

# CARVÃO ATIVADO A PARTIR DO CAROÇO DE AÇAÍ COMO SUPORTE PARA IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA<sup>1</sup>

EMILLY ALMEIDA SANTOS<sup>2</sup> CRISTIANE MARTINS VELOSO<sup>3</sup>

## RESUMO

O carvão ativado é um material carbonáceo que pode ser obtido por ativação química ou física empregando biomassa como matéria-prima, esse produto é caracterizado por possuir uma elevada área superficial, além de possuir uma porosidade altamente desenvolvida, elevada estabilidade química e, também vários grupos funcionais sobre a superfície. Essas qualidades presentes nos carvões ativados os tornam eficientes para serem utilizados em diversos processos na área de pesquisa e inovação como análise de adsorção em meio aquoso, catalise ou como suporte catalítico para processos de purificação e separação enzimática. Considerando essas informações, esse projeto de pesquisa teve como objetivo realizar a síntese de carvão ativado por ativação química empregando o caroço de açaí. Empregou-se com agente de ativação o ácido fosfórico e as condições de carbonização foram temperatura de carbonizados de 500°C por 60 min sob fluxo de nitrogênio (50 mL/min). Também foram realizadas análise do teor de cinzas e ponto de carga zero a fim de conferir o potencial de adsorção do carvão ativado obtido a partir do caroço de açaí e avaliar se o mesmo possui potencial para ser empregado como alternativa promissora em processos adsorventes.

**PALAVRAS-CHAVE:** Adsorção, caroço de açaí, síntese.

## ACTIVATED CARBON FROM AÇAÍ SEEDS AS A SUPPORT FOR ENZYME IMMOBILIZATION

### ABSTRACT

Activated carbon is a carbonaceous material that can be obtained by chemical or physical activation using biomass as raw material. This product is characterized by having a high surface area, in addition to having a highly developed porosity, high chemical stability and also several groups functional on the surface. These qualities present in activated carbons make them efficient for use in various processes in the area of research and innovation, such as adsorption analysis in aqueous media, catalysis or as a catalytic support for purification and enzymatic separation processes. Considering this information, this research project aimed to carry out the synthesis of activated carbon

by chemical activation using açai seeds. Phosphoric acid was used as the activation agent and the carbonization conditions were carbonized temperature of 500°C for 60 min under nitrogen flow (50 mL/min). An analysis of the ash content and zero charge point was also carried out in order to check the adsorption potential of activated carbon obtained from açai seeds and evaluate whether it has the potential to be used as a promising alternative in adsorbent processes.

**KEYWORDS:** Adsorption, açai seed, synthesis.

## INTRODUÇÃO

Enzimas são consideradas catalisadores biológicos com propriedades que permitem realizar processos químicos complexos. Sua estrutura tridimensional é responsável pela sua estabilidade, sua atividade catalítica, e sua especificidade pelo substrato. Elas são altamente sensíveis a alteração de pH, temperatura, força iônica, alterações de concentração, além de outros fatores. Por isso, conhecer os efeitos ocasionados por esses parâmetros em reações enzimáticas permite explorar melhor suas propriedades catalíticas, uma vez que, a utilização industrial de enzimas na sua forma nativa apresenta algumas limitações que possam ocasionar baixas estabilidades em certas condições, sendo possíveis barreiras para o desenvolvimento de algumas aplicações (MATEO et al., 2007).

Buscando novas possibilidades para utilização de enzimas, estudos apresentaram como solução utilizar enzimas na forma imobilizada, considerando a existência de variados métodos de imobilização (CARVALHO et al., 2006) aliados ao uso de suportes inertes para serem utilizados nesse processo, como carvão ativado, criogel, sílica mesoporosa, esferas de quitosana, entre outros. Assim, os carvões ativados vêm sendo constantemente utilizados para a imobilização enzimática devido as suas propriedades inerentes, causando poucas alterações estruturais na enzima, garantindo assim eficácia na atividade da mesma (SANTOS et al., 2019).

Uma das enzimas que podem ser imobilizadas pelo uso do carvão é a lisozima, uma glicoproteína formada por 129 aminoácidos e de ponto isoelétrico igual a 10,7. Ela costuma ser bastante utilizada para estudos alimentares devido a sua antimicrobiana, obtendo destaque contra bactérias gram-positivas provocando hidrólise entre suas ligações. No entanto a utilização industrial da enzima em sua forma nativa apresenta algumas restrições devido a sua sensibilidade a certas condições de temperatura e pH, onde uma das possibilidades viáveis de solucionar esse problema é a utilização da enzima em sua forma imobilizada a partir do carvão ativado (CARVALHO et al., 2006).

Dessa forma, o carvão ativado pode ser utilizado, utilizado como suporte para a adsorção na imobilização enzimática, por demonstrar eficácia e poucas alterações estruturais na enzima a ser trabalhada, garantindo sua atividade (SANTOS et al., 2019).

Considerando essas informações, esse projeto teve como objetivo realizar a síntese de carvão ativado por ativação química utilizando o caroço de açaí

## MATERIAIS E MÉTODOS

O resíduo agroindustrial (caroço de açaí) foi seco em estufa a 105°C por 24h, para remover excesso de umidade, triturado em moinho de facas e peneirado em peneira de 20 mesh para obter uma granulometria uniforme. Para a síntese do carvão ativado, 150 g do resíduo foram impregnadas com ácido fosfórico (85% P.A-ACS, Synth, Diadema, São Paulo), na razão de impregnação de 1,5:1 (precursor/agente ativante) e secos em estufa a 105°C por 24 h. O material foi carbonizado em forno mufla sob fluxo de hidrogênio (50mL.min<sup>-1</sup>) com taxa de aquecimento de 5°C min<sup>-1</sup>, atingindo a temperatura final de 500°C. Após a carbonização o carvão ativado foi lavado com água, à temperatura aproximada de 60°C, até à neutralização. A amostra lavada foi seca a 105°C durante 24 h e acondicionada em embalagem hermética.

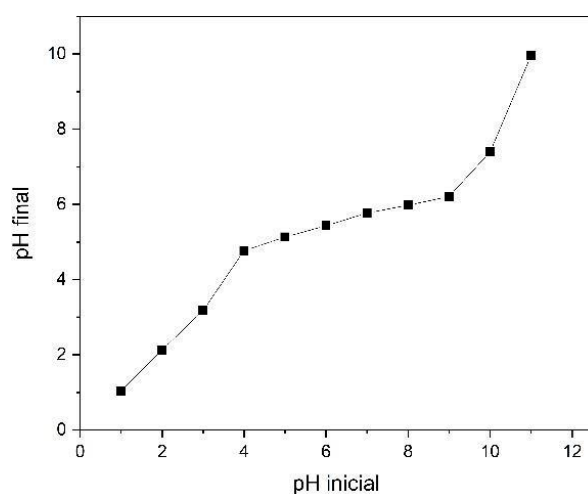
O carvão ativado foi caracterizado quanto ao teor de cinzas através da metodologia proposta pela AOAC (1995). Foi realizada a análise para obtenção do pH do ponto de carga zero (pH<sub>PCZ</sub>), que define qual o pH em que a superfície do material carbonáceo possui carga neutra, determinado pela metodologia descrita por Kuśmierk et al. (2016). O procedimento consistiu em colocar 50 mg da amostra de cada carvão em contato com 50,0 mL de solução de cloreto de sódio 0,10 mol.L<sup>-1</sup> em diferentes valores de pH (1-11) e deixá-los sobre agitação constante durante 24 h. O pH de cada solução foi ajustado com solução de ácido clorídrico 0,50 mol.L<sup>-1</sup> ou hidróxido de sódio 0,50 mol.L<sup>-1</sup>. Ao final de 24 h o pH foi medido e plotado o gráfico do pH final versus pH inicial. O pH<sub>PCZ</sub> corresponde à faixa onde o pH final se mantém igual pH inicial, ou seja, a superfície comporta-se como um tampão.

Para avaliar a capacidade de imobilização do carvão sintetizado foi realizado o estudo do efeito do pH da solução enzimática sobre a imobilização nos valores de pH 3,0, 5,0, 7,0 e 9,0 a 25°C. A imobilização foi realizada partindo-se de uma solução de lisozima com concentração inicial de 1 mg. mL<sup>-1</sup>, solubilizada em tampão fosfato de sódio 50mM. Aliquotas de 5 mL da solução enzimática foram adicionados em tubos contendo 20 mg do suporte. Os tubos foram mantidos sob agitação constante a 20 rpm em um agitador orbital em câmara BOD a 25°C. Após 2 h os tubos foram centrifugados por 15 min a 3500 rpm e o sobrenadante foi retirado para quantificação de proteínas não adsorvidas pelo método de Bradford (1976).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de cinzas do carvão ativado foi de  $6,61\% \pm 0,09$ . O teor de cinzas para carvões ativados deve variar entre 1,0 a 2%. Altos teores de cinzas afetam o desempenho adsorptivo do carvão ativado devido ao bloqueio que pode gerar nos poros pelo material mineral (JAWAD et al., 2020). Na Figura 1 é apresentada o gráfico referente ao  $pH_{PCZ}$  do carvão sintetizado. A análise do ponto de carga zero ( $pH_{PCZ}$ ) tem o objetivo de determinar a carga superficial do adsorvente, que por sua vez, é definido como o pH que a superfície do material possui densidade de cargas elétricas nulas, igualando a quantidade de cargas positivas e negativas (BORGES et al., 2023). O carvão apresentou o  $pH_{PCZ}$  de 5,58, confirmando ter caráter ácido, e dessa forma, em contato com soluções com pH inferior ao  $pH_{PCZ}$ , a superfície do carvão será carregada positivamente, o que indica eficiência adsorptiva para a remoção de materiais aniônicos. E já em valores de pH superiores ao  $pH_{PCZ}$ , a superfície do carvão apresenta eficiência na adsorção de materiais catiônicos (BRITO et al., 2017; SANTOS et al., 2019).

**Figura 1.** Gráfico do ponto de carga zero do carvão ativado sintetizado a partir de resíduo de açaí.



Quando avaliado o efeito do pH na imobilização, é possível observar que valores mais elevados de capacidade adsorptiva e rendimento de imobilização foram obtidos na faixa de pH ácido (Tabela 1). Esse comportamento pode ser atribuído à influência do microambiente nas interações eletrostáticas entre suporte e enzima. O carvão ativado apresenta um pH de ponto de carga zero ( $pH_{PCZ}$ ) 5,58, enquanto a lisozima possui um ponto isoelétrico em pH básico (pI) 10,7. Portanto, em valores de pH próximos ao ponto isoelétrico, a enzima tem uma densidade de cargas neutras, enquanto uma maior

densidade de cargas negativas na superfície é observada em valores de pH acima do pI. Em soluções com pH abaixo de seu ponto isoelétrico, sua superfície apresenta maior número de cargas positivas. Em pH 3 e 5 tanto a enzima como o carvão ativado estavam apresentavam cargas negativas, evidenciando que o processo adsorptivo foi regido por interações hidrofóbicas (SANTOS et al., 2022). O sucesso do processo depende da seleção apropriada do suporte, devendo apresentar caráter inerte, estável e não possuir interações com o sítio da enzima que possa dificultar sua interação (KAUR et al., 2021; XIE et al., 2022).

**Tabela 1.** Efeito de diferentes valores de pH na capacidade adsorptiva ( $q^a$ ) do carvão ativado produzido a partir do resíduo de açaí (CAA) e o rendimento de imobilização ( $R^I$ ).

<b>Amostra</b>	<b>pH</b>	<b><math>q^a</math> (mg.g<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>R^I</math> (%)</b>
<b>CAA</b>	3,0	152,24	37,39
	5,0	139,54	31,09
	7,0	97,28	22,44
	9,0	88,58	19,24

## **CONCLUSÕES / CONSIDERAÇÕES**

O carvão ativado sintetizado apresentou um ponto de carga zero de caráter ácido pH 5,58, tendo seu melhor desempenho de capacidade adsorptiva também em pH ácido com máxima eficiência de adsorção e rendimento de imobilização. A síntese de carvão ativado a partir do resíduo de açaí foi realizada com êxito demonstrando ser uma forma viável para reaproveitamento do resíduo, de forma a agregar valor ao demonstrar potencial para ser utilizado como suporte para biocatalisadores. Mesmo sendo uma alternativa para utilização como suporte na imobilização enzimática fatores como características texturais e estruturais do suporte e biocatalizador e meio reacional devem ser melhor estudados para otimização do processo.

## REFERÊNCIAS

- BORGES, Jéssica Ferreira; NASCIMENTO, Priscilla Amaral; ALVES, Annie Nolasco; SANTOS, Mateus Pereira Flores; BRITO, Mylena Junqueira Pinto; BONOMO, Renata Cristina Ferreira; VELOSO, Cristiane Martins. Laccase immobilization on Activated Carbon from Hydrothermal Carbonization of Corn Cob. **ORIGINAL PAPER**, [S. l.], p. 1-20, 25 maio 2023.
- BRADFORD, M. M. A. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BRITO, Mylena Junqueira Pinto. Imobilização de lipase em carvão ativado produzido do caroço do cajá. [S. l.], p. 1-69, fev. 2016.
- CARVALHO, A.V.; CAVALCANTE, M.A.; SANTANA, C.L.; ALVES, R.M. Características físicas, químicas e atividade antioxidante de frutos de matrizes de cajazeira no estado do Pará. *Alim. Nutr.*, v. 22, p. 45-53, 2011.
- CARVALHO, W.; CANILHA, L.; SILVA, S.S. Uso de biocatalisadores imobilizados: uma alternativa para a condução de bioprocessos. *Revista Analytica*, v. 23, p. 60-70, 2006.
- JAWAD, A. H.; BARDHAN, M.; ISLAM, MD. A.; ISLAM, MD. A.; SYED-HASSAN, S. S. A.; SURIP, S. N.; ALOTHMAN, Z. A.; KHAN, M. R. Insights into the modeling, 84 characterization and adsorption performace of mesoporous activated carbono from corncob residue via microwave-assisted H3PO4activation. *Surfaces and Interfaces*, v. 21:100688, 2020.
- KAUR, N.; BHARDWAJ, P.; SINGH, G.; ARYA, S. K. Applicative insights on nascent role of biochar production, tailoring and immobilization in enzyme industry- A review. *Process Biochemistry*, v. 107, p. 153-163, 2021.
- KUŚMIEREK, K; SZALA, M.; ŚWIĄTKOWSKI, A. Adsorption of 2,4-dichlorophenol and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid from aqueous solution on carbonaceous materials obtained by combustion synthesis, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers.*, v. 63: 371- 378, 2016.
- MATEO, C., PALOMO, J. M. FERNANDEZLORENTE, G., GUISAN, J. M. FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Improvement of enzyme activity, stability and selectivity via immobilization techniques, *Enzyme and Microbial Technology*, V 40, 6, 1451- 1463, 2007.
- SAHU, J.N; ACHARYA, J; MEIKAP, B.C. Optimization of production conditions for activated carbons from tamarind wood by zinc chloride using response surface methodology. *Bioresour Technol*, v.101, p.1974-82, 2010.
- SANTOS, M. P. F., PORFÍRIO, M. C. P., SOUZA JR, E. C., BONOMO, R. C. F., VELOSO, C. M., Pepsin immobilization: Influence of carbon support functionalization. **International Journal of Biological Macromolecules**. 203: 67-79, 2022.
- SANTOS, M.P.F.; SOUZA, L.S.; NASCIMENTO, P.A.; BORGES, J.F.; MONTEIRO, K.A.; VELOSO, C.M. Utilização de carvão ativado como suporte para imobilização enzimática. *ENEMP 2019*, [S. l.], p. 1-6, 2019.