

ADSORÇÃO DE IMUNOGLOBULINAS G EM SILICAS MESOPOROSAS DO TIPO SBA 15

T. N. B. RODRIGUES¹, S. O. SANTOS, D. R. GONDIM¹, E. V. GARCIA², J. A. CECÍLIA²,
E. R. CASTELON², D. C. S. AZEVEDO¹ e I. J. da SILVA JÚNIOR¹

¹ Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia Química

² Universidad de Malagá, ES

E-mail para contato: Ivanildo@gpsa.ufc.br

RESUMO – O presente trabalho teve como objetivo sintetizar sílicas mesoporosas do tipo SBA 15 com e sem zircônio, a fim de avaliar a adsorção da proteína IgG (Imunoglobulinas do isotipo G) nesses materiais. O SBA 15 foi sintetizado através do tratamento hidrotérmico e incorporado com zircônio em três diferentes razões molares de Si/Zr (5, 10 e 20). Os ensaios em bateladas consistiram na avaliação da influência do pH, na cinética e isoterma de adsorção. Os resultados mostraram que a adsorção de IgG foi influenciada pelo pH, sendo o pH 7,0 o de maior adsorção em tampão fosfato de sódio 25 mM. O tempo de equilíbrio foi de 2 h com o SBA 15 sem zircônio e 7 h para os outros três materiais com zircônio. E o adsorvente SBA 15 sem zircônio apresentou a maior quantidade máxima de adsorção de IgG. O modelo de Langmuir se ajustou bem aos dados experimentais.

1. INTRODUÇÃO

As SBA-15 são materiais mesoporosos com estrutura altamente organizada à base de silicatos compostas por uma rede de canais e poros com arranjo hexagonais. Em geral, apresentam poros com tamanhos bem definidos na escala nanométrica, além de estabilidade térmica e hidrotérmica (**Tsoncheva et al., 2006**).

É conferida as SBA's a possibilidade de manipulação química e alteração de sua superfície de forma seletiva, tornando favorável seu uso em processos de adsorção, catálise, nanotecnologia. O controle de algumas propriedades, tais como fases nanométricas e organização da mesoestrutura, fornecem ao material uma diversidade de aplicações e funcionalidades (**Santos, 2013**).

A grande aplicabilidade da proteína Imunoglobulina do isotipo G (IgG) em tratamentos de câncer, doenças infecciosas, entre outras, exige um alto grau de pureza e uma quantidade significativa da proteína (**Burnouf et al., 2001**). As técnicas utilizadas para os processos de bioseparação tem por objetivo alcançar a pureza e a recuperação necessárias aliadas ao não comprometimento da atividade das proteínas.

Devido a sua capacidade de permitir alterações em sua química superficial (**Tsoncheva et al., 2006**) aliadas a característica de incorporar moléculas orgânicas, a SBA-15 foi utilizada no estudo da adsorção dessa proteína.

Este trabalho possuiu como objetivo analisar quais as circunstâncias em que a adsorção da proteína seria favorecida e qual a influência da inserção de zircônio, em diferentes proporções, à SBA-15. Foram realizados estudos de pH, cinética e isoterma de adsorção com a proteína IgG em batelada.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

Imunoglobulinas do isotipo G (IgG) obtidos da Sigma-Aldrich (EUA). Os outros reagentes utilizados foram de grau analítico e para o preparo das soluções foi utilizado água ultrapura MiliQ (Milipore, EUA).

2.2. Síntese da SBA-15

A síntese das sílicas mesoporosas do tipo SBA 15 com diferente acidez foi realizada conforme metodologia descrita por **Fluvio et al. (2005)** com algumas modificações. Inicialmente, o plurônio (P123) foi dissolvido em HCl 1,7 M sob agitação magnética até dissolução completa do plurônio, em seguida o trimetilbenzeno (TMB) foi adicionado. Após 30 minutos de agitação, foi incorporada a fonte de sílica (TEOS) e de zircônio (propóxido de zircônio, $\text{Zr}(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)_4$), gota a gota. O material foi preparado variando a razão molar de Si/Zr de 20, 10 e 5. Quanto menor a razão maior quantidade de zircônio em relação a silício. O processo manteve-se sob agitação durante 24 h a 40 °C. Para o tratamento hidrotérmico, os materiais foram transferidos para um autoclave e aquecida a 100 °C durante 72 h. No final do processo realizou-se a calcinação do material sob a temperatura de 550 °C por 6 h com uma taxa de aquecimento de 1 °C/min.

2.3. Métodos

Efeitos do pH, cinética e isoterma de adsorção: Para a realização dos ensaios de adsorção foi utilizado um sistema de agitação rotatório (TECNAL, modelo TE-165) a 18 rpm. Os ensaios foram realizados em duplicata, a uma temperatura de 22°C. Foram postos em tubos de acrílico, juntamente com 3ml de solução, 15 mg de SBA-15 (sem Si/Zr e com Si/Zr nas proporções 5, 10 e 20). A faixa de pH estudada foi de 4,0 a 8,0, utilizando os tampões acetato de sódio e fosfato de sódio, com molaridade de 25 mM. Permanecendo sob agitação por duas horas, para a cinética de adsorção foi utilizada a concentração de 1mg/mL de IgG e o tempo de análise variou de 5 a 480 min. Para a isoterma de adsorção foram utilizadas concentrações de proteína 0,5 a 6,0 mg/mL. Em seguida, as amostras foram coletadas e postas para centrifugar em uma microcentrífuga (CT-15000R CIENTEC) por 10 min com rotação igual a 10000 rpm e a absorbância de cada amostra foi lida. A partir de uma curva de

calibração previamente obtida, esses valões de absorbância foram convertidos para concentração.

Modelos de ajuste: Foi utilizado o modelo de ajuste de Langmuir representado pela equação 1. O modelo de Langmuir fornece os parâmetros de ajuste: quantidade máxima de adsorção (Q_{MAX}) e a constante " K_D " que indica a afinidade da biomolécula pelo adsorvente.

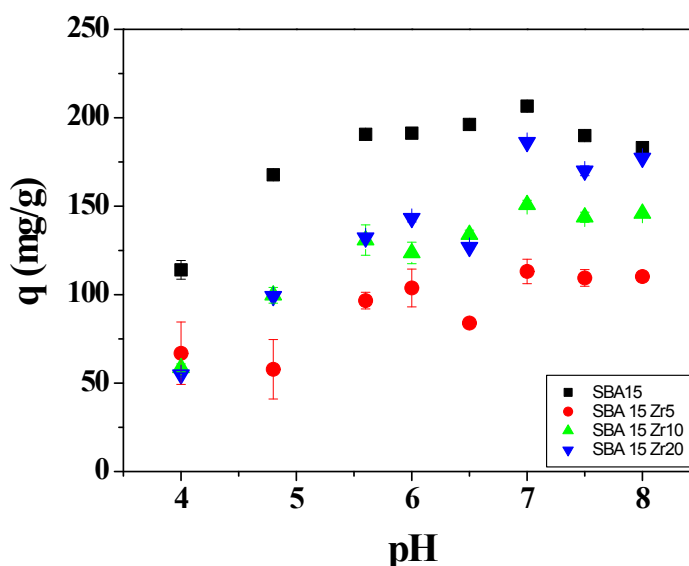
$$q = \frac{Q_{MAX} C_{EQ}}{K_D + C_{EQ}} \quad (1)$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Estudo do pH e cinética de adsorção

A adsorção de IgG nos quatro materiais (SBA 15, SBA 15 - Zr5, SBA 15 - Zr10 e SBA 15 - Zr20) foram estudadas nos tampões acetato e fosfato de sódio 25mM. Importante lembrar que o ponto isoelétrico (pI) é o pH onde há um balanceamento de cargas igualitário da proteína e normalmente, nesse pH ocorre a maior adsorção. Para a proteína IgG o pI é variável entre 6,3 e 9,0 (**Bresolin *et al.*, 2010**). Os ensaios em batelada foram realizados com intuito de avaliar a influência do pH na adsorção da IgG nos diferentes materiais mesoporosos e definir sob quais condições ocorre a maior adsorção, como pode ser observado na **Figura 1**.

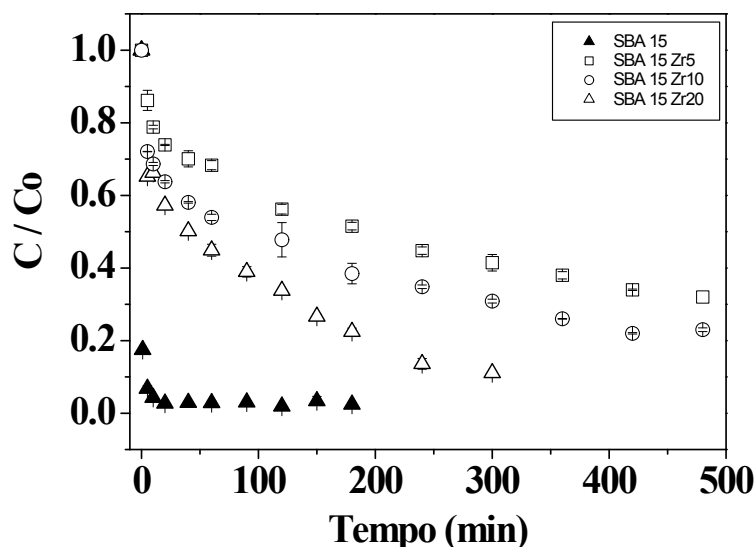
Figura 1 – Influência do pH na adsorção de IgG com os materiais: SBA 15, SBA 15 Zr-5, SBA 15 Zr-10 e SBA 15 Zr-20.



Verificou-se que a quantidade de IgG adsorvida nos quatro materiais aumentou com o aumento do pH, sendo que no pH 7,0, com o tampão fosfato de sódio, ocorreu a maior quantidade adsorvida de IgG em todos os materiais utilizados. Portanto, fixou-se esse pH (7,0) para os ensaios de cinética e isoterma de adsorção. Observou-se que o SBA 15 sem zircônio apresentou maior quantidade adsorvida de IgG (em pH 7,0), em torno de, 206,6 mg/g, enquanto que a quantidade adsorvida dos outros três materiais foram 113,1, 150,8 e 186,2 mg/g, respectivamente para SBA 15 Zr-5, SBA 15 Zr-10 e SBA 15 Zr-20.

A Figura 2 apresenta a cinética de adsorção de IgG nos quatro materiais estudados. Observou-se que com o SBA 15 sem zircônio a adsorção ocorre rapidamente alcançando o equilíbrio em apenas 1 h. Para os SBA's 15 acrescido com zircônio verificou-se uma adsorção mais lenta necessitando de aproximadamente 7 h para alcançar o equilíbrio. Portanto, para os ensaios de isoterma de adsorção fixou-se o tempo de 2 h para o SBA 15 e 7 h para os três materiais (SBA 15 Zr-5, SBA 15 Zr-10 e SBA 15 Zr-20) com zircônio.

Figura 2 – Perfil da cinética de adsorção de IgG com quatro materiais em tampão fosfato de sódio pH 7,0.

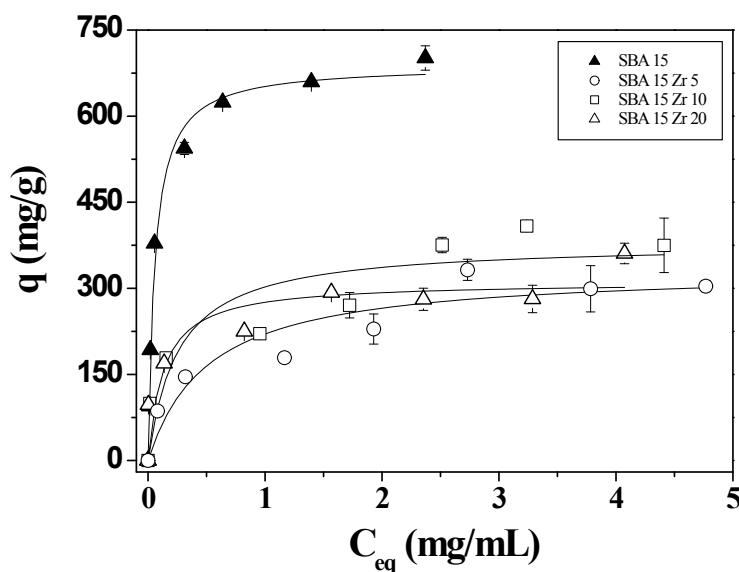


3.2. Isoterma de Adsorção

A Figura 3 apresenta os perfis de isoterma de adsorção de IgG nos quatro materiais. Observou-se que o SBA 15 sem zircônio teve maior quantidade adsorvida de IgG com relação aos materiais com zircônio. Outra informação importante obtida pelas isotermas de adsorção foi que à medida que aumentou a quantidade de zircônio no SBA 15 a quantidade de IgG adsorvida foi diminuindo. A quantidade adsorvida de IgG dos três materiais seguiu a seguinte sequência: SBA 15 Zr-5 < SBA 15 Zr-10 < SBA 15 Zr-20. De acordo com os parâmetros de ajuste encontrados com o modelo de Langmuir a quantidade máxima com SBA 15 sem

átomos de zircônio foi de 688,9 mg/g e para os materiais com zircônio a quantidade máxima de adsorção ficou 350 mg/g, como pode ser observado na Figura 3.

Figura 3 – Perfis da Isoterma de adsorção de IgG em SBA 15 e SBA 15 com zircônio (SBA 15 Zr-5, SBA 15 Zr-10 e SBA 15 Zr-20).



4. CONCLUSÃO

Diante dos ensaios realizados e dos dados obtidos, concluiu-se que a modificação da acidez da SBA-15 influenciou na adsorção da proteína. O seu aumento desfavoreceu a adsorção de IgG. A adsorção também sofreu influência do pH e do pI característico da proteína. O modelo de Langmuir se ajustou aos dados experimentais. Para todos os ensaios o adsorvente com melhores resultados para adsorção de IgG foi o SBA 15 sem zircônio em sua síntese.

5. REFERÊNCIAS

- BRESOLIN, I.T., SOUZA, M.C.M., BUENO, S.M.A., 2010. A new process of IgG purification by negative chromatography: adsorption aspects of human serum proteins onto ω -aminodecyl-agarose. *Journal Chromatography B*, v. 878, p. 2087-2093.
- BURNOUF, T.; RADOSEVICH, M. Affinity chromatography in the industrial purification of plasma proteins for therapeutic use. *J. Biochem. Biophys. Meth.*, v. 49, p. 575-586, 2001.

- FULVIO, P.F., PIKUS, S., JARONIEC, M., 2005. Tailoring properties of SBA-15 materials by controlling conditions of hydrothermal synthesis. *Journal of Materials Chemistry*. 15, 5049-5053.
- SANTOS, S.M.L., CECÍLIA, J.A., VILARRASA, E., JUNIOR, I.J.S., RODRÍGUEZ-CASTELLÓN, E., AZEVEDO, D.C.S., 2013. Síntese e caracterização de sílicas mesoporosas para a adsorção de biomoléculas modelo (BSA, Lisoзима e Celulase).
- TSONCHEVA, T., ROSENHOLM, J., TEIXEIRA, C.V., DIMITROV, M., LINDEN, M., MINCHEV, C., 2006. Preparation, characterization and catalytic behavior in methanol decomposition of nanosized iron oxide particles within large pore ordered mesoporous silicas. *Microporous and Mesoporous Materials*. 89, 209-218.