

Giselle Silveira Netto Machado Centenaro

**AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS PARA A BIODEGRADAÇÃO
E REMOÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS**

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

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Débora de Oliveira

Coorientadora: Dr.^a Alessandra Valério

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pela autora
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Centenaro, Giselle Silveira Netto Machado

Avaliação de estratégias para a biodegradação e remoção de corantes têxteis / Giselle Silveira Netto Machado Centenaro; orientadora, Débora de Oliveira, coorientadora, Alessandra Valério, 2017.

119 p.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Engenharia Química. 2. Corantes têxteis. 3. Enzimas. 4. Espuma de poliuretano. 5. Quitosana. I. de Oliveira, Débora. II. Valério, Alessandra. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título

Giselle Silveira Netto Machado Centenaro

**AValiação DE ESTRATÉGIAS PARA A
BIODEGRADAÇÃO E REMOÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS**

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

Florianópolis, 24 de Julho de 2017.

Prof.^a Dr.^a Cíntia Soares
Coordenadora do Curso

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

Dr.^a Aleksandra Valério
Coorientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Banca Examinadora:

Dr.^a Mara Cristina Picoli Zenevich, UFSC

Dr. Lindomar Lerin, UFSC

Dr. Luís Antonio Lourenço, UFSC

Este trabalho é dedicado à
minha família, ao meu namorado
Pedro e aos meus amigos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, a professora Débora de Oliveira pela pronta disponibilidade em me conduzir na construção deste trabalho.

À minha coorientadora, Dr.^a Alessandra Valério por todo auxílio, sugestões, paciência, amizade e companheirismo.

À colega Janaína de Souza Lima pela colaboração nas análises enzimáticas e por suas valorosas sugestões.

Ao colega Tarcísio Wolff Leal pelo auxílio nas isotermas de adsorção e também pelas agradáveis conversas.

Aos membros da banca pela disponibilidade em avaliar este trabalho.

Aos colegas do LABSIN/LABMASSA pela convivência agradável que tivemos.

Ao LABMASSA/EQA/UFSC pelas instalações.

A CAPES pelo financiamento desta pesquisa.

*“A inspiração existe, mas ela precisa
te encontrar trabalhando”.*
Pablo Picasso

RESUMO

O setor têxtil é de vital importância econômica para o país, entretanto os corantes sintéticos utilizados nos processos constituem uma importante classe de poluentes orgânicos, cuja descarga no meio ambiente implica em efeitos nocivos para a vida aquática e para a população em geral. Os processos de remoção de corantes de meios aquosos por biodegradação enzimática e também por adsorção são bastante atrativos. Assim, no presente trabalho investigou-se a degradação de corante reativo RB198 pela enzima *Horseradish peroxidase* (HRP) livre e imobilizada (*in situ* e imobilização covalente), e a remoção por adsorção em espuma de poliuretano modificada com quitosana. Constatou-se que a HRP, tanto em sua forma livre quanto imobilizada *in situ*, apresentou atividade na degradação das soluções de corante, todavia foi observada lixiviação da enzima do suporte após o primeiro ciclo de utilização. Então, avaliou-se a capacidade de remoção de cor pela enzima imobilizada covalentemente na espuma de poliuretano através da formação do complexo EPU-Peroxidase-quitosana, onde se verificou que toda a remoção de corante da solução foi devida à adsorção em quitosana. Assim, modificou-se a superfície de espuma de poliuretano com quitosana (0,51 wt%) e aplicou-se para remoção de corantes têxteis por adsorção. Através deste método de remoção de corante, foi possível reduzir a cor das soluções em até 99%. A cinética do processo de adsorção foi melhor ajustada ao modelo de pseudo-segunda ordem, evidenciando ser a quimissorção a etapa limitante. A EPU-Quitosana foi avaliada para a adsorção de outros corantes têxteis, onde apresentou percentual de remoção de cor superior a 48% para estes corantes. Ainda, o adsorvente demonstrou boa capacidade de remoção de corante RB198 mesmo após realização de sete ciclos consecutivos de reuso.

Palavras-chave: corantes têxteis, degradação enzimática, *Horseradish peroxidase*, espuma de poliuretano, quitosana, adsorção.

ABSTRACT

The textile sector is of vital economic importance for the country, however the synthetic dyes used in the processes constitute an important class of organic pollutants, whose discharge into the environment implies harmful effects to the aquatic life and to the population in general. The processes for removing aqueous media dyes by enzymatic biodegradation and also by adsorption are quite attractive. Thus, the present work investigated the degradation of reactive dye RB198 by the free and immobilized *Horseradish peroxidase* (HRP) enzyme (in situ and covalent immobilization), and the removal by adsorption in polyurethane foam modified with chitosan. HRP, both in its free form and in situ immobilized, showed activity in the degradation of the dye solutions, however leaching of the enzyme from support was observed right after the first cycle of use. Then, the color removal ability was assessed by the enzyme covalently immobilized on the polyurethane foam through the formation of the EPU-Peroxidase-chitosan complex, where all dye removal from the solution was found to be due to adsorption on chitosan. Thus, the surface of polyurethane foam was modified with chitosan (0,51 wt%) and applied for removal of textile dyes by adsorption. Through this method of dye removal, it was possible to reduce the color of the solutions by up to 99%. The kinetics of the adsorption process was better adjusted to the pseudo-second order model, evidencing that the chemisorption was the limiting step. The EPU-Chitosan was evaluated for the adsorption of other textile dyes, where it had a percentage of color removal of more than 48% for these dyes. Furthermore, the adsorbent showed good ability to remove RB198 dye even after seven consecutive cycles of reuse.

Keywords: textile dyes, enzymatic degradation, *Horseradish peroxidase*, polyurethane foam, chitosan, adsorption.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Etapas do processamento têxtil simplificado	30
Figura 2 – Despejos provenientes do processamento de algodão e sintéticos.....	38
Figura 3 – Comparação da análise espectrofotométrica de uma amostra de efluente têxtil comparada ao padrão permitido.....	39
Figura 4 – Estrutura molecular da quitosana	52
Figura 5 - Fluxograma da metodologia de testes.....	57
Figura 6 – Reação de conversão do ABTS em ABTS ^{•+} catalisada pela enzima HRP.	58
Figura 7 - Imobilização in situ da enzima HRP.....	60
Figura 8 - Procedimento para imobilização covalente da HRP em EPU	61
Figura 9 - Representação esquemática da modificação da EPU.	63
Figura 10 – Possíveis formatos de isoterma de adsorção.	65
Figura 11 – Influência da concentração da solução enzimática (0,05 mg.mL ⁻¹ a 0,5 mg.mL ⁻¹) na degradação do corante RB198 (50 mg.L ⁻¹), a 30 °C, 150 rpm, por 360 minutos, onde (I) representa o desvio padrão amostral de remoção de cor.....	70
Figura 12 – Percentual de remoção de corante RB198 (50 mg.L ⁻¹), preparado em tampão fosfato 50 mM (pH 7), 0,5 mg.mL ⁻¹ HRP, a 30 °C, 150 rpm, por 360 minutos, em função da concentração de peróxido de hidrogênio H ₂ O ₂ no intervalo de concentração de 0 a 1% (v/v), onde (I) representa o desvio padrão amostral de remoção de cor.	72
Figura 13 – Influência da temperatura na faixa de 15 a 60 °C na descoloração de soluções de RB198 (50 mg.L ⁻¹) preparadas em tampão fosfato 50 mM (pH 7), 0,5 mg.mL ⁻¹ HRP, 150 rpm, por 360 minutos, onde (I) representa o desvio padrão amostral.....	74
Figura 14 – Avaliação da descoloração das soluções aquosas de corante RB198 (50 mg.L ⁻¹), enzima 0,5 mg.mL ⁻¹ , H ₂ O ₂ 0,1% (v/v) em função do pH variando na faixa de 3 a 11, onde (I) representa o desvio padrão amostral da remoção de cor.....	75
Figura 15 – Efeito da concentração inicial de corante RB198 (10 a 100 mg.L ⁻¹) no percentual de remoção de cor pela enzima HRP (0,5 mg.mL ⁻¹), em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5), 30 °C, 150 rpm, por 360 minutos, onde (I) representa o desvio padrão amostral da remoção de corante.	77

Figura 16 – Remoção de corante RB198 (50 mg.L ⁻¹) preparado em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) pela enzima HRP (0,5 mg.mL ⁻¹), utilizando 0,1% (v/v) de H ₂ O ₂ , 150 rpm, 30 °C, por 240 minutos.....	78
Figura 17 – Degradação enzimática do corante RB198 (50 mg.L ⁻¹) em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5), H ₂ O ₂ 0,1% (v/v) pela EPU-HRP na faixa de concentrações de (■) 0,23 mg.mL ⁻¹ , (●) 0,45 mg.mL ⁻¹ , (▲) 0,67 mg.mL ⁻¹ e (▼) 0,87 mg.mL ⁻¹ , a 30 °C, 150 rpm, por 240 minutos.....	80
Figura 18 – (a) Imagem de MEV para espuma de poliuretano contendo enzima HRP imobilizada <i>in situ</i> (50 x) e (b) Imagem de MEV para EPU-HRP após o primeiro ciclo de utilização (50 x).	83
Figura 19 – (a) Espectro FT-IR obtido para a espuma de poliuretano e (b) Espectro FT-IR para a espuma de poliuretano modificada com quitosana.	86
Figura 20– Ajuste dos dados experimentais aos modelos de isoterma de Langmuir (—) e Freundlich (---), para o corante RB198 preparado em solução tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) na faixa de concentrações de 10 a 350 mg.L ⁻¹ , após adsorção em EPU-Quitosana (255 mg) por 24 h, a 30 °C e 150 rpm.	88
Figura 21 – Adsorção de RB198 (50 mg.L ⁻¹) preparado em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) em EPU-Quitosana (255 mg), 30 °C, 150 rpm, por 24 h.....	90
Figura 22 – Ajuste dos dados experimentais de adsorção de RB198 (50 mg.L ⁻¹ , pH 5) em EPU-Quitosana (255 mg) ao (a) modelo cinético de pseudo-primeira ordem e (b) modelo cinético de pseudo-segunda ordem.	91
Figura 23 – Ajuste dos dados experimentais ao modelo cinético de difusão intrapartícula para a adsorção de RB198 (50 mg.L ⁻¹ , pH 5) em EPU-Quitosana (255 mg) por 180 minutos, 150 rpm, a 30 °C.....	92
Figura 24 – Avaliação da capacidade de reuso da EPU-Quitosana (255 mg) para adsorção de RB198 (50 mg.L ⁻¹) preparado em solução tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5), a 30 °C, 150 rpm, por 60 minutos.	95
Figura 25 – (a) Imagem de MEV para EPU-Quitosana (50x) e (b) Imagem de MEV para EPU-Quitosana (50x) após o sétimo ciclo de utilização consecutivo.	96
Figura 26 – (a) Varreduras espectrais para os corantes (a) RB221, (b) RB21, (c) RR195, (d) Preto Remazol B e (e) Azul Lanaset 2R, antes e após adsorção em EPU-Quitosana (255 mg), 150 rpm, 30 °C, por 24 h.	97

TABELAS

Tabela 1 – Composição dos efluentes têxteis do tingimento de algodão.....	39
Tabela 2 - Propriedades da enzima <i>Horseradish peroxidase</i> (HRP).....	55
Tabela 3 – Influência da quantidade de quitosana, enzima e EPU no percentual de remoção de cor, para os ensaios conduzidos em shaker a 30 °C, 150 rpm, por 24 h.	84
Tabela 4 – Ajuste dos dados experimentais aos modelos de isoterma de Langmuir e Freundlich para o corante RB198 preparado em solução tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) na faixa de concentrações de 10 a 350 mg.L ⁻¹ , após adsorção em EPU-Quitosana (255 mg) por 24 h, a 30 °C e 150 rpm.....	88
Tabela 5 – Fator de separação (R _L) calculado para a adsorção de RB198 preparado em solução tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) na faixa de concentrações de 10 a 350 mg.L ⁻¹ , após adsorção em EPU-Quitosana (255 mg) por 24 h, a 30 °C e 150 rpm.....	89
Tabela 6 – Ajuste dos dados experimentais aos modelos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e difusão intrapartícula (por 180 minutos) para adsorção de RB198 (50 mg.L ⁻¹ , pH 5) em EPU-Quitosana (255 mg), 150 rpm, 30°C.	93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- Δ Abs – Absorbância inicial – Absorbância final
1/n – Fator de heterogeneidade
A – Atividade enzimática (U.mL⁻¹)
ABIT – Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção
Abs_{final} – Absorbância final
Abs_{inicial} – Absorbância inicial
ABTS – Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
ATR – Refletância Total Atenuada Horizontal
C – Constante de modelo de difusão intrapartícula relacionado à difusão intrapartícula (mg.g⁻¹)
C₀ – Concentração inicial da solução (mg.L⁻¹)
C_e – Concentração da solução em equilíbrio (mg.L⁻¹)
CONMETRO – Conselho Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
C_t – Concentração da solução no tempo t (mg.L⁻¹)
EPU – Espuma de poliuretano
FTIR – Espectroscopia de Infravermelho
HRP – *Horseradish peroxidase*
k₁ – Constante de taxa de adsorção de pseudo-primeira ordem (min⁻¹)
k₂ – Constante de taxa de adsorção de pseudo-segunda ordem (g.mg⁻¹.min⁻¹)
K_F – Constante de Freundlich (L.mg⁻¹)
K_L – Constante de Langmuir (L.mg⁻¹)
k_p – Constante de difusão intrapartícula (mg.g⁻¹.min^{-1/2})
m – Massa de adsorvente (mg)
MEV – Microscopia eletrônica de varredura
PCZ – Ponto de Carga Zero
q_e – Quantidade adsorvida por grama do adsorvente no equilíbrio (mg.g⁻¹)
q_{e, calc} – Quantidade de corante adsorvida no equilíbrio calculada pelo ajuste dos dados aos modelos (mg.g⁻¹)
q_{máx} – Capacidade máxima de adsorção por grama do adsorvente (mg.g⁻¹)
q_t – Quantidade adsorvida por grama do adsorvente no tempo t (mg.g⁻¹)
RB198 – Azul Reativo 198
RB21 – Azul Reativo 21
RB221 – Azul Reativo 221
R_L – Fator de separação
RR195 – Vermelho Reativo 195

SINTEX – Sindicato das Indústrias de Fiação, Tecelagem e do Vestuário de Blumenau

t – Tempo (min)

TDI – Tolueno di-isocianato

V – Volume de solução (mL)

V_{extrato} – Volume do solução enzimática (mL)

V_{total} – Volume total (mL)

wt% - Fração mássica

ϵ – coeficiente de extinção molar ($M^{-1}.cm^{-1}$)

λ – comprimento de onda (nm)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	23
1.1. OBJETIVOS	25
1.1.1 <i>Objetivo Geral</i>	25
1.1.2 <i>Objetivos específicos</i>	25
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
2.1 A INDÚSTRIA TEXTIL NO BRASIL	27
2.1.1 <i>O processo produtivo</i>	27
2.1.2 <i>Tingimento de tecidos</i>	30
2.1.2.1 <i>Montagem</i>	31
2.1.2.2 <i>Fixação</i>	32
2.1.2.3 <i>Tratamento Final</i>	33
2.1.3 <i>Corantes têxteis</i>	33
2.1.3.1 <i>Corantes reativos</i>	34
2.1.3.2 <i>Corantes ácidos</i>	36
2.2 EFLUENTES TÊXTEIS	36
2.2.1 <i>Caracterização dos efluentes têxteis</i>	36
2.2.2 <i>Tratamento de efluentes coloridos</i>	40
2.2.2.1 <i>Adsorção</i>	42
2.2.2.2 <i>Biorremediação utilizando enzimas</i>	43
2.3 ENZIMAS	44
2.3.1 <i>Peroxidases</i>	45
2.3.2 <i>Imobilização de enzimas</i>	46
2.4 ESPUMA FLEXÍVEL DE POLIURETANO	48
2.5 QUITOSANA	51
2.6 CONSIDERAÇÕES SOBRE O ESTADO DA ARTE	53
3. MATERIAL E MÉTODOS	55
3.1 MATERIAIS	55
3.1.1 <i>Corantes</i>	55
3.1.2 <i>Enzima</i>	55
3.1.3 <i>Reagentes</i>	56
3.1.4 <i>Equipamentos</i>	56
3.2 MÉTODOS	57
3.2.1 <i>Determinação da atividade enzimática</i>	57
3.2.2 <i>Determinação da quantidade de proteína</i>	59
3.2.3 <i>Degradação enzimática de corante RB198</i>	59
3.2.4 <i>Imobilização da enzima HRP</i>	60
3.2.5 <i>Degradação enzimática do corante RB198 pela enzima</i> <i>imobilizada in situ e covalente</i>	62
3.2.6 <i>Modificação da EPU</i>	62
3.2.7 <i>Caracterização da EPU</i>	63

3.2.8	<i>Isotermas de adsorção</i>	64
3.2.8.1	<i>Isoterma de Langmuir</i>	65
3.2.8.2	<i>Isoterma de Freundlich</i>	66
3.2.9	<i>Cinética de adsorção</i>	67
3.2.10	<i>Determinação da capacidade de reuso do adsorvente</i>	68
3.2.11	<i>Adsorção dos demais corantes</i>	68
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
4.1	REMOÇÃO ENZIMÁTICA DE CORANTE TÊXTIL	69
4.1.1	<i>Determinação da quantidade de proteína</i>	69
4.1.2	<i>Determinação da concentração ótima de enzima</i>	69
4.1.3	<i>Concentração ótima de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)</i>	71
4.1.4	<i>Influência da temperatura</i>	73
4.1.5	<i>Influência do pH</i>	75
4.1.6	<i>Efeito da concentração inicial de corante</i>	76
4.1.7	<i>Tempo ideal de contato</i>	78
4.1.8	<i>Aplicação da EPU-HRP na degradação de corante</i>	79
4.1.9	<i>Caracterização da espuma de poliuretano contendo enzima imobilizada in situ</i>	82
4.1.10	<i>Aplicação da EPU-Peroxidase-quitosana na degradação de corante</i>	83
4.2	ADSORÇÃO DE CORANTE NA SUPERFÍCIE MODIFICADA DA ESPUMA DE POLIURETANO	85
4.2.1	<i>Caracterização da EPU-Quitosana</i>	85
4.2.2	<i>Ajuste das isotermas</i>	87
4.2.3	<i>Cinética de adsorção</i>	90
4.2.5	<i>Reuso do adsorvente</i>	94
4.2.6	<i>Avaliação da remoção dos demais corantes reativos</i>	96
5.	CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	99
5.1	CONCLUSÕES	99
5.2	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	99
6.	REFERÊNCIAS	101

1. INTRODUÇÃO

O setor de manufatura de produtos têxteis apresenta vital importância à economia do Brasil, empregando diretamente cerca de 1,6 milhão de trabalhadores nas mais de 30 mil empresas instaladas em seu território. Com isto, o país detém o quinto lugar no ranking dos maiores produtores de artigos têxteis e ocupa a quarta posição entre os maiores produtores mundiais de vestuário (SINTEX, 2015; ABIT, 2013).

Sabe-se que a indústria têxtil é consumidora de grandes quantidades de água para o desenvolvimento de suas atividades, e ao mesmo tempo uma enorme fonte geradora de efluentes (BABU et al., 2007; KOCABAS et al., 2009; OZTURK et al., 2016 a, b). Assume-se que para cada quilograma de material têxtil processado sejam gastos, em média, 100 litros de água. Assim, para uma produção anual de 30 milhões de toneladas de têxteis, o consumo total de água pode ultrapassar 3000 milhões de m³ (TURCANU; BECHTOLD, 2017). Destes, estima-se que 88% sejam descartados na forma de efluente líquido e que o restante se perca por evaporação (LEÃO, 2002).

O efluente têxtil gerado é normalmente composto por surfactantes, corantes e pigmentos que não se fixaram à fibra, resinas, agentes quelantes e dispersantes, sais inorgânicos, metais pesados e demais substâncias que possam ter sido empregadas durante o processamento das fibras (AMIN; BLACKBURN, 2015; DASGUPTA et al., 2015; ISLAM, 2016), possuindo assim alta demanda química de oxigênio (OZTURK et al., 2016 a, b). Estima-se que cerca de 10 a 15% do total de corantes produzidos e utilizados nas indústrias têxteis nos processos de tingimento sejam liberados no meio ambiente (DALVAND et al., 2016).

A presença de corantes em corpos d'água é altamente detectável e indesejável, uma vez que mesmo em baixas concentrações, estes já são capazes de alterar sua coloração (RAMAKRISHNA; VIRARAGHAVAN, 1997; NIGAM et al., 2000; ROBINSON et al., 2001), reduzindo a capacidade de penetração da luz e afetando negativamente a capacidade de realização da fotossíntese pela flora aquática (ROBINSON; CHANDRAN; NIGAM, 2002). Além disto, a síntese da maioria dos corantes é feita empregando substâncias carcinogênicas bastante conhecidas como a benzidina e outros compostos aromáticos (FORGACS; CSERHÁTI; OROS, 2004; SARAYU; SANDHYA, 2012).

Para o tingimento de substratos têxteis, a combinação de corante e fibra mais utilizada é a de corante reativo e fibra de algodão, uma vez que estes corantes, além de possuírem uma variada gama de cores brilhantes, apresentam elevada solidez à lavagem e versatilidade nos métodos de aplicação (KING, 2007; TURCARNU; BECHTOLD, 2017). No entanto, esta combinação, além de requerer maiores volumes de água por quilograma de fibra durante o tingimento, ainda eleva o volume de sais, álcalis e matéria-orgânica descartada no efluente (SMITH, 2003; KHATRI et al., 2015).

Por destacar-se como uma das maiores contribuintes para a poluição ambiental (CHRISTIE, 2007), a indústria têxtil está sujeita a legislação específica que determina o tratamento prévio e a descoloração de seus efluentes antes do momento de seu despejo (ROBINSON et al., 2001; BECHTOLD; BURTSCHER; HUNG, 2004; FORGIARINI, 2006; FARIAS, 2013).

Portanto, dada à alta relevância do tema, a literatura apresenta uma ampla gama de técnicas para remoção de corantes em águas residuárias, destacando-se os processos de adsorção em matrizes orgânicas e inorgânicas (CRINI, 2006; CRINI; BADOT, 2008; BALDEZ; ROBAINA; CASELLA, 2008; GUPTA; SUHAS, 2009; LEE et al., 2009; WAN NGAH; TEONG; HANAFIAH, 2011; SILVEIRA NETA et al., 2011; EL-BOURAIIE, 2015; KONG et al., 2016), estratégias de descoloração por processos oxidativos, como por exemplo, a fotocatalise (JUNG; KIM, 2014; KUMAR et al., 2014; REDDY; MA; KIM, 2015), decomposição de corantes por microrganismos (KHATAEE et al., 2010; SARAYU; SANDHYA, 2012; SHABBIR et al., 2017) ou enzimas (FORGIARINI, 2006; FARIAS, 2013; JIANG et al., 2014; SUN et al., 2015), dentre outras metodologias (FORGACS; CSERHÁTI; OROS, 2004; BRILLAS; MARTÍNEZ-HUITLE, 2015).

As técnicas baseadas em processos adsorptivos destacam-se pela sua simplicidade de aplicação e elevada eficiência na remoção de poluentes recalcitrantes aos métodos convencionais de tratamento de efluentes, sendo ainda economicamente viáveis quando são empregados materiais adsorventes de baixo custo (ROBINSON et al., 2001; FORGACS; CSERHÁTI; OROS, 2004; LEE et al., 2009).

Nesse contexto, o desenvolvimento de materiais poliméricos adsorventes a base de quitosana destaca-se como um campo em expansão na área da ciência da adsorção (CRINI; BADOT, 2008). A quitosana, um tipo de biopolímero abundante na natureza, oferece uma

série de vantagens quando comparada a outros adsorventes: é ambientalmente amigável, renovável, hidrofílica e economicamente acessível, cuja cinética de adsorção dá-se de maneira bastante rápida (LEE et al., 2009). Este biopolímero é considerado um bom adsorvente de corantes catiônicos e aniônicos, e ainda possui elevada capacidade de remoção de metais pesados (WAN NGAH; TEONG; HANAFIAH, 2011).

Já entre as estratégias de remoção de corantes empregando enzimas observa-se uma ampla utilização de peroxidases (E.C. 1.11.1.7), enzimas da classe das oxirredutases, as quais contêm em sua estrutura tridimensional o grupo heme, e que se caracterizam por reduzirem peróxido de hidrogênio (H_2O_2) enquanto catalisam a oxidação de uma variedade de compostos orgânicos (VEITCH, 2004; MALANI; KHANNA; MOHOLKAR, 2013; PEREIRA et al., 2014; SUN et al., 2017). Entre estas, a enzima *Horseradish peroxidase* (HRP), extraída do rábano (*A Armoracia rusticana*) (VEITCH, 2004), destaca-se por sua disponibilidade, facilidade de obtenção e grande número de potenciais aplicações (MONIER et al., 2010).

Assim, a partir destas considerações, no presente trabalho será avaliada a eficiência de remoção de corantes reativos em meio aquoso pela enzima *Horseradish peroxidase* livre e imobilizada em espuma de poliuretano e também pela adsorção do corante na espuma de poliuretano modificada com quitosana.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a degradação de corantes têxteis em meio aquoso pela enzima *Horseradish peroxidase* e a remoção por adsorção em espuma flexível de poliuretano modificada com quitosana.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar a concentração ideal de enzima *Horseradish peroxidase* em sua forma livre para a remoção do corante azul reativo 198 em meio aquoso.
- Determinar as condições ideais do meio: quantidade de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), temperatura, pH, concentração inicial de corante e tempo de contato para atuação da enzima *Horseradish*

peroxidase, na forma livre, para degradação enzimática do corante RB198.

- Avaliar a remoção de cor da solução do corante RB198 pela enzima *Horseradish peroxidase* imobilizada *in situ* e covalentemente em espuma flexível de poliuretano (EPU) através da formação de um complexo peroxidase-quitosana.
- Avaliar a remoção de corante RB198 em solução pela espuma flexível de poliuretano modificada com quitosana.
- Determinar os parâmetros cinéticos da adsorção de corante RB198 em EPU modificada com quitosana.
- Avaliar a possibilidade de reuso do adsorvente EPU-Quitosana para a remoção de corante RB198 em meio aquoso.
- Avaliar a remoção de cor de outros corantes reativos e ácidos através da adsorção em EPU-Quitosana.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Este capítulo é destinado a situar o presente trabalho dentro da grande área de pesquisa do qual faz parte. Para isto, serão destacados aspectos da indústria têxtil e a sua problemática de geração de efluentes coloridos, bem como os principais métodos utilizados para o seu tratamento, enfatizando a técnica de degradação por enzimas e ainda a remoção destes corantes através da adsorção empregando materiais alternativos como a espuma de poliuretano e quitosana.

2.1 A INDÚSTRIA TEXTIL NO BRASIL

Segundo dados da Associação Brasileira da Indústria Têxtil (ABIT, 2013), o setor têxtil é o segundo maior empregador da indústria de transformação no Brasil, perdendo apenas para o setor produtivo de alimentos e bebidas. O país apresenta em seu território um total de 31,9 mil indústrias têxteis que empregam diretamente 1,6 milhão de pessoas. Somente no estado de Santa Catarina estão instaladas 4,9 mil indústrias do setor, o que representa 15,3% do total do país, e que empregam cerca de 300 mil funcionários, equivalente a 19,1% da mão de obra ocupada na cadeia têxtil brasileira. Destas, 27% correspondem a indústrias de manufatura têxtil e 14,3% são confecções (SINTEX, 2015).

De acordo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) a indústria têxtil contribui com 11,65% do total de riquezas geradas no estado de Santa Catarina, ficando atrás apenas do setor alimentício (24,22%) e do setor de máquinas e equipamentos (13,56%). Nos anos 2010 a 2014 observou-se um aumento de 3,5% no número de indústrias têxteis no Brasil e de 12,5% no estado de Santa Catarina (SINTEX, 2015).

2.1.1 O processo produtivo

O processo produtivo da indústria têxtil pode ser simplificado nas seguintes operações interdependentes: obtenção de fibras têxteis, fiação, tecelagem, beneficiamento/acabamento, finalizando no processo de lavanderia e confecção (BABU et al., 2007; SANTIAGO, 2011).

Pela resolução do Conselho Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (CONMETRO, 2008):

Fibra têxtil ou filamento têxtil é toda a matéria natural, de origem vegetal, animal ou mineral,

assim como toda matéria artificial ou sintética, que por sua alta relação entre seu comprimento e seu diâmetro, e ainda, por suas características de flexibilidade, suavidade, elasticidade, resistência, tenacidade e finura está apta às aplicações têxteis.

De acordo com Guaratini e Zanoni (2000) as fibras têxteis naturais mais utilizadas são as baseadas em proteína (polímero complexo composto por diferentes aminoácidos), como lã e seda, e as fibras baseadas em celulose (cadeias poliméricas lineares de glucose). Já entre as fibras sintéticas destacam-se: a viscose (xantato de celulose obtida a partir da madeira), o acetato de celulose (triacetato de celulose obtido a partir da madeira), a poliamida (condensação do ácido adípico e hexametileno diamina), o poliéster (polímero do ácido tereftálico e etilenoglicol) e o acrílico (polimerização da acrilonitrila) (OLIVEIRA 1997; GUARATINI; ZANONI, 2000).

As fibras têxteis são submetidas ao processo de fiação e através deste é obtido o fio. Nos processos de fiação, as fibras são basicamente abertas e limpas, orientadas em uma mesma direção, paralelizadas e então torcidas de maneira que se prendam umas as outras através do atrito (BASTIAN, ONISHI, 2009). De maneira geral, o fio pode ser definido como sendo um agrupamento de fibras lineares ou filamentos, que formam uma linha continua com características têxteis como, por exemplo, durabilidade e flexibilidade (CHAIM, 2013).

A etapa de tecelagem ocorre após o processo de fiação, e é composta de duas etapas: a de preparação para a tecelagem e a tecelagem. Para que estejam prontos para serem processados nos teares, os fios devem passar pela urdição e pela engomagem na etapa de preparação para a tecelagem (ALCÂNTARA; DALTIM, 1996; BELTRAME, 2000; SANTIAGO, 2011).

O processo de urdição consiste na construção de um sistema de fios paralelos, individualizados, de igual comprimento e tensão, posicionados no sentido longitudinal, na ordem exata exigida pelo tecido final, sendo esse sistema enrolado em um eixo chamado rolo de urdume. Após ser submetido à urdição, o rolo de urdume é então engomado. A etapa de engomagem consiste em revestir os fios de urdume com uma substância coloidal adesiva e filmógena (goma) que leva à aglutinação das fibras de forma a tornar sua superfície mais lisa e lubrificada, evitando a projeção de pontas, deixando-os assim mais resistentes às solicitações mecânicas a que são submetidos durante a tecelagem, e evitando o rompimento dos fios, o que leva a um aumento

na eficiência da tecelagem (ARAÚJO; CASTRO, 1986; SILVA, 2007; CHAIM, 2013).

Finalizada a etapa de preparação para a tecelagem, é realizada a tecelagem. A tecelagem é o cruzamento em ângulos retos de dois sistemas de fios paralelos chamados teia ou urdume e trama, em um aparelho especial denominado tear. Esse cruzamento se dá de maneira que cada fio da trama fique por cima ou por baixo de determinados fios do urdume. Através do processo de tecelagem podem ser obtidos dois produtos diferentes entre si por sua estrutura e geometria: o tecido plano e a malha (ALCÂNTARA; DALVIN, 1996; SILVA, 2007; CHAIM, 2013).

Em seguida, tem-se a etapa de beneficiamento têxtil, que é composta de processos variados podendo ser divididos em beneficiamento primário, secundário e terciário, os quais visam à melhoria das características físico-químicas de fibras, fios, tecidos planos, malhas e peças confeccionadas. As principais operações ou processos dessas etapas envolvem os processos de desengomagem, pré-alveijamento ou cozimento, alveijamento e merceirização, compreendendo o beneficiamento primário, seguido pelo beneficiamento secundário, que envolve o tingimento ou a estamparia do substrato têxtil, e por fim o beneficiamento terciário, que envolve diversas operações de acabamento e que são realizadas de acordo com a finalidade a que se destina o produto final (ARAÚJO; CASTRO, 1986; ALCÂNTARA; DALVIN, 1996; BASTIAN; ONISHI, 2009; SARAYU; SANDHYA, 2012; CHAIM, 2013).

Na sequência produtiva estão as lavanderias. As lavanderias utilizam basicamente dois processos em sua linha de produção: a lavagem e a secagem de produtos têxteis. Lavanderias industriais podem atuar tanto como elemento final do processo produtivo de empresas de confecção e de vestuário ou como no atendimento da demanda de algumas empresas como hotéis, motéis, restaurantes, hospitais e clínicas que terceirizam a lavagem de roupas de cama, mesa e banho, e uniformes bem como outros tipos de materiais têxteis (BRITO, 2013; CHAIM, 2013).

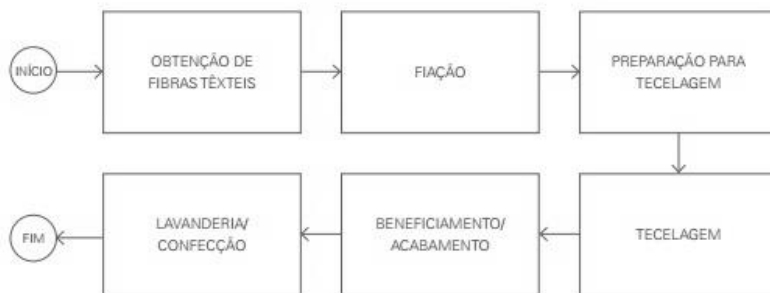
Quando atua como elemento final de um processo produtivo, observa-se que as lavanderias vêm buscando a melhoria da qualidade e a geração de efeitos diferenciados nas peças confeccionadas. Para isto, são executadas diferentes etapas de acabamento como desengomagem, amaciamento, tingimento, envelhecimento, alveijamento e outros, sendo que cada peça possui uma receita de lavagem e um procedimento

bastante específico de beneficiamento para que seja agregado o máximo de valor comercial (BASTIAN; ONISHI, 2009; BRITO, 2013; CHAIM, 2013).

Por fim, a última etapa do processo produtivo têxtil, compreende as confecções e as facções, as quais são responsáveis pelos processos de corte, costura e acabamentos diversos dos produtos têxteis (BASTIAN; ONISHI, 2009).

A Figura 1 apresenta um esquema simplificado das etapas do processamento têxtil.

Figura 1 – Etapas do processamento têxtil simplificado



Fonte: Bastian e Onishi (2009).

2.1.2 Tingimento de tecidos

O processo de adição de cor às fibras têxteis é chamado de tingimento (BABU et al., 2007; SARAYU; SANDHYA, 2012) e acontece normalmente na etapa de beneficiamento secundário (FARIAS, 2013). Após receber coloração, além de possuir padronagem e beleza de cor, é desejável que o substrato têxtil tingido apresente elevado grau de fixação do corante à fibra, evitando assim seu desbotamento quando submetido à luz, transpiração e lavagem. Tais características dependem fundamentalmente do tipo de corante empregado no processo de tingimento, o qual deve apresentar além de alta afinidade pela fibra têxtil, boa uniformidade na coloração e resistência elevada aos agentes causadores de desbotamento (ALCÂNTARA; DALVIN, 1996; GUARATINI; ZANONI, 2000; SARAYU; SANDHYA, 2012).

Sendo assim, a etapa de tingimento é constituída de uma variedade de operações dependentes do tipo de fibra a ser tingida e de fatores relacionados às características do corante empregado, bem como

da tecnologia disponível e da viabilidade econômica do processo (ABRAHANT, 1977; ZOLLINGER, 1991). De modo geral, fibras celulósicas são tingidas por corantes reativos, diretos, naftol e índigo. Já as fibras proteicas são tingidas utilizando corantes ácidos ou reativos, enquanto as fibras sintéticas apresentam maior afinidade pelos corantes dispersos, básicos e também pelos corantes diretos (GHALY et al., 2014). Atualmente, a classe dos corantes reativos representa 50% do total de corantes empregados para o tingimento de fibras celulósicas, em sua grande maioria o algodão (TURCANU; BECHTOLD, 2017).

Dependendo do tipo de tingimento realizado, fazem-se necessários alguns aditivos químicos como metais, sais, surfactantes, auxiliares orgânicos, sulfetos e até mesmo formaldeído, a fim de facilitar a adsorção do corante nas fibras (SARAYU; SANDHYA, 2012).

Considera-se que o processo de tingimento de fibras têxteis ocorra em três etapas: a montagem, a fixação e o tratamento final (ALCÂNTARA; DALVIN, 1996; GUARATINI; ZANONI, 2000; BELTRAME, 2000; FARIAS, 2013).

2.1.2.1 Montagem

A montagem é a etapa inicial do tingimento onde ocorre a transferência por difusão do corante disperso em solução para a superfície das fibras têxteis, onde deve ocorrer o processo de adsorção (ALCÂNTARA; DALVIN, 1996; LANGE, 2004). Esta etapa pode ser feita de duas maneiras: em processos descontínuos, por esgotamento, ou em processos contínuos, por impregnação ou foulardagem (ALCÂNTARA; DALVIN, 1996; LANGE, 2004; AHMED; EL-SHISHTAWY, 2010; FARIAS, 2013).

No processo de tingimento por esgotamento o tecido deve permanecer por longo tempo em contato com o banho de tingimento (ALCÂNTARA; DALVIN, 1996), e a coloração do substrato têxtil ocorre devido à substantividade do corante, que consiste na migração do corante em direção as fibras (LANGE, 2004). Dessa forma, é observada a ocorrência de quatro etapas consecutivas: desagregação do corante no banho, difusão e adsorção na superfície das fibras, difusão na fibra e fixação (FARIAS, 2013). Tais etapas são favorecidas pela agitação mecânica do banho, bem como emprego de temperatura adequada ao tingimento e ainda à aplicação de auxiliares ao sistema corante/fibra (ARAÚJO; CASTRO, 1986).

Quando a montagem ocorre por processos contínuos, são utilizados equipamentos chamados Foulards (FARIAS, 2013), onde utiliza-se uma força mecânica para que ocorra o contato entre o corante e a fibra têxtil (ALCÂNTARA; DALTIM, 1996). Neste processo, o tecido passa por um banho de corante e é então submetido à prensagem entre dois rolos, sendo posteriormente enrolado e coberto para que a reação se processe (*pad-batch*) (ALCÂNTARA; DALTIM, 1996).

A realização de umectação homogênea do tecido durante a passagem pelo banho de corante é fundamental para que o tingimento ocorra de maneira uniforme, uma vez que a velocidade de montagem do corante é muito alta nos primeiros minutos do processo devido à alta concentração de corante no banho e à baixa ocupação dos sítios reativos do tecido (ALCÂNTARA; DALTIM, 1996; LANGE, 2004).

Neste tipo de tingimento a substantividade do corante é indesejável, uma vez que não se deseja o esgotamento do banho, mas sim uma repartição uniforme do corante à largura e comprimento do tecido (LANGE, 2004). São observadas as seguintes etapas no tingimento contínuo: impregnação das fibras com o banho, uniformização do banho nas fibras e difusão do corante no interior da fibra com posterior fixação (FARIAS, 2013).

2.1.2.2 Fixação

A segunda etapa fundamental do processo de tingimento é chamada de fixação, que consiste na reação entre o corante e a fibra têxtil, e geralmente ocorre em meio aquoso (ALCÂNTARA; DALTIM, 1996; GUARATINI; ZANONI, 2000).

De maneira geral, a fixação do corante pode ocorrer através de quatro tipos de interações: ligações iônicas, ligações de hidrogênio, de Van der Waals e covalentes. As ligações iônicas ocorrem nos tingimentos baseados em interações mútuas entre o centro positivo dos grupamentos amino e carboxilatos presentes na fibra e a carga iônica da molécula do corante ou vice-versa. Já as interações de hidrogênio ocorrem pela ligação de átomos de hidrogênio presentes na molécula do corante a par de elétrons livres de átomos doadores nos centros presentes na fibra (GUARATINI; ZANONI, 2000).

Ainda, interações de Van der Waals ocorrem em tingimentos baseados na interação proveniente da aproximação máxima entre os orbitais π do corante e da molécula da fibra, fazendo com que haja uma “ancoragem” do corante sobre a fibra devido à afinidade existente entre

eles, todavia sem formar uma ligação química propriamente dita. Por fim, as interações covalentes ocorrem entre a molécula do corante que contém o grupo eletrofílico e os resíduos nucleofílicos da fibra (GUARATINI; ZANONI, 2000).

2.1.2.3 Tratamento Final

O tratamento final é uma etapa destinada à remoção do excesso de corante têxtil que não foi fixado à fibra. Para isto, é realizado um ensaboamento, ou seja, um banho a quente utilizando surfactantes, seguido de enxagues sucessivo (ALCÂNTARA; DALVIN, 1996).

2.1.3 Corantes têxteis

Para conferir cor a um produto têxtil lança-se mão de um aditivo colorante, que pode ser um corante ou um pigmento, e cuja característica principal é a capacidade de absorver luz na região do visível (ASGHER, 2012). A diferença básica entre corantes e pigmentos reside no tamanho de partícula de cada um e também em sua solubilidade no meio em que é inserido, sendo esta característica conferida pela presença de certos grupamentos químicos na estrutura do composto (SARON; FELISBERTI, 2006). Pigmentos são tipicamente insolúveis e apresentam baixa afinidade pelas fibras, sendo necessária a aplicação de resinas ligantes a fim de fazer com que haja adesão dos pigmentos aos substratos (HERBST; HUNGER, 2004; FORGIARINI, 2006).

Os corantes são em sua grande maioria moléculas sintéticas derivadas de intermediários do petróleo e alcatrão que contêm dois componentes principais: o grupamento cromóforo responsável por conferir cor, e o grupo auxocromo que contém elétrons capazes de retirar ou doar substituintes, causando ou intensificando a cor dos cromóforos, atuando assim como um complemento ao cromóforo, e fundamentais na solubilidade da molécula e na capacidade de ligação destas às fibras têxteis (GUPTA; SUHAS, 2009). Os grupos cromóforos podem ser azos (-N=N-), carbonila (-C=O), metino (=C-H-), nitro (-NO₂) e os quinoídes entre outros, enquanto os auxocromos de maior relevância são as aminas (-NH₃), as carboxilas (-COOH), os sulfonatos (-SO₃H) e as hidroxilas (OH-) (SARAYU; SANDHYA, 2012).

O grupamento cromóforo mais representativo na atualidade é o azo ($-N=N-$), presente em cerca de 70% dos corantes mais utilizados no mundo para o tingimento de fibras têxteis (KUNZ et al., 2002; BRILLAS; MARTÍNEZ-HUITLE, 2015). Os corantes azoicos são compostos aromáticos que possuem grande variedade de estrutura química, e que apresentam elevada estabilidade química, biológica e fotocatalítica, além de resistência a degradação pelo tempo, pela exposição à luz solar, microrganismos e tensoativos (SAVIN; BUTNARU, 2008).

Existem várias maneiras de classificar os corantes, como por exemplo, de acordo com a sua estrutura química, e assim sendo classificado em orgânicos e inorgânicos, também por sua aplicação, fixação, solidez, entre outras (KUNZ et al., 2002; HERBST; HUNGER, 2004; BASTIAN; ONISHI, 2009; GHALY et al., 2014). Comumente, corantes são conhecidos como ácidos, básicos, diretos, reativos, a cuba, a enxofre, dispersos, complexos metálicos entre outros, incluindo os antraquinônicos, indigóides, e os derivados de trifenilmetil (tritol) e ftalocianinas (FORGACS et al., 2004; ASGHER, 2012; BRILLAS; MARTÍNEZ-HUITLE, 2015).

Apesar da grande variedade de estruturas químicas possíveis encontradas para os corantes, estes se resumem em aniônicos, catiônicos e não iônicos (ROBINSON et al., 2001; MIRZAEI et al., 2016). Os corantes ácidos são negativamente carregados, enquanto corantes básicos são positivamente carregados e os reativos são aniônicos (BRILLAS; MARTÍNEZ-HUITLE, 2015). A escolha do corante nos processos de tingimento é dada em função da fibra e varia de uma indústria para outra (GHALY et al., 2014).

2.1.3.1 Corantes reativos

Os corantes reativos, também conhecidos como corantes reativos à fibra, constituem a mais importante classe de corantes sintéticos utilizados na atualidade para o tingimento de fibras celulósicas como o algodão, mas que também são empregados com sucesso no tingimento de algumas fibras proteicas como a seda e a lã (GHALY et al., 2014; AMIN; BLACKBURN, 2015). Estima-se que a produção anual desta classe de corantes seja de 150.000 – 200.000 toneladas (GHALY et al., 2014; TURCANU; BECHTOLD, 2017) e sua popularidade como corante para fibras celulósicas deve-se a sua ampla gama de cores e tonalidades oferecidas, somada à sua flexibilidade de aplicação e

elevada solidez à lavagem (LEWIS, 2014), uma característica bastante atrativa que resulta da formação de ligações covalentes entre o corante e as hidroxilas das fibras (AMIN; BLACKBURN, 2015).

Corantes reativos são moléculas aniônicas solúveis, cujos grupos cromóforos apresentam-se normalmente como sendo do tipo azo ou antraquinonas, e cujo grupamento reativo pode ser heterocíclico como a mono clorotriazina, tri cloro pirimidina ou difluoro cloro pirimidina, ou ainda uma dupla ligação como, por exemplo, vinil sulfona (MAHMOUD et al., 2007; ASGHER, 2012).

Muitos dos corantes reativos utilizados atualmente são compostos por dois grupamentos reativos, e assim são conhecidos como bifuncionais sendo ditos homobifuncionais quando estes dois grupos reativos são idênticos, ou heterobifuncionais quando são diferentes (KHATRI et al., 2015). Em geral, corantes reativos homobifuncionais contêm dois grupamentos mono clorotriazina, enquanto os corantes reativos heterobifuncionais apresentam um grupamento mono clorotriazina e um grupamento vinil sulfona (GHALY et al., 2014).

A utilização destes dois grupos reativos em uma molécula corante resulta em uma eficiência maior de fixação desta à fibra, uma vez que, tecnicamente, aumenta-se a probabilidade de reação com a fibra (SHORE, 2002). Isto é altamente desejável tanto em termos econômicos quanto ambientais, pois uma vez que se aumenta a fixação do corante à fibra, diminui-se o percentual de corante não fixado que é descartado no efluente (KHATRI et al., 2015). Estima-se que sob condições alcalinas a fixação de corantes reativos contendo apenas um grupo reativo seja algo entre 50 a 70%, enquanto a fixação de corantes reativos com dois grupamentos seja de 80 a 95% (GHALY et al., 2014).

Existem ainda corantes reativos polifuncionais, cujas moléculas são compostas por mais que dois grupos reativos. Esta incorporação de grupamentos reativos adicionais é feita a fim de aumentar ainda mais a fixação dos corantes às fibras. Todavia, a presença destes grupamentos extras impacta em propriedades importantes dos corantes como a sua substantividade e capacidade de migração do meio para a fibra, o que se deve ao tamanho maior da molécula e alterações no modo de reação desta (TAYLOR, 2000; LEWIS, 2014; KHATRI et al., 2015).

O tingimento de algodão empregando corantes reativos gera efluentes com alta carga de elementos poluentes, pois durante o tingimento de fibras celulósicas com corantes reativos, as moléculas destes encontram-se solubilizadas no meio e são repelidas pela superfície negativamente carregada das fibras, fazendo-se necessário o

emprego de um sal como o cloreto de sódio ou o sulfato de sódio a fim de promover a transferência do corante à superfície da fibra, bem como facilitar sua penetração no interior desta e assim aumentar a fixação (GORDON; HSIEH, 2007; KHATRI et al., 2014). A quantidade de sal a ser empregada é de até 2 kg por kg de fibra, e depende de fatores como a estrutura química do corante, intensidade da cor desejada e também do tipo de tingimento. Uma vez que se atinge a quantidade ideal estimada de corante adsorvida a superfície da fibra têxtil, é feita a adição de um álcali como o carbonato de sódio, bicarbonato de sódio ou hidróxido de sódio ao banho de tingimento a fim de dar início à reação entre a fibra e o grupo reativo do corante. As quantidades de álcali bem como o tipo a ser adicionado são dependentes do pH ideal de tingimento que atende às características particulares da fibra e do corante (KHATRI et al., 2015).

Ao contrário de alguns corantes como os diretos, a cuba, a enxofre e outros, os corantes reativos não fixados à fibra e que são descartados juntamente com o efluente não podem ser recuperados a fim de serem reutilizados, pois durante o processo de tingimento ocorre a sua hidrólise (KHATRI et al., 2015).

3.1.3.2 Corantes ácidos

Corantes ácidos são corantes aniônicos que possuem de um a três grupos sulfônicos, que por serem ionizáveis tornam o corante bastante solúvel em meio aquoso. Tais corantes caracterizam-se por serem substâncias com estrutura baseada em compostos azo, antraquinona, triarilmetano, azina, xanteno, ketonimina, nitro e nitroso, que fornecem uma ampla faixa de coloração e grau de fixação. Durante o processo de tingimento, o corante é neutralizado e liga-se a fibra através de troca iônica envolvendo o par de elétrons livres do grupo amino e carboxilatos das fibras protéicas, na forma não protonada (GUARATINI; ZANONI, 2000).

2.2 EFLUENTES TÊXTEIS

2.2.1 Caracterização dos efluentes têxteis

As indústrias têxteis, em especial as que realizam processos de tingimento e acabamento de tecidos, figuram entre as maiores consumidoras de água e são, por conseguinte, uma das maiores geradoras de águas residuárias (OZTURK et al., 2009; HASANBEIGI;

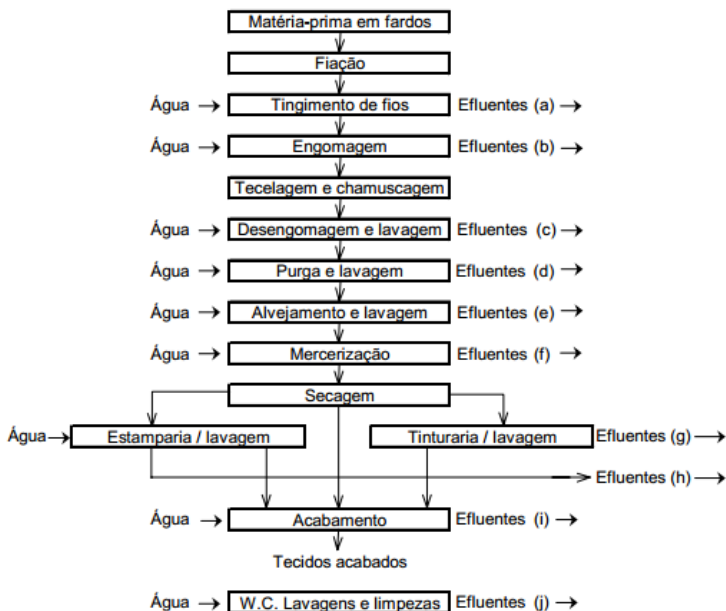
PRICE, 2015; OZTURK et al., 2016 a, b). Em estudo realizado para avaliar o consumo de água limpa de uma indústria têxtil na Turquia, onde é realizado o tingimento e acabamento de materiais em algodão e poliéster, foram encontrados valores que variaram entre 70 a 250 L.kg⁻¹ (OZTURK et al., 2016 a, b). Todavia, estima-se que a utilização de água limpa pela indústria têxtil possa variar entre 3 – 932 L.kg⁻¹ de produto dependendo do tipo de fibra e tecnologia disponível (BRIK et al., 2006; KOCABAS et al., 2009).

A natureza de cada um destes efluentes líquidos gerados pela indústria têxtil é dependente de fatores como a tecnologia dos processos industriais empregados, o tipo de fibra processada e ainda dos produtos químicos empregados neste processo (BELTRAME, 2000; BRIK et al., 2006; BABU et al., 2007; OZTURK et al., 2016 a, b). Estima-se que a quantidade de produtos químicos empregados no processo produtivo de têxteis varia entre 10 até 100% do peso de tecido processado (HENDRICKX; BOARDMAN, 1995), os quais são em grande parte despejados juntamente com o efluente líquido (DASGUPTA et al., 2015). Uma vez que há extrema diversidade de processos, matérias-primas, produtos auxiliares, técnicas e equipamentos, as características físico-químicas dos rejeitos são variadas (BABU et al., 2007; OZTURK et al., 2009; SARAYU; SANDHYA, 2012; OZTURK et al., 2016 a, b).

Os setores de beneficiamento têxtil, tais como engomagem/desengomagem e, sobretudo as etapas de tinturaria e estamparia são os principais geradores de efluente com elevado teor de carga orgânica por quilograma de matéria-prima ou produto (BRAILE; CAVALCANTI, 1993; BASTIAN; ONISHI, 2009; HASANBEIGI; PRICE, 2015; DASGUPTA et al., 2015; OZTURK et al., 2016 a, b).

A Figura 2 ilustra o processamento de tecidos de algodão e sintéticos com a caracterização do efluente gerado em cada etapa do processo.

Figura 2 – Dejeitos provenientes do processamento de algodão e sintéticos



Onde: (a) DBO alta, muitos sólidos e pH neutro a alcalino; (b) e (c) pH neutro, temperatura, DBO e teor de sólidos totais elevados; (d) temperatura elevada e altos teores de DBO, alcalinidade e teor de sólidos totais; (e) DBO elevada, pH alcalino e muitos sólidos; (f) DBO baixa, pH fortemente alcalino e poucos sólidos; (g) pH neutro a alcalino, muitos sólidos e alta DBO; (h) elevada DBO, pH alcalino; (i) elevada DBO e pH alcalino; (j) DBO, sólidos e pH alcalino.
 Fonte: Braile e Cavalcanti (1993).

A provável composição dos efluentes gerados na etapa de tingimento de algodão é também sugerida por Babu e colaboradores (2007) conforme Tabela 1.

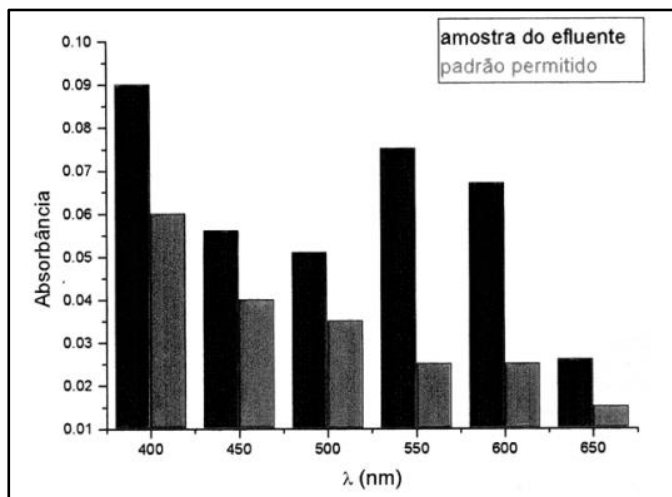
Tabela 1 – Composição dos efluentes têxteis do tingimento de algodão

Características	Valores
pH	9,8 – 11,8
Alcalinidade total (CaCO ₃)	17 - 22 mg.L ⁻¹
DBO	760 - 900 mg.L ⁻¹
DQO	1.400 - 1.700 mg.L ⁻¹
Sólidos totais	6.000 - 7.000 mg.L ⁻¹
Cromo total	10 - 13 mg.L ⁻¹

Fonte: Babu e colaboradores (2007).

Uma característica marcante do efluente têxtil é a existência de coloração devido à presença de corantes que não se fixaram à fibra do tecido na etapa de tingimento (BABU et al., 2007; DASGUPTA et al., 2015), sendo a presença destes compostos altamente detectável a olho nu mesmo em concentrações tão baixas quanto 1 ppm (GUARATINI; ZANONI, 2000; ROBINSON et al., 2001). Guaratini e Zanoni (2000) apresentaram uma análise espectrofotométrica da amostra de um efluente têxtil comparado a um padrão definido (Fig. 3).

Figura 3 – Comparação da análise espectrofotométrica de uma amostra de efluente têxtil comparada ao padrão permitido.



Fonte: Guaratini e Zanoni (2000).

Estima-se que a eficiência de fixação dos corantes às fibras esteja na faixa de 50 a 80%, fazendo com que os 20 a 50% não fixados sejam descartados juntamente no efluente líquido (SMITH, 2003; KHATRI et al., 2015). Em especial, o tingimento de algodão empregando corantes reativos resulta em efluentes altamente poluídos contendo altos teores de DBO/DQO, sais e coloração (BABU et al., 2007).

A poluição de corpos d'água por corantes é altamente indesejável uma vez que estes mesmo presentes em baixas concentrações já são suficientemente capazes de promover desequilíbrios ambientais, pois promovem a eutrofização das águas e alteram ciclos biológicos da flora aquática ao interferir na sua capacidade de realização da fotossíntese, e também ao reduzir a quantidade de oxigênio dissolvido (ROBINSON et al., 2001; KUNZ et al., 2002; ROBINSON et al., 2002; BABU et al., 2007; MIRZAEI et al., 2016). Além disto, estudos mostram que algumas classes de corantes como os azocorantes, antraquinônicos e seus intermediários apresentam efeito de toxicidade sobre populações microbianas e podem ser carcinogênicas e/ou mutagênicas para mamíferos (BABU et al., 2007; ASGHER, 2012; MIRZAEI et al., 2016).

Dessa forma, a remoção de cor dos efluentes industriais tem se tornado um problema crescente para a indústria têxtil, que deve realizar o correto tratamento de seus efluentes *in loco* antes de despejá-lo no meio ambiente, respeitando os limites de descarga de poluentes e também de coloração impostos pela legislação (BECHTOLD et al., 2004; FORGIARINI, 2006; FARIAS, 2013).

2.2.2 Tratamento de efluentes coloridos

Corantes têxteis ácidos e reativos são especialmente problemáticos, pois são capazes de passar pelos processos convencionais de tratamento de efluentes sem serem afetados de maneira significativa (MIRZAEI et al., 2016). Assim, a etapa de tratamento de efluentes empregada nas indústrias têxteis é considerada por si só como sendo um grande setor de transformação, cujas técnicas vêm sendo aperfeiçoadas nas últimas décadas com o objetivo de torná-las cada vez mais eficientes e baratas (ASGHER, 2012; KHATRI et al., 2015).

Na atualidade, os tratamentos de efluentes têxteis coloridos baseados em processos físico-químicos, químicos, biológicos, bem como os tratamentos combinados entre outras tecnologias, são

consideradas técnicas eficazes disponíveis (KUNZ et al., 2002; BABU et al., 2007; HAUSER, 2011; BRILLAS; MARTÍNEZ-HUITLE, 2015; TURCANU; BECHTOLD, 2017).

Os mecanismos para remoção de cor, em geral, envolvem a separação física do corante, bem como a desagregação ou descoloração por adsorção/biodegradação (BRILLAS; MARTÍNEZ-HUITLE, 2015). Os métodos físicos são baseados em técnicas de precipitação envolvendo a coagulação, floculação e sedimentação dos corantes, ou ainda em métodos de adsorção, que podem ser realizados utilizando adsorventes orgânicos ou inorgânicos. Dentre os métodos físicos citam-se ainda as técnicas de separação por membranas: osmose reversa, microfiltração, nanofiltração e ultrafiltração, bem como o método de troca iônica. Entre os tratamentos químicos destacam-se os processos utilizando íons hipoclorito e ozonização, bem como os processos de oxidação avançada (POAs) utilizando o reagente de Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$) e também a fotocatalise (TiO_2/UV ; $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e O_3/UV). Já entre os tratamentos biológicos também chamados de biorremediação, destaca-se o desenvolvimento de tecnologias em sistemas de lodos ativados e decomposição por culturas mistas de microrganismos aeróbios ou anaeróbios, também por cultura de fungos de podridão branca e bactérias, bem como a decomposição de corantes utilizando enzimas. Entre os métodos eletroquímicos destacam-se as técnicas de eletrocoagulação, redução eletroquímica, oxidação eletroquímica utilizando óxidos metálicos e ânodos de platina e grafite ou ânodos de diamante dopados com boro, oxidação eletroquímica indireta utilizando oxidantes fortes: eletro-oxidação utilizando cloro ativo ou eletro-Fenton; métodos eletroquímicos foto assistidos (foto eletro-Fenton ou foto eletro-catálise) e demais métodos combinados (GUTIERREZ; CRESPI, 1999; HAO et al., 2000; ROBINSON et al., 2001; VIRARAGHAVAN, 2001; NAIM; EL ABD, 2002; FORGACS et al., 2004; FU; DOS SANTOS et al., 2007; KLAVARIOTI et al., 2009; MARTÍNEZ-HUITLE; BRILLAS, 2009; SOLÍS et al., 2012; VIJAYARAGHAVAN et al., 2013; YADAV; YADAV, 2015; TURCANU; BECHTOLD, 2017).

No entanto, apesar da diversidade de técnicas propostas para o tratamento de águas residuárias coloridas, os processos de adsorção ainda são preferíveis devido à facilidade de aplicação do método aliado à sua elevada eficiência de remoção de cor (GUENDOUZ et al., 2013; MIRZAEI et al., 2016). Ainda, outra estratégia de remoção de cor bastante promissora é a biorremediação de efluentes têxteis por enzimas,

destacando-se as da classe das oxirredutases como a lacase e a peroxidase, as quais possuem vantagens em relação ao pH e a temperatura de trabalho (FORGIARINI, 2006; FARIAS, 2013).

2.2.2.1 Adsorção

Por adsorção entende-se a concentração de um material a superfície de um sólido a partir de seu ambiente líquido ou gasoso (GUPTA; SUHAS, 2009). A adsorção é um processo físico-químico muito utilizado tanto para remoção de corantes em efluentes quanto para o tratamento de águas, que consiste contatar o fluido com um material sólido poroso, podendo este ser um pó ou qualquer material granular orgânico ou inorgânico, através de um sistema batelada ou em leito fixo (KHATRI et al., 2015). Em geral, os adsorventes possuem diferentes seletividades pelos adsorvatos (CHRISTIE, 2007).

Os processos de adsorção podem ocorrer de duas maneiras distintas: física ou química. Quando a interação entre a superfície do sólido e o adsorvato dá-se de maneira puramente física, a adsorção é chamada fisissorção e deve-se basicamente à formação de fracas e reversíveis ligações de Van der Waals entre as moléculas adsorvidas e a superfície do adsorvente. Quando a interação entre as moléculas do adsorvato e a superfície do adsorvente ocorre devido à formação de ligações químicas, o processo é chamado de quimissorção (GUPTA; SUHAS, 2009). A quimissorção é em geral bastante eficiente, todavia torna a regeneração do adsorvente dispendiosa e muitas vezes inviável (BRILLAS; MARTÍNEZ-HUITLE, 2015).

Uma característica fundamental dos adsorventes é a quantidade de adsorvato que estes podem acumular em suas superfícies, sendo esta calculada através de isotermas de adsorção (TAN et al., 2010). Estas consistem em relações de equilíbrio entre a quantidade de adsorvato por unidade de adsorvente (q_e , mg.g^{-1}) e a concentração de equilíbrio em solução de adsorvato (C_e , mg.L^{-1}) (GUENDOUZ et al., 2013). Normalmente, ajustam-se os dados experimentais a modelos de isotermas de adsorção e o melhor ajuste é utilizado para descrever o equilíbrio de adsorção (CHUNG et al., 2015). Assim, entre os modelos mais destacados para a obtenção destas relações estão as isotermas de Freundlich e de Langmuir (SILVEIRA NETA et al., 2011; EL-BOURAIIE, 2015; KONG et al., 2016). Todavia são utilizados ainda outros modelos como Langmuir-Freundlich, Redlich-Peterson, Temkin, entre outros (DOTTO et al., 2011; DEBRASSI et al., 2011;

GUENDOOUZ et al., 2013). De maneira geral, um bom adsorvente é o material poroso com elevada área superficial, capaz de remover a maior quantidade de corante em um menor tempo (CRINI, 2006; GUPTA; SUHAS, 2009).

Processos de adsorção baseados na utilização de materiais adsorventes de baixo custo têm sido considerados como os métodos mais eficientes e que representam maiores vantagens econômicas (CRINI, 2006; BALDEZ et al., 2008). Assim, uma vasta gama de materiais adsorventes tem sido citada para a remoção de corantes como carvão ativado (ASFARAM et al., 2017), resíduos vegetais ou lignocelulósicos (ANASTOPOULOS et al., 2017), argilas (LIANG et al., 2017), biopolímeros (CHOWDHURY et al., 2016), entre outros (GUPTA; SUHAS, 2009; WAN NGAH et al., 2011). Entre os biopolímeros destaca-se a quitosana, que apresenta uma cinética de adsorção bastante rápida, além de alta eficiência de descoloração e ainda um material bastante versátil capaz de adsorver também alguns metais pesados (CRINI; BADOT, 2008; HABIBA et al., 2017).

2.2.2.2 Biorremediação utilizando enzimas

Atualmente, um grande número de abordagens biotecnológicas tem sido proposto para o combate da poluição ambiental de uma maneira ecoeficiente. Nesse contexto está inserida a biorremediação de efluentes têxteis coloridos através do emprego de rotas biotecnológicas utilizando uma variedade de microrganismos e enzimas (BILAL et al., 2016).

A remoção de cor de efluentes coloridos através de degradação enzimática de corantes é normalmente obtida por duas classes de enzimas: as azoredutases e as lacases (SINGH et al., 2015). Recentemente, as enzimas peroxidases, em especial a *Horseradish peroxidase* (HRP), a Lignina peroxidase (LiP) e a Manganês peroxidase (MnP) têm sido avaliadas para a remoção de azo corantes em meio aquoso (SHAHEEN et al., 2017). Souza e colaboradores (2007) avaliaram a remoção dos corantes Azul Turquesa Remazol G 133%, Lanaset Blue 2R e também de um efluente têxtil real pela enzima HRP onde obtiveram, em condições ideais de processo, respectivamente 59, 94 e 52% de remoção destes poluentes das soluções aquosas.

Šekuljica e colaboradores (2015) avaliaram a capacidade da enzima *Horseradish peroxidase* na degradação dos corantes antraquinônicos Acid blue 225 e Acid Violet 109, obtendo sob as

condições ideais de processo, percentuais de remoção de cor iguais a 94,7 e 89,36%, respectivamente. Estes autores constataram ainda a redução da demanda química de oxigênio (DQO) e nos valores de carbono orgânico total (TOC), demonstrando a diminuição da toxicidade das soluções após o tratamento enzimático.

Yang e colaboradores (2016) comprovaram em seu estudo a elevada capacidade de remoção de corantes pela enzima manganês peroxidase obtida a partir do fungo de podridão branca *Irpex lacteus* F17. Para isto, utilizaram como modelo o corante verde malaquita e sob condições otimizadas conseguiram remover até 96% da cor da solução, constatando ainda que o produto final formado apresentou toxicidade inferior à solução original.

Zhang e colaboradores (2016) obtiveram a enzima manganês peroxidase a partir do fungo *Trametes* sp. 48424, também de podridão branca, e comprovaram a capacidade desta para remoção de corantes indigóides, antraquinônicos, azo e trifenilmetano, além da capacidade de degradação de diferentes hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Para isto, utilizaram como modelo os corantes Indigo Carmine, Remazol Brilliant Blue R, Remazol Violet 5R e Methyl Green, e também os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos fluoreno, fluorantano, pireno, fenantraceno e antraceno, onde estes foram avaliados isoladamente e também em misturas.

2.3 ENZIMAS

Enzimas são proteínas biocatalisadoras, de elevada seletividade e eficiência em comparação aos catalisadores químicos, e cuja aplicação se dá nas mais variadas áreas como no processamento de alimentos, nas indústrias farmacêuticas e de cosméticos, na produção de agroquímicos, e ainda na síntese de compostos químicos (ZAKS, 2001; FRITZEN-GARCIA et al., 2013; JIANG et al., 2014).

A obtenção destes catalisadores biológicos pode se dar a partir de qualquer organismo vivo, seja pela extração destes compostos de suas células ou recuperando-os de exsudatos celulares. O emprego de enzimas como catalisadores possibilita maiores taxas de reação, além viabilizar operações em condições reacionais mais brandas, uma vez que estas podem atuar em amplas faixas de pH e em temperaturas mais baixas (MOHAN et al., 2005).

A efetividade de uma enzima como um catalisador é caracterizada pela sua atividade enzimática, a qual possui íntima relação

com a forma do sítio ativo da enzima, isto é, a parte da proteína onde o substrato liga-se para a formação do produto. Este acoplamento do substrato ao sítio ativo da proteína é explicado pelo modelo chave/fechadura, onde é possível constatar a alta especificidade das enzimas por seus substratos (FORGIARINI, 2006). A atividade enzimática é influenciada diretamente por fatores como pH, temperatura e ainda a presença de substâncias no meio, como surfactantes, agentes redutores e oxidantes (FARIAS, 2013).

As enzimas estão classificadas em seis classes de acordo com a União Internacional de Bioquímica (IUB), sendo esta classificação dada de acordo com as reações que catalisam (FORGIARINI, 2006; ORLANDELLI et al., 2012). Assim, têm-se as oxidorredutases (catalisadoras de reações de oxido-redução), as transferases (catalisam reações de transferência de grupos de uma molécula a outra), as hidrolases (responsáveis por catalisar reações de hidrólise), as liases (catalisam reações que envolvem a quebra de ligações), as isomerases (catalisadoras de reações de mudança intramolecular de modo a transformar um substrato em um produto isômero) e as ligases (catalisam ligações covalentes de moléculas onde há quebra simultânea de uma ligação de alta energia) (FORGIARINI, 2006). Dentre estas, destaca-se no presente trabalho a classe das oxidorredutases, na qual se insere a subclasse das peroxidases.

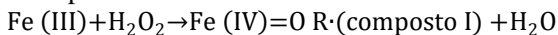
2.3.1 Peroxidases

As peroxidases são enzimas oxidorredutases obtidas a partir de microrganismos como bactérias e fungos, plantas e animais (HAMID; KALIL-UR-REHMAN, 2009). Enzimas peroxidases são heme enzimas, ou seja, possuem o grupo prostético heme, e são catalisadores de uma vasta gama de reações químicas de oxidação de substratos orgânicos e inorgânicos quando em presença de hidróperóxidos, mais comumente o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), responsável pela oxidação da forma nativa da enzima (BATTISTUZZI et al., 2010; FARIAS, 2013).

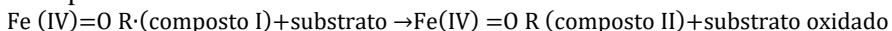
O ciclo catalítico das peroxidases é baseado em três etapas redox consecutivas envolvendo a formação de dois intermediários, os compostos I e II, partes intrínsecas da enzima, e responsáveis pela oxidação dos substratos (BATTISTUZZI et al., 2010). Na primeira etapa a enzima reage com o peróxido em uma rápida reação de oxidação-redução originando o composto I, onde o átomo de ferro do centro reativo da enzima (grupo heme) é oxidado de Fe^{3+} a Fe^{4+} . Na

segunda etapa, o composto I é reduzido ao composto II pelo substrato, e por fim, na terceira etapa o composto II é reduzido ao seu estado original (POULOS, 1993).

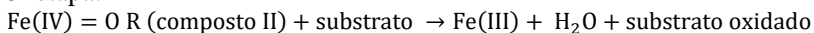
1ª etapa:



2ª etapa:



3ª etapa:



A termodinâmica e a cinética do ciclo catalítico das peroxidases são altamente influenciados pelos potenciais eletroquímicos dos três pares redox chamados Composto I/Fe³⁺, Composto I/Composto II, Composto II/Fe³⁺, sendo o poder oxidativo das heme peroxidases controlado pelo elevado potencial redox destes dois últimos pares (BATTISTUZZI et al., 2010).

A utilização de peroxidases é bastante ampla, podendo ser aplicadas na área médica em kits de diagnóstico para a quantificação de ácido úrico, glicose, colesterol lactose e etc., e também em ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA) para detecção de toxinas, patógenos, risco de câncer na bexiga entre outros (HAMID; KALIL-UR-REHMAN, 2009). Possui também aplicações na área de desenvolvimento de biotecnologias (FALADE et al., 2016), na obtenção biosensores (CENTENO; SOLANO; CASTILLO, 2017), na área de biocatálise (KRAINER; GLIEDER, 2015; KIM et al., 2016), além de sua vasta aplicação para a biorremediação de solos poluídos e efluentes industriais (WHITELEY; LEE, 2006; ANASTASI et al., 2009; NA; LEE, 2017; VISHNU et al., 2017).

2.3.2 Imobilização de enzimas

Apesar dos inúmeros benefícios oferecidos pela utilização de enzimas como a possibilidade de se trabalhar em condições operacionais mais brandas, e seu apelo ecológico dado à minimização da geração de subprodutos, sua aplicação em processos industriais ainda é dificultada por sua falta de estabilidade operacional em longo prazo, além da dificuldade de sua recuperação e reuso (SHELDON; VAN PELT, 2013).

A imobilização de enzimas, ou seja, o seu confinamento em uma fase (matriz/suporte) diferente do substrato e dos produtos, é uma opção atrativa para aumentar o tempo de vida útil destas, através do aumento da estabilidade térmica e operacional, possibilitando ainda a sua fácil remoção do meio reacional, além de viabilizar seu uso contínuo em bioprocessos e também a sua múltipla reutilização nos processos (DATTA et al., 2013; BUSTAMANTE-VARGAS et al., 2015). Dessa forma, a utilização de enzimas imobilizadas reduz consideravelmente os custos operacionais do processo relacionados à obtenção da enzima e dos produtos enzimáticos (MOHAMAD et al., 2015).

Os métodos de imobilização de enzimas em suportes naturais ou sintéticos estão divididos em três categorias: a adsorção da enzima no suporte, a encapsulação da enzima na matriz do suporte e ainda, a reticulação da enzima em forma de agregados ou cristais sem a necessidade de um suporte (SHELDON; VAN PELT, 2013).

A imobilização da enzima por adsorção é a técnica mais simples para ligar biomoléculas em suportes sólidos (DI RISIO; YAN, 2009) e geralmente é feita ou pela imersão do suporte em uma solução enzimática e incubação durante um tempo necessário para ocorrência da adsorção, ou pela secagem da enzima sobre a superfície de um eletrodo para obtenção de um biosensor (MOHAMAD et al., 2015). Este tipo de imobilização pode se dar fisicamente pela formação de ligações químicas fracas e não específicas como as ligações de Van der Waals, interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio (SHELDON; VAN PELT, 2013; MOHAMAD et al., 2015) em suportes orgânicos ou inorgânicos insolúveis em meio aquoso (DATTA et al., 2013).

Uma vez que a interação entre a enzima e o suporte é fraca no método de imobilização por adsorção, a enzima pode ser facilmente removida do suporte (CARVALHO et al., 2015). Esta facilidade de remoção é particularmente atrativa quando a atividade da enzima decai a um ponto em que se faz necessária a regeneração e recarga do suporte com nova quantidade de enzima (MOHAMAD et al., 2015). Ainda, a imobilização por adsorção pode se dar através da formação de ligações iônicas entre a enzima e o suporte ou ainda através de ligações covalentes, onde este tipo de ligação traz o risco implícito de causar a inativação irreversível da enzima, de forma que ambos, suporte e enzima, podem ser inutilizados (SHELDON; VAN PELT, 2013).

A imobilização de enzimas por adsorção pode ser realizada em suportes como, por exemplo, espuma de poliuretano (MALANI et al., 2013; NICOLETTI et al., 2015), fibras celulósicas (DI RISIO; YAN,

2009), Eupergit® (PRAMPARO et al., 2010), partículas superparamagnéticas (CHANG et al., 2015) e também em polímeros híbridos de celulose e polimetilmetacrilato (SILVA et al., 2007).

A imobilização de enzimas também pode ocorrer através do aprisionamento destas por ligações covalentes ou não covalentes na matriz de um suporte, tipicamente polimérico, orgânico ou inorgânico (DATTA et al., 2013; SHELDON; VAN PELT, 2013) como, por exemplo, poliacrilamidas (ASGHER; NOREEN; BILAL, 2017), polissacarídeos (SHUKLA et al., 2004) e sílica sol-gel (SAFARYAN et al., 2017). Neste tipo de imobilização, a enzima deve ser adicionada ao suporte no momento da síntese (SHELDON; VAN PELT, 2013), que ao final deverá apresentar-se na forma de um sólido semipermeável reticulado ou microcápsula, com poros suficientemente pequenos para assegurar o aprisionamento da enzima, mas ainda permitir a passagem do substrato e dos produtos (CARVALHO et al., 2015).

Por fim, a técnica de imobilização através da reticulação de enzimas em forma de agregados ou cristais é feita pela precipitação da enzima em solução tampão e subsequente adição de um agente bifuncional a fim de formar macromoléculas pela agregação física das moléculas de enzima precipitadas, e assim a imobilização se dá sem a necessidade de utilização de um suporte (CAO; VAN RANTWIJK; SHELDON, 2000; SHELDON; SCHOEVAART; VAN LANGEN, 2005; SHELDON; VAN PELT, 2013). É um método relativamente simples e que pode ser empregado para uma grande variedade de enzimas, mesmo as dependentes de um cofator como as oxidoredutases e as liases (SHELDON; SCHOEVAART; VAN LANGEN, 2005). Normalmente a agregação destas moléculas é induzida pela adição de sais, solventes orgânicos ou polímeros não iônicos, sem alterar a estrutura tridimensional das proteínas (CAO et al., 2000). Sua vantagem reside no fato de não ser necessária a utilização de um suporte, e assim não há diluição da atividade catalítica pela adição de um grande volume de substância não catalítica ao processo, além da extinção do custo associado ao suporte e ainda a obtenção de um agregado enzimático altamente estável (SHELDON; VAN PELT, 2013).

2.4 ESPUMA FLEXÍVEL DE POLIURETANO

A espuma de poliuretano (EPU) é um material polimérico termofixo obtido através de duas reações paralelas: a primeira é a reação de polimerização que ocorre entre um isocianato (di ou polifuncional) e

um composto possuidor de hidrogênio ativo, normalmente um poliol, e a segunda é a reação entre o isocianato e a água, originando o ácido carbâmico, que por ser instável decompõe-se em amina e dióxido de carbônio (gás), sendo este desprendimento de gás o responsável pela expansão da espuma com formação de pequenos bulbos ou células, interligadas em uma estrutura tridimensional. A amina formada reage com outra molécula de isocianato produzindo ureia di substituída, a qual forma segmentos rígidos de poli ureia através de ligações de hidrogênio e dióxido de carbono (SOARES, 2012; UNIVAR, 2017).

A classificação das EPU em rígidas ou flexíveis está condicionada à escolha dos reagentes para sua síntese e também suas quantidades empregadas na reação. De modo geral, espumas flexíveis são obtidas a partir da utilização de polióis de alta massa molecular (1.000 – 6.000) e baixo grau de funcionalidade (VILAR, 2004).

Entre as diversas aplicações das EPU estudos demonstram sua possibilidade de atuação como suporte para imobilização de enzimas e bactérias (ALESANDRELLO et al., 2017; RODRIGUES et al., 2017). Nicoletti e colaboradores (2015) avaliaram o melhor método de interação entre a estrutura das EPU e a enzima *Candida antarctica* lipase B (CalB) com objetivo de imobilização desta, constatando como melhor estratégia a chamada imobilização *in situ*, quando a enzima é incorporada a matriz do suporte durante a etapa de síntese. Baseado neste mesmo método, Bustamante-Vargas (2015) e colaboradores obtiveram um rendimento de imobilização igual a 178,64 % para a enzima comercial pectinase (Rohapect[®] DA6L) em espuma rígida de poliuretano.

Cadena e colaboradores (2011) utilizaram espuma adesiva rígida de poliuretano para imobilização covalente de enzima invertase (β -fructofuranosidase, EC 3.2.1.26) e aplicaram este sistema para cobrir a superfície interna de biorreatores enzimáticos. Já Malani e colaboradores (2013) utilizaram EPU comercial para a imobilização de enzima *Horseradish peroxidase* (HRP) por adsorção e aperfeiçoaram este sistema EPU-HRP para a remoção de corante vermelho ácido, conseguindo realizar descolorações do meio até por três ciclos.

Como adsorvente, estudos demonstraram que as EPU podem ser utilizadas como fase sólida para a extração de diferentes materiais devido à presença de grupos polares e apolares em sua superfície (MORI; CASSELLA, 2009; GE et al., 2016). Dessa forma, sua utilização como adsorvente foi avaliada para a remoção do herbicida catiônico Paraquat (dicloreto de 1,1'- dimetil – 4,4'- bipyridínio) de

meios aquosos, que sob condições otimizadas e empregando o surfactante iônico dodecilsulfato de sódio (SDS), foi capaz de adsorver até 95% deste composto (VINHAL et al., 2015).

A eficiência da EPU como adsorvente para corantes têxteis também foi avaliada. Mori e Cassella (2009) ao empregar EPU e SDS conseguiram remover cerca de 90% do corante catiônico violeta cristal em solução. Baldez e colaboradores (2008) ao testar a remoção de corante por adsorção em EPU empregando SDS conseguiram remover até 85% de Azul de Metileno presente na solução aquosa. A necessidade do emprego de SDS constatada pelos autores deu-se em razão do processo de adsorção ser favorecido pela formação um par iônico entre os adsorvatos e este surfactante (VINHAL et al., 2015). Na ausência de SDS não foi verificada qualquer adsorção para a fase sólida, o que foi associado pelos autores à baixa afinidade dos adsorvatos pelo adsorvente. Assim, à medida que se formou um par iônico entre o adsorvato catiônico e o surfactante aniônico, o par-iônico de caráter hidrofóbico, similar ao do adsorvente, apresentou maior afinidade pela EPU (BALDEZ et al., 2008; MORI; CASSELLA, 2009; VINHAL et al., 2015; GE et al., 2016).

Ainda, Silveira Neta e colaboradores (2011) empregaram EPU para a remoção de Azul Reativo 21 e Vermelho Direto 80, todavia sem utilizar SDS, e em condições ideais obtiveram remoções superiores a 80% para ambos os corantes. A alta eficiência de remoção sem necessidade de utilização de surfactante aniônico foi atribuída pelos autores ao baixo pH em que as soluções de corantes foram preparadas, muito inferior ao ponto de carga zero (PCZ) encontrado para a EPU (PCZ = 7.26) estudada. Quando em pH abaixo do PCZ a superfície da EPU apresenta cargas positivas capazes de atrair os ânions dos corantes em meio aquoso, enquanto que em $\text{pH} > 7,26$, a superfície é negativamente carregada repelindo os íons negativos (SILVEIRA NETA et al., 2011).

Relata-se ainda o emprego de espumas de poliuretano como matriz polimérica para formação de compósitos com diversos materiais como carbonos ativados (KONG et al., 2016), biomassa (SANTOS et al., 2017), argilas (WANG et al., 2016) e quitosana (LEE et al., 2009; LI et al., 2014), entre outros, devido a características como elevada área superficial e estrutura macro porosa oferecida pelas EPU (WAN NGAH et al., 2011). Assim, a capacidade de remoção de corantes em solução por EPU compósitas foi avaliada por El-Bouraie (2015), que ao

funcionalizar estas com salicilato obteve 95% de remoção do corante verde malaquita numa faixa de pH entre 10 a 12.

Li e colaboradores (2014), ao utilizarem compósitos de espuma de poliuretano/quitosana para adsorção deste mesmo corante em solução aquosa obtiveram percentual de remoção de cor de 95% e capacidade máxima de adsorção ($q_{\text{máx}}$, mg.g⁻¹) de 16,67 mg.g⁻¹ ao adicionar 20 wt% de quitosana à formulação da espuma. Lee e colaboradores (2009) ao utilizarem compósitos de EPU/quitosana obtiveram 95% de remoção de Acid Violet 48 e capacidade máxima de adsorção ($q_{\text{máx}}$, mg.g⁻¹) igual a 30 mg.g⁻¹ em meios ácidos e maiores concentrações de quitosana nos compósitos.

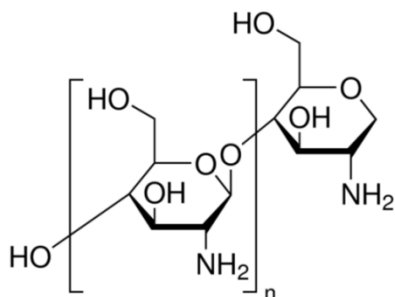
Budnyak e colaboradores (2016) destacaram em seu estudo a possibilidade de recobrir com filmes de quitosana alguns minerais de ocorrência natural como as argilas. Para isto, os autores recobriram argilas com filmes de quitosana e testaram a remoção de cobre (II), cádmio (II), zinco (II), ferro (II) e chumbo (II) de soluções aquosas, constatando sua característica como um bom adsorvente.

Hu e colaboradores (2016) ao revestir argilas do tipo bentonita com quitosana quaternizada e aplicar para a remoção simultânea de cobre (VI) e preto de amido 10B (Amido Black 10B) conseguiram remover 96,3 e 99,7% destes poluentes, respectivamente. Vieira e colaboradores (2014) investigaram a possibilidade de recobrir esferas de vidro com quitosana por imersão para a remoção de azocorantes alimentícios, obtendo percentuais de remoção na faixa de 40,9 a 74,7%.

2.5 QUITOSANA

A quitosana (Fig. 4) é um polissacarídeo composto por polímeros randômicos de d-glucosamina e n-acetil glucosamina, obtido a partir da desacetilação parcial da quitina (CRINI; BADOT, 2008; HUANG et al., 2017). A razão entre os monômeros de d-glucosamina e n-acetil glucosamina expressa o grau de desacetilação da quitosana, cuja massa molecular afeta diretamente algumas de suas propriedades, como a solubilidade (HE et al., 2016; VERLEE et al., 2017). Sua precursora, a quitina, um polissacarídeo cuja estrutura química é bastante similar a da celulose, é um biopolímero insolúvel em meio aquoso, de ocorrência abundante, geralmente encontrado no exoesqueleto de crustáceos e outros artrópodes, bem como na parede celular de alguns fungos e na composição de alguns insetos (GUPTA; SUHAS, 2009).

Figura 4 – Estrutura molecular da quitosana



Fonte: Sigma Aldrich (2017).

A quitosana é passível de solubilização em meios ácidos, cuja versatilidade de aplicação é muito superior à quitina e à celulose. (KUMARI; RATH, 2016). Isto se deve a algumas características intrínsecas como: biodegradabilidade, biocompatibilidade, capacidade de formação de filmes, bioadesividade, polifuncionalidade, hidrofiliabilidade e sua elevada capacidade como adsorvente (CRINI; BADOT, 2008; GUPTA; SUHAS, 2009; LEE et al., 2009; WAN NGAH et al., 2011; HUANG et al., 2017). Tais características são associadas ao seu caráter catiônico, considerado único entre outros polissacarídeos e polímeros de ocorrência natural (SYNOWIECKI; AL-KHATEEB, 2003; RINAUDO, 2006).

Sua aplicação como adsorvente vem sendo amplamente estudada, principalmente para a remoção de metais e corantes em soluções aquosas entre outros compostos (CRINI, 2006; CHOI et al., 2016). Seja pela formação de compósitos com materiais cerâmicos, poliméricos ou vegetais, ou ainda na forma de grânulos, bem como esferas reticuladas, a quitosana tem demonstrado boa capacidade de adsorção de poluentes, sendo capaz de, em alguns casos, apresentar valores próximos a 100% de remoção (CRINI; BADOT, 2008; WAN NGAH et al., 2011). Entre uma extensa literatura que revisa o uso de quitosana como adsorvente (CRINI, 2006; GUPTA; SUHAS, 2009), cita-se, por exemplo, o estudo conduzido por Hasan e colaboradores (2008), que ao avaliarem a adsorção de corante reativo azul 19 (RB19) utilizando grânulos compósitos de quitosana/cinza de palmeira reticulados com epícloridrina constataram a capacidade elevada deste como adsorvente.

Nguyen e colaboradores (2016) utilizaram esferas reticuladas de quitosana para a imobilização de lacase a fim de remover corante

sulfuroso de solução aquosa e subsequente degradação enzimática, de forma que este sistema foi capaz de remover até 73,8 % dos corantes Sulfur blue 15 (SB15) e Sulfur brown GD (SBGD) separadamente, além de favorecer a atividade enzimática da lacase imobilizada. Zhang e colaboradores (2017) sintetizaram microesferas reticuladas de quitosana com alto teor de aminas primárias e aplicaram na adsorção de surfactantes aniônicos em solução aquosa, obtendo as capacidades de saturação do adsorvente como sendo igual a 1220 mg.g⁻¹ para o dodecil benzeno sulfonato de sódio (SDBS), 888 mg.g⁻¹ para o lauril sulfato de sódio (SLS) e 825 mg.g⁻¹ para o dodecil sulfato de sódio (SDS).

2.6 CONSIDERAÇÕES SOBRE O ESTADO DA ARTE

A remoção de corantes em efluentes têxteis antes de sua descarga em corpos d'água é de vital importância dada à problemática ambiental associada, todavia o emprego de técnicas efetivas e de baixo custo para este fim é ainda uma questão desafiadora. Neste contexto, a degradação enzimática de corantes a partir do emprego de azoredutases, lacases, peroxidases e muitas outras enzimas tem se sobressaído.

A imobilização de enzimas é uma prática que permite a reutilização industrial de enzimas, além de uma série de outras vantagens anteriormente citadas. Uma vasta gama de materiais e técnicas é passível de ser empregada para este fim e dentre estas se destaca a imobilização de enzimas *in situ* e covalentemente em EPU, um suporte de baixo custo e fácil obtenção, cuja estrutura é macroscópica e de elevada porosidade.

Diante disto, o presente trabalho avalia a imobilização *in situ* de HRP na matriz polimérica da EPU e também a imobilização covalente desta enzima na superfície da EPU com a finalidade de possibilitar o aumento da vida útil da enzima e o seu reuso com a finalidade de degradação de corante reativo em solução aquosa.

Além disso, uma possibilidade para remoção de corantes têxteis é através da adsorção. A fim de baratear os custos operacionais do processo, buscam-se adsorventes de baixo custo e fácil obtenção. Desta forma, a EPU surge como potencial adsorvente dada suas características estruturais somadas a sua facilidade de obtenção e baixo custo associado.

Na literatura, as espumas de poliuretano são normalmente sintetizadas juntamente com outros adsorventes como salicilatos, carvão ativado, quitosana e etc., de modo que apesar de se obter um bom

adsorvente, a quantidade de quitosana utilizada, por exemplo, é geralmente superior ao avaliado neste trabalho, dada a maior dificuldade de acesso das moléculas do adsorvato ao interior do compósito para encontro com o sítio ativo do adsorvente. Para isto, no presente trabalho, a superfície da EPU será recoberta com filmes de quitosana e este sistema será avaliado para a remoção de corantes em solução aquosa.

Todavia, a problemática associada ao fato de a EPU não ser ambientalmente amigável e a adsorção ser uma técnica que apenas transfere o poluente de uma fase a outra, é necessário se fazer o estudo da destinação adequada do adsorvente saturado, em um momento posterior.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este capítulo é destinado a apresentação de materiais, equipamentos e procedimentos utilizados para o desenvolvimento deste trabalho. As atividades experimentais foram desenvolvidas no Laboratório de Transferência de Massa - LABMASSA e Central de Análises, pertencentes ao Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos (EQA) do Centro Tecnológico (CTC) e no Núcleo de Pesquisa em Materiais Cerâmicos e Compósitos (CERMAT) do Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) situada em Florianópolis/SC.

3.1 MATERIAIS

3.1.1 Corantes

Para o desenvolvimento do trabalho foram utilizados os corantes: Vermelho Reativo 195 (RR195, $\lambda = 542$ nm), Azul Lanaset 2R ($\lambda = 590$ nm), Preto Remazol B ($\lambda = 598$ nm), Azul Reativo 221 (RB 221, $\lambda = 615$ nm), Azul Reativo 198 (RB198, $\lambda = 625$ nm) e Azul Turquesa Remazol G133% (RB21, $\lambda = 631$ nm), gentilmente doados pela empresa Malwee.

3.1.2 Enzima

Utilizou-se a enzima *Horseradish peroxidase* (HRP) (lote PEO 907 1601) cedida pela empresa Toyobo do Brasil. As características desta enzima são expostas na Tabela 2. A enzima, um pó amorfo avermelhado liofilizado, foi mantida em geladeira a 4 °C até o momento de sua utilização.

Tabela 2 - Propriedades da enzima *Horseradish peroxidase* (HRP)

Estabilidade	-20 °C, por pelo menos um ano.
Massa molecular	40.000 Da
pH ideal	6 - 7
Temperatura ideal	45 °C
Estabilidade em pH	5 - 10 (25 °C - 20 h)
Estabilidade térmica	< 50 °C (pH 6 - 10 min)

Fonte: Toyobo (2016).

3.1.3 Reagentes

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados os seguintes reagentes:

- 2,2'-Ácido Azino-bis [3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico 9] (ABTS™) (Sigma Aldrich, pureza > 98%);
- Ácido acético glacial P.A $C_2H_4O_2$ (Sigma Aldrich; pureza > 99,5%);
- Ácido Cítrico $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ (Química Moderna, pureza > 99%);
- Azul de Comassie (Azul brilhante G 250) (Vetec);
- Bicarbonato de sódio $NaHCO_3$ (Nuclear, pureza > 99%);
- Carbonato de sódio anidro Na_2CO_3 (Lafan, pureza > 99%);
- Citrato de sódio tribásico dihidratado $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ (Nuclear, pureza > 99%);
- Fosfato de potássio dibásico K_2HPO_4 (Nuclear, pureza > 98%);
- Fosfato de potássio monobásico KH_2PO_4 (Nuclear, pureza > 99%);
- Peróxido de Hidrogênio 130 v 35% (Lafan);
- Poliol poliéter (Mannes Ltda./ Guaramirim-SC);
- Tolueno Di-isocianato (Mannes Ltda./ Guaramirim-SC);
- Quitosana de peso molecular médio (190 - 310 kDa, Sigma Aldrich).

3.1.4 Equipamentos

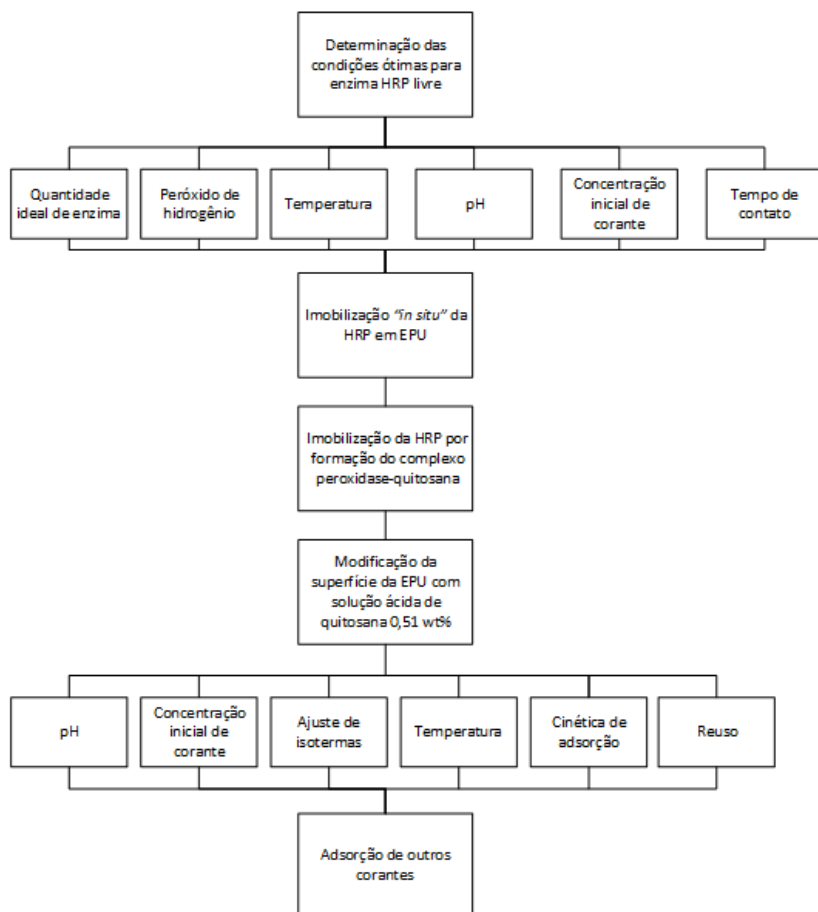
Os equipamentos empregados no desenvolvimento do trabalho foram os seguintes:

- Agitador magnético Dist;
- Balança analítica Gehaka AG200;
- Balança eletrônica de precisão M Bel Engineering;
- Banho termostatizado Dist;
- Centrífuga Jouan B4i.
- Espectrofotômetro Shimadzu UV mini-1240;
- Estufa com circulação de ar MA035 Marconi;
- Incubadora New Brunswick™ Excella® E25;
- Potenciômetro Quimis;
- Analisador de Cargas Eletrocinético (SurPass, Anton Paar);
- Cary 660 Series FTIR Spectrometer (Agilent Technologies);
- MEV HITACHI TM 3030.

3.2 MÉTODOS

A Figura 5 apresenta o fluxograma da metodologia de testes realizados no presente trabalho.

Figura 5 - Fluxograma da metodologia de testes



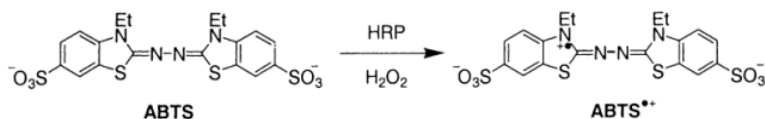
Fonte: Centenaro (2017).

3.2.1 Determinação da atividade enzimática

A atividade da enzima *Horseradish peroxidase* (HRP) foi determinada de acordo com metodologia modificada de Di Risio e Yan

(2009). Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima capaz de converter 1 μmol de ABTS (2,2'-Ácido Azino-bis [3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico 9]) em seu radical catiônico por minuto na presença de peróxido de hidrogênio. A reação de conversão do ABTS em seu radical catiônico ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) catalisada pela HRP é apresentada na Figura 5.

Figura 6 – Reação de conversão do ABTS em $\text{ABTS}^{\bullet+}$ catalisada pela enzima HRP.



Fonte: Farias (2013).

A determinação da atividade enzimática foi realizada em triplicata utilizando soluções de ABTS 1,7 mM, peróxido de hidrogênio 0,85 mM e solução enzimática 0,5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ preparadas em solução tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5). A temperatura das soluções foi homogeneizada em banho termostatizado a 30 °C por 10 minutos e a reação foi monitorada em espectrofotômetro ($\lambda = 420 \text{ nm}$), onde se observa o aumento da absorvância à medida que se forma o radical catiônico. A atividade enzimática (A , $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$) é calculada utilizando-se a taxa linear máxima (inclinação inicial) da curva de absorvância *versus* tempo (min) (Eq. 1).

$$A (\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}) = \frac{\Delta\text{Abs}\cdot V_{\text{total}}\cdot 10^6}{\varepsilon_{\text{ABTS}}\cdot V_{\text{extrato}}\cdot t} \quad (1)$$

Onde: ΔAbs = Absorvância final - Absorvância inicial, ε = Coeficiente de extinção molar para o ABTS ($3,6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), V_{total} = Volume total de solução na cubeta (mL) e V_{extrato} = Volume de solução enzimática utilizado na reação (mL).

A variação na medida de atividade é consequência de sensíveis diferenças nas temperaturas e, portanto, mudanças de atividade em torno de 20% estão contidas no erro experimental do método (DI RISIO; YAN, 2009).

3.2.2 Determinação da quantidade de proteína

A quantidade de proteína contida na solução enzimática foi determinada pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976), baseado na alteração de cor da solução do corante Azul de Comassie (Azul Brillhante G250) quando este é complexado à proteína. Determinou-se a quantidade total de proteína na solução enzimática pela absorbância da amostra, a partir da curva padrão construída com soluções de albumina de soro bovina (BSA) como proteína, na faixa de concentrações de 0 a 1g.L^{-1} , em $\lambda = 595\text{ nm}$.

3.2.3 Degradação enzimática de corante RB198

A avaliação da degradação enzimática de corante foi realizada através de experimentos em batelada utilizando soluções do corante RB198.

Inicialmente foi construída curva de calibração na faixa de concentrações de 1 a 50 mg.L^{-1} preparadas em pH 3 a pH 5 (solução tampão ácido cítrico/citrato 50 mM), pH 6 e 7 (solução tampão fosfato 50 mM) e pH 11 (solução tampão carbonato de sódio/bicarbonato de sódio 50 mM).

As condições ideais para a degradação enzimática do corante pela enzima HRP livre foram determinadas através de experimentos em batelada variando-se a concentração de enzima no meio na faixa de $0,05\text{ mg.mL}^{-1}$ a $0,5\text{ mg.mL}^{-1}$, quantidade de peróxido de hidrogênio de 0,005 a 1% (v/v), temperatura de 15 a $45\text{ }^\circ\text{C}$, pH 3 a 11, e a concentração de corante de 10 a 100 mg.L^{-1} . As soluções de corante RB198 e enzimáticas foram preparadas em solução tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 3, 4 e 5), solução tampão fosfato 50 mM (pH 6 e 7) e solução tampão carbonato de sódio/bicarbonato de sódio 50 mM (pH 9 e 11). A capacidade de remoção de corante pela HRP foi avaliada em espectrofotômetro ($\lambda = 625\text{ nm}$) em triplicata a temperatura ambiente.

Para determinação do tempo de contato foram utilizadas soluções de corante RB198 (50 mg.L^{-1}) e solução enzimática $0,5\text{ mg.mL}^{-1}$ preparadas em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) e peróxido de hidrogênio 0,1% (v/v). O experimento foi conduzido em shaker a $30\text{ }^\circ\text{C}$ e 150 rpm, por 240 min. O sistema foi amostrado em intervalos de tempo pré-determinados para verificação da redução da absorbância das amostras em espectrofotômetro em 625 nm. O

percentual de remoção de cor foi determinado de acordo com a Equação (2):

$$\% \text{ Remoção de cor} = \frac{Abs_{inicial} - Abs_{final}}{Abs_{inicial}} * 100 \quad (2)$$

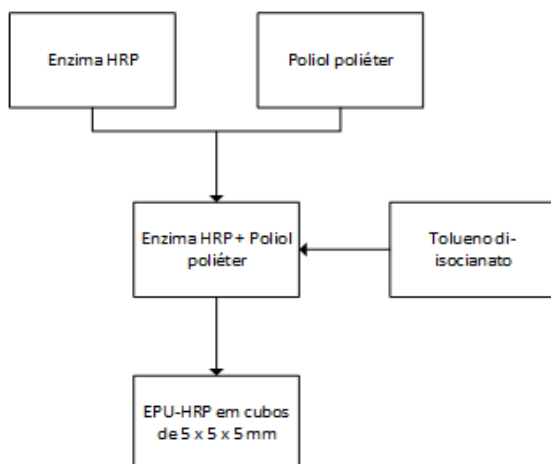
Onde: $Abs_{inicial}$ = Absorbância inicial e Abs_{final} = Absorbância da solução no tempo t (min).

3.2.4 Imobilização da enzima HRP

A imobilização *in situ* da enzima *Horseradish peroxidase* (HRP) foi realizada de acordo com metodologia descrita por Silva e colaboradores (2013), adicionando-se a enzima HRP na forma de pó liofilizado à fase polioliol (5 mL) e homogeneizando-se a mistura por 2 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, adicionou-se o reagente TDI (3mL) e a mistura foi agitada por 5 minutos até o início da formação da espuma, e então mantida em repouso para processo de secagem e cura por 48 h e temperatura ambiente, posteriormente sendo cortada em cubos de dimensão igual a 5 mm x 5 mm x 5mm (CUI et al., 2013).

A Figura 7 ilustra o procedimento empregado para a imobilização *in situ* da enzima HRP em EPU.

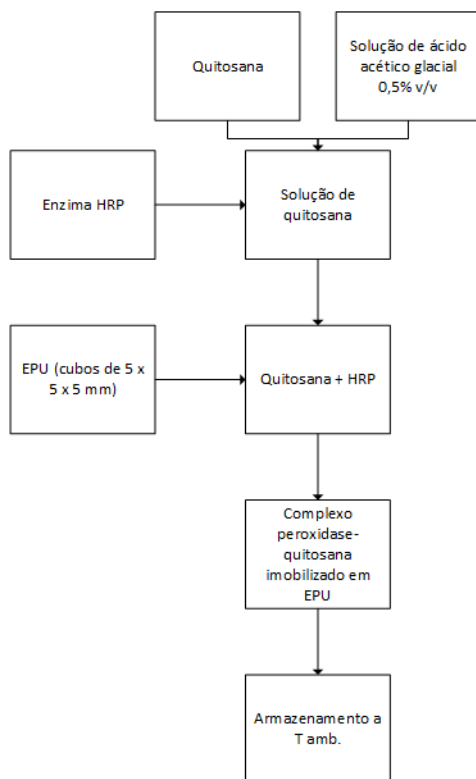
Figura 7 - Imobilização *in situ* da enzima HRP



Fonte: Centenaro (2017).

A imobilização covalente da enzima *Horseshoe peroxidase* (HRP) em espuma de poliuretano foi realizada de acordo com metodologia descrita por Vaselova e Shekhovtsova (1999), adicionando-se enzima HRP na forma de pó liofilizado à solução de quitosana e impregnando esta mistura aos cubos de poliuretano (5 mm x 5 mm x 5mm), sendo posteriormente secos a temperatura ambiente por 48 h. As quantidades de quitosana e enzima para modificação da EPU foram avaliadas nas faixas de 0,01 a 1 wt% e de zero a 15 mg.mL⁻¹, respectivamente, em batelada de experimentos. A imobilização da enzima HRP pela formação do complexo peroxidase-quitosana foi realizada com objetivo de evitar a lixiviação. A Figura 8 ilustra o procedimento realizado para a imobilização covalente da HRP em EPU.

Figura 8 - Procedimento para imobilização covalente da HRP em EPU



3.2.5 Degradação enzimática do corante RB198 pela enzima imobilizada *in situ* e covalente

Para avaliação da capacidade de remoção de cor pela enzima imobilizada *in situ* na EPU (EPU-HRP), pesou-se quantidades EPU-HRP de modo a oferecer enzima nas concentrações de $0,23 \text{ mg.mL}^{-1}$, $0,45 \text{ mg.mL}^{-1}$, $0,67 \text{ mg.mL}^{-1}$ e $0,87 \text{ mg.mL}^{-1}$, e adicionou-se ao meio reacional composto por solução de corante RB198 (50 mg.L^{-1}) preparado em solução tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) e peróxido de hidrogênio $0,1\%$ (v/v). O experimento foi conduzido em shaker a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e 150 rpm .

A possibilidade de reutilização da EPU-HRP foi avaliada. Para isto, após o término do primeiro ciclo de uso as EPU-HRP foram removidas do meio, lavadas com suficiente quantidade de água destilada, e reutilizadas sob as mesmas condições. A remoção de corante pela EPU-HRP foi avaliada em espectrofotômetro.

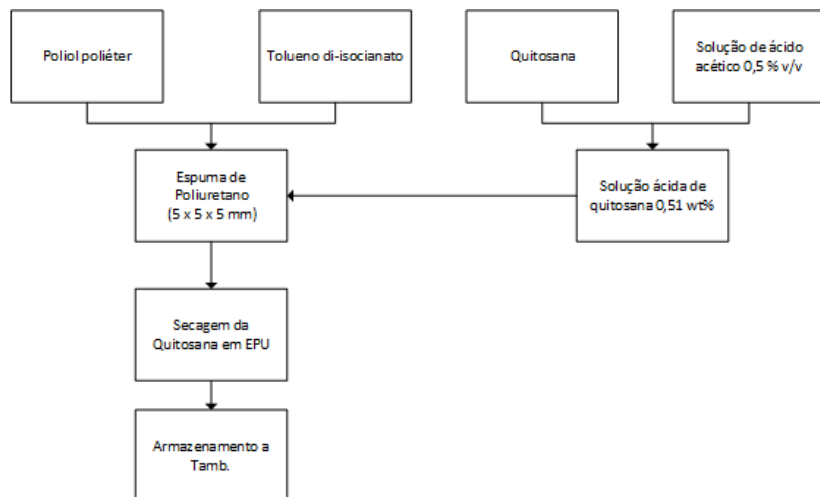
A capacidade de remoção de cor pela enzima imobilizada covalentemente através da formação do complexo peroxidase-quitosana impregnado em espuma de poliuretano (EPU-Peroxidase-quitosana) foi avaliada a partir de experimentos em batelada, onde foi utilizada solução de corante RB198 (50 mg.L^{-1}) preparada em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) e peróxido de hidrogênio $0,1\%$ (v/v). Foi avaliado o percentual de remoção de cor das soluções para diferentes concentrações de quitosana ($0,01$ a $1 \text{ wt}\%$), solução enzimática (0 a 15 mg.mL^{-1}) e quantidades de suporte (10 a 500 mg). O experimento foi conduzido em shaker a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e 150 rpm , por 24 horas. A remoção de corante pela EPU-Peroxidase-quitosana foi avaliada em espectrofotômetro.

3.2.6 Modificação da EPU

A síntese das EPU foi realizada conforme metodologia descrita por Silva e colaboradores (2013) e apresentada na Figura 9, reagindo 3 mL de tolueno di-isocianato (TDI), composto por mistura de isômeros 2,4 e 2,6 nas proporções 80/20 (TDI 80/20), e 5 mL de polioli poliéter. A mistura foi agitada por 5 minutos, a temperatura ambiente, até o início da formação da espuma, sendo posteriormente deixada em repouso por 48 h e temperatura ambiente para processo de secagem e cura. Após este período, as espumas foram cortadas em cubos de igual dimensão ($5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$) (CUI et al., 2013).

A partir dos resultados obtidos por experimentos preliminares onde foi avaliada a quantidade de quitosana, enzima e espuma de poliuretano, realizou-se a modificação da EPU. Dessa forma, para modificação da superfície da EPU foi utilizada solução ácida de quitosana 0,51 wt% preparada pela dissolução de quitosana em solução de ácido acético 0,5 % (v/v), mantido em agitação por 24 h. Os cubos de EPU foram imersos na solução até seu encharcamento, sendo posteriormente removidos por filtração e secos em fluxo de ar a 40 °C por 24 h. Os cubos de EPU-Quitosana secos foram armazenados a temperatura ambiente.

Figura 9 - Representação esquemática da modificação da EPU



Fonte: Centenaro (2017).

3.2.7 Caracterização da EPU

O ponto de carga zero (PCZ) das EPU sem quaisquer quantidades de enzima ou quitosana foi avaliado em Analisador de Cargas Eletrocinético (SurPass, Anton Paar) através da determinação do potencial zeta (ζ), para a verificação da carga da superfície e interface sólido/líquida.

As análises de FTIR (espectroscopia de infravermelho) em modo ATR (refletância total atenuada horizontal, Zn Se) foram realizadas em

Cary 660 Series FTIR Spectrometer (Agilent Technologies) com 20 varreduras no intervalo de 4000 a 650 cm^{-1} e resolução de 4 cm^{-1} para as EPU-Quitosana.

Foi realizada avaliação morfológica das EPU-HRP e EPU-Quitosana em microscópio eletrônico de varredura MEV HITACHI TM3030, com voltagem de aceleração igual a 5 kV e ampliações de 20 e 50 x.

3.2.8 Isotermas de adsorção

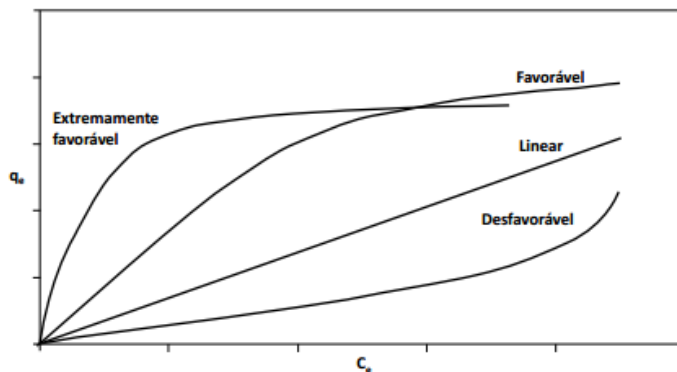
Quando uma determinada quantidade de sólido adsorvente é posta em contato com um dado volume de líquido contendo um soluto adsorvível (adsorvato), normalmente há a difusão destas moléculas ou íons do meio aquoso em direção à superfície do adsorvente até que a concentração do soluto na fase aquosa atinja um valor constante (C_e), atingindo-se um estado de equilíbrio (NASCIMENTO et al., 2014). Isotermas de adsorção expressam a relação entre a concentração de adsorvato em equilíbrio na solução (C_e) e a quantidade adsorvida na superfície do adsorvente, por unidade de massa de adsorvente (q_e) (KONG et al., 2016) em uma dada temperatura, e que permitem que seja calculada a capacidade máxima de adsorção de um adsorvente (NASCIMENTO et al., 2014). A relação entre a quantidade de adsorvato adsorvida no equilíbrio pela EPU-Quitosana (q_e , mg.g^{-1}) e concentração remanescente das soluções de corante (C_e , mg.L^{-1}) pode ser calculada pelo balanço de massa (Eq. 3) (JIANG et al., 2012):

$$q_e = \frac{C_0 - C_e}{m} * V \quad (3)$$

Onde q_e = quantidade de adsorvato em equilíbrio na EPU-Quitosana (mg.g^{-1}); C_0 e C_e = concentrações iniciais e no equilíbrio, respectivamente (mg.L^{-1}), V = volume de solução (mL) e m = massa de adsorvente (mg).

Isotermas apresentam-se de várias formas e estas fornecem importantes informações sobre o mecanismo de adsorção. A Figura 10 demonstra algumas possíveis formas de isotermas de adsorção.

Figura 10 – Possíveis formatos de isotermas de adsorção.



Fonte: Nascimento e colaboradores (2014).

Assim, para obtenção da isoterma de adsorção foram utilizadas soluções de corante RB198 na faixa de concentração de 10 a 350 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, preparadas em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) e 255 mg de EPU-Quitosana. O experimento foi conduzido em shaker, a 150 rpm e 30 °C, por 24 h. A concentração de equilíbrio das soluções de corante foi verificada em espectrofotômetro. Os dados experimentais obtidos foram ajustados de acordo com os modelos de isoterma de Langmuir e isoterma de Freundlich.

3.2.8.1 Isoterma de Langmuir

A isoterma de Langmuir é um modelo de dois parâmetros, o qual assume que o processo de adsorção se dê em monocamada, ocorrendo em sítios específicos, homogêneos e energeticamente equivalentes (CHUNG et al., 2015; EPSTEIN et al., 2015). Assim, cada sítio ativo é responsável pela adsorção de uma única molécula do adsorvato, não ocorrendo adsorções adicionais (DOTTO et al., 2011). Dessa forma, a capacidade de adsorção no equilíbrio (q_e , $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) é também considerada como sendo o número máximo de sítios por grama de adsorvente (EPSTEIN et al., 2015).

O modelo de Langmuir é descrito pela Eq. 4 (CHUNG et al., 2015):

$$q_e = \left(\frac{K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e} \right) * q_{\text{máx}} \quad (4)$$

Que em sua forma linearizada apresenta-se como (Eq. 5) (BALDEZ et al., 2008):

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{K_L * q_{m\acute{a}x}} + \frac{1}{q_{m\acute{a}x}} * C_e \quad (5)$$

Onde K_L = constante de Langmuir ($L.mg^{-1}$), C_e = concentração da solução no equilíbrio ($mg.L^{-1}$) e $q_{m\acute{a}x}$ = capacidade máxima de adsorção em monocamada ($mg.g^{-1}$).

A constante de Langmuir (K_L , $L.mg^{-1}$) representa a razão entre a taxa constante de adsorção (k_f) e a taxa constante de dessorção (k_r), todavia, não especificando seus valores absolutos (EPSTEIN et al., 2015). Além de ser um parâmetro que descreve a afinidade entre o soluto e o adsorvente (CHUNG et al., 2015), a constante de Langmuir é utilizada para caracterizar o processo de adsorção, que pode ser favorável, desfavorável ou irreversível de acordo com o fator de separação (R_L) dado pela Equação 6 (BELHACHEMI; ADDOUN, 2011; DOTTO et al., 2011):

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L * C_0} \quad (6)$$

Onde C_0 = concentração inicial da solução ($mg.L^{-1}$), K_L = constante de Langmuir ($L.mg^{-1}$).

Para valores de R_L superiores a 1, têm-se processos que ocorrem de maneira desfavorável, enquanto que para valores de R_L entre 0 e 1 estão situados os processos favoráveis. Quando o valor de R_L é nulo, o processo é irreversível (CRINI; BADOT, 2008).

3.2.8.2 Isoterma de Freundlich

A isoterma de Freundlich é um modelo empírico a dois parâmetros, bastante útil para descrição de processos de adsorção em multicamadas sobre a superfície heterogênea do adsorvente, e onde se verifica que a quantidade de soluto adsorvido por unidade de massa aumenta gradualmente (BELHACHEMI; ADDOUN, 2011; DOTTO et al., 2011; CHUNG et al., 2015). Assim, este modelo supõe que os sítios ativos do adsorvente possuam diferentes afinidades pelo adsorvato (ASGHER, 2012) (Eq. 7) (BALDEZ et al., 2008):

$$q_e = K_F * C_e^{1/n} \quad (7)$$

Quando linearizada, a equação do modelo apresenta-se como (Eq. 8) (EL-BOURAIIE, 2015):

$$\ln q_e = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_e \quad (8)$$

Onde K_F = constante de Freundlich ($\text{mg.g}^{-1})(\text{L.mg}^{-1})^{1/n}$, C_e = concentração da solução no equilíbrio (mg.L^{-1}) e $1/n$ = fator de heterogeneidade.

O fator de heterogeneidade permite caracterizar a interação entre o adsorvente e o adsorvato. De maneira geral, quanto maior o valor de $1/n$, mais forte a interação entre estes, direcionando o processo à irreversibilidade. Quando os valores de $1/n$ são iguais a 1, a adsorção é considerada linear com energias de adsorção idênticas para todos os sítios. Já os valores de $1/n$ menores que 1 caracterizam processos onde a adsorção é favorável (DEBRASSI et al., 2011).

3.2.9 Cinética de adsorção

Para avaliação cinética da adsorção utilizou-se 255 mg de adsorvente em 50 mL de solução de corante R198 50 mg.L^{-1} preparada em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5). O experimento foi conduzido em shaker a 150 rpm, a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, e o sistema foi amostrado em intervalos de tempo pré-determinados para verificação da redução da absorbância das amostras em espectrofotômetro em 625 nm. A relação entre a quantidade de adsorvato adsorvida pela EPU-Quitosana (q_t , mg.g^{-1}) e concentração remanescente das soluções de corante no tempo t (C_t , mg.L^{-1}) foi calculada por (Eq. 9) (KONG et al., 2016):

$$q_t = \frac{C_0 - C_t}{m} * V \quad (9)$$

Onde q_t = capacidade de adsorção no tempo t (mg.g^{-1}), C_0 e C_t = são as concentrações iniciais e no tempo t , da solução de corante (mg.L^{-1}), respectivamente, V = volume da solução (L), e m = massa do adsorvente EPU-Quitosana (g).

A qualidade do ajuste dos dados experimentais aos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (Lagergren) (Eq. 10), pseudo-segunda ordem (Eq. 11) e difusão intrapartícula (Eq.12), foram determinados pelas equações descritas por ZHANG e colaboradores (2017) e Baldez e colaboradores (2008).

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 * t \quad (10)$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 * q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (11)$$

$$q_t = K_p t^{1/2} + C \quad (12)$$

Onde q_e = quantidade de corante adsorvida no equilíbrio (mg.g^{-1}), q_t = quantidade de corante adsorvida no tempo t (mg.g^{-1}), k_1 = constante de adsorção de primeira ordem (min^{-1}), k_2 = constante de adsorção de segunda ordem ($\text{g.mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), K_p = constante de difusão intrapartícula ($\text{mg.g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1/2}$), C = constante de resistência a difusão (mg.g^{-1}) e t = tempo (min).

3.2.10 Determinação da capacidade de reuso do adsorvente

O reuso do adsorvente foi realizado utilizando-se 255 mg de EPU-Quitossana em 50 mL de solução de corante RB198 (50 mg.L^{-1}) preparado em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5), por 60 minutos, 150 rpm a 30°C . Para os ciclos subsequentes o adsorvente foi removido do meio, sem lavagem ou dessorção do soluto de sua superfície, e reutilizado novamente sob as mesmas condições. A capacidade de remoção foi avaliada em espectrofotômetro em triplicata.

3.2.11 Adsorção dos demais corantes

A capacidade de remoção dos demais corantes foi avaliada individualmente, utilizando solução aquosa 50 mL de solução dos corantes RB221 (50 mg.L^{-1}), RB21 (50 mg.L^{-1}), RR195 (50 mg.L^{-1}), Preto Remazol B (50 mg.L^{-1}) e Azul Lanaset 2R (50 mg.L^{-1}) preparadas em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) e adsorvente (255 mg). Os experimentos foram conduzidos em shaker por 24 h, 150 rpm a 30°C . A capacidade de adsorção foi avaliada em espectrofotômetro através da diferença de áreas para varreduras espectrais obtidas na faixa de 400 a 800 nm, antes e após o contato com o adsorvente EPU-Quitossana.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 REMOÇÃO ENZIMÁTICA DE CORANTE TÊXTIL

Este item é destinado à apresentação e discussão dos resultados obtidos para a descoloração de soluções aquosas de corante têxtil pela enzima HRP livre e imobilizada em espuma de poliuretano (EPU) através dos métodos de imobilização *in situ* e covalente pela formação do complexo peroxidase-quitosana.

Em um primeiro momento determinaram-se as condições ideais para atuação da enzima livre na degradação do corante RB198 em solução e então estas foram aplicadas para a avaliação da capacidade de remoção deste corante pela enzima HRP imobilizada no suporte de espuma de poliuretano através dos dois métodos de imobilização avaliados (*in situ* e covalente).

4.1.1 Determinação da quantidade de proteína

O teor de proteína da solução enzimática foi determinado de acordo com a metodologia de Bradford, conhecida a curva de absorvância para a proteína padrão. Para solução enzimática ($0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$), a quantidade de proteína encontrada foi de $0,03 \text{ mg.mL}^{-1}$.

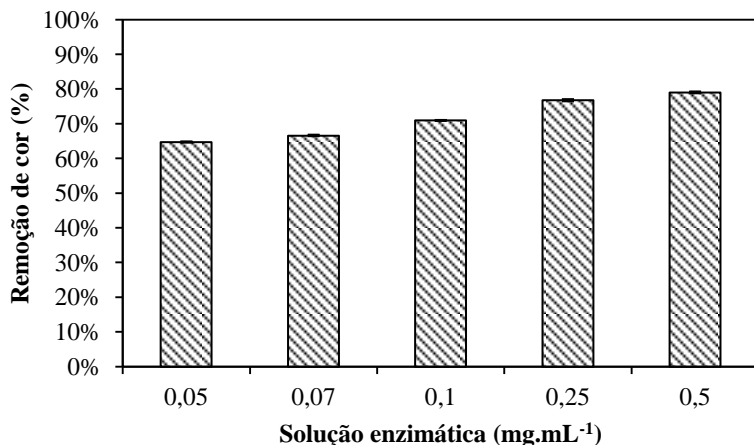
4.1.2 Determinação da concentração ótima de enzima

A degradação enzimática dos corantes é dependente da quantidade de biocatalisador adicionada ao sistema, uma vez que este apresenta tempo de vida útil finita e a deterioração do composto é dependente do tempo de contato entre eles, e assim há uma relação ideal entre a quantidade de enzima e substrato para que seja obtida a máxima atividade (MOHAN et al., 2005; ALEMZADEH; NEJATI, 2009).

Dessa forma, para se avaliar a capacidade de degradação dos corantes pela enzima *Horseradish peroxidase* (HRP) livre, foram utilizadas soluções de corante RB198 (50 mg.L^{-1}) e soluções enzimáticas na faixa de concentração de 0 a $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$, preparadas em tampão fosfato 50 mM (pH 7), e a elas adicionou-se 0,01% (v/v) H_2O_2 , necessário para manifestação de atividade da HRP. A temperatura foi mantida em $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e a agitação em 150 rpm, por 360 minutos. Assim, a única variável responsável pela obtenção de diferentes valores de remoção de cor foi a quantidade de enzima fornecida ao sistema. A

remoção de cor das soluções de corante RB198 é demonstrada na Figura 11.

Figura 11 – Influência da concentração da solução enzimática ($0,05 \text{ mg.mL}^{-1}$ a $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$) na degradação do corante RB198 (50 mg.L^{-1}), a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, 150 rpm, por 360 minutos, onde (I) representa o desvio padrão amostral de remoção de cor.



Fonte: Centenaro (2017).

A partir dos dados de remoção de cor obtidos, verificou-se que a concentração da solução enzimática foi um fator que exerceu influência na quantidade de corante removido da solução. Observou-se que ao aumentar a concentração da solução enzimática de $0,05 \text{ (3,527 U.mL}^{-1}\text{)}$ para $0,25 \text{ mg.mL}^{-1} \text{ (17,635 U.mL}^{-1}\text{)}$, a remoção de corante da solução foi aumentada de 64,7 para 76,8%. Todavia, ao duplicar-se a quantidade de enzima para $0,5 \text{ mg.mL}^{-1} \text{ (35,270 U.mL}^{-1}\text{)}$ o percentual de remoção de cor não aumentou de maneira expressiva, passando a 80%. Todavia, uma vez que o presente trabalho objetivou a imobilização da enzima em EPU, a utilização de maior quantidade de enzima é preferível, e desta forma, a concentração ótima de enzima a ser utilizada foi de $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$.

Comportamento semelhante foi observado por Mohan e colaboradores (2005) ao estudarem a capacidade de remoção de corante *Acid Black 10BX* em soluções aquosas utilizando a enzima HRP, onde estes obtiveram aumento no percentual de remoção de cor de 62 para 84% ao aumentar a quantidade de enzima de $0,735 \text{ U.mL}^{-1}$ para $2,205$

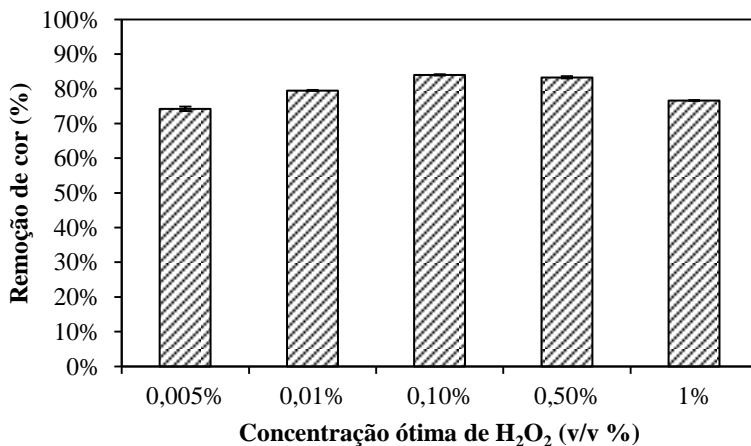
U.mL⁻¹, todavia não havendo impacto significativo no percentual de remoção de cor quando a quantidade de enzima HRP foi elevada para 4,410 U.mL⁻¹ (84,5%). Ainda, Forgiarini (2006) ao estudar a degradação enzimática do corante Turquesa Remazol G133 em solução aquosa empregando a enzima HRP, constatou que mesmo havendo saturação da solução de corante com a enzima, de 14,985 U.mL⁻¹ para 29,850 U.mL⁻¹, não houve aumento expressivo na quantidade de corante removida da solução.

4.1.3 Concentração ótima de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

O peróxido de hidrogênio atua como um co-substrato responsável pela ativação do radical catalítico peroxidase através da oxidação da forma nativa da HRP e formação de um intermediário enzimático capaz de interagir com as moléculas do corante através de seus anéis aromáticos, e assim degradá-lo através do mecanismo de polimerização via radicais livres (POULOS, 1993; BHUNIA et al., 2001; MOHAN et al., 2005; MADDHINNI et al., 2006). A quantidade ideal de peróxido de hidrogênio é um fator importante a ser estudado, uma vez que a utilização de concentração de H₂O₂ muito baixa limita a reação e o contrário é responsável pela inibição da atividade da enzima (CHIONG et al., 2016).

Portanto, com objetivo de avaliar a quantidade ideal de H₂O₂ a ser fornecida ao sistema, foram preparadas soluções de corante RB198 (50 mg.L⁻¹), em tampão fosfato 50 mM (pH 7), e a elas foi adicionado peróxido de hidrogênio nas concentrações de 0 a 1% (v/v), sendo as demais condições reacionais do meio mantidas iguais para todos os sistemas avaliados: volume reacional de 50 mL, solução enzimática com concentração igual a 0,5 mg.mL⁻¹, temperatura de 30 °C e agitação em 150 rpm, em shaker, por 360 minutos. Dessa forma, os diferentes percentuais de descoloração das soluções obtidos para os sistemas estudados foram atribuídos unicamente à variação das quantidades de peróxido de hidrogênio adicionadas aos experimentos. A remoção de cor das soluções de corante RB198 é apresentada na Figura 12.

Figura 12 – Percentual de remoção de corante RB198 (50 mg.L^{-1}), preparado em tampão fosfato 50 mM ($\text{pH } 7$), 0.5 mg.mL^{-1} HRP, a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, 150 rpm , por 360 minutos, em função da concentração de peróxido de hidrogênio H_2O_2 no intervalo de concentração de 0 a 1% (v/v), onde (I) representa o desvio padrão amostral de remoção de cor.



Fonte: Centenaro (2017).

Da análise dos dados experimentais, constatou-se que na ausência do co-substrato H_2O_2 não houve degradação de corante, uma vez que a atividade da enzima HRP é dependente da presença de H_2O_2 . Assim, ao adicionar-se $0,005\%$ (v/v) de H_2O_2 , foi observada redução na cor da solução de corante RB198. Quando este volume foi aumentado em 20 vezes, passando de $0,005$ a $0,1\%$, o percentual de descoloração aumentou em $9,8\%$. Todavia, com a subsequente adição de peróxido de hidrogênio, de $0,1$ a 1% (v/v), observou-se redução na capacidade de degradação do corante pela enzima HRP, possivelmente devido ao efeito de inibição por substrato (REED et al., 2010; CHIONG et al., 2016). Dessa forma, a quantidade ideal de peróxido de hidrogênio adicionada ao sistema de modo a maximizar a atividade enzimática é de $0,1\%$ (v/v), onde foi possível obter-se percentual de remoção de cor da solução de RB198 de 84% .

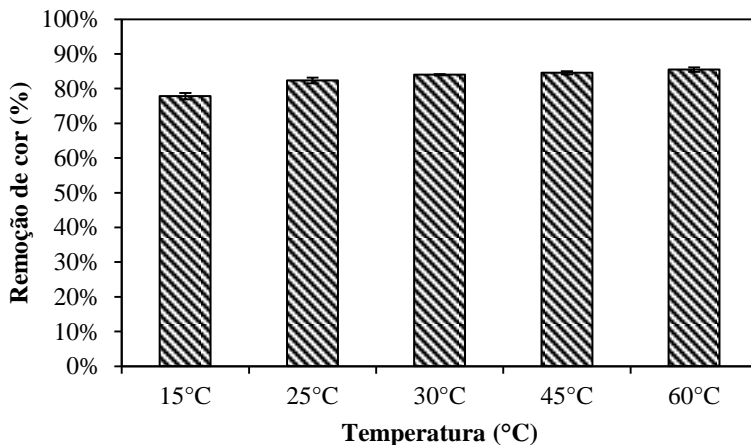
Terres e colaboradores (2014), ao estudarem a descoloração de soluções preparadas com o corante Índigo Carmim, constataram também os efeitos causados tanto pela ausência do peróxido de hidrogênio quanto pelas altas dosagens deste substrato na atividade catalítica da

enzima HRP. Estes autores, ao variarem a quantidade de peróxido de hidrogênio de 0 a 30% (v/v), observaram que quando ausente o H_2O_2 não houve atividade enzimática e assim tampouco a remoção de corante, mas que ao se trabalhar com muito baixas ou muito elevadas concentrações deste co-substrato, apesar de a enzima ter demonstrado capacidade catalítica, esta foi reduzida tanto pela escassez de co-substrato como pela inibição por co-substrato, respectivamente. Assim, ao trabalharem com valores de peróxido de hidrogênio dentro de uma faixa de idealidade, determinada no estudo como sendo entre 0,003 a 0,3% (v/v), os autores obtiveram melhores taxas de descoloração e puderam observar uma rápida cinética de reação.

4.1.4 Influência da temperatura

A atividade enzimática é influenciada pela temperatura, de modo que ao elevar-se esta, em geral, observa-se aumento na taxa de reação até um valor limite em que, acima deste ocorre desnaturação da proteína (FORGIARINI, 2006). Assim, para avaliar a influência da temperatura na atividade catalítica da enzima HRP, foram preparadas soluções de corante RB198 (50 mg.L^{-1}) e solução enzimática 0.5 mg.mL^{-1} , em tampão fosfato 50 mM (pH 7) e a elas adicionou-se 0,1% (v/v) de H_2O_2 . Os experimentos foram conduzidos em shaker, a 150 rpm, e a temperatura foi variada na faixa de 15 a 60 °C. O percentual de descoloração obtido após 360 minutos de reação é apresentado na Figura 13.

Figura 13 – Influência da temperatura na faixa de 15 a 60 °C na descoloração de soluções de RB198 (50 mg.L⁻¹) preparadas em tampão fosfato 50 mM (pH 7), 0,5 mg.mL⁻¹ HRP, 150 rpm, por 360 minutos, onde (I) representa o desvio padrão amostral.



Fonte: Centenaro (2017).

Da análise dos dados experimentais obtidos foi possível afirmar que o aumento da temperatura favoreceu a descoloração das soluções aquosas de corante RB198. Observou-se que ao elevar a temperatura da reação de 15 para 60 °C, o percentual de remoção de cor foi aumentado em 7,7%. Entretanto, ao compararem-se os resultados obtidos para temperaturas de 30 °C e acima desta constatou-se que houve apenas um ligeiro aumento no percentual de descoloração, não significativo, e assim não justificando o emprego de temperaturas superiores. Desta forma, optou-se por realizarem-se os subseqüentes ensaios na temperatura de 30 °C.

Terres e colaboradores (2014) também observaram aumento da atividade catalítica da enzima HRP com o aumento da temperatura ao removerem corante. Bilal e colaboradores (2016) ao estudarem a degradação enzimática de corantes em solução aquosa pela enzima HRP livre e covalentemente imobilizada em suportes de alginato e cálcio encontraram resultados semelhantes, de maneira que estes consideraram a temperatura de 30 °C ideal para a maximização da atividade catalítica da enzima.

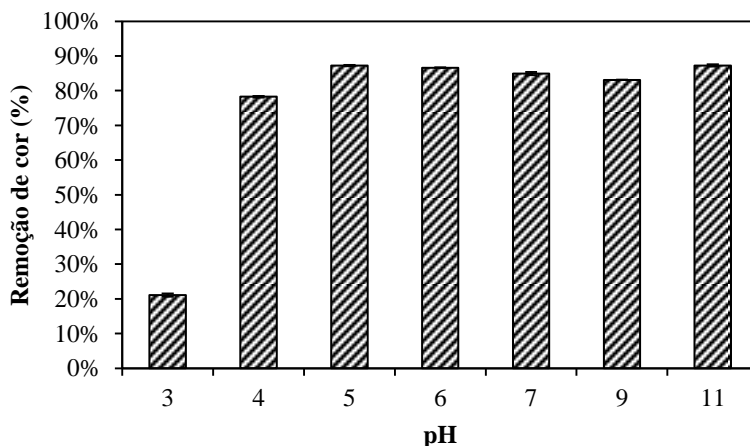
Chiong e colaboradores (2016) ao estudarem a influência da temperatura na atividade catalítica de peroxidases extraídas da soja para

remoção de alaranjado de metila constaram que para temperaturas na faixa de 30 a 50 °C não houve impacto significativo no percentual de remoção de cor, todavia, para temperaturas acima de 50 °C foram observadas reduções da atividade enzimática, possivelmente causadas devido à desnaturação das proteínas.

4.1.5 Influência do pH

A influência do pH da solução na atividade catalítica da enzima HRP também foi avaliada, uma vez que as enzimas apresentam, em geral, uma faixa de pH na qual sua atividade é máxima (FARIAS, 2013). Portanto, foram preparadas soluções de corante RB198 (50 mg.L⁻¹) e solução enzimática 0,5 mg.mL⁻¹ em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 3, 4 e 5), também em tampão fosfato 50 mM (pH 6 e 7), e tampão carbonato de sódio/bicarbonato de sódio 50 mM (pH 9 e 11). O experimento foi conduzido em shaker, a 150 rpm, 30 °C, 0,1% (v/v) de H₂O₂, por 360 minutos. A descoloração das soluções aquosas de corante RB198 preparadas em diferentes valores de pH é demonstrada na Figura 14.

Figura 14 – Avaliação da descoloração das soluções aquosas de corante RB198 (50 mg.L⁻¹), enzima 0,5 mg.mL⁻¹, H₂O₂ 0,1% (v/v) em função do pH variando na faixa de 3 a 11, onde (I) representa o desvio padrão amostral da remoção de cor.



Fonte: Centenaro (2017).

Da observação dos dados experimentais foi possível constatar que o aumento do pH de 3 para 5 favoreceu a atividade catalítica da enzima, embora não tenha sido observado impacto expressivo no percentual de remoção de cor para os ensaios realizados em $\text{pH} > 5$, e havendo assim uma faixa de pH ideal. O maior percentual de descoloração (87,3%), foi obtido para a reação conduzida em pH 5, de modo que este foi selecionado como o pH a ser empregado nas subseqüentes reações de degradação do corante RB198.

De modo geral, bons percentuais de remoção de cor foram obtidos mesmo em ambientes fora da faixa de valores de pH onde a atividade da enzima é dita como sendo ótima pela sua fabricante (Tabela 2 - seção 4.1.3). Uma vez que o efluente de tingimento da indústria têxtil apresenta faixa de pH de 9,8 a 11,8, a utilização da enzima para a remoção de cor acredita-se ser possível sem quaisquer modificações no pH do efluente.

Chiong e colaboradores (2016) também obtiveram o melhor percentual de remoção de corante alaranjado de metila para o ensaio conduzido em pH 5 e empregando a enzima peroxidase extraída da soja. Os autores atribuíram o resultado obtido ao ciclo catalítico da peroxidase, que envolve a formação de dois intermediários, sendo a formação do primeiro favorecido em ambientes ácidos, e este intermediário sendo determinante na taxa de reação para oxidação do substrato nas etapas subseqüentes do mecanismo (POULOS, 1993). Este estudo corrobora com os resultados obtidos por Maddhinni e colaboradores (2006), que verificaram os melhores percentuais de descoloração de corante direto (*Direct Yellow 12*) quando a reação de degradação enzimática utilizando HRP foi conduzida em pH 4. Mohan e colaboradores (2005) também obtiveram percentuais de remoção de cor de soluções aquosas do corante *Acid Black 10BX* empregando HRP em ambientes ácidos (pH 2).

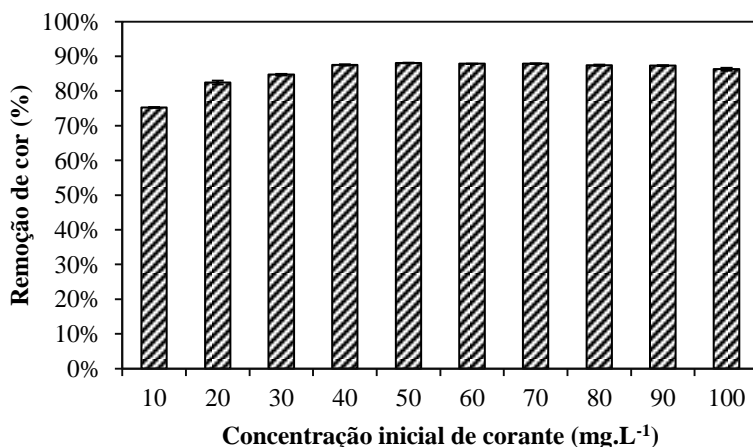
4.1.6 Efeito da concentração inicial de corante

A concentração inicial de substrato exerce influência significativa na capacidade catalítica das enzimas (MOHAN et al., 2005) sendo que, a utilização de soluções com maiores concentrações iniciais é mais vantajosa (CHIONG et al., 2016). Assim, com objetivo de analisar a influência da concentração inicial de corante RB198 na capacidade catalítica da enzima HRP para degradação deste em meio aquoso, foram preparadas soluções de RB198 com concentrações iniciais na faixa de

10 a 100 mg.L⁻¹, em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5), e a estas adicionou-se solução enzimática (0,5 mg.mL⁻¹) e peróxido de hidrogênio 0,1% (m/v). Os ensaios foram conduzidos em shaker sob agitação (150 rpm) e aquecimento (30 °C), por 360 minutos.

O percentual de remoção de cor das soluções de corante RB198 para diferentes concentrações iniciais é demonstrado na Figura 15.

Figura 15 – Efeito da concentração inicial de corante RB198 (10 a 100 mg.L⁻¹) no percentual de remoção de cor pela enzima HRP (0,5 mg.mL⁻¹), em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5), 30 °C, 150 rpm, por 360 minutos, onde (I) representa o desvio padrão amostral da remoção de corante.



Fonte: Centenaro (2017).

Assim, através dos dados experimentais obtidos, observou-se que o aumento da concentração inicial da solução de corante RB198 de 10 para 50 mg.L⁻¹ elevou o percentual de remoção de cor de 75,2 para 88,1%, respectivamente. Todavia, para concentrações de corante RB198 > 50 mg.L⁻¹ não foi observado aumento expressivo na quantidade de corante removida da solução, constatando-se até mesmo ligeira redução nestes valores. Da mesma forma, Farias (2013) durante estudo de remoção do corante Azul 21 empregando HRP, constatou também que a remoção de cor foi favorecida com aumento da concentração inicial deste corante de 10 para 60 mg.L⁻¹.

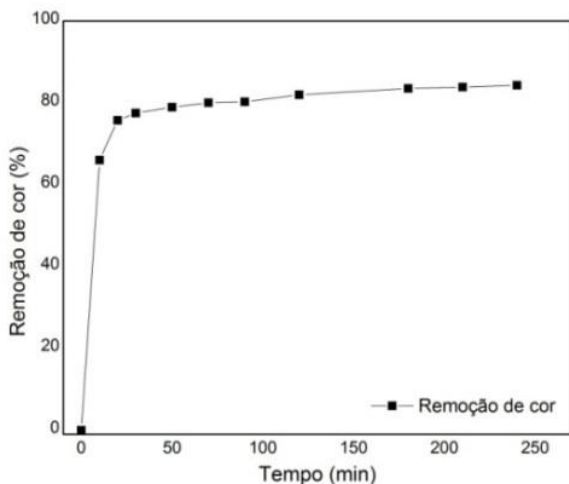
Mohan e colaboradores (2005) em seu estudo de degradação enzimática do corante *Acid Black 10 BX* utilizando HRP verificaram que o percentual de remoção de cor aumentou com aumento da

concentração inicial de corante de 5 para 30 mg.L⁻¹, todavia, para concentrações iniciais superiores, também foi observada ligeira redução na capacidade de degradação do corante pela enzima. Assim, assumiu-se que a queda observada nos valores de remoção de cor no presente estudo foi associada à inibição da atividade enzimática por efeito da elevada concentração do substrato (corante).

4.1.7 Tempo ideal de contato

O tempo ideal de contato para a degradação enzimática da solução de corante RB198 pela enzima HRP foi avaliado. Para isto, prepararam-se soluções de corante RB198 (50 mg.L⁻¹) e solução enzimática (0,5 mg.mL⁻¹) em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) e adicionou-se peróxido de hidrogênio 0,1% (v/v). Os experimentos foram conduzidos em shaker, 150 rpm, a temperatura de 30 °C, por 240 minutos, com amostragem do sistema em intervalos de tempo pré-determinados. A curva de remoção de cor *versus* tempo é demonstrada na Figura 16.

Figura 16 – Remoção de corante RB198 (50 mg.L⁻¹) preparado em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) pela enzima HRP (0,5 mg.mL⁻¹), utilizando 0,1% (v/v) de H₂O₂, 150 rpm, 30 °C, por 240 minutos.



Assim, foi possível concluir que depois de transcorridos 50 min de reação, não foi verificado aumento substancial no percentual de remoção do corante RB198 pela enzima HRP. Dessa forma, o tempo ideal de contato entre a enzima HRP e a solução aquosa de corante RB198 é considerado 50 minutos, onde foi possível obter-se suficiente percentual de descoloração. Tempo semelhante a este para a degradação enzimática de corantes é relatado na literatura (MOHAN et al., 2005; FORGIARINI, 2006; ALEMZADEH; NEJATI, 2009; FARIAS, 2013).

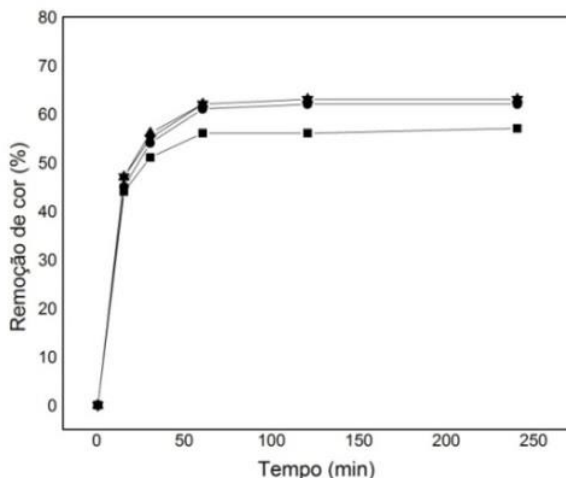
Portanto, a condição ideal para que a enzima demonstre sua máxima atividade catalítica para a degradação do corante RB198 foi determinada como sendo a utilização de solução enzimática na concentração de $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$, em presença de H_2O_2 0,1% (v/v), a 30°C , solução de corante RB198 (50 mg.L^{-1}) em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5), por 50 minutos e 150 rpm.

4.1.8 Aplicação da EPU-HRP na degradação de corante

A aplicação de enzimas livres nos processos industriais geralmente não oferece vantagens econômicas, assim a utilização da enzima imobilizada é desejável, uma vez que além de possibilitar o seu reuso também permite operação de processos em faixas mais amplas de temperaturas e pH (MOHAN et al., 2005; FARIAS, 2013).

No presente estudo foi avaliada a imobilização de HRP em espuma flexível de poliuretano *in situ*, onde a enzima é adicionada ao suporte no momento da síntese deste. Assim, após ter sido determinada a condição ideal para degradação enzimática do corante RB198 pela enzima HRP livre, esta condição foi aplicada a enzima imobilizada *in situ*. Para isto, preparou-se solução de corante RB198 (50 mg.L^{-1}) em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) e adicionou-se 0,1% (v/v) de H_2O_2 . Os experimentos foram conduzidos em shaker, a 30°C , e 150 rpm, por 240 minutos. As quantidades de EPU-HRP avaliadas variaram na faixa de concentração de 0,23 a $0,87 \text{ mg.mL}^{-1}$ e a remoção de cor das soluções foi analisada em espectrofotômetro ($\lambda = 625 \text{ nm}$) por amostragem do sistema em intervalos de tempo pré-determinados (Fig. 17).

Figura 17 – Degradação enzimática do corante RB198 (50 mg.L^{-1}) em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM ($\text{pH } 5$), H_2O_2 $0,1\%$ (v/v) pela EPU-HRP na faixa de concentrações de (■) $0,23 \text{ mg.mL}^{-1}$, (●) $0,45 \text{ mg.mL}^{-1}$, (▲) $0,67 \text{ mg.mL}^{-1}$ e (▼) $0,87 \text{ mg.mL}^{-1}$, a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, 150 rpm , por 240 minutos.



Fonte: Centenaro (2017).

Observou-se que a enzima imobilizada *in situ* em espuma de poliuretano demonstra atividade na remoção do corante RB198. Através da análise dos dados experimentais foi possível constatar que, assim como para a enzima livre, o aumento da concentração de enzima de $0,23$ para $0,45 \text{ mg.mL}^{-1}$ favoreceu o aumento do percentual de remoção de cor de 57 para 62% , respectivamente. Todavia, para quantidades de enzima $> 0,45 \text{ mg.mL}^{-1}$ não foram observados aumentos expressivos no percentual de remoção de cor, evidenciando que a saturação da solução de corante com enzima não é capaz de aumentar expressivamente a remoção de cor.

Alemzadeh e Nejati (2009), em seu estudo de imobilização de HRP em matriz de alginato e aplicação na remoção de fenóis, também não observaram aumento desta remoção com o aumento da quantidade de enzima imobilizada disponibilizada no meio reacional.

Pramparo e colaboradores (2010) imobilizaram HRP em Eupergit[®] C, um polímero acrílico com epóxi, e avaliaram a capacidade deste sistema para a remoção de fenol, onde observaram um decréscimo

de 85% na atividade enzimática decorrente da imobilização no polímero.

Efeito semelhante foi observado por Zille e colaboradores (2003) ao estudarem a degradação enzimática de corantes aniônicos pela enzima lacase imobilizada em pellets esféricos de alumina, atribuindo este resultado a menor disponibilidade da enzima devido a sua imobilização na matriz polimérica. Entretanto, estes observaram que a remoção de cor da solução aquosa de corante dá-se através de efeitos simultâneos de adsorção deste no suporte e degradação enzimática, o que não foi observado no presente trabalho.

Uma vez que a técnica de imobilização de enzimas é utilizada para viabilizar o reuso desta, e assim baratear os custos operacionais do processo (NICOLETTI et al., 2015), a capacidade de reuso da EPU-HRP foi avaliada. Para isto, a EPU-HRP foi removida do meio reacional, lavada com água destilada e reutilizada em um novo ciclo sob as mesmas condições. A descoloração da solução de corante RB198 foi avaliada em 250 minutos e em 24 horas, todavia não foi observada significativa remoção de cor, indicando a lixiviação da enzima imediatamente após o primeiro ciclo de utilização.

Portanto, considerou-se que houve fraca imobilização da HRP no suporte polimérico (CARVALHO et al., 2015), possivelmente dado à baixa afinidade química entre eles, uma vez que a enzima HRP apresenta elevado caráter hidrofílico enquanto a EPU apresenta elevado caráter hidrofóbico (WANG et al., 2007; MORI; CASSELLA, 2009). Outro fator que contribuiu para a lixiviação da enzima pode ser associado ao tamanho dos poros da espuma de poliuretano, que por serem muito grandes e com bastante abertura, não ofereceram resistência ao carregamento da enzima pelo meio aquoso (CARVALHO et al., 2015).

Assim, para investigação desta lixiviação da enzima do suporte, a espuma de poliuretano sintetizada sem adição de enzima foi caracterizada quanto ao seu ponto isoelétrico por análise de potencial zeta (ζ), onde foi constatado que para $\text{pH} = 3,65$, a superfície da EPU é neutra. Para $\text{pH} > 3,65$, a superfície da EPU encontra-se negativamente carregada, enquanto em $\text{pH} < 3,65$, esta superfície apresenta cargas positivas.

Di Risio e Yan (2009) ao estudarem a imobilização de *Horseradish peroxidase* na superfície de fibras celulósicas constataram que a adsorção da enzima na superfície destas fibras decresceu quando estas apresentavam maior densidade de cargas negativas, indicando

assim, que a presença destas cargas não favoreceu o processo de adsorção da enzima. Este comportamento foi atribuído pelos autores ao fato de que as enzimas comerciais são quimicamente modificadas para a proteção dos seus grupamentos amino (positivos), e assim estes não estão disponíveis para a interação com os grupamentos do suporte. Ainda, de acordo estes autores, as enzimas quimicamente modificadas apresentam ponto isoelétrico mais baixo do que as enzimas na forma nativa (P.I.= 8,6 a 8,7).

No presente trabalho, o ponto isoelétrico da solução enzimática foi determinado, onde se constatou que as enzimas não apresentaram cargas na faixa de pH de 7 a 9, evidenciando assim, a modificação química e proteção de grupamentos amino. Dessa forma, concluiu-se que lixiviação da enzima pode ter ocorrido devido à ausência de interações eletrostáticas de atração entre o suporte (espuma de poliuretano, negativamente carregado para $\text{pH} > 3,65$) e a enzima.

Portanto, constatada a lixiviação da enzima imobilizada *in situ* no suporte polimérico buscou-se uma alternativa através da utilização de quitosana, citada na literatura como sendo capaz de formar um complexo com a enzima *Horseradish peroxidase* e este aderir-se a espuma de poliuretano através da capacidade de formação de filmes da quitosana (SHEKHOVTSOVA et al., 1997; VASELOVA; SHEKHOVTSOVA, 1999; VASELOVA et al., 2012).

Dessa forma, foram testadas diferentes quantidades de enzima HRP, quitosana e ainda a quantidade de espuma de poliuretano, e este sistema foi analisado para a remoção de corante RB198 preparado em solução tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) na concentração de 50 mg.L^{-1} .

4.1.9 Caracterização da espuma de poliuretano contendo enzima imobilizada *in situ*

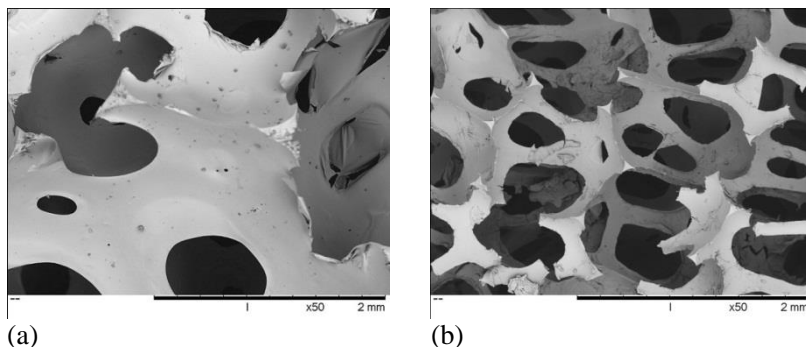
A morfologia das espumas de poliuretano contendo enzima imobilizada *in situ* foi investigada por microscopia eletrônica de varredura - MEV. Observou-se que a EPU-HRP apresentou estrutura porosa aberta, comumente verificada neste tipo de material (LEE et al., 2009), de forma que foi facilitado o acesso do corante ao sítio ativo da enzima imobilizada (Figura 18 a). Ainda, a visualização de pontos escuros na parede da EPU-HRP foi associada à presença da enzima.

Após o primeiro ciclo de utilização da EPU-HRP (Figura 18 b), observou-se intensa degradação na estrutura do material e não foram

mais observados pontos escuros no material, associados anteriormente à presença da enzima, e assim evidenciando a possibilidade desta ter sido lixiviada da superfície da EPU-HRP devido à fraca imobilização no suporte.

A morfologia da espuma de EPU-Peroxidase-quitosana não foi investigada.

Figura 18 – (a) Imagem de MEV para espuma de poliuretano contendo enzima HRP imobilizada *in situ* (50 x) e (b) Imagem de MEV para EPU-HRP após o primeiro ciclo de utilização (50 x).



Fonte: Centenaro (2017).

4.1.10 Aplicação da EPU-Peroxidase-quitosana na degradação de corante

A influência da quantidade de enzima, quantidade de quitosana e quantidade de espuma para degradação enzimática do corante RB198 através da formação do complexo peroxidase-quitosana foi avaliada através de experimentos em batelada. Nestes ensaios as quantidades de enzima foram variadas na faixa de concentração de 0 a 15 mg.mL⁻¹, a concentração de quitosana foi variada de 0,01 a 1 wt% e a quantidade de EPU variou de 10 a 500 mg (Tabela 3).

Tabela 3 – Influência da quantidade de quitosana, enzima e EPU no percentual de remoção de cor, para os ensaios conduzidos em shaker a 30 °C, 150 rpm, por 24 h.

Quitosana	Enzima	EPU	Remoção de cor
0,21 wt%	5,3 mg.mL ⁻¹	136 mg	88,14%
0,21 wt%	5,3 mg.mL ⁻¹	374 mg	97,62%
0,21 wt%	9,7 mg.mL ⁻¹	136 mg	77,03%
0,21 wt%	9,7 mg.mL ⁻¹	374 mg	96,16%
0,80 wt%	5,3 mg.mL ⁻¹	136 mg	98,03%
0,80 wt%	5,3 mg.mL ⁻¹	374 mg	94,36%
0,80 wt%	9,7 mg.mL ⁻¹	136 mg	97,59%
0,80 wt%	9,7 mg.mL ⁻¹	374 mg	95,62%
0,01 wt%	7,5 mg.mL ⁻¹	255 mg	1,7%
1,00 wt%	7,5 mg.mL ⁻¹	255 mg	95,48%
0,51 wt%	0,0 mg.mL ⁻¹	255 mg	99,22%
0,51 wt%	15 mg.mL ⁻¹	255 mg	96,77%
0,51 wt%	7,5 mg.mL ⁻¹	10 mg	9,79%
0,51 wt%	7,5 mg.mL ⁻¹	500 mg	95,79%
0,51 wt%	7,5 mg.mL ⁻¹	255 mg	97,04%
0,51 wt%	7,5 mg.mL ⁻¹	255 mg	96,94%
0,51 wt%	7,5 mg.mL ⁻¹	255 mg	96,84%

Fonte: Centenaro (2017).

Concluiu-se a partir dos resultados obtidos tampouco a quantidade de quitosana, enzima ou quantidade de EPU impactou fortemente na degradação do corante. Na prática, constatou-se que toda a remoção de cor das soluções foi associada à adsorção do corante, e isto devido à alta eficiência da quitosana como adsorvente de corantes em solução aquosa. Assim, não foi observada degradação do corante pela HRP, mas sim remoção de cor por adsorção em quitosana.

Uma vez que o maior percentual de remoção de cor foi obtido quando nenhuma enzima foi adicionada (99,22%) e foram utilizadas quantidades intermediárias de quitosana (0,51 wt%) e de suporte (255 mg), escolheu-se este ponto como partida para os ensaios de adsorção de

corante em espuma de poliuretano modificada apenas com solução ácida de quitosana.

4.2 ADSORÇÃO DE CORANTE NA SUPERFÍCIE MODIFICADA DA ESPUMA DE POLIURETANO

A partir dos resultados obtidos para a remoção de corantes pela enzima imobilizada, onde se verificou, além da lixiviação da enzima do suporte para a enzima imobilizada *in situ* também a incapacidade de degradação do corante RB198 pela enzima imobilizada covalentemente no complexo peroxidase-quitosana, em um segundo momento, avaliou-se a capacidade de remoção de corante em solução por um adsorvente de baixo custo obtido pela modificação da superfície de EPU com quitosana 0,51 wt%.

Ajustaram-se os dados experimentais aos modelos de isoterma de Langmuir e de Freundlich, e a cinética de adsorção foi avaliada pelos modelos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e difusão intrapartícula. A adsorção dos corantes RB221, RB21, RR195, Preto Remazol B e Azul Lanaset 2R também foram investigadas individualmente. Por fim, a capacidade de reuso do adsorvente foi avaliada.

4.2.1 Caracterização da EPU-Quitosana

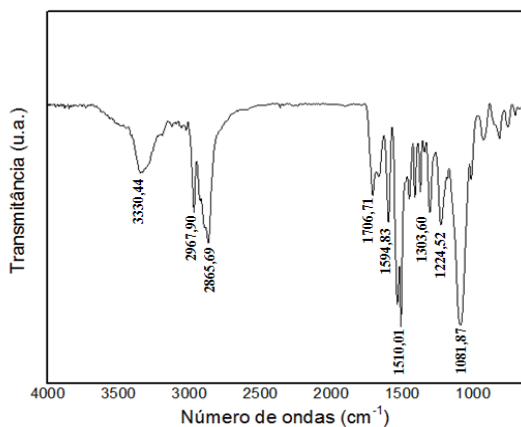
Através da análise de FT-IR foi possível confirmar a presença dos grupamentos orgânicos característicos da estrutura das espumas de poliuretano (Figura 19 a), pelo estiramento de uma banda intensa em 3330 cm^{-1} , região na qual as absorbâncias dos compostos orgânicos estão associadas às vibrações de deformação axial nos átomos de hidrogênio ligados a carbono, oxigênio e nitrogênio. Assim, este estiramento é associado às ligações OH e NH dos grupamentos uretano (-NCOOH-) (EL-BOURAIÉ, 2015; ZHANG et al., 2017). Ainda, é constatada a presença de picos característicos de ligações C-H em 2967 cm^{-1} e em 2865 cm^{-1} (KONG et al., 2016). A presença dos grupamentos uretano pode ser confirmada pelo estiramento de banda em 1594 cm^{-1} e 1510 cm^{-1} (SILVEIRA NETA et al., 2011).

Após a modificação com quitosana (Figura 19 b), foi possível observar a sobreposição dos picos característicos da quitosana e da espuma de poliuretano. Assim, observou-se novamente o estiramento de uma banda em 3330 cm^{-1} , região associada às vibrações dos grupos –

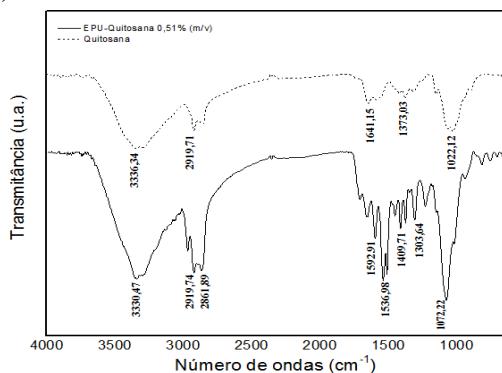
NH_2 e $-\text{OH}$ característicos da quitosana e também da espuma de poliuretano (FU et al., 2014) podendo ser confirmada pela formação de uma banda em 1072 cm^{-1} associada ao estiramento dos $-\text{OH}$ de álcoois.

A presença dos grupamentos amina pôde ser confirmada pela formação das bandas em 1072 cm^{-1} e 1020 cm^{-1} . Observou-se também o estiramento da banda em 2919 cm^{-1} e 2861 cm^{-1} associado às ligações dos grupos $-\text{CH}_2$ (RAJESWARI et al., 2016). Verificou-se a presença de ligação $-\text{CO}$ através da formação de banda em 1303 cm^{-1} e ligações $-\text{CN}$ pela formação da banda em 1536 cm^{-1} (MOURA et al., 2016).

Figura 19 – (a) Espectro FT-IR obtido para a espuma de poliuretano e (b) Espectro FT-IR para a espuma de poliuretano modificada com quitosana.



(a)



(b)

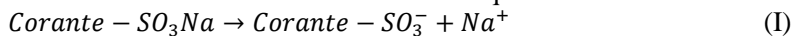
Fonte: Centenaro (2017).

4.2.2 Ajuste das isotermas

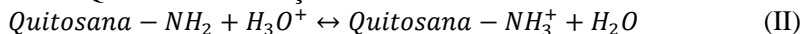
Os modelos de isoterma mais comumente utilizados para descrever os processos de adsorção são os de Langmuir e Freundlich (KONG et al., 2016). Espera-se que a capacidade máxima de adsorção da quitosana seja maior em soluções ácidas (LEE et al., 2009) uma vez que nestes meios a quitosana apresenta maior densidade de cargas superficiais positivas devido ao maior número de grupamentos amino protonados (WANG; WANG, 2007; ZHANG et al., 2017), e assim ocorre maior número de interações específicas entre estes grupamentos e os íons sulfônicos das moléculas do corante aniônico RB198 (CRINI; BADOT, 2008).

Admite-se que o mecanismo de adsorção dos corantes aniônicos, como o RB198, por quitosana se dê através de interações eletrostáticas entre os grupamentos amino protonados e os ânions sulfônicos do corante (DEBRASSI et al., 2011), ocorrendo de maneira semelhante ao proposto por Lee e colaboradores (2009), que pode ser entendido como:

Corante aniônico RB198 em meio aquoso:



Quitosana em solução ácida:



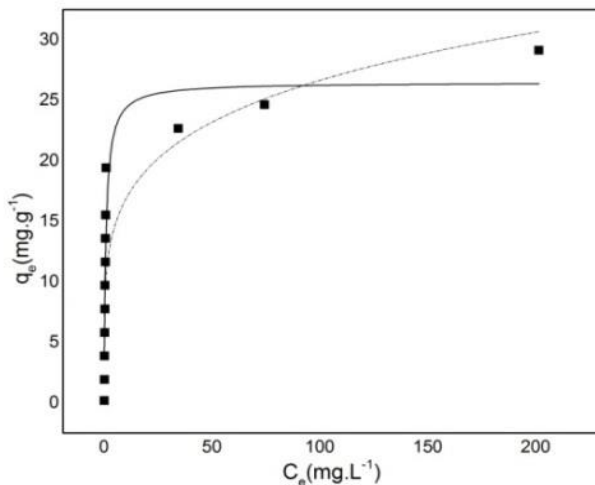
Interação entre a quitosana e o corante RB198 em meio ácido:



Portanto o pH da solução em que é realizado a adsorção do corante em quitosana é um fator determinante. Por meio de ensaios preliminares foi observada dissolução da quitosana da espuma de poliuretano ao se trabalhar em $\text{pH} < 5$ e assim levando a degradação do adsorvente, de forma que foi considerado como sendo ideal o $\text{pH} = 5$ para a realização dos subsequentes ensaios de adsorção de corante em EPU-Quitosana.

O ajuste dos dados experimentais de equilíbrio obtidos para o sistema em $\text{pH} 5$ às isotermas de Langmuir e de Freundlich deu-se com auxílio do software OriginPro[®] 9.0 (Fig. 20).

Figura 20– Ajuste dos dados experimentais aos modelos de isoterma de Langmuir (—) e Freundlich (---), para o corante RB198 preparado em solução tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) na faixa de concentrações de 10 a 350 mg.L⁻¹, após adsorção em EPU-Quitosana (255 mg) por 24 h, a 30 °C e 150 rpm.



Fonte: Centenaro (2017).

A qualidade do ajuste dos dados aos modelos é descrita pelos valores de qui-quadrado (χ^2) e valores do coeficiente de determinação (r^2). Os parâmetros calculados para os modelos, bem como a qualidade de ajuste dos dados aos modelos de isoterma são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Ajuste dos dados experimentais aos modelos de isoterma de Langmuir e Freundlich para o corante RB198 preparado em solução tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) na faixa de concentrações de 10 a 350 mg.L⁻¹, após adsorção em EPU-Quitosana (255 mg) por 24 h, a 30 °C e 150 rpm.

Modelo	K	Erro padrão	q _{máx}	Erro padrão	1/n	Erro padrão	χ^2	r ²
Langmuir	1,124	0,231	26,47	1,811	—	—	9,25	0,89
Freundlich	10,56	1,475	—	—	0,201	0,88	22,14	0,73

Fonte: Centenaro (2017).

Foi observado valores de qui-quadrado (χ^2) menores para o ajuste dos dados ao modelo de isoterma de Langmuir, bem como menores valores de erro padrão associados aos parâmetros e ainda valores maiores para o coeficiente de determinação (r^2). Logo, a adsorção do corante RB198 em EPU-Quitosana foi melhor descrita pelo modelo de isoterma de Langmuir, e assim sugerindo que o processo ocorra pela formação de uma monocamada, em sítios específicos e homogêneos, sendo de natureza química, cuja capacidade máxima de adsorção ($q_{\text{máx}}$, mg.g^{-1}) nestas condições é de $26,47 \text{ mg.g}^{-1}$. Fato este que corrobora com o estudo apresentado por Crini e Badot (2008), que ao revisarem a literatura para a remoção de corantes em meio aquoso empregando quitosana como adsorvente, encontraram ser o modelo de isoterma de Langmuir o ajuste mais comumente utilizado para descrever estes processos.

Os valores calculados para o fator de separação (R_L) foram não nulos e inferiores a 1 ($0 < R_L < 1$) e assim, o processo de adsorção foi considerado favorável (Tabela 5).

Tabela 5 – Fator de separação (R_L) calculado para a adsorção de RB198 preparado em solução tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) na faixa de concentrações de 10 a 350 mg.L^{-1} , após adsorção em EPU-Quitosana (255 mg) por 24 h, a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e 150 rpm.

C_0 (mg.L^{-1})	R_L
10	0,0817
20	0,0426
30	0,0288
40	0,0218
50	0,0175
60	0,0146
70	0,0126
80	0,0110
100	0,0088
150	0,0059
200	0,0044
350	0,0025

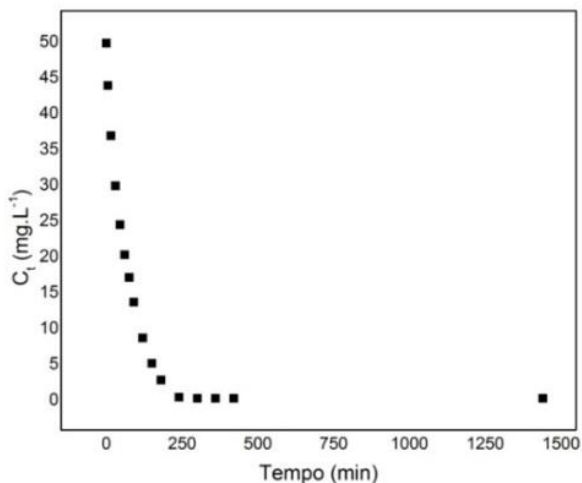
Fonte: Centenaro (2017).

Observou-se que o fator R_L diminuiu com o aumento da concentração da solução do corante RB198, indicando que para concentrações iniciais menores, a adsorção se dá mais intensamente e o processo aproxima-se da irreversibilidade.

4.2.3 Cinética de adsorção

A cinética da adsorção de corante RB198 em EPU-Quitossana foi avaliada. Para isto, foi utilizada solução de corante RB198 (50 mg.L^{-1}) preparada em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM ($\text{pH } 5$), e EPU-Quitossana (255 mg). Os experimentos foram conduzidos a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e 150 rpm , com amostragem do sistema em intervalos de tempo pré-determinados. Os resultados obtidos após 24 h são demonstrados na Figura 21.

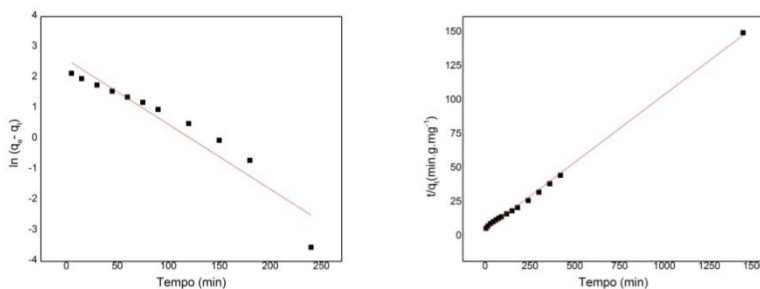
Figura 21 – Adsorção de RB198 (50 mg.L^{-1}) preparado em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM ($\text{pH } 5$) em EPU-Quitossana (255 mg), $30 \text{ }^\circ\text{C}$, 150 rpm , por 24 h .



Fonte: Centenaro (2017).

A partir dos dados obtidos, foram analisados os modelos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem (Figura 22 a e b).

Figura 22 – Ajuste dos dados experimentais de adsorção de RB198 (50 mg.L^{-1} , pH 5) em EPU-Quitosana (255 mg) ao (a) modelo cinético de pseudo-primeira ordem e (b) modelo cinético de pseudo-segunda ordem.



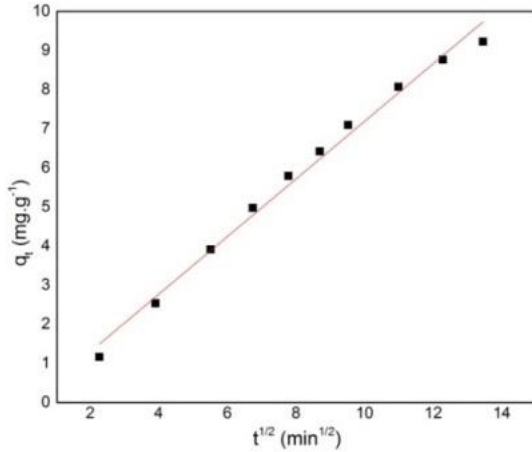
(a)

(b)

Fonte: Centenaro (2017).

Ainda, o modelo cinético que considera o efeito de difusão intrapartícula foi avaliado e através do ajuste dos dados experimentais ao modelo cinético de difusão, foi possível constatar a ocorrência do fenômeno até o tempo de 180 minutos (Figura 23), suficiente para a adsorção atingir seu estado de equilíbrio (Figura 19).

Figura 23 – Ajuste dos dados experimentais ao modelo cinético de difusão intrapartícula para a adsorção de RB198 (50 mg.L⁻¹, pH 5) em EPU-Quitosana (255 mg) por 180 minutos, 150 rpm, a 30 °C.



Fonte: Centenaro (2017).

A qualidade do ajuste dos dados experimentais dado pelo coeficiente de correlação (Pearson, r) e pelo coeficiente de determinação (r^2) aos modelos cinéticos, bem como os parâmetros dos modelos são demonstrados na Tabela 6.

Tabela 6 – Ajuste dos dados experimentais aos modelos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e difusão intrapartícula (por 180 minutos) para adsorção de RB198 (50 mg.L⁻¹, pH 5) em EPU-Quitossana (255 mg), 150 rpm, 30°C.

Parâmetro	Pseudo-primeira ordem	Pseudo-segunda ordem	Difusão intrapartícula
r	-0,957	0,999	0,995
r ²	0,907	0,998	0,989
q _{e, calc}	13,48	10,05	—
Erro padrão	0,247	0,001	—
k ₁	0,0212	—	—
k ₂	—	0,0032	—
K _P	—	—	0,737
C	—	—	-0,1593
Erro padrão	—	—	0,2261

Fonte: Centenaro (2017).

Portanto, ao analisarem-se os coeficientes indicativos da qualidade do ajuste dos dados experimentais aos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e difusão intrapartícula, é possível concluir que de modo geral, o processo de adsorção do corante RB198 (50 mg.L⁻¹, pH 5) foi governado pela cinética de pseudo-segunda ordem uma vez que há melhor ajuste dos dados experimentais a este modelo e ainda o valor calculado da capacidade de adsorção em equilíbrio q_e (mg.g⁻¹) (10,05 mg.g⁻¹) foi mais próximos do valor obtido experimentalmente (9,72 mg.g⁻¹).

Entretanto, foi possível concluir ainda que quando houve quantidade expressiva de soluto no meio aquoso, a taxa de adsorção foi também governada por forças de difusão intrapartícula, as quais diminuem de intensidade à medida que o sistema se aproxima do equilíbrio.

Assim, é possível afirmar que o processo de adsorção ocorreu com a difusão das moléculas do corante RB198 do seio líquido através de uma camada limite, seguida por difusão pelo interior da EPU-Quitossana, e então reação de troca iônica com a superfície positivamente carregada da EPU-Quitossana até a saturação dos sítios ativos, cessando assim o movimento das moléculas e o processo em si (CRINI; BADOT, 2008).

Comportamento semelhante a este foi descrito por Baldez e colaboradores (2008) ao estudarem a adsorção do corante azul de metileno em meio aquoso por espumas de poliuretano.

Os processos de adsorção em materiais adsorventes preparados com quitosana são, em sua grande maioria, governados por cinética de pseudo-segunda ordem, evidenciando ser a quimissorção a etapa limitante do processo (HASAN et al., 2008; CRINI; BADOT, 2008; LEE et al., 2009; ZHANG et al., 2017).

4.2.5 Reuso do adsorvente

Uma das vantagens do processo de adsorção para remoção de poluentes em meio aquoso é a possibilidade de reutilização do adsorvente empregado. A capacidade de regeneração e reuso de um adsorvente é uma condição importante na seleção do material, uma vez que isto permite não somente a redução dos custos operacionais como também minimiza o impacto ambiental relacionado à utilização de recursos e geração de resíduos (ABBASIAN et al., 2017; WANG et al., 2012).

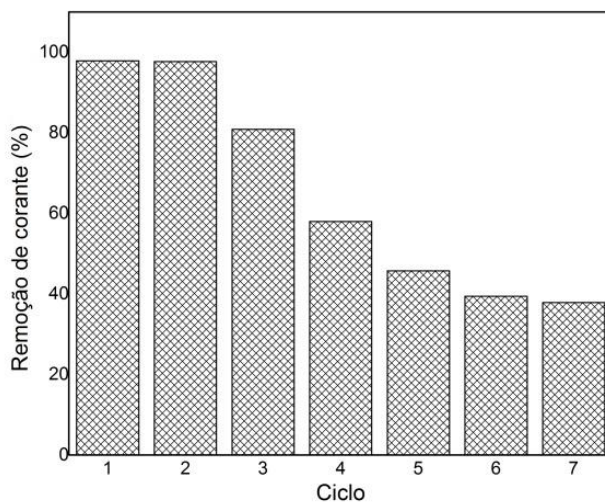
Neste trabalho, verificou-se que após sete ciclos de reutilização, a EPU-Quitosana manteve 38% da sua capacidade de remoção de corante, como observado na Figura 24, confirmando a hipótese de que este adsorvente é passível de reutilização sem a necessidade de tratamento ou remoção da carga de corante adsorvida na superfície antes de um novo ciclo. Isto se deve a não saturação de todos os sítios ativos da quitosana, de forma que poderia ter se optado pela utilização de uma solução de corante com maior concentração inicial. Ainda, a partir dos resultados apresentados observou-se capacidade de reutilização semelhante a adsorventes com base em quitosana encontrados na literatura.

Rajeswari e colaboradores (2016), ao avaliarem a capacidade de reutilização de compósitos formados por quitosana/polietilenoglicol e quitosana/polivinil álcool para adsorção de nitratos em solução aquosa, observaram que estes adsorventes mantiveram 63,32 e 62,52% de suas capacidades de remoção, respectivamente, após o 5º ciclo de reuso. Todavia, estes autores realizaram a regeneração do adsorvente pela dessorção dos corantes das superfícies dos compósitos utilizando soluções salinas de cloreto de sódio (0,025 M) em todos os interciclos.

Yu e colaboradores (2016) ao avaliarem a adsorção de chumbo (Pb^{2+}) e cádmio (Cd^{2+}) em compósitos de quitosana/polietilenoglicol e

quitosana/ácido poliacrílico, constataram a possibilidade de estes adsorventes serem reutilizados por até 4 ciclos mantendo altas as suas capacidades de adsorção. Entretanto, da mesma forma que Rajeswari e colaboradores (2016), estes autores também lançaram mão do recurso de regeneração do adsorvente entre os ciclos de utilização.

Figura 24 – Avaliação da capacidade de reuso da EPU-Quitosana (255 mg) para adsorção de RB198 (50 mg.L^{-1}) preparado em solução tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5), a 30°C , 150 rpm, por 60 minutos.



Fonte: Centenaro (2017).

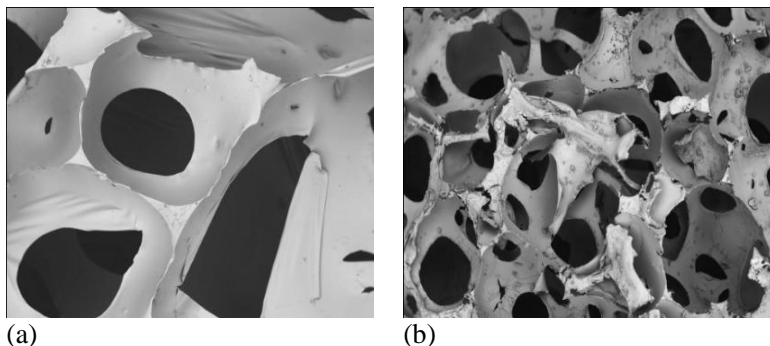
A regeneração de um adsorvente para possibilitar o seu reuso em um novo ciclo envolve a utilização de reagentes químicos, comumente soluções salinas e água, além de que este processo pode ocasionar danos ao adsorvente, impactando em sua capacidade de adsorção (KUROIWA et al., 2017; RAJESWARI et al., 2016; TOLESSA et al., 2017).

Desta forma, o presente adsorvente não apresenta tais desvantagens, uma vez que sua capacidade de adsorção mantém-se inalterada nos dois primeiros ciclos de reuso sem necessidade de regeneração ou dessorção do soluto, com diminuição gradativa do percentual de remoção de RB198 possivelmente ocasionada pelo processo de saturação dos sítios da monocamada e também devido à

perda da estrutura da EPU-Quitosana onde após cinco ciclos de reutilização em torno de 50% do corante foi removido.

Na Figura 25 (a) e (b) é exibida imagem de MEV para a EPU-Quitosana antes e após a sua utilização por sete ciclos consecutivos.

Figura 25 – (a) Imagem de MEV para EPU-Quitosana (50x) e (b) Imagem de MEV para EPU-Quitosana (50x) após o sétimo ciclo de utilização consecutivo.



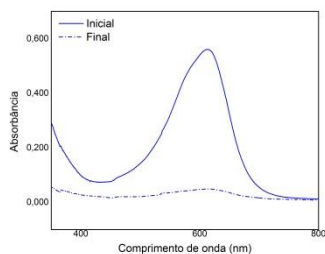
Fonte: Centenaro (2017).

4.2.6 Avaliação da remoção dos demais corantes reativos

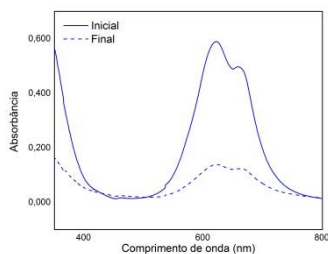
Avaliou-se ainda a capacidade de remoção de cor de outros corantes através do processo de adsorção em EPU-Quitosana. Para isto, foram preparadas soluções individuais dos corantes Azul Reativo 221, Azul Reativo 21 (Turquesa Remazol G133 %), Vermelho Reativo 195, Preto Remazol B e Azul Lanaset 2R em tampão ácido cítrico/citrato de sódio 50 mM (pH 5) na concentração de 50 mg.L⁻¹. Os experimentos foram conduzidos em shaker a 30 °C e 150 rpm, por 24 h. As curvas de absorção espectrais foram obtidas em espectrofotômetro são demonstradas na Figura 26 (a – e).

Foram obtidas remoções de corante iguais a 85,9% para o corante Azul reativo 221, 67,92% para o corante Azul Reativo 21 (Turquesa Remazol G133), 91,80% para o corante Vermelho Reativo 195, 49% para o corante Preto Remazol B e 50,3% para o corante ácido Azul Lanaset 2R (Acid Blue 225). Assim, é possível afirmar que o adsorvente EPU-Quitosana é também eficiente na remoção de cor de soluções de outros corantes, além do Azul Reativo 198.

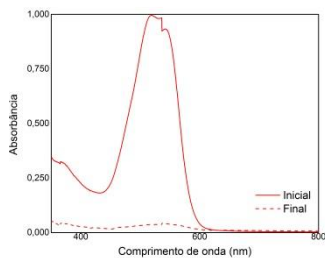
Figura 26 – (a) Varreduras espectrais para os corantes (a) RB221, (b) RB21, (c) RR195, (d) Preto Remazol B e (e) Azul Lanaset 2R, antes e após adsorção em EPU-Quitosana (255 mg), 150 rpm, 30 °C, por 24 h.



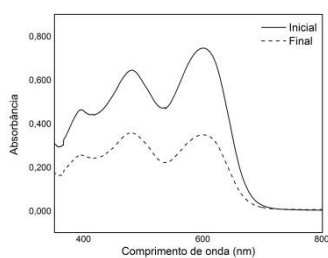
(a)



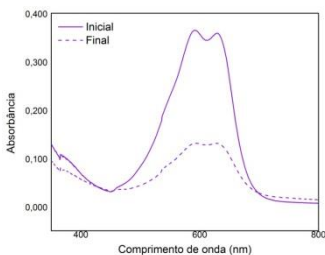
(b)



(c)



(d)



(e)

Fonte: Centenaro (2017).

O mecanismo de adsorção destes corantes é semelhante ao mecanismo proposto para a adsorção do corante RB198, uma vez que em meio aquoso estes também apresentam íons sulfônicos capazes de interagir com os grupamentos amino protonados da quitosana em meio ácido (CRINI; BADOT, 2008; LEE et al., 2009).

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

5.1 CONCLUSÕES

- A imobilização “*in situ*” da enzima no suporte espuma de poliuretano se deu fracamente, de forma que após o primeiro ciclo de utilização já houve a lixiviação da enzima do suporte.
- A lixiviação foi atribuída à modificação química da enzima com proteção dos grupamentos amino, de forma que a enzima não apresenta cargas para que possa interagir quimicamente com o suporte e assim aderir-se a ele por interações mais fortes e evitar sua lixiviação. Além disso, a estrutura macroporosa da espuma não foi capaz de assegurar a manutenção da enzima em seu interior;
- A utilização da enzima imobilizada pela formação do complexo EPU-Peroxidase-quitosana não foi possível, de forma que ao avaliar a remoção de cor das soluções de corante por este sistema, a adsorção do corante em quitosana foi o mecanismo de descoloração das soluções.
- A adsorção de corantes em quitosana se dá em monocamada (Langmuir) e é governada, em geral, pela cinética de pseudo-segunda ordem.
- O reciclo da EPU-quitosana foi possível por até sete ciclos e este adsorvente é capaz de remover ainda outros corantes reativos e ácidos.

5.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Obtenção da própria enzima HRP em laboratório para que se tenha uma enzima livre de aditivos químicos estabilizantes e, dessa forma, sem a proteção dos grupos amino, possa se conseguir a adsorção por interação iônica desta no suporte;
- Síntese de espuma de poliuretano com menor diâmetro de poros e ponto isoelétrico superior;
- Avaliar a imobilização *in situ* de HRP obtida em laboratório no suporte espuma de poliuretano com menor diâmetro de poros para testar sua capacidade de retenção desta, bem como acesso do meio reacional e capacidade de liberação dos produtos;
- Avaliar a capacidade da espuma de poliuretano de maior ponto isoelétrico para atuação como adsorvente de corantes aniônicos;

- Avaliar a capacidade de remoção de corantes em solução através da adsorção em EPU-Quitossana em reatores de fluxo contínuo;
- Avaliar a remoção de cor por adsorção em EPU-Quitossana utilizando efluentes reais da indústria têxtil.

6. REFERÊNCIAS

- ABBASIAN, M.; JAYMAND, M.; NIROOMAND, P.; FARNOUDIAN-HABIBI, A.; KARAJ-ABAD, S. G. **Grafting of aniline derivatives onto chitosan and their applications for removal of reactive dyes from industrial effluents.** *International Journal of Biological Macromolecules* v. 95, p. 393 – 403, 2017.
- ABIT. **Cartilha Indústria Têxtil e de Confeção Brasileira – Cenários, Desafios, Perspectivas e Demandas** (2013). Disponível em: <http://www.abit.org.br/cont/cartilha-industria-textil> Acesso em Junho de 2017.
- ABRAHANT, E. N. **Dyes and Their Intermediates.** Edward Arnold LTD., London, 1977.
- AHMAD, A.; MOHD-SETAPAR, S. H.; CHUONG, C. S.; KHATOON, A.; WANI, W. A.; KUMAR, R.; RAFATULLAH, M. **Recent advances in new generation dye removal technologies: novel search for approaches to reprocess wastewater.** *RSC Advances* v. 5, n.º 39, p. 30801 – 30818, 2015.
- AHMED, N. S. E.; EL-SHISHTAWY, R. M. **The use of new technologies in coloration of textile fibers.** *Journal of Materials Science* v. 45, p. 1143 – 1153, 2010.
- ALCÂNTARA, M. R.; DALTIM, D. **A química do processamento têxtil.** *Química Nova* v. 19, n.º 3, p. 320 – 330, 1996.
- ALEMZADEH, I.; NEJATI, S. **Phenols removal by immobilized horseradish peroxidase.** *Journal of Hazardous Materials* v. 166, p. 1082 – 1086, 2009.
- ALESSANDRELLO, M.; PARELLADA, E. A.; TOMÁS, M. S.; NESKE, A.; VULLO, D. L.; FERRERO, M. A. **Polycyclic aromatic hydrocarbons removal by immobilized bacterial cells using annonaceous acetogenins for biofilm formation stimulation on polyurethane foam.** *Journal of Environmental Chemical Engineering* v. 5, n.º 1, p. 189 – 195, 2017.
- AMIN, M. N.; BLACKBURN, R. S. **Sustainable chemistry method to improve the wash-off process of reactive dyes on cotton.** *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* v. 3, n.º 4, p. 725 – 732, 2015.
- ANASTASI, A.; COPPOLA, T.; PRIGIONE, V.; VARESE, G. C. **Pyrene degradation and detoxification in soil by a consortium of basidiomycetes isolated from compost: Role of laccases and peroxidases.** *Journal of Hazardous Materials* v.165, p. 1229 – 1233, 2009.

- ANASTOPOULOS, I.; BHATNAGAR, A.; HAMEED, B. H.; OK, Y. S.; OMIROU, M. **A review on waste-derived adsorbents from sugar industry for pollutant removal in water and wastewater.** *Journal of Molecular Liquids* v. 240, p. 179 – 188, 2017.
- ARAÚJO, M.; CASTRO, E. M. M. **Manual de Engenharia Têxtil** v.2. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1986.
- ASFARAM, A.; GHAEDI, M.; HAJATI, S.; GOUDARZI, A.; DIL, E. A. **Screening and optimization of highly effective ultrasound-assisted simultaneous adsorption of cationic dyes onto Mn-doped Fe₃O₄-nanoparticle-loaded activated carbon.** *Ultrasonics Sonochemistry* v. 34, p. 1 – 12, 2017.
- ASGHER, M. **Biosorption of Reactive Dyes: A Review.** *Water Air & Soil Pollution* v. 223, p. 2417 – 2435, 2012.
- ASGHER, M.; NOREEN, S.; BILAL, M. **Enhancement of catalytic, reusability, and long-term stability features of *Trametes versicolor* IBL-04 laccase immobilized on different polymers.** *International Journal of Biological Macromolecules* v. 95, p. 54 – 62, 2017.
- BABU, B. R.; PARANDE, A. K.; RAGHU, S.; KUMAR, P. **Cotton Textile Processing: Waste Generation and Effluent Treatment.** *Journal of Cotton Science* v. 11, p. 141 – 153, 2007.
- BALDEZ, E. E.; ROBAINA, N. F.; CASELLA, R. J. **Employment of polyurethane foam for the adsorption of Methylene Blue in aqueous medium.** *Journal of Hazardous Materials* v. 159, p. 580 – 586, 2008.
- BASTIAN, E.; ONISHI, Y. **Guia técnico ambiental da indústria têxtil – Série P+L.** CETESB: SINDITÊXTIL, 2009.
- BATTISTUZZI, G.; BELLEI, M.; BORTOLOTTI, C. A.; SOLA, M. **Redox properties of heme peroxidases.** *Archives of Biochemistry and Biophysics* v. 500, p. 21 – 36, 2010.
- BECHTOLD, T.; BURTSCHER, E.; HUNG, Y. **Treatment of textile wastes.** In: Wang, Lawrence K., Hung, Yung-Tse, Lo, Howard H., Yapijakis, Constantine (Eds.). *Handbook of Industrial Hazardous Wastes Treatment*, 2^o Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 2004.
- BELHACHEMI, M.; ADDOUN, F. **Comparative adsorption isotherms and modeling of methylene blue onto activated carbons.** *Applied Water Science* v. 1, n.º 3, p. 111 – 117, 2011.
- BELTRAME, L. T. C. **Caracterização de Efluente têxtil e Proposta de Tratamento,** Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2000.

- BHUNIA, A.; DURANI, S.; WANGIKAR, P. P. **Horseradish peroxidase catalyzed degradation of industrially important dyes.** *Biotechnology and Bioengineering* v. 72, n.º 5, p. 562 – 567, 2001.
- BILAL, M.; ASGHER, M. **Sandal reactive dyes decolorization and cytotoxicity reduction using manganese peroxidase immobilized onto polyvinyl alcohol-alginate beads.** *Chemistry Central Journal* v. 9, n.º 37, p. 1 – 14, 2015.
- BILAL, M.; IQBAL, H. M. N.; SHAH, S. Z. H.; HU, H.; WANG, W.; ZHANG, X. **Horseradish peroxidase-assisted approach to decolorize and detoxify dye pollutants in a packed bed bioreactor.** *Journal of Environmental Management* v. 183, p. 836 – 842, 2016.
- BRADFORD, M. M. **A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.** *Analytical Biochemistry* v.72, p. 248 – 254, 1976.
- BRAILE, P. M.; CAVALCANTI, J. E. W. A. **Manual de tratamento de águas residuárias.** CETESB, São Paulo, 1993.
- BRIK, M.; SCHOEBERL, P.; CHAMAM, B.; BRAUN, R.; FUCHS, W. **Advanced treatment of textile wastewater towards reuse using a membrane bioreactor.** *Process Biochemistry* v. 41, p. 1751 – 1757, 2006.
- BRILLAS, E.; MARTÍNEZ-HUITLE, C. A. **Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods – An updated review.** *Applied Catalysis B: Environmental* v. 166 – 167, p. 603 – 643, 2015.
- BRITO, G. A. **Sustentabilidade: um desafio para as lavanderias industriais.** *Revista de Design, Inovação e Gestão Estratégica* v. 4, n.º. 2, 2013.
- BUDNYAK, T. M.; YANOVSKA, E. S.; KICHKIRUK, O. Y.; STERNIK, D.; TERTYKH, V. A. **Natural Minerals Coated by Biopolymer Chitosan: Synthesis, Physicochemical, and Adsorption Properties.** *Nanoscale Research Letters* v. 11, p. 1 – 12, 2016.
- BUSTAMANTE-VARGAS, C. E.; OLIVEIRA, D.; NYARI, N. L. D.; VALDUGA, E.; SOARES, M. B. A.; BACKES, G. T.; DALLAGO, R. M. **In situ immobilization of commercial pectinase in rigid polyurethane foam and application in the hydrolysis of pectic oligosaccharides.** *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* v. 122, p. 35 – 43, 2015.
- CADENA, P. G.; WIGGERS, F. N.; SILVA, R. A.; LIMA FILHO, J. L.; PIMENTEL, M. C. B. **Kinectis and bioreactor studies of**

immobilized invertase on polyurethane rigid adhesive foam. *Bioresource Technology* v. 102, p. 513 – 518, 2011.

CAO, L.; VAN RANTWIJK, F.; SHELDON, R. A. **Cross-Linked Enzyme Aggregates: A Simple and Effective Method for the Immobilization of Penicillin Acylase.** *Organic Letters* v. 2 (10), p. 1361 – 1364, 2000.

CARVALHO, N. B.; LIMA, A. S.; SOARES, C. M. F. **Use of modified silicas for lipase immobilization.** *Química Nova* v. 38, n.º 3, p. 399 – 409, 2015.

CENTENO, D. A.; SOLANO, X. H.; CASTILLO, J. J. **A new peroxidase from leaves of guinea grass (*Panicum maximum*): A potential biocatalyst to build amperometric biosensors.** *Bioelectrochemistry* v. 116, p. 33 – 38, 2017.

CHAIM, M. S. **Guia técnico ambiental da indústria têxtil.** FIEMG – Federação das Indústrias do Estado de Minas Gerais, FEAM – Fundação Estadual do Meio Ambiente de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

CHANG, Q.; JIANG, G.; TANG, H.; LI, N.; WU, L. **Enzymatic removal of chlorophenols using horseradish peroxidase immobilized on superparamagnetic Fe₃O₄/graphene oxide nanocomposite.** *Chinese Journal of Catalysis* v. 36, p. 961 – 968, 2015.

CHIONG, T.; LAU, S. Y.; LEK, Z. H.; KOH, B. Y.; DANQUAH, M. K. **Enzymatic treatment of methyl orange dye in synthetic wastewater by plant-based peroxidase enzymes.** *Journal of Environmental Chemical Engineering* v. 4, p. 2500 – 2509, 2016.

CHOI, C.; NAM, J-P.; NAH, J-W. **Application of chitosan and chitosan derivatives as biomaterials.** *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* v. 33, p. 1 – 10, 2016.

CHOWDHURY, R.; BARAH, N.; RASHID, H. **Facile Biopolymer Assisted Synthesis of Hollow SnO₂ Nanostructures and Their Application in Dye Removal.** *Chemistry Select* v. 1, n.º 15, p. 4682 – 4689, 2016.

CHRISTIE, R. M. **Environmental Aspects of Textile Dyeing.** 1ª ed., Woodhead Publishing LTD, Manchester, England, 2007.

CHUNG, H.; KIM, W.; PARK, J.; CHO, J.; JEONG, T.; PARK, P. **Application of Langmuir and Freundlich isotherms to predict adsorbate removal efficiency or required amount of adsorbent.** *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* v. 28, p. 241 – 246, 2015.

CONMETRO – Conselho Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Resolução n.º 02, de 06 de maio de 2008.

- CRINI, G. **Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: a review.** *Bioresource Technology* v. 97, p. 1061 – 1085, 2006.
- CRINI, G.; BADOT, P.M. **Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: a review of recent literature.** *Progress in Polymer Science* v. 33, p. 399 – 447, 2008.
- CUI, C.; TAO, Y.; LI, L.; CHEN, B.; TAN, T. **Improving the activity and stability of *Yarrowia lipolytica* lipase Lip2 by immobilization on polyethyleneimine-coated polyurethane foam.** *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* v. 91, p. 59 – 66, 2013.
- DALVAND, A.; NABIZADEH, R.; GANJALI, M. R.; KHOABI, M.; NAZMARA, S.; MAHVI, A. H. **Modeling of Reactive Blue 19 azo dye removal from colored textile wastewater using L-arginine-functionalized Fe₃O₄ Nanoparticles: Optimization, reusability, kinetic and equilibrium studies.** *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* v. 404, p. 179 – 189, 2016.
- DASGUPTA, J.; SIKDER, J.; CHAKRABORTY, S.; CURCIO, S.; DRIOLI, E. **Remediation of textile effluents by membrane based treatment techniques: a state of the art review.** *Journal of Environmental Management* v. 147, p. 55 – 72, 2015.
- DATTA, S.; CHRISTENA, L. R.; RAJARAM, Y. R. S. **Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials.** *Biotech* v. 1, p. 1 – 9, 2013.
- DEBRASSI, A.; LARGURA, M. C. T.; RODRIGUES, C. A. **Adsorção do corante vermelho congo por derivados de o-carboximetilquitosana hidrofobicamente modificados.** *Química Nova* v. 34, n.º 5, p. 764 – 770, 2011.
- DI RISIO, S.; YAN, N. **Adsorption and inactivation behavior of horseradish peroxidase on various substrates.** *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* v. 79, p. 397 – 402, 2009.
- DOS SANTOS, A. B.; CERVANTES, F. J.; VAN LIER, J. B. **Review paper on current Technologies for decolourisation of textile wastewaters: perspectives for anaerobic biotechnology.** *Bioresource Technology* v. 98, n.º 12, p. 2369 – 2385, 2007.
- DOTTO, G. L.; RODRIGUES, F. K.; TANABE, E. H.; FRÖHLICH, R.; MARTINS, T. R.; FOLETTO, E. L. **Development of chitosan/bentonite hybrid composite to remove hazardous anionic and cationic dyes from colored effluents.** *Journal of Environmental Chemical Engineering* v. 4, n.º 3, p. 3230 – 3239, 2016.

DOTTO, G. L.; VIEIRA, M. L. G.; GONÇALVES, J. O.; PINTO, L. A. de A. **Remoção dos corantes azul brilhante, amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina de soluções aquosas utilizando carvão ativado, terra ativada, terra diatomácea, quitina e quitosana: estudos de equilíbrio e termodinâmica.** *Química Nova* v. 34, n.º 7, p. 1193 – 1199, 2011.

EL-BOURAIIE, M. **Removal of the Malachite Green (MG) Dye from textile Industrial Wastewater Using the Polyurethane Foam functionalized with Salicylate.** *Journal of Dispersion Science and Technology* v. 36, p. 1228 – 1236, 2015.

EPSTEIN, J.; MICHAEL, J.; MANDONA, C.; MARQUES, F.; DIAS-CABRAL, A. C.; THRASH, M. **Modeling Langmuir isotherms with the Gillespie stochastic algorithm.** *Journal of Chromatography A* v. 1380, p. 81 – 87, 2015.

FALADE, A. O.; NWODO, U. U.; IWERIEBOR, B. C.; GREEN, E.; MABINYA, L. V.; OKOH, A. I. **Lignin peroxidase functionalities and prospective applications.** *MicrobiologyOpen* v. 6, n.º 1, 2017.

FARIAS, S. **Utilização da enzima *Horseradish peroxidase* na lavagem pós-tingimento para remoção de corante reativo não-fixado às fibras de algodão,** Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

FERNANDES, I. A. **Estudo da imobilização de lipases utilizando poli-hidroxibutirato-co-hidroxivalerato (PHBV) e poliuretano (PU) como suportes,** Tese (Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos), Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2013.

FONTES, M. P.; CAMARGO, O. A.; SPOSITO, G. **Eletroquímica das partículas coloidais e sua relação com a mineralogia de solos altamente intemperizados.** *Scientia Agrícola* V. 58, n.º 3, p. 627 – 646, 2001.

FORGACS E.; CSERHÁTI, T.; OROS, G. **Removal of synthetic dyes: a review.** *Environmental International* v. 30, p. 953 – 971, 2004.

FORGIARINI, E. **Degradação de Corantes e Efluentes têxteis pela enzima *Horseradish peroxidase* (HRP),** Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

FRITEZ-GARCIA, M. B.; MONTEIRO, F. F.; CRISTOFOLINI, T.; ACUÑA, J. J.; ZANETTI-RAMOS, B. G.; OLIVEIRA, I. R. W. Z.; SOLDI, V.; PASA, A. A.; CRECZYNSKI-PASA, T. B.

- Characterization of horseradish peroxidase immobilized on PEGylated polyurethane nanoparticles and its application for dopamine detection.** *Sensors and Actuators B: Chemical* v. 182, p. 264 – 272, 2013.
- FU, Y.; VIRARAGHAVAN, T. **Fungal decolorization of dye wastewaters: a review.** *Bioresource Technology* v. 79, n.º 3, p. 251 – 262, 2001.
- GAFFAR, M. A.; SAFAA, M. E.; EL-TAHLAWY K. F. **Preparation and utilization of ionic exchange resin via graft copolymerization of β -CD itaconate with chitosan.** *Carbohydrate Polymers* v. 56, p. 387 – 396, 2004.
- GE, B.; MEN, X.; LI, Y.; ZHANG, Z. **One-step foaming method to functional polyurethane absorbents foam.** *Separation Science and Technology* v. 51, n.º 8, p. 1299 – 1306, 2016.
- GHALY, A. E.; ANANTHASHANKAR, R.; ALHATTAB, M.; RAMAKRISHNAN, V. V. **Production, Characterization and Treatment of Textile Effluents: A Critical Review.** *Journal of Chemical Engineering & Process Technology* v. 5, p. 1 – 18, 2014.
- GOGOI, P.; THAKUR, A. J.; DEVI, R. R.; DAS, B.; MAJI, T. K. **A comparative study on sorption of arsenate ions from water by crosslinked chitosan and crosslinked chitosan/MMT nanocomposite.** *Journal of Environmental Chemical Engineering* v. 4 (4 – A), p. 4248 – 4257, 2016.
- GORDON, S.; HSIEH, Y. L. **Cotton: Science and Technology** 1^a Ed. Woodhead Publishing LTD, Cambridge, England, 2007.
- GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. **Corantes têxteis.** *Química Nova* v. 23, n.º 1, p. 71 – 78, 2000.
- GUENDOZ, S.; KHELLAF, N.; ZERDAOUI, M.; OUCHEFOUN, M. **Biosorption of synthetic dyes (Direct Red 89 and Reactive Green 12) as an ecological refining step in textile effluent treatment.** *Environmental Science and Pollution Research* v. 20, p. 3822 – 3829, 2013.
- GUPTA, V. K.; SUHAS. **Application of low cost adsorbents for dye removal – a review.** *Journal of Environmental Management* v. 90, p. 2313 – 2342, 2009.
- GUTIERREZ, M. C.; CRESPI, M. **A review of electrochemical treatments for colour elimination.** *Society of Dyers and Colourists* v.115, p. 342 – 345, 1999.
- HABIBA, U.; SIDDIQUE, T. A.; JOO, T. C.; SALLEH, A.; ANG, B. C.; AFIFI, A. M.; **Synthesis of chitosan/polyvinyl alcohol/zeolite**

composite for removal of methyl orange, Congo red and chromium (VI) by flocculation/adsorption. *Carbohydrate Polymers* v. 157, p. 1568 – 1576, 2017.

HAMID, M.; KALIL-UR-REHMAN. **Potential applications of peroxidases.** *Food Chemistry* v. 115, n.º 4, p. 1177 – 1186, 2009.

HAO, O. J.; KIM, H.; CHIANG, P. C. **Decolorization of Wastewater.** *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* v. 30 (4), p. 449 – 505, 2000.

HASAN, M.; AHMAD, A. L.; HAMEED, B. H. **Adsorption of reactive dye onto cross-linked chitosan/oil palm ash composite beads.** *Chemical Engineering Journal* v. 136, p. 164 – 172, 2008.

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.

HE, X.; LI, K.; XING, R.; LIU, S.; HU, L.; LI, P. **The production of fully deacetylated chitosan by compression method.** *The Egyptian Journal of Aquatic Research* v. 42, n.º 1, p. 75 – 81, 2016.

HENDRICKX, I.; BOARDMAN, G. D. **Pollution prevention studies in the textile wet processing industry.** Virginia, 1995.

HERBST, W.; HUNGER, K. **Industrial Organic Pigments: Production, Properties, Applications** 3^a ed. Wiley, 2004.

HU, P.; WANG, J.; HUANG, R. **Simultaneous removal of Cr(VI) and Amido Black 10B (AB10B) from aqueous solutions using quaternized chitosan bentonite.** *International Journal of Biological Macromolecules* v. 92, p. 694 – 701, 2016.

HUANG, R.; LIU, Q.; HUO, J.; YANG, B. **Adsorption of methyl orange onto protonated cross-linked chitosan.** *Arabian Journal of Chemistry* v. 10, n.º 1, p. 24 – 32, 2017.

ILLANES, A.; CAUERHFF, A.; WILSON, L.; CASTRO, G. R. **Recent trends in biocatalysis engineering.** *Bioresource Technology* v. 155, p. 48 – 57, 2012.

ISLAM, M. T. **Environment-friendly reactive dyeing process for cotton to substitute dyeing additives.** *Clean Technologies and Environmental Policy* v. 18, p. 601 – 608, 2016.

JIANG, R.; FU, Y-Q.; ZHU, H-Y.; YAO, J.; XIAO, L. **Removal of Methyl Orange from Aqueous Solutions by Magnetic Maghemite/Chitosan Nanocomposite Films: Adsorption Kinetics and Equilibrium.** *Journal of Applied Polymer Science* v.125, p. 540 – 549, 2012.

- JIANG, Y.; CUI, C.; ZHOU, L.; HE, Y.; GAO, J. **Preparation and characterization of Porous Horseradish peroxidase microspheres for the removal of phenolic compound and dye.** *Industrial & Engineering Chemistry Research* v. 53, p. 7591 – 7597, 2014.
- JUNG, G.; KIM, H. **Synthesis and photocatalytic performance of PVA/TiO₂/ graphene-MWCNT nanocomposites for dye removal.** *Applied Polymer Science* v. 131, p. 1 – 7, 2014.
- KHATAEE, A. R.; DEGHAN, G.; EBADI, E.; POURHASSAN, M. **Central Composite Optimization of Biological Dye Removal in the Presence of Macroalgae *Chara* sp.** *Clean Soil Air Water* v. 38, n.º 8, p. 750 – 757, 2010.
- KHATRI, A.; PEERZADA, M. H.; MOHSIN, M.; WHITE, M. A **review on developments in dyeing cotton fabrics with reactive dyes for reducing effluent pollution.** *Journal of Cleaner Production* v. 87, p. 50 – 57, 2015.
- KHATRI, A.; WHITE, M.; PADHYE, R.; MOMIM, N. H. **The use of reflectance measurements in the determination of diffusion of reactive dyes into cellulosic fiber.** *Color Research & Application* v. 39, n.º 1, p. 63 – 69, 2014.
- KIM, S.; LEE, J.; JANG, S.; LEE, H.; SUNG, D.; CHANG, J. H. **High efficient chromogenic catalysis of tetramethylbenzidine with horseradish peroxidase immobilized magnetic nanoparticles.** *Biochemical Engineering Journal* v. 105 (B), p. 406 – 411, 2016.
- KING, D. **Dyeing of cotton and cotton products.** In: Gordon, S.; Hsieh, Y. L. (Eds.), *Cotton: Science and Technology* p. 353 – 377. Woodhead Publishing LTD, Cambridge, England, 2007.
- KLAVARIOTI, M.; MANTZAVINOS, D.; KASSINOS, D. **Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes.** *Environment International* v. 35, n.º 2, p. 402 – 417, 2009.
- KOCABAS, A. M.; YUKSELER, H.; DILEK, F. B.; YETIS, U. **Directive to a textile mill: analysis of water and energy consumption.** *Journal of Environmental Management* v. 91, p. 102 – 113, 2009.
- KONG, L.; QIU, F.; ZHAO, Z.; ZHANG, X.; ZHANG, T.; PAN, J.; YANG, D. **Removal of brilliant green from aqueous solutions based on polyurethane foam adsorbent modified with coal.** *Journal of Cleaner Production* v. 137, p. 51 – 59, 2016.
- KRAINER, F. W.; GLIEDER, A. **An update view on Horseradish peroxidases: recombinant production and biotechnological**

- applications.** *Applied Microbiology and Biotechnology* v. 99, p. 1611 – 1625, 2015.
- KUMAR, A.; SHARMA, G.; NAUSHAD, M.; SINGH, P.; KALIA, S. **Polyacrylamide/Ni_{0.02}Zn_{0.98}O Nanocomposite with High Solar Light Photocatalytic Activity and Efficient Adsorption Capacity for Toxic Dye Removal.** *Industrial & Engineering Chemistry Research* v. 53, n.º 40, p. 15549 – 15560, 2014.
- KUMARI, S.; RATH, P. K. **Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from (*Labeo rohita*) Fish Scales.** *Procedia Materials Science* v. 6, p. 482 – 489, 2016.
- KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S. G.; DURÁN, N. **Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis.** *Química Nova* v. 25, n.º 1, p. 78 – 82, 2002.
- KUROIWA, T.; TAKADA, H.; SHOGEN, A.; SAITO, K.; KOBAYASHI, I.; UEMURA, K.; KANAZAWA, A. **Cross-linkable chitosan-based hydrogel microbeads with pH-responsive adsorption properties for organic dyes prepared using size-tunable microchannel emulsification technique.** *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* v. 514, p. 69 – 78, 2017.
- LANGE, C. R. **Estudo das condições operacionais do processo de tingimento de fibra mista acrílico/algodão em bobina cruzada,** Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.
- LEÃO, M. D. **Controle ambiental na indústria têxtil: acabamento de malhas.** 1ª Ed., Editora Segrac, Belo Horizonte, 2002.
- LEE, H. C.; JEONG, Y. G.; MIN, B. G.; LYOO, W. S.; LEE, S. C. **Preparation and Acid Dye Adsorption Behavior of Polyurethane/Chitosan composite foams.** *Fibers and Polymers* v. 10, n.º 5, p. 636 – 642, 2009.
- LEWIS, D. M. **Developments in the chemistry of reactive dyes and their application processes.** *Coloration Technology* v. 130, n.º6, p. 382 – 412, 2014.
- LI, X. X.; LI, J.; SUN, X. J. **Preparation and malachite green adsorption behavior of polyurethane/chitosan composite foam.** *Journal of Cellular Plastics* v. 51, n.º 4, p. 373 – 386, 2014.
- LIANG, X.; LU, Y.; YANG, C.; NIU, C.; SU, X. **Bentonite/carbon composite as highly recyclable adsorbents for alkaline wastewater treatment and organic dye removal.** *Microporous and Mesoporous Materials* v. 241, p. 107 – 114, 2017.

- MADDHINNI, V. L.; VURIMINDI, H. B.; YERRAMILI, A. **Degradation of azo dye with horseradish peroxidase (HRP).** *Journal of the Indian Institute of Science* v. 86, p. 507 – 514, 2006.
- MAHMOUD, A. S.; GHALY, A. E.; BROOKS, M. S. **Removal of dye from textile wastewater using plant oils under different pH and temperature conditions.** *American Journal of Environmental Sciences* v. 3, p. 205 – 218, 2007.
- MALANI, R. S.; KHANNA, S.; MOHOLKAR, V. S. **Sonoenzymatic decolourisation of an azo dye employing immobilized horseradish peroxidase (HRP): A mechanistic study.** *Journal of Hazardous Materials* v. 256 – 257, p. 90 – 97, 2013.
- MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; BRILLAS, E. **Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods: a general review.** *Applied Catalysis B: Environmental* v.87, n.º 3, p. 105 – 145, 2009.
- MIRZAEI, N.; HADI, M.; GHOLAMI, M.; FARD, R. F.; AMINABAD, M. S. **Sorption of acid dye by surfactant modified natural zeolites.** *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* v.59, p. 186 – 194, 2016.
- MOHAMAD, N. R.; MARZUKI, N. H. C.; BUANG, N. A.; HUYOP, F.; WAHAB, R. A. **An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes.** *Biotechnology, Biotechnological Equipment* v. 29, n.º 2, p. 205 – 220, 2015.
- MOHAN, S. V.; PRASAD, K. K.; RAO, N. C.; SARMA, P. N. **Acid azo dye degradation by free and immobilized horseradish peroxidase (HRP) catalyzed process.** *Chemosphere* v. 58, p. 1097 – 1105, 2005.
- MONIER, M.; AYAD, D. M.; WEI, Y.; SARHAN, A. A. **Immobilization of Horseradish peroxidase on modified chitosan beads.** *International Journal of Biological Macromolecules* v. 46, n.º 3, p. 324 – 330, 2010.
- MORI, M.; CASSELLA, R. J. **Estudo da sorção do corante catiônico violeta cristal por espuma de poliuretano em meio aquoso contendo dodecilsulfato de sódio.** *Química Nova* v.32, n.º 8, p. 2039 – 2045, 2009.
- MUNAGAPATI, V. S.; YARRAMUTHI, V.; KIM, D. **Methyl orange removal from aqueous solution using goethite, chitosan beads and goethite impregnated with chitosan beads.** *Journal of Molecular Liquids* v. 240, p. 329 – 339, 2017.

- NA, S-Y.; LEE, Y. **Elimination of trace organic contaminants during enhanced wastewater treatment with horseradish peroxidase/hydrogen peroxide (HRP/H₂O₂) catalytic process.** *Catalysis Today* v. 282, n.º 1, p. 86 – 94, 2017.
- NAIM, M. M.; EL ABD, Y. M. **Removal and recovery of dyestuffs from dyeing wastewaters.** *Separation and Purification Methods* v. 31, n.º 1, p. 171 – 228, 2002.
- NASCIMENTO, R. F. D.; LIMA, A. C. A. D.; VIDAL, C. B.; RAULINO, G. S. C.; MELO, D. D. Q. **Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais.** Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014. 256 p.
- NGUYEN, T. A.; FU, C-C.; JUANG, R-S. **Effective removal of sulfur dyes from water by biosorption and subsequent immobilized laccase degradation on crosslinked chitosan beads.** *Chemical Engineering Journal* v. 304, p. 313 – 324, 2016.
- NICOLETTI, G.; CIPOLATTI, E. P.; VALÉRIO, A.; CARBONERA, N. T. G.; SOARES, N. S.; THEILACKER, E.; NINOW, J. L.; OLIVEIRA, D. **Evaluation of different methods for immobilization of *Candida antarctica* lipase B (CalB lipase) in polyurethane foam and its application in the production of geranyl propionate.** *Bioprocess and Biosystems Engineering* v. 38, p. 1739 – 1748, 2015.
- NIGAM, P.; ARMOUR, G.; BANAT, I. M.; SINGH, D.; MARCHANT, R. **Physical removal of textile dyes and solid state fermentation of dye-adsorbed agricultural residues.** *Bioresource Technology* v. 72, p. 219 – 226, 2000.
- NYARI, N. L. D.; FERNANDES, I. A.; BUSTAMANTE-VARGAS, C. E.; STEFFENS, C.; OLIVEIRA, D.; ZENI, J.; RIGO, E.; DALLAGO, R. M. **In situ immobilization of *Candida antartctica* B lipase in polyurethane foam support.** *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* v. 124, p. 52 – 61, 2016.
- OLIVEIRA, M. H. **Principais matérias-primas utilizadas na indústria têxtil.** *BNDS Setorial*, n.º 5, p. 1 – 47, 1997.
- ORLANDELLI, R. C.; SPECIAN, V.; FELBER, A. C.; PAMPHILE, J.A. **Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações.** *SaBios: Revista de Saúde e Biologia* v. 7, n.º 3, p. 97 – 109, 2012.
- OZTURK, E.; KOSEOGLU, H.; KARABOYACI, M.; YIGIT, N. O.; YETIS, U.; KITIS, M. (a) **Minimization of water and chemical use in a cotton/polyester fabric dyeing textile mill.** *Journal of Cleaner Production* v. 130, p. 92 – 102, 2016.

- OZTURK, E.; KOSEOGLU, H.; KARABOYACI, M.; YIGIT, N. O.; YETIS, U.; KITIS, M. (b) **Sustainable textile production: cleaner production assessment/eco-efficiency analysis study in a textile mill.** *Journal of Cleaner Production* v. 138, p. 248 – 263, 2016.
- OZTURK, E.; YETIS, U.; DILEK, F. B.; DEMIRER, G. N. **A chemical substitution study for a wet processing textile mill in Turkey.** *Journal of Cleaner Production* v. 17, p. 239 – 247, 2009.
- PEREIRA, A. R.; DA COSTA, R. S.; YOKOYAMA, L.; ALHADEFF, E. M.; TEIXEIRA, L. A. C. **Evaluation of Textile Dye Degradation Due to The Combined Action of Enzyme Horseradish peroxidase and Hydrogen Peroxide.** *Applied Biochemistry and Biotechnology* v. 174, p. 2741 – 2747, 2014.
- POULOS, T. L. **Peroxidases.** *Current Opinion in Biotechnology* v. 4, p. 484 – 489, 1993.
- PRAMPARO, L.; STÜBER, F.; FONT, J.; FORTUNY, A.; FABREGAT, A.; BENGEOA, C. **Immobilization of Horseradish peroxidase on Eupergit® C for the enzymatic elimination of phenol.** *Journal of Hazardous Materials* v. 177, p. 990 – 1000, 2010.
- PUTRO, J. N.; SANTOSO, S. P.; ISMADJI, S. **Investigation of heavy metal adsorption in binary system by nanocrystalline cellulose – Bentonite nanocomposite: Improvement on extended Langmuir isotherm model.** *Microporous and Mesoporous Materials* v. 246, p. 166 – 177, 2017.
- RAJESWARI, A.; AMALRAJ, A.; PIUS, A. **Adsorption studies for the removal of nitrate using chitosan/PEG and chitosan/PVA polymer composites.** *Journal of Water Process Engineering* v. 9, p. 123 – 134, 2016.
- RAMAKRISHNA, K. R.; VIRARAGHAVAN, T. **Dye removal using low cost adsorbents.** *Water Science and Technology* v. 36, p. 189 – 196, 1997.
- REDDY, D. A.; MA, R.; KIM, T. K. **Green synthesis of AgI-reduced graphene oxide nanocomposites: Toward enhanced visible-light photocatalytic activity for organic dye removal.** *Ceramics International* v. 41, n.º 5 (B), p. 6999 – 7009, 2015.
- REED, M. C.; LIEB, A.; NIJHOUT, H. F. **The biological significance of substrate inhibition: A mechanism with diverse functions.** *Bioessays* v. 32, n.º 5, p. 422 – 429, 2010.
- RENNKE, H. G.; VENKATACHALAM, M. A. **Chemical modification of Horseradish peroxidase. Preparation and characterization of tracer enzymes with different isoelectric points.**

Journal of Histochemistry & Cytochemistry v. 27, n.º 10, p. 1352 – 1353, 1979.

RINAUDO, M. **Chitin and chitosan: properties and applications.** *Progress in Polymer Science* v. 31, p. 602 – 632, 2006.

ROBINSON, T.; CHANDRAN, B.; NIGAM, P. **Removal of dyes from a synthetic textile dye effluent by biosorption on apple pomace and wheat straw.** *Water Research* v. 36, p. 2824 – 2830, 2002.

ROBINSON, T.; McMULLAN, G.; MARCHANT, R.; NIGAM, P. **Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative.** *Bioresource Technology* v. 77, p. 247 – 255, 2001.

RODRIGUES, E. F.; FICANHA, A. M. M.; DALLAGO, R. M.; TREICHEL, H.; REINEHR, C. O.; MACHADO, T. P.; NUNES, G. B. **Production and purification of amyolytic enzymes for saccharification of microalgal biomass.** *Bioresource Technology* v. 225, p. 134 – 141, 2017.

SAFARYAN, S. M.; YAKOVLEV, A. V.; PIDKO, E. A.; VINOGRADOV, A. V.; VINOGRADOV, V. **Reversible sol–gel–sol medium for enzymatic optical biosensors.** *Journal of Materials Chemistry B* v. 5, p. 85 – 91, 2017.

SANTIAGO, R. S. **Gestão ambiental na indústria têxtil: estudo de casos do Ceará,** Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

SANTOS, O. S. H.; DA SILVA, M. C.; SILVA, V. R.; MUSSEL, W. N.; YOSHIDA, M. I. **Polyurethane foam impregnated with lignin as a filler for the removal of crude oil from contaminated water.** *Journal of Hazardous Materials* v. 324 (B), p. 406 – 413, 2017.

SANTOS, S. C. R.; BOAVENTURA, R. A. R. **Treatment of a simulated textile wastewater in a sequencing batch reactor (SBR) with addition of a low-cost adsorbent.** *Journal of Hazardous Materials* v. 291, p. 74 – 82, 2015.

SARAYU, K.; SANDHYA, S. **Current technologies for Biological Treatment of Textile Wastewater – A Review.** *Applied Biochemistry and Biotechnology* v. 167, p. 645 – 661, 2012.

SARON, C.; FELISBERTI, M. I. **Ação de colorantes da degradação e estabilização de polímeros.** *Química Nova* v. 29, n.º 1, p. 124 – 128, 2006.

- SAVIN, I. I.; BUTNARU, R. **Wastewater characteristics in textile finishing mills.** *Environmental Engineering and Management Journal* v. 7, n.º 6, p. 859 – 864, 2008.
- ŠEKULJICA, N. Ž.; PRLAINOVIĆ, N. Ž.; STEFANOVIĆ, A. B.; ŽUŽA, M. G.; ČIČKARIĆ, D. Z.; MIJIN, D. Ž.; KNEŽEVIĆ-JUGOVIĆ, Z. D. **Decolorization of Anthraquinonic Dyes from Textile Effluent Using Horseradish Peroxidase: Optimization and Kinetic Study.** *The Scientific World Journal* v. 2015, 12 p., 2015.
- SHABBIR, S.; FAHEEM, M.; ALI, N.; KERR, P. G.; WU Y. **Periphyton biofilms: A novel and natural biological system for the effective removal of sulphonated azo dye methyl orange by synergistic mechanism.** *Chemosphere* v. 167, p. 236 – 246, 2017.
- SHAHEEN, R.; ASGHER, M.; HUSSAIN, F.; BHATTI, H. N. **Immobilized lignin peroxidase from *Ganoderma lucidum* IBL-05 with improved dye decolorization and cytotoxicity reduction properties.** *International Journal of Biological Macromolecules* v. 103, p. 57 – 64, 2017.
- SHEKHOVTSOVA, T. N.; MUGINOVA, S. V.; BAGIROVA, N. A. **Determination of organomercury compounds using immobilized peroxidase.** *Analytica Chimica Acta* v. 344, n.º 1 – 2, p. 145 – 151, 1997.
- SHELDON, R. A.; SCHOEVAART, R.; VAN LANGEN, L. M. **Cross-linked enzyme aggregates (CLEAs): A novel and versatile method for enzyme immobilization (a review).** *Biocatalysis and Biotransformation* v. 23, n.º 3 – 4, p. 141 – 146, 2005.
- SHELDON, R. A.; VAN PELT, S. **Enzyme immobilization in biocatalysis: why, what and how.** *Chemical Society Reviews* v. 42, p. 6223 – 6235, 2013.
- SHUKLA, S. P.; MODI, K.; GHOSH, P. K.; DEVI, S. **Immobilization of horseradish peroxidase by entrapment in natural polysaccharide.** *Journal of Applied Polymer Science* v. 91, n.º 4, p. 2063 – 2071, 2004.
- SILVA, K. O. S. **Caracterização do efluente líquido no processo de beneficiamento do índigo têxtil,** Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.
- SILVA, M. F.; RIGO, D.; MOSSI, V.; DALLAGO, R. M.; HENRICK, P.; KUHN, G. O.; ROSA, C. D.; OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, J. V.; TREICHEL, H. **Evaluation of enzymatic activity of comercial inulinase from *Aspergillus niger* immobilized in polyurethane foam.** *Food and Bioproducts Processing* v. 91, p. 54 – 59, 2013.

- SILVA, R. A.; CARMONA-RIBEIRO, A. M.; PETRI, D. F. **Adsorption behavior and activity of Horseradish peroxidase onto polysaccharide-decorated particles.** *International Journal of Biological Macromolecules* v. 41, p. 404 – 409, 2007.
- SILVEIRA NETA, J. DE J.; MOREIRA, G. C.; DA SILVA, C. J.; REIS, C.; REIS, E. L. **Use of polyurethane foams for the removal of the Direct Red 80 and Reactive Blue 21 dyes in aqueous medium.** *Desalination* v. 281, p. 55 – 60, 2011.
- SINGH, R. L.; SINGH, P. K.; SINGH, R. P. **Enzymatic decolorization and degradation of azo dyes – A review.** *International Biodeterioration & Biodegradation* v. 104, p. 21 – 31, 2015.
- SINTEX. Apresentação do Estudo Setorial Têxtil de SC (IEMI). Disponível em http://www.sintex.org.br/arquivos/249_ap_sintex-2015_final.pdf
- SMITH, B. **Wastes from textile processing.** In: Andrady, A. L. (Ed.) *Plastics and the Environment* p. 293 – 295. John Wiley and Sons Inc., Hoboken, USA, 2003.
- SOARES, M. S. **Síntese e caracterização de espumas de poliuretano para a imobilização de células íntegras e aplicação na síntese de biodiesel,** Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química) – Escola de Engenharia da Universidade de São Paulo, Lorena, 2012.
- SOLÍS, M; SOLÍS, A.; PÉREZ, H. I.; MANJARREZ, N.; FLORES, M. **Microbial decolouration of azo dyes: a review.** *Process Biochemistry* v. 47, n.º 12, p. 1723 – 1748, 2012.
- SOUZA, S. M. A. G. U.; FORGIARINI, E.; SOUZA, A. A. U. **Toxicity of textile dyes and their degradation by the enzyme horseradish peroxidase (HRP).** *Journal of Hazardous Materials* v. 147, n.º 3, p. 1073 – 1078.
- SUN, H.; JIN, X.; LONG, N.; ZHANG, R. **Improved biodegradation of synthetic azo dye by horseradish peroxidase cross-linked on nano-composite support.** *International Journal of Biological Macromolecules* v. 95, p. 1049 – 1050, 2017.
- SUN, H.; YANG, H.; HUANG, W.; ZHANG, S. **Immobilization of lacase in a sponge-like hydrogel for enhanced durability in enzymatic degradation of dye pollutants.** *Journal of Colloid and Interface Science* v. 450, p. 353 – 360, 2015.
- SYNOWIECKI, J.; AL-KHATEEB, N. A. **Production, properties and some new applications of chitin and its derivatives.** *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* v. 43, p. 145 – 171, 2003.

- TAN, C.; LI, G.; LU, X. Q.; CHEN, Z. **Biosorption of basic orange using dried *A. filiculoides***. *Ecological Engineering* v. 36, p. 1333 – 1340, 2010.
- TAYLOR, J. A. **Recent developments in reactive dyes**. Review of Progress in Coloration and Related Topics v. 30, p. 93 – 107, 2000.
- TERRES, J.; BATTISTI, R.; ANDREAUS, J.; DE JESUS, P. C. **Decolorization and degradation of Indigo Carmine dye from aqueous solution catalyzed by horseradish peroxidase**. *Biocatalysis and Biotransformation* v. 32, n.º 1, p. 64 – 73, 2014.
- TOLESSA, T.; ZHOU, X.; AMNDE, M.; LIU, J. **Development of reusable magnetic chitosan microspheres adsorbent for selective extraction of trace level silver nanoparticles in environmental waters prior to ICP-MS analysis**. *Talanta* v. 169, p. 91 – 97, 2017.
- TURCANU, A.; BECHTOLD, T. **Cathodic decolourisation of reactive dyes in model effluents released from textile dyeing**. *Journal of Cleaner Production* v. 142, p. 1397 – 1405, 2017.
- UNIVAR. **Guia Técnico de Sistemas de Poliuretano**. Disponível em: <http://www.univar.com> Acesso em junho de 2017.
- VASELOVA, I. A.; MALININA, L. I.; SHEKHOVTSOVA, T. N. **Properties and analytical applications of the self-assembled complex {peroxidase–chitosan}**. *Talanta* v. 102, p. 101 – 109, 2012.
- VASELOVA, I. A.; SHEKHOVTSOVA, T. N. **Visual determination of Mercury (II) using Horseradish peroxidase immobilized on polyurethane foam**. *Analytica Chimica Acta* v. 392, p. 151 – 158, 1999.
- VEITCH, N. C. **Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme**. *Phytochemistry* v. 65, p. 249 – 259, 2004.
- VERLEE, A.; MINCKE, S.; STEVENS, C. V. **Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives**. *Carbohydrate Polymers* v.164, p. 268 – 283, 2017.
- VIEIRA, M. L. G.; ESQUERDO, V. M.; NOBRE, L. R.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. **Glass beads coated with chitosan for the food azo dyes adsorption in a fixed bed column**. *Journal of Industrial Engineering Chemistry* v. 20, p. 3387 – 3393, 2014.
- VIJAYARAGHAVAN, J.; SARDHAR BASHA, S. J.; JEGAN, J. A. **Review on efficacious methods to decolorize reactive azo dye**. *Journal of Urban and Environmental Engineering* v.7, n.º 1, p. 30 – 47, 2013.
- VILAR, W. D. **Química e tecnologia dos poliuretanos 3ª Ed.**, Vilar Consultoria Técnica, 2004. Disponível em <http://www.poliuretanos.com.br/> Acesso em junho de 2017.

- VINHAL, J. O.; LAGE, M. R.; CARNEIRO, J. W. M.; LIMA, C. F., CASSELLA, R. J. **Modeling, kinetic, and equilibrium characterization of Paraquat adsorption onto polyurethane foam using ion-pairing technique.** *Journal of Environmental Management* v. 156, p. 200 – 208, 2015.
- VISHNU, D.; NEERAJ, G.; SWAROOPINI, R.; SHOBANA, R.; KUMAR, V. V.; CABANA, H. **Synergetic integration of laccase and versatile peroxidase with magnetic silica microspheres towards remediation of biorefinery wastewater.** *Environmental Science and Pollution Research*, 2017.
- WAN NGAH, W. S.; TEONG, L. C.; HANAFIAH, M. A. K. M. **Adsorption of dyes and heavy metal ions by chitosan composites: a review.** *Carbohydrate Polymers* v. 83, p. 1446 – 1456, 2011.
- WANG, J.; TSUZUKI, T.; TANG, B.; HOU, X.; SUN, L.; WANG, X. **Reduced Graphene Oxide/ZnO Composite: Reusable Adsorbent for Pollutant Management.** *Applied Materials & Interfaces* v. 4, n.º 6, p. 3084 – 3090, 2012.
- WANG, L.; WANG, A. **Adsorption characteristics of Congo Red onto the chitosan/montmorillonite nanocomposites.** *Journal of Hazardous Materials* v.147, p. 979 – 985, 2007.
- WANG, S-F.; CHEN, T.; ZHANG, Z-L.; PANG, D-W. **Activity and stability of horseradish peroxidase in hydrophilic room temperature ionic liquid and its application in non-aqueous biosensing.** *Electrochemistry Communications* v. 9, n.º 6, p. 1337 – 1342, 2007.
- WANG, X-C.; JING, X; PENG, Y-Y.; MA, Z-K.; LIU, C-T.; TURNG, L-S.; SHEN, C-Y. **The effect of nanoclay on the crystallization behavior, microcellular structure, and mechanical properties of thermoplastic polyurethane nanocomposite foams.** *Polymer Engineering and Science* v. 56, n.º 3, p. 319 – 327, 2016.
- WHITELEY, C. G.; D-J., LEE. **Enzyme technology and biological remediation.** *Enzyme and Microbial Technology* v. 38, p. 291 – 316, 2006.
- XU, J.; RONG, X.; CHI, T.; WANG, M.; WANG, Y.; YANG, D.; QIU, F. **Preparation, characterization of UV-Curable Waterborne polyurethane-acrylate and the application in metal iron surface protection.** *Journal of Applied Polymer Science* v.130 (5), p. 3142 – 3152, 2013.
- YADAV, M.; YADAV, H.S. **Applications of ligninolytic enzymes to pollutants, wastewater, dyes, soil, coal, paper and polymers.** *Environmental Chemistry Letters* v. 13 (3), p. 309 – 318, 2015.

- YANG, X.; ZHENG, J.; LU, Y.; JIA, R. **Degradation and detoxification of the triphenylmethane dye malachite green catalyzed by crude manganese peroxidase from *Irpex lacteus* F17.** *Environmental Science and pollution research international* v. 23 (10), p. 9585, 2016.
- YASEEN, D. A.; SCHOLZ, M. **Shallow pond systems planted with *Lemma minor* treating azo dyes.** *Ecological Engineering* v. 94, p. 295 – 305, 2016.
- YU, J.; ZHENG, J.; LU, Q.; YANG, S.; ZHANG, X.; WANG, X.; YANG, W. **Selective adsorption and reusability behavior for Pb^{2+} and Cd^{2+} on chitosan/poly(ethylene glycol)/poly(acrylic acid) adsorbent prepared by glow-discharge electrolysis plasma.** *Colloid and Polymer Science* v. 294 (10), p. 1585 – 1598, 2016. DOI: 10.1007/s00396-016-3920-9
- ZAKS, A. **Industrial biocatalysis.** *Current Opinion in Chemical Biology* v. 5 (2), p. 130 – 136, 2001.
- ZHANG, C.; WEN, H.; HUANG, Y.; SHI, W. **Adsorption of anionic surfactants from aqueous solution by high content of primary amino crosslinked chitosan microspheres.** *International Journal of Biological Macromolecules* v. 97, p. 635 – 641, 2017.
- ZHU, T.; ZHU, T.; GAO, J.; ZHANG, L.; ZHANG, W. **Enhanced adsorption of fluoride by cerium immobilized cross-linked chitosan composite.** *Journal of Fluorine Chemistry* v. 194, p. 80 – 88, 2017.
- ZILLE, A.; TZANOV, T.; GÜBITZ, G. M.; CAVACO-PAULO, A. **Immobilized laccase for decolourization of Reactive Black 5 dyeing effluent.** *Biotechnology Letters* v. 25 (17), p. 1473 – 1477, 2003.
- ZOLLINGER, H. **Color Chemistry: synthesis, properties and applications of organic dyes and pigments.** 2^a ed. VCH Publishers, New York, 1991.