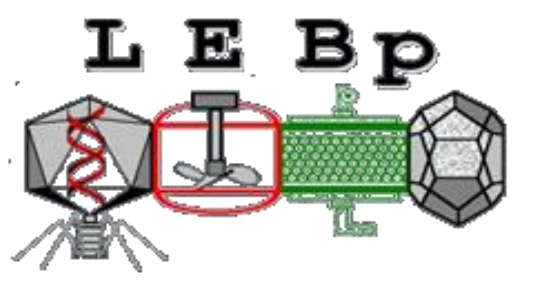


EFEITO DA TEMPERATURA E pH NA CRISTALIZAÇÃO DE INSULINA SUÍNA COM DIÓXIDO DE CARBONO COMO AGENTE ACIDIFICANTE



Victor Coelho Geraldo (Bolsista FAPESP) e Prof. Dr. Everson Alves Miranda* (Orientador),
Faculdade de Engenharia Química - FEQ, UNICAMP
*e-mail: everson @feq.unicamp.br

INTRODUÇÃO

Uma importante técnica de separação e purificação de proteínas utilizada na indústria é a precipitação isoelétrica, que consiste no ajuste do pH do meio até o ponto isoelétrico da proteína (pI). Como grande parte das proteínas apresentam um pI próximo da região ácida é comum o uso de ácidos convencionais, tais como ácido sulfúrico e ácido clorídrico. Como uma alternativa aos ácidos minerais, ácidos voláteis como o dióxido de carbono podem ser usados para precipitar proteínas. Os ácidos voláteis apresentam a vantagem de não causar extremos locais de pH e simplificar o tratamento de efluentes, uma vez que diminuindo a pressão ou aumentando a temperatura pode-se removê-lo do sistema (Figura 1).

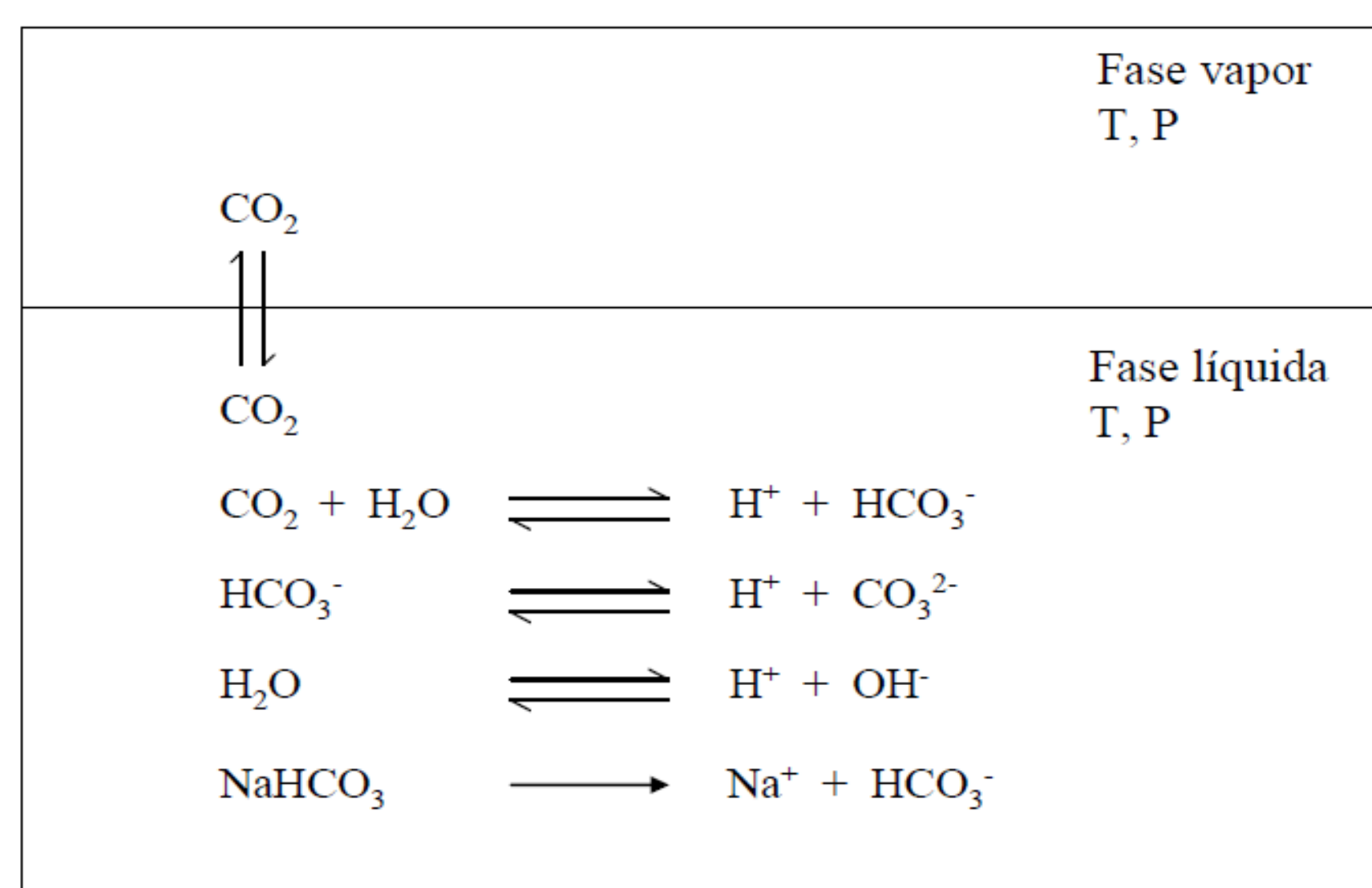


Figura 1- Representação do equilíbrio líquido-vapor do sistema $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$.

OBJETIVO

Estudar experimentalmente a cristalização de insulina suína com CO_2 , a fim de verificar os efeitos das variáveis temperatura (5, 15 e 25 °C), pH (6,0 a 7,0) e concentração inicial de proteína (1,0; 1,5; e 2,0 mg/mL) na taxa de crescimento, distribuição de tamanho e forma dos cristais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais:

Insulina suína (96,6% de pureza, Biobrás), bicarbonato de sódio (J. T. Baker), dióxido de carbono (99,8 % de pureza; White Martins Gases Industriais), tampão de pH 4,0 e 7,0 (Merck), Coomassie Plus (Pierce, EUA) e cloreto de zinco (Vetec Química Fina).

Metodologia básica:

- Determinação da solubilidade da insulina suína: dissolução
- Determinação da concentração de proteína: método de Bradford (1976) modificado.
- Ensaios de cristalização :
 - Carregar o reator com solução de insulina suína em tampão $\text{NaHCO}_3 / \text{HCl} / \text{H}_2\text{O}$ (Figura 2);
 - Fechar o reator;
 - Admissão de CO_2 até o pH desejado;
 - Retirar amostras em intervalos de tempo definidos.
- Análise dos cristais : microscopia óptica e difração a laser.



Figura 2- Equipamento utilizado no projeto.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Curva de solubilidade de insulina suína a temperatura de 25 °C (Figura 3).

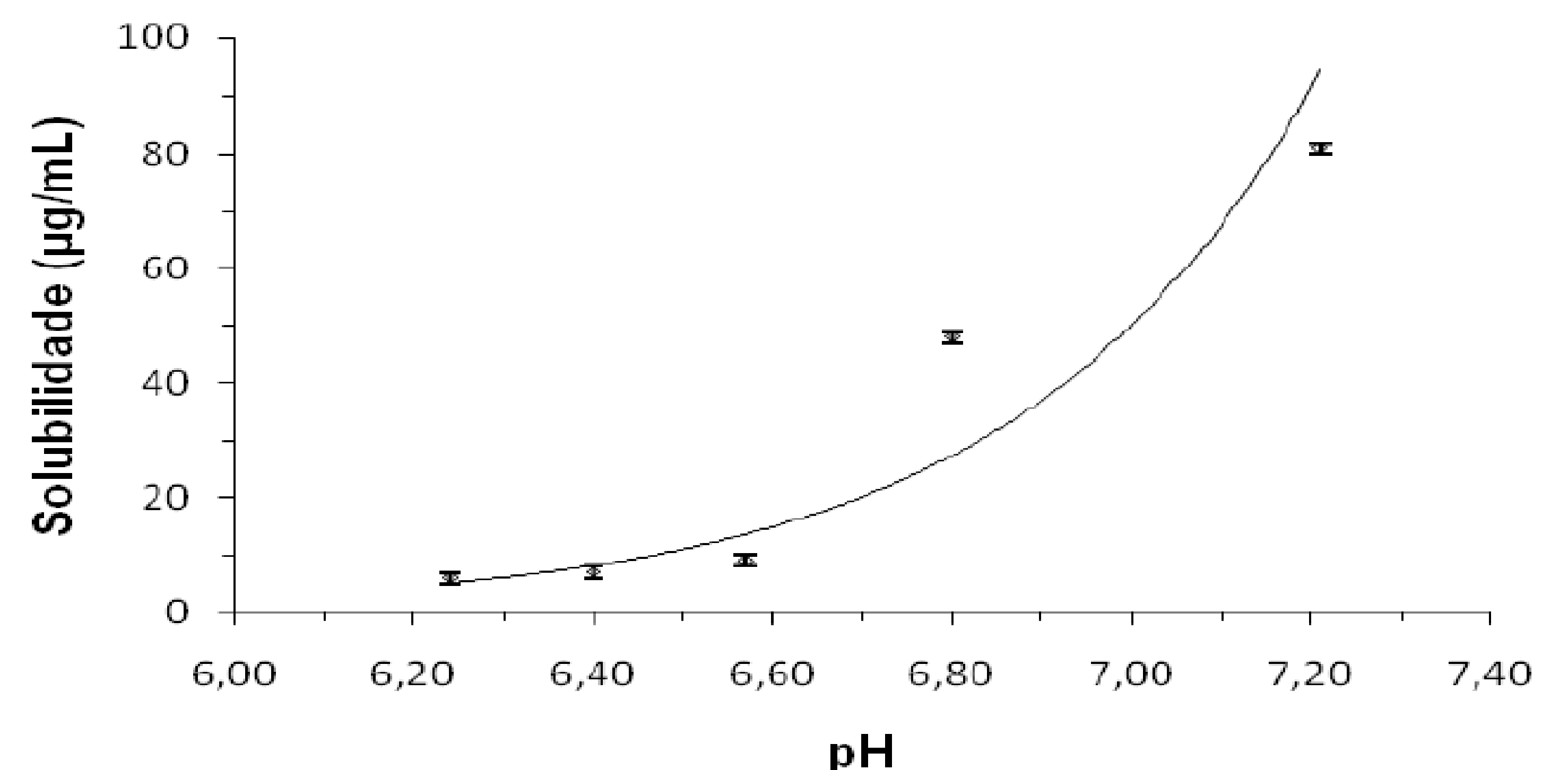


Figura 3- Solubilidade da insulina suína no sistema $\text{NaHCO}_3 / \text{CO}_2$ a 25 °C.

A solubilidade da insulina suína no sistema $\text{NaHCO}_3 / \text{CO}_2$ a 25°C apresentou o mesmo comportamento de outras proteínas quando se aproxima do ponto isoelétrico.

CONCLUSÃO

Os ensaios iniciais foram importantes para se obter uma maior familiarização com as técnicas analíticas e experimentais. Notou-se que a solubilidade da insulina suína diminui com a aproximação do ponto isoelétrico. Os ensaios de cristalização e a análise dos cristais serão feitos nas etapas seguintes.

AGRADECIMENTOS

