



## DESEMPENHO ADSORTIVO DE PARTÍCULAS MAGNÉTICAS NA ADSORÇÃO DE PAPAÍNA

Ester R. Santos<sup>1</sup>; Brena A. Lima<sup>1</sup>; Jonathan B. Santos<sup>2</sup>; Márjorie C. P. Porfírio<sup>2</sup>; Jennifer R. B. SANTOS<sup>2</sup>; Rafael C. I. Fontan<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> *Química- Bacharel com atribuições tecnológicas, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia; Laboratório de Engenharia de Processos.*

<sup>2</sup> *Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Laboratório de Engenharia de Processos.*

<sup>3</sup> *Docente/pesquisador, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos.*

**Palavras-Chave:** Separação; suportes; óxido de ferro.

### Introdução

A demanda, em especial das indústrias farmacêuticas, químicas e de alimentos por biocompostos ativos é contínua. As enzimas são amplamente aplicadas em diversos setores industriais devido a sua seletividade, especificidade e capacidade de atuação em condições amenas (Porfírio et al., 2024). Entretanto, alguns desafios são enfrentados para a aplicação em escala industrial, como a produção de produtos com elevado grau de pureza, baixa estabilidade e recuperação, que implicam no aumento dos custos e redução da eficiência de produção (Abellanas-Perez et al., 2023).

Dessa forma, o desenvolvimento de estratégias que possam minimizar esses fatores é de grande interesse. As técnicas de adsorção têm se tornado uma das alternativas para alavancar esses processos e produtos (Pérez-Botella et al., 2022). São técnicas estabelecidas e muito utilizadas para imobilização, separação e purificação de diferentes compostos. Entretanto, é uma tecnologia em constante evolução, devido a vasta gama de adsorventes e processos disponíveis. Com isso, estudos voltados para a preparação e tipos suportes são importantes para alcançar a eficiência de aplicação industrial desses biocompostos, principalmente das enzimas (Pour et al., 2025).

Segundo Tao et al., (2023) diversos fatores podem determinar o processo de adsorção, como a natureza do adsorvente (área superficial, tamanho dos poros, densidade, os grupos funcionais na superfície), as condições operacionais (temperatura, pH e a natureza do solvente). Os nanomateriais magnéticos tem atraído muita atenção, devido à sua elevada área superficial, excelente responsabilidade magnética, boa biocompatibilidade, superfície quimicamente modificável e boa reutilização (Sheng et al., 2018). Eles são extremamente versáteis e têm aplicações em diversas áreas, como a retenção de metais pesados, antibióticos e contaminantes, a purificação de águas, a liberação controlada de fármacos, a remediação de solos, a oxidação fotocatalítica, a fabricação de sensores e o uso como biorreatores enzimáticos (Umesh et al., 2024; Pour et al., 2025).

Partículas de óxidos de ferro, como magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) e maghemita ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), são amplamente utilizadas como núcleos magnéticos devido à sua estabilidade química relativamente alta, baixa ou nenhuma toxicidade, facilidade de síntese e potencial para funcionalização. Esses materiais apresentam como potencial melhores desempenhos que os suportes convencionais, além de possibilitar uma separação mais rápida por campo magnético externo, reduzindo o tempo e custos (Niu et al., 2023).

Os materiais magnéticos têm se mostrado muito eficazes na adsorção de enzimas devido às suas propriedades, que podem aumentar tanto a eficiência quanto a estabilidade das reações catalíticas. Além disso, o uso de um campo magnético facilita a recuperação rápida e simples

do material adsorvente, o que é particularmente vantajoso para processos que requerem múltiplas operações (Feng et al., 2016).

Um dos grupos enzimáticos mais conhecido e com maior aplicação comercial, são as proteases. Conhecidas como peptidases ou proteinases se referem a um grupo de enzimas que atuam na degradação de proteínas, clivando ligações peptídicas específicas. Comercialmente são aplicadas em diversos segmentos industriais, e representam cerca de 60% da produção mundial de enzimas (Banerjee et al., 2020).

Dentre as diversas proteases obtidas de fontes naturais já identificadas, estão a papaína, obtida do mamão e pertencente à classe das cisteíno-proteases. A papaína (EC 3.4.22.2) é uma enzima amplamente utilizada nas indústrias de alimentos, farmacêuticas, cosméticos, têxteis, além de apresentar propriedades anti-inflamatórias, antibacterianas e antioxidantes (Alpay et al., 2015). Suas aplicações farmacêuticas incluem a promoção da cicatrização de feridas, ajudando a remover tecidos necróticos, no setor alimentício, é geralmente utilizada no amaciamento de carne, panificação, clarificação de cerveja. No entanto, a papaína solúvel é fácil de desnaturar ou desativar uma vez exposta às condições extremas dos processos industriais. Além disso, a papaína livre é difícil de ser separada dos reagentes, resultando em uma difícil recuperação e reciclagem. Para superar essas desvantagens, a imobilização de enzimas livres no suporte é uma forma eficaz de aplicação industrial (Sheng et al., 2018).

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial adsorvivo de nanomateriais de ferro magnético, através da adsorção de papaína, buscando mostrar a potencialidade de utilização dos materiais magnéticos.

## **Material e Métodos**

### **Materiais**

Os reagentes utilizados no trabalho possuíam no grau analítico PA-ACS. Cloreto de ferro anidro ( $\text{FeCl}_3$ ), Sulfato de ferro heptahidratado ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), Ácido clorídrico (HCl), Hidróxido de sódio (NaOH), Quitosana (95 % de desacetilação), e a Papaína. Os demais reagentes utilizados estão descritos ao decorrer do trabalho.

### **Sínteses das esferas magnéticas revestidas com quitosana**

As esferas magnéticas revestidas com quitosana e foram obtidas pela técnica de Co-precipitação dos íons  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Fe}^{2+}$  em uma concentração molar de 2:1 sob condições básicas, de acordo a metodologia descrita por (Kumar et al., 2013). Para isso, uma solução de 100 mL (1,5 % de ácido acético) foi preparada e adicionada de 1,5 % de quitosana, essa solução foi mantida sob agitação magnética até dissolução total dos reagentes. Posteriormente, foi adicionado à solução, 1 M de  $\text{FeCl}_3$ , 0,5 M de  $\text{FeSO}_4$ . e 100  $\mu\text{L}$  de glutaraldeído 25 % e mantido sob agitação. Após isso, a solução foi gotejada lentamente sobre NaOH (4 mol/L) e mantida por 24 h. Logo após, as esferas foram lavadas até a verificação do pH 7 e secas em estufa a 60 °C e armazenadas sob condições não oxidantes até o uso.

### **Síntese das Partículas Magnéticas**

As nanopartículas magnéticas também foram preparadas pela Co-precipitação dos íons  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Fe}^{2+}$  com algumas modificações. Para isso, uma solução de 0,5 M (500 mL) de NaOH foi mantida sob aquecimento a 80 °C sob agitação e atmosfera de Nitrogênio. Posteriormente foi preparada uma solução de 1 M de  $\text{FeCl}_3$  e 0,5  $\text{FeSO}_4$  em 0,4 M de HCl (50 mL) e gotejada lentamente sobre solução de NaOH. Após isso, as partículas foram separadas por campo magnético, lavadas com água até a verificação do neutro, secas em estufa a 60 °C. e armazenadas sob condições não oxidantes.

### **Adsorção da papaína**

O processo adsorvivo foi realizado utilizando a Papaína comercial, nesse caso 50 mg de cada suporte foram colocados em tubos de 15 mL e adicionado 5 mL de uma solução de Papaína 4 mg/mL preparada em tampão fosfato de sódio pH 6 (50 mmol), o processo foi realizado em BOD a 4 °C por 12 h. Posteriormente o sobrenadante foi lido a 595 nm pelo método de Bradford (1976), para quantificação da capacidade adsorviva. Para verificação da eficiência do processo foi construída uma curva de calibração analítica utilizando Albumina do Soro Bovino (BSA) como proteína padrão, nas concentrações de 0,1 a 1 mg/mL, assim a capacidade adsorviva foi calculada segundo a equação (1).

$$q = \frac{(C_o - C) \times V}{M} \quad (1)$$

Na qual  $q$  é a concentração de enzima retida ao suporte (mg/g de suporte);  $C_o$  e  $C$  são as concentrações iniciais e finais de enzima (mg/mL) respectivamente;  $M$  é a massa de suporte seco; e  $V$  é o volume de solução de enzima utilizada (mL). Também foi calculada a eficiência da adsorção para verificação da eficácia do processo.

$$\text{Eficiência de adsorção (\%)} = \left( \frac{\text{Massa de enzima inicial}}{\text{Massa de enzima retida}} \right) \times 100 \quad (2)$$

### **Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

Os grupos funcionais presentes nos suportes foram avaliados pela técnica de FTIR. Para isso, os materiais foram secos avaliados em equipamento (Cary 630 FTIR, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) pela técnica da refletância total atenuada na região infravermelho médio de 4000 – 650  $\text{cm}^{-1}$ .

### **Delineamento experimental**

Foi realizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com três repetições para avaliação do efeito dos diferentes suportes na capacidade adsorviva da Papaína. A análise de variância foi realizada (ANOVA), tendo suas médias comparadas pelo teste pelo Teste F ( $p < 0,05$ ). O pacote estatístico SAS University Edition (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) foi utilizado para a análise.

### **Resultados e Discussão**

A Figura 1 apresenta as esferas magnéticas produzidas por método de Co-precipitação.



**Figura 1.** Esferas magnéticas revestidas com quitosana obtidas por método de Co-precipitação de  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$

Pode ser observado que estas apresentam coloração escura e um aspecto granuloso com diâmetro médio de  $0,826 \pm 0,012$  mm. Em trabalhos realizados por Yin et al. (2024) foi

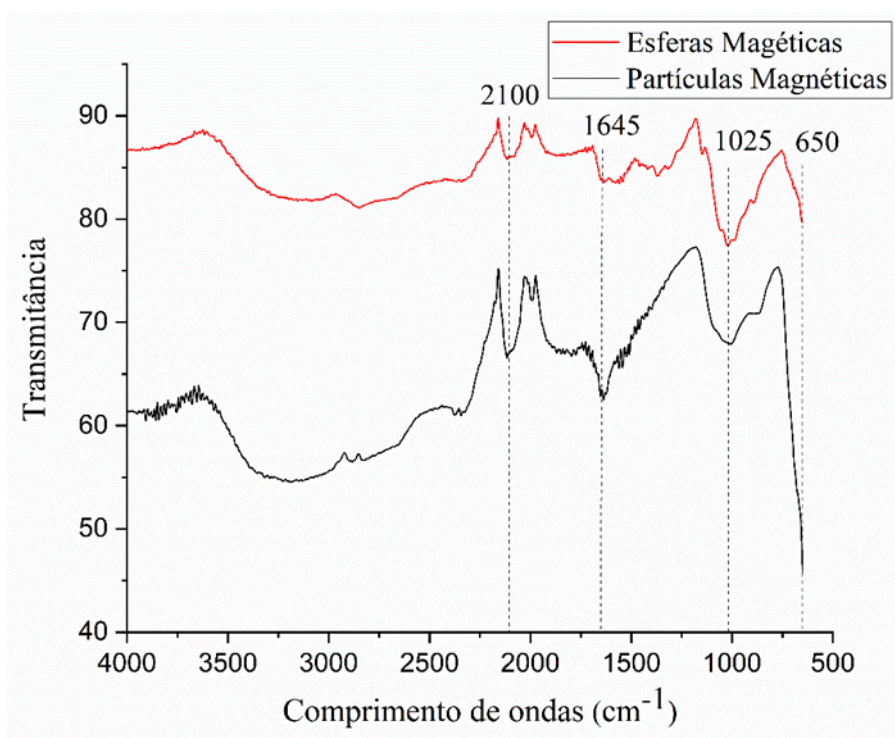
observado tamanhos na faixa de 1,86  $\mu\text{m}$  em materiais semelhantes, a diferença pode ter relação a incorporação de íons manganês à estrutura.

Como pode ser observado (Figura 2) as nanopartículas produzidas também apresentam uma coloração escura e um aspecto de pó fino. Ambos os suportes apresentaram alta magnetização quando submetidas foram submetidos à campo magnético, , indicando que houve êxito na sua produção.



**Figura 2.** Nanopartículas magnéticas ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) obtidas por método de Co-precipitação de  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$

A análise de espectroscopia FTIR (Figura 3) foi realizada para identificação de grupos químicos presentes nos materiais produzidos.



**Figura 3-** Espectros de FTIR dos suportes produzidos

Os espectros de FTIR indicaram diferenças entre os suportes magnéticos produzidos, relativos aos compostos presentes nas estruturas. Foi observado um modo vibracional na região de  $2100\text{ cm}^{-1}$  para ambas as amostras, que pode estar associada à deformação de O-H (Huang et al., 2020), sendo mais acentuado para as partículas. Isso ocorre, pois no momento de revestimento utilizando a quitosana, há uma diminuição significativa nos grupos hidroxila. Outra banda identificada foi na região de  $1645\text{ cm}^{-1}$ , relacionada as vibrações da ligação Fe-O, com uma menor intensidade para as esferas com quitosana quando comparadas com as partículas magnéticas, pois durante o revestimento com quitosana, tanto o ferro quanto o oxigênio interagem com a molécula de quitosana, formando ligações Fe-O-OH e Fe-O-NH, o que pode justificar essa diminuição (Kumar et al., 2013). Um modo vibracional adicional próximo a  $1025\text{ cm}^{-1}$  foi verificado, indicando o alongamento do grupo -O-C presente na estrutura do óxido de ferro ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) (Atacan et al., 2017), o mesmo autor também identificou comprimentos de onda na região de  $650\text{ cm}^{-1}$  que correspondem as ligações de materiais magnéticos a base de óxidos Fe-O.

A Tabela 1 apresenta os resultados acerca do processo adsortivo.

Suportes	Capacidade adsortiva (mg/g)	Eficiência de adsorção
PM	$31,72 \pm 4,05^a$	$54,12 \pm 6,98^a$
PMRQ	$1,54 \pm 0,01^b$	$2,61 \pm 0,01^b$

PM (Partículas Magnéticas); e PMRQ (Partículas Magnéticas Revestidas com Quitosana). Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna para PM e PMRQ diferem estatisticamente entre pelo teste F ( $p > 0,05$ ).

De acordo aos resultados obtidos, foi possível verificar que as partículas magnéticas obtiveram resultados superiores nos parâmetros analisados segundo o teste F. A menor capacidade adsortiva das esferas revestidas com quitosana pode ter relação à sua menor superfície de contato, quando comparadas as partículas. Isso ocorre pois o revestimento, eleva o peso e assim o tamanho das partículas, levando a uma menor área de contato entre suporte e soluto.

Outro fator determinante para o melhor desempenho das partículas pode ter relação ao pH do meio reacional e assim as cargas dos suportes e enzima. Segundo Losito et al. (2021) o ponto isoelétrico da papaína é, ou seja, abaixo desse valor há um excesso de cargas positivas (grupos protonados) que podem ter sofrido repulsão pelas cargas positivas das aminas presentes na estrutura das esferas. Segundo Ajinkya et al. (2020) as partículas magnéticas (óxido de ferro) possuem hidroxilas em sua estrutura, que quando desprotonadas adquirem cargas negativas. Nesse caso, a diferença de cargas entre o suporte e a enzima podem ter sido fundamentais para o processo adsortivo, por meio da interação iônica. Santos et al. (2024), observaram esse mesmo comportamento, quando investigaram o potencial de interação catiônica entre enzima e suporte.

## Conclusão

Novos materiais magnéticos foram produzidos para processos de adsorção. Os modos vibracionais encontrados na análise de FTIR indicaram a eficiência no desenvolvimento dos nanomateriais por Co-precipitação de  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$  por meio do aparecimento de vibrações características desses materiais. As partículas magnéticas se destacaram quanto a adsorção de papaína, com uma eficiência de cerca de 50%. A menor capacidade adsortiva das esferas magnéticas revestidas com quitosana se deve a diminuição da superfície de contato entre o suporte e o soluto, pois o revestimento eleva o peso e o tamanho do material magnético. Os resultados obtidos são promissores e podem ser utilizados como base para outros estudos na área. Além disso, estudos mais aprofundados devem ser conduzidos a fim de investigar o



potencial de adsorção desses suportes em outros tipos de enzimas e aplicações, verificar sua estabilidade e a reutilização, visando a sua utilização como uma alternativa de métodos para reduzir os custos e aumentar a eficiência dos processos industriais.

### **Agradecimentos**

A Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e o Laboratório de Engenharia de Processos pela oportunidade e condições de realização do trabalho ao CNPq e a FAPESB pelo apoio financeiro.

### **Referências**

ABELLANAS-PEREZ, P.; CARBALLARES, D.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; ROCHA-MARTIN, J. Glutaraldehyde modification of lipases immobilized on octyl agarose beads: Roles of the support enzyme loading and chemical amination of the enzyme on the final enzyme features. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 248, p. 125853, 2023.

AJINKYA, N.; YU, X.; KAITHAL P.; LUO, H.; SOMANI, P.; RAMAKRISHNA S. Magnetic Iron Oxide Nanoparticle (IONP) synthesis to application: Present and Future, 13, 4644, 2020.

ALPAY P.; UYGUN D.A. Usage of immobilized papain for enzymatic hydrolysis of proteins. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 111, p. 56-63, 2015.

BANERJEE S.; ARORA A.; VIJAYARAGHAVAN R.; PATTI A.F. Extraction and crosslinking of bromelain aggregates for improved stability and reusability from pineapple processing waste. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 158, p. 318-326, 2020.

LOSITO, D. W.; LOPES, P. S.; UEOKA, A. R.; FANTINI, M. C. A.; FILHO, P. L. O.; FILHO-ANDRÉO, V.; MARTINS, T. S. Biocomposites based on SBA-15 and papain: characterization. *Enzymatic activity and cytotoxicity evaluation*, 325, 111316, 2021.

NIU, Y.; WU, J.; KANG, Y.; SUN, P.; XIAO, Z.; ZHAO, D. Recent advances of magnetic chitosan hydrogel: Preparation, properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.247, p. 125722, 2013.

PÉREZ-BOTELLA, E.; VALENCIA, S.; REY, F. Zeolites in adsorption Process: state of the art and future prospects. *Chemical Reviews*, v. 122, n. 24, p. 17647-17695, 2022.

PORFIRIO, M. C. P.; SANTOS, J. B.; ALVES, A. N.; SANTOS, L. S.; BONOMO, R. C. F.; FONTAN, R. C. I. Purification of pineapple bromelain by IMAC chromatography using chlorophyll-activated macroporous matrices. *Journal of Chromatography B*, v. 1234, p. 124027, 2024.

POUR, S. E.; MAMAGHANI, A. H.; HASHISHO, A. Modeling of adsorption process on monolith adsorbents: a mini-review. *Separation and Purification Technology*, v. 354, p. 128846, 2025.

SANTOS, J. B.; PORFIRIO, M. C. P.; SANTOS, M. P. F.; SOUZA, Y. G.; BONOMO, R. C. F.; FONTAN, R. C. I. Development of a glutamate-functionalized macroporous exchange matrix for partial purification of lysozyme from chicken egg white. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 694, p. 134224, 2024

SHENG, W.; XI, Y.; ZHANG, L.; YE, T.; ZHAO, X. Enhanced activity and stability of papain by covalent immobilization on porous magnetic nanoparticles. *International of Biological Macromolecules*, v. 114, p. 143-148, 2018.

TAO, Z.; ZHOU, Q.; ZHENG, T.; MO, F.; OUYANG, S. Iron oxide nanoparticles in the soil environment: adsorption, transformation, and environmental risk. *Journal of Hazardous Materials*, v. 459, p. 132107, 2023.

UMESH, A. S.; PUTTAIAHGOWDA, Y. M.; THOTTATHIL, S. Enhanced adsorption: reviewing the



63º Congresso Brasileiro de Química  
05 a 08 de novembro de 2024  
Salvador - BA

potential of reinforcing polymers and hydrogels with nanomaterials for methylene blue dye removal. *Surfaces and Interfaces*, v. 51, p. 104670, 2024.