

## PURIFICACIÓN DE BROMELAÍNA Y HEMISFERICINA

Carlos Orozco, Verónica Gete, Mitzuko Castillo, Sergio García y Leobardo Ordaz.  
 Departamento de Bioingeniería. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. IPN.  
 Av. Acueducto S/N. Col. Barrio La laguna Ticomán. G.A. Madero. México, D.F.  
 Fax: 57 29 60 00 ext. 56305. e-mail: [tepoztlan61@yahoo.com.mx](mailto:tepoztlan61@yahoo.com.mx)

Palabras clave: *ultrafiltración, hemisfericina, bromelaína*

**Introducción.** En la actualidad existen diferentes metodologías de purificación de proteasas en las que se emplean numerosos pasos como la centrifugación, precipitación selectiva (varias técnicas: pH, temperatura, sales, polímeros y disolventes orgánicos) y la purificación empleando varios tipos de cromatografía, haciendo que el proceso sea largo y hasta cierto punto costoso (2).

Es por ello que el presente proyecto investiga la purificación de proteasas vegetales proponiendo las operaciones de filtración tangencial (1), como una metodología con un número menor de pasos con respecto a las técnicas actuales, con la finalidad de conseguir altos valores de rendimiento y niveles de purificación comercial aceptables.

**Metodología.** Se emplearán cartuchos de micro y ultrafiltración de nivel laboratorio para caracterizar la purificación de bromelaína y hemisfericina consistiendo en la determinación de variables como el pH, temperatura, presión transmembranal y flujo de alimentación. La metodología de purificación consistirá en una microfiltración y tres ultrafiltraciones con membranas de 100, 30 y 10 kD. Se tomarán muestras del filtrado y retenido para los análisis de actividad enzimática y proteína, también se medirán los flujos de alimentación y del filtrado. Con los resultados de los análisis se determinarán la actividad específica y el rendimiento del proceso.

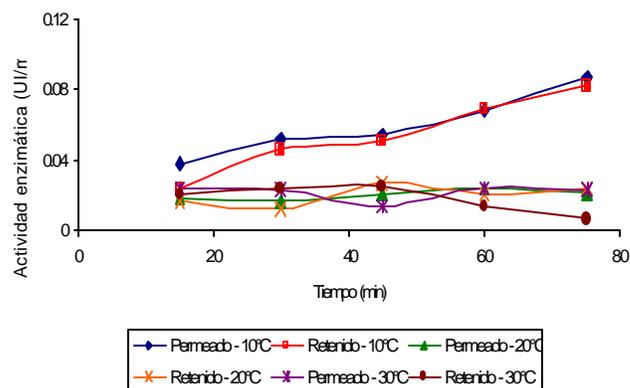
**Resultados y Discusión.** Primeramente se investigaron las mejores condiciones de las operaciones de filtración tangencial donde se conservara la mayor actividad enzimática resultando la temperatura la variable más importante como se muestra en la figura 1. Una vez encontradas estas condiciones (temperatura: 10 °C; pH: 6-7; presión transmembrana: 20 psi; flujo de alimentación: 110 l/h), se procesó el jugo de piña aplicando la microfiltración y tres ultrafiltraciones para purificar bromelaína cuyos resultados se muestran en el cuadro 1.

**Cuadro 1. Purificación de bromelaína.**

Operación	Actividad específica (U/mg) (permeado)	Rendimiento (%) (permeado)	Rendimiento (%) (retenido)
Extracto enzimático	0.406	-	-
Microfiltración	0.882	91.5	7.3
Ultrafiltración 100 kDa	0.548	63.8	6.1
Ultrafiltración 30 kDa	0.609	55.2	5.2
Ultrafiltración 10 kDa	0.936	30.3	6

**Cuadro 2. Purificación de hemisfericina.**

Operación	Actividad específica (U/mg) (permeado)	Rendimiento (%) (permeado)	Rendimiento (%) (retenido)
Extracto enzimático	0.47	-	-
Microfiltración	0.33	64	11
Ultrafiltración 100 kDa	0.80	63	8
Ultrafiltración 30 kDa	1.14	61	8
Ultrafiltración 10 kDa	1.01	54	6



**Figura 1. Microfiltración del jugo de piña.**

Estas mismas operaciones fueron aplicadas para el procesamiento del jugo de timbirichi, en el cuadro 2 se presentan los resultados obtenidos para la purificación de hemisfericina.

**Conclusiones.** Se obtuvo bromelaína con una actividad específica de 0.936 UI/mg (en literatura: 0.2) y el rendimiento del proceso fue de 30 %; mientras que la hemisfericina se purificó hasta 1.01 UI/mg (en literatura: 3.03) alcanzando el proceso un rendimiento de 54 %.

**Agradecimiento.** Financiado por CGPI/IPN.

### Bibliografía.

- Blanco, M.D. (1997). Obtención de la enzima hemisfericina empleando un proceso de ultrafiltración. Tesis profesional. CEPROBI-IPN.
- Cruz y Victoria, M.T. (1993). Aislamiento y caracterización parcial de la enzima proteolítica "Hemisfericina". Tesis de maestría. ENCB-IPN.

