

DESENVOLVIMENTO DE ADSORVENTES MONOLÍTICOS POLIMÉRICOS PARA APLICAÇÃO NA PURIFICAÇÃO DE BIOCOMPOSTOS POR TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS.

Anne Mikaelle Vaz Araújo Costa¹, Rafael da Costa Ilheu Fontan²

RESUMO: Técnicas cromatográficas são as mais importantes no desenvolvimento de processos de purificação de biocompostos, compondo em média de duas a três etapas destes. A demanda das indústrias de alimentos e farmacêutica por biocompostos ativos é crescente, buscando-se, portanto, o emprego de técnicas que mantenham ao máximo a bioatividade dos mesmos. Devido a isso, o desenvolvimento de novos adsorventes e sua aplicação é constante. Entre os novos adsorventes, os monolíticos macroporosos vem ganhando destaque por necessitar de um menor número de etapas nos processos de purificação. Uma das técnicas aplicadas para a purificação em etapas intermediárias do processo envolve o uso de interação hidrofóbica, realizada em meio aquoso sem agredir biocompostos. Enzimas são biocompostos macromoleculares de interesse em diversos segmentos industriais e bons candidatos à purificação utilizando-se essa técnica, dadas as regiões hidrofóbicas diferenciadas existentes em sua estrutura. Assim, pretende-se avaliar o uso de um novo adsorvente para interação hidrofóbica na purificação de enzimas de origem vegetal.

Palavras-chave: Anilina, criogel, purificação

TITLE: DEVELOPMENT OF POLYMERIC MONOLYTIC ADSORVENTS FOR APPLICATION IN BIOCOMPOSITE PURIFICATION BY CHROMATOGRAPHICAL TECHNIQUES

ABSTRACT: Chromatographic techniques are the most important in the development of purification processes of biocompounds, composing on average two to three steps of these. The demand for active biocompounds by the food and pharmaceutical industries is increasing, and therefore the use of techniques that maintain the maximum bioactivity of the same is being sought. Due to this, the development of new adsorbents and their application is constant. Among the new adsorbents, the monolithic macroporous have been gaining prominence by requiring a smaller number of steps in the purification process. One of the techniques applied for purification in intermediate steps of the process involves the use of hydrophobic interaction, performed in aqueous media without harming biocompounds. Enzymes are macromolecular biocomposites of interest in various industrial segments and good candidates for purification using this technique, given the different hydrophobic regions existing in their structure. Thus, we intend to evaluate the use of a new adsorbent for hydrophobic interaction in the purification of enzymes of plant origin

Keywords: Aniline, cryogel, purification

¹Graduanda em Engenharia de Alimentos, Laboratório de Engenharia de Processos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Estrada Itapetinga/Itambé, s/n, Itapetinga-BA, 45700-000.

²Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa, Brasil (2013) Professor Adjunto da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga-BA, Brasil, 45700-000.

INTRODUÇÃO: Os significativos avanços tecnológicos na Biotecnologia, especialmente devido a manipulações genéticas de microorganismos, tornam possíveis a produção de proteínas e outros biomateriais de interesse industrial, por meio de processos fermentativos. O método de imobilização tem como princípio a interação física de moléculas de interesse com um suporte, para que esse conjunto possa interagir seletivamente com biomoléculas a serem purificadas. Essa tecnologia tem por finalidade facilitar a separação entre a biomolécula e os demais constituintes da solução aquosa, além de melhorar a estabilidade do suporte para seu reuso em aplicações contínuas, com efeito positivo no processo econômico (SANTOS, 2017). Apesar das vantagens que a técnica cromatográfica (criogel) apresenta, a sua eficiência é limitada quando se leva em conta a área superficial da estrutura. Portanto, modificações químicas ou físicas, podem ser feitas visando aumentar a eficiência dos processos de separação (YAO et al., 2007; YUN et al., 2007; WANG et al., 2008). o presente trabalho visa à produção de estruturas adsorventes macroporosas hidrofóbicas. Para tornar possível a imobilização das proteínas propõe-se a ativação do criogel através da funcionalização com butilamina associado ao uso de cloreto de sódio em contato com a solução de proteína a fim de provocar efeito “salting-out”.

MATERIAIS E MÉTODOS: A síntese dos criogéis foi realizada através da polimerização da Acrilamida e bis-acrilamida, a 7%. Foram adicionados ao balão, em banho de gelo, APS e TEMED como agentes catalisadores. Passadas as 24h, os criogéis foram submetidos à temperatura de -4°C em geladeira por 8h, e depois encaminhados à estufa com uma temperatura de aproximadamente 60°C por volta de 7 dias para obtenção de peso constante e estrutura porosa, em seguida foram lavados para a remoção dos monômeros e depois fez-se a padronização do tamanho dos criogéis. A caracterização das colunas consistiu em avaliar o peso e o volume dos criogéis a fim de determinar a capacidade de inchamento (S), grau de expansão (ED) e porosidade (P). Coletou-se as massas dos monólitos em situações distintas: pós estufa (ms), pós dessecador (md), monólito hidratado (mh), remoção parcial da água (me). A ativação por gluteraldeído por Kumar et al (2003) e etilamina foram etapas feitas por agitação, exceto a do boroidreto. Os criogéis foram colocados em contato com 20 mL de álcool metílico por 2 horas. Posteriormente, foram mantidos em contato com 20 mL de água destilada, seguido de contato com tampão fosfato de sódio 0,05 mol/L pH 6 (20 mL), ambos com tempo de contato de 1 hora. Na sequência os criogéis foram expostos a 20mL da solução de ligante anilina, a 10mg/mL no tampão fosfato de sódio pH 6,0 durante 14 horas. Após esse período de contato, as colunas foram imersas em 20 mL de tampão fosfato de sódio pH 6,0 durante 1 hora e posteriormente colocadas em 20 mL de solução de borohidreto de sódio 0,1 mol/L em tampão fosfato de sódio pH 6, por 1 hora (sem agitação). Por fim, foram lavados com 20 mL de água destilada, por 1 hora. Após a ativação os criogéis foram colocados em estufa a 60°C .

RESULTADO E DISCUSSÃO: A polimerização ocorreu como planejado, pois os criogéis apresentaram aspecto visual satisfatório em sua grande maioria. Os resultados apontaram um grau de porosidade elevado, portanto satisfatório, no qual foi possível obter um criogel com uma elevada fração de macroporos, que reflete em bons resultados de adsorção. Os criogéis produzidos foram avaliados com relação à capacidade adsortiva, usando-se BSA como proteína modelo. Verificou-se uma capacidade adsortiva de 31,77 mg de BSA por grama de criogel, valor compatível com o observado em outros trabalhos.

CONCLUSÃO: Foi possível a produção de funcionalização de matrizes cromatográficas para uso por interação hidrofóbica. Os resultados obtidos até o momento indicam que essas matrizes são promissoras, com potencial para o uso na purificação de proteínas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

SANTOS, C.M.S. PURIFICAÇÃO DE LECTINAS DE SEMENTES. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENGENHARIA DE ALIMENTOS. 2017. Dissertação de mestrado. UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA.

JUNG, W.-K.; PARK, P.-J.; KIM, S.-K. (2003). The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, v.35, 255-265.