^b	66,455 ± 0,433 ^b	4,48 ± 0,80 ^a
	3	2,80 ± 0,05 ^b	34,319 ± 1,337 ^b	17,986 ± 0,461 ^b	66,248 ± 0,801 ^b	4,68 ± 2,72 ^a
	4	2,82 ± 0,10 ^b	34,511 ± 1,473 ^b	17,934 ± 0,475 ^b	66,398 ± 1,006 ^b	4,06 ± 0,21 ^a
	5	2,81 ± 0,05 ^b	33,216 ± 0,306 ^b	18,461 ± 0,018 ^b	65,991 ± 0,607 ^b	4,79 ± 1,64 ^a
	6	2,79 ± 0,08 ^b	33,192 ± 1,159 ^b	18,426 ± 0,420 ^b	65,797 ± 0,620 ^b	4,10 ± 0,80 ^a
	7	2,84 ± 0,02 ^b	33,360 ± 1,623 ^b	18,409 ± 0,571 ^b	66,058 ± 0,901 ^b	5,26 ± 1,02 ^a
	8	2,76 ± 0,03 ^b	33,206 ± 1,681 ^b	18,446 ± 0,557 ^b	65,908 ± 1,063 ^b	4,45 ± 0,30 ^a
	9	2,83 ± 0,07 ^b	33,311 ± 1,823 ^b	18,429 ± 0,711 ^b	66,032 ± 0,768 ^b	4,14 ± 2,18 ^a
	10	2,81 ± 0,02 ^b	32,395 ± 1,549 ^b	18,779 ± 0,508 ^b	65,625 ± 1,015 ^b	4,55 ± 1,50 ^a
Controle	1,65 ± 0,04 ^c	32,637 ± 0,658 ^b	18,754 ± 0,314 ^b	65,957 ± 0,044 ^b	86,00 ± 9,40 ^b	
Cru	0,00 ± 0,00 ^d	16,340 ± 1,111 ^c	25,560 ± 0,391 ^c	58,130 ± 0,300 ^c	100,00 ± 0,00 ^c	

Cru refere-se ao algodão cru (malha bruta) e no controle, nenhuma pectinase foi aplicada. Os valores são a média de três repetições ± desvio padrão. Letras iguais nas colunas de mesma propriedade não são estatisticamente diferentes ao nível de 5 %.

A limpeza do algodão por enzimas é caracterizada por perda de massa (KALANTZI et al., 2008) e essa afirmação foi confirmada nos resultados da Tabela 5.1, onde todos os banhos provocaram uma perda de massa nas amostras, de 2,81 % em média. Não persistem diferenças nos valores dos banhos ($p > 0,05$ na comparação de médias pelo teste de Tukey) e isso significa que há uma remoção constante de impurezas não celulósicas da cutícula e da parede primária da fibra, mesmo com o reuso do caldo enzimático em dez vezes e a diminuição da atividade enzimática percebida no ensaio preliminar de incubação (ver Figura 5.7). A maior perda de massa ($4,65 \pm 0,09$ %) foi atingida pela tradicional purga alcalina com hidróxido de sódio, o que pode ser um indicativo da retirada de quase, se não todas, as gorduras, ceras, pectinas e proteínas do tecido de algodão (HEBEISH et al., 2009), mas também alguns danos às fibras, como despolimerização da celulose e perda de resistência do tecido, podem ser efeitos colaterais indesejáveis (HARDIN, 2010; MOJSOV, 2012). Devido à natureza não específica dos processos químicos, não são apenas as impurezas que são hidrolisadas, mas a própria celulose que é atacada, causando danos na resistência e/ou em outras propriedades desejáveis do tecido (MOJSOV, 2012). Os baixos valores de perda de massa causados pelas enzimas sinalizaram, a princípio, que os constituintes não celulósicos foram removidos sem danos significativos à celulose (CSISZÁR et al., 2001). Além disso, menos perda de massa é uma vantagem importante para os produtos de malha, cujos preços são determinados levando-se em consideração a massa (NIAZ et al., 2011). A perda de massa segue a seguinte ordem: purga usando NaOH > biopurga usando pectinase (ciclos 1-10) > controle usando tampão.

Em relação ao controle, sem adição de enzima, ocorreu uma degradação do substrato ($1,65 \pm 0,04$ %), que pode estar associada às impurezas extraíveis com água que entram na solução tampão (KALANTZI et al., 2008) e ao uso de surfactante (RAZA et al., 2014). É interessante notar que, a perda de massa nos tecidos tratados com pectinase é cerca de 1,2 % superior quando comparada ao tratamento apenas com água destilada, surfactante e tampão (controle). Curiosamente, 1,2 % é a porcentagem máxima de pectina na fibra de algodão, dependendo do fornecedor de algodão e da maturidade da fibra (CALAFELL; GARRIGA, 2004). Isso é, possivelmente, pelo motivo de que todas as substâncias pécicas foram hidrolisadas pela ação da enzima BioPrep[®] 3000 L, em quaisquer condições estudadas.

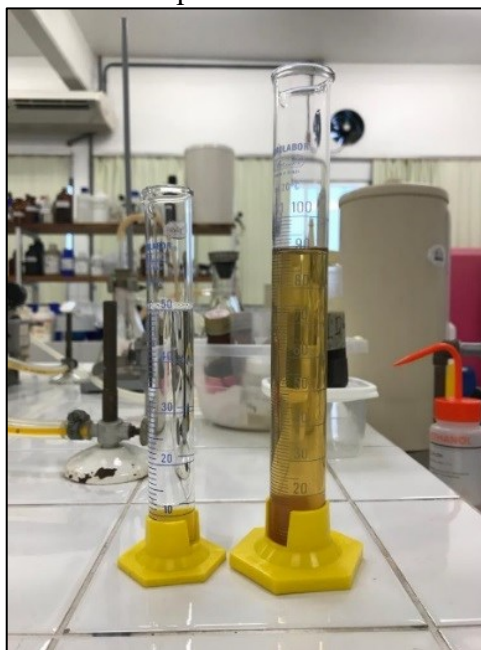
A degradação das pectinas é um passo fundamental no processo de biopurga com enzimas, pois facilita a liberação de substâncias gordurosas e cerosas (JARAMILLO et al., 2016). Na presente pesquisa, após exposição às condições de biopurga, os tecidos foram tingidos com o corante vermelho de rutênio e analisados quanto ao conteúdo remanescente de

pectina. Os resultados da Tabela 5.1 denotam que, a pectinase BioPrep[®] 3000 L foi eficiente para a digestão das impurezas de pectina disponíveis e funcionou de modo hábil e igual no decorrer dos dez ciclos de reutilização. Dentro da faixa estudada, os tecidos apresentaram um residual de pectina insignificante, de $4,39 \pm 0,51$ %, devido à remoção eficaz da pectina pela enzima em todos os tratamentos (estatisticamente iguais). Quantidades substanciais de pectina foram removidas (>95 %) da superfície dos tecidos, da mesma ordem de grandeza que o tratamento convencional com hidróxido de sódio. O controle não tem efeito direto na remoção da pectina e apresentou grandes teores de material péctico, $86,00 \pm 9,40$ %, conforme o esperado. Isso fornece mais evidências de que as substâncias pécticas estão sendo destruídas pela ação precisa da enzima pectinase na fibra de algodão, sem embargo da diminuição da atividade enzimática presenciada nos experimentos de incubação da pectinase (Figura 5.7). A biopurga envolve um substrato sólido, onde a pectina compõe as camadas externas e requer que a enzima adsorva na superfície da fibra, então pode-se inferir que a adsorção da enzima na fibra do algodão pode aumentar a estabilidade da enzima, como um mecanismo de proteção, e ajudar a manter a atividade enzimática (MARTINS; SILVA; CAVACO-PAULO, 2019). Os produtos de degradação ou solubilização durante a biopurga também podem ajudar a manter a enzima estável e ativa. No entanto, mais investigações são necessárias para a elucidação.

A solução de tratamento ficou gradativamente amarelada com o reuso (Figura 5.8), indicando que alguns elementos cromóforos foram liberados. Por conseguinte, a remoção enzimática das impurezas do algodão proporcionou uma melhora na brancura do tecido, em relação à brancura inicial da malha crua ($16,34 \pm 1,11$ graus Berger), com um ganho de 98-120 % no branco de Berger. A Tabela 5.1 mostra que o grau de branco ($33,81 \pm 1,03$ graus Berger), amarelecimento ($18,21 \pm 0,41$) e claridade ($66,15 \pm 0,39$) permaneceram invariáveis nos dez banhos, não havendo diferenças estatísticas consideráveis (pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade) na reutilização do caldo enzimático. Quando comparados os tratamentos com enzima e sem enzima (controle em solução tampão), também foram observadas alterações marginais nestas propriedades, o que significa que a adição da pectato liase não contribuiu para a brancura do tecido e que o branqueamento observado se deve ao efeito de lavagem e à solubilização das impurezas coloridas. Em contraste, a purga convencional alcalina, devido às condições de reação mais severas, alcançou um resultado de clareamento quase quinze unidades melhor ($48,50 \pm 1,64$ graus Berger). O processo com enzimas é adequado, portanto, quando não é necessária uma brancura muito alta (no tingimento de cores de profundidade média e escura, por exemplo) e depende do uso final dos tecidos (SILVA et al., 2017; TZANOV et al.,

2003a). Ademais, a remoção completa dos pigmentos naturais, responsáveis pelo baixo índice de branco do algodão cru, pode ser realizada depois durante a etapa de branqueamento têxtil e as diferenças de brancura devem desaparecer (MOJSOV, 2019).

Figura 5.8 – Pigmentação da solução de biopurga nos banhos 1 (inicial) e 10 (final), respectivamente.



Como reportado anteriormente, durante o tempo habitual de tratamento de 30 minutos, cerca de 95 % da pectina foi digerida. Essa porcentagem é mais que suficiente para desestabilizar a estrutura do algodão, liberar os produtos não celulósicos para remoção subsequente por emulsificação (NIAZ et al., 2011) e aumentar a molhabilidade dos tecidos (SILVA et al., 2017). Logo, todos os tratamentos enzimáticos levaram a uma melhoria intensa na absorção de água das amostras (Tabela 5.2), em comparação com a amostra de malha crua sem nenhum tratamento, que não absorvia gotículas de água em sua superfície. Uma excelente absorção de água, medida em termos de hidrofiliidade, capilaridade e ângulo de contato, foi exibida pelas amostras dos banhos 1 e 2, a um nível igual (sem diferenças estatísticas) ao medido no tecido tratado com álcalis ($4,07 \pm 0,64$ s de hidrofiliidade e $132,00 \pm 1,73$ mm de capilaridade). Isso reflete a efetividade do biotratamento na remoção de sujidades hidrofóbicas, sobretudo pectina e materiais cerosos, mesmo com o reaproveitamento do banho e a reutilização das enzimas.

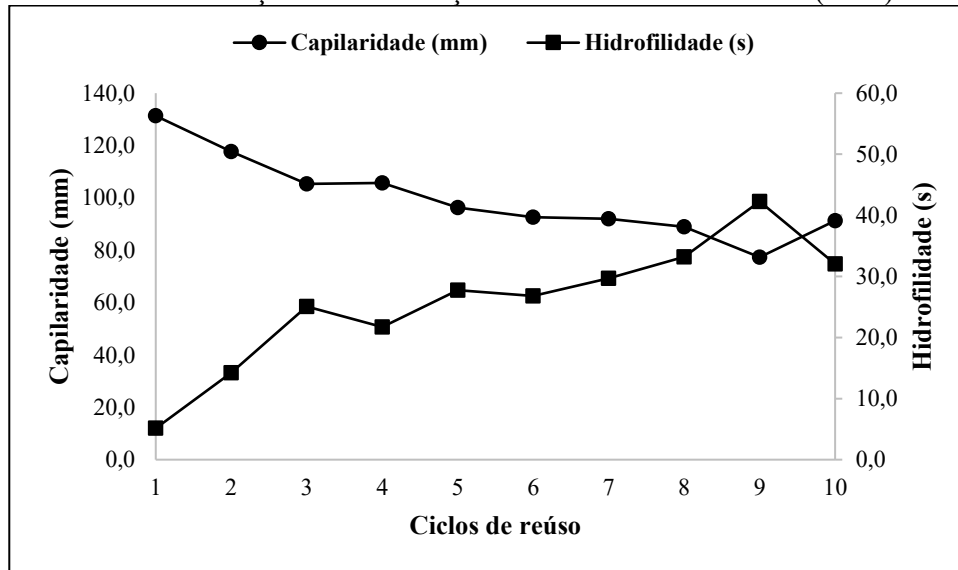
Tabela 5.2 – Comparação dos valores de absorção de água dos tecidos de algodão tratados por enzimas com reutilização do banho (1-10) e convencionalmente (alcalino), mediante o tempo de hidrofiliidade, capilaridade e ângulo de contato.

Tratamento	Hidrofiliidade (s)	Capilaridade (mm)	Ângulo de Contato
Alcalino	4,07 ± 0,64	132,00 ± 1,73	0,00 ± 0,00
Ciclos de reúso	1	5,13 ± 1,47 *	131,33 ± 4,73 *
	2	14,20 ± 7,66 *	117,67 ± 8,74 *
	3	25,07 ± 7,51	105,33 ± 11,93
	4	21,73 ± 8,37 *	105,67 ± 8,02
	5	27,73 ± 9,26	96,33 ± 5,77
	6	26,80 ± 9,20	92,67 ± 7,57
	7	29,67 ± 2,14	92,00 ± 5,57
	8	33,20 ± 10,45	89,00 ± 9,54
	9	42,27 ± 5,98	77,33 ± 11,68
	10	32,07 ± 7,25	91,33 ± 4,93
Controle	44,87 ± 7,55	91,67 ± 3,51	125,43 ± 4,10
Cru	Hidrofóbico	0,00 ± 0,00	134,24 ± 6,16

Cru refere-se ao algodão cru (malha bruta) e no controle, nenhuma pectinase foi aplicada. Os valores são a média de três repetições ± desvio padrão. * Indica significativamente igual do alcalino ao nível de 5 %.

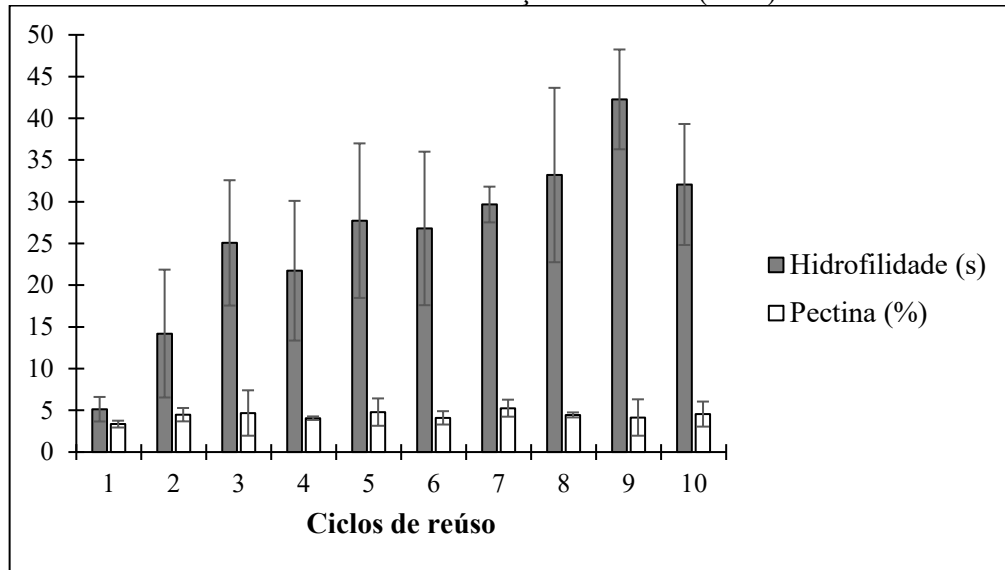
Quando os banhos do tratamento enzimático foram comparados entre si (Figura 5.9), observou-se que o tempo de hidrofiliidade dos tecidos subiu linearmente até o terceiro banho de reúso, e depois sutilmente até o décimo banho, alcançando $32,07 \pm 7,25$ s. A capilaridade teve um comportamento análogo (em proporção inversa), iniciando-se em 131 mm e diminuindo para 96 mm até o 5º ciclo de biopurga, permanecendo depois na faixa de 92 a 77 mm. O ângulo de contato suporta esses resultados e só pôde ser medido após o terceiro banho, quando a penetração de uma gota de água já não era mais quase que instantânea. Para os tecidos dos ciclos de biopurga 4 ao 10, o ângulo oscilou entre $120,67 \pm 0,96$ e $113,89 \pm 7,79$. Todavia, apesar da diminuição na absorção de água após 2-3 reutilizações do banho, demonstrou-se ser possível fazer uma biopurga com dez repetições consecutivas dos caldos enzimáticos e, ao mesmo tempo, encontrar uma hidrofiliidade muito boa em todos os substratos (exceto banho 9). Hidrofiliidade esta que se encontra na faixa aceita para processamentos industriais de tingimento, estamparia e acabamento (< 30 s), segundo Abdulrachman et al. (2017) e Kalantzi et al. (2010).

Figura 5.9 – Hidrofilidade e capilaridade dos tecidos de algodão tratados com BioPrep® 3000 L em função da reutilização dos banhos enzimáticos (1-10).



Ao correlacionar a remoção de pectina com a absorção de água, percebe-se que a pectina não é o único fator que influencia no umedecimento do tecido, já que os tecidos de malha tratados têm o mesmo grau de remoção de pectina e têm diferentes características de molhabilidade (Figura 5.10). Os declínios na absorção de água parecem ser atribuíveis aos produtos cuticulares solúveis que vão se acumulando no meio aquoso e que podem estar sendo redistribuídos (redepositados) sobre a superfície das fibras e impedindo a solubilização/remoção de mais impurezas. Para Buschle-Diller et al. (1999), um problema encontrado com a reutilização dos banhos de tratamento é o aumento e o acúmulo de contaminantes com o uso contínuo, e a reposição destes no material de algodão. Como a concentração de surfactante foi mantida constante no decurso dos dez ciclos de reuso, isso deve ter reduzido o efeito de aprisionamento das partículas de óleo pela ação do surfactante, à medida que as ceras e gorduras foram se amontoando em excesso no banho, reduzindo a hidrofilidade dos tecidos. Apesar de que a concentração de contaminantes, de acordo com as respostas à remoção de pectina, não inibiu a reação enzimática da enzima pectinase comercial BioPrep® 3000 L.

Figura 5.10 – Hidrofilidade e conteúdo de pectina residual dos tecidos de algodão tratados por enzimas com reutilização do banho (1-10).



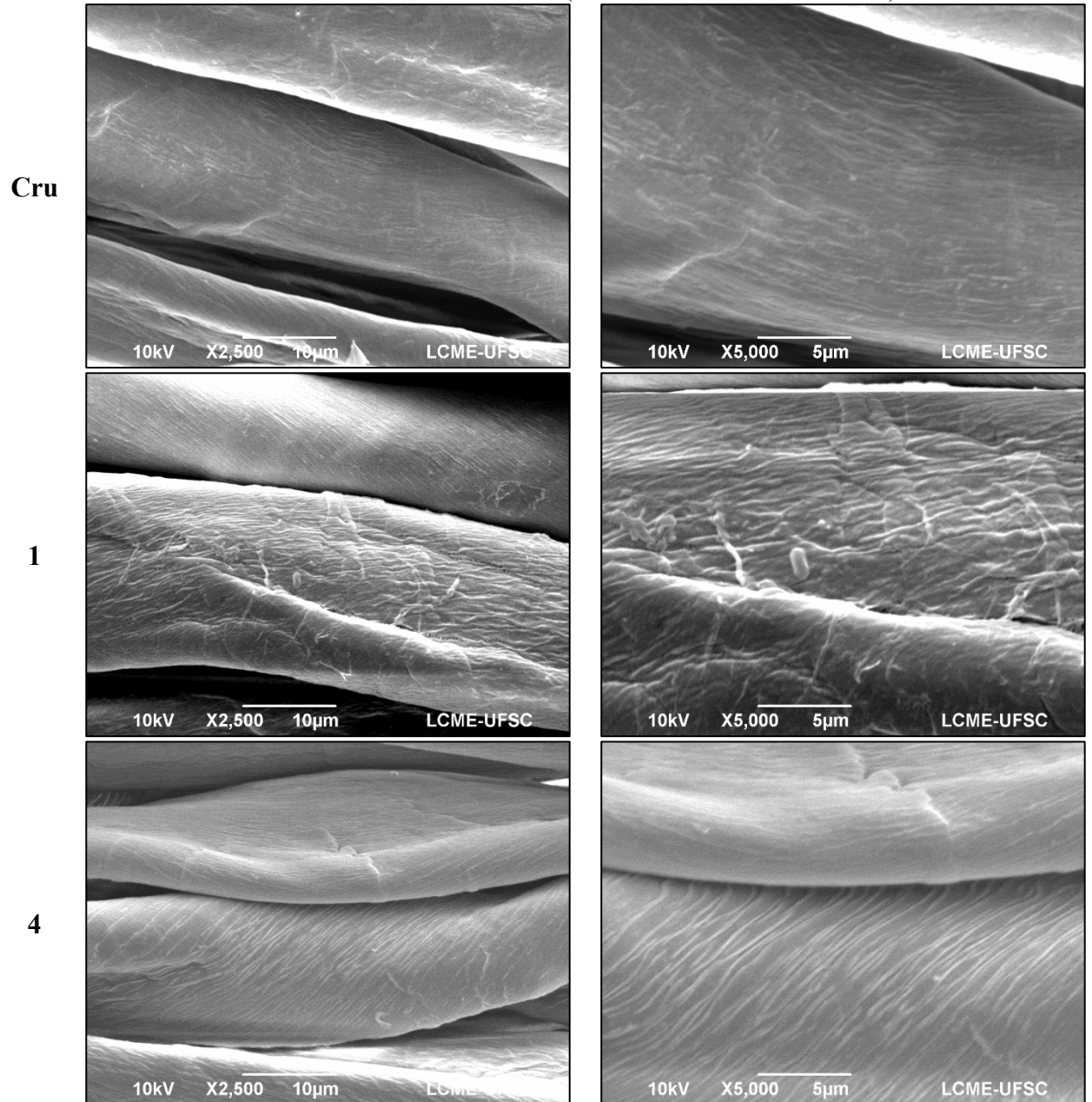
5.3.3. Caracterização das fibras

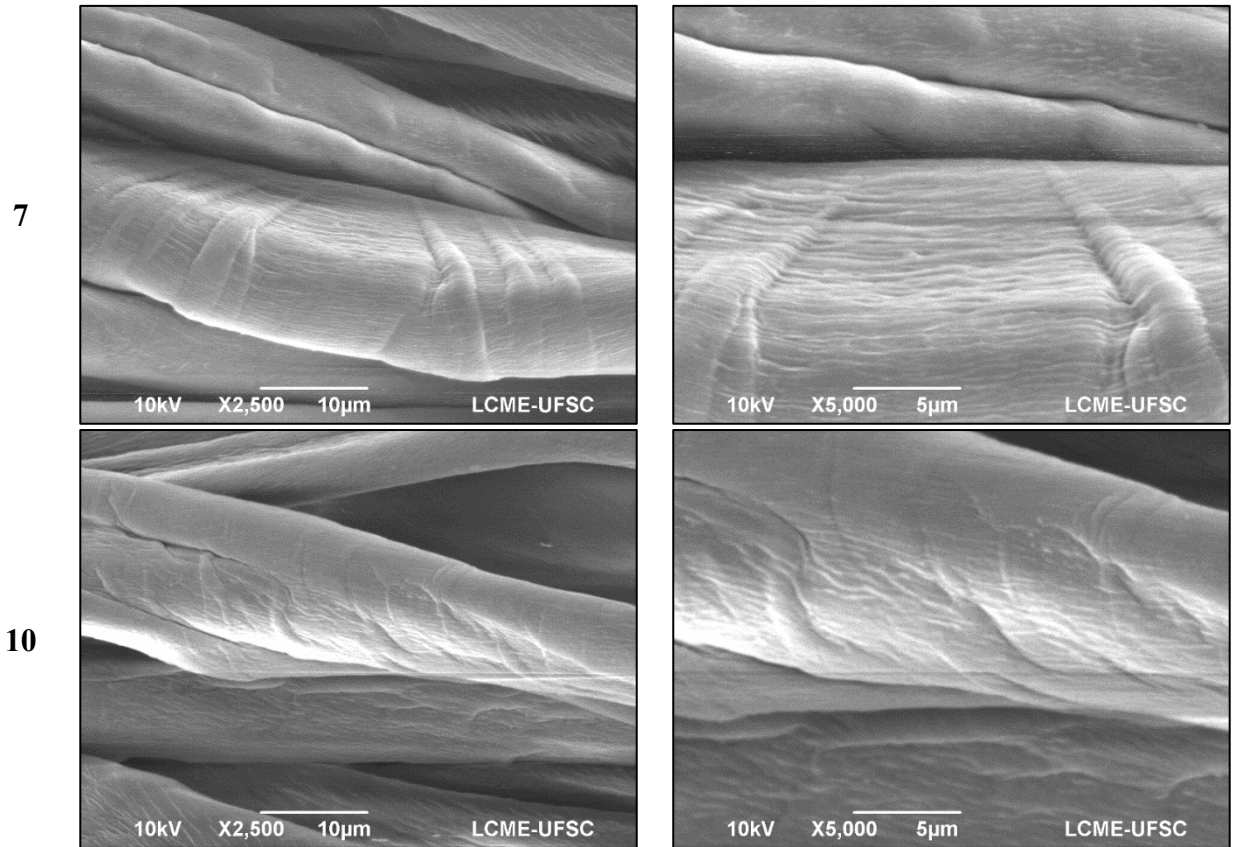
A Figura 5.11 mostra a morfologia superficial do algodão por imagens MEV, sem tratamento (cru) e sob as condições de banho 1, 4, 7 e 10. Pode ser visto que a parede secundária da fibra de algodão ficou exposta pela biopurga, na qual a celulose cristalina é visível na forma de microfibrilas paralelas e ordenadas. Li e Hardin (1997) descreveram que as pectinases penetram na cutícula através de rachaduras ou microporos, fazem contato com as substâncias pecticas no substrato e as hidrolisam, resultando na remoção da cutícula. Devido à ação específica e seletiva da enzima, a pectinase remove efetivamente as pectinas nas áreas disponíveis, e ajuda na eliminação de ceras, cinzas e demais impurezas que estão entrelaçadas e aderidas umas às outras (XIAOKANG; HAITAO; JIANYONG, 2019), revelando o corpo principal do algodão.

No banho 1, parece haver um efeito de descascamento das enzimas na parede primária, onde surgiram algumas áreas irregulares, ásperas e com ranhuras na estrutura. Segundo Ramadan (2008), justamente, as enzimas descascam a fibra e ocasionam a formação de algumas fibrilas salientes e outras faces mais polidas. Ao observar as alterações físicas nas amostras com o decorrer da reutilização dos caldos enzimáticos, nota-se que a superfície das fibras vai ficando diferente, mais lisa e com algumas cavidades suaves na sua arquitetura. Isso pode ser consequência dos produtos de decomposição da pectina e cerosos, que vão se concentrando na solução aquosa e que podem estar formando, pouco a pouco, uma película fina sobre a camada mais externa das fibras (apoia os testes de absorção de água). Achados semelhantes, de que a

BioPrep[®] causou destruição leve ou nenhuma das fibras, foram encontrados por Foulk, Akin e Dodd (2008).

Figura 5.11 – Imagens MEV da superfície dos tecidos de algodão cru e tratados por enzimas nos banhos 1, 4, 7 e 10, nessa ordem. (Aumento de 2.500 e 5.000 x).

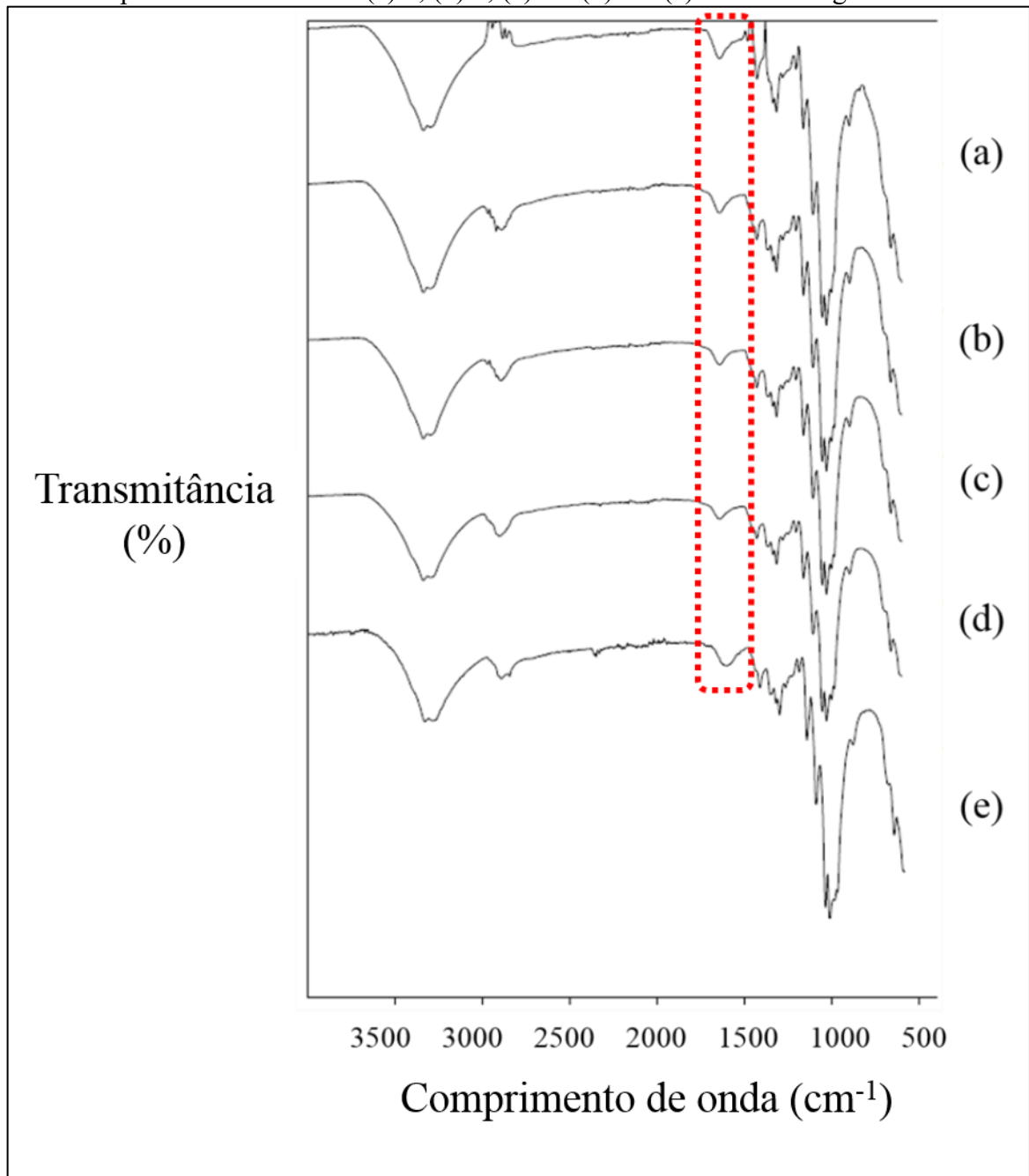




A química da superfície do algodão foi analisada com espectros FTIR dos tecidos biopurgados (banhos 1, 4, 7 e 10) e do tecido cru, destacando as alterações nas principais impurezas não celulósicas (Figura 5.12). Foi relatado por Nerurkar, Joshi e Adivarekar (2015) que os picos agudos e médios observados entre $3400-3200\text{ cm}^{-1}$ indicam a presença das ligações O-H da celulose, e a partir da referência de Chung, Lee e Choe (2004), a Figura 5.12 também exhibe outros picos característicos da celulose, com estiramento C-H aparecendo na região de frequência $3000-2800\text{ cm}^{-1}$. Os espectros parecem iguais e é muito difícil perceber diferenças entre estes, porque as composições em massa dos tecidos são semelhantes e a queda na concentração de impurezas (de 2,81 % em média, a partir da perda de massa) é pouca para modificar drasticamente o FTIR. Os FTIR são parecidos e sinalizam que não houve alteração na celulose, a superfície base do algodão continua igual e o substrato (celulose) domina sobre as modificações. Porém, na Figura 5.12 (e) do algodão bruto, a presença de ceras e pectinas pode ser vista com o aparecimento de um pico largo em torno de $1750-1730\text{ cm}^{-1}$. Este pico é causado, principalmente, pela existência de pectina na forma de COO^- e pelo grupo éster carboxílico da cera nas fibras de algodão (XIAOKANG; HAITAO; JIANYONG, 2019). Os tecidos dos banhos 10 ao 1, na respectiva Figura 5.12 (d) até (a), mostram um estreitamento gradual deste pico, que pode estar relacionado à remoção das ceras e pectinas pela lavagem e à

eficácia desses bioprocessos. A partir daí, pode-se provar que: (1) no primeiro banho, as enzimas haviam removido com sucesso todas as impurezas de pectina e ceras do algodão, aumentando a hidrofiliabilidade do substrato têxtil; (2) mas com a reutilização do caldo enzimático, ainda há vestígios progressivos de impurezas na superfície da fibra e a eficiência da biopurga diminuiu; e (3) esses resultados são consistentes com os apresentados na micrografia eletrônica de varredura e nos experimentos de absorção de água.

Figura 5.12 – Medições espectrais FTIR das amostras. Fibras de algodão tratadas com reuso de pectinase nos banhos (a) 1; (b) 4; (c) 7 e (d) 10. (e) Fibras de algodão cru.



5.3.4. Avaliação do processo de coloração

A capacidade de tingir dos tecidos de algodão depende das propriedades estruturais e da superfície da fibra, que são bastante afetadas pelos processos que precedem o tingimento têxtil (KALANTZI; KEKOS; MAMMA, 2019). Uma preparação insuficiente pode causar tingimentos irregulares e sérios problemas que só se tornam aparentes após a coloração (COLOMBI et al., 2021b). Por esse motivo, um pré-tratamento cuidadoso, que garanta que os substratos tenham uma absorção de corantes alta e uniforme, é muito importante (LOSONCZI; CSISZÁR; SZAKÁCS, 2004). A Tabela 5.3 mostra o comportamento tintorial (coordenadas das cores e intensidade das cores) dos tecidos tratados com reuso de pectinase (banhos 1, 4, 7 e 10) e dos tecidos de referência tratados com álcalis.

Tabela 5.3 – Medições de cores dos tecidos tingidos.

Tratamento	K/S (640 nm)	L*	a* (-)	b* (-)	C*	h*	ΔE	
Alcalino	4,91 \pm 0,45 ^a	46,74 \pm 0,90	4,97 \pm 0,48	25,02 \pm 1,12	25,51 \pm 1,01	258,67 \pm 1,51	---	
Ciclos de reuso	1	5,32 \pm 0,08 ^{ab}	45,81 \pm 0,21	4,96 \pm 0,32	25,55 \pm 0,60	26,03 \pm 0,53	258,97 \pm 0,93	0,75 \pm 0,30
	4	5,25 \pm 0,15 ^{ab}	45,95 \pm 0,41	5,02 \pm 0,39	25,45 \pm 0,83	25,94 \pm 0,74	258,80 \pm 1,18	0,72 \pm 0,30
	7	5,56 \pm 0,14 ^b	45,26 \pm 0,28	4,89 \pm 0,33	25,77 \pm 0,66	26,23 \pm 0,59	259,22 \pm 0,96	0,90 \pm 0,54
	10	5,71 \pm 0,06 ^b	45,01 \pm 0,01	4,77 \pm 0,29	26,15 \pm 0,73	26,59 \pm 0,67	259,61 \pm 0,91	1,11 \pm 0,73

Os valores são a média de três repetições \pm desvio padrão. Letras iguais não são estatisticamente diferentes ao nível de 5 %.

Os valores medidos de intensidade colorística são semelhantes, para as amostras tratadas quimicamente e biologicamente são quase os mesmos K/S, indicando que cada um dos banhos enzimáticos poderia substituir a purga alcalina nas operações posteriores de tingimento, estamparia e acabamento. Os valores de croma obtidos têm uma pequena variação e a maioria dos desvios ΔE são menores do que 1. O critério de aprovação de ΔE é determinado pela indústria conforme sua necessidade, mas usualmente, o modelo adotado no segmento do vestuário é ΔE menor ou igual a 1 (PICCOLI, 2014). Portanto, as diferenças são aceitáveis, não há divergências de cores consideráveis e as amostras de tecido pré-tratadas com enzimas correspondem à alcalina. A aparência visual (Figura 5.13) está de acordo com estes resultados: todas as amostras parecem uniformemente tingidas, homogêneas em cores e isentas de defeitos vinculados à etapa de tingimento. O bom nível de tingimento após a lavagem enzimática deve ser resultante do alto grau de solubilização (>95 %) da pectina, pois a característica hidrofóbica

das substâncias pécticas impede a absorção adequada de corante e provoca manchas (KARAPINAR; SARIISIK, 2004).

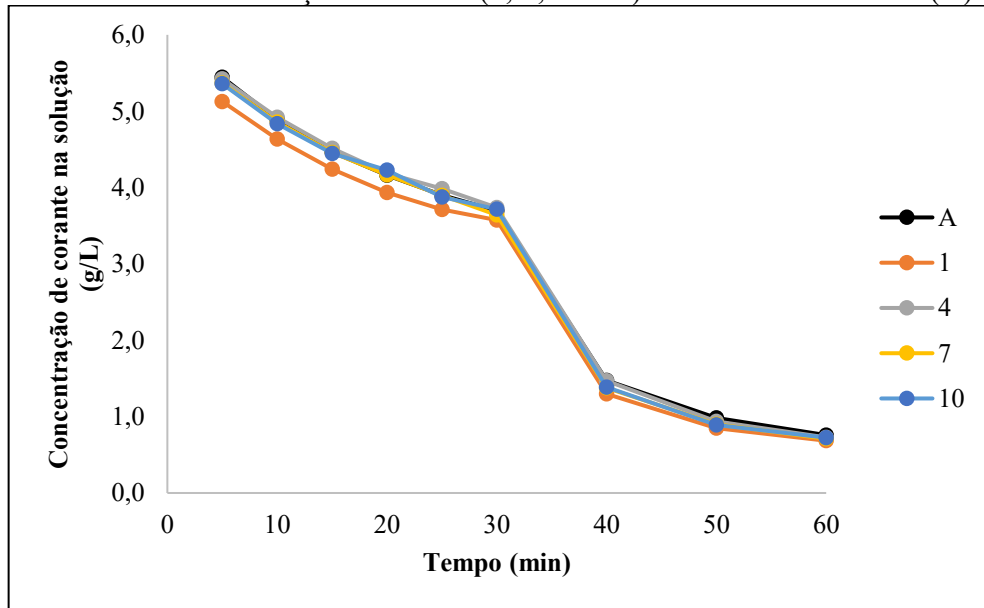
Figura 5.13 – Aparência visual dos tecidos tingidos com 1,7 % (s.p.m.) de corante reativo azul C.I. 222.



Os tecidos biopurgados mostraram coloração aceitável, com uma pequena diminuição da luminosidade L^* e um ligeiro aumento na intensidade da cor (K/S), em comparação ao tecido alcalino convencional. Nerurkar, Joshi e Adivarekar (2015) também demonstraram que os corantes reativos exibem melhor rendimento de cores quando o tecido é tratado enzimaticamente em condições otimizadas. Uma cor mais profunda no tecido biopurgado pode resultar da cor mais amarela do tecido biopurgado (ver grau de branco na Tabela 5.1) ou, outra razão possível, é que algum resíduo alcalino restante nos tecidos purgados alcalinos possa estar causando hidrólise dos corantes reativos e ocasionando uma cor levemente menos profunda no tecido padrão (CHOE et al., 2004).

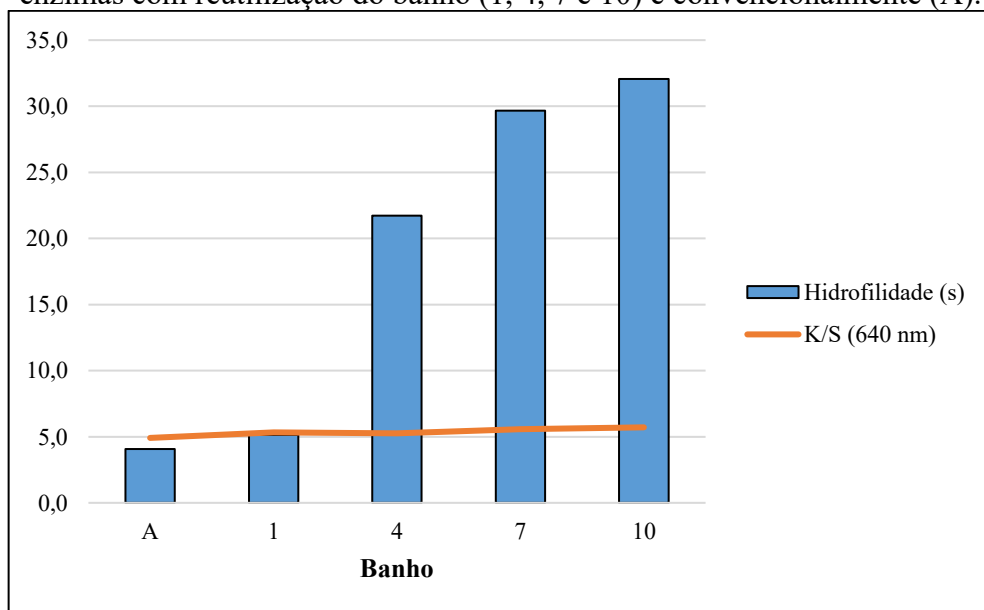
Os tratamentos exibiram exaustão similar na solução de tingimento (Figura 5.14), com um decaimento característico da concentração de corante reativo em função do tempo para tingimentos com reação química (VIDART, 2013). É possível distinguir, com clareza, os dois fenômenos físico-químicos fundamentais no tingimento com corantes reativos: (1) substantividade (até 30 minutos), onde o corante monta na fibra por adsorção, difusão e migração; e (2) fixação (depois de 30 minutos), onde ocorre a reação química com a fibra através da adição de álcali (SALEM, 1989). O tingimento foi iniciado com corante e sal e após 30 minutos adicionou-se o álcali, que foi responsável pelo mecanismo de esgotamento do corante na fibra. As curvas de transferência/migração de corante do banho para a fibra têxtil mostraram-se análogas (Figura 5.14), o que já era esperado, tendo em vista a similaridade das propriedades tintoriais (Tabela 5.3), à hidrofiliidade bastante semelhante (Tabela 5.2) e à remoção eficiente de pectina (Tabela 5.1) dos tecidos.

Figura 5.14 – Comparação das curvas de tingimento dos tecidos de algodão tratados por enzimas com reutilização do banho (1, 4, 7 e 10) e convencionalmente (A).



Em resumo, a comparação da absorção de água (ver Tabela 5.2) e de corante (ver Tabela 5.3) nas amostras tratadas com pectinase contra amostras alcalinas convencionais indica que, há uma absorção de água ligeiramente mais alta pela segunda (menor tempo de hidrofiliabilidade), mas não há diferenças apreciáveis nos valores de K/S (Figura 5.15) e nem na velocidade de tingimento (Figura 5.14).

Figura 5.15 – Hidrofiliabilidade e intensidade colorística K/S dos tecidos de algodão tratados por enzimas com reutilização do banho (1, 4, 7 e 10) e convencionalmente (A).



5.4. CONCLUSÃO

Operando sob condições controladas, o banho bruto de pectinase pôde ser aplicado efetivamente em dez ciclos consecutivos de biopurga, onde os produtos finais eram de alta qualidade e apresentavam boas propriedades físico-químicas. O tecido de algodão tratado com enzimas, independente do banho, reteve mais massa do que o tecido correspondente submetido à lavagem alcalina tradicional. Todos os tecidos ofereceram características de absorção de água aceitáveis, promovendo comportamentos tintoriais e rendimentos de cores satisfatórios. Sabe-se que as substâncias pécticas inibem a absorção de corantes e são um dos fatores de tingimentos irregulares, mas pouca pectina detectável foi encontrada ($\approx 5\%$) no teste com vermelho de rutênio. O grau de branco, entretanto, foi insatisfatório. Porém, embora o índice de brancura dos substratos tratados quimicamente fosse maior do que os tratados enzimaticamente, a força da cor (K/S) era semelhante após o tingimento. O incremento e a redeposição de sujeiras cuticulares solúveis no material de algodão, com a reutilização dos banhos que contêm enzimas, não prejudicou (inibiu) o desempenho enzimático e não foi um problema para o processo e o produto final.

Dez ciclos de biopurga puderam ser realizados com um banho de biopurga inicial complementado com apenas 10 % de solução enzimática fresca em cada ciclo, permitindo uma economia considerável de enzimas, surfactante e água, e isso significa menos custos de produção e menos efluentes para o meio ambiente. A abordagem analisada resultou em uma redução substancial no consumo de material (enzimas e surfactante) e de água, capaz de promover melhorias econômicas e ambientais simultaneamente, o que está em linha com a necessidade de tecnologias que permitam o reúso da água de processo na indústria têxtil. Os dez ciclos de biopurga são, deste modo, uma solução simples, econômica e abrangente, que podem tornar a reutilização de águas residuais uma realidade em escala industrial.

6. BRANQUEAMENTO ENZIMÁTICO DE TECIDOS DE ALGODÃO COM LACASE

RESUMO: O objetivo do branqueamento é descolorir os pigmentos naturais (flavonoides) indesejados, responsáveis pela aparência amarelada suja de fios ou tecidos, e conferir uma aparência branca pura ao algodão. Na prática da indústria, o branqueamento é conseguido em condições reacionais intensas (90-100 °C, pH 10-12 e em altas concentrações de H₂O₂ e NaOH) e isso pode causar danos inaceitáveis às fibras. Neste trabalho, as enzimas lacases foram testadas em alternativa aos oxidantes químicos, com a hipótese de que podem atacar os grupos fenólicos e eliminar as substâncias coloridas do algodão cru. Diferentes concentrações enzimáticas foram empregadas por 30 minutos, a 55 °C e no pH 5,0 ótimo de ação, sendo as amostras tratadas caracterizadas quanto ao índice de branco, amarelecimento e claridade. Os experimentos, em síntese, demonstraram que há um semibranqueamento com lacase, mas para alcançar resultados mais satisfatórios, certamente, essa enzima deverá trabalhar em sinergia com o método padrão baseado em H₂O₂/NaOH.

Palavras-chave: Algodão. Biobranqueamento. Enzima. Lacase. Grau de branco.

6.1. INTRODUÇÃO

As lacases são enzimas polifenol oxidases capazes de degradar uma ampla variedade de substratos fenólicos e aromáticos, à medida que reduzem oxigênio molecular à água (MARTÍNKOVÁ et al., 2016). Essas enzimas são muito utilizadas para fins biotecnológicos e ambientais, devido às suas altas habilidades oxidativas, e podem ser usadas para oxidar e polimerizar os compostos fenólicos presentes na superfície do algodão, melhorando a brancura dos tecidos (GONÇALVES et al., 2014; SPINA et al., 2016). A natureza da matéria corante do algodão não é inteiramente caracterizada, mas acredita-se que seja devido à presença de pigmentos flavonoides sem nitrogênio que contêm uma estrutura molecular de três anéis (dois anéis aromáticos conectados por um anel central heterocíclico) (TZANOV et al., 2003a).

As metodologias tradicionais de branqueamento do algodão são baseadas em H₂O₂, NaOH e estabilizadores, em pH alcalino e alta temperatura, o que pode danificar as fibras. Altos volumes de água são consumidos durante várias etapas de lavagem, além de grandes quantidades de produtos químicos e energia, afetando a sustentabilidade econômica, técnica e ambiental do processo. (SPINA et al., 2016).

Ainda não há nenhum método completamente eficaz de biobranqueamento para implementação industrial (ANDREAUS et al., 2019) e o mecanismo de ação da enzima lacase não é totalmente compreendido e descrito na literatura (GONÇALVES et al., 2014). Nesse contexto, o estudo teve como objetivo testar a capacidade de biobranqueamento da lacase em

um processo realizado na temperatura e no pH ótimos (ver Apêndice E) da catálise enzimática.

6.2. MATERIAL E MÉTODOS

Foi estudada a lacase comercial Novozym[®] 51003, gentilmente fornecida pela empresa Novozymes[®]. A atividade da lacase foi medida em espectrofotômetro Shimadzu UV-1601 (ver Apêndice E), a 420 nm na temperatura ambiente (≈ 25 °C), usando ABTS (1 mM) como substrato. A mistura reacional (1 mL) era composta por: 0,25 mL de enzima convenientemente diluída em água destilada (8.000 vezes), 0,65 mL de tampão acetato (0,05 M, pH 5) e 0,1 mL de ABTS. A atividade foi calculada com um coeficiente de extinção molar de $36.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (ENGELMANN; KRAGL, 2018) e expressa em U/mL ou $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$.

Tecidos de malha crua 100 % algodão foram usados como substrato têxtil. Os tecidos de algodão cru (5,0 g) foram tratados com diferentes concentrações enzimáticas (1,0; 5,0 e 10,0 g/L), numa relação de banho de 1:20 (g:mL) e na presença de 1,0 g/L de surfactante não iônico (Berol[®] 175). Os tratamentos foram realizados em pH 5,0 (tampão acetato-ácido acético 0,05 M), na temperatura de 55 °C e durante 30 minutos. Depois as enzimas foram desnaturadas por fervura durante 10 minutos e os tecidos de algodão foram lavados com água destilada (55 °C por 10 minutos), extensivamente enxaguados com água em temperatura ambiente e secos ao ar. O controle foi feito com tampão (sem enzimas) e nas mesmas condições de reação. Posteriormente, os tratamentos foram repetidos em tecidos de algodão já biopurgados com pectinase (1 g/L de BioPrep[®] 3000 L), em condições de biopurga normalmente encontradas na literatura especializada (COLOMBI et al., 2021b).

Grau de branco (grau Berger), amarelecimento (na escala ASTM-D-1925) e claridade (na escala ISO 2470) foram mensurados em um espectrofotômetro de bancada (modelo CM-3610D, marca Konica Minolta), usando cerâmica branca como padrão de calibração.

Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey com um nível de significância de 5 %, utilizando-se o software Statistica[®] 12.

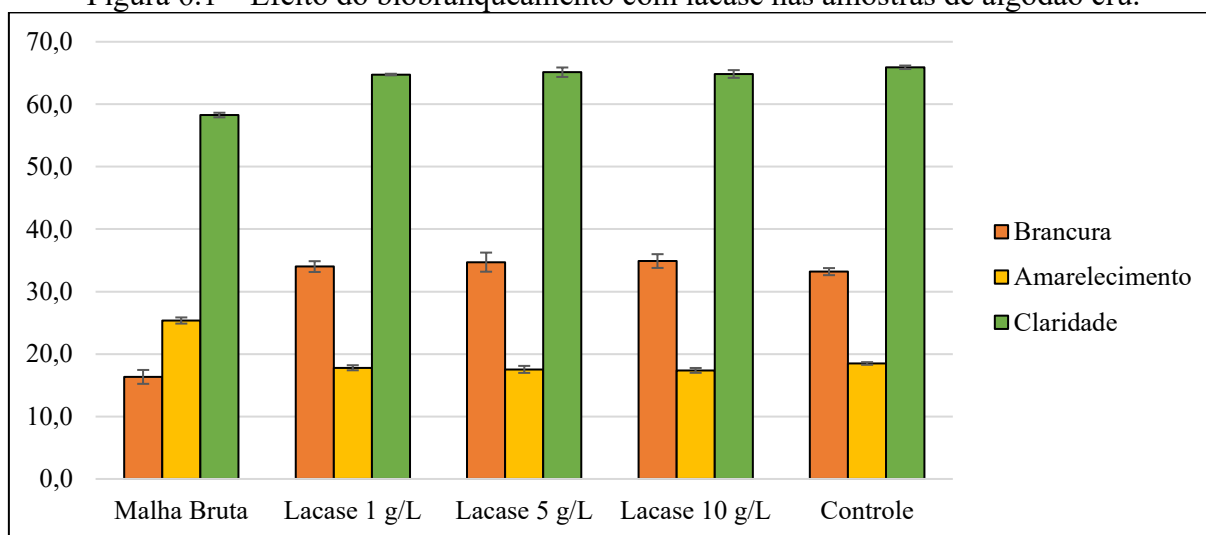
6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente, foi estudada a utilização de uma enzima lacase comercialmente disponível, com atividade de $947,50 \pm 11,31 \text{ U/mL}$ (1000 U/mL em relação à conversão de

siringaldazina (ENGELMANN; KRAGL, 2018)), para o branqueamento enzimático de tecidos de algodão cru. Foram testadas três concentrações enzimáticas (1,0; 5,0 e 10,0 g/L) e, como resultado, não houve diferenças estatísticas consideráveis no grau de branco (pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade), que ficou entre 34,00 e 34,89 graus Berger (Figura 6.1). Também não foram observadas alterações significativas no índice de branco dos tratamentos sem enzima ($33,19 \pm 0,57$ graus Berger) e com enzima. Para Tzanov et al. (2003a), de modo igual, a lacase não melhorou a brancura dos tecidos em comparação com o controle, já que estas podem produzir substâncias coloridas quando houver substrato adequado.

A brancura foi melhorada em relação à malha bruta ($16,34 \pm 1,11$ graus Berger), com aumento da claridade e diminuição nos valores de amarelecimento. Mas comparando com a referência industrial de 47,5 graus Berger (GONÇALVES et al., 2014), a lacase não foi autossuficiente para atingir os níveis pretendidos de clareamento. O desempenho na parede celular do algodão não foi muito ativo, provavelmente porque, nas condições estudadas a enzima não teve acesso direto as substâncias coloridas que devem ser degradadas e que estão em regiões mais profundas da fibra, e/ou pela falta de mediadores. As enzimas lacases são notavelmente inespecíficas em relação ao seu substrato e a gama de substratos com os quais a lacase pode reagir pode ser ampliada através da utilização de mediadores como ABTS e HBT (PEREIRA et al., 2005).

Figura 6.1 – Efeito do biobranqueamento com lacase nas amostras de algodão cru.

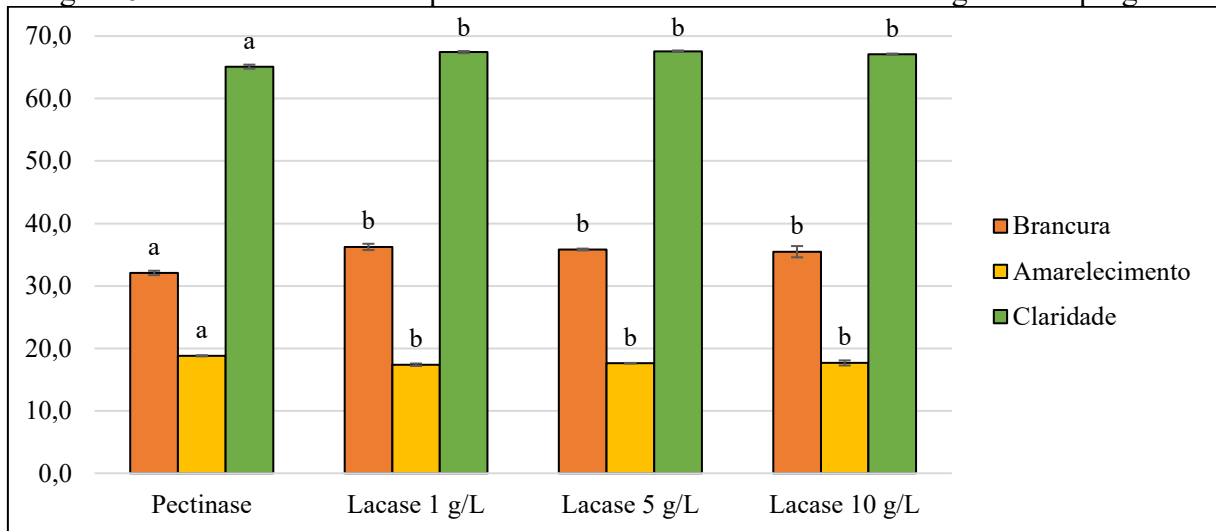


A malha bruta refere-se ao algodão cru e no controle, nenhuma lacase foi aplicada. As barras de erro representam \pm desvio padrão.

À vista disso, a segunda etapa do experimento envolveu o tratamento preliminar dos tecidos de algodão com pectinase, para limpeza e retirada de impurezas superficiais não

celulósicas, e depois disso, todas as amostras foram tratadas com lacase. Nesse procedimento combinado, explorou-se a possibilidade de otimização do branqueamento e os resultados colorimétricos são mostrados na Figura 6.2. Pode-se observar que, existiu um aumento suave de 12 % no grau de branco quando a enzima lacase foi aplicada, perpassando de 32,08 (biopurga com pectinase) para 35,85 graus Berger, em média. No entanto, a lacase não foi, por si só, suficiente para obter fibras de algodão com boa aparência de alvura. Isso está de acordo com investigações anteriores, nas quais foi demonstrado que o tratamento com lacase tem um efeito limitado na melhoria da brancura de amostras de algodão (TIAN et al., 2012; TZANOV et al., 2003a). Vários autores assumiram que as enzimas lacases transformam a matéria corante do algodão em outras substâncias coloridas (intermediárias) que precisam ser removidas por um alvejamento subsequente com peróxido, em condições bem mais amenas, daí diminuindo os danos às fibras e o consumo de energia, tempo e produtos químicos (BETCHEVA et al., 2007; SPINA et al., 2016; TZANOV et al., 2003a).

Figura 6.2 – Efeito do biobranqueamento com lacase nas amostras de algodão biopurgado.



Pectinase refere-se à biopurga. As barras de erro representam \pm desvio padrão. Letras iguais nas colunas de mesma cor não são estatisticamente diferentes ao nível de 5 %.

É importante destacar que, o branqueamento está diretamente relacionado ao sucesso das operações consecutivas de tingimento, estamparia e acabamento. A busca por um alto grau de alvura é mais recomendada para o tingimento de cores claras e depende do uso final dos tecidos (TZANOV et al., 2003a), pois no tingimento de cores escuras, a própria concentração de corantes minimiza ou exclui os efeitos de brancura do substrato têxtil.

6.4. CONCLUSÃO

A enzima lacase, mesmo catalisando a oxidação de uma série de substâncias orgânicas e inorgânicas, e podendo atuar em compostos cromóforos, não se destacou. As condições estudadas permitiram melhorar o grau de branco dos tecidos de algodão, no entanto, devido às necessidades industriais e de mercado, o objetivo era alcançar níveis de brancura mais altos. Os esforços de pesquisa futuros devem ser direcionados para aperfeiçoar a eficiência do processo e a minimização de custos. Espera-se que, um semibranqueamento com lacase acoplado à tratamentos químicos, possa diminuir drasticamente o consumo necessário de H_2O_2 e proporcionar benefícios econômicos e ambientais.

7. CONCLUSÕES GERAIS

Uma das indústrias que detém maior participação na poluição global é a indústria têxtil, mas a poluição ambiental não é mais aceita como “inevitável” na sociedade contemporânea. Durante o século passado, houve um grande aumento na conscientização sobre os efeitos da poluição e a pressão pública influenciou tanto a indústria quanto o governo na busca de soluções urgentes. Em resposta às preocupações acerca do meio ambiente, a demanda por enzimas para fins industriais aumentou enormemente e seu uso tem se tornado cada vez mais acessível, levando a uma crescente utilização na indústria têxtil. O uso de enzimas em têxteis desempenha um papel fundamental como um processo alternativo mais “verde e limpo”. Neste estudo, as enzimas comerciais utilizadas foram Bioprep[®] 3000 L (pectinase alcalina com atividade de pectato liase) e Novozym[®] 51003 (lacase) para a biopurga e o biobranqueamento de tecidos de malha 100 % algodão, respectivamente.

A caracterização bioquímica mostrou que a pectinase apresentou maior atividade em temperaturas próximas de 60 °C e pH próximo de 9,0. O aumento da concentração de surfactante não iônico influenciou negativamente na reação da enzima sobre o ácido poligalacturônico, mas desempenhou uma função importante na biopurga têxtil. Um surfactante não iônico, como o Berol[®] 175, foi considerado necessário na composição do banho de biopurga, por ter impacto positivo na molhabilidade dos tecidos de algodão. A presença do surfactante foi extremamente relevante para a formação de um complexo enzima/substrato estável, de tal ordem que a enzima se encontrava no meio aquoso e a superfície da fibra celulósica crua era hidrofóbica. Além, claro, de atuar na remoção de sujeiras solúveis e na emulsificação de ceras e gorduras.

Ceras e pectinas são responsáveis pela hidrofobicidade do algodão cru e suas remoções foram consideradas importantes para um processo bem-sucedido de limpeza enzimática. A enzima Bioprep[®] 3000 L removeu eficientemente as substâncias pécticas (≈95 %) da superfície das fibras de algodão. Entretanto, especificamente as ceras não puderam ser removidas quando os processos foram conduzidos em condições amenas, como é o caso da biopurga na temperatura ótima da enzima pectinase (55 °C). Os produtos cerosos cuticulares foram removidos por meio de uma pós-lavagem quente (70 °C) com surfactante (0,2 g/L). Na pós-lavagem, o controle da temperatura e o uso de surfactante foram parâmetros-chave para otimizar o desempenho dos substratos biopurgados, acima de tudo para melhorar a penetração e a absorção de água.

Esse conhecimento, das condições de atuação e do efeito das características do meio sobre a enzima, permitiu que as enzimas pudessem ser usadas em quantidades catalíticas e reutilizadas como biocatalisadores nas máquinas já existentes. Dez ciclos de biopurga foram realizados com banho residual e apenas $\approx 10\%$, em volume, de solução enzimática fresca foi adicionada em cada novo ciclo. Todo o processo demonstrado foi realizado com sucesso com banho residual, proporcionando hidrofiliade suficiente aos tecidos de algodão, e parece ter grande potencial para testes em fábricas. A tecnologia combina eficiência hídrica e enzimática, podendo atingir economias de custo consideráveis e transformar a indústria de preparação do algodão, outrora altamente exigente em água e bastante poluente, em um setor produtivo sustentável e ecologicamente correto.

As imagens morfológicas e os espectros FTIR esclarecem a suavidade e a eficácia dos tratamentos enzimáticos, que foram capazes de degradar impurezas e elementos hidrofóbicos da superfície das fibras de algodão e preservar a estrutura de celulose. Baixa perda de massa associada com ótima degradação da pectina e boa molhabilidade, permitiram uma biopurga eficaz, o que representa uma alternativa à purga química convencional. O grau de brancura, no entanto, foi baixo. O biobranqueamento posterior com lacase Novozym[®] 51003, sozinho, também não foi suficiente para atingir o grau de branco desejado para produzir um fio branco que facilite a produção de tonalidades claras.

Este estudo forneceu uma visão sobre as características da biopurga à base de pectinase alcalina, e a previsibilidade do seu desempenho de limpeza ao decidir alguns parâmetros da receita e do processo. Os resultados gerais são promissores, respondem algumas perguntas relacionadas aos processos enzimáticos da área e exploram reais possibilidades de aplicação industrial. A transferência, da bancada de laboratório para a fase de escala piloto, é uma recomendação para estudos pósteros, para preparar as tecnologias à comercialização e à adoção no mercado. O desafio do futuro é, justamente, preencher a lacuna entre os esforços dos pesquisadores e a direção da indústria. Uma estimativa, mesmo que aproximada, dos efeitos econômicos da adoção generalizada dessas tecnologias também é relevante, para que as indústrias de preparação têxtil do algodão estejam dispostas a investir de forma independente.

Espera-se que esta Tese de Doutorado (1) seja um recurso para engenheiros, pesquisadores, investidores, fabricantes de têxteis, formuladores de políticas públicas e outras partes interessadas, dos setores público e privado, bem como da academia; (2) impulse a absorção de tratamentos baseados em enzimas pela indústria; e (3) possa torná-los mais competitivos.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, D. W.; GILBERT, H. J.; BORASTON, A. B. The active site of oligogalacturonate lyase provides unique insights into cytoplasmic oligogalacturonate β -elimination. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 50, p. 39029–39038, 2010.
- ABDULRACHMAN, D.; THONGKRED, P.; KOCHARIN, K.; NAKPATHOM, M.; SOMBOON, B.; NARUMOL, N.; CHAMPREDA, V.; EURWILAICHITR, L.; SUWANTO, A.; NIMCHUA, T.; CHANTASINGH, D. Heterologous expression of *Aspergillus aculeatus* endo-polygalacturonase in *Pichia pastoris* by high cell density fermentation and its application in textile scouring. **BMC Biotechnology**, v. 17, n. 1, p. 1–9, 2017.
- ABIT. **Dados gerais do setor referentes a 2019 (atualizados em dezembro de 2020)**. Disponível em: <<https://www.abit.org.br/cont/perfil-do-setor>>. Acesso em: 12 jul. 2021.
- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **NBR 13000: Material têxtil – Determinação da hidrofiliidade de tecidos**. Rio de Janeiro, 1993.
- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **NBR 13384: Material têxtil – Determinação da resistência ao estouro e do alongamento ao estouro – Método do diafragma**. Rio de Janeiro, 1995.
- AGRAWAL, P. **The Performance of Cutinase and Pectinase in Cotton Scouring**. [s.l.] University of Twente, 2005.
- AGRAWAL, P. B.; NIERSTRASZ, V. A.; KLUG-SANTNER, B. G.; GÜBITZ, G. M. LENTING, H. B. M.; WARMOESKERKEN, M. M. C. G. Wax removal for accelerated cotton scouring with alkaline pectinase. **Biotechnology Journal**, v. 2, p. 306–315, 2007.
- AGRAWAL, P. B.; NIERSTRASZ, V. A.; BOUWHUIS, G. H.; WARMOESKERKEN, M. M. C. G. Cutinase and pectinase in cotton bioscouring: an innovative and fast bioscouring process. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 26, n. 5, p. 412–421, 2008.
- ALY, A. S.; MOUSTAFA, A. B.; HEBEISH, A. Bio-technological treatment of cellulosic textiles. **Journal of Cleaner Production**, v. 12, p. 697–705, 2004.
- AMID, M.; MANAP, Y.; ZOHDHI, K. Purification and characterisation of thermo-alkaline pectinase enzyme from *hylocereus polyrhizus*. **European Food Research and Technology**, v. 239, n. 1, p. 21–29, 2014.
- ANDREAUS, J.; COLOMBI, B. L.; GONÇALVES, J. A.; SANTOS, K. A. Processing of cotton and man-made cellulosic fibers. In: CAVACO-PAULO, A.; NIERSTRASZ, V. A.; WANG, Q. (Eds.). **Advances in Textile Biotechnology**. Second ed. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 185–238.
- 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.

- BABU, B. R.; PARANDE, A. K.; RAGHU, S.; PREM KUMAR, T. Cotton textile processing: Waste generation and effluent treatment. **Journal of Cotton Science**, v. 11, n. 3, p. 141–153, 2007.
- BENEN, J. A. E.; KESTER, H. C. M.; PAŘENICOVÁ, L.; VISSER, J. Characterization of *Aspergillus niger* pectate lyase A. **Biochemistry**, v. 39, n. 50, p. 15563–15569, 2000.
- BENLI, H.; BAHTIYARI, M. İ. Use of ultrasound in biopreparation and natural dyeing of cotton fabric in a single bath. **Cellulose**, v. 22, n. 1, p. 867–877, 2015.
- BESEGATTO, S. V.; COSTA, F. N.; DAMAS, M. S. P.; COLOMBI, B. L.; DE ROSSI, A. C.; DE AGUIAR, C. R. L.; IMMICH, A. P. S. Enzyme Treatment at Different Stages of Textile Processing: A Review. **Industrial Biotechnology**, v. 14, n. 6, p. 298–307, 2018.
- BETCHEVA, R. I.; HADZHIYSKA, H. A.; GEORGIEVA, N. V.; YOTOVA, L. K. Biobleaching of flax by degradation of lignin with laccase. **BioResources**, v. 2, n. 1, p. 58–65, 2007.
- BORYO, D. E. A.; BELLO, K. A.; IBRAHIM, A. Q.; GIN, N. S.; DAUDA, T. M.; ELABO, V. O. Effect of Alternative Scouring Agents on Dyeing Properties of Cotton/Polyester Blend Fabric. **IOSR Journal of Applied Chemistry**, v. 5, n. 2, p. 11–21, 2013.
- BRISTI, U.; PIAS, A. K.; LAVLU, F. H. A Sustainable process by bio- scouring for cotton knitted fabric suitable for next generation. **Journal of Textile Engineering & Fashion Technology**, v. 5, n. 1, p. 41–48, 2019.
- BUSCHLE-DILLER, G.; RADHAKRISHNAIAH, R.; FREEMAN, H.; ZERONIAN, S. H. Environmentally Benign Preparatory Processes – Introducing a Closed-Loop System. **National Textile Center Annual Report**, p. 1–6, 1999.
- CALAFELL, M.; GARRIGA, P. Effect of some process parameters in the enzymatic scouring of cotton using an acid pectinase. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 34, n. 3–4, p. 326–331, 2004.
- CANTERI, M. H. G.; MORENO, L.; WOSIACKI, G.; DE SCHEER, A. P. Pectina: da Matéria-Prima ao Produto Final. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 149–157, 2012.
- CHAKRABORTY, S.; RAO, T. J. M.; GOYAL, A. Immobilization of recombinant pectate lyase from *Clostridium thermocellum* ATCC-27405 on magnetic nanoparticles for bioscouring of cotton fabric. **Biotechnology Progress**, v. 33, n. 1, p. 236–244, 2017.
- CHEN, L.; CARO, F.; CORBETT, C. J.; DING, X. Estimating the environmental and economic impacts of widespread adoption of potential technology solutions to reduce water use and pollution: Application to China's textile industry. **Environmental Impact Assessment Review**, v. 79, p. 1–7, 2019.
- CHOE, E. K.; NAM, C. W.; KOOK, S. R.; CHUNG, C.; CAVACO-PAULO, A. Implementation of batchwise bioscouring of cotton knits. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 22, n. 5–6, p. 375–382, 2004.

CHUGH, P.; SONI, R.; SONI, S. K. Deoiled Rice Bran: A Substrate for Co-Production of a Consortium of Hydrolytic Enzymes by *Aspergillus niger* P-19. **Waste and Biomass Valorization**, v. 7, n. 3, p. 513–525, 2016.

CHUNG, C.; LEE, M.; CHOE, E. K. Characterization of cotton fabric scouring by FT-IR ATR spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, n. 4, p. 417–420, 2004.

CNI. **O setor têxtil e de confecção e os desafios da sustentabilidade**. Brasília: Confederação Nacional da Indústria, Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção. [s.n.]. 2017.

COLLMER, A.; RIED, J. L.; MOUNT, M. S. Assay Methods for Pectic Enzymes. **Methods in Enzymology**, v. 161, p. 329–335, 1988.

COLOMBI, B. L.; MARTINS, Q.; IMME, C. K.; DA SILVA, D. B.; VALLE, J. A. B.; ANDREAUS, J.; ARIAS, M. J. L.; VALLE, R. C. S. C. Understanding the effects of process parameters in the bioscouring of cotton and their interactions on pectate lyase activity by factorial design analysis. **Journal of the Textile Institute**, p. 1–12, 2021a.

COLOMBI, B. L.; VALLE, R. C. S. C.; BORGES VALLE, J. A.; ANDREAUS, J. Advances in sustainable enzymatic scouring of cotton textiles: Evaluation of different post-treatments to improve fabric wettability. **Cleaner Engineering and Technology**, v. 4, p. 1–11, 2021b.

CSISZÁR, E.; SZAKÁCS, G.; RUSZNÁK, I. Bioscouring of Cotton Fabrics with Cellulase Enzyme. **ACS Symposium Series**, v. 687, p. 204–211, 1998.

CSISZÁR, E.; LOSONCZI, A.; SZAKÁCS, G.; RUSZNÁK, I.; BEZÚR, L.; REICHER, J. Enzymes and chelating agent in cotton pretreatment. **Journal of Biotechnology**, v. 89, n. 2–3, p. 271–279, 2001.

CUI, L.; WANG, P.; WANG, Q.; FAN, X. The bioscouring efficiency and activity of alkaline pectinase for cotton fabric. **Fibers and Polymers**, v. 10, n. 4, p. 476–480, 2009.

DALVI, P.; ANTHAPPAN, P.; DARADE, N.; KANOONGO, N.; ADIVAREKAR, R. Amylase and pectinase from single source for simultaneous desizing and scouring. **Indian Journal of Fibre & Textile Research**, v. 32, n. December, p. 459–465, 2007.

DANIELL, H.; RIBEIRO, T.; LIN, S.; SAHA, P.; MCMICHAEL, C.; CHOWDHARY, R.; AGARWAL, A. Validation of leaf and microbial pectinases: commercial launching of a new platform technology. **Plant Biotechnology Journal**, v. 17, n. 6, p. 1154–1166, 2019.

DARIA, M.; KRZYSZTOF, L.; JAKUB, M. Characteristics of biodegradable textiles used in environmental engineering: A comprehensive review. **Journal of Cleaner Production**, v. 268, p. 1–17, 2020.

DEGANI, O. Synergism between cutinase and pectinase in the hydrolysis of cotton fibers' cuticle. **Catalysts**, v. 11, n. 1, p. 1–18, 2021.

DEMIR, A. G.; OLIVEIRA, F. R.; GULUMSER, T.; SOUTO, A. P. New Possibilities of Raw Cotton Pre-treatment before reactive dyeing. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 460, n. 1, p. 1–8, 2018.

DETTORE, C. **Comparative Life-Cycle Assessment (LCA) of Textile Bleaching Systems : Gentle Power Bleach TM vs . Conventional Bleaching System**. [s.l: s.n.]. 2011.

EASSON, M. W.; WOJKOWSKI, S.; CONDON, B.; YEATER, K.; SLOPEK, R.; FORTIER, C. Ultrasound-Enhanced Bioscouring of Greige Cotton: Regression Analysis of Process Factors. **AATCC Journal of Research**, v. 2, n. 1, p. 16–23, 2015.

EGBUTA, M. A.; MCINTOSH, S.; WATERS, D. L. E.; VANCOV, T.; LIU, L. Biological importance of cotton by-products relative to chemical constituents of the cotton plant. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 12–14, 2017.

EICHHORN, S. J.; HEARLE, J. W. S.; JAFFE, M. KIKUTANI, T. **Handbook of textile fibre structure**. [s.l.] Woodhead Publishing Limited, 2009.

ENGELMANN, C.; KRAGL, U. Spray congealing as innovative technique for enzyme encapsulation. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 93, n. 1, p. 191–197, 2018.

ERDEM, A.; İBRAHİM BAHTIYARI, M. Ultrasonic-bioscouring and ozone based bleaching of cotton slivers and coloration of them with natural dye sources. **Journal of Cleaner Production**, v. 188, p. 670–677, 2018.

ETTERS, J. N. Cotton preparation with alkaline pectinase: An environmental advance. **Textile Chemist and Colorist and American Dyestuff Reporter**, v. 1, n. 3, p. 33–36, 1999.

FARRELL, M. J.; DE BOSKEY, M. J.; ANKENY, M. A. Improving the Wettability of Enzyme-Bleached Cotton Fabric with Inclusion of Sodium Surfactin. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 4, n. 3, p. 1569–1572, 2016.

FERNÁNDEZ, L. • **Chemical and textile fibers production worldwide 2020 | Statista**. Disponível em: <<https://www.statista.com/statistics/263154/worldwide-production-volume-of-textile-fibers-since-1975/>>. Acesso em: 12 jul. 2021.

FOULK, J. A.; AKIN, D. E.; DODD, R. B. Influence of pectinolytic enzymes on retting effectiveness and resultant fiber properties. **BioResources**, v. 3, n. 1, p. 155–169, 2008.

FUJITA, R. M. L.; JORENTE, M. J. A Indústria Têxtil no Brasil: uma perspectiva histórica e cultural. **ModaPalavra e-periódico**, v. 8, n. 15, p. 153–174, 2015.

GLAD, S. S.; ANDERSEN, C.; BORCHERT, T. V.; JOHANSEN, K. S.; FRISNER, H.; THISTED, T. **Patent Application Publication Pub. No. : US 2006/0089283 A1 PECTATE LYASE VAIRLANTS TECHNICAL**. NEW YORK (US), 2006.

GONÇALVES, I.; HERRERO-YNIESTA, V.; PERALES ARCE, I.; ESCRIGAS CASTAÑEDA, M.; CAVACO-PAULO, A.; SILVA, C. Ultrasonic pilot-scale reactor for enzymatic bleaching of cotton fabrics. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, n. 4, p. 1535–1543, 2014.

GORDON, S.; HSIEH, Y.-L. **Cotton: Science and technology**. [s.l.] Woodhead Publishing Limited in association with The Textile Institute, 2007.

GOYNES, W. R. Microscopic determination of cotton fiber maturity. **Microscopy and Microanalysis**, v. 9, n. SUPPL. 2, p. 1294–1295, 2003.

GURURAJ, P.; KHUSHBU, S.; MONISHA, B.; SELVAKUMAR, N.; CHAKRAVARTHY, M.; GAUTAM, P.; NANDHINI DEVI, G. Production, purification and application of Cutinase in enzymatic scouring of cotton fabric isolated from *Acinetobacter baumannii* AU10. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, p. 1–12, 2020.

HARDIN, I. R. Enzymatic treatment versus conventional chemical processing of cotton. In: **Advances in Textile Biotechnology**. [s.l.] Woodhead Publishing Limited, 2010. p. 132–149.

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

HASANBEIGI, A.; PRICE, L. A technical review of emerging technologies for energy and water efficiency and pollution reduction in the textile industry. **Journal of Cleaner Production**, v. 95, p. 30–44, 2015.

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, n. 4, p. 961–972, 2009.

HELLMUTH, H.; DREJA, M. Understanding interactions of surfactants and enzymes: Impact of individual surfactants on stability and wash performance of protease enzyme in detergents. **Tenside, Surfactants, Detergents**, v. 53, n. 5, p. 502–508, 2016.

HOLKAR, C. R.; JADHAV, A. J.; PINJARI, D. V.; MAHAMUNI, N. M.; PANDIT, A. B. A critical review on textile wastewater treatments: possible approaches. **Journal of Environmental Management**, v. 182, p. 351–366, 2016.

HOLMBERG, K. Interactions between surfactants and hydrolytic enzymes. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 168, p. 169–177, 2018.

HONG, R.; SUN, Y.; SU, L.; GU, L.; WANG, F.; WU, J. High-level expression of *Humicola insolens* cutinase in *Pichia pastoris* without carbon starvation and its use in cotton fabric bioscouring. **Journal of Biotechnology**, v. 304, n. August, p. 10–15, 2019.

HOONDAL, G.; TIWARI, R.; TEWARI, R.; DAHIYA, N.; BEG, Q. Microbial alkaline pectinases and their industrial applications: A review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, n. 4, p. 409–418, 2002.

HOU, W. C.; CHANG, W. H.; JIANG, C. M. Qualitative distinction of carboxyl group distributions in pectins with ruthenium red. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 40, n. 2, p. 115–119, 1999.

HUSSAIN, T.; WAHAB, A. A critical review of the current water conservation practices in textile wet processing. **Journal of Cleaner Production**, v. 198, p. 806–819, 2018.

IBRAHIM, N. A.; EID, B. M.; ABDEL AZIZ, M. S.; HAMDY, S. M.; ABDALLAH, S. E. Environmentally benign Scouring of Cotton Knits Using Locally Produced Acid Pectinase Enzyme. **Fibers and Polymers**, v. 20, n. 4, p. 787–793, 2019.

JARAMILLO, P. M. D.; ANDREAUS, J.; NETO, G. P. S.; CASTRO, C. F. S.; FILHO, E. X. F. The characterization of a pectin-degrading enzyme from *Aspergillus oryzae* grown on passion fruit peel as the carbon source and the evaluation of its potential for industrial applications. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 33, n. 5–6, p. 310–322, 2016.

JOHN, J.; KAIMAL, K. K. S.; SMITH, M. L.; RAHMAN, P. K. S. M.; CHELLAM, P. V. Advances in upstream and downstream strategies of pectinase bioprocessing: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 162, p. 1086–1099, 2020.

JIS (Japanese Industrial Standard). **JIS L 1907: Testing methods for water absorbency of textiles**. Japan, 2004.

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, n. 17, p. 8185–8192, 2008.

KALANTZI, S.; MAMMA, D.; KALOGERIS, E.; KEKOS, D. Improved properties of cotton fabrics treated with lipase and its combination with pectinase. **Fibres and Textiles in Eastern Europe**, v. 18, n. 5, p. 86–92, 2010.

KALANTZI, S.; KEKOS, D.; MAMMA, D. Bioscouring of cotton fabrics by multienzyme combinations: application of Box–Behnken design and desirability function. **Cellulose**, v. 26, n. 4, p. 2771–2790, 2019.

KARABOĞA, C.; KÖRLÜ, A. E.; DURAN, K.; BAHTIYARI, M. I. Use of ultrasonic technology in enzymatic pretreatment processes of cotton fabrics. **Fibres and Textiles in Eastern Europe**, v. 15, n. 4, p. 97–100, 2007.

KARAPINAR, E.; SARIISIK, M. O. Scouring of cotton with cellulases, pectinases and proteases. **Fibres and Textiles in Eastern Europe**, v. 12, n. 3, p. 79–82, 2004.

KARMAKAR, S. R. **Chemical technology in the pre-treatment processes of textiles**. First edit ed. [s.l: s.n.]. 1999.

KAUR, A.; VARGHESE, L. M.; BATTAN, B.; PATRA, A. K.; MANDHAN, R. P.; MAHAJAN, R. Bio-degumming of banana fibers using eco-friendly crude xylano-pectinolytic enzymes. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v. 50, n. 5, p. 521–528, 2020.

KHAN, I. G.; BARATE, D. L. Effect of Various Parameters on Activity of Pectinase Enzyme. **International Journal of Advanced Research**, v. 4, n. 1, p. 853–862, 2016.

KHATTAB, T. A.; ABDELRAHMAN, M. S.; REHAN, M. Textile dyeing industry: environmental impacts and remediation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 4, p. 3803–3818, 2020.

KIM, J.; CHOE, E. K.; KIM, S. Y.; NAM, S. W. Optimization of Enzymatic Scouring. **Journal of Natural Fibers**, v. 3, n. 2–3, p. 155–168, 2006.

KOHLI, P.; GUPTA, R. Alkaline pectinases: A review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, n. 3, p. 279–285, 2015.

LAKSHMANAN, S. O.; RAGHAVENDRAN, G. Low water-consumption technologies for textile production. In: **Sustainable Fibres and Textiles**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 243–265.

LI, Y.; HARDIN, I. R. Enzymatic Scouring of Cotton: Effects on Structure and Properties. **Textile Chemist and Colorist**, v. 29, n. 8, p. 71–76, 1997.

LI, Y.; HARDIN, I. R. Enzymatic scouring of cotton – Surfactants, agitation, and selection of enzymes. **Textile Chemist and Colorist**, v. 30, n. 9, p. 23–29, 1998.

LINHARDT, R. J.; GALLIHER, P. M.; COONEY, C. L. Polysaccharide lyases. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 12, n. 2, p. 135–176, 1986.

LOSONCZI, A.; CSISZÁR, E.; SZAKÁCS, G. Bleachability and Dyeing Properties of Biopretreated and Conventionally Scoured Cotton Fabrics. **Textile Research Journal**, v. 74, n. 6, p. 501–508, 2004.

LOSONCZI, A. K. **Bioscouring of Cotton Fabrics**. [s.l.] Budapest University of Technology and Economics, 2004.

MADHU, A.; CHAKRABORTY, J. N. Developments in application of enzymes for textile processing. **Journal of Cleaner Production**, v. 145, p. 114–133, 2017.

MARKETSANDMARKETS. **Industrial Enzymes Market Growth & Trends | Size and Share | Covid-19 Impact on Industrial Enzymes Market | MarketsandMarkets**. Disponível em: <<https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/industrial-enzymes-market-237327836.html>>. Acesso em: 12 jul. 2021.

MARTÍNKOVÁ, L.; KOTIK, M.; MARKOVÁ, E.; HOMOLKA, L. Biodegradation of phenolic compounds by Basidiomycota and its phenol oxidases: A review. **Chemosphere**, v. 149, p. 373–382, 2016.

MARTINS, M.; SILVA, C.; CAVACO-PAULO, A. Enzyme stabilization for biotechnological applications. In: CAVACO-PAULO, A.; NIERSTRASZ, V. A.; WANG, Q. (Eds.). **Advances in Textile Biotechnology**. Second ed. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 107–132.

- MBURU, A. W.; MWASIAGI, J. I.; ANINO, E. O. Optimisation of cotton wax removal using bacteria isolate from gin trash. **Journal of the Textile Institute**, v. 107, n. 1, p. 34–41, 2016.
- MOJISOV, K. Enzyme scouring of cotton fabrics: a review. **International Journal of Marketing and Technology**, v. 2, n. 9, p. 256–275, 2012.
- MOJISOV, K. Enzymes in textile industry: a review. **International Journal of Management, IT and Engineering**, v. 4, n. 12, p. 34–44, 2014.
- MOJISOV, K. Bioscouring and bleaching process of cotton fabrics – an opportunity of saving water and energy. **Journal of the Textile Institute**, v. 107, n. 7, p. 905–911, 2015.
- MOJISOV, K. Enzymatic desizing, bioscouring and enzymatic bleaching of cotton fabric with glucose oxidase. **Journal of the Textile Institute**, v. 110, n. 7, p. 1032–1041, 2019.
- MOROZOVA, V. V.; SEMENOVA, M. V.; SALANOVICH, T. N.; OKUNEV, O. N.; KOSHELEV, A. V.; BUBNOVA, T. V.; KRICHEVSKII, G. E.; TIMATKOV, A. G.; BARYSHEVA, N. V.; SINITSYN, A. P. Application of neutral-alkaline pectate lyases to cotton fabric boil off. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 42, n. 6, p. 603–608, 2006.
- NERURKAR, M.; JOSHI, M.; ADIVAREKAR, R. Bioscouring of Cotton using Lipase from Marine Bacteria *Bacillus sonorensis*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 175, n. 1, p. 253–265, 2015.
- NIAZ, A.; MALIK, Q. J.; MUHAMMAD, S.; SHAMIM, T.; ASGHAR, S. Bioscouring of cellulosic textiles. **Coloration Technology**, v. 127, n. 4, p. 211–216, 2011.
- NIELSEN, P. H.; KUILDERD, H.; ZHOU, W.; LU, X. Enzyme biotechnology for sustainable textiles. In: **Sustainable Textiles: Life Cycle and Environmental Impact**. [s.l.: s.n.]. p. 113–138. 2009.
- ÖNER, E.; SAHINBASKAN, B. Y. A new process of combined pretreatment and dyeing: REST. **Journal of Cleaner Production**, v. 19, n. 14, p. 1668–1675, 2011.
- OPWIS, K.; KNITTEL, D.; SCHOLLMMEYER, E. Enzymatic Recycling of Starch-Containing Desizing Liquors. **Starch/Stärke**, v. 51, p. 348–353, 1999.
- OUMER, O. J.; ABATE, D. Characterization of Pectinase from *Bacillus subtilis* Strain Btk 27 and Its Potential Application in Removal of Mucilage from Coffee Beans. **Enzyme Research**, v. 2017, p. 1–7, 2017.
- PALAMUTCU, S. Sustainable Textile Technologies. In: S.S. MUTHU (Ed.). **Textiles and Clothing Sustainability, Textile Science and Clothing Technology**. [s.l.] Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2017. p. 1–22.
- PENSUPA, N.; LEU, S. Y.; HU, Y.; DU, C.; LIU, H.; JING, H.; WANG, H.; LIN, C. S. K. Recent Trends in Sustainable Textile Waste Recycling Methods: Current Situation and Future Prospects. **Topics in Current Chemistry**, v. 375, p. 1–40, 2017.

PEREIRA, L.; BASTOS, C.; TZANOV, T.; CAVACO-PAULO, A.; GUEBITZ, G. M. Environmentally friendly bleaching of cotton using laccases. **Environmental Chemistry Letters**, v. 3, n. 2, p. 66–69, 2005.

PEREIRA, P. H. F.; DE FREITAS ROSA, M.; CIOFFI, M. O. H.; DE CARVALHO BENINI, K. C. C.; MILANESE, A. C.; VOORWALD, H. J. C.; MULINARI, D. R. Vegetal fibers in polymeric composites: A review. **Polímeros**, v. 25, n. 1, p. 9–22, 2015.

PICCOLI, H. H. **Processo de alvejamento de tecido de malha de algodão utilizando ozônio com baixo consumo de água**. [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.

PIMENTEL, A. **Caracterização de uma pectinase comercial e sua utilização no processo de purga da indústria têxtil**. [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

PREŠA, P.; FORTE TAVČER, P. Low Water and Energy Saving Process for Cotton Pretreatment. **Textile Research Journal**, v. 79, n. 1, p. 76–88, 2009.

PUŠIĆ, T.; TARBUK, A.; DEKANIĆ, T. Bio-innovation in cotton fabric scouring- acid and neutral pectinases. **Fibres and Textiles in Eastern Europe**, v. 23, n. 1, p. 98–103, 2015.

PUSTIANU, M.; DOCHIA, M.; SÎRGHIE, C.; GAVRILAȘ, S.; TOMESCU, D. Treatment optimization for bioscouring in ultrasound of cotton/cottonised hemp blended fabrics. **Advances in Intelligent Systems and Computing**, v. 634, p. 595–604, 2018.

RAJA, A. S. M.; ARPUTHARAJ, A. SAXENA, S.; PATIL, P. G. Single bath enzymatic scouring and bleaching process for preparation of absorbent cotton. **Indian Journal of Fibre and Textile Research**, v. 42, n. 2, p. 202–208, 2017.

RAJULAPATI, V.; DHILLON, A.; KUMAR GALI, K.; KATIYAR, V.; GOYAL, A. Green bioprocess of degumming of jute fibers and bioscouring of cotton fabric by recombinant pectin methylesterase and pectate lyases from *Clostridium thermocellum*. **Process Biochemistry**, v. 92, n. February, p. 93–104, 2020.

RAMADAN, A. R. Characterization of Biobleaching of Cotton/Linen Fabrics. **Journal of Textile and Apparel, Technology and Management**, v. 6, n. 1, p. 1-12, 2008.

RAZA, Z. A.; REHMAN, A.; HUSSAIN, M. T.; MASOOD, R.; UL HAQ, A.; SADDIQUE, M. T.; JAVID, A.; AHMAD, N. Production of rhamnolipid surfactant and its application in bioscouring of cotton fabric. **Carbohydrate Research**, v. 391, n. 1, p. 97–105, 2014.

REIS, C. Z.; FOGOLARI, O.; OLIVEIRA, D.; DE ARRUDA GUELLI ULSON DE SOUZA, S. M.; DE SOUZA, A. A. U. Bioscouring and bleaching of knitted cotton fabrics in one-step process using enzymatically generated hydrogen peroxide. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 95, n. 11, p. 2048–2055, 2017.

ROCKLAND, L. B. Saturated Salt Solutions for Static Control of Relative Humidity between 5° and 40° C. **Analytical Chemistry**, v. 32, n. 10, p. 1375–1376, 1960.

RUBINGH, D. N. The influence of surfactants on enzyme activity. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 1, n. 5, p. 598–603, 1996.

SABANOGLU, T. • **Largest textile exporting countries in 2019** | Statista. Disponível em: <<https://www.statista.com/statistics/236397/value-of-the-leading-global-textile-exporters-by-country/>>. Acesso em: 12 jul. 2021.

SALEM, V. Técnicas inovadoras no tingimento, por esgotamento, de fibras celulósicas com corantes reativos de FCP. **Química Têxtil**, n. 24, p. 10–22, 1989.

SAWADA, K.; TOKINO, S.; UEDA, M.; WANG, X. Y. Bioscouring of cotton with pectinase enzyme. **Journal of the Society of Dyers and Colourists**, v. 114, n. 11, p. 333–336, 1998.

SENTHIL RAJA, K.; VASANTHI, N. S.; SARAVANAN, D.; RAMACHANDRAN, T. Use of bacterial lipase for scouring of cotton fabrics. **Indian Journal of Fibre and Textile Research**, v. 37, n. 3, p. 299–302, 2012.

SHAFIE, A. EL; FOUUDA, M. M. G.; HASHEM, M. One-step process for bio-scouring and peracetic acid bleaching of cotton fabric. **Carbohydrate Polymers**, v. 78, n. 2, p. 302–308, 2009.

SHAHBANDEH, M. • **World cotton production by country 2019** | Statista. Disponível em: <<https://www.statista.com/statistics/263055/cotton-production-worldwide-by-top-countries/>>. Acesso em: 12 jul. 2021.

SHAHID, M.; MOHAMMAD, F.; CHEN, G.; TANG, R. C.; XING, T. Enzymatic processing of natural fibres: White biotechnology for sustainable development. **Green Chemistry**, v. 18, p. 2256–2281, 2016.

SHARMA, M.; NACHANE, R. P. A novel method for scouring textile cotton. **Indian Journal of Fibre & Textile Research**, v. 35, n. March, p. 72–74, 2010.

SHRIMALI, K.; DEDHIA, E. Enzymatic Finishing of Textiles. **International Journal of Science and Research**, v. 5, n. 5, p. 674–677, 2016.

SILVA, L. G. M.; DE OLIVEIRA, D.; ULSON DE SOUZA, A. A.; GUELLI ULSON DE SOUZA, S. M. Study and application of an enzymatic pool in bioscouring of cotton knit fabric. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 95, n. 7, p. 1253–1260, 2017.

SINGH, A.; KAUR, A.; PATRA, A. K.; MAHAJAN, R. A sustainable and green process for scouring of cotton fabrics using xylano-pectinolytic synergism: switching from noxious chemicals to eco-friendly catalysts. **3 Biotech**, v. 8, n. 4, p. 1–9, 2018.

SINGH, A.; VARGHESE, L. M.; BATTAN, B.; PATRA, A. K.; MANDHAN, R. P.; MAHAJAN, R. Eco-friendly scouring of ramie fibers using crude xylano-pectinolytic enzymes for textile purpose. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 6, p. 6701–6710, 2020.

SOUKUP, A. Selected Simple Methods of Plant Cell Wall Histochemistry and Staining for Light Microscopy. In: ŽÁRSKÝ, V.; CVRCKOVÁ, F. (Eds.). **Plant Cell Morphogenesis: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology**. New York: Springer Science+Business Media, 2014. v. 1080p. 25–40.

ŠPIČKA, N.; TAVČER, P. F. New combined bio-scouring and bio-bleaching process of cotton fabrics tkanin. **Materiali in Tehnologije**, v. 47, n. 4, p. 409–412, 2013a.

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, 2013b.

ŠPIČKA, N.; TAVČER, P. F. Low-temperature bleaching of knit fabric from regenerated bamboo fibers with different peracetic acid bleaching processes. **Textile Research Journal**, v. 85, n. 14, p. 1497–1505, 2015.

ŠPIČKA, N.; ZUPIN, Ž.; KOVAČ, J.; FORTE TAVČER, P. E. Enzymatic scouring and low-temperature bleaching of fabrics constructed from cotton, regenerated bamboo, poly(lactic acid), and soy protein fibers. **Fibers and Polymers**, v. 16, n. 8, p. 1723–1733, 2015.

SPINA, F.; JUNGHANNS, C.; DONELLI, I.; NAIR, R.; DEMARCHE, P.; ROMAGNOLO, A.; FREDDI, G.; AGATHOS, S. N.; VARESE, G. C. Stimulation of laccases from *Trametes pubescens*: Use in dye decolorization and cotton bleaching. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v. 46, n. 5, p. 639–647, 2016.

STĂNESCU, M. D.; DOCHIA, M.; FOGORAȘI, M.; PUSTIANU, M.; BUCUR, M. S. Enzymes in cotton bio-scouring. **UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science**, v. 72, n. 3, p. 21–28, 2010.

TARCHEVSKY, I. A.; MARCHENKO, G. N. **Cellulose: Biosynthesis and structure**. 1 st edition ed. [s.l.] Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1991.

TIAN, L.; BRANFORD-WHITE, C.; WANG, W.; NIE, H.; ZHU, L. Laccase-mediated system pretreatment to enhance the effect of hydrogen peroxide bleaching of cotton fabric. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, n. 3, p. 782–787, 2012.

TÜLEK, A.; YILDIRIM, D.; AYDIN, D.; BINAY, B. Highly-stable *Madurella mycetomatis* laccase immobilized in silica-coated ZIF-8 nanocomposites for environmentally friendly cotton bleaching process. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 202, n. February, 2021.

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.; GÜBITZ, G. M.; CAVACO-PAULO, A. Hydrogen peroxide generation with immobilized glucose oxidase for textile bleaching. **Journal of Biotechnology**, v. 93, n. 1, p. 87–94, 2002.

TZANOV, T.; BASTO, C.; GÜBITZ, G. M.; CAVACO-PAULO, A. Laccases to improve the whiteness in a conventional: Bleaching of cotton. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 288, n. 10, p. 807–810, 2003a.

TZANOV, T.; ANDREAUS, J.; GUEBITZ, G.; CAVACO-PAULO, A. Protein interactions in enzymatic processes in textiles. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 3, p. 147–155, 15 dez. 2003b.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: Aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 388–394, 2007.

USLUOGLU, A.; ARABACI, G. Bleaching of Cotton/polyamide fabrics with enzymes and peracetic acid. **Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering**, v. 9, n. 3, p. 364–367, 2014.

VARADARAJAN, G.; VENKATACHALAM, P. Sustainable textile dyeing processes. **Environmental Chemistry Letters**, v. 14, n. 1, p. 113–122, 2016.

VARGAS, C. E. B. **Estudo da imobilização do extrato enzimático pectinolítico de *Aspergillus niger* ATCC 9642 em matriz polimérica-inorgânica.** [s.l.] Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim, 2013.

VIDART, J. M. M. **Simulação da difusão de corantes reativos em fibras de algodão.** [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, 2013.

VIGNESWARAN, C.; ANANTHASUBRAMANIAN, M.; ANBUMANI, N.; KANDHAVADIVU, P. Ecofriendly approach to improve pectinolytic reaction and process optimization of bioscouring of organic cotton textiles. **Journal of Engineered Fibers and Fabrics**, v. 8, n. 2, p. 121–133, 2013.

VINEYARD, P. M.; FREITAS, P. A. M. Estudo e caracterização do processo de fabricação de sabão utilizando diferentes óleos vegetais. 2015.

WAKELYN, P. J.; BERTONIERE, N. R.; FRENCH, A. D.; THIBODEAUX, D. P.; TRIPLETT, B. A.; ROUSSELLE, M.-A.; JR., W. R. G.; EDWARDS, J. V.; HUNTER, L.; MCALISTER, D. D.; GAMBLE, G. R. **Cotton Fiber Chemistry and Technology.** [s.l: s.n.]. 2006.

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, n. 2, p. 107–113, 2007.

WULFHORST, B.; GRIES, T.; VEIT, D. **Textile Technology.** München, Germany: [s.n.]. 2006.

XIAOKANG, Z.; HAITAO, R.; JIANYONG, L. Effects of different scouring methods on the catalytic efficiency of pectinase for cotton knitted fabrics. **Textile Research Journal**, v. 89, n. 4, p. 635–644, 2019.

ZOHDI, N. K.; AMID, M. Optimization of extraction of novel pectinase enzyme discovered in red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel. **Molecules**, v. 18, n. 11, p. 14366–14380, 2013.

APÊNDICE A: Primeira página do artigo 1 (capítulo 3)

Figura A.1 – Primeira página do artigo 1 (capítulo 3), publicado no “The Journal of The Textile Institute”. DOI: 10.1080/00405000.2021.1907987.




Understanding the effects of process parameters in the bioscouring of cotton and their interactions on pectate lyase activity by factorial design analysis

Bruna Lyra Colombi, Quesli Martins, Cintia Kopsch Imme, Diofer Barboza Da Silva, José Alexandre Borges Valle, Jürgen Andreas, Manuel José Lis Arias & Rita De Cássia Siqueira Curto Valle


To cite this article: Bruna Lyra Colombi, Quesli Martins, Cintia Kopsch Imme, Diofer Barboza Da Silva, José Alexandre Borges Valle, Jürgen Andreas, Manuel José Lis Arias & Rita De Cássia Siqueira Curto Valle (2021): Understanding the effects of process parameters in the bioscouring of cotton and their interactions on pectate lyase activity by factorial design analysis, The Journal of The Textile Institute, DOI: [10.1080/00405000.2021.1907987](https://doi.org/10.1080/00405000.2021.1907987)


To link to this article: <https://doi.org/10.1080/00405000.2021.1907987>

 Published online: 01 Apr 2021.

 Submit your article to this journal [↗](#)

 Article views: 19

 View related articles [↗](#)

 View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=tjti20>

APÊNDICE B: Primeira página do artigo 2 (capítulo 4)

Figura B.1 – Primeira página do artigo 2 (capítulo 4), publicado no “Cleaner Engineering and Technology”. DOI: 10.1016/j.clet.2021.100160.

Cleaner Engineering and Technology 4 (2021) 100160



Contents lists available at ScienceDirect

Cleaner Engineering and Technology

journal homepage: www.sciencedirect.com/journal/cleaner-engineering-and-technology



Advances in sustainable enzymatic scouring of cotton textiles: Evaluation of different post-treatments to improve fabric wettability

Bruna Lyra Colombi^{a,b,c,*}, Rita De Cássia Siqueira Curto Valle^b, José Alexandre Borges Valle^b, Jürgen Andreus^{c,*}

^a Department of Chemical and Food Engineering, Federal University of Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, Santa Catarina, Brazil

^b Department of Textile Engineering, Federal University of Santa Catarina (UFSC), Blumenau, Santa Catarina, Brazil

^c Department of Chemistry, Universidade Regional de Blumenau (FURB), Blumenau, Santa Catarina, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Cotton
Noncellulosic impurities
Enzymatic scouring
Enzyme
Surfactant
Temperature

ABSTRACT

Raw cotton fabrics contain natural impurities (fats, waxes, pectins, and proteins), which impart hydrophobic nature and interfere with textile dyeing. Typically, these noncellulosic impurities are removed by alkaline scouring with hot aqueous sodium hydroxide. As a greener alternative with reduced environmental impact, enzymes can be used to improve cotton hydrophilicity and the quality of fabrics. Thus, this study aimed to establish a roadmap for bioscouring of knitted cotton fabrics using a commercial pectinase preparation under mild conditions of pH and temperature. Pectate lyase ($1\text{--}10\text{ g L}^{-1}$) was applied for 30 min at 55 °C at optimum pH 8.5, evaluating different post-treatments with varying temperature and surfactant concentration. The treated samples were characterized in terms of weight loss, water absorption, pectin content, whiteness index, and FTIR spectra. A high level of cleaning was achieved, with an efficacy comparable to conventional alkaline scouring. It was possible to increase the wettability of the textile article with a reduction in fiber damage and in the consumption of energy, water, and chemicals. Low surfactant concentration (0.2 g L^{-1}) and 70 °C washing temperature in the post-washing step were found sufficient to aid in the removal of waxes and fats from the cotton surface after bioscouring and were adequate to achieve high hydrophilicity at low weight loss, unlike other bioscouring studies that used temperatures equal or higher than 80 °C. Results clearly proved that the efficiency of bioscouring to achieve suitable wettability of knitted cotton fabrics depends essentially on an effective post-washing step and the selected conditions, which impact the sustainability and economic viability of the whole process.

1. Introduction

Cotton fibers (Fig. 1) consist of on average 92% cellulose, with a complex mixture of protein, wax, ash (inorganic salts), pectins, and other substances (resins, pigments, hemicellulose, sugars, organic acids, and incrustated ligneous) comprising the remainder. Noncellulosic impurities account for 4–12% of the fiber weight (Karmakar, 1999), and provide both hydrophobic protection and lubricated surface for processing (Wakelyn et al., 2007). Before dyeing and finishing, raw cotton fabrics must be cleaned and made hydrophilic to achieve uniform coloring (dyeing or printing) and chemical finishing with good fastness properties (Andreus et al., 2019). Water absorbency is one of the most critical factors in dyeing and the object of scouring is to remove

hydrophobic impurities to produce fibers with excellent wettability, which can be dyed and finished uniformly (Benli and Bahtiyari, 2015).

Classical industrial scouring of cotton textiles is carried out with alkaline chemicals, such as the sodium hydroxide (NaOH), at boiling temperature, followed by multiple rinsing steps generating large volumes of effluent (Varadarajan and Venkatachalam, 2016). Although scouring increases the cellulose content of the fiber above 99% (Wakelyn et al., 2007), it is one of the most aggressive stages in the textile processing industry (Losonczy et al., 2004), for the fiber, the environment, and the working conditions. The use of various chemicals and high temperatures has many drawbacks including the formation of toxic gases, corrosive actions, substantial energy consumption, cellulose depolymerization, reduction of fiber strength, and ecosystem pollution

* Corresponding authors. Department of Chemistry, Universidade Regional de Blumenau (FURB), Blumenau, Santa Catarina, Brazil.

E-mail addresses: bruna_lyra@hotmail.com (B.L. Colombi), rita.valle@ufsc.br (R. De Cássia Siqueira Curto Valle), alexandre.valle@ufsc.br (J.A. Borges Valle), jandr@furb.br (J. Andreus).

<https://doi.org/10.1016/j.clet.2021.100160>

Received 29 September 2020; Received in revised form 20 May 2021; Accepted 4 June 2021

Available online 10 June 2021

2666-7908/© 2021 The Authors.

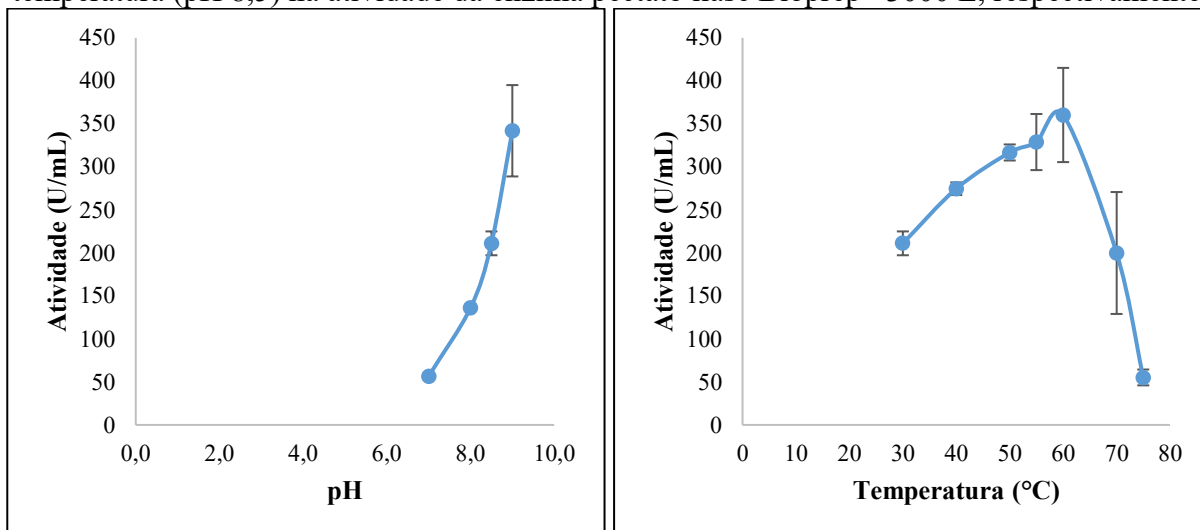
Published by Elsevier Ltd.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

APÊNDICE C: Material suplementar para o capítulo 3

Figura C.1 – Curvas que indicam experimentalmente a influência do pH (30 °C) e da temperatura (pH 8,5) na atividade da enzima pectato liase Bioprep® 3000 L, respectivamente.



As barras de erro representam \pm desvio padrão.

As atividades foram determinadas de acordo com COLLMER; RIED; MOUNT (1988).

Figura C.2 – Grau de manchamento e capilaridade (mm) da malha de algodão após purga convencional alcalina.

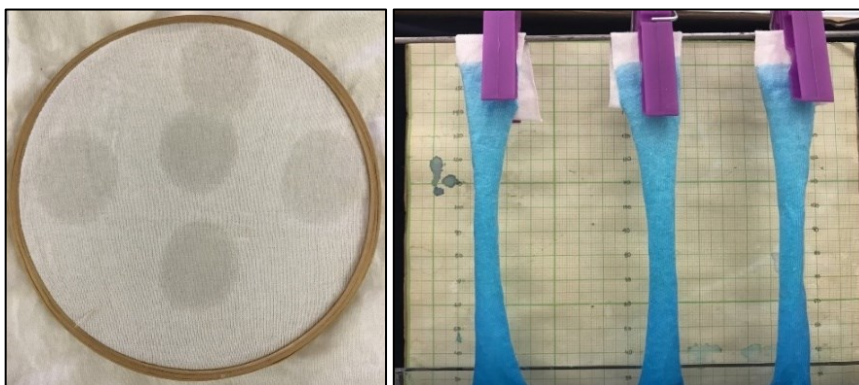


Figura C.3 – Grau de manchamento e capilaridade (mm) da malha de algodão após biopurga com 1 g/L de pectinase + surfactante.

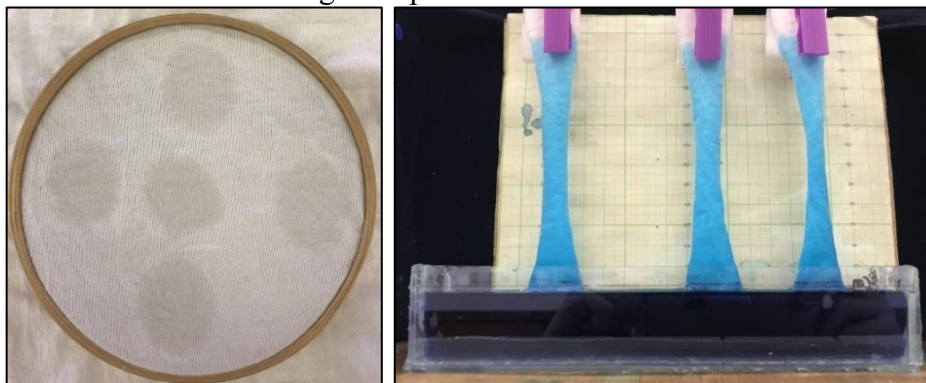


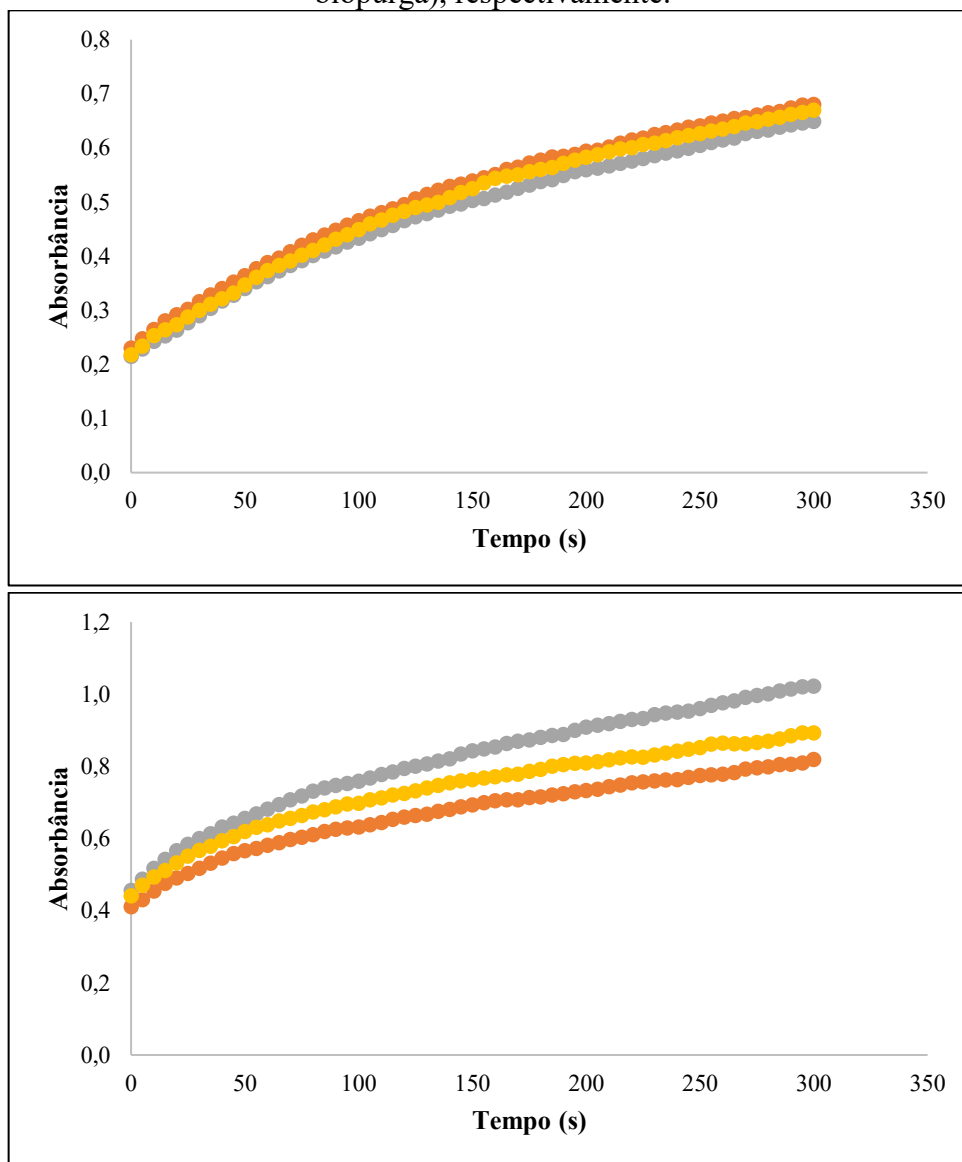
Figura C.4 – Grau de manchamento: (A) mancha oval ou redonda – tecido bem preparado; (B) mancha em forma de pontas – tecido com restos de produtos de engomagem ou graxas.



Fonte: Adaptado de ABNT (1993).

APÊNDICE D: Material suplementar para o capítulo 4

Figura D.1 – Cinética enzimática da enzima pectato liase Bioprep® 3000 L, durante a realização dos experimentos de atividade nas temperaturas de 30 °C e 55 °C (temperatura de biopurga), respectivamente.



Estes experimentos foram realizados de acordo com COLLMER; RIED; MOUNT (1988).

APÊNDICE E: Material suplementar para o capítulo 6

Figura E.1 – Cinética enzimática da enzima lacase Novozym® 51003, durante a realização dos experimentos de atividade usando ABTS (1 mM) como substrato.

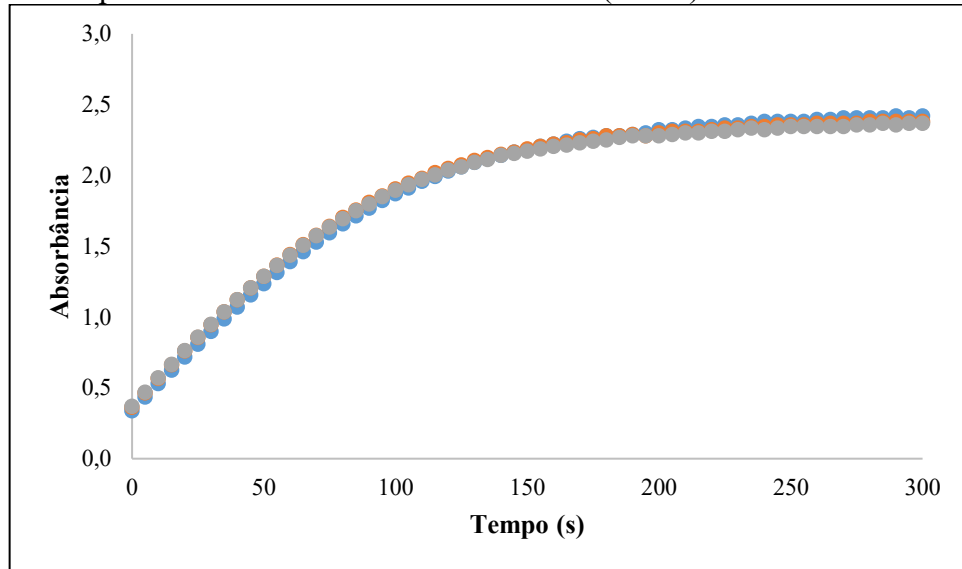
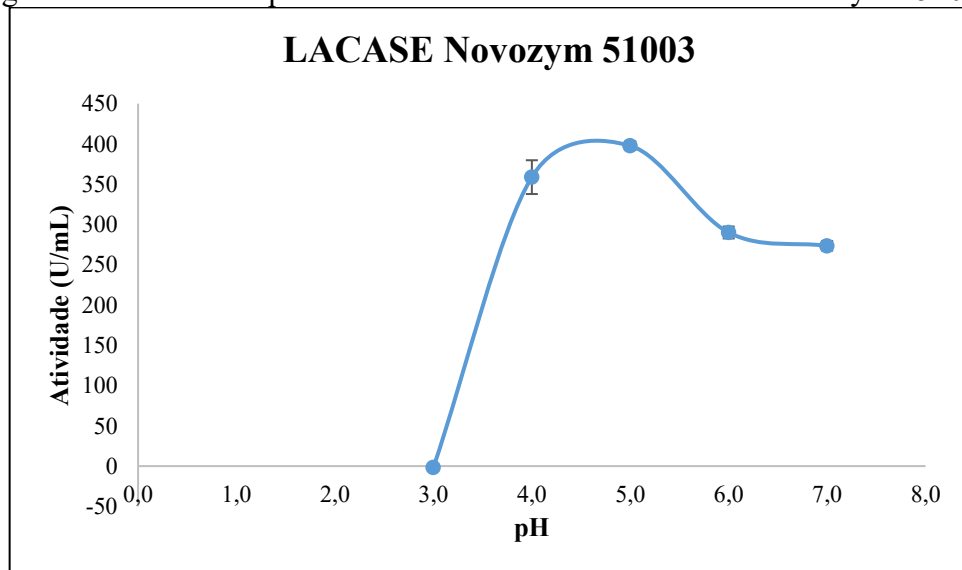


Figura E.2 – Efeito do pH sobre a atividade da enzima lacase Novozym® 51003.



As barras de erro representam \pm desvio padrão.

As atividades da lacase foram medidas utilizando-se como substrato siringaldazina, de acordo com LEONOWICZ; GRZYWNOWICZ (1981).

LEONOWICZ, A.; GRZYWNOWICZ, K. Quantitative estimation of laccase forms in some white-rot fungi using syringaldazine as a substrate. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 3, p. 55-58, January, 1981.

APÊNDICE F: Resultados adicionais, que não foram incluídos nos artigos científicos

EXTRAÇÃO COM SOLVENTES

As amostras têxteis foram submetidas à extrações, de acordo com o Método de Teste AATCC 94-2007. Uma amostra de malha 100 % algodão pesada (5 g) foi extraída pelo solvente, usando refluxo de Soxhlet (Figura F.1). As extrações foram realizadas em balões de 250 mL contendo aproximadamente 170 mL de solvente (hexano ou éter etílico, Tabela F.1), o sistema foi aquecido até ebulição do solvente e o processo finalizado após 4 h.

Segundo Agrawal et al. (2007), uma remoção eficiente de cera quando o tecido é tratado com hexano, antes do tratamento com pectinase, resultou em um desempenho melhorado da enzima pectinase, com taxa de hidrólise da pectina quase 1,65 vezes mais rápida. Os tecidos extraídos com hexano seguidos pela incubação da pectinase na presença de surfactante produziram os melhores resultados em termos de hidrofiliidade, próximos ao do tecido com purga alcalina (AGRAWAL et al., 2007).

A coleta de dados de novos experimentos foi interrompida, mas recomenda-se a continuidade do trabalho.

Figura F.1 – Sistema para extração utilizando Soxhlet.



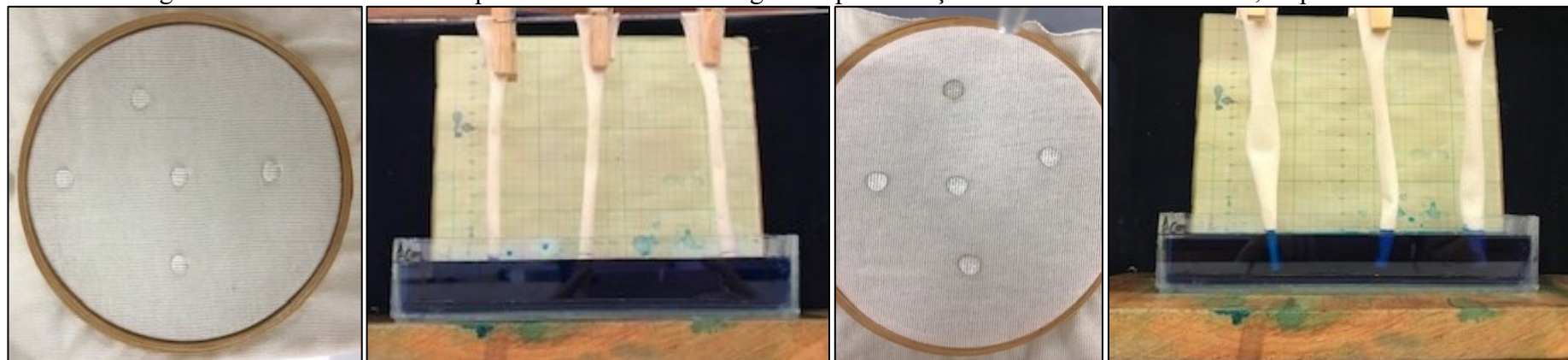
Tabela F.1 – Comparação das propriedades físico-químicas dos tecidos de algodão após extração com hexano e éter etílico.

Tratamento	Perda de Massa (%)	Grau de Branco (Berger)	Amarelecimento	Claridade	Hidrofilidade (s)	Capilaridade (mm)	Pectina (%)
Extração com hexano	$0,58 \pm 0,02$	$15,317 \pm 1,085$	$25,806 \pm 0,489$	$58,670 \pm 0,394$	Hidrofóbico (>300)	0,00	93,512
Extração com éter etílico	$0,78 \pm 0,08$	$12,467 \pm 1,730$	$26,898 \pm 0,886$	$56,462 \pm 0,351$	Hidrofóbico (>300)	$1,33 \pm 2,31$	100,000
Cru	$0,00 \pm 0,00$	$16,340 \pm 1,111$	$25,560 \pm 0,391$	$58,130 \pm 0,300$	Hidrofóbico (>300)	0,00	100,000

Cru refere-se ao algodão cru (malha bruta).

Os valores são a média de três repetições \pm desvio padrão.

Figura F.2 – Hidrofilidade e capilaridade da malha de algodão após extração com hexano e éter etílico, respectivamente.



BIOPURGA COM 0,5 g/L DE PECTINASE

Tabela F.2 – Comparação das propriedades físico-químicas dos tecidos de algodão tratados por enzimas pectinase (0,5 ou 1,0 g/L) e convencionalmente (alcalino).

Tratamento	Perda de Massa (%)	Grau de Branco (Berger)	Amarelecimento	Claridade	Hidrofilidade (s)	Capilaridade (mm)	Pectina (%)
Pectinase 0,5 g/L	2,59 ± 0,05	32,380 ± 0,445	18,901 ± 0,188	66,064 ± 0,113	3,73 ± 0,50	132,67 ± 2,52	0,00 ± 0,00
Pectinase 1,0 g/L	2,84 ± 0,14	35,969 ± 0,627	17,363 ± 0,305	66,988 ± 0,470	5,13 ± 1,47	131,33 ± 4,73	3,35 ± 0,41
Alcalino	4,65 ± 0,09	48,495 ± 1,639	12,253 ± 0,971	70,679 ± 0,363	4,07 ± 0,64	132,00 ± 1,73	Sem pectina

Os valores são a média de três repetições ± desvio padrão.

A biopurga foi realizada conforme metodologia do capítulo 5, banho 1.

Embora os dados disponíveis sejam preliminares, estes resultados sugerem que a abordagem de reutilização do banho de biopurga com menos quantidade de enzima (0,5 g/L) é promissora para uma investigação mais completa.

APÊNDICE G: Imagens de alguns equipamentos que foram usados na pesquisa

Figura G.1 – Estufa com atmosfera controlada com solução de cloreto de cobre saturada para condicionamento e ensaio de material têxtil.



Figura G.2 – Aparelhagem para determinação da hidrofiliidade de tecidos.

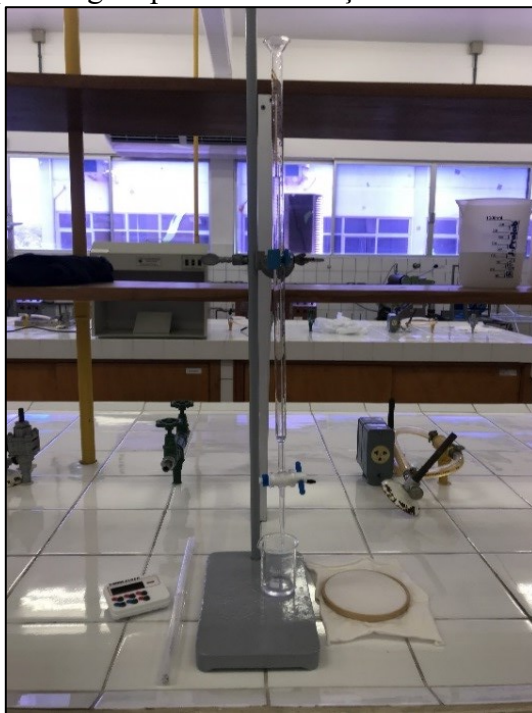


Figura G.3 – Aparato experimental para o teste de capilaridade.



Figura G.4 – Espectrofotômetro de remissão (marca Konica Minolta, modelo CM-3610D).



Figura G.5 – Espectrômetro de FTIR (marca Bruker, modelo VERTEX 70).



Figura G.6 – Goniômetro (marca Ramé-Hart, modelo 250) para a medição do ângulo de contato.

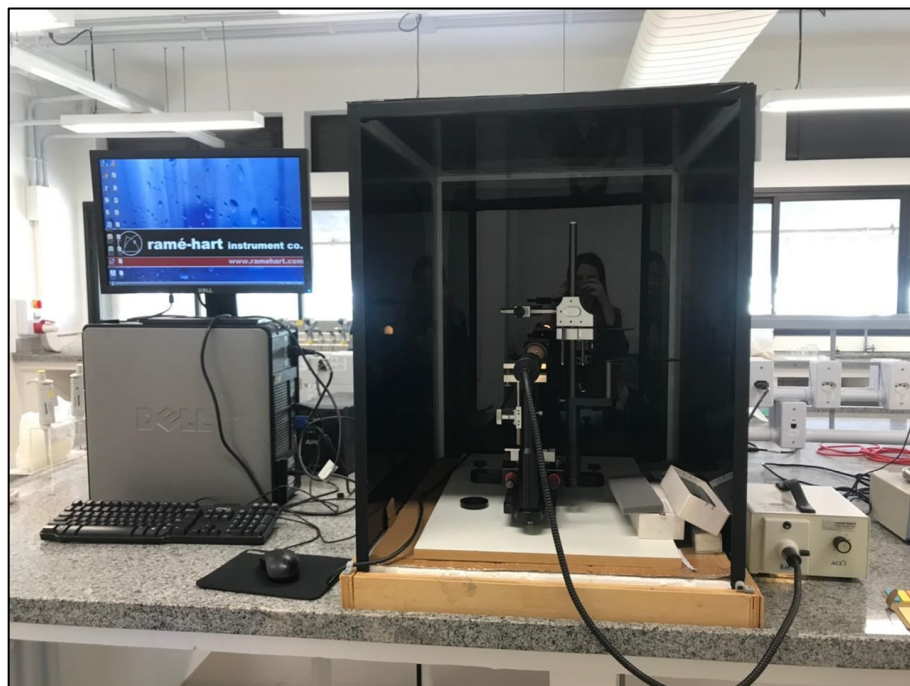


Figura G.7 – Equipamento Mullen Tester (REGMED MTA 2000) para ensaios de resistência ao arrebentamento/estouro.

