

## **Influência da Concentração de Carvão Ativado na Adsorção de $\beta$ -Galactosidase**

**Tamyris Helena Chaves Pintos<sup>1</sup>, Ligia Machado Prieto<sup>1</sup>, Vitória Scarpini Porto<sup>2</sup>, Márcio Mazutti<sup>2</sup> e Carlos André Veiga Burkert<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Rio Grande – Escola de Química e Alimentos  
CEP 96203-900 - Rio Grande –RS - E-mail: tamy\_missy@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Santa Maria – Departamento de Engenharia Química  
Caixa Postal 1000 – CEP 97105-900 - Santa Maria – RS

### **RESUMO**

*A influência da concentração de carvão ativado sobre a adsorção de  $\beta$ -galactosidase de *Aspergillus oryzae* foi avaliada neste trabalho, visando à obtenção de derivados imobilizados. Foram testadas as concentrações de 0,5%, 1%, 5% e 10%. Para a concentração de 1%, a capacidade de adsorção no equilíbrio foi de 1827 U/g, correspondendo a 51,0% de adsorção.*

**Palavras-chave:** Adsorção;  $\beta$ -galactosidase; carvão ativado.

### **INTRODUÇÃO**

A  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -D-galactosideo galactohidrolase, EC 3.2.1.23) ou lactase, como também é conhecida, é classificada como uma hidrolase, com capacidade de transgalactosilação, atuando no resíduo terminal  $\beta$ -galactopiranosil da lactose (Gal $\beta$ 1-4Glc) para formar glicose e galactose.<sup>1,2</sup> As enzimas podem ser adsorvidas sobre a superfície de vários materiais particulados, incluindo o carvão ativado, composto principalmente por carbono, e que pode ser distinguido do carbono elementar pela oxidação dos átomos de carbono encontrados nas superfícies exterior e interior. Este material é caracterizado por sua grande área de superfície específica, porosidade e pela superfície que contém grupos funcionais.<sup>3</sup>

Apesar das excelentes perspectivas que apresentam as enzimas como catalisadores, sua aplicação industrial não é tão imediata porque as enzimas apresentam características que limitam a sua utilização em escala industrial.<sup>4,5</sup>

O presente trabalho tem como objetivo estabelecer a influência da concentração de carvão ativado na adsorção da  $\beta$ -galactosidase de *Aspergillus oryzae* visando à obtenção de derivados imobilizados.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O carvão ativado foi adquirido da Merck (Alemanha), com uma área de superfície específica de 1073 m<sup>2</sup>/g, sendo utilizado para imobilização da  $\beta$ -galactosidase. A enzima utilizada foi a  $\beta$ -galactosidase de *Aspergillus oryzae* obtida da Sigma-Aldrich (Estados Unidos). A atividade específica da enzima é de 0,25 U/mg sólido, onde 1 U corresponde à liberação de 1  $\mu$ mol de glicose em 1 min, em pH 4,5 e 45°C.



O carvão ativado foi previamente tratado. Para cada 10 g de carvão ativado foi adicionado 50 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 M, mantendo-se sob agitação (100 rpm) por 2 h. Após, o carvão foi lavado com água destilada até o pH da água de lavagem chegar ao pH 5,0, e seco a 100°C por 8 h.

Para cada ensaio de adsorção, o carvão ativado foi introduzido em frascos Erlenmeyer de vidro contendo 10 mL de solução de β-galactosidase (0,12 g/L) em tampão acetato pH 4,5, sendo mantidos a 30°C sob agitação durante 1 h, a fim de atingir o equilíbrio de adsorção.

Foram testadas as concentrações de carvão ativado de 0,5%, 1%, 5% e 10%, correspondendo à adição de, respectivamente, 0,05 g, 0,1 g, 0,5 g e 1,0 g. Após o equilíbrio, as partículas sólidas foram removidas por filtração, em filtro de papel, e a concentração (atividade enzimática) de equilíbrio de β-galactosidase na solução foi determinada por método espectrofotométrico (espectrofotômetro Spectro Vision modelo UV-T6) em λ = 420 nm. Cada experimento foi realizado em triplicata, sob condições idênticas. A capacidade de adsorção de β-galactosidase sobre o carvão ativado no momento t, Q<sub>t</sub>, foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$Q_t = \frac{(C_0 - C_t) V}{m} \quad (1)$$

onde C<sub>0</sub> (U/mL) é a concentração inicial de β-galactosidase em solução, C<sub>e</sub> (U/mL) é a concentração de equilíbrio da solução, V (mL) é o volume da solução de β-galactosidase, e m (g) é a massa de carvão ativado.

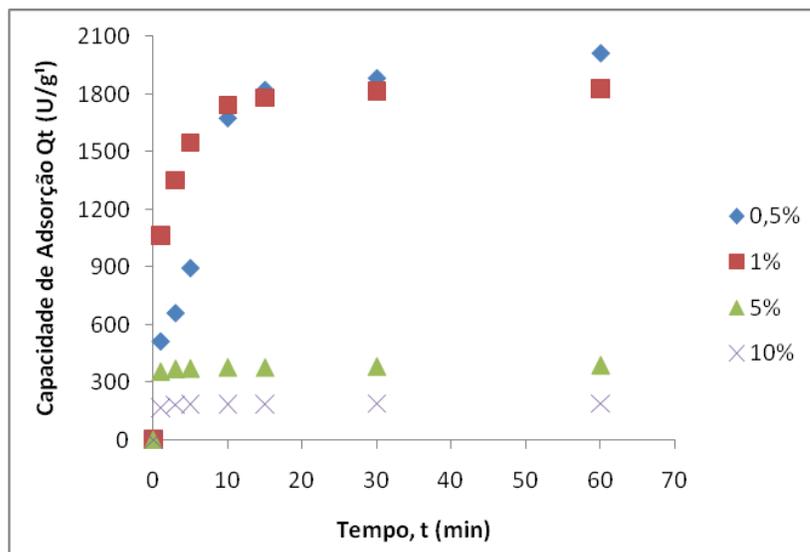
A atividade hidrolítica sobre ONPG por β-galactosidase foi determinada por medição da liberação de o-nitrofenol. A reação foi realizada com agitação contínua num volume de ensaio de 2,0 mL: 1,7 mL de tampão contendo 0,05 M de acetato de sódio, pH 4,5, 0,1 mL de β-galactosidase convenientemente diluída e 0,2 mL de ONPG 0,02 M. A reação foi parada pela adição de 0,5 mL de uma solução 1 M de carbonato de sódio e o o-nitrofenol formado foi medido por espectrofotometria a 420 nm.

Uma unidade (1 U) de β-galactosidase é definida como a quantidade de enzima que libera 1,0 μmol de o-nitrofenol (ε<sub>m</sub> = 4500L/mol cm) por minuto sob as condições de ensaio padrão.<sup>6</sup>

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito da concentração de carvão ativado na capacidade de adsorção é apresentado na Figura 1. Os valores obtidos para a capacidade de adsorção, no equilíbrio (1 h), foram de 2013, 1827, 194 e 378 U/g, para as concentrações de 0,5, 1,0, 5,0 e 10,0%, respectivamente, correspondendo a uma adsorção de 27,8; 51,0; 54,0 e 53,2%; respectivamente. A enzima foi adsorvida rapidamente nos primeiros 30 min, e após este período, não houve alteração significativa. Os resultados obtidos para a concentração de 1,0% são importantes do ponto de vista industrial, pois foi possível obter uma alta quantidade de enzima adsorvida por unidade de massa de adsorvente com elevado percentual de adsorção.

**Figura 1** – Cinética da adsorção para diferentes concentrações de carvão ativado (volume da amostra V = 10 mL; pH inicial = 4,5; temperatura = 30°C).



### CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo mostram que a concentração de carvão ativado influencia na adsorção da  $\beta$ -galactosidase. Para a concentração de 1%, a capacidade de adsorção no equilíbrio foi de 1827 U/g, correspondendo a 51,0% de adsorção. Desta forma, o carvão ativado tratado, um suporte de baixo custo, é promissor para a imobilização de  $\beta$ -galactosidase, através de uma técnica simples e rápida.

### REFERÊNCIAS

- (1) MAHONEY, R.R. Galactosyl-oligosaccharide formation during lactose hydrolysis: a review. **Food Chemistry**, v. 63, n. 2, p.147-154, 1998.
- (2) ALCANTARA, P.H.N.; MARTIM, L.; SILVA, C. O.; DIETRICH, S. M. C.; BUCKERIDGE, M.S. Purification of a beta-galactosidase from cotyledons of *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae): Enzyme properties and biological function. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 44, p. 619-627, 2006.
- (3) COLLAZZO, G.C.; PAZ, D.S.; JAHN, S.L.; CARREÑO, N.L.V.; FOLETTTO, E.L. Evaluation of niobium oxide doped with metals in photocatalytic degradation of leather dye. **Latin American Applied Research**. v. 42, p. 55-60, 2012.
- (4) SANGEETHA, P.T.; RAMESH, M.N.; PRAPULLA, S.G. Fructooligosaccharide production using fructosyl transferase obtained from recycling culture of *Aspergillus oryzae* CFR 202. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 1085-1088, 2005.
- (5) HUSAIN, Q.; ANSARI, S.A.; ALAM, F.; AZAM, A. Immobilization of *Aspergillus oryzae*  $\beta$ -galactosidase on zinc oxide nanoparticles via sample adsorption mechanism. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 49, p. 37-43, 2011.



**Anais do III Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia**  
**Trabalho Completo apresentado na seção: ORAL**

- (6) MANERA, A.P.; ORES, J.C.; RIBEIRO, V.A.; BURKERT, C.A.V.; KALIL, S.J.  
Optimization of the culture medium for the production of  $\beta$ -galactosidase  
from *Kluyveromyces marxianus* CCT 7082. **Food Technology and Biotechnology**, v. 46, p. 66-  
72, 2008.