UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Seminário do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

VIII-OKTOBERFORUM – PPGEQ

20, 21 E 22 DE OUTUBRO DE 2009

PROCESSAMENTO CO-ENZIMÁTICO DE COUROS: UM ESTUDO ACERCA DOS FATORES ENVOLVIDOS

Franck R. de Souza e Mariliz Gutterres

Laboratório de estudos em Couro e meio Ambiente - LACOURO

Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

R. Eng. Luis Englert, s/n. Campus Central. CEP: 90040-040 - Porto Alegre - RS - BRASIL,

E-MAIL: franck@enq.ufrgs.br, mariliz@enq.ufrgs.br

Resumo: *O presente trabalho tem por objetivo avaliar nos processos de remolho, caleiro e purga a utilização de enzimas disponíveis comercialmente. Foram desenvolvidos 27 testes visando avaliar a ação das diversas enzimas em cada uma das etapas. As enzimas C1 e B2 apresentaram os melhores resultados nos testes de remolho, nos testes de caleiro, destacaram-se as enzimas C2/C4 e B2/B1, já na purga a enzima A1 apresentou o melhor resultado nas condições testadas. A caracterização das enzimas utilizadas mostrou-se necessária a fim de se conhecerem as condições ótimas de utilização.*

Palavras-chave: *biotecnologia, couros, enzimas, processamento co-enzimático*

---

1 Introdução

1.1 A Indústria do Processamento de Couros

A indústria do couro tem papel importante na economia nacional. Conforme um levantamento feito em 2008 pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), o Brasil é segundo maior produtor e o terceiro exportador de couros do mundo. Segundo dados de 2008 do Centro das Indústrias de Curtumes do Brasil (CICB), o setor movimentou um PIB estimado em US$ 3,5 bilhões, contribuindo com cerca de 8% para o saldo da balança comercial brasileira; dispõe de 800 empresas de produção e processamento de couro e gera em torno de 50 mil postos de trabalho. Além disso, o país detém o maior rebanho comercial bovino do mundo, cerca de 180 milhões de cabeças de gado (SILVEIRA, 2009). O Rio Grande do Sul, por sua vez, contribui com o maior número de estabelecimentos de curtimento (217 em 2006) gerando 15.821 empregos nesse Estado (Guia Brasileiro do Couro, 2008).

Como o aumento da preocupação da população mundial acerca dos problemas ambientais ocorridos nos últimos tempos, governos e entidades ambientais têm aumentado a fiscalização nas indústrias no tocante à poluição por elas gerada.

Os processos de ribeira e curtimento produzem cerca de 80 a 90% da poluição gerada pelos curtumes, destacando-se a geração de gases nocivos como sulfeto de hidrogênio, lodos contendo cal, enxofre e cromo, além da imensa quantidade de água utilizada. Segundo RAMIREZ *et al.* (2003), curtumes empregam cerca de 30 a 40 litros de água para processar 1 kg de pele verde.

Segundo Thanikaivelan *et al.* (2004) o uso de processos biotecnológicos (como o emprego de enzimas) pode levar a uma diminuição da carga poluente gerada por estas indústrias.

1.2 Utilização de Enzimas no Processamento de Couros

A utilização de enzimas no processamento de couros iniciou-se na etapa de purga com o objetivo de promover uma profunda e eficiente remoção de gorduras, epiderme e pêlos remanescentes. Historicamente o processo utilizava pâncreas bovino moído, o qual produz tripsina, uma enzima proteolítica. Contudo, ao longo das últimas décadas, a produção de enzimas evoluiu, e, atualmente são comercializadas enzimas obtidas a partir de diversas fontes (fungos, bactérias, plantas e animais).

Enzimas são proteínas de ação catalítica, que possuem a capacidade de promover ou facilitar a ocorrência de determinadas reações químicas, aumentando a velocidade destas reações.

Dentre as enzimas existentes, aquelas que são de interesse para a indústria do couro são:

- Proteases, que hidrolisam a fração protéica do sulfato de dermatana (proteoglicano presente na matriz extracelular), liberando a parte polissacarídica do mesmo, tornando as fibras de colágeno mais acessíveis à água e diminuindo a fixação do pigmento da capa basal ao couro, além de atuarem na remoção de proteínas globulares do sangue;
- Lipases, que atuam nas gorduras da carne e graxas e óleos produzidos nas glândulas;
- Queratinases, que hidrolisam a chamada alfa-queratina do pêlo, rompendo as pontes dissulfeto dessa molécula;
- Elastases, cujo substrato é a elastina (constituinte da pele e vasos sangüíneos).

Conforme Thanikaivelan *et al.* (2004), as principais vantagens da utilização de enzimas na etapa de remolho são: a reidratação mais eficiente da pele, melhor abertura da fibra (maior penetração dos reagentes), degradação e dispersão de gorduras, remoção de carboidratos e de proteínas da pele.

No caleiro, a utilização de enzimas é focada na remoção do pêlo. Nesta etapa, o sistema mundialmente mais utilizado com este propósito ainda é o cal/sulfeto de sódio. A grande vantagem da utilização de enzimas na depilação é a conservação do pêlo, uma vez que o substrato preferencial da enzima é a α-queratina (presente na epiderme, raiz do pêlo e membrana basal).

Gehring *et al.* (2002) empregaram uma mistura de enzimas derivadas de bactérias *Streptomyces griseus*, para depilar peles bovinas. Os estudos demonstraram que a temperatura de retração, as propriedades físicas, o nivelamento, a intensidade do tingimento e a aparência superficial do desenho da pele obtidos foram comparáveis com o processo convencional.

Atualmente, não há no mercado, enzimas capazes de realizar a depilação sem auxilio de produtos químicos. Contudo, pesquisas recentes têm relatado a depilação completa das peles com uso apenas de enzimas com ação sobre a queratina (Macedo *et al.*, 2005; Sivasubramanian *et al.*, 2008).

A purga é etapa de produção de couros, onde a aplicação de enzimas foi pioneira. Eram utilizadas enzimas empiricamente, obtidas a partir do pâncreas bovino ou suíno. Atualmente, já são aplicadas enzimas do cultivo de microorganismos. Durante o processo de purga da pele, as enzimas podem atuar na remoção de pêlos e epiderme degradados, promover a remoção de proteínas não estruturais e facilitar a remoção de carboidratos.

No desengraxe, a enzima é muito usada em processos de pele de ovelha e com altos níveis de gordura. Nesta etapa, são necessárias a quebra da membrana protéica onde está a gordura, a remoção da gordura e sua emulsificação. As enzimas que devem ser usadas são: enzimas proteolíticas e lipases; O uso de tensoativos combinados produz um bom efeito sinérgico, junto com as enzimas nesta etapa (Aquim *et al.*, 2008).

No tingimento, as enzimas possuem função de abertura/quebra das fibras para recebimento de corantes com pouca difusão ou ainda afinidade química. As enzimas também proporcionam o aumento do esgotamento do banho de tingimento e da penetrabilidade do corante, bem como intensificação da cor (Aquim *et al.*, 2008).

Swarna *et al.* (2008) estudaram a influência de uma colagenase bacteriana no tingimento de couros, concluindo que a exaustão do banho, a penetração do corante e a intensidade da cor podem ser melhoradas com a adição de 0,1% desta enzima em pH 7 por 60 minutos e 40°C.

Neste trabalho avaliou-se a utilização de algumas enzimas disponíveis comercialmente nos processos de remolho, caleiro e purga. Foram desenvolvidos 27 testes visando avaliar a ação enzimática das diversas enzimas utilizadas em cada uma das etapas.

2. Materiais e Métodos

A pele utilizada nos testes foi fornecida por um curtume da região previamente salgada e descarnada. Cada um dos testes utilizou aproximadamente 225g de pele provenientes de diferentes regiões do grupão. Foram analisadas as etapas de remolho, depilação/caleiro e purga, por meio de testes em fulões de bancada com rotação e temperatura controladas.

Uma caracterização prévia da pele foi feita com o intuito de quantificar a eficiência de remoção de proteínas e lipídeos pelas enzimas em cada um dos processos testados. Para isso foram feitas análises de nitrogênio em peles (segundo a norma ASTM D 2868/2007), matéria volátil (NBR 8290/1983 da ABNT) e teor de substâncias extraíveis com diclorometano (NBR 11030/1997 da ABNT).

As oito enzimas utilizadas nos testes foram fornecidas por 3 empresas. A empresa A forneceu uma enzima de purga (A1). A empresa B forneceu uma lipase (B1), uma protease (B2) e uma enzima de purga (B3). A empresa C forneceu uma enzima de remolho (C1), uma enzima de caleiro (C2), uma enzima de purga (C3) e uma lípase (C4). Os percentuais de enzima aplicados nos testes foram sugeridos pelos fabricantes. Todas as enzimas, bem como os demais reagentes utilizados nos testes e análises encontram-se disponíveis no mercado.

2.1 - Remolho

Os testes de remolho foram processados em fulões de bancada à temperatura de 28°C e agitação de 20 rpm. A quantidade de aditivos foi calculada sobre a massa de pele processada.

Utilizaram-se 12 formulações diferentes, onde foram variados o tempo de processamento, tipo de enzima e concentração. Em todos os testes foram adicionados 200%

de água e 0,3% de carbonato de sódio, além dos demais insumos descritos na tabela 1 abaixo.

Os processos também se diferenciaram com respeito ao tipo de tensoativo empregado. Os processos puramente químicos (testes 1, 2 e 3) empregam o tenso-ativo T1 com o percentual indicado pelo fabricante. Já os processos auxiliados por enzimas (teste 4 a 12) utilizam tensoativo T2 (indicado para este tipo de processo), também na proporção indicada pelo fabricante.

Com a finalidade de quantificar os resultados dos testes de remolho, foram feitas análises de teor de cloretos em banhos (de acordo com a NBR 13337/1995 da ABNT), sólidos dissolvidos totais fixos e voláteis (NBR 14550/2000 da ABNT), nitrogênio total de Kjeldahl (ASTM D2868/2007), teor de matéria volátil (NBR 8290/1983 da ABNT) e análise de substâncias extraíveis com diclorometano (NBR 11030/1997 da ABNT).

Tabela 1. Descrição dos insumos, tempos de processamento e percentuais mássicos de aplicação de insumos nos testes de remolho.

	Tempos de processo	*Tipo e percentual de enzima aplicados*	*Tipo e percentual de tensoativo empregados*
Teste 1	1 hora	0%	T1 - 0,15%
Teste 2	2 horas	0%	T1 - 0,15%
Teste 3	4 horas	0%	T1 - 0,15%
Teste 4	1 hora	B1 - 0,03% B2 - 0,07%	T2 - 0,02%
Teste 5	2 horas	B1 - 0,03% B2 - 0,07%	T2 - 0,02%
Teste 6	4 horas	B1 - 0,03% B2 - 0,07%	T2 - 0,02%
Teste 7	1 hora	C1 - 0,3%	T2 - 0,02%
Teste 8	2 horas	C1 - 0,3%	T2 - 0,02%
Teste 9	4 horas	C1 - 0,3%	T2 - 0,02%
Teste 10	4 horas	C1 - 0,6%	T2 - 0,02%
Teste 11	4 horas	B2 - 0,07%	T2 - 0,02%
Teste 12	4 horas	B1 - 0,03%	T2 - 0,02%

2.2 – Caleiro

Nesta etapa verificou-se a influência da quantidade e do tipo de enzima no processo de depilação da pele. O tempo total de processamento foi fixado em 16 horas e 15 minutos para todos os testes. Os insumos foram dosados no decorrer das primeiras 4 horas e 15 minutos, a temperatura e rotação foram mantidas em 28°C e 20 RPM, respectivamente. As 12 horas seguintes de processamento utilizaram rotação de 10 rpm e a temperatura citada anteriormente.

Avaliaram-se as quantidades de carbono orgânico total presentes nos banhos ao final de cada processo. Para realização destas análises foi utilizado o Total Organic Carbon Analyzer TOC – V CSH (Shimadzu).

A tabela 2 a seguir indica as formulações utilizadas nos testes de caleiro.

Tabela 2. Formulação utilizada nos testes de caleiro.

	Água	*Cal*	*Sulfeto de sódio*	*Tipo de tensoativo - percentual*	*Tipo de enzima - percentual*
Teste 1	200%	4%	2,5%	T1 - 0,1%	0%
Teste 2	90%	2,60%	1%	T1 - 0,1%	0%
Teste 3	90%	2,60%	1%	T2 - 0,1%	C2 - 0,2% C4 - 0,03%
Teste 4	90%	2,60%	1%	T2 - 0,1%	C2 - 0,4% C4 - 0,06%
Teste 5	90%	2,60%	1%	T2 - 0,1%	B1 - 0,04% B2 - 0,1%
Teste 6	90%	2,60%	1%	T2 - 0,1%	B1 - 0,08% B2 - 0,2%

2.3 – Purga

A etapa de purga foi realizada sem a divisão da pele, o que tornou a desencalagem menos eficiente em termos de tempo. O processo de desencalagem das peles foi realizado em duas etapas, sendo que na primeira etapa este processo utilizou água (400%), sulfato de amônio (0,3%) e tensoativo (0,02%). A segunda etapa de desencalagem ocorreu paralelamente à purga, onde foi adicionado água (270%), sulfato de amônio (0,3%), tensoativo (0,18%), auxiliar de desencalagem (1,2%) e enzima (0,06%). Este processo foi comum a todos os testes de purga realizados.

Na purga, foram utilizadas 9 formulações distintas, extrapolando o tempo de processo e também a enzima utilizada. Nesta etapa utilizou-se temperatura de 36°C e rotação de 20 rpm. A descrição dos testes encontra-se na tabela 3 abaixo.

Tabela 3. Descrição dos insumos, tempos de processamento e percentuais mássicos de aplicação nos testes de purga.

	Tipo de enzima - Percentual	*Tempo de processo*
Teste 1	A1 - 0,06%	30 minutos
Teste 2	A1 - 0,06%	3 horas
Teste 3	A1 - 0,06%	6 horas
Teste 4	B3 - 0,06%	30 minutos
Teste 5	B3 - 0,06%	3 horas
Teste 6	B3 - 0,06%	6 horas
Teste 7	C3 - 0,06%	30 minutos
Teste 8	C3 - 0,06%	3 horas
Teste 9	C3 - 0,06%	6 horas

Com a finalidade de analisar os resultados destes testes, foram feitas análises para a determinação do teor de

nitrogênio amoniacal nos banhos de acordo com uma modificação no método de Nitrogênio total de Kjeldahl (ASTM D2868/2007), onde a etapa de digestão da amostra foi suprimida, restando apenas a destilação e titulação, conforme a metodologia citada.

Além das análises de nitrogênio amoniacal, o teor de carbono orgânico total também foi verificado utilizado o Total Organic Carbon Analyzer TOC – V CSH (Shimadzu).

3. Resultados e Discussões

Ao total, foram feitos 27 testes (12 de remolho, 6 de caleiro e 9 de purga). Estes testes foram analisados de acordo com os ensaios citados anteriormente, cujos resultados médios (cada ensaio foi realizado em triplicata) são apresentados abaixo.

Inicialmente, apresenta-se o resultado para os ensaios de caracterização da pele, feitos com o objetivo de demonstrar os percentuais de gordura, nitrogênio e água presentes na pele salgada, antes do início do processamento, com o intuito de posteriormente avaliar a remoção dos mesmos ao longo de cada etapa.

A tabela 4 apresenta os valores médios para os ensaios (realizados em triplicata) com seus respectivos desvios padrão.

Tabela 4. Resultados dos ensaios de nitrogênio, matéria volátil e substâncias extraíveis com diclorometano para a pele utilizada

Percentual mássico	Valor Médio	Desvio Padrão
Gorduras	1,384	0,1357
Nitrogênio	7,721	0,431
Matéria Volátil	46,328	0,231

Na seqüência serão apresentados os resultados dos ensaios obtidos para os testes de remolho. Estes ensaios analisaram a concentração de cloretos, sólidos dissolvidos e nitrogênio presentes no banho, bem como o percentual de água e gorduras remanescente presentes na pele. O objetivo destes ensaios é observar a abertura das fibras colagênicas, que pode ser medida indiretamente por meio dos fatores citados anteriormente.

A Figura 1 apresenta o gráfico do ensaio para a determinação de cloretos nos banhos. O gráfico apresenta os valores médios de concentração de cloretos, onde é possível perceber que o maior resultado (66,07 g/l) foi obtido no ensaio do teste 10 (0,6% w/w da enzima C1 em 4 horas de processamento) e o menor (52,3 g/l) para o teste 1 (químico em 1 hora de processamento).

Fica claro nestes casos que o tempo é a variável de maior importância na remoção de cloretos. Devido à baixa penetração do sal na pele, o uso de enzimas e sua conseqüente abertura de fibras, não se faz necessário.

O resultado para a análise de sólidos dissolvidos é apresentado na Figura 2. Este gráfico mostra a média da concentração de sólidos fixos, voláteis e totais obtidas para os testes de remolho.

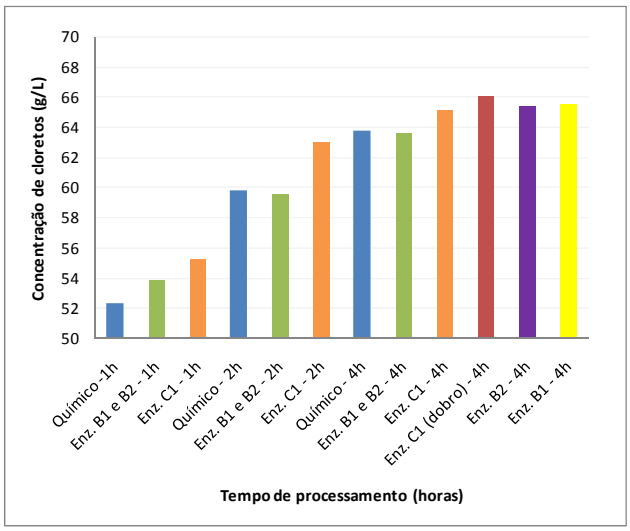

Figura 1. Concentração de cloretos (g/l) obtida para os banhos de remolho.

A maior diferença proporcional entre o menor e o maior valor foi obtida para os sólidos dissolvidos voláteis (35%), seguido pelos sólidos dissolvidos totais (25%) e sólidos dissolvidos fixos (24%), entre os testes 2 e 10.

A enzima utilizada no teste 10 (enzima C1-0,6%) demonstrou melhores resulltados neste tipo de ensaio. Percebe-se neste ensaio que a concentração de sólidos dissolvidos voláteis é superior às demais. Uma vez relacionada a quantidade de sólidos voláteis à matéria orgânica, conclui-se que a ação da enzima foi maior neste caso.

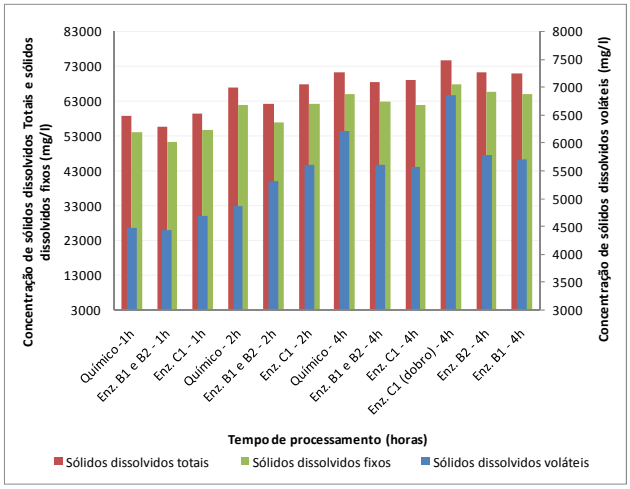

Figura 2. Concentração de sólidos dissolvidos totais, fixos e voláteis obtidos para os banhos dos testes de remolho.

O ensaio para determinação de nitrogênio total, segundo o método de Kjeldahl, foi o menos confiável

dentre os ensaios realizados devido à elevada discrepância entre as triplicatas. Para estes ensaios o desvio padrão foi considerado alto (alcançando, em alguns casos 58% do valor da média). No entanto, os resultados são apresentados na Figura 3, a seguir.

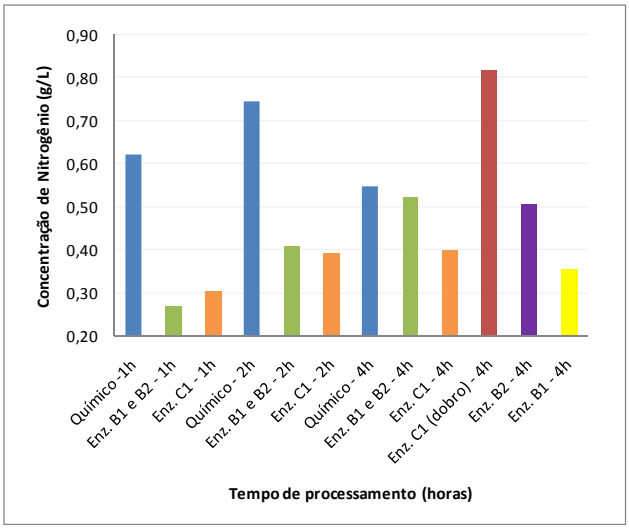

Figura 3. Concentração de nitrogênio total, segundo método de Kjeldahl para os banhos de remolho.

Estes resultados não condizem com o que era esperado, uma vez que a concentração de nitrogênio nos banhos de remolho foi muito maior para o processo químico que para os processos co-enzimáticos. Apenas o teste 10 apresentou valores superiores aos obtidos pelos testes químicos.

A determinação de matéria volátil é apresentada no gráfico da Figura 4. Uma vez que este ensaio ocorre à temperatura de 100°C, a matéria que é evaporada a esta temperatura é água, logo este ensaio relaciona a quantidade de água absorvida pela pele. Neste gráfico, destaca-se a ação da enzima C1, que é em torno de 3%, superior às demais. Levando a pele a absorver em torno de 24% (teste 9) de água, considerando-se o percentual de água existente na pele salgada (de acordo com a tabela 4).

A determinação de gorduras foi realizada por meio do ensaio que determina a quantidade de substância extraíveis com diclorometano. Neste caso, altos percentuais de gordura na pele significam baixa remoção de gordura pelas enzimas. A Figura 5 apresenta o gráfico gerado nestes ensaios para os testes de remolho.

Na etapa de caleiro, o único ensaio apresentado para os testes será o de determinação de carbono orgânico total (TOC). Uma vez que, testes preliminares indicaram falta de confiabilidade nos resultados obtidos pelos ensaios de nitrogênio NTK e que as análises em Microscópio Eletronico de Varredura não foram concluidas para todas as amostras.

A Figura 6 a seguir, apresenta o gráfico que aponta as concentrações de carbono orgânico nos banhos dos testes de caleiro. Vale salientar que estes ensaios foram feitos apenas sobre a parte líquida da amostra. A análise dos sólidos, embora importante, não foi concluída até o momento.

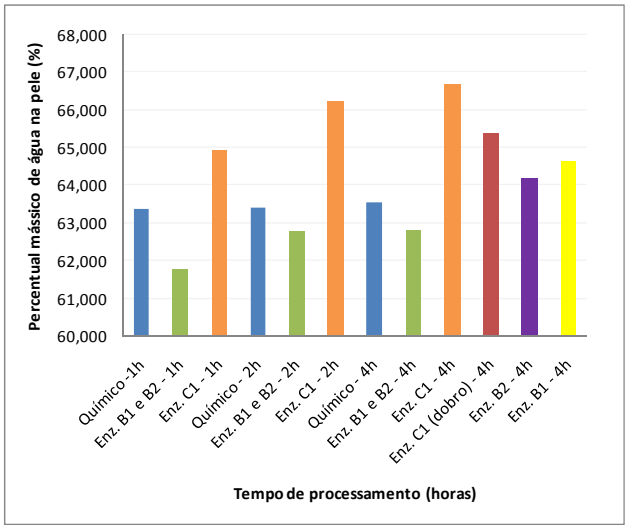

Figura 4. Percentual de matéria volátil sobre o peso da pele para os banhos de remolho.

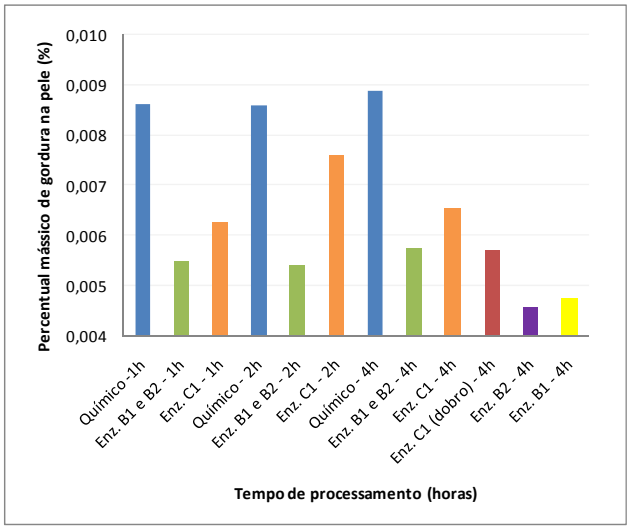

Figura 5. Percentual de substâncias extraíveis em diclorometano (sobre o peso da pele) nos testes de remolho.

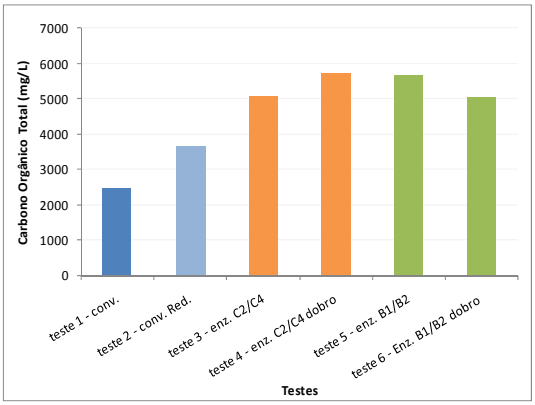

Figura 6. Concentração de Carbono Orgânico Total presente no final dos banhos nos testes de caleiro.

Avaliando-se o gráfico da figura 5, percebe-se que o melhor resultado foi obtido pelo processo 11, que curiosamente utiliza apenas uma protease. É bem provável, que para os testes 2, 5 e 8 houve uma inibição competitiva entre as enzimas e o substrato, o que pode ser comprovado pela utilização em separado destas enzimas (testes 11 e 12).

No caso do gráfico mostrado na figura 6, os testes 4 e 5 apresentaram os maiores percentuais de carbono orgânico no banho, o que indica uma maior ação enzimática sobre a pele. Percebe-se também nesta análise, que a adição do dobro de enzimas não leva necessariamente a maiores valores de TOC (testes 5 e 6) .

Na etapa de purga foram realizados ensaios para a determinação de nitrogênio amoniacal e carbono orgânico total (TOC). Os resultados obtidos para estes testes podem ser observados nas Figuras 7 e 8, respectivamente.

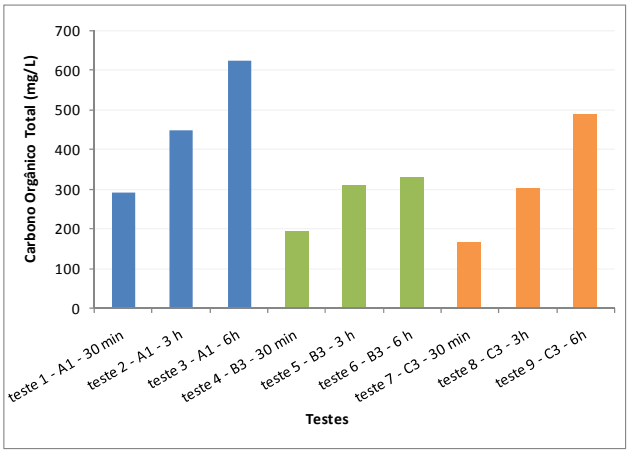

Figura 7. Concentração de carbono orgânico total presente nos banhos de purga

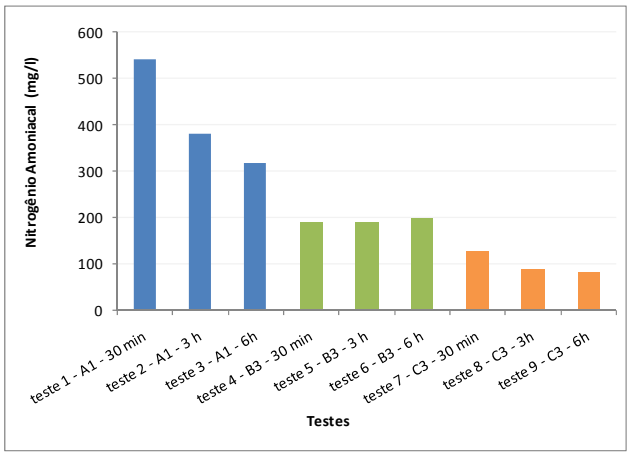

Figura 8. Concentração de nitrogênio amoniacal presente nos banhos de purga.

Os ensaios de TOC apresentaram um aumento contínuo, com relação ao tempo de processamento (fig. 7). Nestes testes percebe-se a ação superior da enzima A1, que em 30 minutos de processamento apresentou percentual de remoção para o banho próximo aos obtidos pelas enzimas B3 e C3 em três horas de processamento.

Neste caso, também não foram avaliados, com relação ao percentual de TOC os lodos (parte sólida) gerados em cada teste.

O ensaio para determinação de nitrogênio amoniacal (fig. 8) apresentou comportamento inesperado. Para as enzimas B3 e C3, a concentração de nitrogênio amoniacal praticamente manteve-se constante ao longo do tempo. Já para a enzima A1, além da maior concentração obtida em todos os tempos, houve um decréscimo acentuado com relação ao tempo.

4. Conclusão

A utilização de enzimas no processamento de couros ainda possui inúmeros fatores que devem ser estudados.

Para o LACOURO, este trabalho é um estudo preliminar, no qual o objetivo principal é a aquisição de *know-how* dos processos biotecnológicos, visando à produção de enzimas mais específicas para aplicação em couro.

Atualmente, está em andamento a etapa posterior do trabalho: a caracterização das enzimas comercialmente disponíveis, com a finalidade de descobrir o pH, temperatura e percentual de aplicação ótimos, bem como o substrato preferencial e as substâncias inibidoras.

Com base nos dados apresentados, para o processo de remolho, as enzimas C1 em concentração 0,6% e B2 0,07%, testes 10 e 11 de remolho, seriam as mais indicadas. Já no caleiro, os testes 4 e 5 apresentaram resultados semelhantes, podendo ser escolhidos como melhores. Na etapa de purga o destaque foi para a enzima A1.

No entanto, apenas após a caracterização enzimática será possível confirmar estas afirmações, visto que estes processos podem ter sido desenvolvidos longe da condição ideal, podendo desenvolver um comportamento totalmente diferente na situação de idealidade.

5. Referências

AQUIM, P.M.; MANCOPES, F.; GUTTERRES, M. Emprego de enzimas como processo alternativo de ribeira na produção de couro, XVII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Recife – Brasil, 2008.

GEHRING, A.G.; DIMAIO, G.L.; MARMER, W.N; MAZENKO, C.E. Unhairing with Proteolytic Enzymes Derived from Streptomyces Griseus. J. of Am. Leather Chem. Assoc., vol. 97, n. 10, 406-412, 2002.

GUIA BRASILEIRO DO COURO, ABQTIC, Estância Velha, 2008.

MACEDO, A.J.; SILVA, W.O.B.; TERMIGNONI, C. Proprieties of a non collagen-degrading Bacillus

subtilis keratinase. Journal Microbiology, v. 54, p. 180-188, 2005.

RAMIREZ *et al.*. Proceso de Ribeira: Revvisión a los Procesos Químicos. XXVII Congreso IULTCS (International Union of leather technologistics and Chemists Societies), Cancún, México, 2003.

SILVEIRA, M.; W.; Horizontes para o couro. Jornal Exclusivo, disponível em WWW.exclusivo.com.br

/?noticias/56222/horizontes+para+o_couro.html

SIVASUBRAMANIAN, S.; MANOHAR, B.M.; RAJARAM, A.; PUVANAKRISHNAN, R. Ecofriendly lime and sulfide free enzymatic dehairing of skins and hides using a bacterial alkaline protease. Chemosphere, v. 70, p. 1015-1024, 2008.

SWARNA, V. K; VENBA, R.; MADHAN, B.; CHANDRABABU, N. K.; SADULLA, N.; STUDIES ON THE INFLUENCE OF BACTERIAL COLLAGENASE IN LEATHER DYEING. DYES AND PIGMENTS, V. 76, P. 338-347, 2008.

HANIKAIVELAN, P.; RAO, J.R.; NAIR B.U.; RAMASAMI, T. Progress and recent trends in biotechnological methods for leather processing, Trends in Biotechnology, v. 22, 2004.