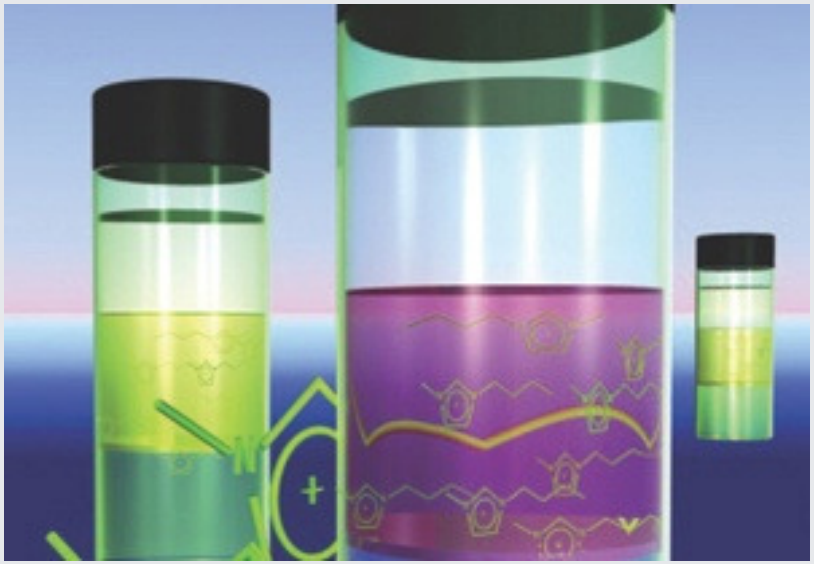
Universidade de Aveiro
Departamento de Química

path
http://path.web.ua.pt

Extracção de Biomoléculas com Sistemas Aquosos Bifásicos



Cláudia Louros nº 22271

Resumo

1. Introdução

2. LI + K_3PO_4+ H_2O - Sistemas Ternários
   - 2.1. LIs Estudados
   - 2.2. Procedimento Experimental
   - 2.3. Resultados Experimentais
   - 2.4. Conclusões

3. LI + Hidrato de Carbono + H_2O - Sistemas Ternários
   - 3.1. LI e Hidratos de Carbono Estudados
   - 3.2. Resultados Experimentais
   - 3.3. Conclusões

4. Conclusão Geral

1. Introdução

Sistemas Aquosos Bifásicos - SABs

Os SABs formam-se quando compostos mutuamente incompatíveis e miscíveis em água são adicionados promovendo a separação de fases:

- Polímero / Polímero
- Polímero / Sal
- Sal / Sal

Método cada vez mais usado em processos de extracção de biomoléculas.

1. Introdução

Extracção de Biomoléculas

Extracção Líq-Líq
Orgânicos + H_2O

- Perdas consideráveis
  Evaporação COVs
- Biomoléculas degradam-se facilmente

SABs
Polímeros + Sal + H_2O

- Sistemas específicos
- Propriedades limitadas

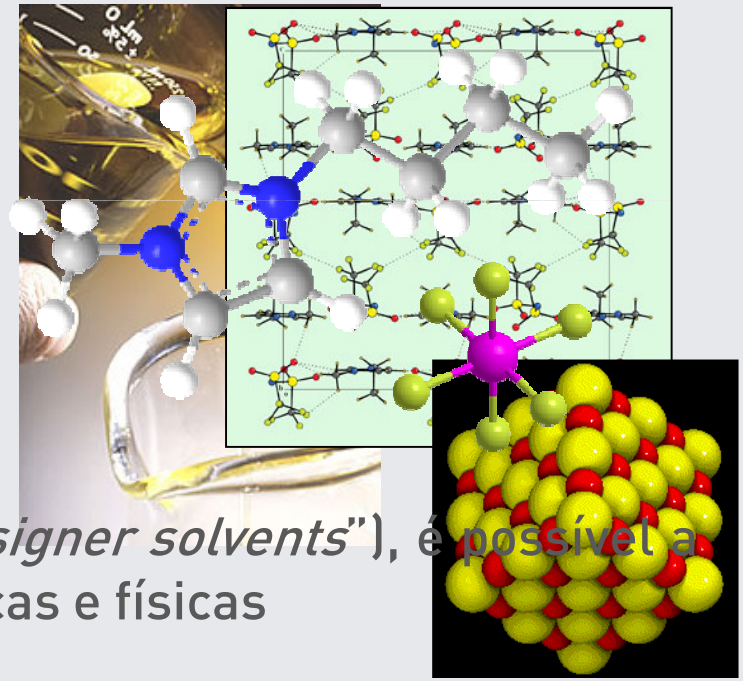
SABs
LIs + Sal + H_2O

2009

1. Introdução

O que são Líquidos Iónicos (LIs)?

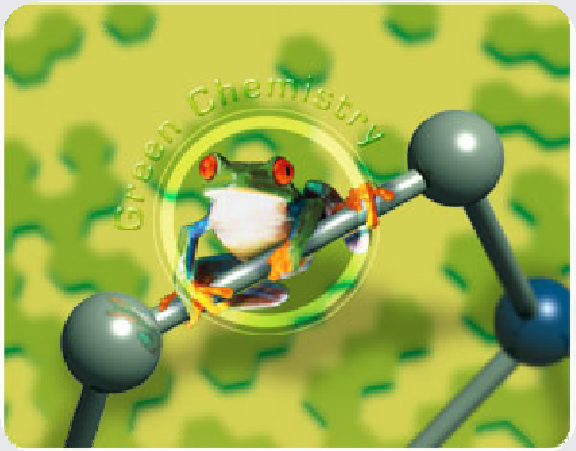
- São líquidos à temperatura ambiente, com pontos de fusão baixos
- Catiões orgânicos de grandes dimensões
- Aniões orgânicos ou inorgânicos
- Possíveis combinações catião/anião ("*designer solvents*"), é possível a selecção apropriada de propriedades químicas e físicas



1. Introdução

Propriedades dos LIs

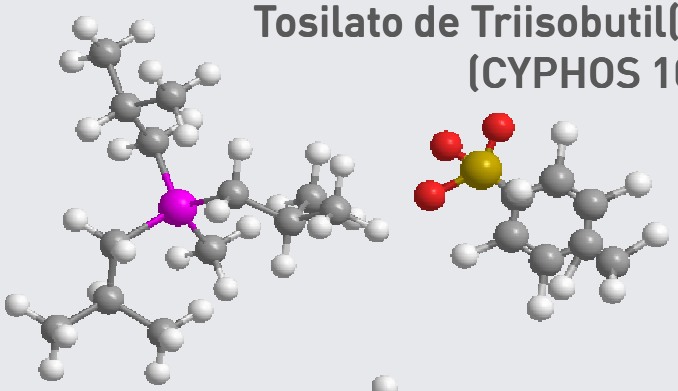
- Não são voláteis
- Não são inflamáveis
- Elevada estabilidade térmica e química
- Elevada condutividade iónica
- Elevada capacidade de solvatação para variados compostos

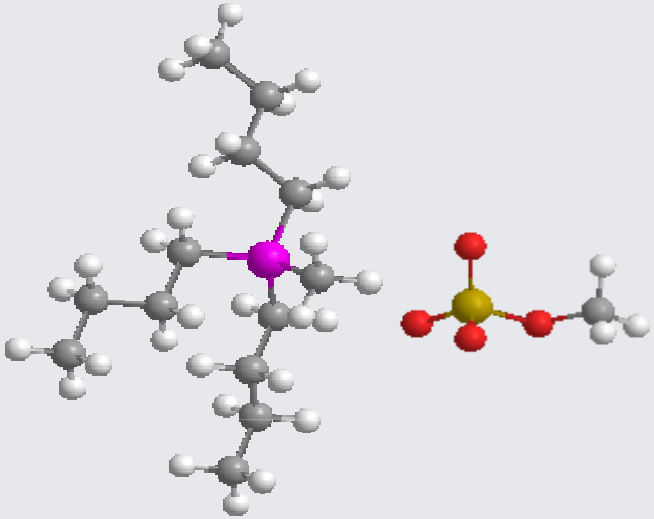


2. LI + K_3PO_4 + H_2O

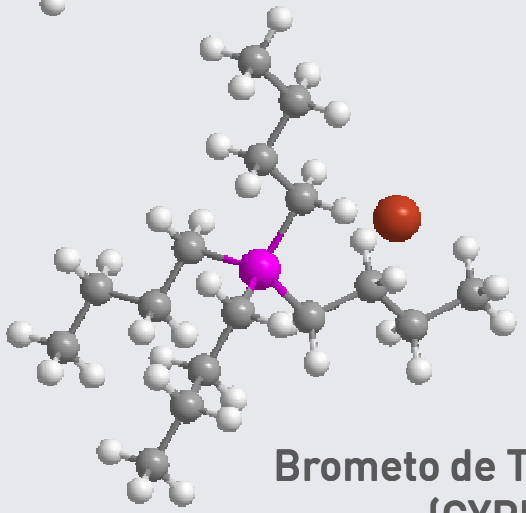
2.1. LIs Estudados

Tosilato de Triisobutil(metil)fosfónio
(CYPHOS 106)

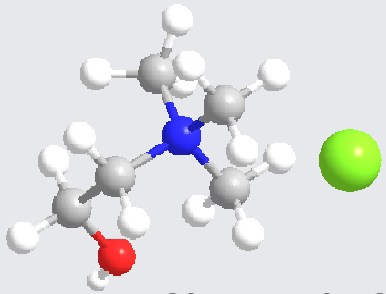




Metilsulfato de Tributil(metil)fosfónio
(CYPHOS 108)



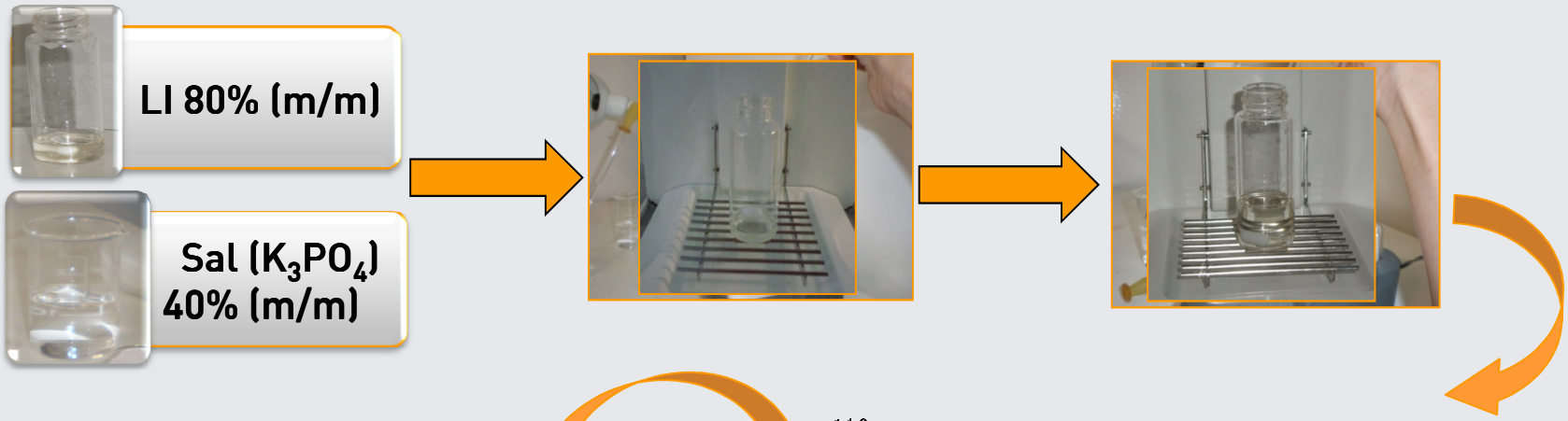
Brometo de Tetrabutilfosfónio
(CYPHOS 163)



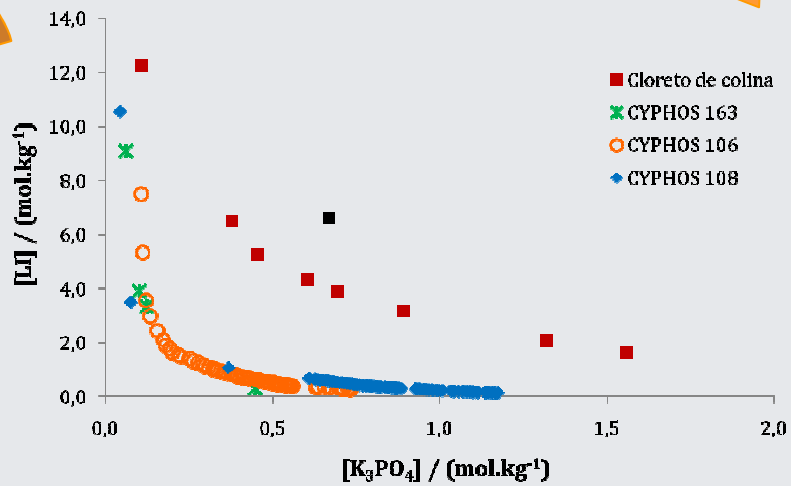
Cloreto de Colina

2.2. Procedimento Experimental

Curvas Binodais



$$Y = A\exp\left[\left(BX^{0.5}\right)-\left(CX^{3}\right)\right]$$ [1]



[1] J. C. Merchuk, B. A. Andrews and J. A. Asenjo, *J. Chromatogr. B*, 1998, 711, 285-293

2.2. Procedimento Experimental

Linhas de Equilíbrio

% LI (m/m)

% H_2O (m/m)

% K_3PO_4 (m/m)

Repouso
24 h

Fase Inferior

Fase Topo

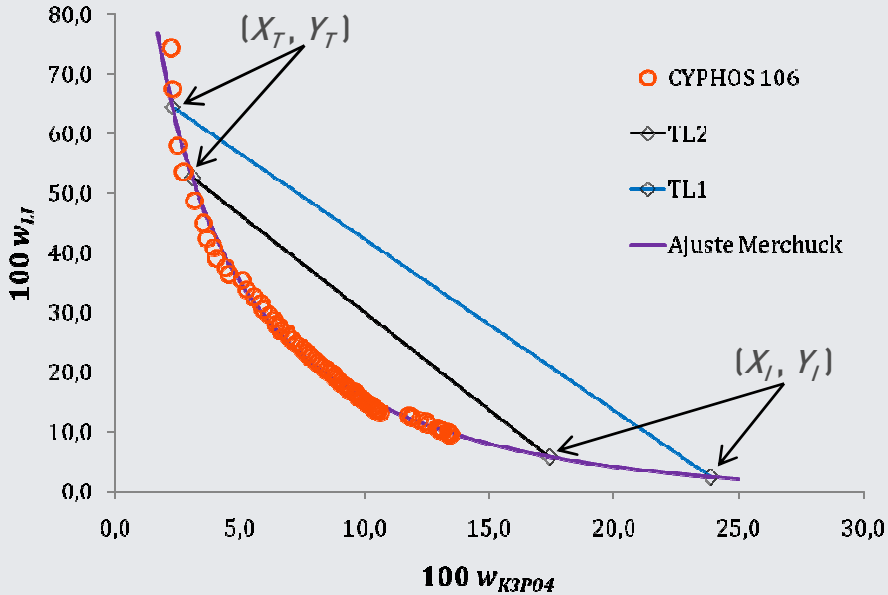
$$\alpha = \frac{m_{topo}}{m_{total}}$$

$$Y_T = A\,\exp\left(B\,X_T^{0,5} - C\,X_T^3\right)$$

$$Y_I = A\,\exp\left(B\,X_I^{0,5} - C\,X_I^3\right)$$

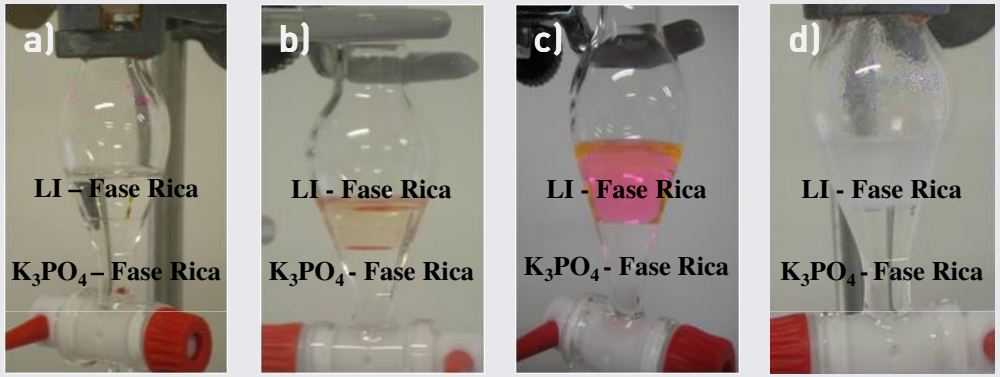
$$Y_T = \frac{Y_M}{\alpha} - \left(\frac{1-\alpha}{\alpha}\right) Y_I$$

$$X_T = \frac{X_M}{\alpha} - \left(\frac{1-\alpha}{\alpha}\right) X_I$$



2.2. Procedimento Experimental

Extracção de Biomoléculas



Composto	λ / nm
a) L-triptofano	279
b) β-caroteno	512
c) Rodamina 6G	527
d) Cafeína	274

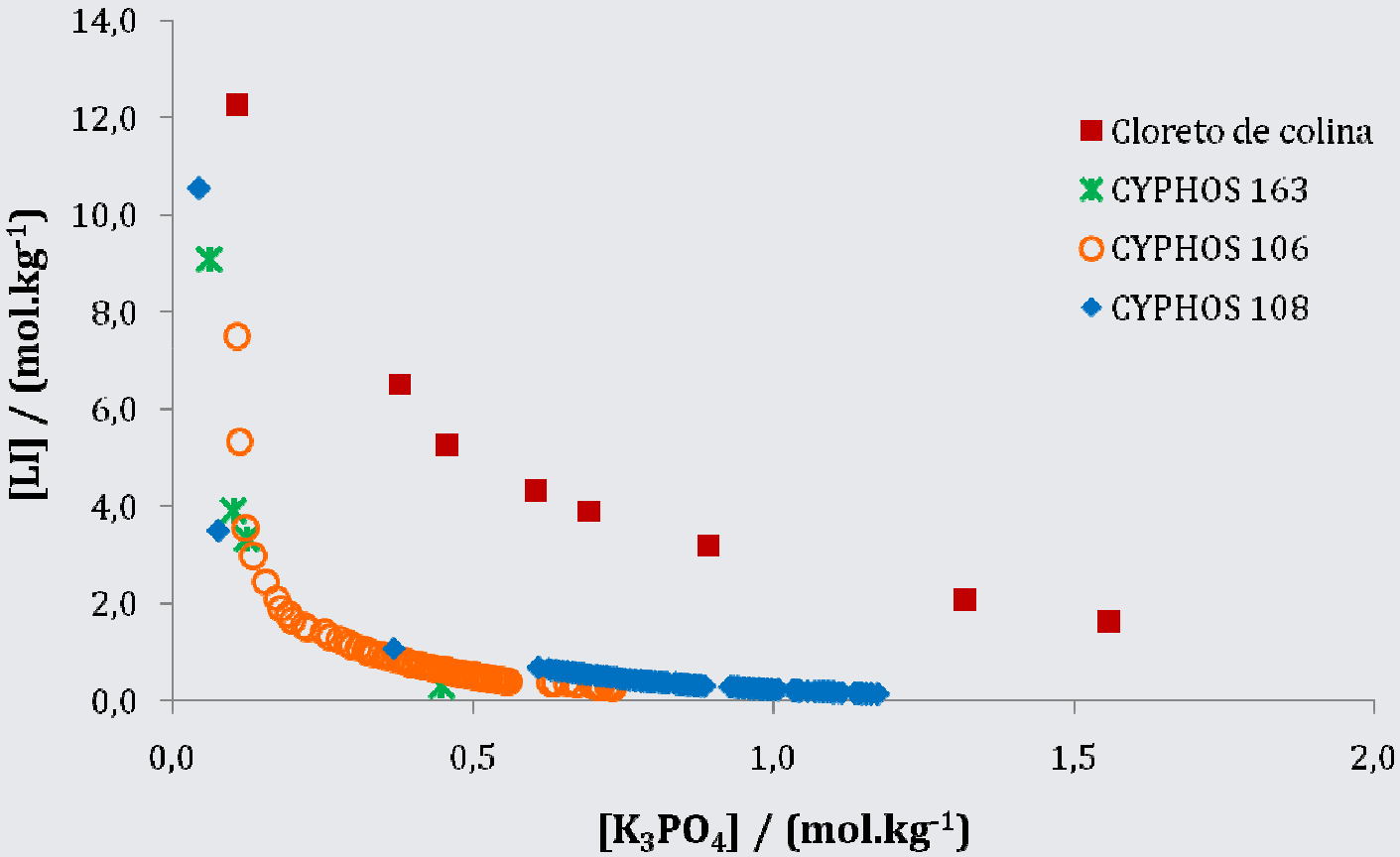
1:20 até
0,5:250 (v/v)

Espectrofotómetro SHIMADZU
UV-1700 Pharma-Spec

$$K_{Trp} = \frac{[Trp]_{LI}}{[Trp]_{K_3PO_4}}$$

2.3. Resultados Experimentais

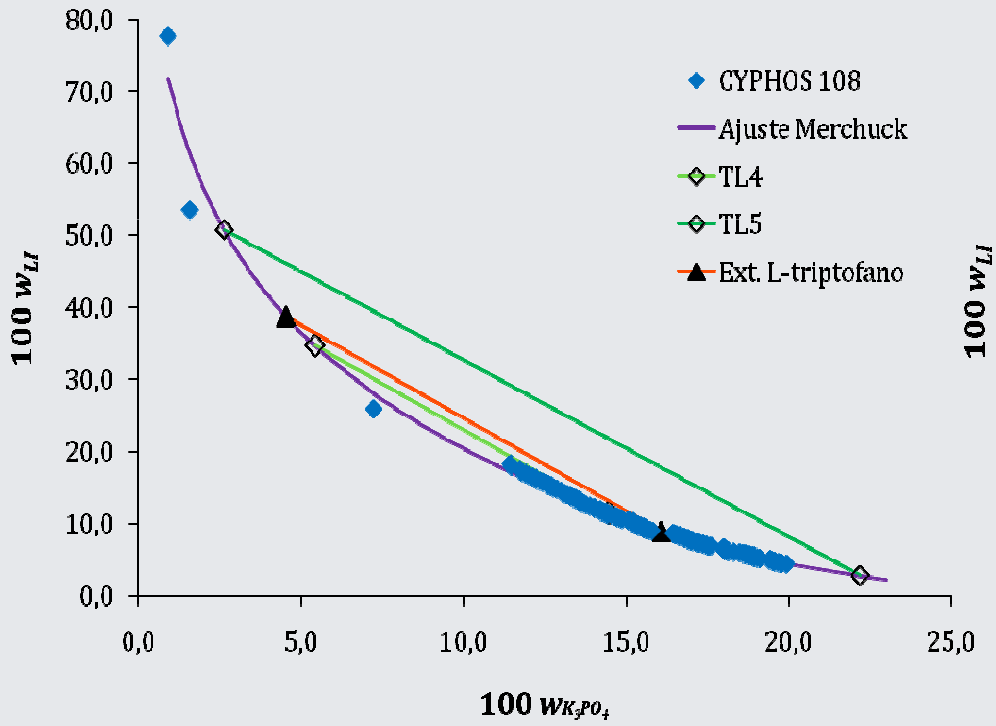
Curvas Binodais

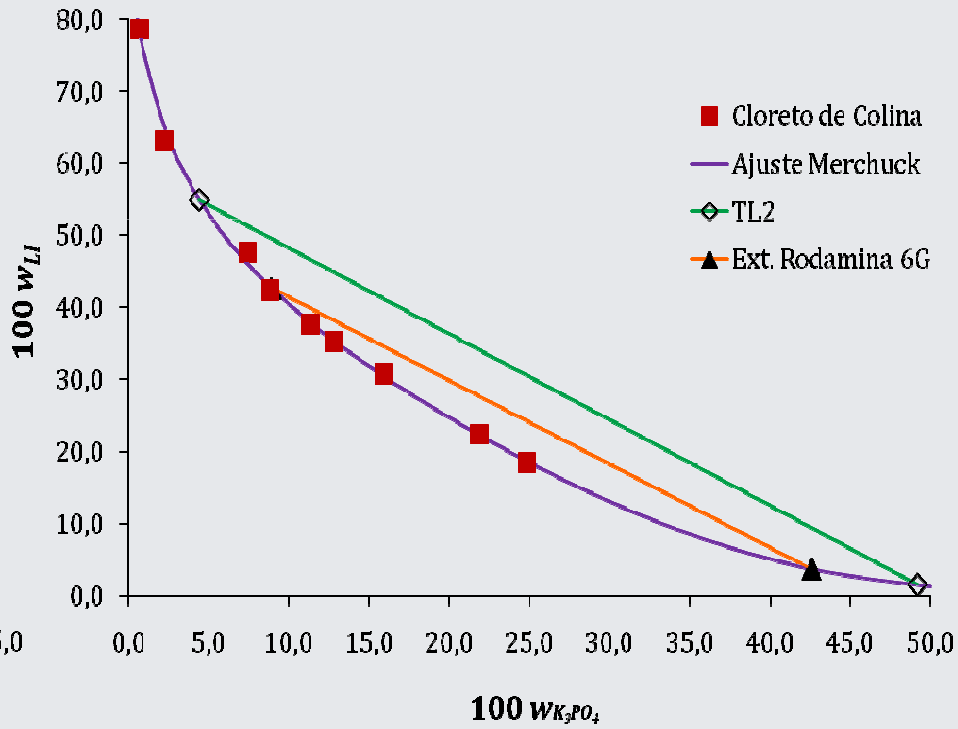


CYPHOS 163 ≈ CYPHOS 106 ≈ CYPHOS 108 › Cloreto de colina

2.3. Resultados Experimentais

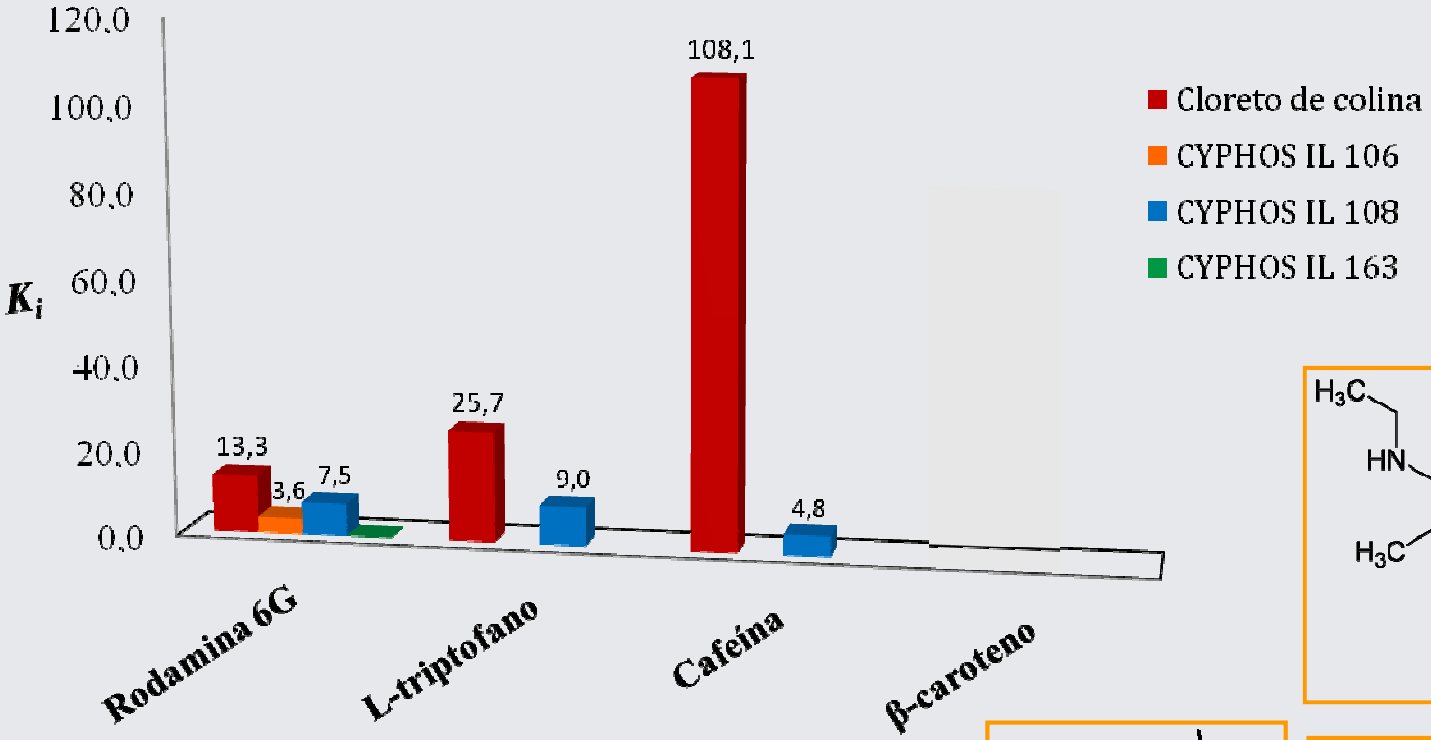
Linhas de Equilíbrio

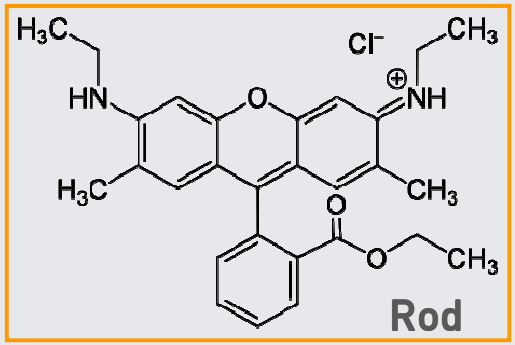


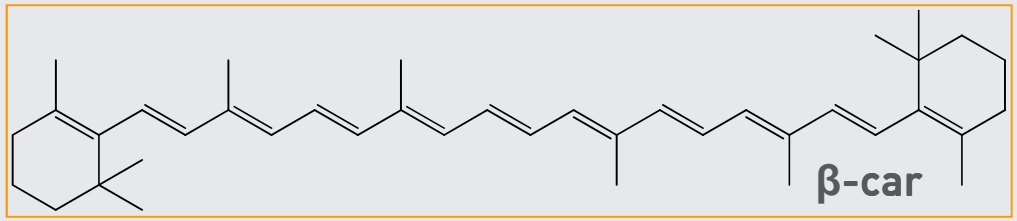


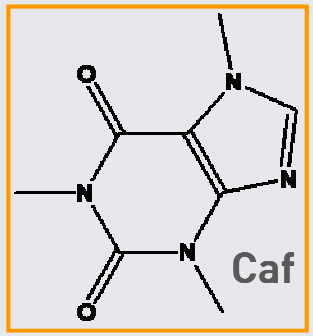
2.3. Resultados Experimentais

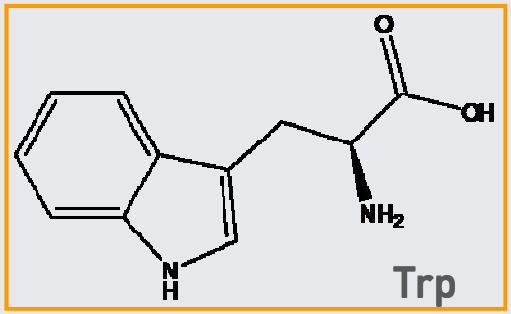
Extracção de Biomoléculas











2.4. Conclusões

- Mostrou-se que os LIs da família dos fosfónios e colina promovem a separação de fases na presença do sal inorgânico (K_3PO_4)

- CYPHOS 163 ≈ CYPHOS 106 ≈ CYPHOS 108 › Cloreto de colina

- Quanto maior a proximidade da curva binodal à origem, maior zona bifásica correspondente

- Quanto mais afastada está a curva binodal do eixo dos Y ([LI]) maior é a capacidade do LI promover efeitos de "salting – out"

- Verificou-se ser possível manipular os K_i pela combinação apropriada de catião/anião dos LIs

- Os LIs mostram ser mais eficientes do que os sistemas convencionais na extracção de biomoléculas (K_i mais elevados)

Voltar

1. Introdução

Extracção de Biomoléculas

Extracção Liq-Liq
Orgânicos + H_2O

- Perdas consideráveis
  Evaporação COVs
- Biomoléculas degradam-se facilmente

SABs
Polímeros + Sal + H_2O

- Sistemas específicos
- Propriedades limitadas

SABs
LIs + Sal + H_2O

- Processos de extracção mais complexos
- Elevada carga iónica

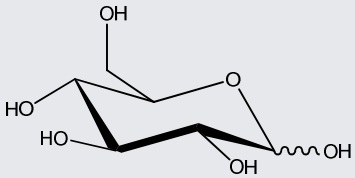
SABs
LIs + Hidratos de Carbono + H_2O

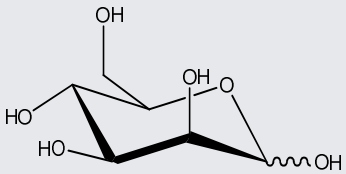
- Reciclagem de LI
- Baixa toxicidade

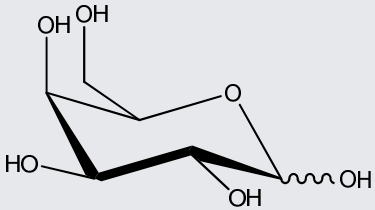
2009

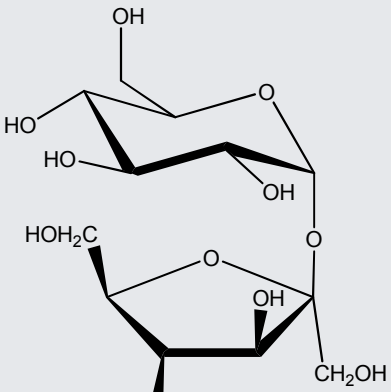
3. LI + Hidrato de Carbono + H_2O

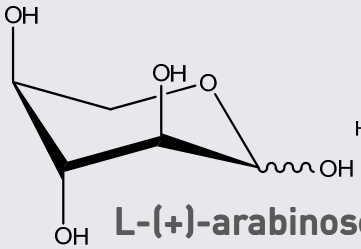
3.1. LI e Hidratos de Carbono Estudados

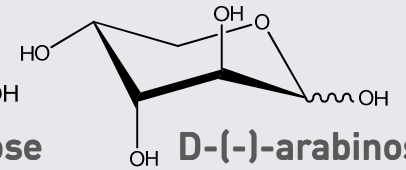

D-glucose

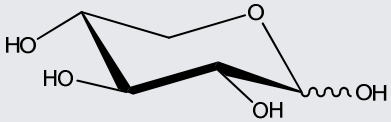

D-(+)-manose

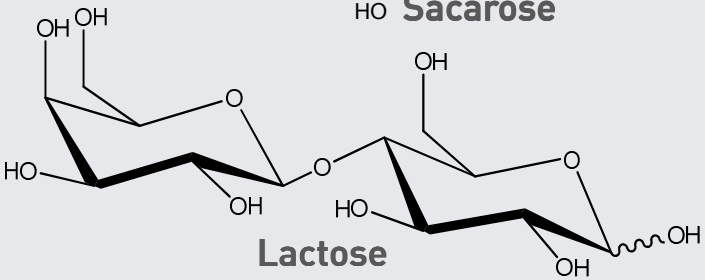

D-(+)-galactose

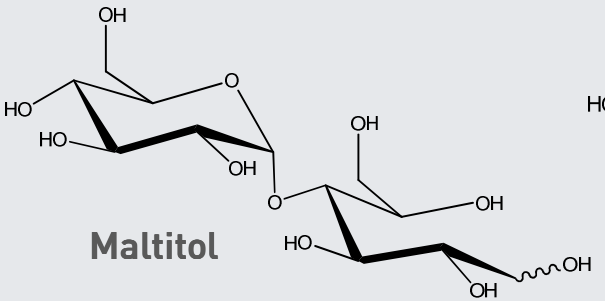

Sacarose

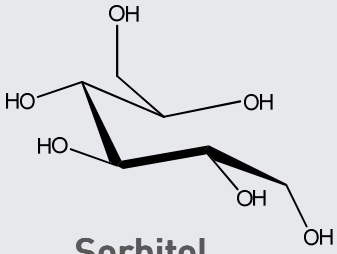

L-(+)-arabinose

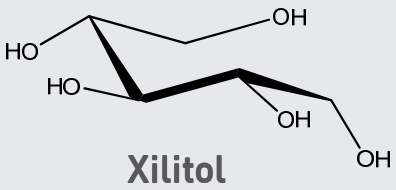

D-(-)-arabinose

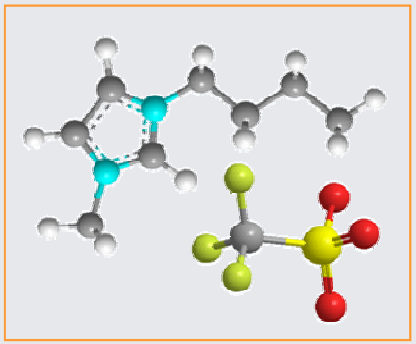

D-(+)-xilose


Lactose


Maltitol

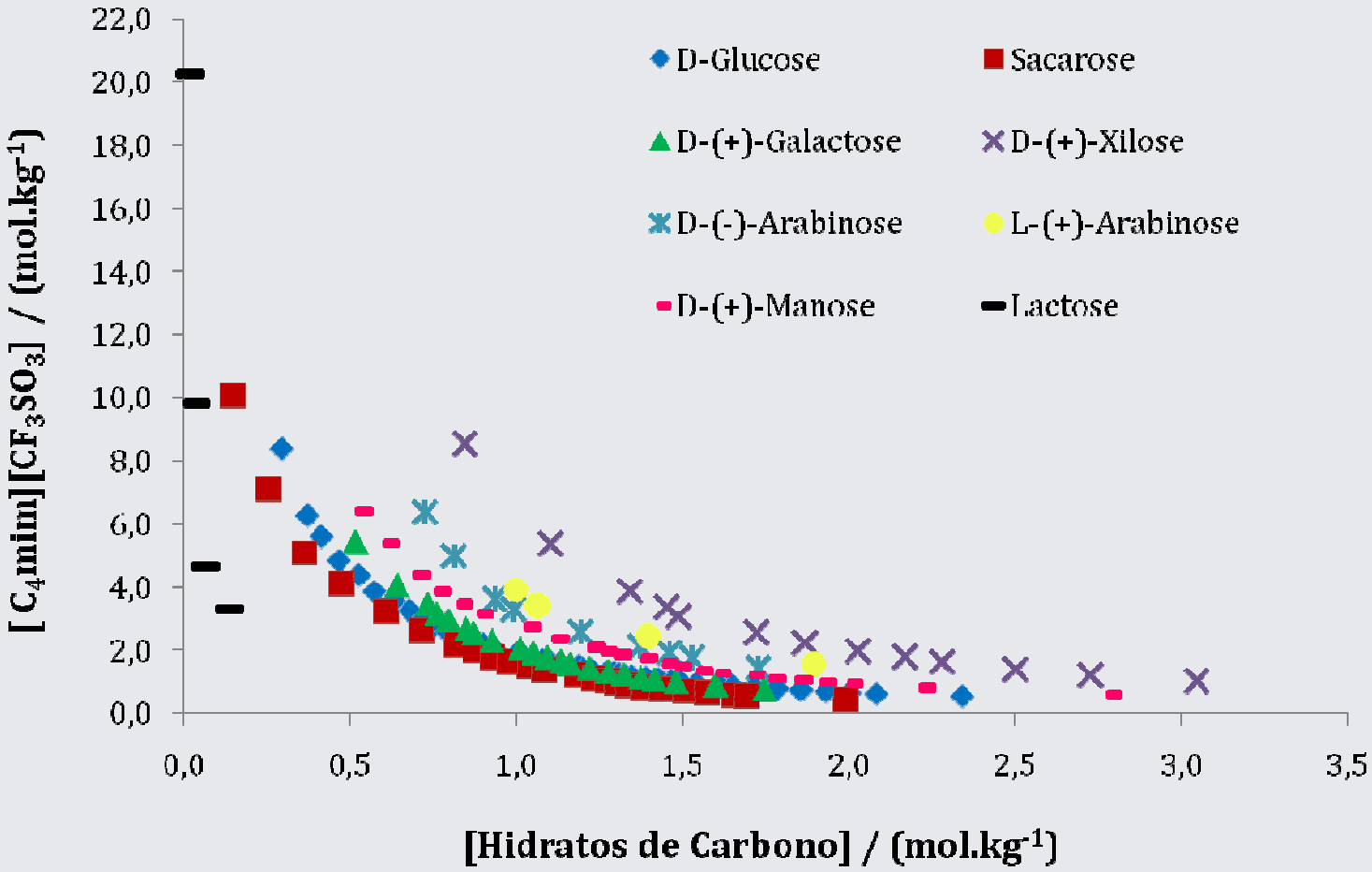

Sorbitol


Xilitol


$[C_4mim][CF_3SO_3]$

3.2. Resultados Experimentais

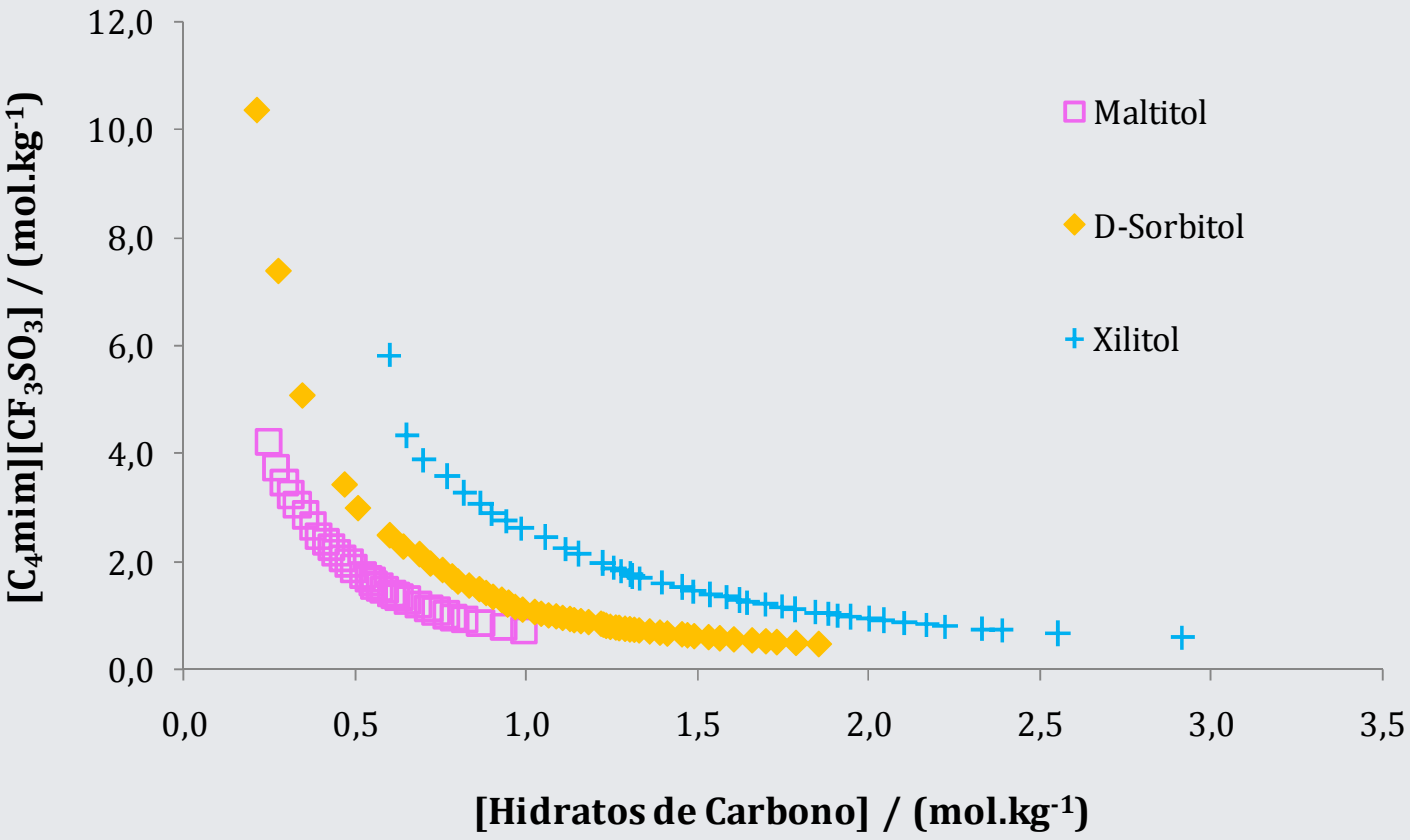
Curvas Binodais com Hidratos de Carbono



Lactose › sacarose › D-glucose › D-(+)-galactose › D-(+)-manose › D-(-)-arabinose › L-(+)-arabinose › D-(+)-xilose

3.2. Resultados Experimentais

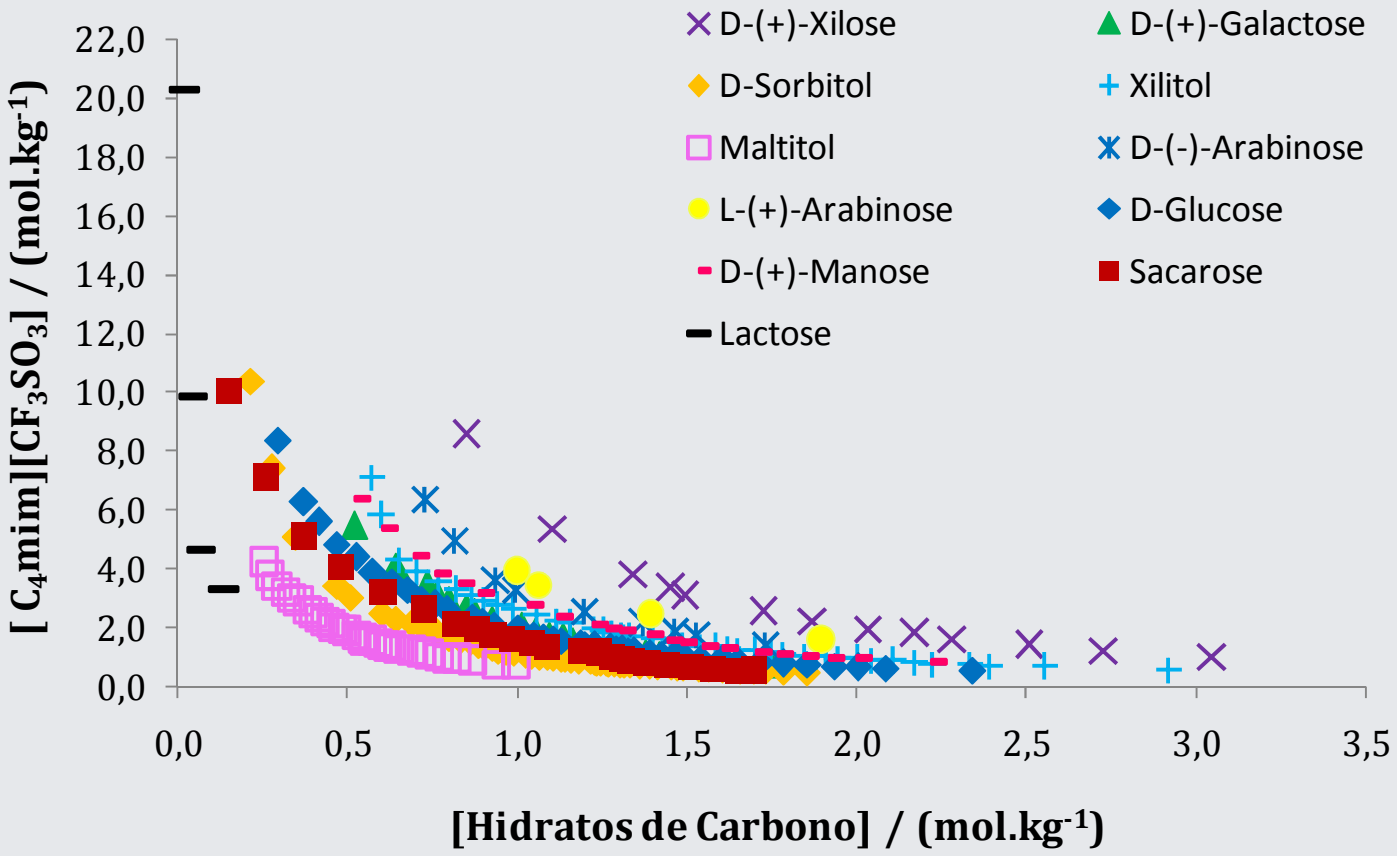
Curvas Binodais com Polióis



maltitol › D-sorbitol › xilitol

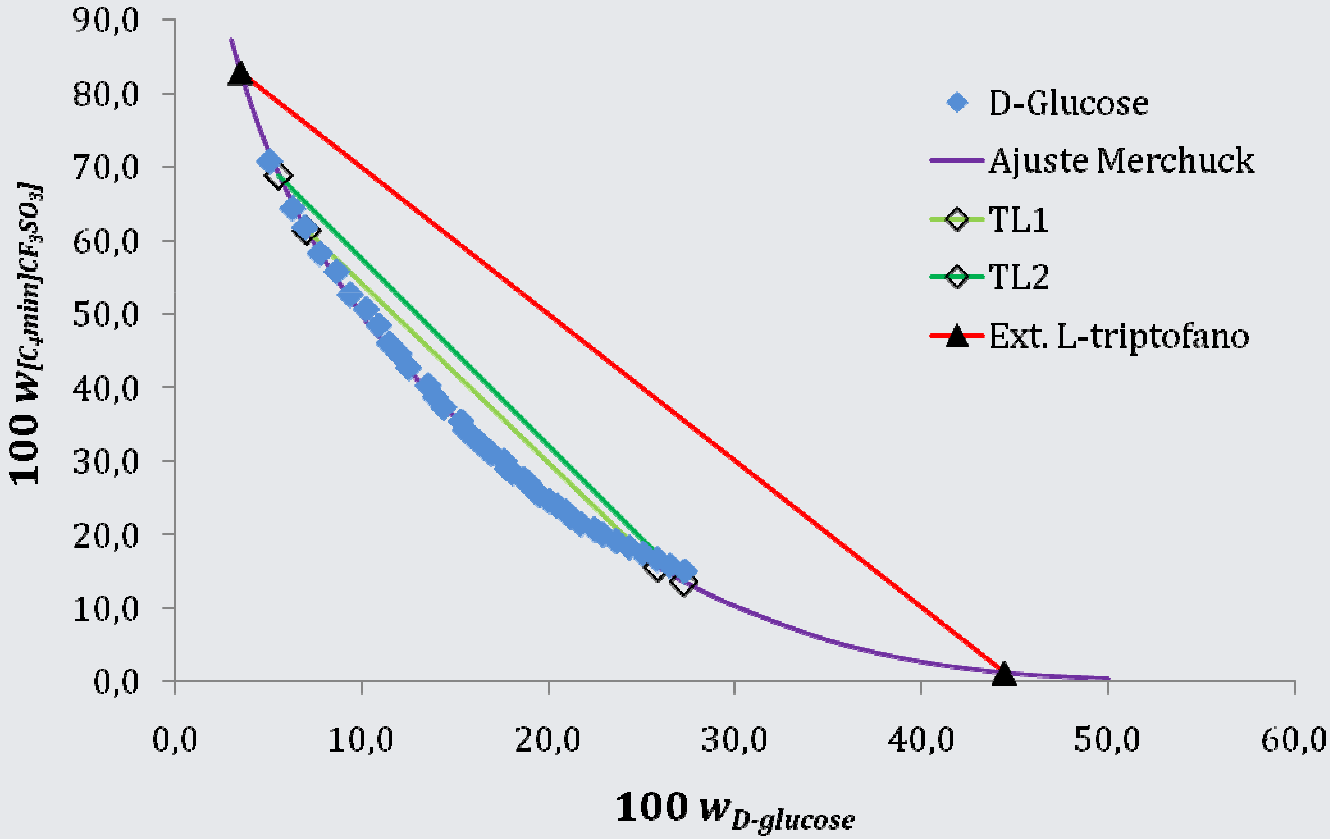
3.2. Resultados Experimentais

Curvas Binodais com Hidratos de Carbono



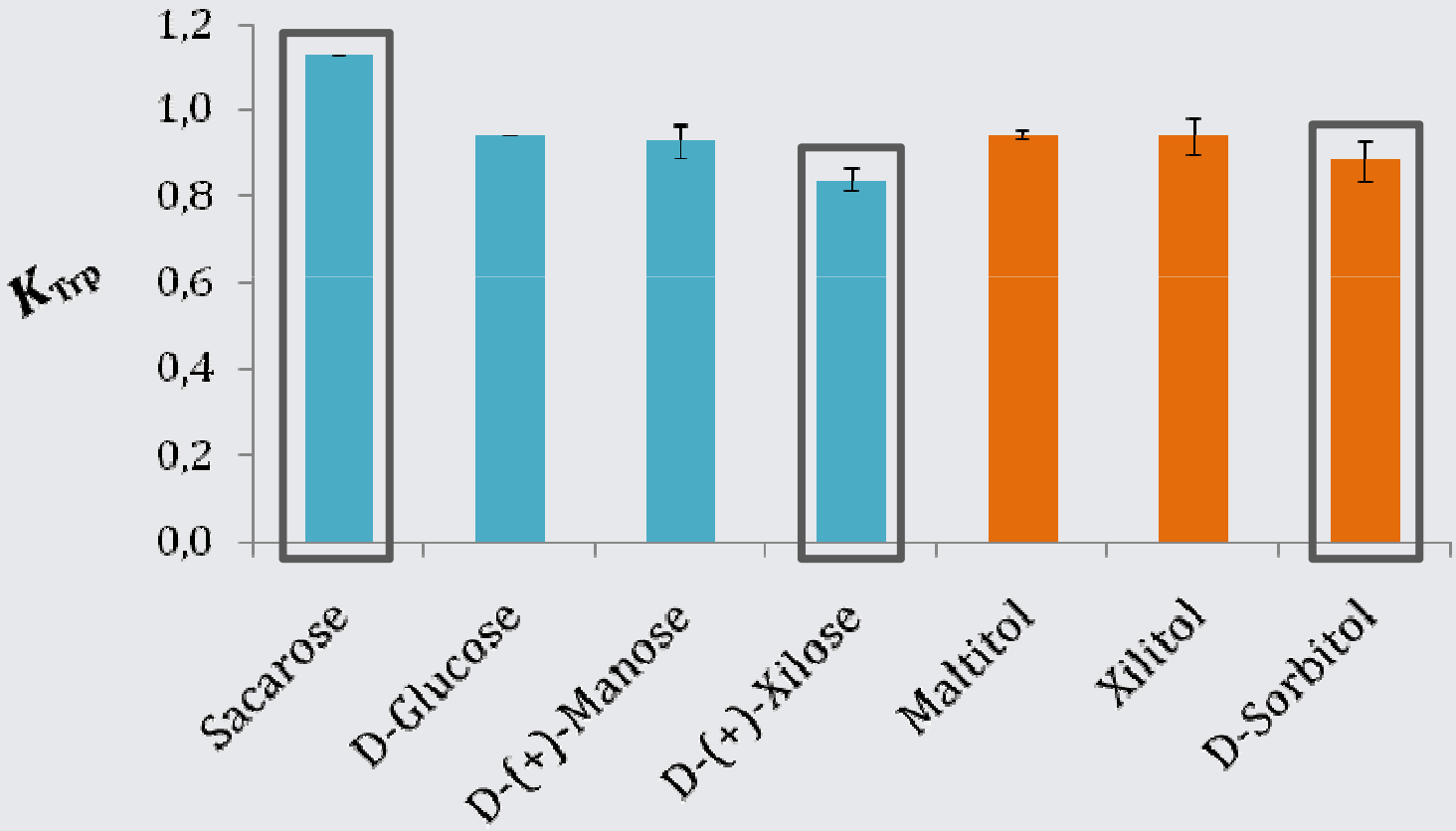
lactose › maltitol › sacarose ≈ D-sorbitol › D-glucose › D-(+)-galactose › D-(+)-manose ≈ xilitol › D-(-)-arabinose › L-(+)-arabinose › D-(+)-xilose

3.2. Resultados Experimentais
Linhas de Equilíbrio



3.2. Resultados Experimentais

Extracção de L-triptofano



3.3. Conclusões

- A capacidade dos sacarídeos para promover a separação segue a ordem: lactose › sacarose › D-glucose › D-(+)-galactose › D-(+)-manose › D-(-)-arabinose › L-(+)-arabinose › D-(+)-xilose

- Os polióis promovem a separação pela seguinte ordem: maltitol › D-sorbitol › xilitol

- Consegue-se até cerca de 50 % de extracção de L-triptofano com os sistemas ternários estudados

- A extracção promovida pelos sistemas convencionais (PEG com polissacarídeos) e pelos sistemas LI + Hidratos de Carbono + H_2O é idêntica ($K_{Trp} \approx 1$)

4. Conclusão geral

- É possível promover separação de fases utilizando LIs da família dos fosfónios e colina.

- Confirma-se que a partir dos SABs é possível a extracção de biomoléculas com elevado rendimento

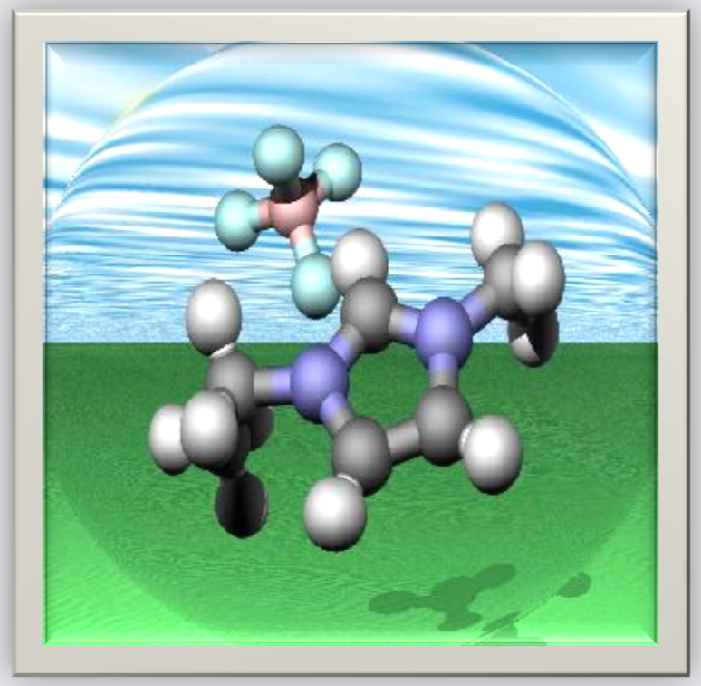
- A natureza hidrofílica/hidrofóbica dos LIs é responsável pelos K_i

- É possível promover separação de fases e extracção de biomoléculas utilizando sistemas ternários com Hidratos de Carbono + LI + H_2O

- Conclui-se que é possível a extracção de biomoléculas recorrendo a processos ambientalmente favoráveis, sem utilização de sais inorgânicos

Agradecimentos

Prof. Doutor Armando Silvestre
Prof. Doutor Luís Belchior
Prof. Doutor João Coutinho
Doutora Mara Freire
Ao grupo e pela atenção de todos



FIM