

## AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE UREASE PARA OBTENÇÃO DE UM PRODUTO BIOCIMENTANTE PARA A CONSTRUÇÃO CIVIL A PARTIR DA SOJA

LUIZA BEATRIZ GAMBOA ARAÚJO MORSelli<sup>1</sup>; LARA ALVES GULLO DO CARMO<sup>2</sup>; MARCOS ANTONIO DA SILVA<sup>3</sup>; GUSTAVO LUÍS CALEGARO<sup>4</sup>; LEONARDO BULBOZ LEAL<sup>5</sup>; ROBSON ANDREAZZA<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas - luiza\_morselli@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – lara.gullo@outlook.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – marcos\_silvap1@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – gustavoccalegaro@gmail.com

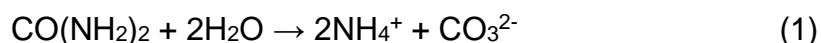
<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – leonardolealbuloz@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – robsonandreazza@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

Embora essencial para o desenvolvimento socioeconômico em âmbito mundial, a indústria cimentícia é conhecida por causar um grande impacto ambiental, tanto na geração de resíduos sólidos como na emissão de gases de efeito estufa. A partir disso, tem-se buscado com mais intensidade novas tecnologias que reduzam esse impacto, mantendo qualidade e eficiência dos produtos. A precipitação de carbonato de cálcio por urease é uma dessas tecnologias que vem ganhando atenção na área de engenharia nas últimas décadas. Bactérias e vegetais podem ser utilizados com o objetivo de precipitação de carbonato de cálcio na geotecnia para estabilização de solos ou unindo materiais inertes, agindo como um biocimentante (GAO et al., 2019).

Presente em leguminosas, como a soja, a enzima urease catalisa a hidrólise de ureia dentro dos poros de materiais como o solo, levando à produção de carbonato de cálcio, que age como ligante dessas partículas (CUCCURULLO et al., 2022). A enzima urease catalisa a reação de hidrólise de ureia e forma íons amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) e íons carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) como produto final, conforme equação 1.



Diversas pesquisas utilizaram a soja para extração da enzima urease (CUCCURULLO et al., 2022; GAO et al., 2020, 2019; HE et al., 2022a, 2022b; SHU et al., 2022) e fabricação de um produto biocimentante ou estabilizante de solos e diques, com variáveis formas de extração e purificação química, como o uso do etanol (LAI et al., 2023). Shu et al. (2022) afirmam que o extrato bruto de urease de soja é uma alternativa econômica e mais eficiente à enzima purificada e às bactérias produtoras de urease, e pode ser utilizado para precipitação de calcita no melhoramento de solos arenosos.

De acordo com Zhang et al. (2023), como obter o melhor efeito de tratamento a partir da urease por soja ainda não está claro na literatura. Tendo isso em vista, objetivou-se avaliar a atividade urease a partir de grãos de soja (*Glycine Max L.*) com e sem etanol para purificação da solução.

### 2. METODOLOGIA

Para avaliação da atividade urease (AU) da soja (*Glycine Max L.*), os grãos foram secos em estufa a 30°C até remoção completa de umidade, moídos mecanicamente em liquidificador e peneirado em dimensões máximas de

0,25mm. O pó, em concentração de 100 g/L, citado na literatura como melhor concentração (ZHANG et al., 2023), foi então utilizado para duas formas de extração sob agitação constante: uma em meio aquoso somente com água destilada, chamada de estrato de soja (ES) e outro com água destilada e 20% de etanol, chamada de extrato de soja com etanol (ESE). Posteriormente, os extratos foram centrifugados a 3.600 rpm por 15 min, e o sobrenadante foi utilizado.

Para avaliação da atividade urease (AU), foram seguidos os procedimentos desenvolvidos por Whiffin et al. (2007), método amplamente aplicado na literatura (CAO et al., 2024; HE et al., 2022a, 2022b). Para isso, mediu-se a variação da condutividade elétrica versus tempo (min) na mistura de cada extrato com solução de 1.11M de ureia na razão de 1:9 (extrato:solução). O monitoramento se deu por 5 min (FAN et al., 2022) e a AU foi obtida através da seguinte equação:

$$UA \text{ (mM/min)} = 11.1 \times 10 \times R_c \quad (1)$$

Onde  $R_c$  é a taxa de variação de condutividade elétrica por minuto; 11.1 é a conversão do coeficiente  $R_c$  e a AU, onde 1 mS/min de  $R_c$  corresponde a 11 mM/min de AU, e 10 é a taxa de diluição da solução preparada.

Posteriormente, analisou-se o pH e a condutividade elétrica conforme o tempo (min) dos extratos brutos ES e ESE na concentração de 100g/L em tubos de ensaio (40 mL) com ureia (60.07 g/mol) sob diversas concentrações finais (0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; 0,3 mol/L). As análises foram realizadas em triplicata.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de AU dos extratos ES e ESE foram  $25,72 \pm 1,27$  (mM/min) e  $21,69 \pm 0,9$  (mM/min), respectivamente. He et al. (2022a) obtiveram AU de  $4.4 \text{ mmol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$  com a concentração de 25 g/L de extrato de soja. Já no extrato com concentrações entre 10-200 g/L a AU variou de 2.2 a 24.9 mM ureia/min, e entre 13 e 14 mM ureia/min para 100g/L, na pesquisa de He et al. (2022b). Os autores afirmam que a relação entre a AU e a concentração da soja é aproximadamente linear. Cao et al. (2024) encontraram AU de 5,2 mM/min para 40 g/L soja. Considerando a AU por g de soja, o ES e o ESE obtiveram 0,26 e 0,22 mM ureia/min/g, respectivamente. Valores acima dos aproximadamente 0,13 mM ureia/min por g de soja do estudo de He et al. (2022b).

A reação de precipitação de  $\text{CaCO}_3$  é uma reação pH-dependente forte, onde o aumento da concentração de  $\text{CO}_3^{2-}$  ocorre sob condições alcalinas (ACHAL; PAN, 2014). Quando a enzima urease entra em contato com a solução de ureia, os íons amônio iniciam a reação como amônia ( $\text{NH}_3$ ), no entanto quando reage com a água, libera íons hidroxila ( $\text{OH}^-$ ), tornando o pH mais alcalino. Na Figura 1a é possível observar a elevação do pH com o tempo, atingindo estabilidade a partir de 100 min, confirmando a atividade urease. O ESE manteve um pH final levemente superior ao ES. O pH inicial das soluções foi entre 6 e 7 (Figura 1a), intervalo dentro do estabelecido pela literatura para melhores resultados de atividade urease (FAN et al., 2022; SHU et al., 2022).

Com relação à condutividade elétrica das amostras, observa-se claramente na Figura 1b, que o extrato sem etanol (ES) atingiu os maiores valores de condutividade, ao tempo próximo dos 100 min, comparando às soluções com ESE. A extração com 20% de etanol (ESE) ainda obteve uma AU menor do que o extrato sem etanol (ES). O que se permite concluir que o etanol não demonstrou

melhorar a solução urease, como foi o caso do estudo de Lai et al. (2023), os quais obtiveram melhor desempenho com etanol no extrato.

Ainda na Figura 1b, observa-se que a melhor concentração de ureia para o ES foi de 0,2 mol/L, o que corrobora com a literatura (GAO et al., 2020, 2019). Gao et al. (2020; 2019) na avaliação do extrato de soja com 40 e 130g/L, utilizaram as concentrações de 0,1; 0,2; 0,4; e 1,0 mol/L de ureia, e o melhor resultado foi com 0,2 mol/L. Já, na pesquisa de Cuccurullo et al. (2022), o extrato com 100g/L demonstrou melhor condutividade elétrica com 2,5 mol/L de ureia.

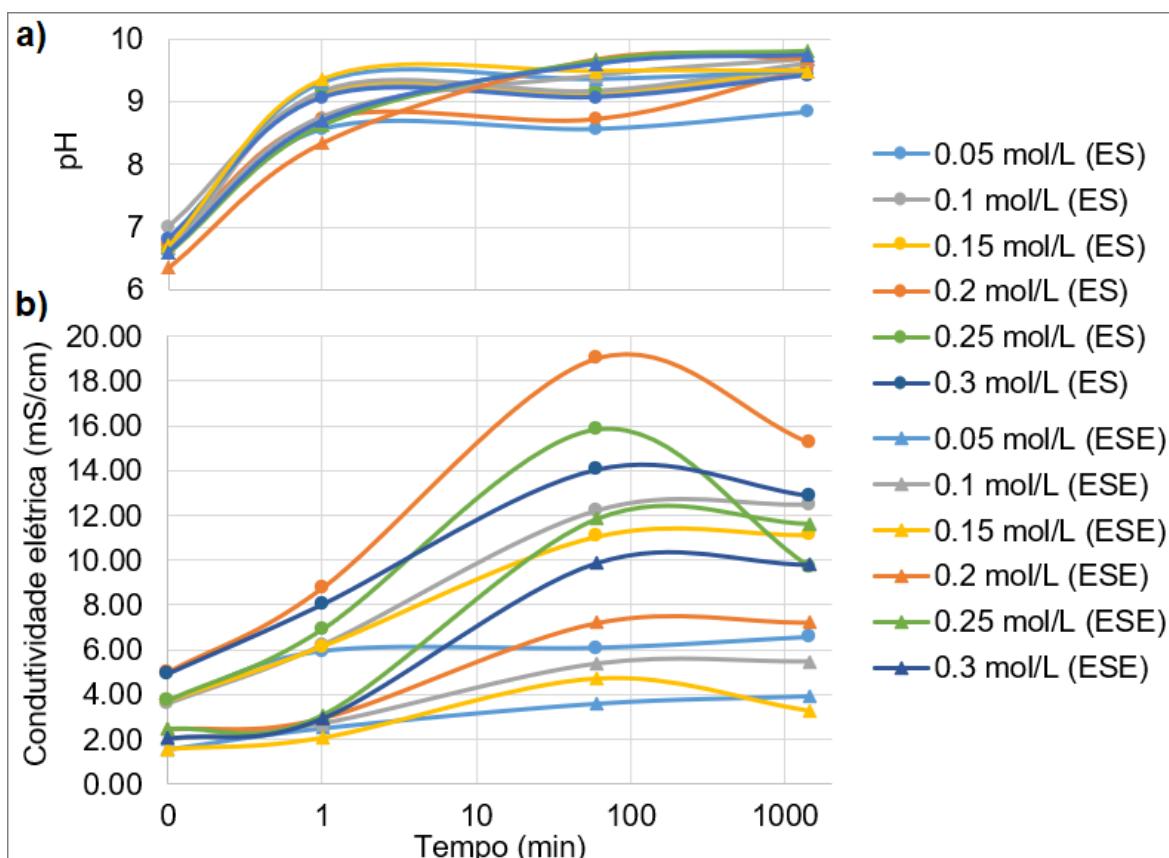


Figura 1: Gráficos de pH a), e condutividade elétrica b), versus tempo (min), dos extratos ES e ESE sob diferentes concentrações de ureia.

#### 4. CONCLUSÕES

As avaliações de atividade urease são de grande importância para estudos prévios de viabilidade de obtenção de um produto biocimentante sustentável para aplicação na construção civil. Os resultados demonstraram que o uso de etanol na extração da enzima urease não foi efetivo na condutividade elétrica e na atividade urease calculada. A concentração de ureia para a atividade enzimática foi de 0,2 mol/L com 100 g/L de soja em pó. Futuras pesquisas podem ser continuadas com aplicação da solução biocimentante em solos para estabilização dos mesmos, areia ou resíduos inertes para fabricação de produtos sem cimento Portland ou cal, reduzindo o impacto ambiental da construção civil.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHAL, V.; PAN, X.. Influence of calcium sources on microbially induced calcium carbonate precipitation by *Bacillus* sp. CR2. *Applied Biochemistry and*

**Biotechnology**, v. 173, n. 1, p. 307–317, 2014. DOI: 10.1007/s12010-014-0842-1.

CAO, G.; MA, L.; NGO, I.; OSEMUDIAMHEN, A. E.; GUO, Z.. Experimental Investigation on the Combination of Enzyme-Induced Calcium Carbonate Precipitation and Organic Materials for Underground Backfilling Preparation. **Minerals**, v. 14, n. 2, 2024. DOI: 10.3390/min14020153.

CUCCURULLO, A.; GALLIPOLI, D.; BRUNO, A. W.; AUGARDE, C.; HUGHES, P.; LA BORDERIE, C. Earth stabilisation via carbonate precipitation by plant-derived urease for building applications. **Geomechanics for Energy and the Environment**, v. 30, p. 100230, 2022. DOI: 10.1016/j.gete.2020.100230.

FAN, Y.; DU, H.; WEI, H.; ZHAO, T.. Experimental Study on Urease Activity and Cementation Characteristics of Soybean. **Journal Wuhan University of Technology, Materials Science Edition**, v. 37, n. 4, p. 636–644, 2022. DOI: 10.1007/s11595-022-2578-z.

GAO, Y. F.; MENG, H.; HE, J.; QI, Y. S.; HANG, L.. Field trial on use of soybean crude extract for carbonate precipitation and wind erosion control of sandy soil. **Journal of Central South University**, v. 27, n. 11, p. 3320–3333, 2020. DOI: 10.1007/s11771-020-4549-x.

GAO, Y.; HE, J.; TANG, X.; CHU, J.. Calcium carbonate precipitation catalyzed by soybean urease as an improvement method for fine-grained soil. **Soils and Foundations**, v. 59, n. 5, p. 1631–1637, 2019. DOI: 10.1016/j.sandf.2019.03.014.

HE, J.; FANG, C.; MAO, X.; QI, Y.; ZHOU, Y.; KOU, H.; XIAO, L.. Enzyme-Induced Carbonate Precipitation for the Protection of Earthen Dikes and Embankments Under Surface Runoff: Laboratory Investigations. **Journal of Ocean University of China**, v. 21, n. 2, p. 306–314, 2022. a. DOI: 10.1007/s11802-022-4821-9.

HE, J.; YANG, F.; QI, Y. S.; FANG, C. H.; YAN, B. Y.; ZHANG, Y.; HANG, L.; GAO, Y. F.. Improvement in silty sand with enzyme-induced carbonate precipitation: laboratory model experiment. **Acta Geotechnica**, v. 17, n. 7, p. 2895–2905, 2022. b. DOI: 10.1007/s11440-021-01361-z.

LAI, H. J.; CUI, M. J.; WU, S. F.; YANG, Y.; CHU, J.. Extraction of crude soybean urease using ethanol and its effect on soil cementation. **Soils and Foundations**, v. 63, n. 3, p. 101300, 2023. DOI: 10.1016/j.sandf.2023.101300.

SHU, S.; YAN, B.; GE, B.; LI, S.; MENG, H.. Factors Affecting Soybean Crude Urease Extraction and Biocementation via Enzyme-Induced Carbonate Precipitation (EICP) for Soil Improvement, **Energies**, v. 15, n. 15, p. 5566, 2022. DOI: 10.3390/en15155566.n. 1, 2022.

WHIFFIN, V. S.; VAN PAASSEN, L. A.; HARKES, M. P.. Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. **Geomicrobiology Journal**, v. 24, n. 5, p. 417–423, 2007. DOI: 10.1080/01490450701436505.

ZHANG, J.; YIN, Y.; SHI, W.; BIAN, H.; SHI, L.; WU, L.; HAN, Z.; ZHENG, J.; HE, X.. Strength and uniformity of EICP-treated sand under multi-factor coupling effects. **Biogeotechnics**, v. 1, n. 1, p. 100007, 2023. DOI: 10.1016/j.bgtech.2023.100007.