



CENTRO PAULA SOUZA

GOVERNO DO ESTADO DE
SÃO PAULO

Etec Conselheiro Antonio Prado - ETECAP

Curso Técnico em Meio Ambiente

MARCELA TRINDADE MENDES

MARIANA QUINTANILHA RIBEIRO

Remoção de Fe³⁺ da água com a enzima da abobrinha

Campinas

2013

MARCELA TRINDADE MENDES
MARIANA QUINTANILHA RIBEIRO

Remoção de Fe³⁺ da água com a enzima da abobrinha

**Relatório do projeto apresentado
como exigência para a 7ª Feira
Tecnológica do Centro Paula
Souza – FETEPS 2013, sob a
Orientação da Professora Erica
Gayego Bello Figueiredo
Bortolotti.**

Campinas

2013

AGRADECIMENTOS

Para a realização deste projeto, contamos com a ajuda de duas pessoas que foram fundamentais para a criação e execução:

Em primeiro lugar, gostaríamos de agradecer a nossa professora orientadora, Erica Gayego Bello Figueiredo Bortolotti, que esteve presente em todos os momentos do trabalho, nos incentivando e propondo soluções para os problemas.

Agradecemos também à professora Renata Mendes Valente (PUC-CAMPINAS), que nos ajudou com ideias, na obtenção de materiais e nos ensinou a técnica para extração da enzima peroxidase.

Agradecemos à Escola Técnica Estadual Conselheiro Antônio Prado, por fornecer os materiais e infraestrutura.

“Se a própria natureza faz da água um recurso renovável, quando esta é reciclada através de sistemas naturais por diversas vezes, por que o homem, que se beneficia deste recurso, não pode se dedicar ao melhor aproveitamento seja através da economia, limpeza ou do reuso planejado?.”

R. Bernardis

RESUMO

O ferro ocorre em águas subterrâneas, sendo proveniente da dissolução de compostos ferrosos do solo. Já nas águas superficiais, o nível de ferro aumenta nas estações chuvosas devido ao carreamento de solos e a ocorrência de processos de erosão das margens. Além das formas naturais, o ferro presente em águas pode também ser proveniente da presença de despejos industriais. A presença de ferro se torna notável quando a água entra em contato com uma grande quantidade de O_2 , que oxida o ferro de Fe^{2+} a Fe^{3+} . A resolução vigente que estabelece os limites de concentração do ferro na água, Resolução CONAMA nº 357, de 17 de Março de 2005, define padrões mais rigorosos para a classe de água para abastecimento humano (classe 1). É estabelecido que, para esta classe, a concentração de ferro seja no máximo 0,3 mg/L, isto principalmente em função de problemas estéticos (cor amarelada e sabor ruim). O tratamento de água convencional tem um custo mais elevado. O presente trabalho mostra uma opção de solução para o tratamento de água com Fe^{3+} , de uma maneira orgânica e de baixo custo, com a utilização da enzima peroxidase extraída do nabo e da abobrinha. Os resultados obtidos nos testes feitos mostram que a enzima atua na precipitação do complexo do metal em meio ácido, possibilitando uma separação por decantação. O precipitado não se transforma em resíduo, já que poderá ser aplicado no solo como forma de adubo, pois contém o ferro, que é uma substância essencial para um solo fértil, e as enzimas, que irão se decompor com o tempo, contribuindo com a quantidade de nutrientes. Foram preparadas amostras de concentração conhecida de Fe^{3+} e essas foram submetidas à análise quantitativa por Espectrofotometria UV-Visível, para analisar a eficiência da enzima na remoção do metal.

Palavras- Chave: abobrinha; enzima; Fe^{3+} ; peroxidase; tratamento de água.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	08
2. PESQUISA BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1 Reuso da água no processo de tingimento.....	10
2.2 Descoloração de corantes industriais e efluentes têxteis simulados por peroxidase de nabo.....	10
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	11
3.1 Água.....	11
3.1.1 Tratamento de água.....	11
3.1.2 Água subterrânea	12
3.1.3 Ciclo da água.....	12
3.1.4 Disposição de água doce.....	13
3.1.5 Contaminantes da água.....	13
3.1.6 CONAMA 357 de 17 de março de 2005.....	14
3.2 Enzima peroxidase.....	16
3.3 Nabo	18
3.4 Abobrinha.....	19
3.5 Ferro	20
3.5.1 Efeitos do excesso de ferro no corpo.....	21
3.5.2 Importância do ferro no solo.....	22
3.6 Tiocianato de Potássio.....	22
3.7 Química de complexação.....	25
3.7.1 Reação de complexação do Fe ³⁺ com tiocianato de amônio (NH ₄ SCN)...	26
4. RELEVÂNCIA DO TRABALHO	26
5. HIPÓTESE	27
6. OBJETIVOS	28
6.1 Objetivos gerais	28
6.2 Objetivos específicos	28
7. MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
7.1 Extração de enzimas do nabo ou abobrinha.....	28
7.1.1 Materiais	28

7.1.2 Métodos	29
7.2 Simulação de efluentes	29
7.2.1 Materiais	29
7.2.2 Métodos	29
7.3 Quantificação de Fe^{3+}	30
7.4 Tratamento da Curva – Regressão Linear	31
7.4.1 Coeficiente Angular (a) e linear (b) da reta ($y = ax + b$)	31
8. CUSTOS	32
9. CRONOGRAMA.....	33
10. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
11. CONCLUSÃO.....	44
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

1. INTRODUÇÃO

O ferro ocorre em águas naturais, geralmente em conjunto com manganês. Ele é proveniente da dissolução de compostos ferrosos de solos arenosos, terrenos de aluvião ou pântanos. Nestes solos a matéria orgânica se decompõe, consumindo oxigênio e produzindo gás carbônico, o que solubiliza compostos de ferro e de manganês. Por isso, ele é encontrado dissolvido principalmente em águas subterrâneas, devido à dissolução dos minérios de ferro pelo gás carbônico da água. Já nas águas superficiais, o nível de ferro aumenta nas estações chuvosas devido ao carreamento de solos e a ocorrência de processos de erosão das margens (1).

A presença de ferro nas águas se torna notável quando a água entra em contato com uma grande quantidade de O_2 , que oxida o ferro de Fe^{2+} a Fe^{3+} . Além das formas naturais, o ferro presente em águas pode também ser proveniente da presença de despejos industriais em águas.

A resolução vigente que estabelece os limites de concentração do ferro na água, Resolução CONAMA nº 357, de 17 de Março de 2005, define padrões mais rigorosos para a classe de água para abastecimento humano (classe 1). Apesar de o organismo humano necessitar de até 19 mg de ferro por dia, é estabelecido que para esta classe a concentração de ferro seja no máximo 0,3 mg/L. Isto principalmente em função de problemas estéticos relacionados à presença do ferro na água (cor amarelada, devido a presença de Fe^{3+}) e ao sabor ruim que o ferro lhe confere, além dos prováveis malefícios que pode causar à saúde. Para Águas Doces Classe 4, que são destinadas a navegação e a harmonia paisagística, estes limites são menos rigorosos: até 5 mg/L (2).

O excesso de ferro no corpo humano pode causar danos graves à saúde como câncer, artrite, cirrose hepática, hemocromatose, doenças cardíacas e diabetes. Quando esse excesso ocorre após os quarenta anos podem ocorrer lesões hepáticas e deficiência de testosterona. (3). A ETEC utiliza água subterrânea para consumo e o sabor de ferro é característico. O projeto se mostra relevante.

A enzima peroxidase tem ampla distribuição no reino vegetal, estando relacionada à permeabilidade das membranas, formação da parede celular, regulação do nível ácido indolacético (importante hormônio de crescimento dos

vegetais), do etileno e da dormência das sementes (4).

A função preliminar da enzima peroxidase é de catalisar (acelerar) reações de oxidação. Para diminuir custos, pesquisadores começaram a utilizar enzimas para a descoloração do efluente da indústria têxtil. Verificou-se, então, uma boa eficiência na remoção da cor de importantes corantes industriais (a base de compostos aromáticos) em fase aquosa por um menor gasto em relação aos agentes químicos utilizados convencionalmente (5).

A abobrinha é um fruto oriundo das Américas, que no Brasil é cultivada em todas as épocas do ano. Os tipos de abobrinha mais comumente encontrados no Brasil são a abobrinha tipo menina, cujo nome científico é *Cucurbita moschatae* a abobrinha italiana, cujo nome científico é *Cucurbita pepo* (6). Estudos têm revelado na abobrinha *Cucurbita pepo* uma fonte muito rica de peroxidase, comparados a outros vegetais como pêssego, mandioca e alcachofra (7).

A principal hipótese desse projeto é que a enzima peroxidase (extraída da abobrinha), possa ter reação com o Fe^{3+} quando complexado com o tiocianato de potássio em meio ácido. Assim, acredita-se ser possível tratar esse tipo de efluente.

Os objetivos do projeto são: desenvolver um método para remoção do Fe^{3+} utilizando a enzima peroxidase; extrair a enzima peroxidase da abobrinha; testar a atividade da enzima em metilorange; preparar amostras com concentrações conhecidas de Fe^{3+} ; determinar quantitativamente o Fe^{3+} nas amostras com e sem a enzima, por Espectrofotometria UV-Visível; testar a atividade da enzima em amostras de água da escola.

Os resultados obtidos foram positivos, pois houve remoção do Fe^{3+} com a atuação da enzima. O precipitado formado na reação pode ser disposto no solo, após a correção do pH, onde irá se tornar nutriente essencial para as plantas e a peroxidase irá se decompor, se transformando em nutriente orgânico.

2. PESQUISA BIBLIOGRÁFICA

2.1 Reuso da água no processo de tingimento (8)

O aluno de pós-graduação em engenharia química, pela Universidade Federal de Santa Catarina, estudou sobre o reuso de água no processo de tingimento na indústria têxtil. Seu trabalho demonstrou a viabilidade de reuso direto das correntes líquidas de efluentes têxteis. Foram realizados tingimentos com padrões de diferentes cores e, assim, pode-se delimitar tolerâncias para o reuso correto do efluente e alternativas para o reuso indireto do mesmo.

2.2 Descoloração de corantes industriais e efluentes têxteis simulados por peroxidase de nabo (*Brassica campestris*) (5)

Para diminuir custos, pesquisadores começaram a utilizar enzimas para a descoloração do efluente da indústria têxtil. Foi feita uma avaliação do potencial de descoloração dos corantes pela enzima extraída do nabo, a peroxidase (PEN). Verificou-se, então, uma boa eficiência na remoção da cor de importantes corantes industriais em fase aquosa por um menor gasto em relação aos agentes químicos utilizados convencionalmente.

“Cada vez mais é reconhecido o uso das enzimas em processos de remediação para tratamento de poluentes específicos. Estas podem atuar em compostos recalcitrantes, para removê-los por precipitação ou transformação em outros produtos inócuos. (...) As peroxidases podem ser classificadas em três superfamílias: planta peroxidase, animal peroxidase e catalase peroxidase. A classe 1, que inclui as peroxidases intracelulares, a classe 2, que consiste em peroxidases fúngicas extracelulares e a classe 3, que compreende as classes vegetais, sendo a isoenzima C da *horseradish peroxidase* o exemplo mais estudado.”

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Água

3.1.1 Tratamento de água (9)

Tratamento de Água é um conjunto de procedimentos físicos e químicos que são aplicados na água para que esta fique em condições adequadas para o consumo, ou seja, para que a água se torne potável. O processo de tratamento de água a livra de qualquer tipo de contaminação, evitando a transmissão de doenças.

Numa estação de tratamento de água, o processo ocorre em etapas:

- Coagulação: quando a água na sua forma natural (bruta) entra na ETA, ela recebe, nos tanques, uma determinada quantidade de sulfato de alumínio. Esta substância serve para aglomerar (juntar) partículas sólidas que se encontram na água como, por exemplo, a argila.
- Floculação - em tanques de concreto com a água em movimento, as partículas sólidas se aglutinam em flocos maiores.
- Decantação - em outros tanques, por ação da gravidade, os flocos com as impurezas e partículas ficam depositadas no fundo dos tanques, separando-se da água.
- Filtração - a água passa por filtros formados por carvão, areia e pedras de diversos tamanhos. Nesta etapa, as impurezas de tamanho pequeno ficam retidas no filtro.
- Desinfecção - é aplicado na água cloro ou ozônio para eliminar microorganismos causadores de doenças.
- Fluoração - é aplicado flúor na água para prevenir a formação de cárie dentária em crianças.
- Correção de PH - é aplicada na água certa quantidade de cal hidratada ou carbonato de sódio. Esse procedimento serve para corrigir o PH da água e preservar a rede de encanamentos de distribuição.

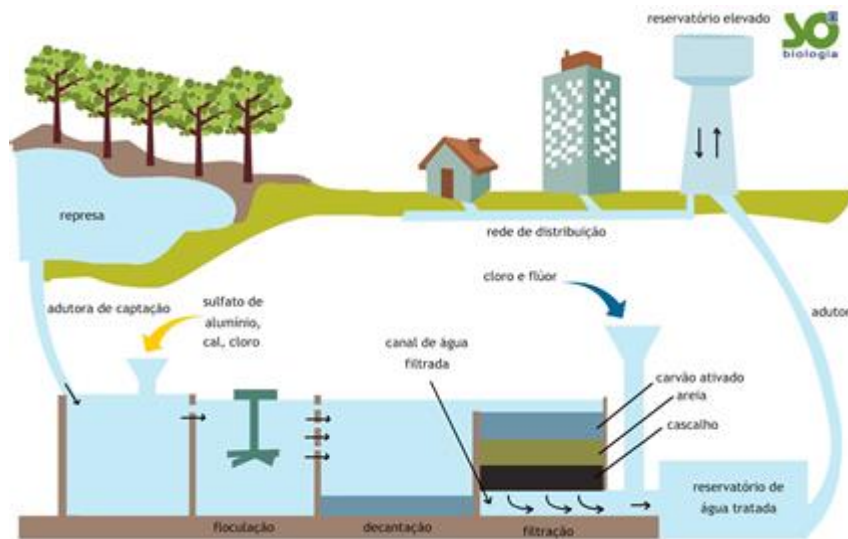


Figura 1: Fluxograma da estação de tratamento de água (10).

3.1.2 Água subterrânea (1, 11,12)

Considera-se água subterrânea toda a água que ocorre abaixo da superfície terrestre. Dependendo da porosidade do solo, inclinação do terreno, da quantidade e do tipo de cobertura vegetal a água das chuvas infiltram no solo, uma parcela permanece próxima à superfície, a outra parte, movida pela ação da gravidade desce até a zona saturada. Nesta região os poros, rachaduras e cavidades entre uma rocha e outra são completamente preenchidos por água, chegando ao limite quando já se tem tanta água que não é mais possível que haja a infiltração, fazendo uma parcela de essa água aflorar na superfície.

A água subterrânea geralmente é muito pura, já que passa por poros de diversas rochas, deixando para trás microrganismos e sólidos em suspensão. Porém se o local de recarga desse aquífero estiver contaminado toda a água ali presente será afetada, o mesmo acontece em locais onde as rochas.

3.1.3 Ciclo da água (13)

O ciclo d'água ou ciclo hidrológico envolve constante mudança do estado físico da água, para isso é necessária a energia térmica do sol.

A água em estado líquido encontrado nos mares, rios, lagos, terra, plantas e animais, evapora e sobe às camadas mais altas da superfície, gerando as nuvens, quando há uma alta concentração de nuvens o vapor retorna ao estado líquido e ocorre a precipitação, conhecida como chuvas. Assim, a água retorna a superfície da Terra e o ciclo recomeça.

Há locais de frio onde a água pode ser encontrada em estado sólido, mas em determinadas épocas do ano ocorre o degelo e a água formada escorre para rios e mares, onde evaporará.

3.1.4 Disposição de água doce (14, 15,16,17)

A água é a substância mais comum na Terra, porém 97% estão nos mares, sendo assim imprópria para o uso agrícola, industrial e para o consumo humano. Outros 2% estão nas calotas polares, em forma de gelo ou neve, com isso, apenas 1% de água doce, aquela disponível nos rios, lagos e lençóis freáticos.

O Brasil é a maior reserva hídrica do mundo, com 13,7% da água doce do mundo, nessa porcentagem, quase dois terços estão em áreas pouco habitadas como Amazônia.

3.1.5 Contaminantes da água (18)

Todos os rios, mares, lagos e lençóis freáticos possuem microorganismos e metais, porém esta só é considerada poluída ou contaminada quando os valores excedem o natural ou quando outros produtos são adicionados, como reagentes químicos, assim, suas características são alteradas prejudicando tudo que dela depende, como animais, plantas e solo.

Os principais poluentes da água são: resíduos sólidos, produtos químicos, materiais orgânicos e a mudança de temperatura da água.

3.1.6 CONAMA 357 de 17 de março de 2005¹ (2)

O CONAMA é um ato normativo que dispõe sobre a classificação dos corpos d'água e institui parâmetros de lançamento de efluentes nestes. Esses parâmetros devem ser seguidos por todos os estados e mesmo que possuam outras normas e diretrizes, estas não devem estar em desacordo com a resolução determinada pelo CONAMA.

Esse ato normativo classifica as águas doces, salinas e salobras em classes, e quanto é permitido de despejo de cada substância.

*Águas doces: águas com salinidade igual ou inferior a 0,5 ‰;

Art. 4o As águas doces são classificadas em:

I - classe especial: águas destinadas:

a) ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção; b) à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; c) à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral.

II - classe 1: águas que podem ser destinadas:

a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado; b) à proteção das comunidades aquáticas; c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA no 274, de 2000; d) à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película; e) à proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas.

III - classe 2: águas que podem ser destinadas:

¹ No dia 16/05/2011 foi publicada no Diário Oficial da União a Resolução CONAMA n. 430/2011, que altera e complementa a Resolução CONAMA n. 357/2005, legislação federal básica sobre poluição das águas. Criou dois padrões de emissão distintos, um para efluentes em geral (Capítulo II, Seção II) e outro para esgotos sanitários (Capítulo II, Seção III). No parágrafo 1º do Artigo 21, que estabelece os padrões de emissão para esgotos sanitários, consta: "... não sendo exigível o padrão de nitrogênio amoniacal total" (19).

a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional; b) à proteção das comunidades aquáticas; c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA no 274, de 2000; d) à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; e) à aquicultura e à atividade de pesca.

IV - classe 3: águas que podem ser destinadas:

a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado; b) à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; c) à pesca amadora; d) à recreação de contato secundário; e) à dessedentação de animais.

V - classe 4: águas que podem ser destinadas:

a) à navegação; b) à harmonia paisagística.

* Águas salobras: águas com salinidade superior a 0,5 ‰ e inferior a 30 ‰;

Art. 6º As águas salobras são assim classificadas:

I - classe especial: águas destinadas:

a) à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral; b) à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas.

II - classe 1: águas que podem ser destinadas:

a) à recreação de contato primário, conforme Resolução CONAMA no 274, de 2000; b) à proteção das comunidades aquáticas; c) à aquicultura e à atividade de pesca; d) ao abastecimento para consumo humano após tratamento convencional ou avançado; e) à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película, e à irrigação de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto.

III - classe 2: águas que podem ser destinadas:

a) à pesca amadora; b) à recreação de contato secundário.

IV - classe 3: águas que podem ser destinadas:

a) à navegação; b) à harmonia paisagística.

* Águas salinas: águas com salinidade igual ou superior a 30 ‰;

Art. 5o As águas salinas são assim classificadas:

I - classe especial: águas destinadas:

a) à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral; b) à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas.

II - classe 1: águas que podem ser destinadas:

a) à recreação de contato primário, conforme Resolução CONAMA no 274, de 2000;
b) à proteção das comunidades aquáticas; c) à aquicultura e à atividade de pesca.

III - classe 2: águas que podem ser destinadas:

a) à pesca amadora; b) à recreação de contato secundário.

IV - classe 3: águas que podem ser destinadas:

a) à navegação; b) à harmonia paisagística.

A Resolução CONAMA 357 deve ser observada sempre que uma indústria lança efluentes em corpos de água. Nela, é mostrado os padrões do parâmetro inorgânico de ferro dissolvido, em que o valor máximo permitido é de 0,3 mg/L.

3.2 Enzima Peroxidase (4, 5)

A vida depende da realização de inúmeras reações químicas que ocorrem no interior das células e também fora delas (em cavidades de órgãos, por exemplo). Por

outro lado, todas essas reações dependem, para a sua realização, da existência de uma determinada enzima. As enzimas são substâncias do grupo das proteínas e atuam como catalisadores de reações químicas.

Catalisador é uma substância que acelera a velocidade de ocorrência de certa reação química.

Muitas enzimas possuem, além da porção proteica propriamente dita, constituída por uma sequência de aminoácidos, uma porção não proteica.

Para que ocorra uma reação química entre duas substâncias orgânicas que estão na mesma solução é preciso fornecer certa quantidade de energia, geralmente, na forma de calor, que favoreça o encontro e a colisão entre elas. A energia também é necessária para romper ligações químicas existentes entre os átomos de cada substância, favorecendo, assim a ocorrência de outras ligações químicas e a síntese de uma nova substância a partir das duas iniciais. A enzima provoca uma diminuição da energia de ativação necessária para que uma reação química aconteça e isso facilita a ocorrência da reação.

A enzima peroxidase tem ampla distribuição no reino vegetal, estando relacionada à permeabilidade das membranas, formação da parede celular, regulação do nível ácido indolacético (importante hormônio de crescimento dos vegetais), do etileno e da dormência das sementes. A dormência de sementes é um processo caracterizado pelo atraso da germinação, quando as sementes mesmo em condições favoráveis (umidade, temperatura, luz e oxigênio) não germinam.

A função preliminar, biológica de enzimas do peroxidase é de catalisar reações de oxidação de uma variedade de doadores de hidrogênio à custa do peróxido ou do oxigênio molecular. Por causa da natureza oxidativa da peroxidase, há diversas áreas onde poderia substituir técnicas químicas atuais da oxidação. As áreas onde a peroxidase teria um uso imediato e um impacto econômico, seriam:

- Descorar-se da polpa e do papel (substituto para o descorante do cloro);
- Tratamento de água residual;
- Remediação do solo.

A peroxidase apresenta outras aplicações, como na classificação de variedades de soja. A atividade desta enzima, que utiliza o H_2O_2 para oxidar um grande número de doadores de hidrogênio, é controlada por um gene dominante. Alta atividade resulta da presença de pelo menos um alelo dominante (EpEp ou Epep), enquanto baixa atividade significa presença do par recessivo (epep). Essa atividade varia entre as cultivares de soja e serve como técnica alternativa ou complementar de identificação. As cultivares de soja podem ser separadas em dois grupos com base na atividade, alta ou baixa, da peroxidase no tegumento, que não são afetados pela qualidade das sementes.

O estudo da enzima peroxidase também é muito importante na indústria de beneficiamento de vegetais, devido ao fato de que no alimento ela se encontra inicialmente numa posição isolada do substrato. Porém, durante o processamento do vegetal pode ocorrer a descompartimentalização desta enzima, com conseqüentemente reação de oxidação.

A reação de oxidação provoca no vegetal o surgimento uma cor marrom indesejada e de regiões escuras. A boa aparência e cor são de fundamental importância para a indústria de vegetais, pois esta atua diretamente sobre o seu custo e valor de venda.

3.3 Nabo (20)

O nabo é uma planta herbácea, do gênero Brassica. Os tubérculos de nabo são conhecidos pelo sabor característico levemente amargo, porém refrescante, apreciado na culinária de vários países.

Uma família com mais de três mil espécies, denominada Brassicaceae onde são encontradas a mostarda, o repolho e a couve. O nabo é de origem europeia e foi trazida para o Brasil durante a colonização portuguesa. É importante na alimentação dos brasileiros até hoje, encontrado principalmente nas saladas.

Os tubérculos de nabo são ricos em vitamina C, fibras e sais minerais como o potássio, sódio, cálcio e fósforo. Por conter baixas calorias (100 gramas de nabo oferece apenas 35 calorias), o nabo é muito indicado em dietas de restrições calóricas, por ser leve e ainda ajudar no processo de digestão. Além disto, o nabo

possui muitas propriedades medicinais. Ele é diurético, expectorante, purificador do sangue, emoliente, antipirético, alcalinizante e possui um leve efeito laxativo. No entanto, nos tubérculos também são encontradas quantidades mensuráveis de oxalatos, substâncias que se excessivamente concentrada nos fluidos corporais podem se cristalizar e causar sérios danos a saúde.

Os nabos se desenvolvem muito bem em solos moderadamente profundos, bem drenados e férteis, cujo pH esteja em torno de 6,5 a 7,0. Requerem boa luminosidade e são cultivados o ano todo no Brasil. Porém, a época de plantio mais recomendada é durante os meses de fevereiro a julho. A condição climática ideal para os nabos são temperaturas que estejam em torno de 14 a 22°C e conseguem suportar geadas ligeiras.

Assim como todas as plantas, os nabos estão suscetíveis aos ataques de várias pragas agrícolas como os pulgões, também chamados de piolhos-das-plantas. Estes seres diminutos se alimentam da seiva da planta causando sérios estragos e uma forma de combatê-los é pulverizando sulfato de nicotina nas plantas.



Figura 2: Nabo (21).

3.4 Abobrinha (6, 7)

A abobrinha é um fruto oriundo das Américas, que no Brasil é cultivada em todas as épocas do ano. Os tipos de abobrinha mais comumente encontrados no

Brasil são a abobrinha tipo menina, cujo nome científico é *Cucurbita moschatae* a abobrinha italiana, cujo nome científico é *Cucurbita pepo*.

É um alimento muito rico em vitamina B, vitamina A, potássio, fósforo e magnésio, além de ser um alimento de baixa caloria já que 100g possuem cerca de 20 kcal. Existe uma grande variedade de forma que esta pode ser consumida: crua, refogada, cozida, usada no preparo de outras receitas como suflês, sopas e doces.

Estudos têm revelado na abobrinha *Cucurbita pepo* uma fonte muito rica de peroxidase; comparados a outros vegetais como pêsego, mandioca e alcachofra, a abobrinha apresenta uma quantidade de peroxidase bem maior.



Figura 3: Abobrinha tipo menina (22).

3.5 Ferro (23)

O elemento de transição ferro é um metal, com coloração branca prateada em estado quimicamente puro, porém apresenta uma coloração acinzentada (em virtude da presença de sulfeto, silicato e carbureto de ferro), e propriedades magnéticas acentuadas. Está localizado na tabela periódica no grupo 8B, e possui:

- número atômico: 26
- massa atômica: 55,85 g mol⁻¹
- ponto de fusão: 1535°C
- ponto de ebulição: 3000°C

- configuração eletrônica: $1s^2, 2s^2, 2p^6, 3s^2, 3p^6, 4s^2, 3d^6$

- número de oxidação: Fe^{2+} (ferroso ou ferro II) e Fe^{3+} (férico ou ferro III).

Na natureza o ferro não está em estado livre ou elementar, porém, é comumente encontrado na forma de pirita FeS , hematita Fe_2O_3 e Fe_3O_4 , que é transportada para um forno aquecido a uma temperatura de $2000^\circ C$, sendo obtido da redução destes compostos. Apresenta três formas alotrópicas alfa, gama e delta, sendo a mais estável em temperaturas normais, o ferro alfa. O ferro é conhecido e utilizado pelo homem desde a antiguidade, a sua utilização é vasta em função de ser um metal barato e resistente, apesar da oxidação pelo oxigênio do ar, forma ligas metálicas importantes na indústria, tais como o aço-carbono que é uma mistura de ferro e carbono, misturado com níquel e cromo, origina o aço-inoxidável, está presente em inúmeras estruturas metálicas nas construções que nos cercam.

O ferro apresenta em seu estado de oxidação $^{2+}$, é facilmente oxidado a Fe^{3+} , em virtude deste comportamento é um agente redutor forte, forma complexos que por associação de íons, e são facilmente identificados por formar soluções coloridas. A reação pela qual identifica-se o ferro mais facilmente é com tiocianato de amônio ou potássio, devido à coloração vermelho intenso (cor de sangue), que reage facilmente com ácidos, diluídos ou concentrados, e com bases formando precipitados insolúveis.

3.5.1 Efeitos do excesso de ferro no corpo (3)

O excesso de ferro no corpo humano pode causar danos graves à saúde como câncer, artrite, cirrose hepática, hemocromatose, doenças cardíacas e diabetes. Quando esse excesso ocorre após os quarenta anos podem ocorrer lesões hepáticas e deficiência de testosterona.

Os sintomas do aumento de ferro no corpo são: cansaço, fraqueza, impotência, dor nas articulações, perda de peso, alteração na menstruação, atrofia testicular, inchaços, quedas de cabelo. É possível detectar isso através de um

hemograma simples que deve ser realizado por toda a população pelo menos uma vez por ano.

3.5.2 Importância do ferro no solo (24)

O ferro é um micronutriente essencial para a manutenção da vida, porém está pouco disponível na maioria dos solos. Em plantas, ele está relacionado a diversas atividades metabólicas, participando da formação de algumas enzimas (catalase, peroxidase, citocromo oxidase e xantina oxidase), além de ser indispensável nos processos de respiração, fotossíntese, fixação de N_2 e transferência de elétrons através do ciclo entre o Fe^{2+} e Fe^{3+} .

Para driblar a deficiência de ferro nos solos, as plantas desenvolveram duas estratégias para a sua absorção. A estratégia I, presente principalmente nas dicotiledôneas e nas monocotiledôneas não gramináceas, consiste na redução do Fe^{3+} em Fe^{2+} através da acidificação da rizosfera, causada pela extrusão de prótons pelas H^+ -ATPases de membrana plasmática. Esta redução do Fe^{3+} em Fe^{2+} é promovida por uma proteína específica, a Ferro Quelato Redutase (FRO). Após a redução, o Fe^{2+} é transportado por transportadores específicos de membrana (IRT) para o interior das células. Na estratégia II, os fitossideróforos (compostos que possuem alta afinidade por ferro) são secretados para a rizosfera, onde se unem ao Fe^{3+} formando um complexo quelato (Fe^{3+} -FS). Este complexo é transportado por transportadores específicos conhecidos como Yellow Stripe (YS) para dentro das células.

Porém, a homeostase deste elemento pode ser interferida por diversas condições ambientais, causando toxidez nos organismos, como nos solos ácidos, onde o baixo pH propicia um aumento da disponibilidade de Fe^{2+} (forma absorvível pelas plantas) deste elemento, já que a velocidade do processo de redução do Ferro depende do pH.

3.6 Tiocianato de Potássio (25)

- Composição e informações:

Fórmula Molecular: KSCN

Peso Molecular: 97,18

Classificação: nocivo

Concentração: mín. 99,0%

- Identificação de perigos²

Periculosidade: Substância nociva por ingestão, inalação e em contato com a pele. Em contato com ácidos libera gases muito tóxicos.

Medidas de primeiros-socorros: Em caso de contato com a pele e os olhos, lavar com água em abundância. Em caso de ingestão (grandes quantidades) procurar um médico, se possível mostrando o rótulo.

Medidas de combate a incêndio: Não aplicável. Substância não inflamável.

Medidas de controle para derramamento ou vazamento: Em caso de vazamento, isolar a área atingida e envazar o produto com o auxílio de equipamento de proteção adequado. Não permitir que escoe para veios d água.

Manuseio e Armazenamento: O manuseio e a armazenagem da substância devem se dar em condições adequadas. É necessário a utilização de luvas e óculos de proteção durante o manuseio. A utilização por tempo prolongado deve requerer a presença de máscaras contra gases possivelmente formados. Manter bem fechado.

Controle de exposição e proteção individual: Utilizar roupa impermeável. A escolha dos elementos específicos tais como luvas, botas, avental ou macacão dependerá

² Esta ficha foi elaborada segundo a normatização legal prevista na NBR 14725 JUL/2001 (25).

do tipo de operação. Utilizar óculos de segurança de ampla visão, se os vapores incomodarem os olhos, utilizar máscara facial completa.

- Propriedades físico-químicas

A substância química Tiocianato de Potássio é um produto inorgânico, ocorrendo na forma de cristais incolores. Solúvel em álcool metílico/ etílico e acetona.

Densidade: 1,89

Ponto fulgor: ND

Ponto fusão: 173°C

Ponto ebulição: ND

Índice de refração: ND

Estabilidade e reatividade: A substância é moderadamente estável em condições normais (ambientais), não requerendo maiores cuidados além dos já mencionados nas seções anteriores, com relação a sua ação.

Informações toxicológicas: Destaca-se a ação de erupções cutâneas e possibilidade de alucinações devido a ação do produto no organismo. Dose letal em ratos é 594 mg/kg.

Informações ecológicas: Os danos ao meio ambiente são compatíveis com os efeitos ao homem, comprometendo principalmente os animais (em grandes quantidades).

Considerações sobre tratamento e disposição: Procedimento ainda não definido. Segregar o produto.

Informações sobre transporte: O produto deve ser transportado com os cuidados necessários a não se danificar as embalagens, com conseqüente perda do produto, resguardando as normas e legislação vigentes para transporte da substância.

3.7 Química de complexação (26)

Reações de complexação são aquelas que formam íons complexos e se caracterizam por serem íons metálicos centrais, cercados de um grupo de moléculas ou íons circundantes que são denominados de “ligantes”.

As reações de complexação são muito utilizadas na Química Analítica. Um dos primeiros usos dessas reações se deu na titulação de cátions. Alguns complexos são pouco solúveis e podem ser empregados em análises gravimétricas ou em titulações de precipitação. Os reagentes formadores de complexos mais úteis são os compostos orgânicos que possuem vários grupos doadores de elétrons que formam múltiplas ligações covalentes com íons metálicos. Os agentes complexantes inorgânicos são utilizados também para controlar a solubilidade e para formar espécies coloridas ou precipitados.

A maioria dos íons metálicos reage com doadores de pares de elétrons para formar compostos de coordenação ou complexos. As espécies doadoras, ou ligantes, devem ter pelo menos um par de elétrons desemparelhados disponíveis para a formação da ligação. A água, amônia e os íons haletos são ligantes inorgânicos comuns.

O número de ligações covalentes que o cátion tende a formar com os doadores de elétrons é o número de coordenação. Os valores típicos para os números de coordenação são 2, 4 e 6. As espécies formadas como resultado da coordenação podem ser eletricamente positivas, neutras ou negativas.

Os métodos titulométricos baseados na formação de complexos, algumas vezes denominados métodos complexométricos, vem sendo utilizados há dois séculos. O desenvolvimento da sua aplicação analítica baseia-se em uma classe particular de compostos de coordenação chamados quelatos. Um quelato é produzido quando um íon metálico coordena-se com dois ou mais grupos doadores de um único ligante para formar um anel heterocíclico de cinco ou seis membros. Ligante é o doador de pares de elétrons, para formar complexos.

Um ligante que possui um único grupo doador de elétrons, como amônia, é chamado unidentado (dente único) ou monodentado, enquanto aquele, que possui dois grupos disponíveis para ligações covalentes, é dito bidentado. Agentes quelatos tridentados, tetradentados, pentadentados e hexadentados são também conhecidos.

Outro tipo importante de complexo é formado entre íons metálicos e

compostos orgânicos cíclicos, conhecidos como macrociclos. Essas moléculas contêm nove ou mais átomos no anel e incluem pelo menos três heteroátomos, geralmente oxigênio, nitrogênio ou enxofre.

3.7.1 Reação de complexação do Fe^{3+} com tiocianato de amônio (NH_4SCN) (26)

Para que esta reação ocorra é necessário que o meio esteja ligeiramente acidificado. Após a reação a coloração da solução é vermelho intenso.



Complexos mais comuns:

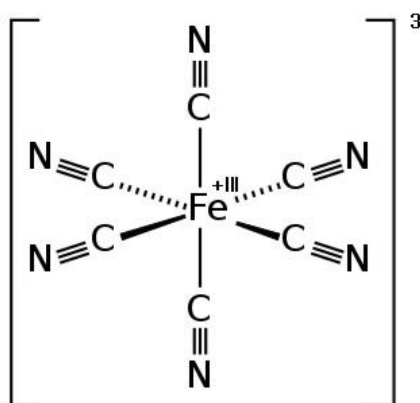
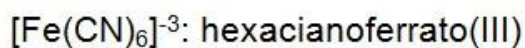
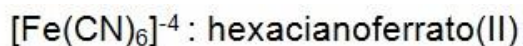


Figura 4. Complexo hexacianoferrato III (27).

4. RELEVÂNCIA DO TRABALHO

O ferro ocorre em águas naturais, geralmente em conjunto com manganês. Ele é proveniente da dissolução de compostos ferrosos de solos arenosos, terrenos de aluvião ou pântanos. Nestes solos a matéria orgânica se decompõe, consumindo oxigênio e produzindo gás carbônico, o que solubiliza compostos de ferro e de manganês. Por isso, ele é encontrado dissolvido principalmente em águas subterrâneas, devido à dissolução dos minérios de ferro pelo gás carbônico da água. Já nas águas superficiais, o nível de ferro aumenta nas estações chuvosas devido ao carreamento de solos e a ocorrência de processos de erosão das margens. (1)

A presença de ferro nas águas se torna notável quando a água entra em contato com uma grande quantidade de O_2 , que oxida o ferro de Fe^{2+} a Fe^{3+} . Além das formas naturais, o ferro presente em águas pode também ser proveniente da presença de despejos industriais em águas.

A resolução vigente que estabelece os limites de concentração do ferro na água, Resolução CONAMA nº 357, de 17 de Março de 2005, define padrões mais rigorosos para a classe de água para abastecimento humano (classe 1). Apesar de o organismo humano necessitar de até 19 mg de ferro por dia, é estabelecido que para esta classe a concentração de ferro seja no máximo 0,3 mg/L. Isto principalmente em função de problemas estéticos relacionados à presença do ferro na água (cor amarelada, devido a presença de Fe^{3+}) e ao sabor ruim que o ferro lhe confere, além dos prováveis malefícios que pode causar à saúde (doenças tais como cirrose, tumores hepáticos, diabetes mellitus e insuficiência cardíaca). Para Águas Doces Classe 4, que são destinadas a navegação e a harmonia paisagística, estes limites são menos rigorosos: até 5 mg/L (2).

A ETEC utiliza água subterrânea para consumo e o sabor de ferro é característico. O projeto se mostra relevante.

5. HIPÓTESE

A enzima peroxidase pode ser extraída do nabo e da abobrinha e acredita-se que ela terá reação com o Fe^{3+} complexado com o tiocianato de potássio em meio ácido. Assim, acredita-se ser possível tratar efluentes.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivos gerais

Desenvolver um método para remoção do Fe^{3+} utilizando a enzima peroxidase, extraída da abobrinha e/ou nabo.

6.2 Objetivos específicos

- Extrair a enzima peroxidase da abobrinha e do nabo;
- Testar a atividade da enzima em metilorange;
- Preparar amostras com concentrações conhecidas de Fe^{3+} ;
- Determinar quantitativamente o Fe^{3+} nas amostras e na água da escola com e sem a enzima, por Espectrofotometria UV-Visível.

7. MATERIAIS E MÉTODOS

7.1 Extração da enzima da abobrinha (28)

7.1.1 Materiais

Tabela 1. Materiais para a extração de enzimas da abobrinha

Material	Quantidade/descrição
Abobrinha (com casca)	25g
Liquidificador	1
Centrífuga Baby	1
Tampão fosfato 0,05mol/L	100 ml
Gaze	2
Funil de vidro	1
Faca	1
Pipeta 5ml	1

Tubo de ensaio (específico para a centrífuga)	8
Eppendorfs	40
Béquer	1

7.1.2 Métodos

Lavar a abobrinha em água corrente e picar em pequenos pedaços uniformes. Pesar 25 g do tecido vegetal e homogeneizar em um liquidificador com 100 mL de tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹, pH 6,5, por 30 s. Filtrar em um funil de vidro forrado com gaze aberta (quatro camadas) e centrifugar, durante 20 minutos. Retirar o sobrenadante com a pipeta e adicionar em eppendorfs de 0,5 ml. Congelar. Antes de utilizar, testar a eficiência da enzima com metil orange dissolvido em água para verificar se está ativa.

7.2 Simulação do efluente com Fe³⁺

7.2.1 Materiais

Tabela 2. Materiais para simulação de efluente

Materiais	Quantidade
Solução de nitrato de ferro 100 ppm	30 ml
Balão volumétrico 100 ml	2
Ácido nítrico 65%	1 ml
Tiocianato de potássio 1,5 M	5 ml
Enzima	variável

7.2.2 Métodos

Em um balão volumétrico de 100 ml, adiciona-se: 30 ml da solução de nitrato de ferro 100 ppm; 1 ml de ácido nítrico concentrado; 5ml de tiocianato de potássio

1,5 M; completa-se o volume do balão volumétrico com água destilada e agita-se para uma solução mais homogênea. Adicionar a enzima em diversas quantidades e observar se ocorre alguma reação (alteração de pH, temperatura, liberação de gás ou formação de precipitado). Tendo resultado positivo, quantificar se houve diminuição do Fe^{3+} no Espectrofotômetro UV/Visível (tipo UV-1650PC com Work Station) e utilizar o comprimento de onda a 450nm.

7.3 Quantificação do Fe^{3+} (29)

7.3.1 Materiais

Tabela 3. Materiais para quantificação

Materiais	Quantidade
Solução de nitrato de ferro 100 ppm	50 ml
Balão volumétrico 100 ml	2
Ácido nítrico 65% (concentrado)	1 ml
Tiocianato de potássio 1,5 M	5 ml
Enzima	variável
Espectrofotômetro UV-Visível	1

7.3.2 Métodos

A partir da solução estoque de 100 ppm, fazer as diluições para a curva de calibração, com concentrações de 1,2,4 e 8 ppm de ferro. Para o preparo das diluições:

<p>8 ppm</p> $C_1V_1 = C_2V_2$ $100 \cdot V_1 = 8 \cdot 100$ $V_1 = 800/100$ $V_1 = 8\text{mL}$	<p>Onde:</p> <p>C_1= Concentração Inicial (amostra de 100ppm)</p> <p>V_1= Volume inicial (será retirado da amostra de 100ppm)</p> <p>C_2= Concentração final</p> <p>V_2= Volume final (volume desejado, pode ser alterado)</p>
--	--

Para cada diluição, colocar a quantidade encontrada da amostra em balão volumétrico de 100mL, acrescentar em cada 5mL de solução de tiocianato de potássio 1,5M e 1mL de ácido nítrico concentrado e completar o volume com água deionizada. Realizar leitura em Espectrofotometro UV-Visível com comprimento de onda a 450 nm.

Para as amostras com o efluente, acrescentar em cada balão 5mL de solução de tiocianato de potássio 1,5M e 1mL de ácido nítrico concentrado, a enzima e completar o volume com água deionizada. Realizar leitura em Espectrofotometro UV-Visível com comprimento de onda a 450 nm.

7.4 Tratamento da Curva – Regressão Linear (29)

Após elaboração das soluções para a curva de calibração, fazer leitura no aparelho Espectrofotômetro UV-Visível e elaborar o gráfico da curva. Ex:

Eixo X: concentração em ppm

Eixo Y: Resposta do Aparelho

7.4.1 Coeficiente Angular (a) e linear (b) da reta ($y = ax + b$)

- 1) Na planilha do Excel, coloque concentração na coluna A e absorvância na coluna B.
- 2) Clique no assistente de gráfico do Excel (ícone de atalho na barra de ferramentas, logo ao lado do zoom).
- 3) Escolha o tipo de gráfico de dispersão (XY).
- 4) Ainda no tipo de gráfico, escolha o “ Dispersão com pontos dados conectados por linhas suaves sem marcadores” e clique em Avançar.
- 5) Na próxima tela, clique em Avançar.
- 6) Concluir.

- 7) Clique com o botão esquerdo na linha azul do gráfico.
- 8) Clique com o botão direito na linha selecionada e escolha a opção “ Adicionar linha de tendência”.
- 9) No “Tipo” escolha “Linear”.
- 10) Clique na aba “Opções”.
- 11) Marque a opção “Exibir equação no gráfico” e “Ok”.
- 12) A equação aparecerá no gráfico, sendo "y" a absorbância e "x" a concentração.

8. CUSTOS (30)

Tabela 4. Custos.

Material/ Descrição	Quantidade (unidade)	Valor unitário	Valor total
Espátula	1	R\$ 8,66	R\$ 8,66
Papel indicador de pH (caixa)	1	R\$ 35,34	R\$ 35,34
Balança semi-analítica	1	R\$ 1.289,13	R\$ 1.289,13
Pipeta graduada 5 ml	1	R\$ 7,52	R\$ 7,52
Balão volumétrico de 100ml	2	R\$ 38,80	R\$ 77,60
Conta-gotas	3	R\$ 5,00	R\$ 15,00
Bastão de vidro	2	R\$ 1,86	R\$ 3,72
Béquer	3	R\$ 12,93	R\$ 38,79
Nabo	1	R\$ 5,50	R\$ 5,50
Liquidificador	1	R\$ 58,89	R\$ 58,89
Centrífuga baby	1	R\$ 7.500,00	R\$ 7.500,00
Tampão fosfato	1 L	R\$ 35,00	R\$ 35,00
Pipeta graduada 10 ml	1	R\$ 7,52	R\$ 7,52
Abobrinha	2	R\$ 2,59	R\$ 5,18
Gaze	1	R\$ 3,59	R\$ 3,59
Funil de vidro	1	R\$ 17,49	R\$ 17,49
Faca	1	R\$ 0,99	R\$ 0,99
Tubo de ensaio (específico para a centrífuga)	16	R\$ 3,12	R\$ 50,00
Tubos de ensaio	10	R\$ 0,10	R\$ 1,00
Eppendorfs	500	R\$ 0,03	R\$ 17,00
Balança semi analitica	1	R\$ 1.320,00	R\$ 1.320,00
Bastão de vidro	3	R\$ 3,33	R\$ 10,00
Acetato de sódio	1 kg	R\$ 23,00	R\$ 23,00
NaOH 0,01 mol/L	100 ml	R\$ 35,00	R\$ 35,00
HCl 0,01 mol/L	800 g	R\$ 20,80	R\$ 20,80
Solução de nitrato de ferro 100 ppm	3kg	R\$ 27,00	R\$ 27,00
Ácido nítrico 65%	1,3 kg	R\$ 21,00	R\$ 21,00
Tiocianato de potássio 1,5 M	5 kg	R\$ 37,00	R\$ 37,00
Espectrofotômetro UV Visível	1	R\$ 6.200,00	R\$ 6.200,00

CUSTO TOTAL: R\$ 16.871,72.

CUSTO REAL: R\$ 9,57.

CUSTO DE PRODUÇÃO DA ENZIMA: R\$ 2,30.

9. CRONOGRAMA

Tabela 5. Cronograma.

Ano	2012					2013									
	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Fev	Mar	Abr	Maio	Jun	Jul	Ago	Set	Out	
Planejamento	x	x	x	x											
Apresentação para banca de aprovação					x										
Desenvolvimento do projeto						x	x	x	x	x					
Tabulação dos resultados									x	x	x	x			
Formatação final									x	x			x		
Apresentação do projeto na mostra da escola										x					
Entrega final do TCC										x					
Organização para FETEPS e revisão geral										x	x	x	x	x	

10. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A extração da enzima peroxidase foi feita com sucesso. Na Figura 5 é representada a enzima peroxidase (extraída da abobrinha), após centrifugação, no sobrenadante. Nutrientes, restos e a casca do fruto depositados ao fundo do tubo de ensaio.



Figura 5. Tubos com as enzimas após centrifugação (acervo das pesquisadoras).

A atividade da enzima foi testada em solução de metilorange, pois a peroxidase reage com esse indicador, mudando de cor de laranja para amarelo. A produção de aproximadamente 100 mL de enzima bruta tem um custo de R\$ 2,30.

Os testes da enzima com o efluente de Fe^{3+} foram realizados em diversas concentrações, como descrito a seguir:

TESTE 1 (3 DE MAIO DE 2013): Complexar o metal Fe^{3+} com KSCN em meio ácido com 4 ml de enzima

Quantidades: 10 ml solução $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 100ppm diluída em 100 ml de água destilada (solução de 10 ppm); 1 ml HNO_3 conc; 5 ml KSCN 1,5M; adição de 4 ml de enzima peroxidase bruta. Temperatura inicial: 25°C pH inicial: 1 Temperatura final: 24°C pH final: 1

Discussão: não houve alteração do pH e da coloração (continuou laranja); pouca mudança de temperatura. Sem maiores indícios de reação.

TESTE 2 (3 DE MAIO DE 2013): Complexar o metal Fe^{3+} com KSCN em meio ácido com 15ml de enzima.

Quantidades: 30 ml solução $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 100ppm diluída em 100 ml de água destilada (solução 30 ppm); 1 ml HNO_3 concentrado; 5 ml KSCN 1,5M; adição de 15 ml de enzima peroxidase bruta .Temperatura inicial: 24°C pH inicial: 1 .Temperatura final: 24°C pH final: 1

Discussão: não houve alteração do pH e da temperatura após a adição de uma quantidade maior de peroxidase. Porém, a solução (inicialmente vermelha) começou a precipitar ainda em meio aquoso ácido, havendo um clareamento da cor. Neste teste houve indicio de reação.

TESTE 3 (8 DE MAIO DE 2013): Teste comparativo utilizando o TESTE 2 para quantificação.

Em dois balões volumétricos de 100ml, foram preparadas as soluções:

1) COM ENZIMA PEROXIDASE (solução 1): 30 ml solução $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 100ppm; 1 ml HNO_3 concentrado, 5 ml KSCN 1,5M; 15ml de enzima peroxidase; completa-se o volume do balão com água destilada.

2) SEM ENZIMA PEROXIDASE (solução 2): 30 ml solução $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 100ppm; 1 ml HNO_3 concentrado; 5 ml KSCN 1,5M; completa-se o volume do balão com água destilada.

Discussão: A solução 1 apresentou-se turva, com formação de flocos que decantaram com o tempo (Figura 6). A solução 2 não apresentou precipitação ou formação de flocos (Figura 7).



Figura 6. Destaque para a solução 1 do TESTE 3 - formação de precipitado com a adição da enzima (acervo das pesquisadoras).



Figura 7. Balões volumétricos referentes ao TESTE 3: com a enzima e formação de precipitado (solução 1 à esquerda) e sem a enzima (solução 2 à direita) (acervo das pesquisadoras).

Como o teste 3 apresentou um resultado bem positivo em relação à evidência de reação com a enzima peroxidase, devido à formação de precipitado, este foi submetido à análise quantitativa pela técnica de Espectrofotometria UV-Visível, com comprimento de onda a 450 nm. As amostras foram submetidas à centrifugação e a quantificação foi realizada na parte do sobrenadante.

Primeiramente, elaborou-se a curva de calibração a partir da solução de 100 ppm (ver método), conforme a figura 8.

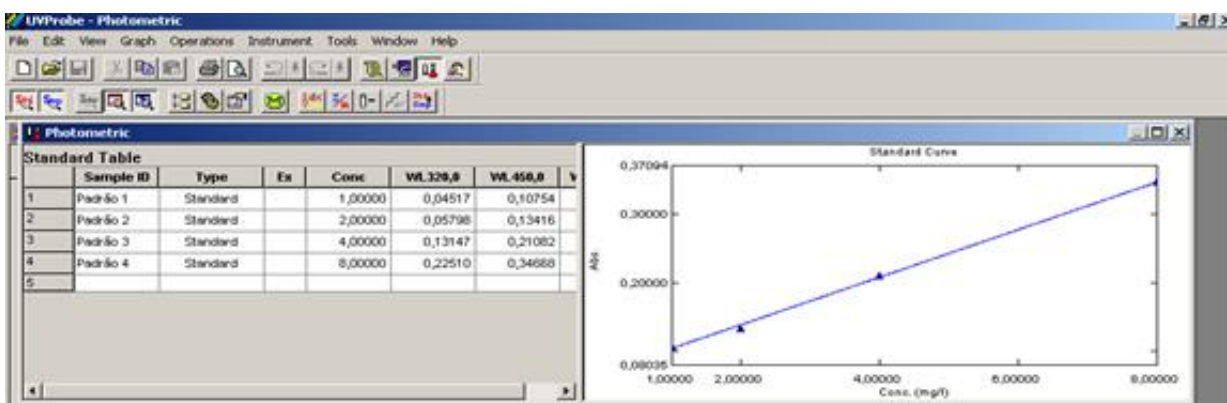


Figura 8. Curva de calibração (autoria das pesquisadoras).

A curva obtida se mostrou viável, pois o R^2 se aproximou de 1 ($R^2 = 0,9997$), de acordo com o gráfico 1.

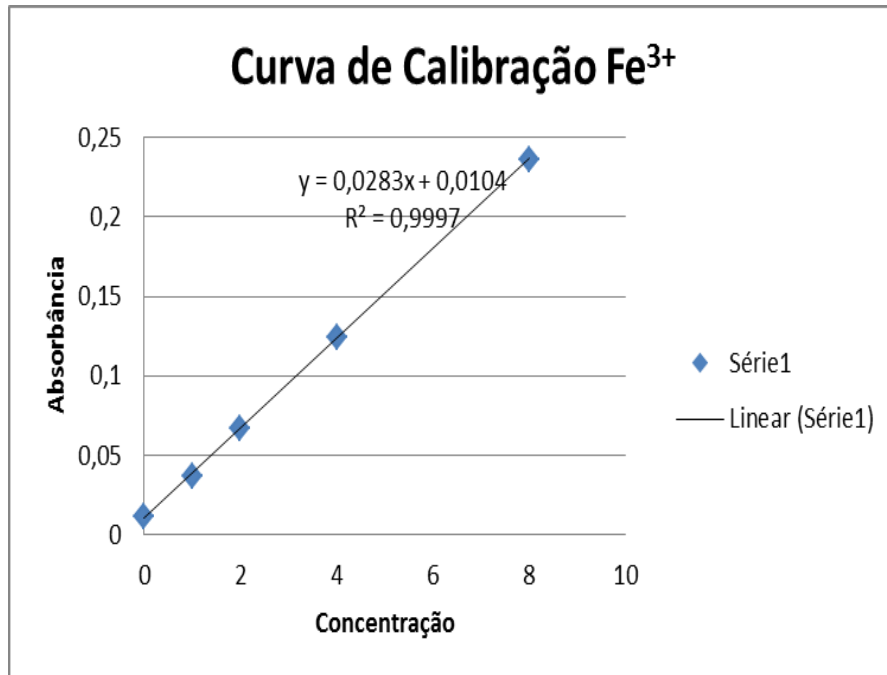


Gráfico 1. Regressão linear para a curva de calibração Fe³⁺ (autoria das pesquisadoras).

Depois amostras do TESTE 3 foram submetidas à quantificação (solução com 30 ppm de Fe³⁺ com e sem enzima). Ver Figura 9 Gráfico 2.

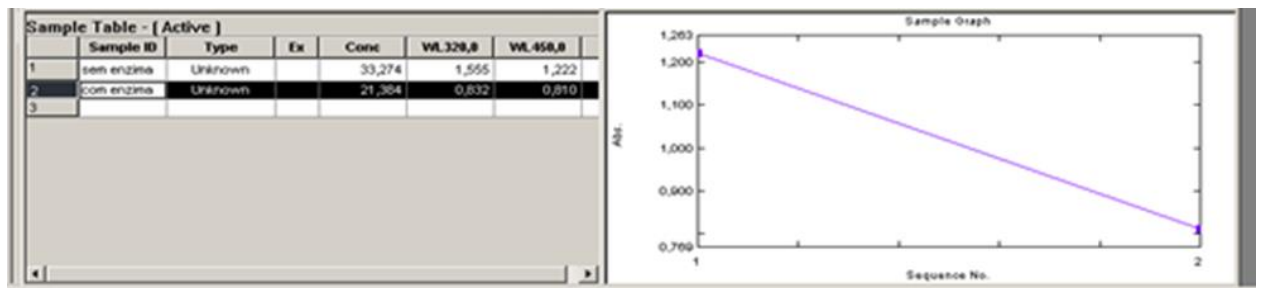


Figura 9. Imagem da quantificação do TESTE 3 sem e com a enzima (autoria das pesquisadoras).

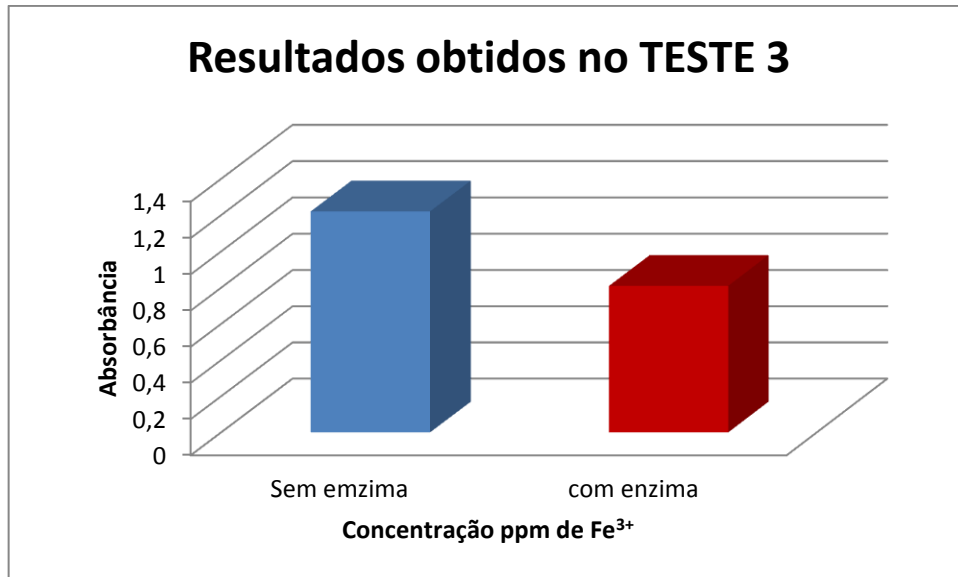
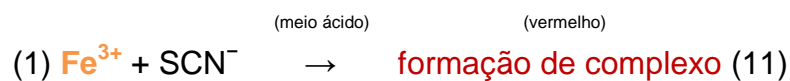


Gráfico 2. Resultados obtidos no TESTE 3. Observa-se a diminuição na concentração e absorvância da solução com a adição da enzima (autoria das pesquisadoras).

De acordo com o Gráfico 2, a leitura da amostra sem a enzima apresentou uma concentração de 33,274 ppm e com a enzima 21,384 ppm (Figura 9), ou seja redução de 11,89 ppm, mostrando que a adição da enzima removeu o Fe^{3+} , deixando a maior parte na forma de precipitado. A reação de complexação do Fe^{3+} com o tiocianato (SCN^-), já era conhecida (reação 1) e a provável reação entre o complexo e a enzima (reação 2):



TESTE 4 (5 DE AGOSTO DE 2013): Resultados e Discussão no teste de reação da enzima com variação da concentração de Fe^{3+}

Para este teste, foram feitos quatro tipos de soluções que se diferenciavam pela quantidade de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$.

SOLUÇÃO 1: 10ppm

- 10 ml solução $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$
- 1 ml HNO_3 concentrado
- 5 ml KSCN 1,5M
- 15 ml de enzima peroxidase bruta
- preencher balão volumétrico de 100 ml com água destilada

SOLUÇÃO 2: 15ppm

- 15 ml solução $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$
- 1 ml HNO_3 concentrado
- 5 ml KSCN 1,5M
- 15 ml de enzima peroxidase bruta
- preencher balão volumétrico de 100 ml com água destilada

SOLUÇÃO 3: 20ppm

- 20 ml solução $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$
- 1 ml HNO_3 concentrado
- 5 ml KSCN 1,5M
- 15 ml de enzima peroxidase bruta
- preencher balão volumétrico de 100 ml com água destilada

SOLUÇÃO 4: 25ppm

- 25 ml solução $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$
- 1 ml HNO_3 concentrado
- 5 ml KSCN 1,5M
- 15 ml de enzima peroxidase bruta
- preencher balão volumétrico de 100 ml com água destilada

SOLUÇÃO PADRÃO DE TRABALHO: 30 ppm

- 30 ml solução $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$
- 1 ml HNO_3 concentrado
- 5 ml KSCN 1,5M
- 15 ml de enzima peroxidase bruta
- preencher balão volumétrico de 100 ml com água destilada

Todas estas soluções foram submetidas à análise quantitativa pela técnica de Espectrofotometria UV-Visível. Primeiramente, foi analisada a SOLUÇÃO PADRÃO DE TRABALHO sem e com a enzima, para comparação das demais. Os resultados obtidos estão expressos na Figura 10 no Gráfico 3.

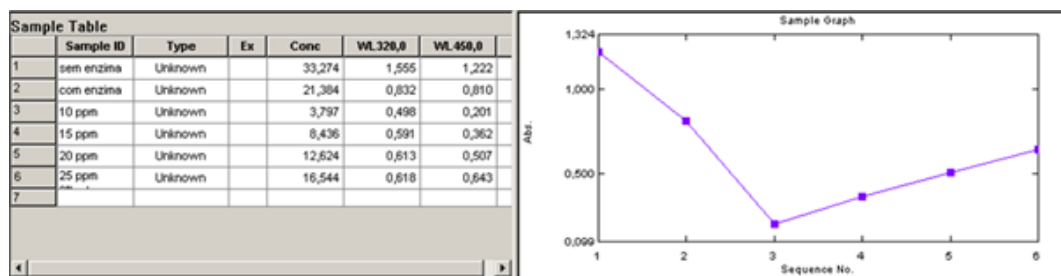


Figura 10. Leitura das amostras com variação na concentração do ferro – 10, 15, 20, 25 e 30 ppm (autoria das pesquisadoras).

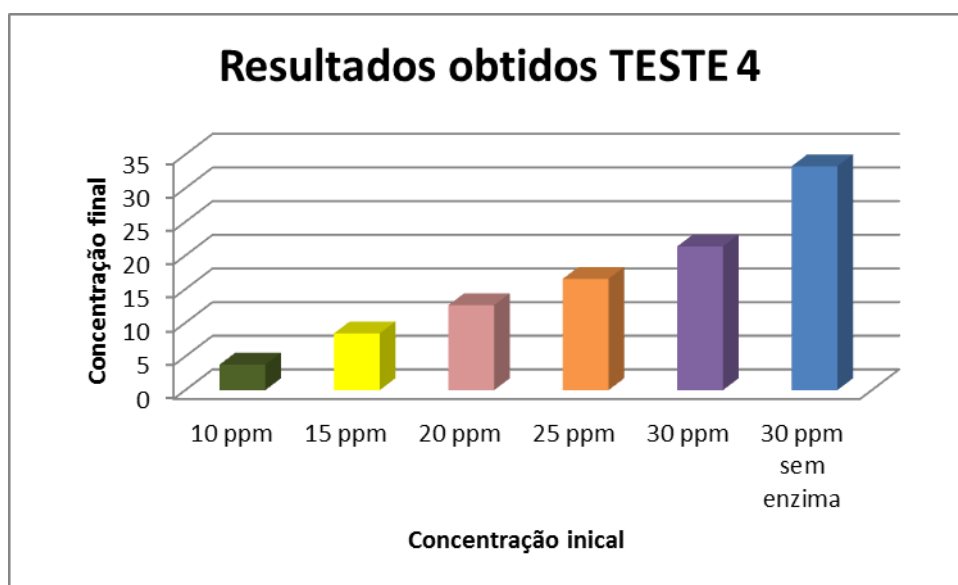


Gráfico 3. Resultados obtidos no teste 4, com variação na concentração de Fe^{3+} e 15 mL de enzima (autoria das pesquisadoras).

A partir da Figura 10 e Gráfico 3, pode-se observar que há uma padronização (uma constante) de reação e precipitação, de aproximadamente 4 ppm. Ou seja, a cada 5 ml de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, com 15 ml de enzima peroxidase, tem-se a reação e precipitação de 4 ppm de Fe^{3+} (80% do valor inicial de cada solução).

TESTE 5 (16 DE AGOSTO DE 2013): Resultados e Discussão do teste com efluente real e variação na quantidade de enzima.

O local de coleta da água para o teste foi um bebedouro da escola, portanto, o efluente é real. Para esta análise de Fe^{3+} foram feitas as seguintes soluções:

SOLUÇÃO BASE:

- 50 ml da amostra de água
- 1 ml HNO_3 concentrado
- 5 ml KSCN 1,5M
- preencher balão volumétrico de 100 ml com água destilada

SOLUÇÃO 1 (2ml):

- 50 ml da amostra de água
- 1 ml HNO_3 concentrado
- 5 ml KSCN 1,5M
- 2 ml de enzima peroxidase bruta
- preencher balão volumétrico de 100 ml com água destilada

SOLUÇÃO 2 (5ml):

- 50 ml da amostra de água
- 1 ml HNO_3 concentrado
- 5 ml KSCN 1,5M
- 5 ml de enzima peroxidase bruta
- preencher balão volumétrico de 100 ml com água destilada

SOLUÇÃO 3 (10 ml):

- 50 ml da amostra de água
- 1 ml HNO₃ concentrado
- 5 ml KSCN 1,5M
- 10 ml de enzima peroxidase bruta
- preencher balão volumétrico de 100 ml com água destilada

SOLUÇÃO 4 (15 ml):

- 50 ml da amostra de água
- 1 ml HNO₃ concentrado
- 5 ml KSCN 1,5M
- 15 ml de enzima peroxidase bruta
- preencher balão volumétrico de 100 ml com água destilada

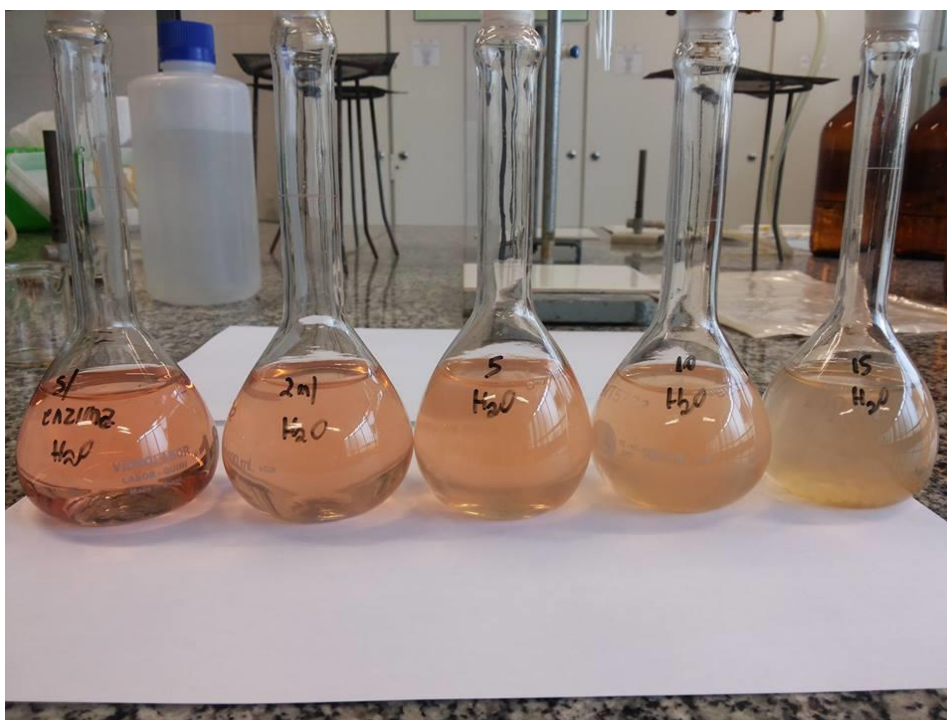


Figura 11. Soluções preparadas com amostra de água da escola e variação na quantidade de enzima (acervo das pesquisadoras).

Todas estas soluções foram submetidas à análise quantitativa pela técnica de Espectrofotometria UV-Visível. Primeiramente, foi analisada a SOLUÇÃO BASE

(concentração 0,691 ppm) para comparação das demais. Os resultados obtidos estão expressos na Figura 12 e Gráfico 4.

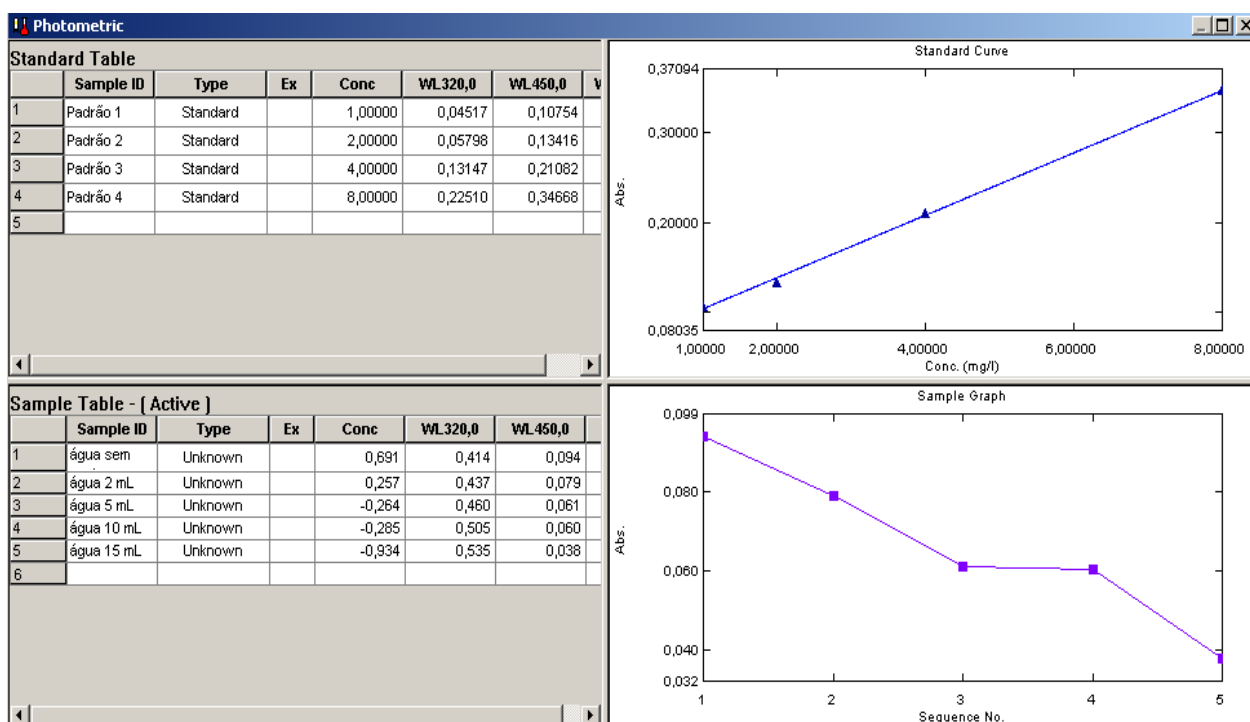


Figura 12. Leitura das soluções de efluente real (autoria das pesquisadoras).

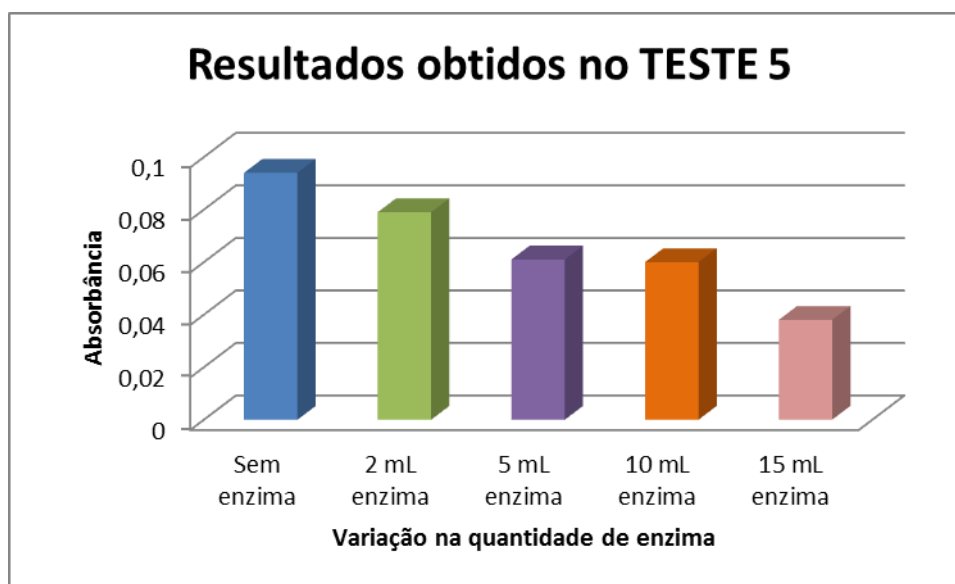


Gráfico 4. Resultados obtidos no TESTE 5. Amostras de água da escola variando a quantidade de enzima (autoria das pesquisadoras).

Com a leitura da solução base (sem adição de enzimas), obteve-se o resultado do dobro de concentração permitida por lei no Conama 357 (padrões inorgânicos de água doce), que é 0,3 mg /L.

Na SOLUÇÃO 1, constatou-se que 2 ml de enzima conseguiram reagir e precipitar 0,434 ppm de Fe^{3+} , enquanto nas SOLUÇÕES 2, 3 e 4 (com aumento da quantidade de enzima), observou-se a leitura de uma concentração negativa (Figura 12) e diminuição na absorvância (Gráfico 4), indicando que a ação da enzima foi de 100% na remoção do Fe^{3+} .

11. CONCLUSÃO

Conclui-se que a enzima peroxidase é eficiente na remoção Fe^{3+} , pois ela reage com o complexo do Fe^{3+} com SCN^- (tiocianato) em meio ácido, formando precipitado, que pode ser separado por decantação. Esse é um processo de baixo custo que pode ser utilizado para remoção desse metal no tratamento da água e que permite à parte sólida, que contém enzimas e Fe^{3+} , ser disposta em um aterro ou no solo (após correção do pH), pois o ferro é um micronutriente importante para a fertilização.

A partir do TESTE 5, conclui-se também que a quantidade de enzima influencia na remoção do Fe^{3+} , sendo que o mínimo é de 5 mL de enzima para cada 50 mL de efluente a ser tratado.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(1) Tema: Química da água subterrânea. Data de acesso: 19/11/12

<http://www.meioambiente.pro.br/agua/guia/quimica.htm>

(2) BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357, de 17 de Março de 2005. Disponível em: <<http://www.ifcs.ufrj.br/~aproximacao/abntnabr6023.pdf>>. Acesso em: 19 de novembro de 2012.

(3) Tema: Efeitos do excesso de ferro no corpo. Data de acesso: 5/05/13

<http://zerohora.clicrbs.com.br/rs/vida-e-estilo/bem-estar/noticia/2012/06/excesso-de-ferro-no-organismo-pode-levar-a-cirrose-hepatica-e-outras-doencas-3783105.html>

(4) Tema: Enzimas. Data de acesso: 21/4/13

http://www.sobiologia.com.br/conteudos/quimica_vida/quimica11.php

(5) SILVA, M. C.; CÔRREA, A. D.; TORRES, J. A.; AMORIM, M. T. S. P. Descoloração de corantes industriais e efluentes têxteis simulados por peroxidase de nabo (*Brassica campestris*). Quím. Nova vol.35 no. 5. São Paulo, 2012.

(6) Tema: Abobrinha. Data de acesso: 28/4/13.

<http://www.infoescola.com/frutas/abobrinha/>

(7) SILVA, Thâmara M. Tema: AVALIAÇÃO DAS POTENCIALIDADES BIOTECNOLÓGICAS DE ABOBRINHA *Cucurbita pepo*. Anais da 56ª Reunião Anual da SBPC - Cuiabá, MT - Julho/2004.

(8) TWARDOKUS, R. G. Reuso de água no processo de tingimento da indústria têxtil. Florianópolis – SC, UFSC, 2004.

(9) Tema: Tratamento de água. Data de acesso: 29/10/12.

http://www.suapesquisa.com/o_que_e/tratamento_agua.htm

(10) Tema: Imagem Tratamento água. Data acesso: 27/08/13

<http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Agua/Agua7.php>

(11) Tema: Águas subterrâneas. Data de acesso: 7/03/13.

<http://www.abas.org/educacao.php>

(12) Tema: Águas subterrâneas. Data de acesso: 7/03/13.

<http://www.brasilecola.com/geografia/aguas-subterraneas.htm>

(13) Tema: Ciclo da água. Data de acesso: 21/03/13.

<http://www.ciclodaaagua.com.br/>

(14) LIMA, João Gabriel. O paradoxo da água. Revista Veja Especial, 10/2005.

(15) Tema: Disposição de água doce. Data de acesso: 04/04/13.

http://planetasustentavel.abril.com.br/noticia/ambiente/conteudo_222328.shtml

(16) Tema: Disposição de água doce. Data de acesso: 04/04/13.

<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAA-GkAB/aguas-doces?part=10>

(17) Tema: Disposição de água doce. Data de acesso: 04/04/13.

<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAA-GkAB/aguas-doces>

(18) Tema: Principais contaminantes e poluentes da água. Data de acesso: 13/04/13.

http://biologia-poluicaodaagua.blogspot.com.br/p/principais-contaminantes-da-agua_22.html

(19) Tema: Resolução CONAMA 430/2011. Data acesso: 13/04/13

http://www.silvaporto.com.br/admin/downloads/RES_CONAMA_AGUA_2011.PDF

(20) Tema: Nabo. Data de acesso: 28/4/13.

<http://www.infoescola.com/plantas/nabo/>

(21) Tema: Imagem Nabo. Data de acesso: 28/4/13.

<http://www.tomitanet.com.br/produtos/nabo-comprido.html>.

(22) Tema: Imagem Abobrinha. Data de acesso: 28/4/13.

<http://www.seminis.com/global/br/products/Pages/Vit%C3%B3ria.aspx>

(23) Tema: Ferro. Data de acesso: 5/5/13.

<http://www.infoescola.com/elementos-quimicos/ferro/>

(24) LERNER, Maíne. QUÍMICA ANALÍTICA, UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA; CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS; DEPARTAMENTO DE QUÍMICA. Santa Maria, 17 de dezembro de 2009.

(25) Tiocianato de Potássio. Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos- FISPQ (CETUS INDÚSTRIA E COMERCIO DE PRODUTOS QUIMICOS LTDA), 20/03/2002.

(26) ATKINS, Peter, JONES, Loretta. Princípios de Química-questionando a vida moderna e o meio ambiente. 5ª ED. Rio de Janeiro: Bookmam, 2011.

(27) Tema: Imagem Complexo hexacionoferrato III. Data de aceso: 27/08/13.

http://www.vitrilab.pt/webcontent/Hexacianoferrato_II_Potassio_100grs_100grs_Hexacianoferrato_Quimicos_.htm

(28) Tema: Extração de enzimas do nabo.<
<http://www.quimicanova.sbq.org.br/qn/No%20Prelo/Artigos/AR11309.pdf>>Data de acesso: 16/01/13.

(29) Costa, Paulo Afonso. Determinação de ferro por espectroscopia UV/Vis - Método do Tiocianato com curva de calibração ou por adição de padrão. Centro Paula Souza, Etecap. Campinas, 2010.

(30) Tema: Custos dos materiais. Data de acesso: 09/06/13

<http://www.lojasynth.com/>