

Determinação de Isotermas de adsorção de albumina do soro bovino em DEAE-TOYOPEARL

Flavia N. Braga*, Gisele L. Pavan, Sonia M. A. Bueno.

Resumo

O objetivo deste projeto foi estudar a adsorção da albumina de soro bovino (BSA) em DEAE Toyopearl®. Os experimentos de adsorção foram realizados em batelada a diferentes concentrações de BSA em tampão Tris-HCl pH 7,0. Modelos de isotermas de adsorção tais como Langmuir, Freundlich, Langmuir-Freundlich e Temkin foram utilizados para descrever os dados de adsorção no equilíbrio, sendo que o modelo de Freundlich foi o que representou melhor os dados experimentais.

Palavras-chave:

Adsorção, proteína, cromatografia de troca iônica.

Introdução

Albumina do soro bovino (BSA) é uma proteína de massa molar de 66,5 kDa e ponto isoelétrico 4,7, muito utilizada em testes do tipo ELISA e *immunoblot*. O objetivo desse trabalho foi estudar a adsorção de albumina de soro bovino (BSA) no adsorvente DEAE Toyopearl®, utilizando BSA como proteína modelo. Parâmetros importantes para a ampliação de escala foram calculados através de ajustes dos modelos Langmuir, Freundlich, Langmuir-Freundlich e Temkin aos dados experimentais.

Resultados e Discussão

As isotermas de adsorção foram determinadas por meio de experimentos em batelada, em tubos do tipo Eppendorf, em duplicata, na temperatura ambiente e com soluções de BSA de alta pureza (Sigma-Aldrich, EUA). Em cada tubo, 50 µL de DEAE-Toyopearl foram equilibrados com tampão de adsorção (25 mM Tris-HCl pH 7,0). Esgotado o tampão, foi adicionado 1,0 mL de solução de BSA em tampão de adsorção em diferentes concentrações, de 0,50 a 4,83 mg mL⁻¹. Os tubos foram deixados em agitação orbital durante uma hora (tempo para atingir o equilíbrio). Após este tempo, o sobrenadante foi analisado pelo método de Bradford¹ para o cálculo da concentração de BSA no equilíbrio (C*). A massa de proteína adsorvida por grama de adsorvente no equilíbrio (Q*) é calculada por: $Q^* = (C - C^*)V/M$, no qual C é concentração inicial de BSA adicionada no tubo (mg mL⁻¹), V o volume adicionado no tubo (mL) e M o volume de adsorvente (mL). Os modelos testados para descrever os dados de adsorção no equilíbrio foram Langmuir, Freundlich, Langmuir-Freundlich e Temkin. O modelo de Langmuir-Freundlich não apresentou convergência para os dados experimentais (Tabela 1).

Tabela 1. Ajustes dos parâmetros dos modelos² de isoterma de adsorção de BSA em DEAE-Toyopearl® a 27°C

Modelo	Equação	Parâmetros	R ²
Freundlich	$Q^* = KC^{*\eta}$	$K = 29,0 \pm 0,3$ $\eta = 0,17 \pm 0,01$	0,993
Langmuir	$Q^* = \frac{Q_m \cdot C^*}{K_d + C^*}$	$Q_m = 33,6 \pm 1,7 \text{ mg ml}^{-1}$ $K_d = 0,08 \pm 0,03 \text{ mg ml}^{-1}$	0,871
Temkin	$Q^* = Q_t \cdot \ln(1 + K_t C^*)$	$Q_t = 3,6 \pm 0,3 \text{ mg ml}^{-1}$ $K_t = (4,0 \pm 2,8) \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}$	0,972

As curvas ajustadas estão apresentadas na Figura 1.

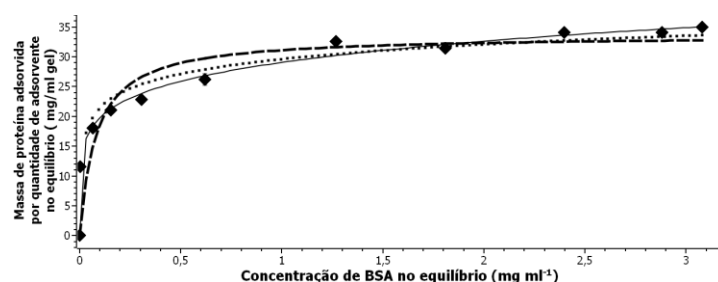


Figura 1. Isoterma de adsorção de BSA em DEAE-Toyopearl® a 27°C. Curvas ajustadas utilizando os modelos de Freundlich (linha contínua), Langmuir (linha tracejada), e Temkin (linha pontilhada).

Conclusões

O modelo de isoterma de adsorção que representou melhor o conjunto de dados experimentais de adsorção de BSA em DEAE-Toyopearl foi o de Freundlich, apresentando o maior coeficiente de correlação (R² = 0,993).

Agradecimentos

À Gisele Luíza Pavan e à Prof^a. Dra. Sônia Maria Alves Bueno por toda a ajuda, ensinamentos e orientação e ao Prof. Dr. Reginaldo Guirardello pelo auxílio nos testes de modelos de isoterma. Ao CNPq pela bolsa concedida e oportunidade de desenvolvimento do trabalho.

¹ 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.

² K.Y. FOO, B.H. HAMEED. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. *Chemical Engineering Journal*, v. 156, n. 1, p. 2-10, 2010.