

EFEITO DE TENSOATIVOS SOBRE ATIVIDADE LIPOLÍTICA DE ENZIMA UTILIZADA EM BIOPURGA.

C.D.K. CAVALCANTI¹, J. A. B. VALLE¹; J. ANDREU²; C. MARANGONI¹; R.C.S.C.
VALLE¹

¹ Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Blumenau

² Universidade Regional de Blumenau

E-mail para contato: rita.valle@ufsc.br

Resumo

RESUMO –Com o intuito de remover substâncias hidrofóbicas presente nas fibras têxteis de algodão o uso das enzimas surge como um processo de substituição da purga alcalina (atual), permitindo menor agressão à fibra. Cada uma das enzimas possui sua especificidade às substâncias que necessitam ser removidas, como gorduras, proteínas, dentre outras. O processo de biopurga se torna uma alternativa à prevenção do descarte de compostos inorgânicos, já que a enzimas são compostos proteicos e de fácil decomposição, facilitando o tratamento de efluentes. O objetivo deste trabalho foi analisar a efetividade da enzima em diferentes tensoativos, que podem estar em formulações utilizadas em biopurga. Os resultados demonstraram que existe uma certa fragilidade das enzimas quando expostas a esses compostos, devendo-se sempre partir de uma análise do comportamento da atividade de enzimas presentes em formulações para a melhor eficiência dos produtos nos processos a que se destinam.

Palavras-chave: Lipase, Surfactante, Purga, Têxtil, Algodão.

1. INTRODUÇÃO

O mercado têxtil e de confecção mundial é dos mais dinâmicos, realizando lançamentos no mínimo a cada quatro vezes no ano. Em 2010, o consumo per capita mundial de fibras era de 11,6 kg/habitante e também foram consumidas 80 milhões de toneladas de fibras, sendo 62% de fibras químicas e 38% de fibras naturais, sendo em sua maioria composta de fibras de algodão. A produção mundial de fios, tecidos, malhas e confeccionados atingiu de 76 milhões de toneladas em 2010. O Brasil ocupa a quarta posição entre os maiores produtores mundiais de artigos de vestuário e a quinta posição entre os maiores produtores de manufaturas têxteis (ABIT,2013).

Na indústria têxtil, o beneficiamento de fibras, fios e tecidos é tradicionalmente realizado em condições muito severas, gerando efluentes com características muito adversas para o ambiente (FERREIRA,2012).

O uso de enzimas em substituição aos produtos normalmente utilizados em alguns processos têxteis, reduz consideravelmente o impacto ambiental assim como os danos às fibras. Fato este, pelo qual nos últimos anos, com a crescente conscientização e preocupação com o meio ambiente, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas com o objetivo de aplicar enzimas nas diferentes etapas do beneficiamento têxtil (PIMENTEL, 2010). Um forma de minimizar os danos possíveis de serem causados pelo agressivo processo químico é o uso de biopurga, sendo diversos estudos encontrados na literatura (LI, HARDIN, 1998; LENTING; ZWIER; NIERSTRASZ, 2002; GÜBITZ, CAVACO-PAULO, 2002; CHOI, HAN, KIM, 2015, SHAHID et al, 2016; MOJSOV, 2016).

Biopurga é a remoção das impurezas não celulósicas por meio de uso de enzimas como pectinases para remoção da pectina; proteases para proteínas; lipases para os óleos e ceras, xilanases para hemiceluloses, por exemplo. Como alguns pigmentos naturais não podem ser desprendidos da fibra, por estarem associados a impurezas, a remoção dessas impurezas remove esses pigmentos, reduzindo o amarelado da fibra. Geralmente as enzimas usadas na biopurga são selecionadas com base no pH, temperatura, tempo de tratamento requerido, qualidade do produto final, absorção de água e alvura (HOONDAL *et al.*, 2002).

Em comparação com catalisadores químicos, as enzimas são muito mais eficientes. As reações enzimáticas ocorrem em condições mais brandas de pH e temperatura e em decorrência da sua alta especificidade, nestas reações raramente há a formação de subprodutos (SILVA, 2013). As lipases têm sido extensivamente investigadas com relação às suas propriedades bioquímicas e fisiológicas e, mais recentemente, para aplicações industriais (DALLA-VECCHIA; NASCIMENTO; SOLDI, 2004 *apud* GANDHI, 1997).

Desta forma, tanto no processo químico como no enzimático são incorporados às formulações tensoativos, sendo esse considerado um auxiliar têxtil. Por definição, auxiliar têxtil é um produto químico ou químico formulado que permite que a operação de preparação, tingimento, impressão ou acabamento seja realizada de forma eficaz, ou que seja essencial para a obtenção de determinado efeito (BALDWINSON, 2002). Com essa definição percebe-se que os tensoativos são importantes para o processo, visto que são eles os responsáveis pela redução da tensão superficial principalmente do líquido/líquido ou da interface líquido/sólido.

Com o intuito de realizar a remoção de substâncias hidrofóbicas presente nas fibras têxteis o uso das enzimas surge como um processo de substituição da purga alcalina (atual), permitindo menor agressão a fibra. Cada uma das enzimas possui sua especificidade às substâncias que necessitam ser removidas como gorduras, proteínas, entre outras. Este processo tornar o tecido mais hidrofílico e se apresenta com alternativa de prevenção ao descarte de compostos inorgânicos, já que as enzimas são compostos de origem orgânica e de fácil decomposição. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi analisar o efeito de diferentes tensoativos sobre a atividade enzimática de uma lipase, com vistas à formulação de produtos têxteis utilizados em processos de preparação de substrato de algodão.

2. METODOLOGIA

Os ensaios foram realizados nos seguintes laboratórios: Laboratório de Análise Têxtil e Laboratório Têxtil de Ensaios Físicos e Físico-Químicos da Universidade Regional de Blumenau e no Laboratório de Meio Ambiente do Departamento de Engenharias da Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Blumenau.

2.1. Materiais

Enzima

Utilizou-se a enzima lipase, Lipolase® 100 L, produzida por *Thermomyces lanuginosus* (Novozymes), doadas pela empresa Akemy Biotecnologia Têxtil.

Tensoativos

Nessa pesquisa foram utilizados os seguintes tensoativos da KAO Chemical: FINDET® 1214N/23, não aniónico da família dos polioxetileno alkil éter; OXIDET® DM-4, zwitteriônico da família dos óxidos de alquil amina, um tensoativo da Henkel: GLUCOPON® 650 EC, não aniónico biodegradável da família dos alkil poliglicosídeo e LAS, aniónico da família dos linear alquil benzeno sulfonato.

2.2. Métodos

O substrato utilizado foi p-nitrofenilbutirato (pNB) na concentração de 10 mM e os tensoativos foram diluídos até a concentração estudados, a partir de uma solução mãe de 2 g/L. As concentrações utilizadas neste estudo foram diluídas em tampão Tris (20 nM e pH 8,0) para 1 g/L em todos os tensoativos.

A concentração teve avaliações da atividade enzimática nos tempos 0, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 120, 240, 360, 480, 600, 720, 1440, 2160 e 2880 minutos. O tempo de contato de enzima com tensoativos serve para avaliar o comportamento da enzima quando um produto comercial é destinado ao uso têxtil, o qual deverá ficar armazenado antes do seu uso e apresentar a mesma atividade de operação ao longo do tempo.

Nos ensaios, a enzima foi colocada em contato com os tensoativos e a reação teve início com a adição de substrato ao meio reacional. Foi também avaliado o comportamento da enzima na ausência de tensoativos ao longo do tempo.

Atividade enzimática:

A atividade da lipase foi conduzida diretamente na cubeta do espectrofotômetro (AJX-1900). A adição dos componentes da reação se deu da seguinte forma, um volume de 1880 µL de tensoativo diluído em tampão Tris nas concentrações estabelecidas foi misturado com 20 µL de solução pNB (10 nM). O início da reação se deu com a adição de 100 µL de lipase (diluída 1:100 em tampão Tris).

Mediu-se a absorbância em 410 nm no tempo 0, momento da adição da enzima à mistura e no tempo 1 minuto, considerando esse o tempo final da reação.

A atividade enzimática, definida como a quantidade de enzima necessária para converter 1 µmol de substrato por minuto, foi calculada por meio de extinção molar de p-nitrofenilbutirato, considerando que em pH 8,0 o coeficiente é 14,836 mM⁻¹. Eq. (1) da Lei de Lambert-Beer é utilizada para a obtenção da concentração de substrato, a partir da qual pode-se obter a atividade enzimática.

$$c = \frac{\Delta E \cdot \text{diluição}}{\varepsilon \cdot d} \quad (1)$$

Diluição = 1:100

d = Caminho ótico (1 cm)

ΔE = absorbância

C = atividade enzimática que se relaciona diretamente com concentração de fenol formado na solução

ε = coeficiente de extinção molar

O branco da reação foi considerado na ausência de tensoativos, contendo, no meio, somente enzima e tampão Tris. O branco foi obtido a cada reação devido à variação da concentração de pNB ao longo do tempo de armazenamento.

Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

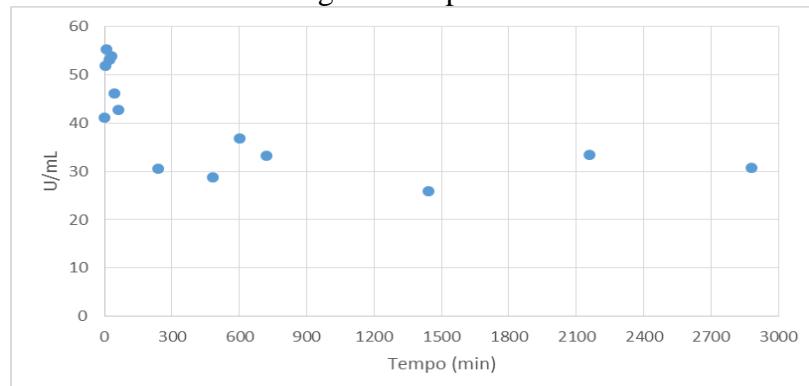
3. RESULTADOS

Os perfis de atividades da enzima foram calculados partir da fórmula de Lambert-Beer. Desta forma, cada tensoativo revelou comportamento distinto frente à enzima. Para todas as leituras foi considerado o valor da análise sem tensoativo (pNB, enzima e Tris) como parâmetro para avaliar a perda da atividade enzimática.

O tensoativo LAS foi analisado num período de somente 60 minutos, pois já nos tempos iniciais observou-se uma elevação drástica da absorbância. Como o ganho de cor associa-se à atividade enzimática, não é razoável que esse resultado seja proveniente da catálise enzimática e sim à reação de LAS com pNB.

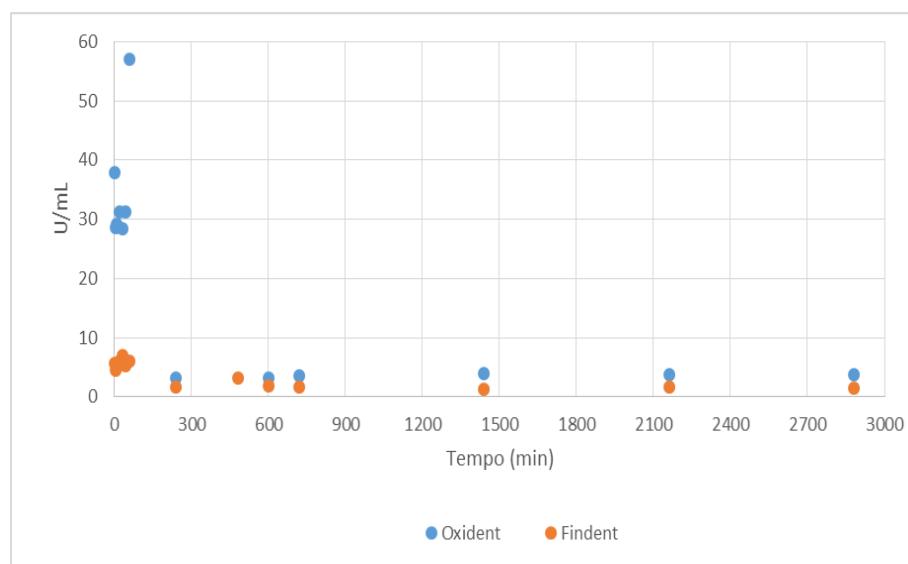
Conforme o Figura 1, a reação com o Glucopon teve uma forte diminuição de atividade da lipase a partir do tempo de 120 minutos, mantendo um comportamento constante em torno de 30 U/mL até o tempo de contato enzima-tensoativo estudado. Sendo o Glucopon um tensoativo menos agressivo, sendo sua molécula família dos alkil poliglicosídeo, pode não estar causando um efeito muito negativo, fazendo com que seja observada essa manutenção da atividade, parecendo que a viabilidade do uso deste tensoativo seja favorável.

Figura 1 – Perfil da atividade enzima da lipase na presença de GLUCOPON® 650 EC ao longo do tempo



Observando a Figura 2, o comportamento das enzimas com o Findent 1214N/23 e Oxidet DM-4 ao longo do tempo apresentaram decaimentos drásticos da atividade enzimática logo nos primeiros tempos de contato entre a enzima e os respectivos tensoativos. A diferença observada nas atividades frente a ambos tensoativos é pequena denotando que tanto para o Oxidet como para o Findent, houve uma inibição. Essa inibição pode estar associada a uma degradação da proteína enzimática, o que fez com que houvesse a perda quase total da atividade.

Figura 2 – Perfil da atividade enzima da lipase na presença de FINDET® 1214N/23 e OXIDET® DM-4, ao longo do tempo.



4. CONCLUSÃO

A pesquisa se propôs a apresentar e discutir as questões de aplicação da lipase em formulações utilizadas em processos têxteis industriais, como uma forma de melhor compreender e sugerir a biopurga. Nesses produtos há presença de diferentes tensoativos, cujo efeito isolado é pouco conhecido. Para tanto, assumiu-se o pressuposto de analisar a atividade enzimática da lipase ao longo do tempo entre 0 e 2880 minutos, evidenciando a absorbância em cada tempo.

Com os ensaios realizados, pode-se verificar que a enzima lipase se comporta de forma diferente quando exposta a compostos surfactantes diferentes, o que demonstra a importância de uma escolha na hora de conceber uma formulação.

Entre os tensoativos avaliados, à exceção do Glucopon, apresentaram um efeito inibitório completo sobre a enzima. Se o uso de polioxietileno alkil éter, óxidos de alquil amina e alquil benzeno sulfonato for realmente interessante para o processo, deve-se utilizar compostos protetores de enzima.

Além da vantagem do Glucopon ser um tensoativo biodegradável, este manteve um desempenho catalítico interessante, o que indica a possibilidade de seu uso em formulações para processos de biopurga com a lipase.

5. REFERÊNCIAS

- Associação Brasileira da Indústria Têxtil e Confecção (ABIT). *Cartilha Indústria Têxtil e de Confecção Brasileira*. São Paulo: Abit, 2013. 44 slides, color.
- BALDWINSON, T. M. Functions and properties of dyeing and printing auxiliaries, in: *Colorants and auxiliaries: organic chemistry and application properties*. John Shore (Ed.). Inglaterra: Society of Dyers and Colourists, p. 477-476, 2002.
- CHOI, J.-M., HAN, S.-S., KIM, H.-S. *Industrial applications of enzyme biocatalysis: Current status and future aspects* Biotechnology Advances, v. 33, n. 7, pp. 1443-1454. 2015.
- DALLA-VECCHIA, Roberto; NASCIMENTO, Maria da Graça; SOLDI, Valdir. *Aplicações sintéticas de lipases imobilizadas em polímeros*. Química Nova, Itajai, v. 27, n. 4, p.623-630, 27 maio 2004.
- FERREIRA, Fernanda Cristina Silva. *Avaliação dos efeitos da aplicação da enzima celulase nas propriedades de substratos têxteis de algodão*. 2012. 105 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.
- GÜBITZ, G.M., CAVACO-PAULO, A. *Biotechnology in the textile industry - Perspectives for the new millennium* Journal of Biotechnology, v. 89, n. 2-3, pp. 89-90, 2001.
- HOONDAL, G. et al. *Microbial alkaline pectinases and their industrial applications: a review*. Applied Microbiology And Biotechnology, [s.l.], v. 59, n. 4-5, p.409-418, 1 jan. 2002. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-002-1061-1>.
- LENTING, H. B. M., ZWIER, E., & NIERSTRASZ, V. A. *Identifying important parameters for a continuous bioscouring process*. Textile Research Journal, v.72, p. 825–831, 2002.
- LI, Y., & HARDIN, I. R. *Treating cotton with cellulase and pectinases: Effects on cuticle and fibre properties*. Textile Research Journal, v. 68, p. 671–679, 1998.
- MOJSOV, 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, 2016.
- PIMENTEL, Aline. *Caracterização de uma pectinase comercial e sua utilização no processo de purga da indústria têxtil*. 2010. 98 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.
- SHAHID, M., MOHAMMAD, F., CHEN, G., TANG, R.-C., XING, T. *Enzymatic processing of natural fibres: White biotechnology for sustainable development* , 2016.
- SILVA, Laís Graziela de Melo da. *Biopurga de malha de algodão utilizando processo enzimático com associação de enzimas*. 2013. 130 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.