

Aplicação de sistemas aquosos bifásicos na partição de lipase produzidas por fermentação em estado sólido - Subprojeto: Desenvolvimento de novos sistemas aquosos para partição de enzimas.

Autor Silvio Santos de Oliveira Júnior<sup>1</sup>, Autor Renata Cristina Ferreira Bonomo <sup>2</sup>

## RESUMO

O sistema aquoso bifásico (SAB) é uma ferramenta de separação eficiente, baseada na técnica de extração líquido-líquido e com capacidade para atender demandas ambientais e industriais modernas. Sendo assim, no presente estudo busca-se desenvolver novos sistemas aquosos que possam ser utilizados como alternativas eficientes na separação e purificação de enzimas. Através dessa abordagem, espera-se contribuir para o avanço da tecnologia enzimática, promovendo processos mais sustentáveis e econômicos. Para isso, preparou-se uma solução de fosfato de sódio bibásico à 22%. Tubos de ensaio, contendo solução estoque de polietileno glicol 4000 g·mol<sup>-1</sup> (PEG 4000) [50 % m/m], foram colocados em banho-maria à 25°C até atingir equilíbrio térmico. Logo após procedeu-se a titulação com o sal até que a solução obteve-se uma coloração turva e posteriormente procedeu-se outra titulação utilizando água, até a diminuição da turbidez. A pesquisa apresentou resultados satisfatórios, uma vez que o sal e PEG selecionados foram eficientes para a formação de SABs.

**PALAVRAS-CHAVE:** Enzimas, separação, sistema aquoso bifásico

Application of aqueous systems biphasics in the partition of lipases produced by solid state fermentation - Subproject: Development of new aqueous systems for enzymatic partitioning.

## ABSTRACT

The biphasic aqueous system (SAB) is an efficient separation tool, based on the liquid-liquid extraction technique and capable of meeting modern environmental and industrial demands. Therefore, in the present study we seek to develop new aqueous systems that can be used as efficient alternatives in the separation and purification of enzymes. Through this approach, it is expected to contribute to the advancement of enzyme technology, promoting more sustainable and economical processes. For this, a 22% bibasic sodium phosphate solution was prepared. Test tubes, containing stock solution of polyethylene glycol 4000 g·mol<sup>-1</sup> (PEG 4000) [50% m/m], were placed in a water bath at 25°C until thermal equilibrium was reached. Soon after, titration with salt was carried out until the solution turned cloudy in color and then another titration was carried out using

---

<sup>1</sup> Estudante de graduação do curso de Engenharia de Alimentos, pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), campus Juvino Oliveira, Itapetinga – Bahia.

<sup>2</sup> Profa. Dsc. Renata Cristina Ferreira Bonomo, Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

water, until the turbidity decreased. The research presented satisfactory results, since the selected salt and PEG were efficient for the formation of SABs.

**KEYWORDS:** Enzymes, separation, biphasic aqueous system.

## **INTRODUÇÃO**

O sistema aquoso bifásico (SAB) é uma ferramenta de separação eficiente, baseada na técnica de extração líquido-líquido e com capacidade para atender demandas ambientais e industriais modernas pois pode ser aplicado em processos estratégicos que vão desde a separação de analitos alvo a partir de fontes secundárias até a separação de analitos tóxicos visando o tratamento de efluentes (ZACCHÉ, 2021).

A aplicação de sistemas aquosos bifásicos na partição de lipases produzidas por fermentação em estado sólido é um tema de grande relevância no campo da biotecnologia. Neste subprojeto específico, busca-se desenvolver novos sistemas aquosos que possam ser utilizados como alternativas eficientes na separação e purificação de enzimas. Através dessa abordagem, espera-se contribuir para o avanço da tecnologia enzimática, promovendo processos mais sustentáveis e econômicos.

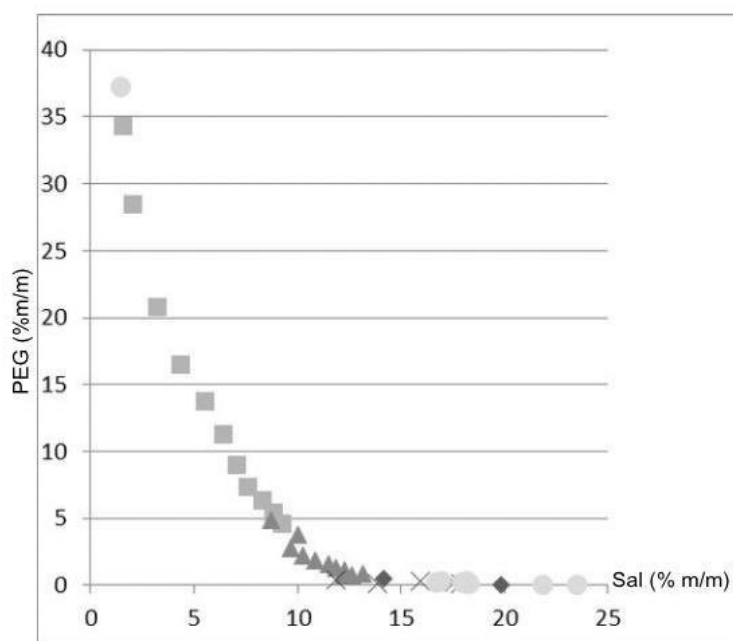
## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Foi preparada uma solução de Fosfato de Sódio bibásico à 22%. Utilizou-se ácido fosfórico para ajustar o pH da solução salina para 7.0. Em um banho-maria à 25 °C, foi colocado o tubo de ensaio contendo 2g de solução estoque de Polietileno glicol 4000  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$  (PEG 4000) [50 % m/m] e mantido em repouso por alguns minutos para atingir o equilíbrio térmico. Posteriormente, procedeu-se a titulação de aliquotas de sal na solução de PEG até que atingisse a turbidez. Logo após, procedeu-se a titulação com água até que verificasse a transparência. As quantidades de sal e água utilizadas no processo de titulação foram registradas para traçar a curva binodal.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O equilíbrio termodinâmico de um sistema aquoso bifásico (SAB) é representado pelo diagrama de fases, o qual demonstra a composição dos solutos nas fases inferior e superior, no eixo das abcissas e das ordenadas, respectivamente. A quantidade de água é calculada por diferença. As concentrações mínimas de cada soluto necessária

para que haja formação de um SAB são representadas por pontos que formam a curva binodal, que delimita as regiões monofásica e bifásica (ALBERTSSON, 1958). A Figura 1 representa a curva binodal formada por Fosfato de Sódio (pH 7.0) + PEG 4000 + água à 25 °C .



**Figura 1.** Curva binodal do SAB composto por Fosfato de Sódio (pH 7.0) + PEG 4000 + água à 25 °C.

A região acima da curva binodal representa as concentrações de sal e PEG que formam um sistema de duas fases, enquanto que a região abaixo da curva representa uma solução homogênea. A fase superior desse SAB é predominada por PEG (fase polimérica), enquanto que a fase inferior é predominada por sal (fase salina). Ambas as fases são formadas majoritariamente por água.

## CONCLUSÕES/CONSIDERAÇÕES

A pesquisa apresentou resultados satisfatórios, uma vez que o sal e PEG selecionados foram eficientes para a formação de SABs. Em estudos futuros, pretende-se obter lipases por meio de fermentação em estado sólido. Os dados obtidos na presente pesquisa serão utilizados como ponto de partida para a aplicação de SABs no processo de separação e purificação dessas lipases.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

<sup>1</sup> ALBERTSSON, P.-Å. Partition of proteins in liquid polymer–polymer two-phase systems. **Nature**, v. 182(4637), p. 709, 1958.

<sup>2</sup> ZACCHÉ, D. S. **SISTEMAS AQUOSOS BIFÁSICOS REDUTORES: CARACTERÍSTICAS E APLICAÇÕES**. Biblioteca Central da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, 2021. 79 f.