

## AVALIAÇÃO DO TEOR DE PROTEÍNAS EM MACRÓFITAS AQUÁTICAS DO RIO MOSSORÓ POR DIFERENTES MÉTODOS

Daniel Freitas Freire Martins<sup>1\*</sup>, Luiz Di Souza<sup>2</sup>, Alriberto Germano da Silva<sup>2</sup>, Maria de Fátima  
Vitória de Moura<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Campus de Mossoró, Costa e Silva,  
Mossoró, RN 59.625-900 Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Química, Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Campus  
Universitário Central, Costa e Silva, Mossoró, RN 59610-090 Brasil

<sup>3</sup>Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus  
Universitário Lagoa Nova, Natal, RN 59072-970 Brasil

### RESUMO

O tratamento de ambientes aquáticos poluídos por plantas aquáticas apresenta um baixo custo e permite a possibilidade de reciclagem da biomassa produzida. Assim, este estudo analisa a quantidade de proteína bruta, aminoácidos, cinzas e umidade em macrófitas que crescem naturalmente no Rio Apodi/Mossoró, a fim de verificar a viabilidade de seu uso como ração animal. Os resultados mostram que os parâmetros analisados são fortemente influenciados pelo tamanho da planta, e que a determinação de proteína a partir do método de PBQ é viável e produz resultados semelhantes aos do método de Kjeldahl para a proteína bruta.

**Palavras-chave:** proteína bruta; método de Kjeldahl; método da PBQ.

\* E-mail: dffm@ufersa.edu.br

## EVALUATION OF PROTEIN IN AQUATIC MACROPHYTES OF RIVER MOSSORÓ BY DIFFERENT METHODS

### ABSTRACT

The treatment of polluted aquatic environments by aquatic macrophytes has a low cost and makes the possibility of recycling the biomass produced. Thus this study analyzes the amount of crude protein, amino acids, ash and humidity in macrophytes that grow naturally in the river Apodi/Mossoró in order to verify the feasibility of its use as animal feed. The results show that the analyzed parameters are strongly influenced by the size of the plant and that the determination of protein with the PBQ method is feasible and produce results similar to the Kjeldahl method for crude protein.

**Keywords:** protein, Kjeldahl method, PBQ method.

### INTRODUÇÃO

Água limpa e de boa qualidade é um produto precioso, em especial, no Semi-árido brasileiro onde este recurso tem se tornado cada vez mais escasso. Atualmente a grande e crescente preocupação com água de boa qualidade destinada ao consumo humano e a atividades industriais e agrícolas têm incentivado inúmeras pesquisas destinadas ao tratamento e a prevenção da poluição de ambientes aquáticos. Com a bacia Hidrográfica do rio Apodi/Mossoró, no estado do Rio Grande do Norte, esta situação não é diferente. Este rio desempenha papel chave no desenvolvimento econômico da região, fato que pode ser constatado pelas atividades agrícolas em suas margens, pelas microempresas ribeirinhas, pela pesca e outras atividades econômicas, sendo todas elas comuns em locais onde há também o descarte de efluentes.<sup>1-3</sup>

Há algum tempo vem se tentando desenvolver métodos mais eficazes de despoluição de ambientes aquáticos. As macrófitas aquáticas, por necessitarem de altas concentrações de nutrientes para seu desenvolvimento, são estudadas para recuperação de rios e lagos poluídos. No entanto, a utilização destas plantas em ambientes muito contaminados pode trazer diversos prejuízos aos múltiplos usos de rios, lagos e represas. Elas podem dificultar a navegação e a

captação de água, prejudicar a geração de energia elétrica, comprometer as atividades de lazer, bloquear o fluxo de água em canais de irrigação e contribuir para a diminuição do oxigênio dissolvido na água, podendo, neste caso, causar a eutrofização do corpo aquático. Por outro lado, elas possuem alta capacidade de absorção de nutrientes e, por isso, são bastante utilizadas no tratamento de rios e lagos contaminados, de efluentes provenientes de indústrias têxteis e da carcinicultura, e de diversos outros materiais poluentes.<sup>4-6</sup> Estudos anteriores realizados no Rio Apodi/Mossoró<sup>1-3,7</sup> têm mostrado que os níveis de alguns poluentes como, por exemplo, nitrato e fosfato, presentes na água, e cádmio e cromo presentes no sedimento, encontram-se bastante elevados, o que comprova que suas águas já estão impróprias para o consumo humano e outros fins. Por ser o rio mais importante da região oeste potiguar, em especial para as populações ribeirinhas, é inquestionável que se estudem e apliquem medidas para despoluição de suas águas.

O tratamento de ambientes aquáticos poluídos por meio de macrófitas aquáticas, além de baixo custo, deixa a possibilidade de reciclagem da biomassa produzida que pode ser utilizada como ração animal, fertilizante, na geração de energia (biogás ou queima direta), fabricação de papel e extração de proteínas para uso em rações.<sup>8</sup>

A determinação de proteína bruta, em geral, é feita pelo método Kjeldahl, que se mostra demorado e muito trabalhoso. Por outro lado, já tem sido demonstrado que a proteína bruta pode ser determinada por espectrofotometria no UV-Visível, usando como corante a *p*-benzoquinona (PBQ), e que, neste caso, ainda pode se determinar o teor de alguns aminoácidos na mesma amostra.<sup>9-10</sup> Neste trabalho, pretende-se analisar os teores de proteína bruta, de aminoácidos, cinzas e umidade em macrófitas que crescem naturalmente no rio Mossoró visando verificar a viabilidade do seu uso como ração animal.

## **METODOLOGIA**

### **Materiais**

Todos os reagentes usados foram padrão PA e as soluções usadas foram preparadas e conservadas a partir de metodologias padrões.<sup>11</sup> As curvas padrões foram estabelecidas segundo a metodologia recomendada pelo fabricante do aparelho utilizado.

### **Coleta, limpeza e armazenamento das amostras**

Foram realizadas quatro coletas em dois pontos localizados no trecho do rio que corta o centro da cidade de Mossoró: próximo a Honda (ponto 1) e a barragem do Geo (ponto 2) nas seguintes datas: 15 de agosto, 17 de outubro e 14 de dezembro de 2008, e 9 de fevereiro de 2009. Em cada um dos pontos foram coletadas trinta plantas e ao término de cada coleta as macrófitas foram armazenadas com um pouco de água dos próprios locais em sacos plásticos, devidamente enumerados e identificados, e levadas rapidamente para o laboratório. Neste, foram retiradas as folhas secas, murchas ou deterioradas e, em seguida, as plantas foram lavadas com água potável e enxaguadas com água destilada. Após a lavagem, as folhas foram separadas dos pecíolos e das raízes, para serem secadas e levadas para o laboratório de irrigação e drenagem da UFERSA, onde foi feita a análise da área foliar. Para a medida da área foliar média de uma planta (AF) (consideramos área foliar como sendo apenas a área do limbo) foi utilizado um medidor de área foliar de bancada LI-COR 3100 AREA METER.

Ao término desta análise, as folhas foram pesadas e colocadas em sacos de papel, devidamente identificados, juntamente com os pecíolos previamente separados. As raízes também foram pesadas e colocadas em sacos de papel devidamente enumerados. A massa foliar úmida média de uma planta (MFU) foi determinada através da pesagem em balança analítica. Após este processo, as folhas e raízes úmidas foram colocadas em sacos de papel e secadas em estufa com circulação de ar forçada a 60 °C até atingir peso constante (aproximadamente seis dias). Após a desidratação, as folhas foram pesadas para a obtenção da massa foliar seca (MFS) e, assim como as raízes, foram trituradas e acondicionadas em frascos de plástico até a realização das análises químicas. Um espécime completo (com raízes, folhas, pecíolo e flores) foi colhido aleatoriamente e levado ao laboratório de Biologia da UERN onde foi identificado e armazenado em local específico.<sup>12-14</sup>

### **Extração da proteína e dos aminoácidos**

Para extrair as proteínas e aminoácidos das folhas e raízes, foi utilizado uma solução alcalina extratora de pH 11,00 e os seguintes parâmetros: temperatura de 90 °C e tempo de extração de 40 min.

## **Determinação da concentração de proteínas totais e aminoácidos nas folhas**

### *Proteínas via método de Kjeldahl*

Os teores de nitrogênio total (NT) foram determinados segundo o método de Kjeldahl proposto por Miyazawa *et al.*<sup>14</sup> Os teores de proteína bruta (PB) foram calculados multiplicando-se os valores de nitrogênio por 6,25.<sup>14</sup>

### *Proteínas totais e aminoácidos via método espectrofotométrico com PBQ*

As medidas de PB e aminoácidos foram realizadas seguindo procedimentos descritos em trabalhos anteriores.<sup>15, 16</sup>

## **Determinação do percentual de umidade residual e cinzas**

Para a determinação dessas variáveis, foi utilizado o método gravimétrico tradicional, em que foram usados cadinhos de porcelana previamente tarados e 0,5 g de amostra.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Segundo Derenzo e Aldeia,<sup>16</sup> a solubilidade das proteínas é substancialmente influenciada pelo pH, tempo e temperatura de extração. Foram usados neste trabalho, em acordo com estudos prévios,<sup>15,16</sup> os seguintes parâmetros de extração: pH 11,0, temperatura de 90 °C e tempo de extração de 40 min.

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos a partir das medidas realizadas nas 4 coletas. Podemos constatar que os valores de área foliar (AF), massa foliar úmida (MFU) e massa foliar seca (MFS) aumentam com o tempo de crescimento, comportamento já discutido em trabalho anterior.<sup>16</sup> Não existe uma relação direta entre a umidade residual das folhas e das raízes com o crescimento da planta, mas os valores médios nas folhas (aproximadamente 10 %) são maiores que os valores médios para as raízes (aproximadamente 7 %). Nos dois pontos analisados as cinzas apresentaram uma tendência a diminuir com o crescimento das plantas nas raízes, e são praticamente constantes nas folhas.

Tabela 1. Valores médios das medidas obtidas nas 4 coletas.

Medida	Ponto 1				Ponto 2			
	Ago/2008	Out/2008	Dez/2008	Fev/2009	Ago/2008	Out/2008	Dez/2008	Fev/2009
% umidade (folha)	11,46	10,12	10,36	8,92	11,35	11,19	10,87	9,66
% cinzas (folha)	17,21	16,25	17,42	16,33	15,66	16,27	16,30	9,78
AF (cm <sup>2</sup> )	25,09	58,67	104,6	125,55	23,17	67,21	88,59	99,29
MFU (g)	0,59	1,55	2,93	3,27	0,66	2,00	2,65	3,09
MFS (g)	0,08	0,21	0,43	0,42	0,09	0,27	0,44	0,50
% umidade (raiz)	9,61	6,37	4,99	11,41	7,49	5,11	8,03	11,08
% cinzas (folha)	17,52	14,57	20,65	7,75	23,74	20,56	9,40	10,79
PB <sup>1</sup> (g/100 g; folha)	14,4	17,3	11,8	11,4	14,6	17,9	11,7	11,2
PB <sup>2</sup> (g/100 g; folha)	20,6	16,3	13,4	13,4	27,56	19,0	13,28	9,54
Aminoácidos (ppm; folha)	18,80	22,06	16,08	14,12	18,04	22,57	14,73	12,54
PB <sup>1</sup> (g/100 g; raiz)	11,9	9,8	7,3	8,4	9,66	9,12	10,70	11,21
PB <sup>2</sup> (g/100 g; raiz)	12,06	12,36	10,42	9,53	12,69	11,58	12,35	9,12
Aminoácidos (ppm; raiz)	19,41	16,97	14,31	15,17	19,66	21,12	12,70	13,21

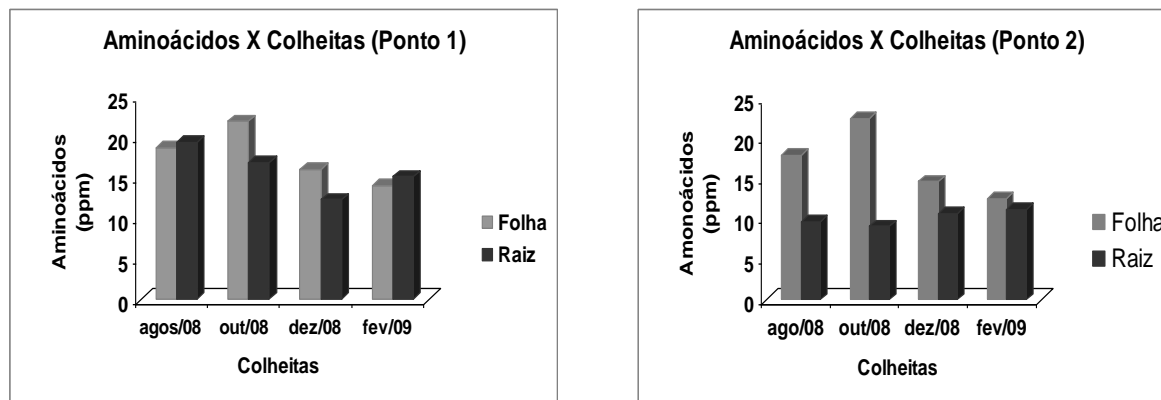
1-Método espectrofotométrico usando PBQ e 2-método de Kjeldhal

Quanto aos valores de proteína bruta (PB) das folhas (limbo + pecíolo) da *Eichhornia crassipes* presentes nos pontos 1 e 2, podemos observar um comportamento inverso ao citado acima, ou seja, a quantidade desse nutriente diminuiu a partir da primeira coleta, devido às alterações fisiológicas que ocorrem com o desenvolvimento da planta, que levam a uma diminuição dos níveis de nutrientes com a maturidade da planta.<sup>15,16</sup> Além disso, esse

comportamento também pode ser decorrente da competição existente entre as macrófitas, pois, com a falta de espaço lateral para o seu crescimento, devido ao grande número de plantas, as mesmas tendem a crescer verticalmente. Sendo assim, o pecíolo se desenvolve bem mais do que o limbo; como no pecíolo o teor de proteína é bem menor do que no limbo, ocorre o que pode ser chamado de efeito de diluição, ou seja, quanto maiores forem as plantas, menores serão os seus teores de proteína.<sup>16</sup> Por fim, o que também pode influenciar esse comportamento são os níveis de nitrogênio presentes na água, já que os nutrientes absorvidos pelas macrófitas são provenientes do meio em que foram cultivadas.

Podemos observar o mesmo comportamento para as raízes; a única exceção ocorreu para o ponto 2 no mês de dezembro de 2008, onde houve um aumento significativo da quantidade de proteína bruta nas raízes, quando comparada à colheita anterior. Isto ocorreu, provavelmente, devido ao aumento da concentração desse nutriente na própria água, causado pela diminuição do seu volume, uma vez que o mês de dezembro caracteriza-se como um período seco.

Todos estes resultados são coerentes com os dados encontrados na literatura para o aguapé, embora eles possam variar um pouco em virtude do local e das condições de cultivo.<sup>17-26</sup> Os resultados usando o método espectrofotométrico com PBQ apresentaram o mesmo comportamento geral, mas em geral, com valores nominais menores, embora bem próximos daqueles encontrados usando o processo Kjeldhal. Este resultado é normal e esperado, uma vez que, no processo espectrofotométrico, as plantas não são digeridas e o processo necessita de uma reação química com a PBQ a qual pode ser incompleta. Os resultados mostraram também que a aplicação do método com a PBQ é viável e produziu resultados satisfatórios, da mesma ordem de grandeza daqueles obtidos com o método Kjeldhal, com a vantagem de ser mais simples, barato e rápido. Outra vantagem do método com a PBQ é que, na mesma amostra preparada, foi possível determinar a presença de aminoácidos nas amostras. Os resultados encontrados para quantificar os aminoácidos mostraram o mesmo comportamento geral de diminuir a concentração com o crescimento da planta, tanto nas folhas quanto nas raízes, exceto nas raízes do ponto 2, onde se notou uma leve tendência em aumentar a concentração com o tempo de crescimento das plantas (ver figura 1).



**Figura 1.** Teores de aminoácidos em função do tempo de crescimento da planta.

A partir desses dados, podemos fazer um comparativo do teor de proteína bruta presente nessa espécie de macrófita aquática com a quantidade presente em alguns alimentos, podendo-se, assim, propor uma forma de aproveitamento da biomassa produzida em relação a esta variável. A partir dos valores disponíveis na tabela brasileira de composição de alimentos - TACO, tais como, farinha de trigo (9,8 g / 100 g), sardinha inteira crua (21,1 g / 100 g), carne de charque bovina crua (22,7 g / 100 g), podemos observar que a planta avaliada apresenta níveis protéicos maiores ou próximos aos níveis de alimentos considerados ricos em proteína.

Portanto, tomando como base apenas os valores de proteínas presentes na macrófita aquática, podemos considerar que a mesma poderia ser utilizada para diversos fins, como por exemplo, na alimentação animal, ou mesmo, na obtenção de um concentrado protéico destinado a alimentação humana. A grande disponibilidade de biomassa aliada a sua alta velocidade de crescimento tornaria essa espécie de macrófita uma alternativa viável de reaproveitamento da biomassa produzida. No entanto, para que isto seja possível é necessário estudar os teores de outros elementos e substâncias que tornariam a planta imprópria para o consumo. Além disso, vale ressaltar que a população não teria custo com sua produção uma vez que as plantas nascem e crescem naturalmente durante todo o ano em vários pontos do rio.

## CONCLUSÕES

Baseado nos resultados obtidos, podemos concluir que (i) a utilização da macrófita como ração animal pode se tornar viável por possuir alto teor de proteína bruta, tendo em vista



a necessidade da população de toda a região em usá-la na alimentação de seus animais, principalmente em períodos de estiagem; (ii) a melhor época para coleta das plantas é até os 2 meses de crescimento; e que (iii) o método da PBQ tem sido viável para a determinação do teor de proteína bruta, produzindo resultados menores, mas muito próximos daqueles obtidos pelo método Kjeldhal tradicionalmente usado, além de ser possível determinar na mesma amostra o teor de aminoácidos.

### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao PIBIC/CNPq pelo suporte financeiro ao projeto e às universidades UFERSA e UERN pela infra-estrutura cedida.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- [1] Martins, D. F. F.; Souza, R. B.; Oliveira, T. M. B. F.; Souza, L. D.; Castro, S. S. L. Resumos do I Congresso Norte Nordeste de química, Natal, Brasil, 2007.
- [2] Souza, R. B.; Martins, D. F. F.; Souza, L. D. Resumos do XLVI C.B.Q., Salvador, Brasil, 2006.
- [3] Martins, D. F. F.; Souza, L. D.; Costa, A. L. Resumos XIV ENCOPE, Mossoró, Brasil, 2007.
- [4] Henry-Silva, G.G. & Camargo, A.F.M. *Naturalia*. 2000, 26.
- [5] Henry-Silva, G. G.; Camargo, A. F. M.; Pezzato, L. E. *Hydrobiologia*. 2008, 610, 1.
- [6] Henry-Silva, G. G.; Camargo, A. F. M. *Planta Daninha*. 2006, 24, 1.
- [7] Almeida, R. S. - Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, 2006.
- [8] Dinardi, A. L.; Formagi, V. M.; Coneglian, C. M. R.; Brito, N. N.; Dragoni Sobrinho, G.; Tonso, S.; Pelegrini, R. Resumos do Fórum de Estudos Contábeis, Rio Claro, Brasil, 2003.
- [9] Zaia, D. A. M. et al. *Analytical Letters*. 1992, 7, 25.
- [10] Zaia, D. A. M., et al. *Química Nova*. 1998, 6, 21.

- [11] Tokio *Morita* – Manual de soluções reagentes e solventes. 2ª ed., Edgard Blucher. São Paulo, 1972.
- [12] Souza, V. C. & Lorenzi, H. Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.
- [13] Gonçalves, E. G.; Lorenzi, H. Morfologia vegetal: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares. São Paulo: Instituto Plantarum de estudos da Flora, 2007.
- [14] EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília: Embrapa, 1999.
- [15] Silva, A. A. L., Souza, L. D, Martins, D. F. F. Química: ciência, energia e sociedade. 2012, 1, 2.
- [16] Martins, D. F. F., Moura, M. F. V., Souza, L. D., Camacho, R. G. V., Silva, A. G., Rocha, L. N. G. Tchê química. 2011, 8, 15.
- [17] Derenzo, S.; Aldeia, W. Instituto de Pesquisas Tecnológicas de SP. 2006.
- [18] Rosa, B.; Silva, S. B. C. Resumo dos Anais Esc. Agron. e Vet., 1997.
- [19] Mauro, J. B. N.; Guimarães, J. R. D.; Melamed, R. Ciência Hoje. 1999, 25.
- [20] Lin, Y. F.; Jing, S. R.; Wang, T. W.; Lee, D. Y. Environmental Pollution. 2002, 119.
- [21] Medeiros, R. M. L.; Srur, A. U. O. S.; Pinto, C. L. R. Ciência e tecnologia de alimentos. 2009, 19, 2.
- [22] Martins, D.F.F- Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil, 2010.
- [23] Martins, D. F.F. et al. Resumo dos anais do VI Salão PIBIC, Mossoró, Brasil, 2011.
- [24] Martins, D. F.F. et al. Resumo dos anais do 1º C.Q.B., Natal, Brasil, 2010.
- [25] Martins, D. F.F., Moura, M. F. V., Loiola, M. I. B., Souza L. D., Silva, K. M. B., Medeiros, J. F. Journal of Environment and Monitoring. 2011, 13, 274.
- [26] Martins, D. F.F. et al. Resumo dos anais do VII Salão PIBIC, Mossoró, Brasil, 2012.