

Avaliação do comportamento da albumina em sistemas de extração mediados por surfactantes, aplicando a técnica de ponto nuvem.

Marcelo Anselmo Oseas da Silva¹ (PG), Marco Aurélio Zezzi Arruda¹ (PQ)*. *zezzi@iqm.unicamp.br

Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, Caixa Postal 6154, CEP 13084-862, Campinas – SP.

Palavras Chave: Albumina, ponto nuvem, surfactantes.

Introdução

Atualmente, surfactantes vêm recebendo inúmeras aplicações em diferentes áreas da química analítica, seja para realizar o isolamento, separação ou concentração pré-análise de diferentes compostos¹. Mais especificamente em bioanalítica, são empregados de maneira estratégica em etapas prévias de purificação ou semipurificação de amostras.

Neste sentido, a aplicação de tais sistemas para eliminação de albumina, que é a proteína presente em maior concentração no plasma sanguíneo e que interfere em diferentes técnicas analíticas, passa a ser interessante. No entanto, é de fundamental importância compreender os mecanismos pelos quais esta proteína interage com as moléculas de surfactante para que se possa desenvolver, posteriormente, procedimentos de extração que sejam eficientes e biocompatíveis.

Resultados e Discussão

Dentre os sistemas avaliados neste estudo encontram-se os surfactantes não-iônicos Triton[®] X-114 e Triton[®] X-100. Além disso, avaliou-se os surfactantes Brij[®] 35, e o catiônico SDS, todos na presença de Triton[®] X-114 para auxiliar na formação de sistemas com separação de fases em temperaturas biocompatíveis. Os parâmetros estudados incluíam concentração de tensoativo, pH do meio (variando entre 5,0 e 7,5 para todos os sistemas estudados), tempo de contato entre albumina e surfactantes e concentração salina. A determinação do teor protéico era realizada aplicando-se o método de Bradford².

Como resultados, pôde-se observar que a característica altamente hidrofílica da albumina prevalece frente a surfactantes não-iônicos com cadeias contendo grupos oxietileno (n) entre 7 e 10, como no caso do Triton[®] X-114. Utilizando uma cadeia maior (n = 23, no caso do Brij[®] 35), elevou-se a eficiência de extração, evidenciando a existência de interações íon-dipolo, mesmo que pouco efetivas, entre os grupos oxietileno do surfactante e resíduos laterais da albumina.

A adição de eletrólitos apresentou-se como a alternativa mais efetiva para redução do ponto nuvem

(abaixo de 30 °C). Dentre os íons avaliados, àqueles com características cosmotrópicas mais pronunciadas apresentam-se como os mais efetivos para este propósito, em virtude de promoverem a desidratação de grupos oxietileno dos surfactantes. Pode-se destacar o (NH₄)₂SO₄, que reduziu o ponto nuvem do Triton[®] X-100 de 60 °C para 28 °C.

A presença de micelas contendo carga, como no caso do sistema Triton[®] X-114/SDS, proporciona altas eficiências de extração (superiores a 90%), desde que o pH do meio seja próximo ao pI da albumina. Além disso, sob as condições otimizadas o SDS atua como co-surfactante, contribuindo para separação de fases em temperaturas abaixo da ambiente (22 °C). A composição de cada sistema avaliado é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Características otimizadas dos sistemas estudados e eficiências máximas de extração obtidas para albumina.

Sistema	Extração máxima (%)
Triton [®] X-100 3,0% (v/v); pH 7,2; 8,0% (m/v) (NH ₄) ₂ SO ₄	6%
Triton [®] X-114 6,0% (v/v); pH 7,2	25%
Brij [®] 35 0,5% (m/v); Triton [®] X-114 1,0% (v/v); 8,0% (m/v) (NH ₄) ₂ SO ₄ ; pH 7,2	38%
SDS 0,8% (m/v); Triton [®] X-114 4,0% (v/v); pH 5,0	> 90%

Conclusões

Dentre as características observadas nos sistemas aquosos de duas fases avaliados pode-se citar a pequena influência do pH na extração quando se utilizou apenas surfactantes não-iônicos, bem como uma tendência à redução da extração quando eletrólitos eram adicionados ao meio. Evidenciou-se ser possível a extração da albumina para um meio hidrofóbico, tendo como a principal variável deste processo o controle de carga do meio.

Agradecimentos

À FAPESP, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

¹ Bezerra, M. A.; Arruda, M. A. Z. e Ferreira, S. L. C., *Appl. Spec. Rev.* **2005**, *40*, 269.

² Bradford, M. M., *Anal. Biochem.* **1975**, *72*, 248.