

**VOLUMEN 2**

*Alcantarillado Sanitario*

**1990**

**XXII**

**CONGRESO**

**AIDIS**

**Camino**

**al 2,000:**

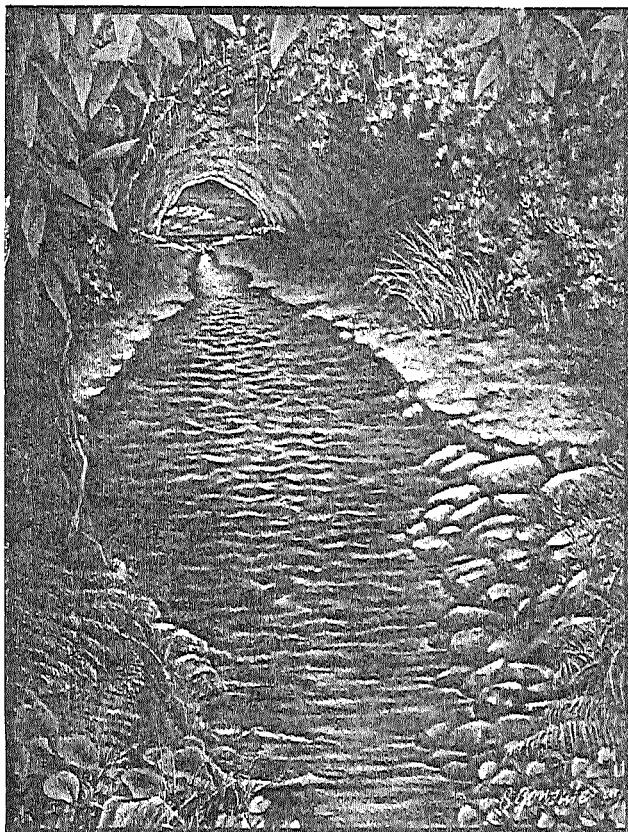
**Forjando**

**hoy una**

**mejor**

**calidad**

**de vida**



**9 al 14 de septiembre  
San Juan, Puerto Rico**

**ASOCIACION INTERAMERICANA DE  
INGENIERIA SANITARIA Y AMBIENTAL**



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CAMPUS DE SÃO CARLOS

ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

# XXII CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL

PORTO RICO, 9 - 15 DE SETEMBRO DE 1.990

TRABALHO : DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS EM ÁGUAS RESIDUÁRIAS

AUTOR (ES) :  
CARLOS EDUARDO BLINDI  
JURANDYR POVINELLI  
CECILIA LALLUCE

Carlos Eduardo Blundi(\*)  
Jurandyr Povinelli (\*\*)   
Cecília Lalluce (\*\*\*)

## RESUMO

Este trabalho propõe o emprego de um dos métodos colorimétricos clássicos de Bioquímica para a determinação de proteínas contidas em amostras controladas preparadas em laboratório e em amostras de esgoto sanitário. Os resultados obtidos pelo método colorimétrico são comparados com os valores de DQO e DBO.

### 1 - INTRODUÇÃO

Devido as interferências existentes nos testes de DQO e DBO torna-se evidente a necessidade de um estudo mais detalhado relativo à determinação de matéria orgânica em águas residuárias. As proteínas constituem um dos componentes importantes da matéria orgânica das águas residuárias e, portanto, sua determinação merece atenção especial. O objetivo deste trabalho consiste na aplicação de um método relativamente rápido, econômico e preciso para determinação de proteínas totais em águas residuárias, bem como para acompanhar os níveis proteicos em reatores destinados aos estudos de degradação de matéria orgânica.

### 2 - PROTEÍNAS: CONCEITOS E OCORRÊNCIA EM ÁGUAS RESIDUÁRIAS

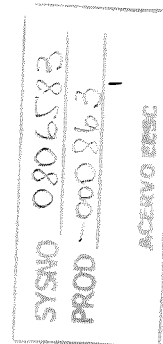
Proteínas, segundo Stryer (4), são compostos orgânicos nitrogenados de origem animal, vegetal ou microbiana que resultam da condensação biológica de elevado número de moléculas de L aminoácidos, sendo portanto polímeros de altos pesos moleculares. São encontradas nas células sob a forma solúvel (moléculas livres) ou ligadas a componentes celulares estruturais tais como paredes e membranas. Apresentam uma proporção aproximadamente constante de nitrogênio da ordem de 16% em peso. Suas moléculas contêm átomos de carbono, hidrogênio, nitrogênio e eventualmente outros elementos como fósforo, ferro, enxofre, cálcio e outros constituintes que lhes impõem propriedades diversas e funções específicas conforme descrito por Lehninger (3). Os produtos de hidrólise das proteínas são suas próprias unidades estruturais ou aminoácidos livres, peptídeos, oligopeptídeos e polipeptídeos menores que a proteína original. As enzimas que hidrolisam proteínas são genericamente denominadas proteases. As pro-

---

(\*) Prof. Doutor do Depto. de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos - USP

(\*\*) Prof. Titular do Depto. de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos - USP

(\*\*\*) Prof. Doutor do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista



teases produzidas por microrganismos são particularmente importante aos processos biológicos de degradação de matéria orgânica.

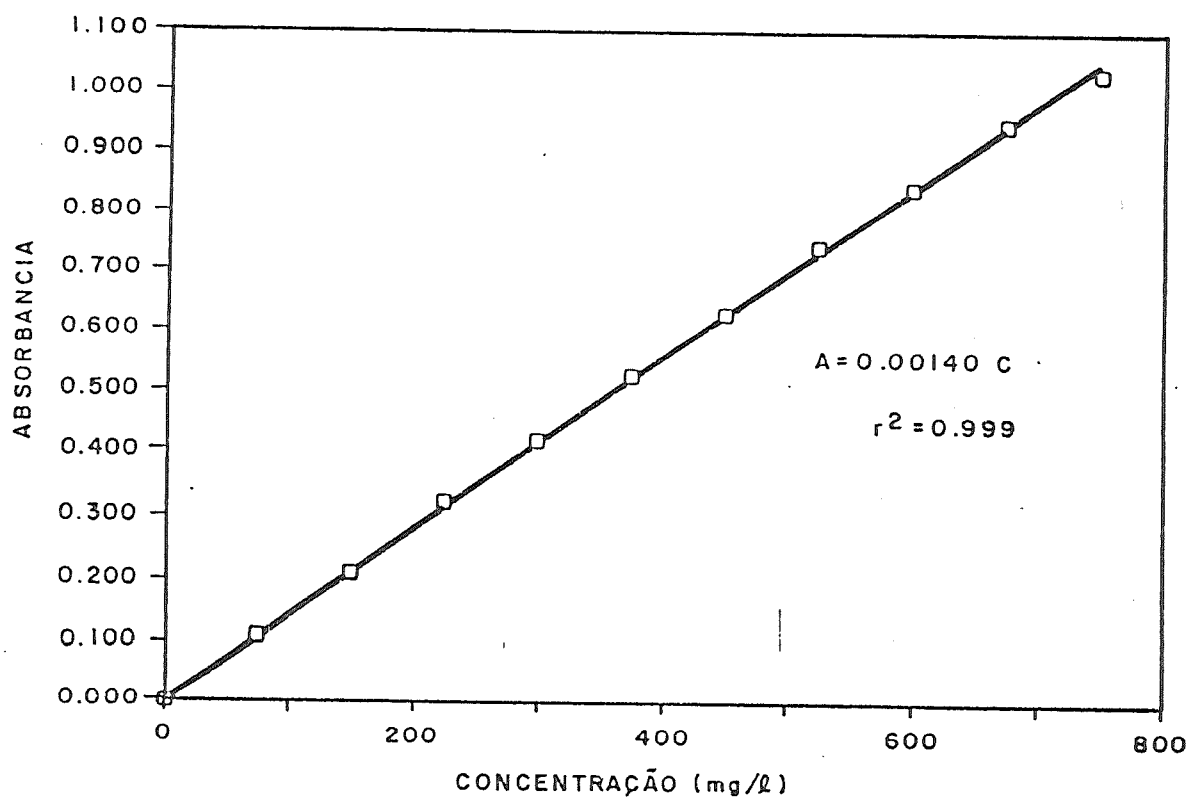
As proteínas são componentes orgânicos importantes da fração nitrogenada das águas residuárias que quando presentes em grandes quantidades podem sofrer decomposição e gerar odores desagradáveis. As águas residuárias domésticas podem conter vários tipos de proteínas e como exemplo pode-se citar as albuminas, globulinas de diversas origens e enzimas industriais (detergentes) ou resultantes da atividade microbiana do próprio esgoto. Os tipos de proteínas presentes em águas residuárias industriais variam com a natureza dos processos: a) caseína e lactoalbumina predominam em despejos de laticínios, b) colágeno, elastina, soroalbumina e outras em despejos de abatedouros, c) enzimas degradativas industriais em despejos de indústrias têxteis e de papel.

### 3 - METODOLOGIA

#### 3.1 - Procedimentos Gerais

O método utilizado para a determinação de proteínas foi o Método do Micro-Biureto baseado na metodologia descrita por Itzhaki e Gill (2). No presente trabalho a curva padrão (Figura 1) foi obtida utilizando-se uma solução padrão mista contendo  $\gamma$ -globulina (Sigma, BG II),  $\beta$ -lactoglobulina (Sigma, L-1628) e ovoalbumina (Sigma, A-5503), na proporção 1:1:1 (peso/volume).

Figura 1 - Curva padrão para proteínas



Duas outras proteínas, caseína (Merck) e soroalbumina (Sigma, A-4503), foram utilizadas para a comparação entre o método proposto e os métodos usados pelos sanitaristas, ou sejam DQO e DBO (Método das Diluições), descritos no Standard Methods (1). Foram estabelecidas, para essas duas proteínas, as seguintes correlações:

- a) Concentração proteica (gravimetria) x dosagem colorimétrica (curva padrão do Método do Micro-Biureto).
- b) Concentração proteica (gravimetria) x DQO
- c) Concentração proteica (gravimetria) x DBO
- d) Dosagem colorimétrica (curva padrão do Método do Micro-Biureto) x DQO
- e) Dosagem colorimétrica (curva padrão do Método do Micro-Biureto) x DBO
- f) DQO x DBO

Para a avaliação do grau de recuperação de proteína adicionada a um esgoto sanitário "in natura" e filtrado (Whatman nº 40, 8  $\mu$ ) foi preparado um "esgoto modificado" constituído pela adição dos seguintes compostos ao filtrado: soroalbumina bovina (900 mg/l), sacarose (500 mg/l), óleo de soja (200 mg/l), detergente em pó (200 mg/l) e ácido aspártico (200 mg/l). Devido a problemas de turbidez, o esgoto "in natura" e o esgoto modificado foram clarificados por nova filtração em filtro de nitrocelulose (Sartorius SM 11307, 0,2  $\mu$ ) para as determinações colorimétricas. A diferença de concentração de proteína entre as amostras de esgoto modificado e esgoto "in natura" deve ser equivalente a concentração da proteína adicionada.

### 3.2 - Método do Micro-Biureto

O Método do Micro-Biureto, como descrito por Itzhaki e Gill (2), consiste na reação da proteína com sulfato de cobre em meio fortemente alcalino originando um complexo de cor violeta característica, cuja absorbância foi medida a 310 nm num espectrofotômetro Beckman, modelo DU-25.

#### Reagentes:

Solução de hidróxido de sódio 30%: dissolver 30 g de NaOH em 100ml de água destilada.

Reagente de cobre 0,21%: dissolver 0,21 g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em 100 ml de hidróxido de sódio 30%.

#### Procedimento:

Adiciona-se 1 ml do Reagente de Cobre a 2 ml da solução contendo proteína e procede-se à leituras a 310 nm, 5 minutos após a adição do reagente. A cor violeta do composto formado é estável por 2,5 h. O ensaio em branco é realizado de forma idêntica, substituindo-se o volume da solução de proteína por igual volume de água destilada. Cada absorbância final resulta da diferença entre a absorbância da solução testada, contendo proteína, e a do ensaio em branco.

#### 4 - RESULTADOS

##### 4.1 - Amostras Controles Preparadas em Laboratório: Caseína e Soroalbumi na

Os resultados (Figura 2 a 13) referentes à determinação de proteínas são apresentados a seguir, mostrando as diversas correlações descritas na metodologia para os valores das concentrações protéicas obtidas por gravimetria (C), dosagens colorimétricas (D), DQO e DBO para amostras das duas proteínas estudadas separadamente. Nas figuras estão indicadas ainda as equações das curvas ajustadas pelo método dos mínimos quadrados, e os valores obtidos para os coeficientes de correlação.

Figura 2 - Correlação entre dosagem colorimétrica e concentração obtida por gravimetria de caseína

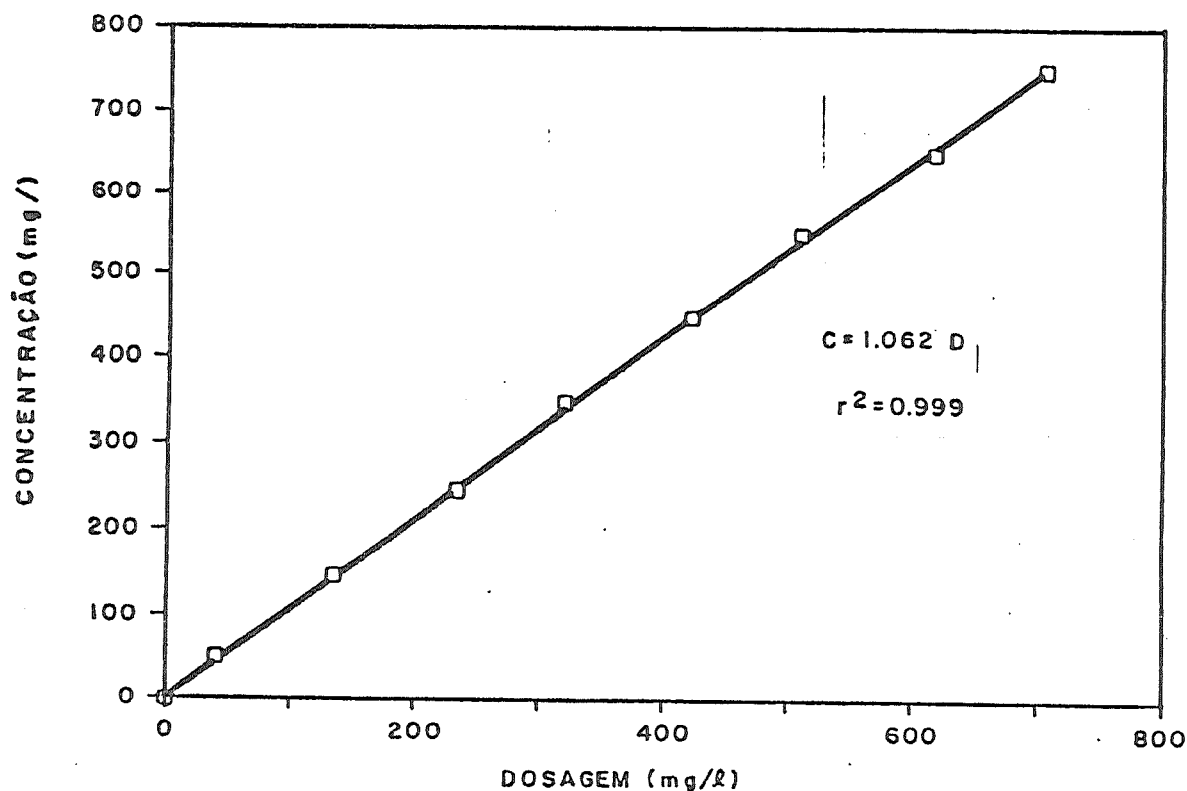


Figura 3 - Correlação entre dosagem colorimétrica e concentração obtida por gravimetria de soroalbumina

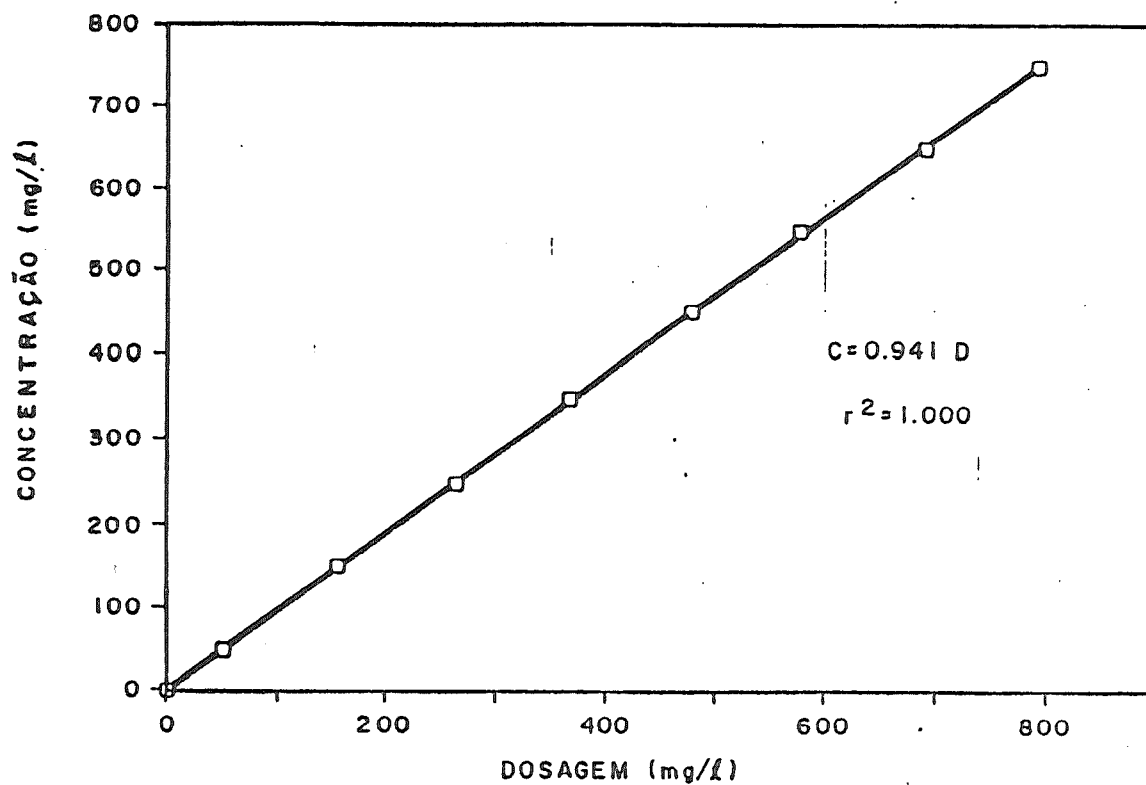


Figura 4 - Correlação entre DQO e concentração obtida por gravimetria de caseína

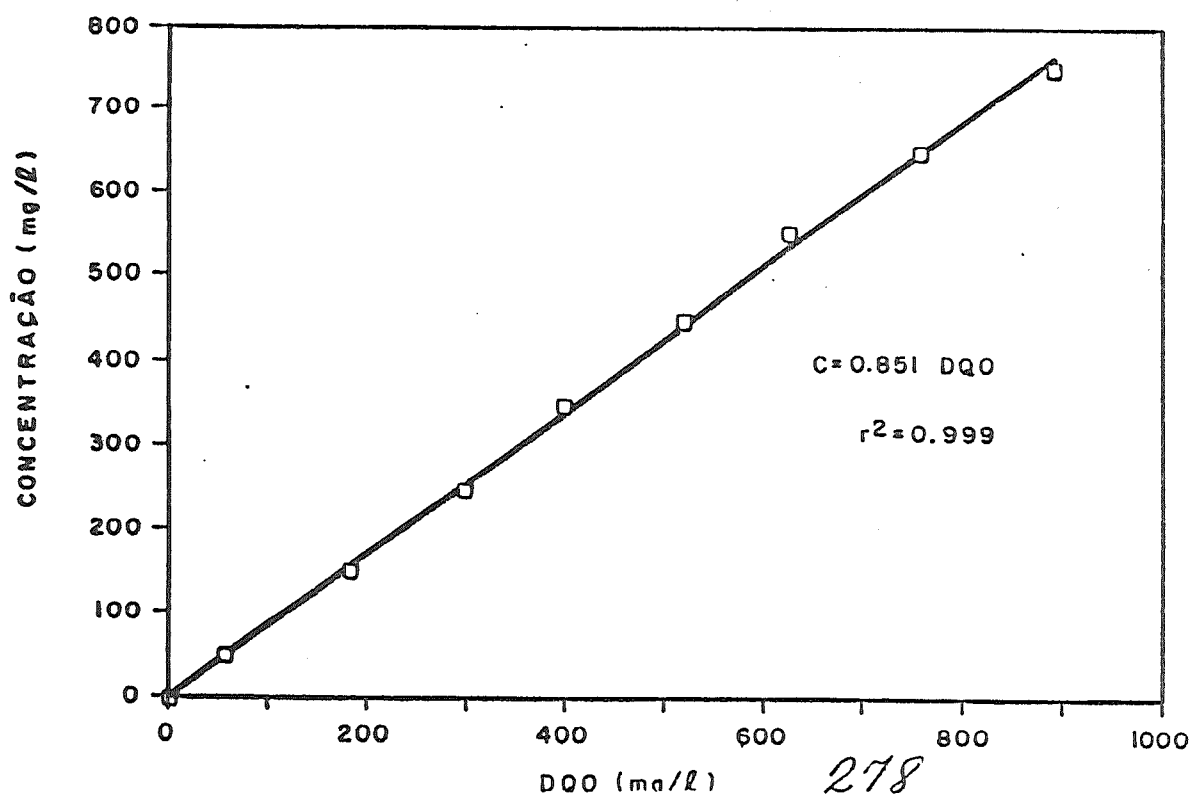


Figura 5 - Correlação entre DQO e concentração obtida por gravimetria de soroalbumina

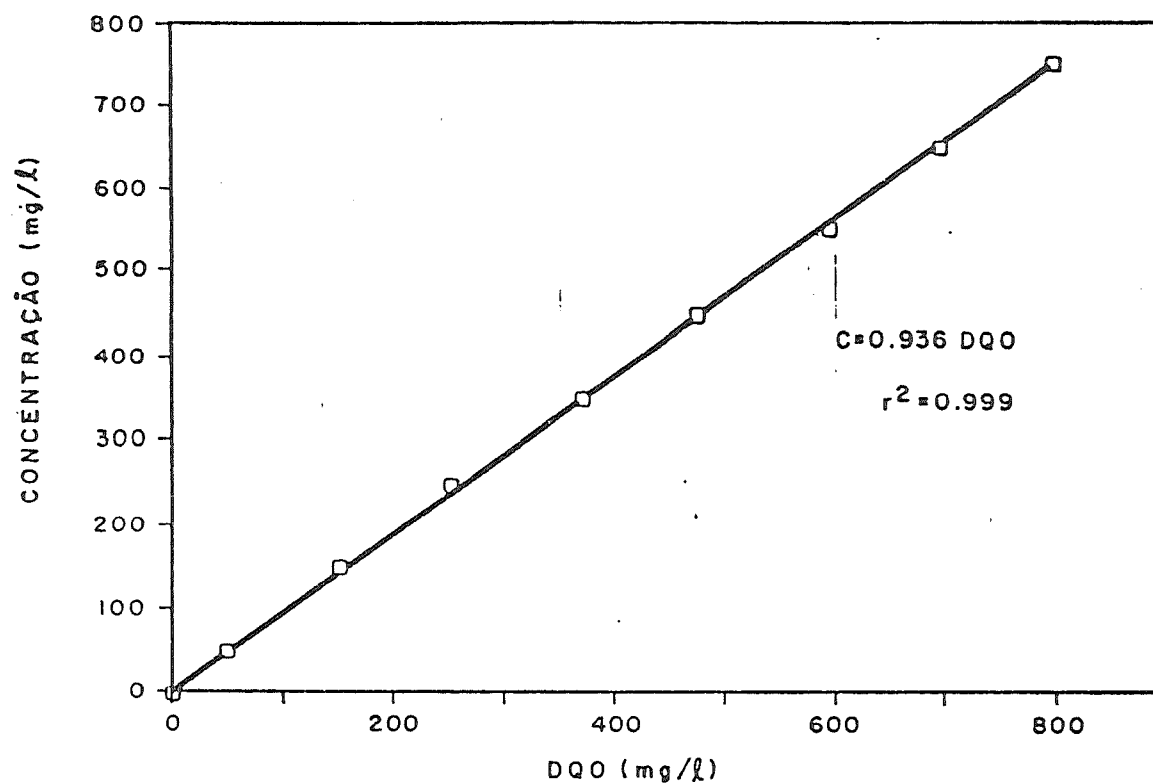


Figura 6 - Correlação entre DBO e concentração obtida por gravimetria de caseína

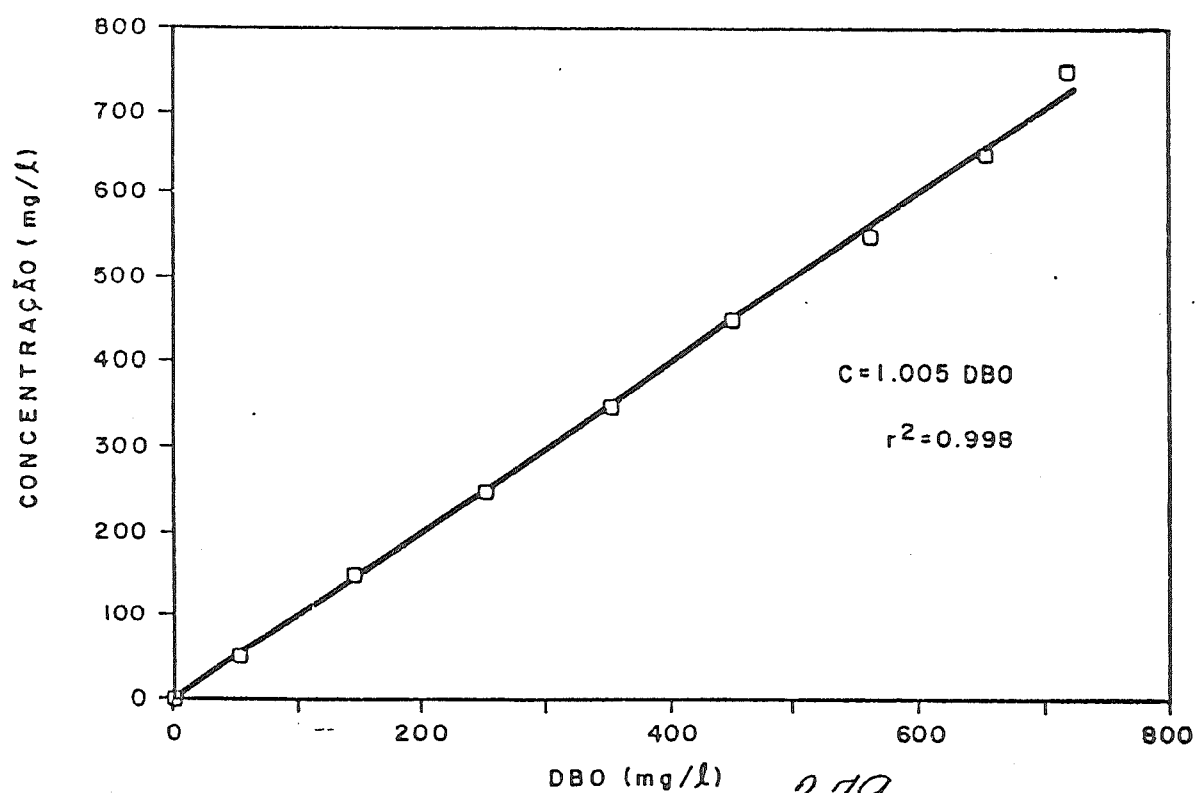


Figura 7 - Correlação entre DBO e concentração obtida por gravimetria de soroalbumina

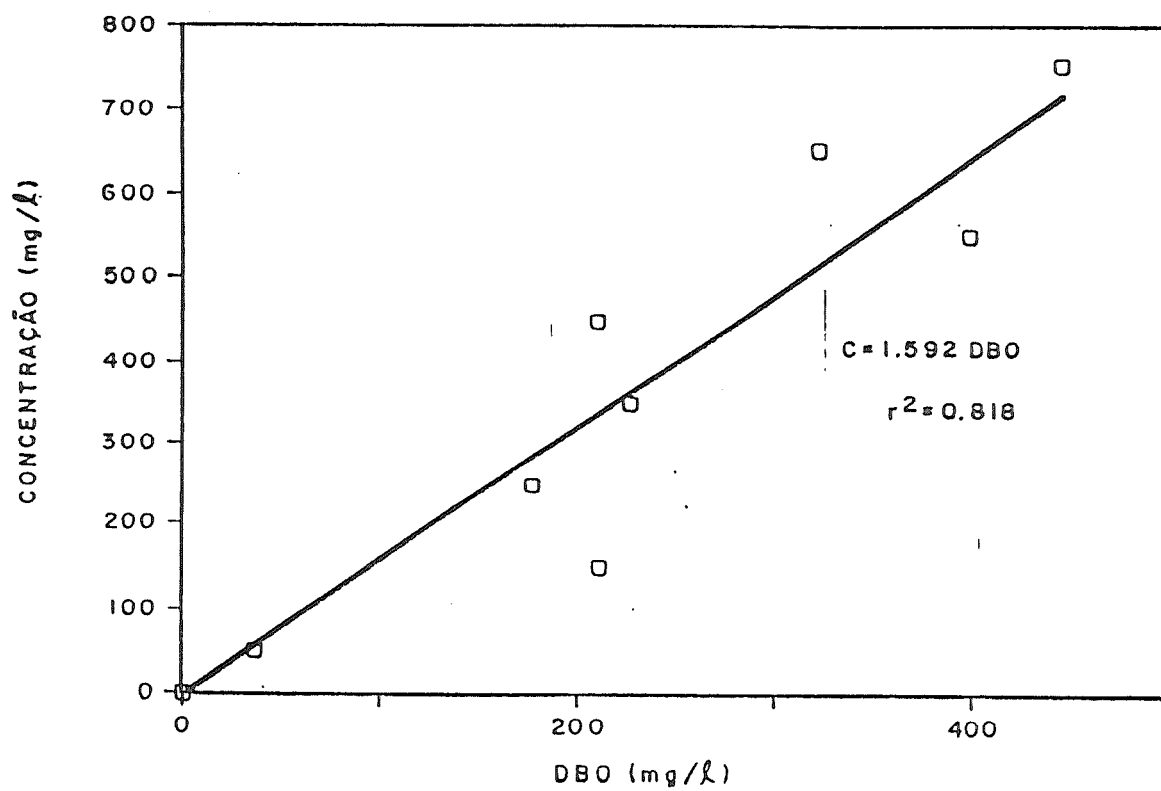


Figura 8 - Correlação entre dosagem colorimétrica e DQO de caseína

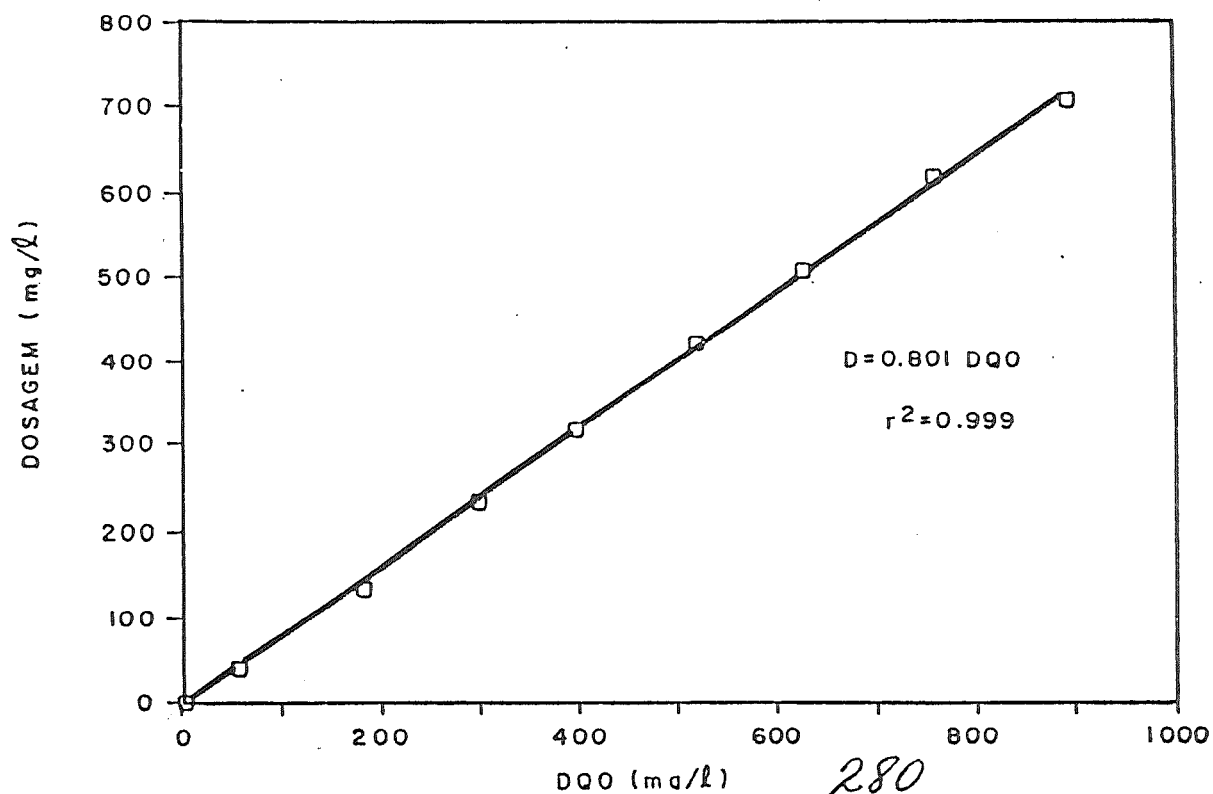


Figura 9 - Correlação entre dosagem colorimétrica e DQO de soroalbumina

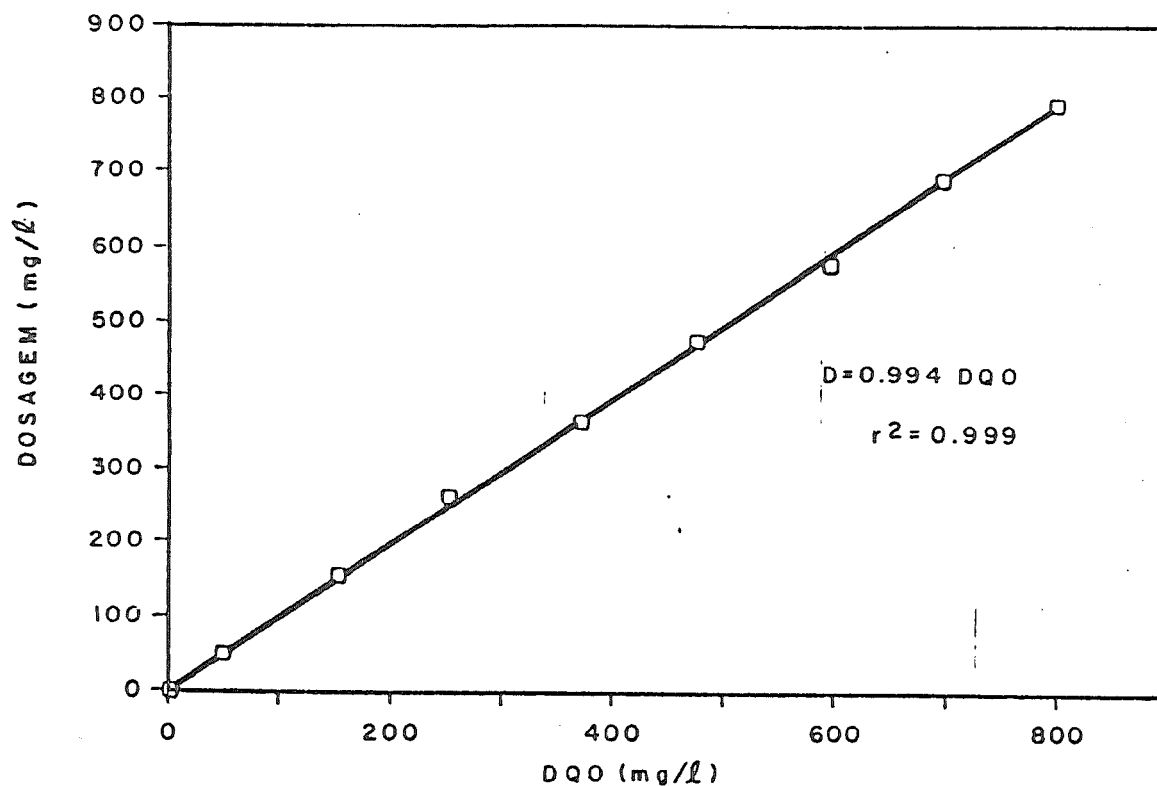


Figura 10 - Correlação entre dosagem colorimétrica e DBO de caseína

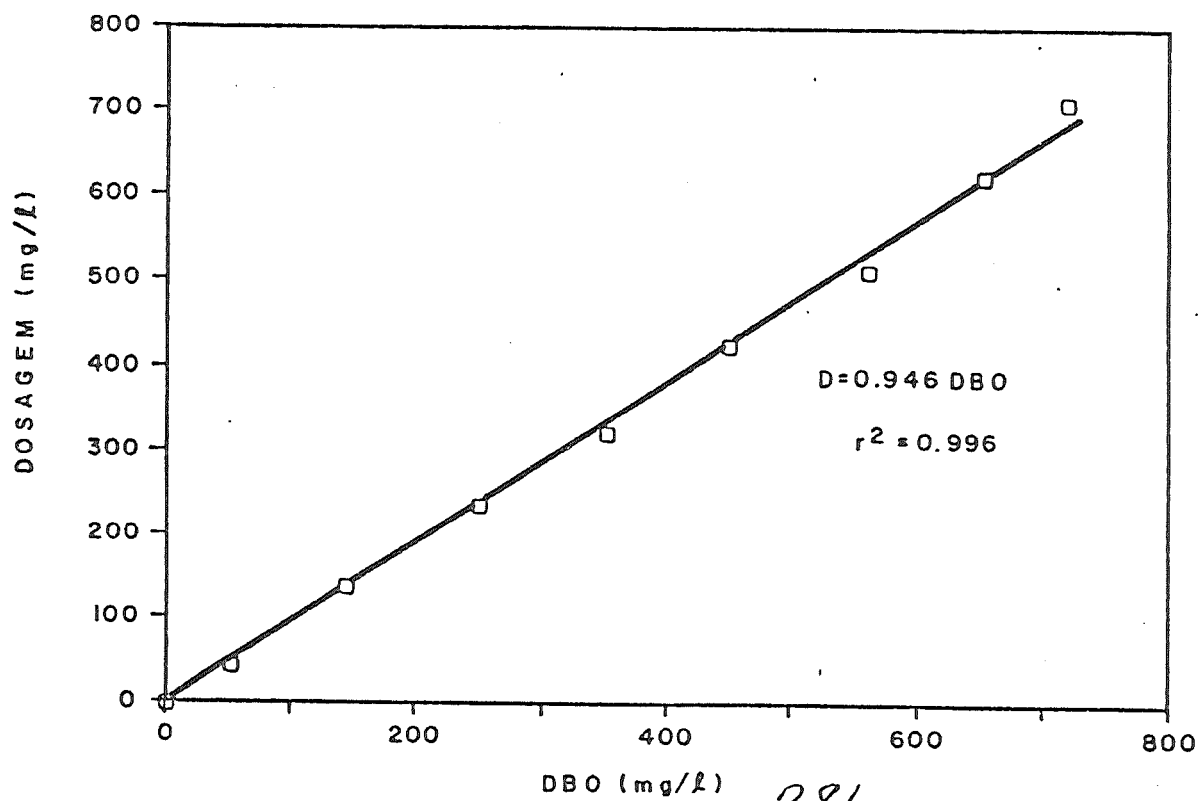


Figura 11 - Correlação entre dosagem colorimétrica e DBO de soralbumina

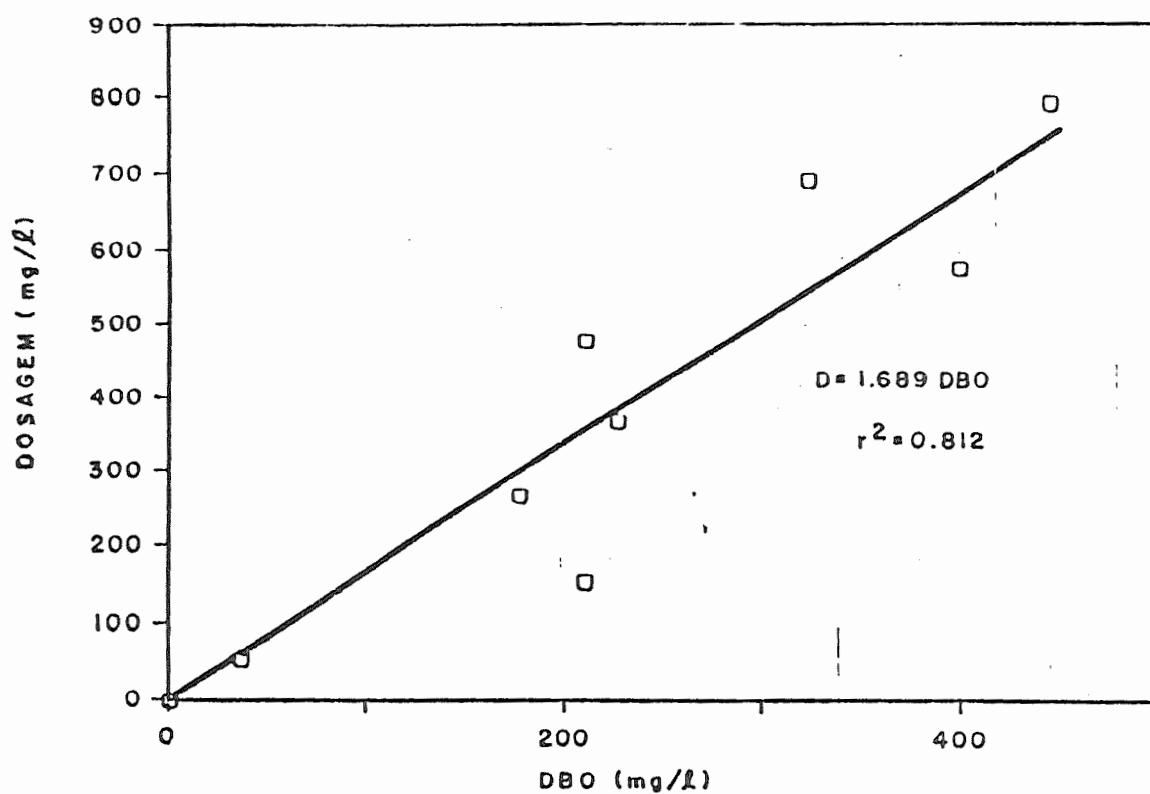


Figura 12 - Correlação entre DQO e DBO de caseína

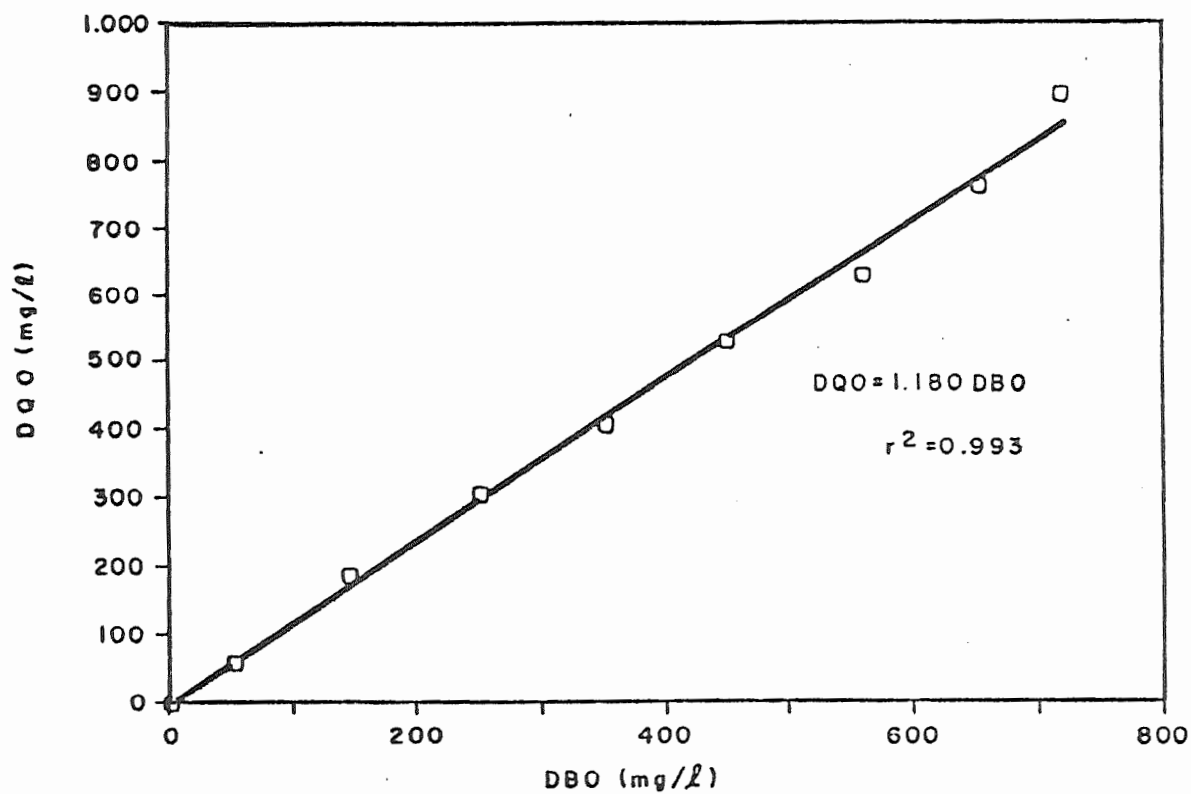
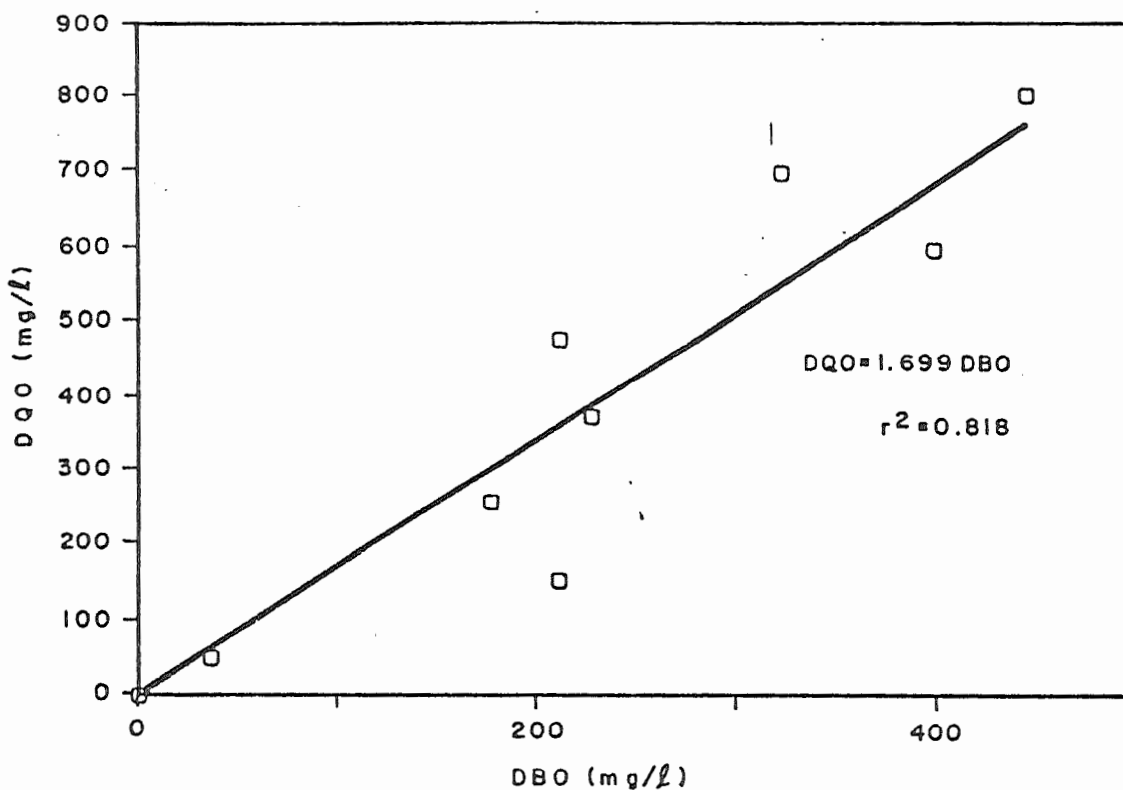


Figura 13 - Correlação entre DQO e DBO de soroalbumina



#### 4.2 - Amostras de Esgoto Sanitário

A recuperação da quantidade da proteína (soroalbumina) adicionada ao esgoto sanitário, empregando-se o Método do Micro-Biureto, está descrita na Tabela I.

TABELA I - RECUPEIRAÇÃO DE SOROALBUMINA ADICIONADA AO ESGOTO SANITÁRIO<sup>a</sup>

| AMOSTRA                         | CONCENTRAÇÃO |          | RECUPERAÇÃO |                        |                    |
|---------------------------------|--------------|----------|-------------|------------------------|--------------------|
|                                 | Cp (mg/L)    | D (mg/L) | ΔD (mg/L)   | ΔD <sub>c</sub> (mg/L) | Cp/ΔD <sub>c</sub> |
| ESGOTO                          | -            | 396      | -           | -                      | -                  |
|                                 |              |          | 1325        | 1247                   | 1,39               |
| ESGOTO MODIFICADO               | 900          | 1721     | -           | -                      | -                  |
| ESGOTO CLARIFICADO              | -            | 125      | -           | -                      | -                  |
|                                 |              |          | 975         | 918                    | 1,02               |
| ESGOTO MODIFICADO E CLARIFICADO | 900          | 1100     | -           | -                      | -                  |

<sup>a</sup> Significado dos símbolos

D : concentração pelo Método do Biureto  
 $\Delta D$  : D do esgoto modificado - D do esgoto  
 $\Delta D_C$  : valores de  $\Delta D$  corrigidos conforme Figura 3.

Os resultados de  $DBO_{5,20}$  e de DQO para as amostras de esgoto estudadas são mostradas na Tabela II.

TABELA II - RESULTADOS DE DQO E  $DBO_{5,20}$  E RECUPERAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA TOTAL ADICIONADA AO ESGOTO SANITÁRIO<sup>a</sup>

| AMOSTRA           | CONCENTRAÇÃO    |               |                        | RECUPERAÇÃO            |                               |                  |                         |
|-------------------|-----------------|---------------|------------------------|------------------------|-------------------------------|------------------|-------------------------|
|                   | $C_T$<br>(mg/L) | DQO<br>(mg/L) | $DBO_{5,20}$<br>(mg/L) | $\Delta DQO$<br>(mg/L) | $\Delta DQO_{5,20}$<br>(mg/L) | $\Delta DQO/C_T$ | $\Delta DBO_{5,20}/C_T$ |
| ESGOTO            | -               | 325           | 180                    | -                      | -                             | -                | -                       |
|                   |                 |               |                        | 2234                   | 1391                          | 1,12             | 0,70                    |
| ESGOTO MODIFICADO | 2 000           | 2 559         | 1 571                  | -                      | -                             | -                | -                       |

<sup>a</sup>  
 Significado dos símbolos  
 $C_T$  : concentração de matéria orgânica total adicionada (gravimetria)  
 $\Delta DQO$  : DQO de esgoto modificado - DQO do esgoto  
 $\Delta DBO_{5,20}$  :  $DBO_{5,20}$  do esgoto modificado -  $DBO_{5,20}$  do esgoto

A Tabela III apresenta as correlações obtidas entre os valores de soroalbumina, recuperada pelo Método do Micro-Biureto, e a matéria orgânica total recuperada por DQO e  $DBO_{5,20}$ .

TABELA III - COMPARAÇÃO DAS CORRELAÇÕES ENTRE A MATÉRIA ORGÂNICA PROTEICA DETERMINADA PELO MÉTODO DO MICRO-BIURETO E A MATÉRIA ORGÂNICA TOTAL POR GRAVIMETRIA, DQO E  $DBO_{5,20}$

| $C_p / C_T$ | $\Delta Dc / C_T$ | $\Delta Dc / \Delta DQO$ | $\Delta Dc / \Delta DBO_{5,20}$ |
|-------------|-------------------|--------------------------|---------------------------------|
| 0.45        | 0.46              | 0.41                     | 0.66                            |

## 5 - DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

As dosagens colorimétricas de caseína e soroalbumina em amostras controles, preparadas em laboratório, apresentaram resultados muito próximos dos valores obtidos por gravimetria. Como os valores de DQO correspondentes foram igualmente muito próximos aos gravimétricos, pode-se verificar que os resultados das dosagens colorimétricas também se aproximam daqueles obtidos por DQO.

Com relação aos ensaios em amostras modificadas de esgoto sanitário, observa-se que o Método do Micro-Biureto pode ser utilizado para a determinação de proteínas da fração solúvel do esgoto sanitário, fornecendo bons resultados, não apresentando interferências em relação aos outros componentes orgânicos presentes. A relação de 1,02, obtida entre a quantidade de soroalbumina recuperada e a adicionada ao esgoto, mostrada na Tabela I, comprova a eficiência do referido método.

Os resultados de DQO, referentes à recuperação da matéria orgânica total adicionada ao esgoto sanitário, encontram-se mais próximos do verdadeiro valor dessa concentração, obtida por gravimetria, do que os apresentados pelas determinações de DBO. Devido a esse fato os valores das relações  $\Delta D_C/C_T$  e  $\Delta D_C/\Delta DQO$  são próximos entre si e próximos também de  $C_P/C_T$ . Porém a relação  $\Delta D_C/\Delta DBO_{5,20}$  apresenta valor ligeiramente superior devido as limitações próprias do teste de DBO.

## 6 - BIBLIOGRAFIA

- (1) AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. American Water Works Association. Water Pollution Control Federation - Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16ª ed. Washington: American Public Association, 1985.
- (2) LEHNINGER, A.L. Principles of Biochemistry. New York: Worth Publishers, 1982, 1011 p.
- (3) ITZHAKI, R.F. & GILL, D.M. A Micro-Biuret Method for Estimating Proteins. Anal. Biochem. 9:401-410, 1964.
- (4) STRYER, L. Bioquímica. Barcelona: Editorial Reverté, 1979, 875 p.