



RECUPERAÇÃO DE BROMELINA POR ADSORÇÃO VIA MEMBRANA DE AFINIDADE Densa DE PVA

ABREU, D.C.A¹ e FIGUEIREDO, K.C.S¹

¹ Universidade Federal de Minas Gerais

E-mail para contato do autor apresentador: danielly.abreu@yahoo.com.br

RESUMO EXPANDIDO

A produção comercial da bromelina (BR) envolve várias etapas, mas os processos de isolamento e purificação são os mais caros, correspondendo até 90% dos custos totais (SOARES *et al.*, 2012). A BR é uma enzima que pode ser obtida do abacaxi, incluindo suas partes consideradas como resíduos e apresenta alto valor comercial (NOR *et al.*, 2015). Os processos de separação por membranas aparecem como um método atrativo para a purificação, como é o caso das membranas de afinidade, que são caracterizadas pela alta seletividade. No entanto, há poucos estudos sobre a aplicação dessa membrana na separação de BR. Por isso, o objetivo desse trabalho foi o de preparar membranas de afinidade densas através da modificação superficial de membranas de poli (álcool vinílico) (PVA) produzidas em laboratório e aplicá-las na adsorção dessa enzima. Além disso, objetivou-se avaliar a atividade enzimática (AE) da BR antes e após os processos de adsorção e dessorção, uma vez que essa é a característica mais importante que garante a aplicação da enzima.

As membranas densas foram sintetizadas através da mistura de 200 mL de PVA 2% m/m, preparada a 95°C, com 0,8 g de solução de glutaraldeído (GA) 5% m/m, sendo os filmes secos a 40°C por 48 h. Essas membranas foram então modificadas através da imersão em soluções de GA e de azul de Coomassie (AC), $1,96 \times 10^{-5}$ mol.mL⁻¹ e 10 g.L⁻¹ pH 5, respectivamente, por 24 h, sendo secas posteriormente a 26°C. Para o teste de adsorção de BR, 100 mL de solução 2 mg.mL⁻¹ dessa enzima, preparada com BR padrão do caule, em pH 6,5, foi colocada em contato com a membrana por 3 h a 37°C e as concentrações de proteína no início e fim do experimento foram medidas pelo método de Bradford, assim como a atividade enzimática (AE), pelo método da hidrólise da caseína. Utilizando-se a mesma membrana submetida ao processo de adsorção e as mesmas análises, o teste de dessorção foi conduzido em banho a 45°C por 24 h em pH 8,0. Essa condição escolhida foi baseada no intervalo de pH em que a BR do caule é estável e em um resultado preliminar que mostrou que o ponto isoelétrico da membrana produzida era de aproximadamente 6,0.

Os resultados do teste de adsorção e dessorção de BR são apresentados na Tabela 1. Por meio deles, foi possível verificar uma adsorção e dessorção de 6% de BR, com redução da AE enzimática em U.mL⁻¹. No entanto, ao se calcular a AE específica, verifica-se que essa aumenta de forma muito significativa de 76,7 para 989,1 U.mg⁻¹, indicando que a quantidade dessorvida é pequena, mas que essa parcela dessorvida apresenta expressiva atividade. Esse aumento considerável na atividade específica ocorreu pois a concentração proteica medida na amostra após dessorção foi pequena. Uma justificativa para isso pode ser a influência do polietilenoglicol (PEG) na medição da

proteína pelo método de Bradford nas amostras inicial e após adsorção. Para aplicações na indústria alimentícia, a BR é comercializada com AE específica de 750 a 1600 U.mg⁻¹ (NOR *et al.*, 2015).

Tabela 1- Resultados para o teste de adsorção e dessorção da bromelina.

Solução	Massa de BR adsorvida (mg) por massa de membrana (g)	Massa de BR dessorvida (mg) por massa de membrana (g)	AE (U/mL)	AE específica (U/mg)
Inicial	1,7	---	24,69	76,7
Após adsorção		0,1	24,54	81,4
Após dessorção	---			1,32

Pelo fato da BR se ligar, provavelmente, com a membrana de forma eletrostática, pode-se supor que a condição empregada não foi suficiente para a total dessorção, uma vez que a BR do caule tem ponto isoelétrico de 9,55 e o pH empregado foi de 8,0. Zhang *et al.* (2010) estudaram a adsorção de BR em membrana de afinidade de nanofibra de poliacrilonitrila, obtida por métodos mais sofisticados, com área significativamente superior a que é utilizada aqui e conseguiram adsorver 35,2 mg.g⁻¹ contra 1,7 mg.g⁻¹ deste trabalho. No processo de dessorção, esses autores conseguiram dessorver praticamente toda a BR, mas às custas de condições mais severas utilizando NaSCN e ureia e a atividade enzimática não é verificada, o que dificulta a comparação.

Os resultados mostraram que a membrana de afinidade sintetizada apresenta potencial para a adsorção de bromelina, mas o baixo valor de adsorção indicou que aprimoramentos no desenvolvimentos da membrana podem ainda ser propostos para aumentar esse percentual. A dessorção também foi baixa, mas os resultados indicaram que a atividade enzimática é mantida de forma expressiva, mesmo após a dessorção.

PALAVRAS-CHAVE: Membrana; Afinidade; Bromelina.

REFERÊNCIAS

NOR, M.Z.M.; RAMCHANDRAN, L.; DUKE, M.; VASILJEVIC, T. Characteristic properties of crude pineapple waste extract for bromelain purification by membrane processing. *J Food Sci Technol.*, v.52, p. 7103-7112, 2015.

SOARES, P.A.G.; VAZ, A.F.M.; CORREIA, M.T.S.; PESSOA JR., A; CARNEIRO-DA-CUNHA, M.G. Purification of bromelain from pineapple wastes by ethanol precipitation. *Separation and Purification Technology*, v. 98, p. 389-395, 2012.

ZHANG, H.; NIE, H.; YU, D.; WU, C.; ZHANG, Y.; WHITE, C.J.B.; ZHU, L. Surface modification of electrospun polyacrylonitrile nanofiber towards developing an affinity membrane for bromelain adsorption. *Desalination*, v. 256, p. 141-147, 2010.