



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

ESCOLA DE ENGENHARIA

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



**AVALIAÇÃO ANALÍTICA DE PROTEÍNAS E GORDURAS PARA DETECÇÃO DE
CONSTITUINTES RESIDUAIS DA PELE EM EFLUENTES**

CRISTIANA WINTER

Orientador: Profª Drª. Mariliz Gutterres

Coorientador: M. Sc. Franck de Souza

Porto Alegre, Julho de 2011

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 2 |
| 2.1 Processamento do Couro | 2 |
| 2.1.1 Operações de Ribeira | 2 |
| Bater sal | 2 |
| Pré-remolho | 3 |
| Pré-descarne..... | 3 |
| Remolho..... | 3 |
| Depilação e Caleiro | 3 |
| Descarne e Divisão | 4 |
| Desencalagem | 4 |
| Purga..... | 4 |
| Píquel | 4 |
| 2.1.2 Curtimento | 5 |
| 2.1.3 Acabamento molhado ou Recurtimento | 5 |
| 2.1.4 Acabamento..... | 5 |
| 2.2 A Pele | 5 |
| 2.2.1 A histologia da pele..... | 6 |
| 2.2.2 Epiderme | 6 |
| 2.2.3 Derme | 6 |
| 2.2.4 Hipoderme..... | 7 |
| 2.3 Constituintes da pele | 7 |
| 2.3.1 Proteínas fibrosas | 7 |
| 2.3.2 Queratina | 8 |
| 2.3.3 Colágeno..... | 8 |
| 2.3.4 Triacilgliceróis | 9 |
| 2.3.5 Elastina | 10 |
| 2.3.6 Aminoácidos..... | 10 |
| 2.4 Geração e tratamento de efluentes | 11 |
| 2.5 Caracterização de resíduos em efluentes relacionados à composição da pele..... | 14 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 16 |
| 3.1 Preparo de soluções..... | 16 |
| 3.1.1 Preparação dos substratos | 16 |
| 3.1.2 Obtenção de efluentes de remolho e caleiro..... | 17 |

| | |
|---|----|
| 3.2 Ensaíos | 18 |
| 3.2.1 Proteína Solúvel..... | 18 |
| 3.2.2 Carbono Orgânico Total (TOC)..... | 19 |
| 3.2.3 Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) | 20 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 21 |
| 5. CONCLUSÕES | 29 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 30 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Fluxograma de processamento do couro | 2 |
| Figura 2: Camadas presentes em um corte de pele | 7 |
| Figura 3: Molécula de cistina presente na queratina..... | 8 |
| Figura 4: Molécula de hidroxiprolina característica do colágeno | 9 |
| Figura 5: Fórmula estrutural geral para os aminoácidos..... | 10 |
| Figura 6: Equipamento para preparação dos banhos de remolho e caleiro | 17 |
| Figura 7: Construção da curva padrão de PS | 19 |
| Figura 8: Aparelho para análise de TOC..... | 20 |
| Figura 9: (a) Digestor para NTK e (b) Destilador para NTK | 20 |
| Figura 10: Análises de TOC para as soluções preparadas dos substratos | 22 |
| Figura 11: Análises de TOC para a solução de queratina e para os banhos de remolho e caleiro..... | 22 |
| Figura 12: Curva padrão para o teste de Proteína Solúvel | 23 |
| Figura 13: Análises de PS para as soluções preparadas dos substratos | 25 |
| Figura 14: Análises de PS para a solução de queratina e para os banhos de remolho e caleiro..... | 25 |
| Figura 15: % NTK presente nas análises das amostras e banhos testados..... | 27 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1: Formulação dos testes de remolho e caleiro | 18 |
| Tabela 2: Valores de Carbono Orgânico Total para os substratos analisados | 21 |
| Tabela 3: Valores de absorbâncias obtidas no espectrofotômetro para Proteína Solúvel..... | 23 |
| Tabela 4: Concentrações de Proteína Solúvel nos substratos testados | 24 |
| Tabela 5: Teores de Proteína Solúvel para os substratos testados (base seca)..... | 26 |
| Tabela 6: Volumes de ácido sulfúrico requeridos na titulação das amostras no ensaio de NTK | 26 |
| Tabela 7: Teor de NTK nos substratos preparados e banhos testados | 27 |
| Tabela 8: Teor de NTK nas amostras sólidas | 28 |

RESUMO

Em virtude da crescente importância do couro na economia brasileira e da questão ambiental sobre os efluentes de curtumes, o trabalho tem como objetivo a construção de parâmetros de análise dos banhos de remolho e caleiro. Foram escolhidos os substratos de colágeno (e gelatina), queratina e gordura por serem os principais constituintes da pele para serem analisados. Soluções desses substratos foram desenvolvidas e comparadas juntamente com os banhos de remolho e caleiro, por meio de análises de Proteína Solúvel, Carbono Orgânico Total e Nitrogênio Kjeldahl.

De acordo com a análise de Carbono Orgânico Total, o efluente de caleiro apresentou um valor aproximadamente 7 vezes maior com relação ao remolho, uma vez que é no caleiro que ocorre a remoção de proteínas, enquanto no remolho o objetivo é a limpeza da pele e a liberação de proteínas não é significativa. Na análise de Proteína Solúvel, a diferença entre a detecção dos banhos foi mais pronunciada, tendo o caleiro um teor de proteínas 13 vezes maior. Já para Nitrogênio Total Kjeldahl o valor para o caleiro foi 3 vezes superior em comparação com o remolho. Os resultados indicaram que todos os métodos podem ser utilizados na detecção dos constituintes, sendo que alguns possuem particularidades com relação à concentração mínima.

1. INTRODUÇÃO

O setor coureiro apresenta extrema importância na economia brasileira, tanto pelo volume de exportações como pela geração de empregos. De acordo com o Centro das Indústrias de Curtumes do Brasil (CICB), as exportações brasileiras de couros e peles, em 2010, movimentaram US\$ 1,74 bilhões. O balanço das vendas externas de couros dos estados brasileiros reafirma o Rio Grande do Sul com a segunda posição como maior exportador nacional (US\$ 463,94 milhões, 26,6%).

Segundo ABQTIC (2011), no ano de 2009, o setor coureiro-calçadista tinha 773 empresas de produção e processamento de couro, gerando em torno de 37 mil postos de trabalho. O Rio Grande do Sul, por sua vez, contribuiu com o maior número de estabelecimentos de curtimento (221) superando 13 mil empregos no Estado.

O Brasil ocupa posição de destaque no setor coureiro, sendo considerado o quinto maior produtor de couro acabado bovino e o maior exportador mundial de couros bovinos pesados, possuindo o segundo maior rebanho entre os países em 2009, de acordo com a FAO (2010).

Os efluentes provenientes de curtumes possuem elevada carga orgânica, especialmente efluentes de operações de ribeira, devido aos conteúdos de proteínas degradadas liberados pela pele. Esses banhos residuais podem ter composições variadas de seus constituintes, uma vez que não há um padrão entre os curtumes. Há variáveis que influem no processo e nos efluentes gerados, como o perfil do animal (raça, idade), conservação da pele, região da pele, processo (etapas e formulação) e sistemas de tratamento dos efluentes, sendo, assim, necessário quantificar os materiais liberados em cada etapa. Este trabalho tem como objetivo facilitar a análise desses banhos com técnicas de detecção desses constituintes a fim de avaliar suas quantidades e proporções, melhorando a classificação e a análise do tipo de desperdício no processo, uma vez que é de fundamental importância o conhecimento dos componentes extraídos da pele para melhor acompanhamento dos processamentos. Dessa forma, poderiam correlacionar-se qualitativamente os parâmetros analíticos dos testes de Proteína Solúvel (PS), Carbono Orgânico Total (TOC) e Nitrogênio Total de Kjeldahl (NTK) devido aos materiais eliminados da pele (proteínas, gorduras) e, ainda, determiná-los com relação a efluentes de curtume. Por fim, os resultados obtidos das análises podem contribuir para o desenvolvimento de novas tecnologias aplicadas ao processamento de couro através de estudos específicos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Processamento do Couro

O processamento do couro consiste em transformar a pele verde ou salgada em couro. Sua tecnologia de fabricação requer diversas etapas de processamento, com adições seqüenciais de produtos químicos intercaladas por lavagens e processos mecânicos. Segundo Aquim (2005), esse processo se divide em quatro fases de trabalho: a ribeira, o curtimento, o recurtimento e o acabamento, demonstrado na Figura 1.



Figura 1: Fluxograma de processamento do couro (as etapas descritas em retângulos indicam que o processo ocorre em meio aquoso) Fonte: Souza (2010)

2.1.1 Operações de Ribeira

Consistem nas operações em meio aquoso que hidratam, limpam, depilam e preparam a pele para curtir; e em operações mecânicas de descarne e de divisão da pele nas camadas superior e inferior, denominadas respectivamente de flor e raspa. Após a ribeira, a pele apresenta-se limpa e isenta de materiais indesejáveis no produto final. No entanto, não apresenta estabilidade, estando sujeita à degradação e à putrefação. Esta estabilidade é proporcionada no curtimento. As operações de ribeira incluem:

Bater sal

Remoção mecânica do sal colocado para conservar a pele.

Pré-remolho

Lavagem da pele para remoção do excesso de sujeira e sal, facilitando o pré-descarne (utilizando a pele úmida).

Pré-descarne

Remoção parcial da hipoderme (em máquina descarnadeira), visando o aproveitamento de proteínas e sebo removidos.

Remolho

Consiste no primeiro tratamento, no qual as peles são submetidas nos curtumes ao iniciar o processo de fabricação de couro. No remolho, serão igualadas as diferenças ocasionadas pela conservação, conferindo à pele remolhada o estado de pele fresca. Seu principal objetivo é a eliminação de sujidades e sangue, sendo que, para as peles secas, é a reposição da água. Além disso, para peles conservadas com sal, é nessa etapa que ocorre sua remoção (Gutterres, 2010, Heidemann, 1993).

O principal resíduo gerado na etapa de remolho trata-se de rejeito líquido, resultante da quantidade de água empregada nos processos de pré-remolho, remolho propriamente dito e nas lavagens, que antecedem e concluem esta etapa. O volume de água empregado nestas etapas corresponde a um valor significativo do volume total utilizado no curtume.

Depilação e Caleiro

Ao processo de remoção da camada epidérmica e abertura da estrutura fibrosa denomina-se de depilação e caleiro. Os principais objetivos deste processo resumem-se à retirada do pêlo, remoção da epiderme, intumescimento e separação das fibras e fibrilas da derme, à eliminação mais completa da hipoderme no descarne, ação sobre as gorduras naturais da pele remanescentes do remolho, modificação das moléculas de colágeno, possibilidade de dividir em tripa e preparação da pele para os processos seguintes, em especial o curtimento. O termo caleiro é empregado particularmente para indicar a ação do hidróxido de cálcio sobre o colágeno com a finalidade de potencializar a reatividade deste. Todavia, a condução dos dois processos em um mesmo banho resulta em um sinergismo que maximiza a ação de abertura das fibras colágenas.

O volume de água empregado corresponde a um valor significativo do volume total de água utilizado no curtume (água empregada no processo e água utilizada na lavagem final), gerando efluentes com elevadas cargas contaminantes. Os principais contaminantes são o Nitrogênio Amoniacal e Sulfeto de Sódio.

Descarne e Divisão

O descarne remove por ação mecânica (máquina de descarnar) os tecidos adiposo e subcutâneo visando facilitar a difusão dos produtos químicos nas etapas posteriores. A divisão separa mecanicamente a pele em duas camadas: flor (camada superior) e raspa (camada inferior). Devido à natureza do colágeno, os resíduos de aparas caleadas são empregados para a fabricação de ossos de cachorros e na indústria alimentícia, em particular a de gelatinas.

Desencalagem

Após as etapas de remolho, depilação, caleiro, descarne e divisão, as peles, agora, denominadas tripas, devem ter sua alcalinidade reduzida, processo que começa na desencalagem.

Os compostos alcalinos terrosos, como o hidróxido de cálcio, encontram-se tanto depositados, como quimicamente combinados. Entre os principais objetivos da etapa estão a redução ou a completa remoção do cátion cálcio, eliminação dos ânions sulfeto e sulfidrato residuais, retirada dos restos de materiais resultantes da degradação do sistema epidérmico e redução do pH fortemente alcalino até um pH de fraca alcalinidade, com o intuito de favorecer a atuação das purgas pancreáticas, revertendo o inchamento promovido pela adição de cal no caleiro.

Purga

A purga é um processo de natureza enzimática para a limpeza profunda da estrutura fibrosa. A etapa visa à eliminação de materiais queratinosos superficiais degradados, eliminação de restos de pigmentos, gorduras, glândulas sudoríparas e sebáceas, afrouxamento e eliminação de restos de pêlo, remoção do material interfibrilar (ação sobre a reticulina) e desidratação da tripa, dentre outros.

Este tratamento é realizado no banho da desencalagem. A contribuição da etapa de purga à poluição total de um curtume é através de rejeitos líquidos.

Píquel

Denomina-se píquel o processo salino e ácido ao qual são submetidas as tripas após a desencalagem e a purga. Antecedendo ao curtimento, este processo pode ser empregado, também, como um método de conservação.

Entre os objetivos da etapa estão a redução da reatividade do grupo carboxílico da cadeia lateral do colágeno, com o intuito de favorecer a difusão do curtente para o interior da pele ou tripa, através da redução do pH fracamente alcalino até um pH ácido e a redução ou a completa remoção do cátion cálcio que foi realizada, sobretudo, nas etapas de desencalagem e purga. A consequência do píquel consiste no desintumescimento da tripa.

2.1.2 Curtimento

O curtimento promove a estabilização irreversível da pele, originalmente suscetível à putrefação, transformando-a em couro. Dentre seus objetivos, estão o aumento da resistência ao ataque de microrganismos e enzimas, aumento da estabilidade hidrotérmica, diminuição da capacidade de inchamento do colágeno e possibilidade de empregar a pele adequadamente para as mais diversas finalidades como artigos de vestuário, calçados e estofamento (Aquim, 2004).

2.1.3 Acabamento molhado ou Recurtimento

As características finais do couro são definidas nessa etapa. Após o curtimento até a sua transformação em couro acabado, deve passar por diversos processos, tais como a neutralização (ajuste de pH e diminuição de carga catiônica), recurtimento (são definidas características físico-mecânicas como maciez, elasticidade, tamanho do poro, toque, enchimento), tingimento (cor e melhoria do aspecto do couro) e engraxe (influi acentuadamente em características tais como resistência à tração, flexibilidade, maciez, toque, impermeabilidade, entre outros).

2.1.4 Acabamento

As finalidades do acabamento são manter, ou melhorar, o aspecto do couro e atender às especificações do produto final (como cor, resistências físico-mecânica, físico-química e microbiológica, maciez e toque do artigo, por exemplo). A finalidade primeira do acabamento é a de melhorar o aspecto e servir ao mesmo tempo de proteção para o couro, evidenciando principalmente as propriedades exigidas pelo cliente no produto final.

Esta etapa é constituída de aplicações de tinta de fundo e cobertura e das prensagens intermediária e final. Após esta etapa o couro acabado é recortado, medido e segue para a expedição.

2.2 A Pele

A pele ou tegumento é uma membrana de tripla camada, resistente e elástica, que recobre toda a superfície corporal e apresenta grande variação de espessura em toda a sua extensão de 1 a 4 mm, conforme as exigências de suas funções biológicas. Dentre algumas funções estão a de manter a integridade corporal protegendo o corpo contra a ação patogênica de microrganismos, absorver e excretar líquidos, regular a temperatura corporal, absorver raios ultravioletas, controlar o fluxo sanguíneo, proteger contra choques

mecânicos, servir como reserva de nutrientes, além de ter funções sensoriais (calor, frio, pressão, dor e tato). A pele reflete muitas características importantes e específicas do animal como idade, sexo, alimentação, meio ambiente e estado de saúde, de acordo com Gutterres (2010) e Heidemann (1993).

2.2.1 A histologia da pele

Basicamente, são três as camadas formadoras da pele, as quais possuem função e constituição química própria. A camada superior é conhecida como epiderme, a camada intermediária é a derme e a camada inferior é a hipoderme.

2.2.2 Epiderme

Representando 1% da espessura total da pele, a epiderme é uma camada estratificada e escamosa, sendo constituída principalmente por queratina e caracterizada pela ausência de matriz extracelular e de vasos sanguíneos. Os anexos cutâneos (pêlos, folículo piloso, glândulas sebáceas e sudoríparas) também estão presentes na epiderme dos mamíferos, estendendo-se até a derme (Heidemann, 1993). É constituída das seguintes camadas: camada córnea, camada granular e camada mucosa de Malpighi (camada basal) (Gutterres, 2010).

A camada de Malpighi forma a camada mais profunda da epiderme, sendo constituída por células vivas de aspecto gelatinoso que são facilmente atacadas por bactérias de putrefação, enzimas e álcalis. Sendo essa camada responsável pela fixação da epiderme na derme, é a partir dela que são originadas todas as produções epidérmicas e os grãos de melanina. A camada granular possui desenvolvimento variável, de acordo com a espécie de mamífero e a região da pele, ocorrendo, a partir desta, a degeneração de núcleos. Já a camada córnea é a mais externa, desprendendo-se em forma de finas lâminas ou crostas devido à secagem das células, ocorrendo perda de estruturas nucleares e formação de escamas (Gutterres, 2010).

2.2.3 Derme

A derme é um tecido conjuntivo que compreende 85% da espessura da pele e que sustenta a epiderme, sendo separada desta pela membrana hialina. É constituída por elementos fibrilares, como o colágeno e a elastina e outros elementos da matriz extracelular, como proteínas estruturais, glicosaminoglicanos, íons e água de solvatação. A derme é subdividida em duas camadas: a camada papilar em contato com a epiderme, formada por fibras finas e empacotamento compacto, e a camada reticular, constituída por tecido conjuntivo denso não modelado, onde predominam as fibras colágenas (Heidemann, 1993).

É na derme que se localizam os vasos sanguíneos que nutrem a epiderme, vasos linfáticos e também os nervos e os órgãos sensoriais a eles associados. (Montagna, 1962).

2.2.4 Hipoderme

A hipoderme é um tecido conjuntivo frouxo e adiposo localizado abaixo da derme e acima dos músculos, constituindo 14% da espessura total da pele. É formada por adipócitos (células com alto conteúdo de triglicerídeos) que se agrupam em lobos gordurosos, os quais são limitados por fibras colágenas oriundas da derme. A hipoderme participa do isolamento térmico e na proteção contra choques mecânicos e traumas externos, além de atuar como reservatório energético. Esse tecido subcutâneo é constituído por fibras largas dispostas paralelamente à superfície da pele. Entre estas se encontram células graxas, vasos sanguíneos grossos e nervos (Gutterres, 2010). Abaixo, a Figura 2 ilustra as camadas que compõem a pele.

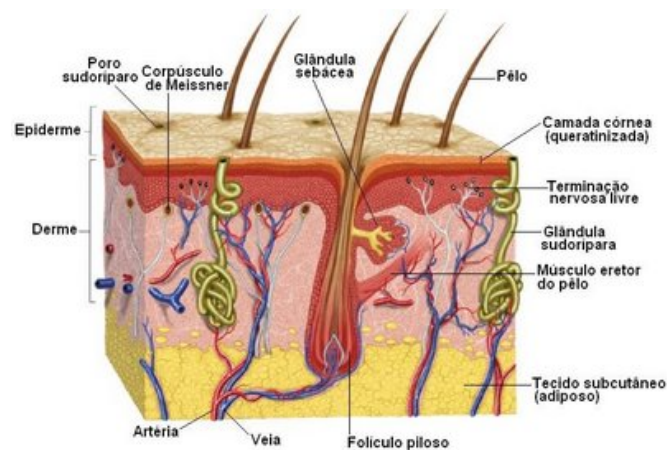


Figura 2: Camadas presentes em um corte de pele Fonte: Wikipédia (2011)

2.3 Constituintes da pele

As principais proteínas constituintes da pele são queratinas, na epiderme; colágenos e elastina, na derme; além de triacilgliceróis (mais conhecidos como triglicerídeos), na hipoderme.

2.3.1 Proteínas fibrosas

De acordo com Voet *et al.* (2006), as proteínas fibrosas são moléculas bastante alongadas que podem ser encontradas nos tendões e ossos, e funcionam como materiais estruturais que possuem funções protetoras, conectivas ou de sustentação nos organismos vivos. Destacam-se a queratina e o colágeno.

2.3.2 Queratina

A queratina é uma proteína mecanicamente resistente e quimicamente não-reativa que ocorre em todos os vertebrados superiores. É o principal componente da rígida camada externa da epiderme, constituindo mais de 85% das proteínas celulares, e apêndices, como cabelos, chifres, unhas e penas. Segundo Voet *et al.* (2006), classificam-se as queratinas como α -queratinas, as quais ocorrem em mamíferos, e as β -queratinas que ocorrem em aves e répteis.

As α -queratinas podem ser subdivididas em “*soft*”, encontradas no tecido epitelial e bulbos pilosos, e “*hard*” encontradas em pêlos, chifres, unhas e outras estruturas mais duras. A diferenciação entre estas duas formas da proteína dá-se pelo conteúdo de cistina que é maior na forma “*hard*” (Marshall *et al.*, 1991). O enxofre é o elemento mais característico de uma queratina, pois se encontra presente em quantidade muito superior quando comparado a sua presença em outras moléculas orgânicas. Conforme a Figura 3, este elemento químico está presente na cisteína e cistina (dipeptídeo resultante da união de dois aminoácidos cisteínas), sendo responsável pela formação das pontes dissulfídicas, que tornam a estrutura mais coesa devido à força deste tipo de ligação. Além das pontes dissulfídicas, pontes de hidrogênio também estão presentes na queratina auxiliando a estabilidade estrutural da proteína (Magin *et al.*, 2007).

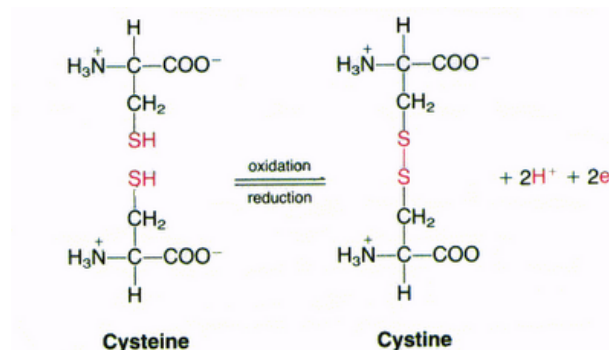


Figura 3: Molécula de cistina presente na queratina Fonte: Wikipédia (2011)

2.3.3 Colágeno

O termo colágeno denota uma família de proteínas insolúveis fibrosas encontradas em todos os animais multicelulares. Devido às fibras fortemente tensionadas, o colágeno é o componente com maior capacidade para suportar o estresse dos tecidos conjuntivos, entre eles os ossos, dentes, tendões, pele, músculos, vasos sanguíneos e olhos, correspondendo a aproximadamente 25% em massa de todas as proteínas existentes nos mamíferos (Voet *et al.*, 2006).

A proteína classificada como colágeno tem como principais características sua conformação em hélice tripla (formada a partir de três cadeias polipeptídicas) e seu

conteúdo de aminoácidos, onde a quantidade de resíduos de hidroxiprolina presentes é muito superior à quantidade encontrada nas outras proteínas existentes na natureza, conferindo estabilidade ao colágeno (Reich, 2007). A Figura 4 representa a molécula de hidroxiprolina.

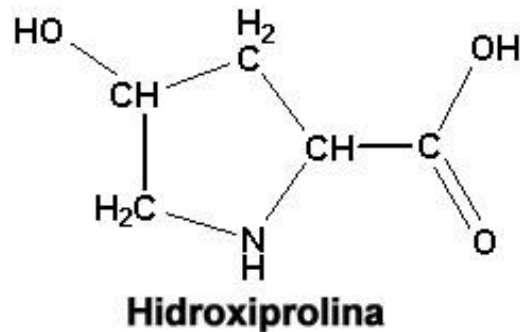


Figura 4: Molécula de hidroxiprolina característica do colágeno Fonte: Wikipédia (2011)

A estrutura primária destas proteínas é determinada pela seqüência dos resíduos de aminoácidos na cadeia polipeptídica (α -peptídeos) e responsável pela formação dos diversos tipos de colágeno - mais de 20 tipos segundo Voet *et al.* (2006). O tripleto mais comum em colágenos corresponde à seqüência de aminoácidos GLI-X-Y, onde GLI representa a glicina, X é freqüentemente prolina e Y varia como hidroxiprolina ou hidroxilisina (Voet *et al.*, 2006; Heidemann, 1993). O conteúdo de aminoácidos é uma característica particular de cada tipo de colágeno e varia com a localização e função de cada um deles.

Os diferentes tipos de colágenos encontrados são função da polimerização de aminoácidos em α -cadeias e, posteriormente, da junção destas cadeias na formação da molécula de tropocolágeno (hélice tripla) ou na combinação de domínios não-helicoidais com domínios em hélice tripla.

2.3.4 Triacilgliceróis

Correspondem a um tipo de lipídios existentes, sendo formados por uma molécula de glicerol (álcool) ligada a três moléculas de ácidos graxos (ácidos carboxílicos de cadeias longas). Classificados de acordo com o estado físico em que se encontram, os óleos e gorduras são misturas complexas de triglicerídeos, cuja composição dos ácidos graxos varia de acordo com o organismo que o produz. Sua função principal é a estocagem de energia (Voet *et al.*, 2006).

(menos de 20 unidades) e polipeptídeos (mais de 20 unidades). As proteínas são moléculas que contêm uma ou mais cadeias de polipeptídeos.

2.4 Geração e tratamento de efluentes

Os curtumes são indústrias que empregam grandes quantidades de água, uma vez que a maioria dos seus processos ocorre em meio aquoso, além de produtos tóxicos como cromo e sulfeto e geram altas cargas de DBO₅ e DQO. Conseqüentemente, geram uma grande quantidade de efluentes líquidos que devem ser tratados, pois esses têm altas concentrações de contaminantes, exigindo investimentos e custos operacionais significativos em seu tratamento, visando enquadrá-los nos padrões de emissão exigidos pela legislação ambiental.

Os curtumes possuem estações de tratamentos de efluentes (ETES), as quais consistem em tratamento preliminar, primário (ou físico químico) e secundário (ou biológico), descritos brevemente a seguir:

O **tratamento preliminar** objetiva reduzir o teor de sólidos e gordura, seguindo-se, assim, as etapas de gradeamento (separação de materiais grosseiros do efluente), homogeneização (equalização das vazões e cargas dos efluentes) e tanque de remoção de óleos e graxas (remoção de material separável por flotação evitando sobrecarga no tratamento e entupimento das tubulações e sistema de bombeamento).

O **tratamento primário** é composto das seguintes etapas: (a) neutralização: através do ajuste de pH, tem-se melhores condições de floculação e posterior decantação; (b) coagulação: processo químico de desestabilização das partículas coloidais ou em suspensão mediante adição de produtos químicos, como sulfato de alumínio ou cloreto férrico, que interagem com os sólidos através do desenvolvimento de cargas de superfície nas partículas sólidas propiciando a formação de flocos; (c) floculação: etapa complementar à coagulação, que promove o crescimento dos flocos e acelera a sedimentação das partículas destes. Usam-se produtos químicos tipicamente orgânicos como polímeros sintéticos que possuem longas cadeias capazes de unir as partículas por meio de ligações químicas facilitando a sua aglutinação e transformando-as em grandes flocos; (d) decantação primária: objetiva remover o material sólido floculado presente no efluente que sedimenta pela ação da gravidade. Assim, após a floculação, o efluente passa por gravidade para o sistema de decantação, cuja finalidade é a separação da parte do clarificado (sobrenadante) do decantável (lodo).

O **tratamento secundário** é responsável pela remoção de matéria orgânica biodegradável, principalmente coloidal e alguns nutrientes. O tratamento é composto de: (a) Tanque de aeração: os curtumes empregam, na maior parte das vezes, sistema aeróbio que

funciona como um reator biológico, e o sistema mais utilizado emprega lodo ativado de crescimento de biomassa em leito suspenso; (b) Decantação secundária: objetiva remover lodo biológico formado por sedimentação (do tipo impedida em altas concentrações de sólidos). Parte do lodo é bombeada novamente para o tanque de lodo ativado e o excesso encaminhado à centrífuga. A parte líquida ou sobrenadante é geralmente enviada ao corpo receptor ou, ainda, poderia seguir para tratamento terciário. Esse tipo de processo depende de alguns fatores, tais como pH, temperatura, relação alimento ($\text{DBO} \cdot \text{dia}^{-1}$)/microrganismo (biomassa) e a concentração de oxigênio dissolvido.

O **tratamento terciário** não é muito comum, porém existem estudos referentes a práticas complementares de tratamento de efluentes visando à remoção de poluentes específicos que eventualmente não atingiram os padrões de emissão do efluente e/ou o aumento da eficiência dos processos utilizados no tratamento. Alguns exemplos de processos usados são remoção de nitrogênio em reatores biológicos, aplicação de processos de separação por membranas para remoção de salinidade (especificamente cloretos) e utilização de processos oxidativos avançados na remoção de compostos tóxicos e processos de adsorção de contaminantes. Atualmente, o tratamento biológico para remoção de nutrientes já é uma realidade nos curtumes do RS.

Reciclos de banho de caleiro são largamente praticados nos curtumes do Brasil, sendo que, quando há necessidade de descarte deste lodo, ele tem destinação em solo agrícola. A precipitação de cromo de banhos de curtimento é realizada em alguns casos.

Na maioria dos casos, os seguintes parâmetros são analisados nas águas residuais das etapas do processo: cloretos, sulfetos, cromo, sólidos totais, NTK (nitrogênio total de Kjeldahl), DBO_5 (demanda bioquímica de oxigênio) e DQO (demanda química de oxigênio). Os efluentes de curtumes possuem contaminantes que requerem atenção e cuidados como cloretos, cromo, sulfetos e cálcio, além de apresentarem um valor de DBO_5 alto; sendo no efluente de remolho o maior problema o sal, na depilação o sulfeto e no curtimento o cromo.

Segundo Aquim (2005), foi constatado que as quantidades de água empregadas nos curtumes são muito elevadas, e, muitas vezes, superiores ao necessário, além de se utilizarem, para a maioria dos processos, águas limpas oriundas de poços cartesianos, açudes ou rios. Raghava *et al.* (2003) afirmam que a indústria coureira requer de 30 a 40 L de água por kg de pele processada, sendo que 35% são consumidos nas lavagens e 57% nas etapas de curtimento e recurtimento. Ainda, Ramirez *et al.* (2003) concluíram o uso, em média, de 40 a 75 % de excesso de produtos químicos em processos tradicionais, ou seja, processos que não empregam nenhuma tecnologia para minimizar o consumo de água e produtos químicos. De acordo com Gutterres *et al.* (2010), pressionadas pela rigidez da legislação ambiental e pela necessidade de adaptação ao mundo globalizado, as indústrias têm investido no reuso de água em seus processos produtivos, sendo uma maneira de

reduzir custos, aumentar a produtividade e minimizar os impactos ambientais. Ainda, pelo experimento realizado, Gutterres *et al.* (2010) concluíram que o reuso da água foi responsável pela diminuição de 27% do consumo de água requerido nas etapas que compreendem a ribeira.

Além dos elevados volumes de água, há o problema com a alta concentração de poluentes na água residual. A vazão de efluente descartada por essas empresas varia de 300 a 2000 m³/dia com cargas de até 141 t/ano de DQO, segundo a Fundação Estadual de Proteção Ambiental - FEPAM (2001).

O volume da água residual de remolho é elevado, com pH levemente básico, dependendo dos auxiliares empregados e da presença de gorduras, sangue, proteínas solúveis, tensoativos, cloreto de sódio ou outros conservantes, conforme a pele em processo. Segundo Font (1985), na depilação e caleiro, o volume de água residual é menor que no remolho, mas sua contaminação é tão elevada que, em alguns casos, chega a ser responsável por mais de 50% do efluente total do curtume. Esta água é caracterizada por alta alcalinidade, pH de 12-14, elevados conteúdos de pêlos e proteínas, basicamente queratina, cal, sulfetos, assim como pequenas quantidades de graxas.

Rao *et al.* (2003) apresentam no artigo os seguintes consumos de água para processar uma tonelada de peles: remolho = 9-12 m³, caleiro = 4-6 m³, desencalagem 1,5-2 m³, píquel = 1-1,5 m³, curtimento ao cromo = 1-2 m³, ou seja, um consumo total de 16,5 - 23,5 m³ nestas etapas.

Além da questão da elevada carga orgânica, problemas ambientais podem ser causados pela descarga de efluentes com alto nível de nitrogênio, causando a eutrofização dos cursos de águas naturais (Gutterres *et al.*, 2011). Eutrofização é a fertilização da água, que ocorre com o depósito de amostras excessivas de nutrientes. Nesse caso, o alimento não consumido pelos peixes alimenta as algas e o crescimento dos microrganismos, que consomem oxigênio na água, resultando em coloração escura e cheiro ruim, provocando a morte da vida pela falta de oxigênio.

A redução de nitrogênio nos efluentes de curtumes nem sempre atinge os parâmetros de descarte exigidos pelo órgão ambiental do Estado, sendo este parâmetro atendido em alguns casos pela eficiência total de remoção. O primeiro passo do processo é a remoção de sangue, carne e sujidades (substâncias ricas em proteínas), sendo o nitrogênio também liberado das proteínas. As proteínas mais importantes, consideradas como fontes de nitrogênio são o colágeno, a queratina, a albumina e a globulina.

2.5 Caracterização de resíduos em efluentes relacionados à composição da pele

Herfeld (1990) apresentou a seguinte composição para a pele salgada: 25% substância dérmica, 17% cinzas, 40% água, 8% pêlos e 10% restos de peles. Gutterres (2008) afirma que a composição aproximada de uma pele fresca é a seguinte: 60-64% de água, 33% de proteínas, 2-6% de gorduras, 0,5% de substâncias minerais e 0,5% de outras substâncias. Do total de proteínas da pele, aproximadamente 94-95% é colágeno, 1% elastina, 1-2% queratina e o resto são proteínas não fibrosas.

O estudo de parâmetros dos banhos residuais é importante para analisar as possibilidades do tratamento distribuído de efluentes, evitando o tratamento fim de tubo, em que todos os efluentes são misturados. Dessa forma, o tratamento pode ser mais específico para o contaminante em questão. O conhecimento do efluente de cada banho proporciona parâmetros de avaliação das possibilidades de reuso e reciclo, objetivando cada vez mais um tratamento distribuído e melhoria contínua de processo. O conhecimento da quantidade de poluentes gerados em cada etapa ajuda a estabelecer melhorias, minimizando o consumo de água e produtos químicos, assim como a carga e volume de efluente a ser tratado.

Trabalhos realizados pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Estudos em Couro e Meio Ambiente (LACOURO) têm avaliado os efluentes de curtumes e sua composição para um tratamento mais adequado. Souza *et al.* (2010) estudaram o uso de enzimas nos processos de remolho, caleiro e purga, utilizando os parâmetros de Carbono Orgânico Total e Proteína Solúvel para mensurar a ação das enzimas, revelando que seu uso é mais efetivo que processos químicos. Gutterres *et al.* (2011) estudaram a contaminação de banhos residuais de remolho e caleiro por nitrogênio, carbono orgânico e proteína, sendo observada uma relação entre os conteúdos de nitrogênio liberado e carbono e proteína solúvel nos banhos de remolho e caleiro. Na mesma linha, Baur *et al.* (2008) estudaram e identificaram o nitrogênio nos efluentes, avaliando os fatores que contribuem para os seus altos teores e buscando possíveis soluções e maneiras de tratar esses efluentes líquidos. Os autores concluíram que a maior parte do nitrogênio presente nos efluentes de curtume é, realmente, proveniente das peles, sendo consideravelmente menor a quantidade proveniente dos produtos químicos utilizados nas etapas do processamento do couro. Lehmann *et al.* (1995) quantificaram prejuízos por conservação deficiente da matéria-prima pele detectados pelo teor de nitrogênio. Aquim *et al.* (2010) avaliaram o uso da água no processamento de peles em couros, investigando o impacto ambiental, a demanda de água e concentrações de produtos químicos nos efluentes de ribeira, curtimento e recurtimento dos processos industriais. Os autores inferiram que a situação do uso da água é de regular a boa, apesar

de muitas atitudes não serem implementadas. Ainda, o consumo avaliado no processo de curtimento foi de 10 a 25 L de água/ kg de pele, sendo um valor razoável, mas que ainda deve ser reduzido para melhor performance dos processos. Gutterres *et al.* (2008) analisaram o reuso de água em algumas etapas do processo com o objetivo de minimizar as perdas. Foram analisados os parâmetros de pH, condutividade, turbidez, cálcio, sólidos totais, sólidos fixos e sólidos voláteis. De acordo com os autores, o reuso da água foi responsável pela diminuição de 27% do consumo de água requerido nas etapas que compreendem a ribeira.

Lacerda e Silva (1996) desenvolveram um método científico que possibilita ao curtidor avaliar e pré-direcionar a matéria - prima para o uso mais apropriado, garantindo a qualidade do produto final através da medida de nitrogênio da pele. Os autores afirmam que o período de até quatro horas é o máximo admissível para aplicação de um método de conservação sem acentuado ataque bacteriano. Com relação à presença de material, sua caracterização e possibilidades de reuso, Karthikeyan *et al.* (2011) estudaram a combinação queratina-sílica, com a queratina oriunda das penas de galinha, para substituição da queratina hidrolisada por solúvel em água em processos de recurtimento, visto que essa não possui potencial antimicrobiano. Madhan *et al.* (2010) estudaram a remoção de material interfibrilar - remoção de proteínas, proteoglicanos e glicosaminoglicanos - em banhos de ribeira convencionais utilizando o método de Lowry. O trabalho teve como objetivo a quantificação dos processos de ribeira, o que melhora o controle dos parâmetros. Foi observado que do processo de ribeira convencional, aproximadamente 3,2% são proteínas, 1,2% proteoglicanos e 0,04% glicosaminoglicanos (baseado no peso de pele úmida salgada). Por fim, Sato (2008) estudou as fluorescências geradas na superfície do couro advindas da presença de gorduras sólidas à temperatura ambiente, como cêras, compostos siliconados, etc. Essas gorduras são divididas em dois grupos: gorduras de alto ponto de fusão que se encontram na composição dos engraxantes empregados na fabricação do couro e a gordura natural própria do animal.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A etapa experimental do presente trabalho foi realizada no Laboratório de Estudos em Couro e Meio Ambiente (LACOURO) do Departamento de Engenharia Química (DEQUI).

A partir da pesquisa dos principais constituintes da pele nos banhos (proteínas e gorduras), selecionaram-se substratos representativos e métodos adequados para suas análises. Foram escolhidos a Determinação de Proteína Solúvel, a partir do Método de Lowry (PS); a Análise de Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) e a Análise de Carbono Orgânico Total (*Total Organic Carbon* - TOC). Com a obtenção de banhos - padrão com as proteínas dissolvidas separadamente em soluções (dispersões ou emulsões) de colágeno hidrolisado e em pó (empresa alemã Protein Trading), gelatina em pó (adquirida em comércio local), queratina hidrolisada (extraída de acordo com o método de Tanabe *et al.* (2001)), gordura da pele (sebo - adquirido em comércio local), além de banhos de curtume (remolho e caleiro preparados no laboratório), realizaram-se as análises quantitativas de TOC, NTK e PS. Esses substratos (queratina, colágeno em pó, gelatina e gordura) foram preparados para verificar suas contribuições residuais em efluentes de remolho e caleiro, os quais possuem uma mistura desses componentes em proporções variáveis.

De acordo com os valores obtidos, verificou-se sua confiabilidade e quantificação. Também foi testada a técnica para extração de queratina, a qual poderá ter aproveitamento para uso específico.

3.1 Preparo de soluções

3.1.1 Preparação dos substratos

As dispersões (coloidais para proteínas e emulsões para gorduras) foram preparadas nas seguintes concentrações:

Colágeno: 0,4mg/mL.

Gelatina: 0,4 mg/mL.

Gordura: 0,4 mg/mL com adição de surfactante 0,2%.

Como o método de PS sugeria uma concentração de amostra de 0 a 0,5 mg/mL, escolheu-se uma concentração intermediária próxima do limite superior para facilitar a detecção dos constituintes nos substratos.

Queratina:

Segundo o método de extração de queratina, baseado no estudo de Tanabe *et al.* (2001), misturaram-se 11,20 g pêlos + 250 mL solução (8M uréia; 0,26M SDS; 1,66M 2-mercaptoetanol; 0,2M trishidroximetil-aminometano).

Cada um dos reagentes possui uma finalidade específica: Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) diminui a tensão superficial, mercaptoetanol quebra a cistina (responsável pelas pontes dissulfeto), trishidroximetil-aminometano é solução tampão para pH~9 e uréia quebra ponte dissulfeto.

Os pêlos foram retirados de uma pele bovina (30,45 g) e seu preparo para a extração de queratina foi feito utilizando o extrator de gordura tipo Soxhlet e diclorometano como solvente – NBR11030. Os pêlos foram colocados na estufa, permanecendo por 1 dia na temperatura de 103°C, e deixados no dessecador até o momento da análise. Após a extração, restaram 11,20 g de pêlo.

A solução permaneceu por 12 horas com agitação e aquecimento de 50°C, sendo filtrada e utilizada como substrato de queratina para o fim proposto nesta pesquisa. A solução de extração da queratina foi utilizada como branco nos ensaios de TOC e NTK, visto que como esta solução não foi preparada apenas com água, mas também foram utilizados outros produtos químicos, estes poderiam influenciar nas análises de caracterização.

3.1.2 Obtenção de efluentes de remolho e caleiro

Os efluentes obtidos para as análises foram gerados em laboratório a partir de processamento de remolho e caleiro de um pedaço de pele bovina de 144,18 g em fulão de bancada (Figura 6), de acordo com as adições descritas na Tabela 1, sendo coletados ao final de cada etapa.



Figura 6: Equipamento para preparação dos banhos de remolho e caleiro

Tabela 1: Formulação dos testes de remolho e caleiro

| Tipo de processo | Descrição do produto | Expresso em % | Expresso em g | Tempo de processamento |
|------------------|---------------------------|---------------|---------------|------------------------|
| Remolho: | Água | 200 | 288,36 | 4 h |
| | Carbonato de sódio | 0,3 | 0,43254 | |
| | Eusapon L-DE (tensoativo) | 0,15 | 0,21627 | |
| Caleiro | Água | 50,00% | 72,09 | 1 h |
| | Cal | 1,00% | 1,4418 | |
| | Molescal L-ND | 0,60% | 0,86508 | |
| | Eusapon L-DE | 0,08% | 0,115344 | |
| | Sulfeto de sódio | 1,00% | 1,4418 | 45 min |
| | Cal | 0,50% | 0,7209 | |
| | Sulfeto de sódio | 1,50% | 2,1627 | 1 h |
| | Cal | 0,50% | 0,7209 | |
| | Cal | 2,00% | 2,8836 | 12 h |
| | Eusapon (L-DE) | 0,02% | 0,028836 | |
| Água | 100,00% | 144,18 | | |

3.2 Ensaio

3.2.1 Proteína Solúvel

Segundo a norma de Determinação de Proteína Solúvel – Método de Lowry (1951), foram preparados os reagentes e soluções necessários para análises das amostras. A partir da solução padrão de BSA (Bovine Serine Albumine) - 0,5 mg/mL, construiu-se uma curva padrão de calibração com concentrações diferentes de proteína (0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mg/mL), conforme Figura 7.



Figura 7: Construção da curva padrão de PS

Com a adição de alguns dos reagentes às amostras, obtinham-se soluções, as quais tinham suas absorvâncias lidas a 750 nm no espectrofotômetro (Cary 1E da marca Varian). A concentração das amostras foi determinada pela interpolação dos valores de absorvância na curva padrão, através da conversão das leituras de absorvância em concentração de proteína (mg/mL). Para PS, as amostras de gelatina, colágeno e gordura possuíam uma concentração de 0,4 mg/mL. Já a queratina extraída foi diluída 80X e os banhos de remolho e caleiro 40X.

3.2.2 Carbono Orgânico Total (TOC)

As análises de TOC foram realizadas na Central Analítica do Departamento de Engenharia Química, no Analisador de Carbono Orgânico Total, marca Shimadzu, modelo V CSH (Figura 8). O equipamento de análise de TOC mede os valores de carbono total e carbono inorgânico, sendo a sua diferença referente ao valor de carbono orgânico. O método proposto pelo fabricante do equipamento e usado para as análises foi o TC ALTA 1000 ppm, indicado para amostras com grande concentração de carbono, sendo o desvio padrão das amostras de no máximo 2%, erro determinado pelo operador do equipamento.

Para esse teste, foram colocados 20mL de cada amostra em tubos Falcon, além do branco da queratina. As amostras de colágeno, gelatina e gordura possuíam a concentração de 0,4mg/mL. A solução de queratina e efluentes de remolho e caleiro, que não possuíam concentrações conhecidas, foram diluídas 40X. O branco da queratina não foi diluído, o catalisador do equipamento foi danificado e a leitura deste ponto foi comprometida.



Figura 8: Aparelho para análise de TOC

3.2.3 Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK)

O procedimento é dividido em três partes principais: digestão, destilação e titulação. As amostras e alguns reagentes são adicionados a frascos de Kjeldahl e são digeridas no aparelho digestor (Figura 9a), DK 20 da marca Velp Científica, por aproximadamente três horas, passando por rampas de aquecimento: 30 minutos em 150 °C, 30 minutos em 200°C, 30 minutos em 300°C e 1 hora em 350°C. O material digerido é colocado no destilador (UDK 129 – Velp Científica) (Figura 9b) e o destilado obtido é titulado com ácido sulfúrico. A análise de N₂ seguiu a norma ASTM – D2868/07.

Em virtude dos altos teores de matéria orgânica presentes nos banhos de queratina e caleiro, fizeram-se necessárias suas diluições, sendo 40X para a queratina e 5X para o caleiro. O branco da queratina foi diluído 40X. Os outros substratos não foram diluídos.



Figura 9: (a) Digestor para NTK (b) Destilador para NTK

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a aplicação das metodologias escolhidas, obtiveram-se dados para cada uma das análises de Proteína Solúvel, Carbono Orgânico Total e Nitrogênio Kjeldahl.

Foram consideradas as diluições de alguns dos substratos, como queratina (40X), remolho (40X) e caleiro (40X), sendo os valores de TOC obtidos para essas soluções multiplicados por seus fatores de diluição respectivos, conforme Tabela 2. As análises de TOC requerem apenas uma estimativa média do teor de matéria orgânica encontrado na amostra para adequar o método da curva de calibração utilizada pelo equipamento.

Tabela 2: Valores de Carbono Orgânico Total para os substratos analisados

| Amostra | TOC (mg/L) |
|----------------|-------------------|
| Remolho | 1238,4 |
| Caleiro | 9352,0 |
| Gelatina | 137,5 |
| Colágeno | 71,7 |
| Gordura | 734,1 |
| Queratina | 99080,0 |

Devido à diferença de escala dos valores de TOC para os testes, sua análise é feita de forma separada para os substratos para mais fácil compreensão quantitativa do material detectado. Na Figura 10, têm-se as análises de TOC para as soluções de colágeno, gelatina e gordura, enquanto que na Figura 11 estão as soluções de queratina, remolho e caleiro. Observa-se na Figura 10 que o teor de carbono orgânico para a gordura é consideravelmente mais elevado que para a gelatina e colágeno, uma vez que esses substratos são compostos de proteínas e a gordura é uma molécula composta basicamente de carbono e hidrogênio. Como a gelatina é composta pelas moléculas solúveis de colágeno, era esperado que ambas tivessem o mesmo comportamento com relação à essa análise, o que pode ser visualizado na Figura 10. Na Figura 11, o valor de caleiro é maior porque ocorre uma remoção mais eficiente de queratina, colágeno, entre outras proteínas, enquanto no remolho a extração de queratina não ocorre e das outras proteínas não ocorre de forma tão pronunciada. Isso está de acordo com o valor observado para a solução de queratina, que possui a maior leitura de TOC.

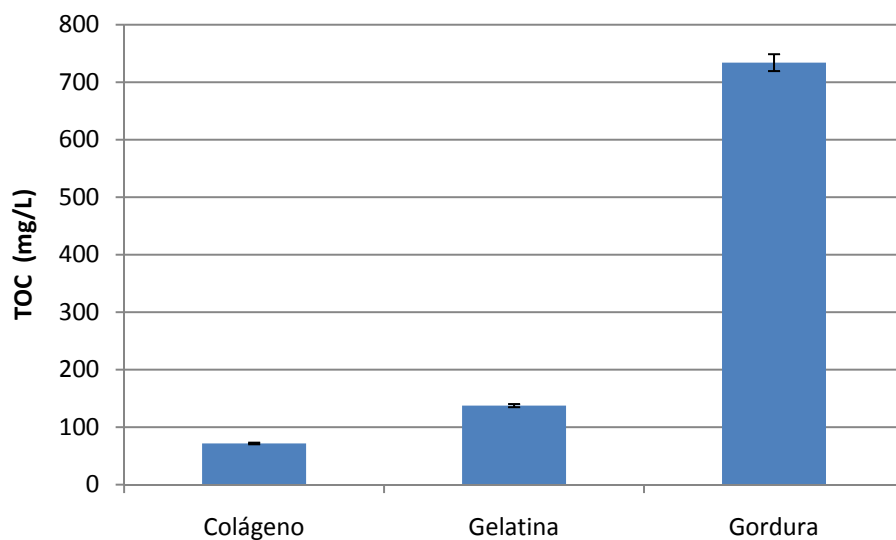


Figura 10: Análises de TOC para as soluções preparadas dos substratos

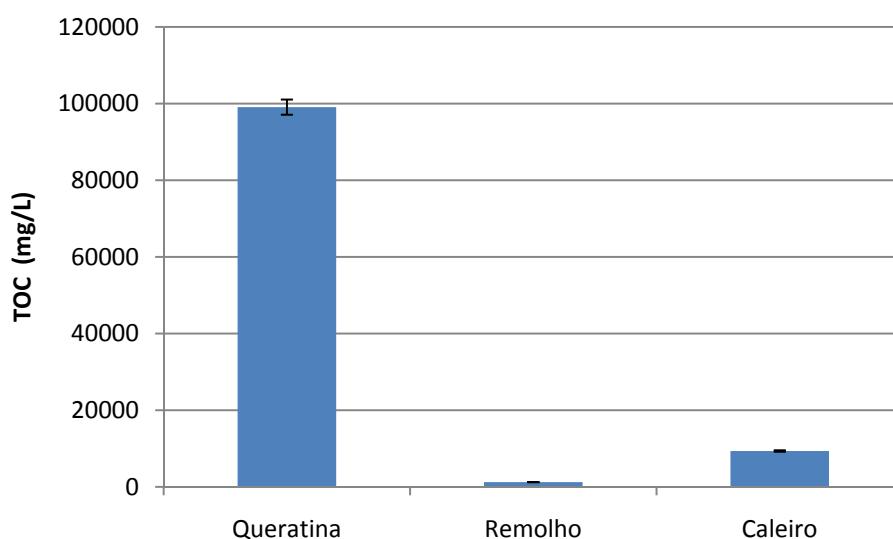


Figura 11: Análises de TOC para a solução de queratina e para os banhos de remolho e caleiro

Para os testes de Proteína Solúvel foram feitas as médias das absorvâncias obtidas no espectrofotômetro. A curva obtida (Figura 12), juntamente com a sua equação da reta (Equação 1), encontram-se abaixo.

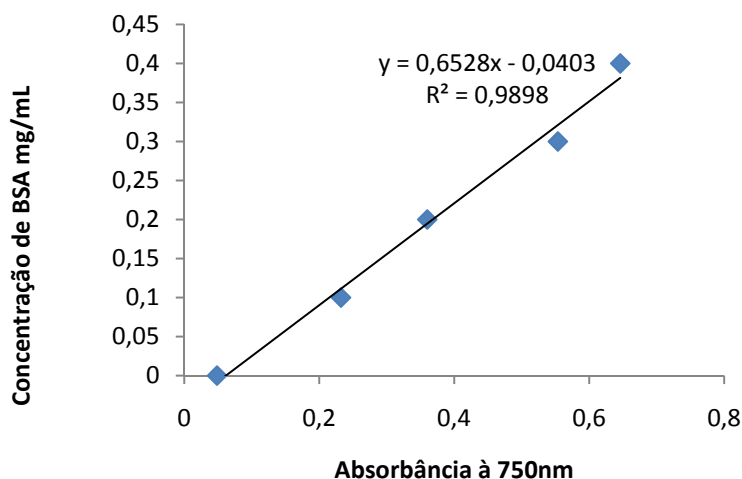


Figura 12: Curva padrão para o teste de Proteína Solúvel

$$\text{Conc. de Proteína Solúvel } \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right) = 0,652 \times \text{Absorbância (750 nm)} - 0,040 \quad (\text{Equação 1})$$

A equação 1 foi utilizada para a conversão das leituras de absorbâncias, apresentadas na Tabela 3, em concentração de proteína solúvel para cada um dos testes. A Tabela 4 contém os valores de concentração obtidos, assim como as médias, desvio padrão e diluições consideradas para cada série de leituras realizadas.

Tabela 3: Valores de absorbâncias obtidas no espectrofotômetro para Proteína Solúvel

| Absorbâncias à 750nm | Leitura 1 | Leitura 2 | Leitura 3 |
|-----------------------------|------------------|------------------|------------------|
| Colágeno | 0,2484 | 0,2507 | 0,2552 |
| Queratina | 0,315 | 0,3148 | 0,3361 |
| Gelatina | 0,2977 | 0,31 | 0,3129 |
| Gordura | 0,3364 | 0,272 | 0,2807 |
| Remolho | 0,1609 | 0,1618 | 0,1557 |
| Caleiro | 1,2638 | 1,3393 | 1,2979 |

Tabela 4: Concentrações de Proteína Solúvel nos substratos testados

| Substrato | Concentração PS (mg/mL) | | | | | |
|-----------|-------------------------|-------|-------|-------|---------------|--------------|
| | 1 | 2 | 3 | Média | Desvio padrão | PS calculado |
| Colágeno | 0,122 | 0,123 | 0,126 | 0,124 | 0,023 | 0,124 |
| Queratina | 0,165 | 0,165 | 0,179 | 0,170 | 0,638 | 13,593 |
| Gelatina | 0,154 | 0,162 | 0,164 | 0,160 | 0,005 | 0,160 |
| Gordura | 0,179 | 0,137 | 0,143 | 0,153 | 0,023 | 0,153 |
| Remolho | 0,065 | 0,065 | 0,061 | 0,064 | 0,086 | 2,559 |
| Caleiro | 0,784 | 0,833 | 0,806 | 0,808 | 0,986 | 32,313 |

Assim como para o TOC, em virtude da diferença de escala dos resultados obtidos para PS, os valores são mostrados separadamente. Na Figura 13, têm-se as amostras de colágeno, gelatina e gordura, ao passo que na Figura 14, apresentam-se os substratos de queratina, remolho e caleiro. Coincidentemente, os gráficos separaram-se naqueles que possuíam concentração conhecida (0,4 mg/mL) e não conhecida, demonstrando que as concentrações desses banhos são maiores que 0,4 mg/mL. Pela análise, o banho de caleiro é o que apresenta maior concentração de PS, sendo que dos substratos é a queratina que mais influencia estas concentrações elevadas. Salienta-se que pelo fato das concentrações das amostras serem muito pequenas, é possível que a alíquota analisada não contivesse a amostra representativa esperada, o que, por sua vez, acabou interferindo nos resultados e revelando concentrações menores que as reais, conforme comparação com estudos de Souza (2010). Pode haver, ainda, alguma limitação no método de Lowry, pois este ensaio pode apresentar alguma restrição com relação ao tipo de proteína detectada. O método de Lowry, ou método do folin-fenol, é o método mais utilizado pelos pesquisadores, devido à sua simplicidade, precisão e sensibilidade. Entretanto, pode apresentar resultados diferentes para diferentes proteínas, além do método fornecer valores mais elevados de proteínas quando compostos interferentes estiverem presentes (Pontes *et al.* 2002). Esperar-se-ia que as amostras de colágeno e gelatina (Figura 13) apresentassem a mesma concentração de proteínas, visto que a gelatina é composta pelas moléculas solúveis de colágeno, assim como um valor abaixo para a gordura, já que essa não é considerada uma proteína e sim um triglicerídeo (molécula composta por carbono e hidrogênio).

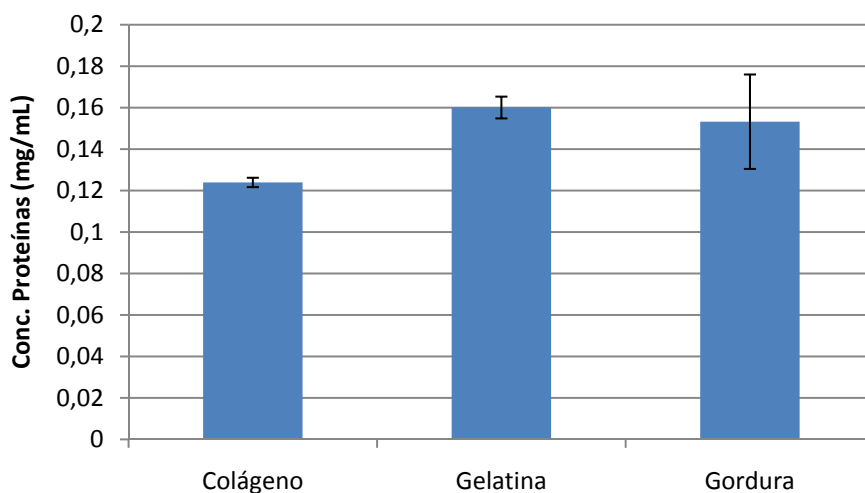


Figura 13: Análises de PS para as soluções preparadas dos substratos

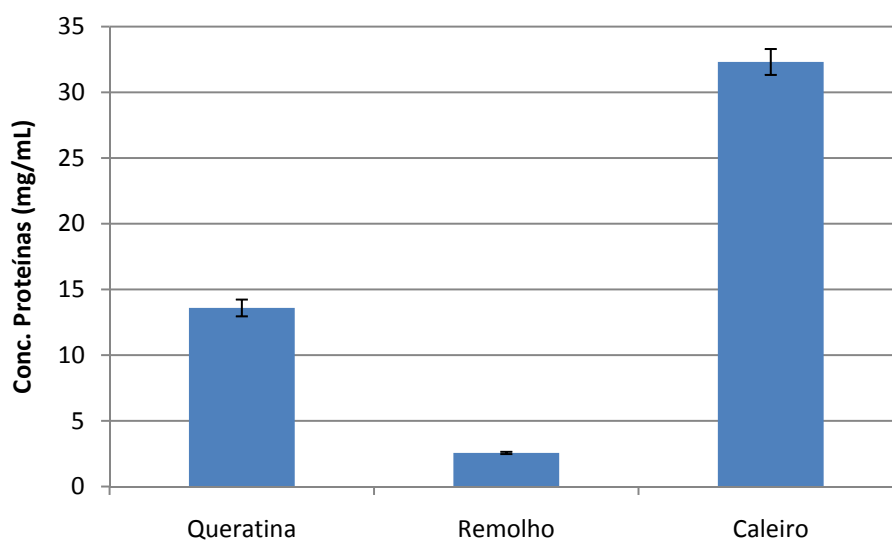


Figura 14: Análises de PS para a solução de queratina e para os banhos de remolho e caleiro

Para melhor mensurar a análise, a Tabela 5 contém a relação de PS/substrato presente. Para as demais não foi possível fazer essa inferência devido ao não conhecimento das concentrações dos banhos, além de que o teor de sólidos era muito baixo, impossibilitando a obtenção de uma amostra com massa significativa para a conversão em base seca. Observa-se que colágeno e gelatina apresentaram valores próximos. Ressalta-se que nas dispersões somente de gelatina e colágeno, 40% e 30%, respectivamente, são proteínas solúveis, não sendo as restantes detectadas pela metodologia. Ainda assim, foi observada uma quantidade para a gordura, que não era esperada.

Tabela 5: Teores de Proteína Solúvel para os substratos testados (base seca)

| | Colágeno | Gelatina | Gordura |
|-----------------------------|-----------------|-----------------|----------------|
| (mg PS/mg substrato) | 0,3098 | 0,4002 | 0,3831 |

Outra análise realizada foi a de Nitrogênio através do método Kjeldahl descrito anteriormente, cujos volumes de ácido sulfúrico empregados na titulação estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Volumes de ácido sulfúrico requeridos na titulação das amostras no ensaio de NTK

| Amostra | V titulado (mL) |
|-----------|---------------------------|
| Queratina | 36,24 |
| Gelatina | 0,81 |
| Colágeno | Não detectado pelo método |
| Gordura | Não detectado pelo método |
| Remolho | 12,85 |
| Caleiro | 4,99 |

De acordo com a norma, o valor de nitrogênio presente na amostra é calculado pela equação 2:

$$\text{Nitrogênio (\%)} = [(A \pm B) \times N \times 0,014] \times 100 \div P \quad (\text{equação 2})$$

Onde:

A = Volume de ácido sulfúrico padrão requerido na titulação do destilado.

B = Volume de hidróxido de sódio padrão requerido na titulação do branco.

Usa-se sinal positivo caso o branco tenha sido titulado com hidróxido de sódio. Caso tenha sido titulado com ácido sulfúrico use sinal negativo.

N = Normalidade do ácido sulfúrico padrão.

P = Massa da amostra em gramas.

Multiplicando-se os valores obtidos pelos fatores de diluição para as amostras de queratina por 40 vezes (40X) e caleiro por 5 vezes (5X), os teores de nitrogênio detectados pelo método encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7: Teor de NTK nos substratos preparados e banhos testados

| Amostra | % Nitrogênio |
|-----------|---------------|
| Queratina | 0,746 |
| Gelatina | 0,047 |
| Colágeno | Não detectado |
| Gordura | Não detectado |
| Remolho | 0,159 |
| Caleiro | 0,430 |

Na Figura 15 encontram-se as análises de NTK para os substratos em que foi identificado teor de nitrogênio. A concentração de nitrogênio encontrada no banho, na maioria das etapas, é devida à eliminação de matérias da pele, como, por exemplo, no caleiro, onde há a remoção de pêlos e epiderme. Dessa forma, observou-se que o valor de NTK para o caleiro foi elevado. Ainda, percebe-se que a queratina, apesar de estar na mesma ordem de grandeza, possui uma quantidade superior às demais. Outra questão relevante é que a queratina só está na mesma grandeza que as demais porque foi descontado de seu valor o branco. Para soluções com porcentagem de nitrogênio inferior a 0,05 %, o método de Kjeldahl não se mostrou adequado, já que detectou na gelatina e não no colágeno, que possuem composição semelhante.

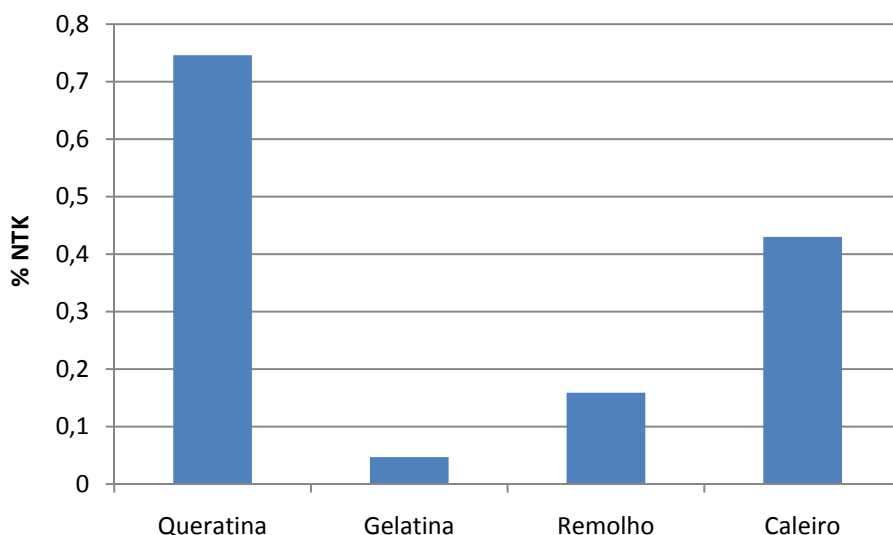


Figura 15: % NTK presente nas análises das amostras e banhos testados

De forma complementar, foram analisadas as amostras sólidas (gelatina em pó, colágeno em pó, gordura, pêlo e sólidos totais de banhos de remolho e caleiro secos em estufa). As análises de NTK encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8: Teor de NTK nas amostras sólidas

| Amostra | % Nitrogênio |
|-----------|---------------|
| Queratina | 26,417 |
| Gelatina | 16,403 |
| Colágeno | 17,630 |
| Gordura | Não detectado |
| Remolho | Não detectado |
| Caleiro | 1,561 |

Segundo Eastoe e Courts (1963), a porcentagem de nitrogênio na amostra de gelatina é de 18,15%, sendo que o valor obtido experimentalmente foi de aproximadamente 16%. Ainda, para o colágeno, a porcentagem é de 18,68%, e a análise mostrou aproximadamente 18%. Era esperado que no remolho fosse detectado algum teor de nitrogênio, porém a análise não verificou sua presença, podendo suas proteínas solubilizadas terem sido arrastadas com a vaporização do banho na estufa. Sabe-se que a quantidade de proteínas solúveis no banho de remolho é menor que no caleiro, e como o valor de caleiro foi inferior ao esperado, o remolho nem chegou a ser detectado. Para a gordura, esperava-se que não houvesse teor de nitrogênio.

5. CONCLUSÕES

Os substratos escolhidos se mostraram adequados para as análises realizadas, pois representam os principais constituintes da pele: proteínas e gorduras. Os banhos analisados de remolho e caleiro representaram o processo que ocorre em curtumes. A concentração dos substratos de 0,4 mg/mL poderia ter sido melhor adequada, sendo de maior concentração, a fim de garantir uma amostra representativa nas alíquotas para os testes.

A análise de Carbono Orgânico Total foi eficiente, detectando nas soluções de queratina e gordura os teores de carbono mais elevados, ao passo que nas soluções de colágeno e gelatina os valores se mostraram próximos. Ainda, o valor de TOC do efluente de caleiro analisado foi alto devido à remoção mais eficiente de queratina. Observa-se que o caleiro tem justamente o objetivo de remover e degradar a queratina dos pêlos e da epiderme, além de remoções menores de proteínas não fibrosas e outras. No remolho, como a liberação de queratina não é o objetivo principal, o valor de TOC foi menor.

O procedimento para análise de Nitrogênio Kjeldahl mostrou-se adequado para as soluções de gelatina, queratina e caleiro. Para a gordura não houve indicação de teor de nitrogênio, o que está de acordo com a sua composição, apenas carbono e hidrogênio. Para o caleiro, o teor foi elevado, pois é nessa etapa que ocorre remoção de pêlos e epiderme, compostos de nitrogênio.

O método de Lowry para proteína solúvel detectou valores similares para colágeno e gelatina, em que era esperada uma semelhança, visto que a gelatina é composta das moléculas solúveis do colágeno. No entanto, foi detectada proteína na amostra de gordura, molécula composta de carbono e hidrogênio. Pode-se dizer que a análise da gordura apresentou uma inconsistência no método de Lowry no fato de indicar proteína neste teste. A proteína, sendo constituída de nitrogênio deveria ter sido detectada no método de Kjeldahl se a gordura a contivesse, mas o método não a indicou.

No geral, os métodos mostraram-se eficientes nas detecções dos parâmetros desejados, conseguindo-se uma análise satisfatória dos constituintes dos banhos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT. *Teor de substâncias extraíveis com diclorometano*. NBR 11030: 3 p.1997.
- AQUIM, P. M., GUTTERRES, M., TRIERWEILER, J. *Assessment of Water Management in Tanneries*. JSLTC, v. 94, n. 6, p. 253-258, 2010.
- AQUIM, P., M. *Balanço de massa: uma ferramenta para otimizar os processos de ribeira e curtimento*. Porto Alegre, 2004. 196 p. Dissertação de mestrado – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, UFRGS.
- AQUIM, P., M. *A demanda de água e o impacto ambiental em curtumes*. In: Oktoberfórum PPGEQ, UFRGS, Porto Alegre, 2005.
- ASTM. *Standard test method for nitrogen content (Kjeldahl) and hide substance content of leather*. D2868: 3 p. 2007.
- BAUR., L., GUTTERRES, M., BORDIGNON, S. R. *Estudo e Identificação de nitrogênio de efluentes de curtume*. UFRGS COBEQ, 2008.
- CICB, disponível em <www.brazilianleather.com.br>; acessado em junho 2011
- EASTOE, J. S., COURTS, A. *Practical analytical methods for connective tissue proteins*. London 1963 Analytical measurements on total protein, p. 41.
- FAO. *World statistical compendium for raw hides and skins, leather and leather footwear 1990–2009*. Rome (Italy): Food and Agriculture Organization of the United Nations: 215 p., 2010.
- FONT, C. P. *Aguares residuales de teneria*. In: Adzet et al. *Química – Técnica de Teneria*, Barcelona, 1985.
- FEPAM Fundação Estadual de Proteção Ambiental. *Diagnóstico da Poluição Hídrica Industrial na Região Hidrográfica do Guaíba*, Porto Alegre, 2001.
- GUTTERRES, M. *Apostilas de Tecnologia do Couro*. Porto Alegre: UFRGS - Departamento de Engenharia Química 2010.
- GUTTERRES, M. *Estrutura do colagênio da pele* UFRGS LACOURO Revista do Couro v. XXIX n. 170 p. 76-80, 2004 em *A ciência rumo à tecnologia do couro*, 2008.
- GUTTERRES, M., AQUIM, P. M., PASSOS, J. B., TRIERWEILER, J. O. *Water reuse in tannery beamhouse process*. Elsevier Ltd, Journal of Cleaner Production, v.18, 2010.

- GUTTERRES, M., BORDIGNON, S. R., BAUR, L. *Contamination of Used Soak/Unhairing Baths by Nitrogen in Comparison with Carbon and Soluble Protein Contents* JSLTC, v. 95, n.1,p. 35-38, jan/fev. 2011.
- GUTTERRES, M., PASSOS, J. B., AQUIM, P., M., SEVERO, L. S., TRIERWEILER. J. O. *Reduction of water demand and treatment cost in tanneries through reuse technique.* Journal of the American Leather Chemists Association, v. 103, n. 4, p. 138-143, 2008.
- HEIDEMANN, E. In: (Ed.). *Fundamentals of leather manufacture.* Darmstadt: Eduard Roether KG, 1993. Skins and hides in the leather industry, structure and composition, p. 23-74.
- HERFELD, H. *Bibliothek des Leders.* Umschau Verlag, Frankfurt am Main, p. 149-179. 1990.
- KARTHIKEYAN, R., CHANDRA BABU, N. K., MANDAL, A. B., SEHGAL, P. K. *Keratin-silica Matrix – A new protein filler from chicken feathers for retaining.* India, JALCA, v. 106, p. 59-67, 2011.
- LACERDA, L. D. e SILVA, R. C. *O nitrogênio e a qualidade do couro.* Revista do couro, Jun/Jul 1996.
- LEHMANN, D. GUTTERRES, M., CUETO, M. G. *Estudo preliminar para quantificar prejuízos por conservação deficiente da matéria-prima pele.* Laboratório de Curtentes e Tanantes UFRGS Revista do Couro Mar/Abr 1995.
- LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR, R. J. RANDALL. *Protein measurement with the folin phenol reagent.* J. Biol Chem, v.193, p.10. 1951.
- MADHAN, B., RAO, J. R., NAIR, B. *Studies of the removal of inter-fibrillary materials part I: removal of protein, proteoglycan, glycosoaminoglycans from conventional beamhouse process.* India 2010 JALCA, v. 105, p. 145-149.
- MAGIN, T. M., P. VIJAYARAJ, LEUBE. R. E. *Structural and regulatory functions of keratins.* Experimental Cell Research, v.313, n.10, p.2021-2032. 2007.
- MARSHALL, R. C., D. F. G. ORWIN, J. M. GILLESPIE. *Structure and biochemistry of mammalian hard keratin.* Electron Microscopy Reviews, v.4, n.1, p.47-83. 1991.
- MONTAGNA, W. *The structure and function of the skin.* New York: Academic. 2ª ed. 1962. 454 p.
- PONTES, P. P., CHERNICHARO, C. A. L., PORTO, M. T. R. *Estudo comparativo de metodologias para determinação de proteínas em esgotos brutos e tratados.* Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental Cancún, México 2002.

RAGHAVA, R. J., CHANDRABABU, N. K., MURALIDHARAN, C., NAIR, B. U., RAO, P. G., RAMASAMI, T. *Recouping the wastewater: a way forward for cleaner leather processing*. J. Cleaner Prod., 11, p.591- 599, 2003

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

RAO, J. R., E. AL. *Recouping the wastewater: a way forward for cleaner leather processing*. Journal of Cleaner Production, n.11,, p. 9, 2003.

REICH, G. In: (Ed.). *From collagen to leather - the theoretical background*. Ludwingshafen, 2007. What is leather? The structure and reactivity of collagen, p.1-30.

ROBERT, L. *Elastin, past, present and future*. Pathologie Biologie, v.50, n.8, p. 503-511, 2002.

ABQTIC (Associação Brasileira dos Químicos e Técnicos da Indústria do Couro). *Guia Brasileiro do Couro*. 2011.

SATO, K. *Análisis de eflorescências generadas en la superficie del cuero* Centro de testeo del cuero, Osaka. 2008 Tecnología Del Cuero v. 22, n. 73, jun/2010, p. 14-20.

SOUZA, F. R., ALENCAR, M. I. F., SILVA, E. M., GUTTERRES, M. *Aplicação de enzimas no processamento de couros: Comparação entre processos químicos e coenzimáticos*. UFRGS, COBEQ 2010.

SOUZA, F. R. *Aplicação de enzimas no processamento de couros: Comparação entre processos químicos e coenzimáticos*. Porto Alegre, 2010. 161p. Dissertação de mestrado – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, UFRGS.

TANABE, T., OKITSU, N., TACHIBANA, A., YAMAUCHI, K. *Preparation and characterization of keratin–chitosan composite film*. Department of Bioapplied Chemistry, Graduate School of Engineering, Osaka, Japan 2001.

VOET, D., J. VOET, G., C. PRATT, W. In: (Ed.). *Fundamentos de bioquímica*. Porto Alegre, Artmed, 3ª Ed., 2006. Aminoácidos, p.65-78.

VOET, D., J. VOET, G., C. PRATT, W. In: (Ed.). *Fundamentos de bioquímica*. Porto Alegre, Artmed, 3ª Ed., 2006. Proteínas, p.219-272.

VOET, D., J. VOET, G., C. PRATT, W. In: (Ed.). *Fundamentos de bioquímica*. Porto Alegre, Artmed, 3ª Ed., 2006. Lipídeos, p.382-455.

WIKIPÉDIA, disponível em <www.wikipedia.com.br>; acessado em junho 2011