

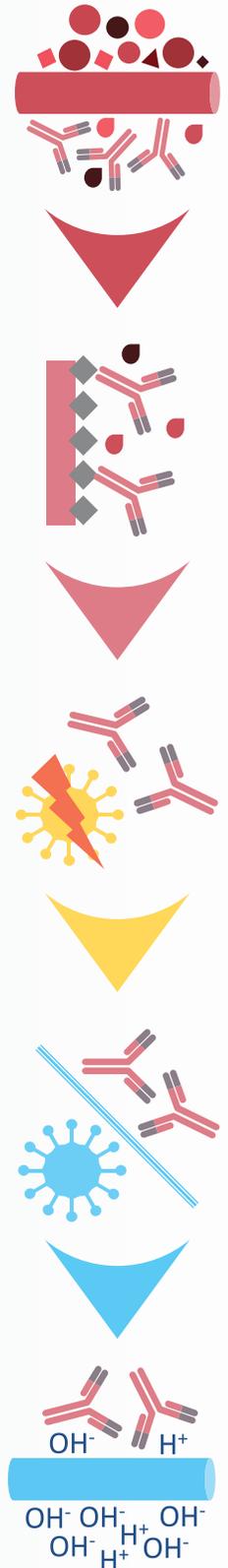
BEATRIZ VAHAN KILIKIAN  
ADALBERTO PESSOA JR.  
COORDENADORES

# PURIFICAÇÃO DE PRODUTOS BIOTECNOLÓGICOS

Operações e processos com aplicação industrial

2ª edição revista e ampliada

Blucher



Coordenadores

Beatriz Vahan Kilikian

Adalberto Pessoa Jr.

# PURIFICAÇÃO DE PRODUTOS BIOTECNOLÓGICOS

Operações e processos com aplicação industrial

2ª edição revista e ampliada

*Purificação de produtos biotecnológicos: operações e processos com aplicação industrial*

© 2020 Beatriz Vahan Kilikian e Adalberto Pessoa Jr. (coordenadores)

Editora Edgard Blücher Ltda.

1ª edição – Manole, 1994

2ª edição – Blucher, 2020

Imagem da capa: elaborada pelos autores

---

# Blucher

Rua Pedroso Alvarenga, 1245, 4º andar

04531-934 – São Paulo – SP – Brasil

Tel.: 55 11 3078-5366

[contato@blucher.com.br](mailto:contato@blucher.com.br)

[www.blucher.com.br](http://www.blucher.com.br)

Segundo o Novo Acordo Ortográfico, conforme 5. ed. do *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*, Academia Brasileira de Letras, março de 2009.

É proibida a reprodução total ou parcial por quaisquer meios sem autorização escrita da editora.

---

Todos os direitos reservados pela Editora Edgard Blücher Ltda.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Angélica Ilacqua CRB-8/7057

---

Purificação de produtos biotecnológicos : operações e processos com aplicação industrial / coordenação Beatriz Vahan Kilikian ; Adalberto Pessoa Jr. – 2. ed. – São Paulo : Blucher, 2020.

760 p. II.

Bibliografia

ISBN 978-85-212-1946-0 (impresso)

ISBN 978-85-212-1947-7 (eletrônico)

1. Biotecnologia I. Título. II. Kilikian, Beatriz Vahan. III. Pessoa Jr., Adalberto.

20-0277

CDD 620.8

---

Índices para catálogo sistemático:

1. Biotecnologia

# CONTEÚDO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
Nomenclatura	15
Lista de palavras	16
1.1 Introdução	17
1.2 Tipos de biomoléculas e células	17
1.3 Caracterização de biomoléculas e pureza	20
1.4 Estabelecimento do processo de purificação	22
1.5 Custo do processo de purificação	28
1.6 Tendências em processos de purificação de biomoléculas	29
1.7 Organização dos capítulos	31
Referências bibliográficas	32
<b>2. PROCESSO DE PURIFICAÇÃO: MÉTODOS ANALÍTICOS E ESTABILIDADE DE ENZIMAS</b>	<b>33</b>
Nomenclatura	33
Lista de palavras	34
2.1 Introdução	36
2.2 Métodos de dosagem de proteínas	37
2.3 Aplicações da cromatografia na análise de biomoléculas	38

2.4	Métodos indiretos de dosagem de proteínas	39
2.5	Métodos de dosagem de antibióticos e policetídeos	40
2.6	Cromatografia de adsorção em coluna monolítica	42
2.7	Métodos de dosagem e remoção de endotoxinas	43
2.8	Eletroforese	45
2.9	Determinação de porcentagem de recuperação ( $\eta$ ) e fator de purificação (FP)	48
2.10	Caracterização e identidade de biomoléculas	49
2.11	Estabilidade de enzimas	53
2.12	Considerações finais	64
	Referências bibliográficas	64
<b>3.</b>	<b>ROMPIMENTO CELULAR</b>	<b>67</b>
	Nomenclatura	67
	Lista de palavras	68
3.1	Introdução	71
3.2	Fatores que afetam o rompimento celular	72
3.3	Rompimento mecânico	77
3.4	Curva de rompimento celular	87
3.5	Rompimento físico ou não mecânico	89
3.6	Rompimento químico	92
3.7	Rompimento com enzimas	95
3.8	Preservação do bioproduto durante operação de rompimento celular	97
	Exercícios	100
	Referências bibliográficas	103
<b>4.</b>	<b>FILTRAÇÃO E CENTRIFUGAÇÃO</b>	<b>105</b>
	Nomenclatura	105
	Lista de palavras	106
4.1	Introdução	107
4.2	Filtração	107

4.3	Centrifugação	117
4.4	Considerações finais	130
	Exercícios	133
	Referências bibliográficas	137
<b>5.</b>	<b>PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS</b>	<b>139</b>
	Nomenclatura	139
	Abreviações	141
	Lista de palavras	141
5.1	Introdução	142
5.2	Processos de separação com membranas	143
5.3	Processos cuja força motriz é a diferença de pressão	157
5.4	Processos cuja força motriz é a diferença de concentração	175
5.5	Processo cuja força motriz é a diferença de potencial elétrico	182
5.6	Exemplos de purificação de produtos biotecnológicos utilizando processos de separação com membranas	183
	Exercícios	196
	Referências bibliográficas	199
<b>6.</b>	<b>PRECIPITAÇÃO DE PROTEÍNAS</b>	<b>201</b>
	Nomenclatura	201
	Lista de palavras	202
6.1	Introdução	204
6.2	Características gerais das proteínas	205
6.3	Precipitação	210
	Exercícios	232
	Referências bibliográficas	239
<b>7.</b>	<b>EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO EM SISTEMAS DE DUAS FASES AQUOSAS</b>	<b>241</b>
	Nomenclatura	241
	Lista de palavras	242

7.1	Introdução	244
7.2	Fundamentos	244
7.3	Extrações baseadas em afinidade	256
7.4	Equipamentos de extração empregados em sistemas de duas fases aquosas	268
7.5	Considerações finais	273
	Exercícios	275
	Referências bibliográficas	277
<b>8.</b>	<b>INTRODUÇÃO À CROMATOGRAFIA</b>	<b>281</b>
	Nomenclatura	281
	Lista de palavras	282
8.1	Introdução	284
8.2	Desempenho do processo cromatográfico	287
8.3	Equilíbrio e cinética de adsorção	290
8.4	Considerações finais	297
	Exercícios	298
	Referências bibliográficas	303
<b>9.</b>	<b>CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO MOLECULAR</b>	<b>305</b>
	Lista de abreviaturas	305
	Nomenclatura	305
	Lista de palavras	306
9.1	Introdução	307
9.2	Volume, composição e aplicação da amostra na coluna	319
9.3	Seleção do eluente	324
9.4	Aplicações da cromatografia de exclusão molecular	325
9.5	Tendências na cromatografia de exclusão molecular	331
	Exercícios	332
	Referências bibliográficas	335

<b>10. CROMATOGRAFIA DE TROCA IÔNICA</b>	<b>337</b>
Nomenclatura	337
Lista de palavras	338
10.1 Introdução	340
10.2 Teoria da troca iônica	341
10.3 Seleção das condições de purificação por troca iônica	342
10.4 Procedimentos nas separações por troca iônica	349
10.5 Exemplo de cromatografia por troca iônica	352
10.6 Aplicação industrial	354
10.7 Considerações finais	355
Exercícios	356
Referências bibliográficas	356
<b>11. CROMATOGRAFIA DE INTERAÇÃO HIDROFÓBICA</b>	<b>359</b>
Nomenclatura	359
Lista de palavras	361
11.1 Introdução	363
11.2 Fundamentos da interação hidrofóbica	364
11.3 Condições de operação	366
11.4 Fatores que afetam a CIH	367
11.5 Aplicações	379
Exercícios	385
Referências bibliográficas	403
<b>12. CROMATOGRAFIA DE AFINIDADE</b>	<b>405</b>
Nomenclatura	405
Lista de palavras	406
12.1 Fundamentos	407
12.2 Eluição	418
12.3 Cromatografia de afinidade a metais imobilizados (IMAC)	421
12.4 Cromatografia de imunoafinidade	423

12.5	Interação antígeno-antígeno	424
12.6	Estratégias de eluição	425
12.7	Imunoadsorvente	428
12.8	Suportes de imunoafinidade	428
12.9	Métodos de imobilização do anticorpo	429
12.10	Exemplo prático de aplicação da cromatografia de afinidade	434
12.11	Considerações finais	439
	Exercícios	440
	Referências bibliográficas	441
<b>13.</b>	<b>CROMATOGRAFIA DE ADSORÇÃO EM COLUNA MONOLÍTICA</b>	<b>443</b>
	Abreviaturas	443
	Lista de palavras	445
13.1	Introdução	446
13.2	Coluna monolítica	447
13.3	Tipos de matriz	448
13.4	Aplicações	451
13.5	Aplicação na indústria	457
	Exercícios	458
	Referências bibliográficas	460
<b>14.</b>	<b>CROMATOGRAFIA: ADSORÇÃO EM LEITO EXPANDIDO (ALE)</b>	<b>463</b>
	Nomenclatura	463
	Lista de palavras	464
14.1	Introdução	464
14.2	Fundamentos da adsorção em ALE	465
14.3	Aplicações da ALE	477
	Exercícios	479
	Referências bibliográficas	484

<b>15. CROMATOGRAFIA CONTÍNUA EM LEITO MÓVEL SIMULADO</b>	<b>487</b>
Nomenclatura	487
Subscritos/sobrescritos	488
Lista de palavras	488
15.1 Comparação entre aspectos da cromatografia em coluna descontínua com leito móvel simulado (LMS)	491
15.2 Separação de proteínas com LMS	494
15.3 Separação de moléculas quirais com LMS	510
15.4 Separação de açúcares com LMS	517
15.5 Considerações finais	527
Referências bibliográficas	528
<b>16. CROMATOGRAFIA: AMPLIAÇÃO DE ESCALA</b>	<b>531</b>
Nomenclatura	531
Lista de palavras	532
16.1 Introdução	534
16.2 Fluxo de eluente pela coluna	536
16.3 Sistema de alimentação de eluente	537
16.4 Empacotamento da coluna	538
16.5 Colunas cromatográficas empregadas em larga escala	541
16.6 Exemplo de cálculo na ampliação de escala da cromatografia	543
16.7 Considerações finais	545
Exercícios	546
Referências bibliográficas	548
<b>17. CRISTALIZAÇÃO</b>	<b>549</b>
Nomenclatura	549
Letras gregas	550
Sobrescrito	550
Lista de palavras	550

17.1	Introdução	551
17.2	Supersaturação	552
17.3	Mecanismos e cinética de cristalização	557
17.4	Transformações de fases e polimorfismo	565
17.5	Sistemas industriais de cristalização	569
17.6	Guia para projeto de sistemas industriais de cristalização	576
17.7	Cristalização de biomoléculas	578
	Exercício	581
	Referências bibliográficas	583
<b>18.</b>	<b>DESTILAÇÃO</b>	<b>585</b>
	Nomenclatura	585
	Lista de palavras	588
18.1	Introdução	589
18.2	Noções de equilíbrio de fases	590
18.3	Coeficientes de fugacidade e de atividade	591
18.4	Modelos simplificados para equilíbrio líquido-vapor	593
18.5	Construção de diagramas de fases T, x e y a pressão constante	594
18.6	Destilação azeotrópica heterogênea	598
18.7	Constante de equilíbrio	600
18.8	Volatilidade relativa	601
18.9	Destilação em batelada	602
18.10	Estágio de equilíbrio em tambor de <i>flash</i>	607
18.11	Equacionamento da separação <i>flash</i>	608
18.12	Misturas multicomponentes ideais	609
18.13	Roteiros de cálculo	610
18.14	Dispositivos de contato líquido-vapor	612
18.15	Misturas binárias	617
18.16	Destilação de misturas multicomponentes	630
18.17	Componentes-chave	631

18.18 Estimativa da distribuição dos componentes nos produtos separados	632
18.19 Métodos aproximados ( <i>shortcut</i> ) para o cálculo do número de estágios ideais	633
Exercícios	638
Referências bibliográficas	640
<b>19. PURIFICAÇÃO DE PLASMÍDEOS</b>	<b>641</b>
Nomenclatura	641
Lista de palavras	642
19.1 Introdução	645
19.2 Propriedades moleculares, especificações e controle de qualidade	646
19.3 Isolamento primário	649
19.4 Purificação de baixa resolução	654
19.5 Purificação de alta resolução	659
19.6 Síntese de processos de purificação	666
Exercícios	669
Referências bibliográficas	670
<b>20. PURIFICAÇÃO DE ANTICORPOS MONOCLONAIS</b>	<b>673</b>
Nomenclatura	673
Lista de palavras	674
20.1 Introdução	675
20.2 Características estruturais e funcionais dos anticorpos	676
20.3 Tecnologias de purificação	678
20.4 Operações alternativas para purificação de anticorpos monoclonais	686
20.5 Estratégias não cromatográficas	692
Exercícios	695
Referências bibliográficas	697

<b>21. FUNDAMENTOS PARA PRODUÇÃO, PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PEPTÍDEOS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO</b>	<b>701</b>
Nomenclatura	701
Lista de palavras	703
21.1 Peptídeos	703
21.2 Exemplos de produção de peptídeos de interesse biotecnológico	709
21.3 Análise e caracterização de peptídeos	713
Exercícios	724
Referências bibliográficas	725
<b>22. INTEGRAÇÃO DE ETAPAS NA OBTENÇÃO DE PRODUTOS BIOTECNOLÓGICOS</b>	<b>729</b>
Nomenclatura	729
Lista de palavras	730
22.1 Introdução	731
22.2 Alternativas de integração	734
22.3 Integração das operações de clarificação e purificação	741
22.4 Integração da clarificação com a extração líquido-líquido	743
22.5 Sequência ótima das etapas de purificação de proteínas	746
22.6 Exemplo de síntese ótima: purificação de albumina de soro bovino (BSA)	747
22.7 Considerações finais	749
Exercícios	750
Referências bibliográficas	753
<b>SOBRE OS AUTORES</b>	<b>755</b>

# CAPÍTULO 1

## **Introdução**

*Adalberto Pessoa Jr.*  
*Beatriz Vahan Kilikian*

### **NOMENCLATURA**

CPC – Cromatografia de partição centrífuga

EMA – *European Medicines Agency*

EP – *European Pharmacopoeia*

FDA – *Food and Drug Administration*

HGF – *Recombinant human hepatocyte growth factor*

LLC – Cromatografia líquido-líquido (*liquid-liquid chromatography*)

LPS – Lipopolissacarídeo

mAbs – Anticorpos monoclonais

p3HB – Poli-3-hidroxibutirato

pHB – Polihidroxibutirato

SUT – *Single use technology*

*Tag* – Etiqueta

USP – *United States Pharmacopoeia*

**LISTA DE PALAVRAS**

Agências reguladoras

Anvisa

Atividade biológica

Cromatografia

Custo

DNA circular

Endotoxinas

Estabilização

Estrutura de células

Eucarioto

Farmacopeia

FDA

Impurezas

L-asparaginase

Meio de cultivo

Operações Unitárias

Perda

Plasmídeo

Pré-Purificação

Preservação

Princípio Ativo

Procarioto

Processo

Purificação

Recuperação

Rendimento

Rompimento celular

Segurança

Validação de processos

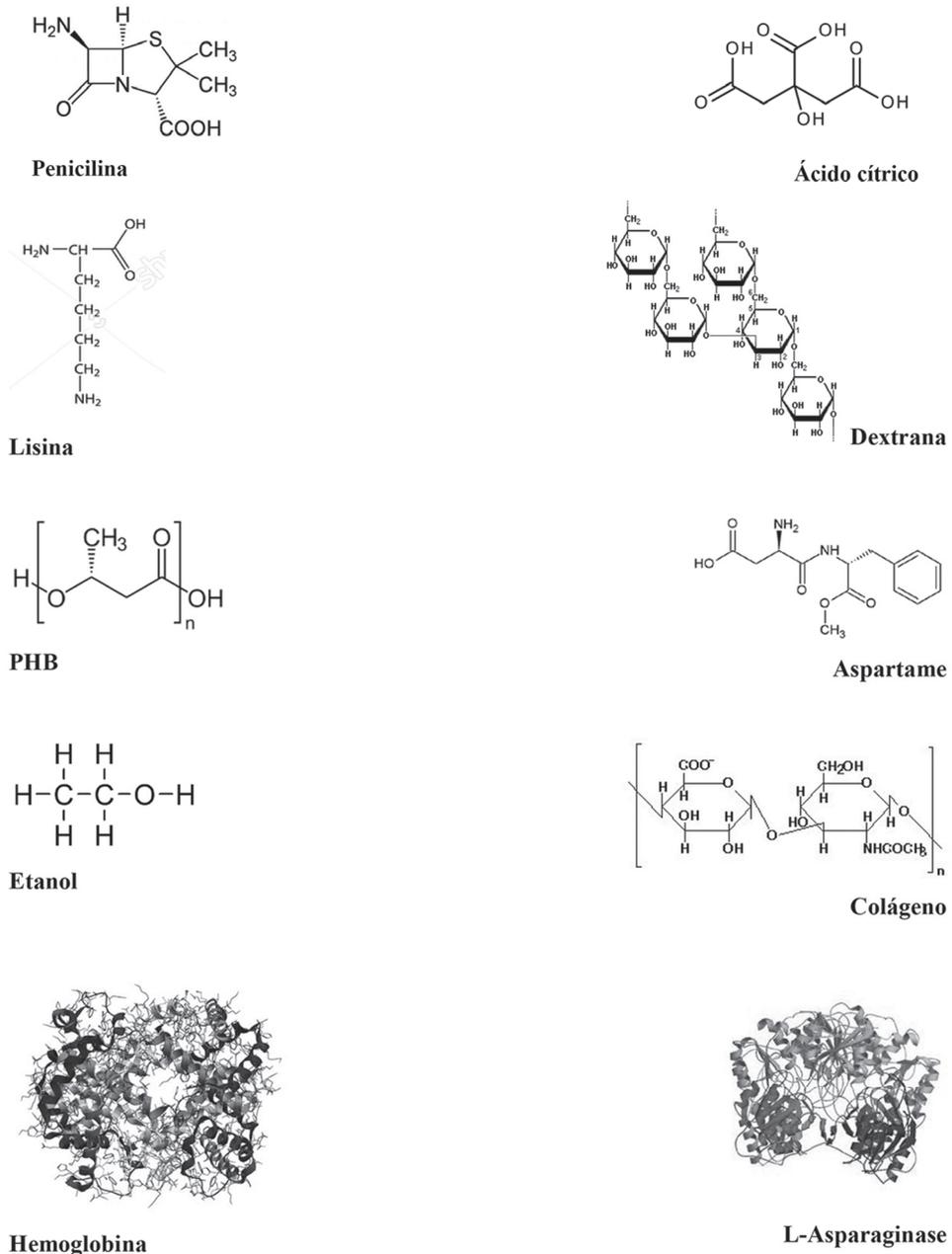
Viabilidade econômica

## 1.1 INTRODUÇÃO

Células microbianas e células animais, quando adequadamente cultivadas, são capazes de produzir uma gama imensa de produtos de interesse de uso em vários setores, como saúde humana e animal, alimentos, meio ambiente e agrícola, e materiais, como polímeros, combustíveis líquidos e gasosos. Tais produtos, ou bioprodutos, geralmente são obtidos a partir de cultivos em meios líquidos e, com menor frequência, em meios sólidos úmidos. Faz-se necessário segregar o produto do meio de cultivo até que ele atinja tal grau de isolamento que o torne adequado para o uso previsto. Este livro trata das operações unitárias de isolamento dos bioprodutos obtidos em cultivos de células microbianas e animais. Frequentemente as operações unitárias de isolamento são denominadas operações de purificação, denominação discutível, mas que é adotada neste livro por ser amplamente empregada.

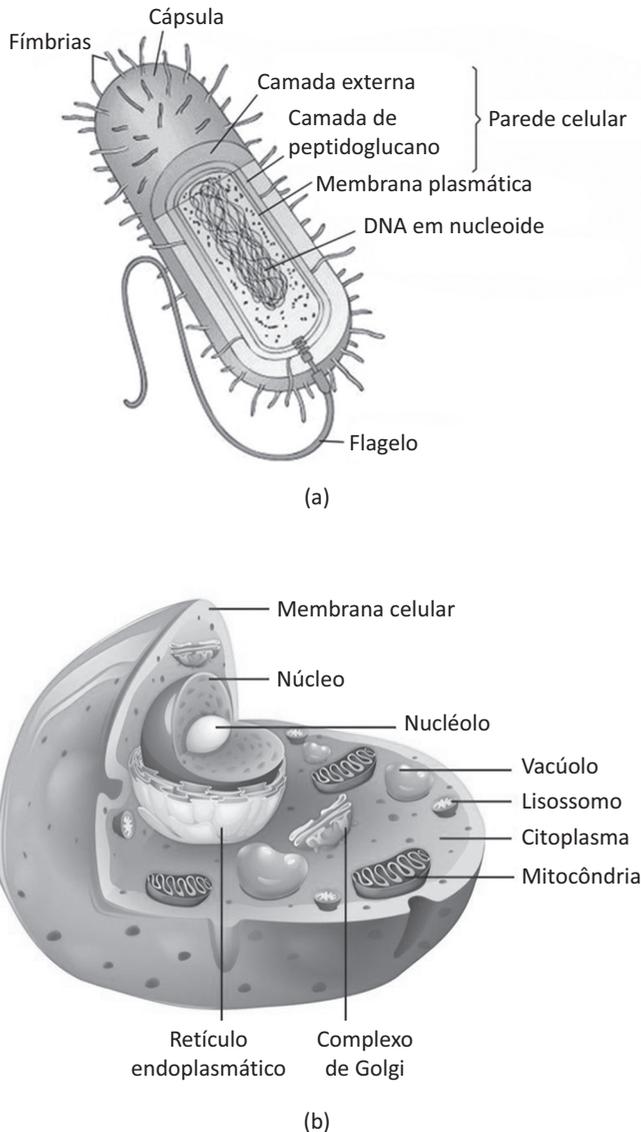
## 1.2 TIPOS DE BIOMOLÉCULAS E CÉLULAS

Microorganismos são capazes de sintetizar moléculas tão simples quanto a molécula de etanol até moléculas tão complexas como hormônios, antibióticos e anticorpos. As próprias células microbianas são, por vezes, o produto do processo, por exemplo, quando se trata de produzir fermento para a indústria de panificação, cervejaria e vinificação. A Figura 1.1 apresenta algumas biomoléculas produzidas em larga escala cujas estruturas químicas variam desde moléculas muito simples, como o ácido cítrico e o etanol, e moléculas de complexidade intermediária, como a dextrana, um polissacarídeo simples, pHB e goma xantana, que constituem heteropolissacarídeos, até moléculas de elevada complexidade, como a penicilina (antibiótico), a lisina (aminoácido), peptídeos (aspartame), e proteínas (hormônio de crescimento humano, HGF, proteínas estruturais – queratina, colágeno – e funcionais – enzimas, anticorpos, antígenos).



**Figura 1.1** Algumas biomoléculas produzidas em larga escala: ácido cítrico, etanol, dextrana, pHB, penicilina, lisina, aspartame, colágeno (proteína estrutural), hemoglobina (proteína funcional dos glóbulos vermelhos do sangue responsável pelo transporte de oxigênio) e L-asparaginase (proteína funcional).

A Figura 1.2 mostra as estruturas de células de procariotos e de eucariotos cujas características influenciam significativamente nos processos de purificação de biomoléculas, com destaque para a operação de rompimento celular.



**Figura 1.2** Estrutura de células de procariotos (a) e eucariotos (b).

As células de procariotos, ou procarióticas, constituídas, sobretudo, por bactérias e arqueas, são unicelulares. Como qualquer célula viva, possuem genoma, citoplasma e membrana plasmática, e a maioria das espécies possui, também, parede celular rígida (Figura 3.2), a qual tem como principal função proteger a célula contra agressões externas, como pressão osmótica e força de cisalhamento. No plano morfológico, as bactérias apresentam grande variedade, podendo ser encontradas nas seguintes formas: cocos (relativamente esféricos); esfilococos; estreptococos; sarcinas ou diplococos; bacilos (cocos ligeiramente alongados, com ou sem flagelos); vibriões (bacilos encurvados em forma de arco ou de vírgula, com flagelo numa das extremidades); e

espiroquetas (bacilos alongados e helicoidais que podem dispor de vários flagelos). A maioria das células procarióticas apresenta um único cromossomo e, portanto, uma única cópia de seu material genético, mas também podem conter fragmentos menores de DNA, na forma circular, denominados plasmídeos. Os procariotos apresentam metabolismos diversificados, o que é refletido na sua capacidade de colonização de diferentes ambientes, como tratos digestivos de animais e em ambientes vulcânicos, secos, gelados etc. Não possuem organelas celulares e conduzem seus processos metabólicos na membrana celular.

As células eucarióticas são representadas, sobretudo, pelos fungos filamentosos, fungos unicelulares (leveduras), células animais e vegetais e, em sua maioria, são pluricelulares e, portanto, mais complexas. As células eucarióticas apresentam núcleo delimitado por membrana no qual se encontra o DNA, característica que as diferencia dos procariotos. Além disso, os genomas eucarióticos são geralmente maiores do que os procarióticos. Por exemplo, o genoma de *E. coli* (procarioto) possui menos da metade do tamanho do genoma de uma levedura (um eucarioto unicelular simples) e é quase setecentas vezes menor que o genoma humano.

As estruturas celulares influenciam a definição das etapas do processo de purificação em vista das suas estruturas químicas de parede e membrana, dimensões, densidade, agregação de impurezas de organelas e ácidos nucleicos, lipídeos e materiais particulados que elevam a viscosidade e comprometem as operações de isolamento por meio de adsorção, sobretudo quando a molécula-alvo é intracelular.

### 1.3 CARACTERIZAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS E PUREZA

As biomoléculas, como se viu na Figura 1.1, podem ser desde simples álcoois até proteínas, e as estruturas de tais moléculas são decisivas na escolha das operações unitárias para o isolamento delas. Por exemplo, quando a massa molar da biomolécula-alvo é significativamente diferente em relação à maioria das demais moléculas do meio, operações unitárias baseadas em separações por tamanho molar devem ser exploradas. A escolha das metodologias analíticas para quantificação da biomolécula-alvo e das impurezas, fundamental para o monitoramento do processo de purificação, também depende do conhecimento das características físico-químicas das principais biomoléculas do processo em desenvolvimento. Faz-se necessário, portanto, determinar as características físico-químicas da molécula-alvo, bem como das principais impurezas e, ainda, ao final do processo, determinar a identidade química destas moléculas e impurezas que devem atender aos requisitos para a validação do processo. No Capítulo 2, “Processo de purificação: métodos analíticos e estabilidade de enzimas”, o leitor encontrará menção a vários métodos para caracterização de biomoléculas quanto a massa molar, solubilidade e hidrofobicidade, mobilidade eletroforética, estrutura química e atividade biológica. Uma caracterização detalhada de uma molécula complexa e sujeita a alterações de forma requer estudos aprofundados dos métodos citados no Capítulo 2 e até mesmo a contratação de laboratórios especializados,

pois, a validação de processos para produtos de uso terapêutico passa pela comprovação da estrutura química e da atividade biológica da molécula-alvo.

No estabelecimento de um processo de purificação deve-se definir o objetivo quanto à pureza da biomolécula-alvo, ou seja, qual o seu teor no produto final, de tal forma a projetar um processo coerente com a aplicação. Quando se tratar de produto com atividade biológica, a relação entre esta atividade e a massa do produto deverá ser estabelecida entre os objetivos. A quantidade que será obtida relativa à quantidade produzida – o rendimento, portanto – é um parâmetro que definirá a viabilidade econômica do processo produtivo.

Frequentemente não é suficiente obter uma proteína a uma pureza elevada, também é necessária uma elevada homogeneidade. Ações de proteases durante a expressão da proteína desejada ou proteólise durante a purificação, formação de oligômeros ou agregados, modificações pós-traducionais como as glicosilações, perda de subunidades, podem resultar em moléculas heterogêneas.

Obter uma proteína a 95% de pureza ou mais não significa que esta se encontra adequada para uso. A aceitabilidade dependerá do conteúdo remanescente nas moléculas que constituem a massa de 5%. Mesmo impurezas menores, biologicamente ativas, são inaceitáveis do ponto de vista das aplicações científicas e terapêuticas. Faz-se importante, portanto, diferenciar as impurezas que precisam ser reduzidas a níveis determinados e aceitáveis e aquelas que devem ser totalmente eliminadas.

Existem produtos cuja aplicação não só requer elevado grau de pureza, mas também quase total isenção de determinadas impurezas, como as endotoxinas. Uma variedade cada vez maior de biomoléculas destinadas à saúde humana e animal é produzida em bactérias geneticamente modificadas, como *Escherichia coli*, o que acarreta contaminação com endotoxinas que, mesmo em concentrações muito baixas (~100 pg), podem ativar o sistema imune, alterar as funções metabólicas, aumentar a temperatura corpórea e levar o indivíduo a óbito. As concentrações limites de endotoxina nas preparações farmacêuticas são estabelecidas por agências reguladoras e são decisivas na liberação do produto para o uso humano e animal. Os limites considerados aceitáveis pela United States Pharmacopeia (USP) e pela Food and Drug Administration (FDA) são definidos em função da dose de medicamento a ser administrada ao paciente.

Por outro lado, há casos de biofármacos para os quais importantes agências reguladoras não estabelecem limites de pureza simplesmente porque não detêm os padrões de segurança, eficácia e qualidade. É o caso do antileucêmico L-asparaginase, um medicamento injetável. As características de pureza desse bioproduto não constam da *Farmacopeia Brasileira*, da *Farmacopeia Americana* (USP) e nem da *Farmacopeia Europeia* (EP, *European Pharmacopoeia*). Também não são padronizadas pela principal agência de controle de medicamentos da União Europeia, a European Medicines Agency (EMA), responsável pela avaliação científica, supervisão e monitoramento de segurança de fármacos presentes nos 28 países membros. Essa indefinição sobre tolerância a tipos e concentrações de impurezas tem gerado questionamentos de diversos setores da sociedade civil brasileira (hospitais, vigilância sanitária, médicos

oncologistas, associações de pacientes e cientistas), uma vez que provoca insegurança no seu uso. Por exemplo, comercializam-se no mercado internacional, incluindo o Brasil, diferentes medicamentos contendo o princípio ativo L-asparaginase, todos com qualidade questionável, uma vez que contêm tipos e quantidades de impurezas desconhecidas. Neste caso, o produto vem sendo comercializado com base em padrões genéricos de qualidade, como atividade enzimática, massa molecular por eletroforese em gel de poliacrilamida e concentração de lipopolissacarídeos (LPS, endotoxina bacteriana pelo método de coagulação em gel, um método semiquantitativo). No caso desse biofármaco, é urgente o estabelecimento de padrões de qualidade publicados em monografias confiáveis nas *Farmacopeias*, uma vez que vêm sendo ignorados os efeitos das impurezas presentes.

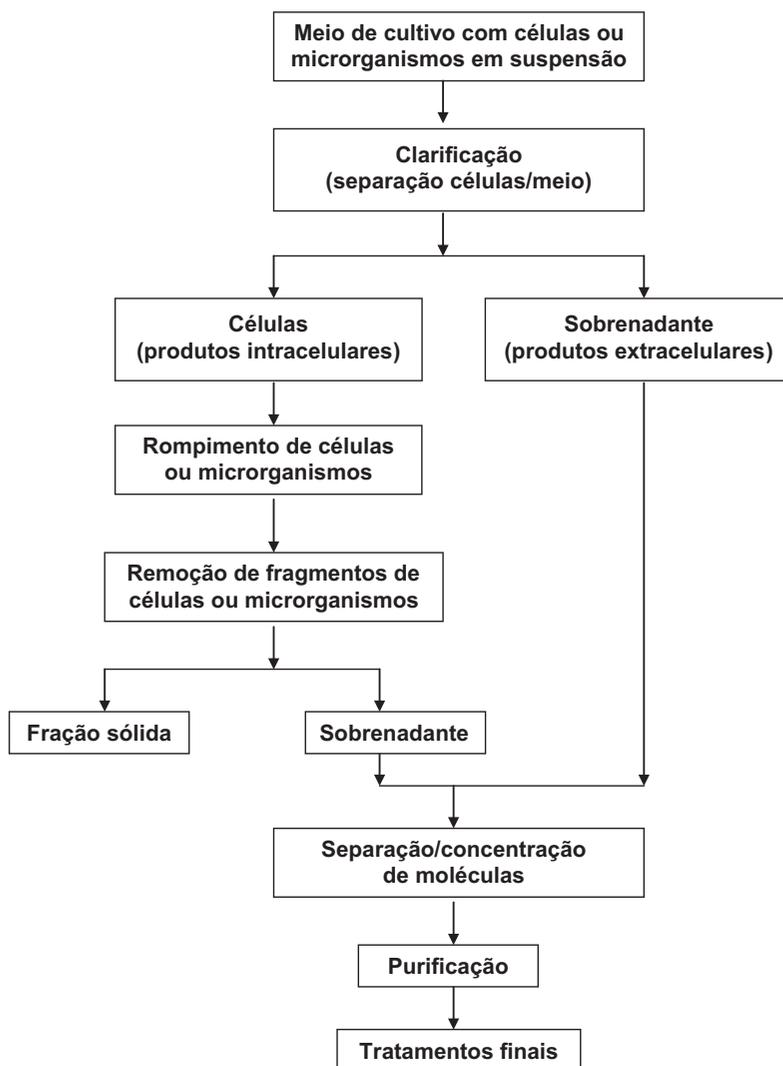
## 1.4 ESTABELECIMENTO DO PROCESSO DE PURIFICAÇÃO

Vários são os fatores que devem ser considerados na definição do processo de purificação de uma biomolécula. O sistema de expressão adotado, isto é, a célula e o conjunto de genes de expressão e as características físico-químicas da molécula-alvo e, em grande medida, a aplicação final são determinantes para o processo. Ainda, os componentes do meio de cultura e, sobretudo, as principais impurezas devem ser considerados, o que também depende do sistema de expressão adotado.

Algumas questões que se colocam ante o desenvolvimento de um processo de purificação de uma biomolécula são: qual o uso final da molécula-alvo? Qual a pureza a ser alcançada? Qual a concentração da molécula-alvo no meio de cultivo? Quais as características físico-químicas da molécula-alvo? A molécula-alvo tem atividade biológica? A molécula-alvo será transportada? Qual o tempo estimado de armazenamento da molécula-alvo até o seu efetivo emprego? Há impurezas que devem ser eliminadas? Quais as características de tais impurezas? Qual a concentração de tais impurezas? As respostas a essas perguntas certamente direcionarão o desenvolvimento do processo de purificação.

Antes mesmo da definição das etapas do processo de purificação, é preciso definir as metodologias analíticas para a quantificação da molécula-alvo, incluindo medidas de atividade biológica, quando for pertinente, e medidas da identidade química da molécula-alvo. Este conjunto de ferramentas será fundamental ao desenvolvimento do processo, dado que as operações unitárias selecionadas deverão se mostrar eficientes não somente quanto ao isolamento da molécula-alvo, mas também quanto ao percentual de recuperação em relação à massa e atividade biológica (quando pertinente) inicialmente presente no meio de cultivo. Além disso, o processo de purificação estabelecido deverá ser capaz de processar o volume de meio em um tempo tal que não comprometa a estabilidade da biomolécula resultante do cultivo celular. Resumindo, portanto, tem-se que se iniciam os estudos de purificação com análises de caracterização da biomolécula-alvo e impurezas e o estabelecimento de rotinas analíticas quantitativas e qualitativas (Capítulo 2), pois sem essas ferramentas não há como quantificar o sucesso de cada operação unitária testada.

A despeito da variedade de características de biomoléculas/células/meios e operações unitárias de purificação, o processo pode ser dividido em quatro etapas genéricas, facilitando o desenvolvimento do processo de purificação e também a organização do conteúdo deste livro. Essas quatro etapas são as seguintes: separação de células e seus fragmentos do meio de cultivo (clarificação); concentração e/ou purificação de baixa resolução; purificação de alta resolução; e, finalmente, operações para o acondicionamento final do produto, o que pode incluir sua estabilização. A Figura 1.3 apresenta um fluxograma genérico do processo de purificação baseado nessa divisão do processo em quatro etapas.



**Figura 1.3** Etapas de um processo genérico de purificação de biomoléculas.

A operação de clarificação é assim denominada, pois, a remoção dos sólidos suspensos, constituídos principalmente por células íntegras e seus fragmentos resulta em redução da turbidez do meio. Para produtos associados às células é necessário efetuar o rompimento celular, processo que é efetuado sobre o adensado de células obtido após a clarificação do meio de cultivo. Produtos intracelulares tornam o processo de purificação de biomoléculas mais difícil em comparação a produtos extracelulares, dado que demandam o rompimento das células. Como consequência, ocorre aumento da viscosidade do meio devido à liberação de nucleotídeos, e a molécula-alvo é liberada junto com todas as outras moléculas intracelulares, o que amplia a diversidade de contaminantes.

As operações de concentração e/ou purificação de baixa resolução, ou purificação intermediária, compreendem a separação da molécula-alvo, por exemplo, uma proteína, em relação a moléculas com características físico-químicas significativamente diferentes, como água, íons, pigmentos, ácidos nucleicos, polissacarídeos, lipídeos, vírus e até mesmo proteínas quando estas estão presentes em concentrações elevadas. Dito de uma forma simples, trata-se de promover o isolamento entre a molécula-alvo e a maioria das outras moléculas. A resolução é a capacidade de uma determinada operação em isolar a molécula-alvo em relação a outras moléculas, ou seja, resolver a separação desejada. No Capítulo 8, “Introdução à cromatografia”, encontra-se uma definição matemática para o termo “resolução” na separação de moléculas em uma operação de cromatografia.

Já as operações unitárias de purificação de alta resolução geralmente compreendem a separação entre classes de moléculas com características físico-químicas semelhantes, como proteínas, o que de fato ocorre nos estágios finais do processo, quando impurezas de naturezas diversas já foram eliminadas. Na captura da molécula-alvo em operações unitárias de resolução particularmente elevada, a purificação intermediária pode até mesmo ser omitida. São consideradas operações unitárias de elevada resolução as adsorções nas cromatografias em leito fixo ou expandido (Capítulos 10, 11, 12, 13 e 14), a separação baseada na massa molar também em cromatografia em leito fixo (Capítulo 9) ou através de membranas (Capítulo 5). É nas etapas de elevada resolução que em geral a questão da capacidade da operação unitária em processar o volume de meio líquido em intervalo de tempo apropriado pode vir a ser fator crítico, embora a velocidade de processamento geralmente seja decisiva no início do processo, quando proteases não foram eliminadas. A ampliação da escala de colunas de cromatografia, geralmente aplicadas nas separações de elevada resolução, pode significar agregação de custos, resultando em valores proibitivos à comercialização da biomolécula. Não por acaso, busca-se a redução do volume de meio a processar na etapa de purificação de baixa resolução.

Nas operações de polimento, como a cristalização (Capítulo 17), apenas concentrações residuais de contaminantes permanecem com a molécula-alvo e, possivelmente, moléculas similares à molécula-alvo. Nessas operações é possível elevar a concentração da molécula-alvo, estabilizá-la a uma forma passível de transporte e armazenamento e até mesmo eliminar traços de impurezas no caso da cristalização. A estabilização é a preservação do bioproduto em condições tais que este mantenha sua capacidade biológica por amplos intervalos de tempo, de modo a permitir seu transporte e armazenamento.

O Quadro 1.1 apresenta as operações unitárias empregadas nos processos de purificação viáveis em escala industrial, a etapa à qual pertencem e o princípio que rege o isolamento da biomolécula-alvo em relação às demais moléculas.

**Quadro 1.1** Operações unitárias do processo de purificação de produtos biotecnológicos

Etapa do processo	Operações unitárias	Princípio
Clarificação	Filtração convencional	Tamanho de partículas
	Centrifugação	Tamanho e densidade de partículas
	Filtração tangencial (membranas)	Tamanho de partículas
	Floculação	Hidrofobicidade de partículas
Rompimento de células	Homogeneização	Cisalhamento
	Ultrassom	Cisalhamento
	Moagem em moinho de bolas	Cisalhamento
	Rompimento químico ou enzimático	Hidrólise, solubilização ou desidratação de moléculas que compõem a parede ou membrana celular
Purificação de baixa resolução	Precipitação	Solubilidade
	Ultrafiltração (membranas)	Massa molar e raio hidrodinâmico de moléculas
	Extração em sistemas de duas fases líquidas	Solubilidade

(continua)

**Quadro 1.1** Operações unitárias do processo de purificação de produtos biotecnológicos (*continuação*)

Etapa do processo	Operações unitárias	Princípio
Purificação de alta resolução	Cromatografia de troca iônica	Tipo e densidade de carga na superfície da biomolécula
	Cromatografia de afinidade (biológica ou química)	Sítios específicos da superfície de uma proteína (adsorção)
	Cromatografia de imunoafinidade	Sítios específicos da superfície de uma proteína (adsorção antígeno/anticorpo)
	Cromatografia de interação hidrofóbica	Hidrofobicidade
	Cromatografia de exclusão molecular	Massa molar
	Membranas adsortivas	Massa molar e características para adsorção ou sítios específicos da superfície de uma proteína
Tratamentos finais	Cristalização	Solubilidade e características de equilíbrio líquido-sólido
	Liofilização	Características de equilíbrio líquido-sólido
	Secagem	Características de equilíbrio líquido-sólido

Um olhar comparativo sobre as operações unitárias apresentadas no Quadro 1.1 e as obras clássicas sobre as operações unitárias de separação na Engenharia Química revelará a similaridade nas duas grandes áreas. Contudo, um olhar sobre o conteúdo específico de cada uma das operações unitárias apresentadas neste livro revelará que as especificidades físicas e químicas de biomoléculas como antibióticos, peptídeos, aminoácidos e proteínas (tamanho; sensibilidade a temperatura, pH e força iônica; forma que muitas vezes precisa ser preservada sob pena de perda da capacidade biológica) requererá cuidados especiais na condução de tais operações. A molécula de etanol, álcool largamente produzido por via microbiana, é uma exceção, pois seu isolamento a partir do meio clarificado, isto é, isento de células, resume-se a operações de destilação idênticas àquelas adotadas na indústria química convencional.

As características de células e biomoléculas que norteiam a seleção das operações unitárias de purificação, bem como as rotinas analíticas por meio das quais tais características são determinadas, estão apresentadas no Capítulo 2, “Processo de purificação: métodos analíticos e estabilidade de enzimas”.

A efetivação de cada etapa não necessariamente compreende a aplicação de uma única operação unitária. Por exemplo, após uma centrifugação pode haver a necessidade de uma filtração tangencial para a total remoção de sólidos suspensos, caso o meio líquido seja dirigido a uma cromatografia em leito empacotado, operação de adsorção que não suporta a inserção de sólidos suspensos. Em outro exemplo, após uma precipitação em ambiente aquoso de elevada concentração salina, uma diafiltração poderá ser necessária (processo de separação através de membranas) para ajuste da força iônica do meio a valores adequados a uma cromatografia por troca iônica.

Moléculas como etanol, por exemplo, são isoladas em processo que basicamente compreende a clarificação para separação da levedura, seguida da destilação (Capítulo 18) para obtenção de uma fração rica em etanol, portanto, não ocorrem os quatro grupos de etapas do processo de purificação. Vários microrganismos são capazes de produzir álcoois como etanol e metanol, substituindo o petróleo, fonte usual de obtenção desses álcoois, por matérias-primas renováveis como a cana de açúcar e o milho, que são as principais fontes de obtenção de etanol por via fermentativa.

Diversas enzimas de uso industrial tampouco necessitam de todas as etapas de purificação. O simples aumento da concentração da molécula-alvo, isto é, a redução do teor de água do meio e sua estabilização, por vezes, são suficientes. Ácidos orgânicos como os ácidos cítrico, láctico e acético também constituem classe de moléculas produzidas alternativamente por via microbiana, cuja purificação não é complexa, limitando-se a operações de precipitação e concentração.

Para essas moléculas, que não requerem processos complexos de purificação, frequentemente aplicam-se as seguintes operações unitárias de concentração ou redução do teor de água do meio: precipitação da molécula-alvo seguida de nova solubilização em volume reduzido de solvente (Capítulo 6); filtração do meio através de membrana de porosidade tal que moléculas de água e, geralmente, componentes inorgânicos são separados da molécula-alvo (Capítulo 5); liofilização, que é a remoção de água por meio de sublimação, adequada à natureza biológica dos bioprodutos, e cristalização da biomolécula, que a um só tempo promove o aumento de sua concentração, pureza e estabilidade.

Em contraponto a moléculas de baixa exigência de purificação, têm-se as moléculas de elevada exigência de pureza, para as quais todas as grandes etapas do fluxograma da Figura 1.3 são aplicadas, resultando em um processo de purificação altamente complexo, seja a célula produtora um simples procarioto ou um eucarioto. Para essas moléculas, a completa purificação pode exigir mais de uma etapa cromatográfica, cada uma baseada em um princípio diferente de separação das moléculas, a fim de atingir o grau de pureza necessário. Nesse caso, a ordem de aplicação das separações cromatográficas influirá na pureza alcançada (Capítulo 22).

Agregar etapas ao processo de purificação, seja de separação cromatográfica ou através de membranas, se por um lado acarreta elevação da pureza da molécula-alvo, por outro reduz o rendimento, dado que as perdas são diretamente proporcionais ao número de etapas do processo e são cumulativas. Resulta daí que o estabelecimento

da sequência de etapas do processo de purificação deve ser tal que contemple o máximo rendimento da molécula-alvo com o concomitante alcance da pureza necessária à sua aplicação e manutenção da identidade física e química, com o mínimo de etapas.

São regras básicas ao desenvolvimento do processo de purificação: o conhecimento das características da molécula-alvo; o estabelecimento das metodologias analíticas para quantificação da molécula-alvo, incluindo medidas de atividade e identidade; a remoção de impurezas presentes em proporção elevada nos estágios iniciais do processo, sobretudo quando se tratar de proteases que são enzimas; a aplicação sequencial de operações unitárias baseadas em fundamentos diferentes, como tamanho molecular, hidrofobicidade e carga.

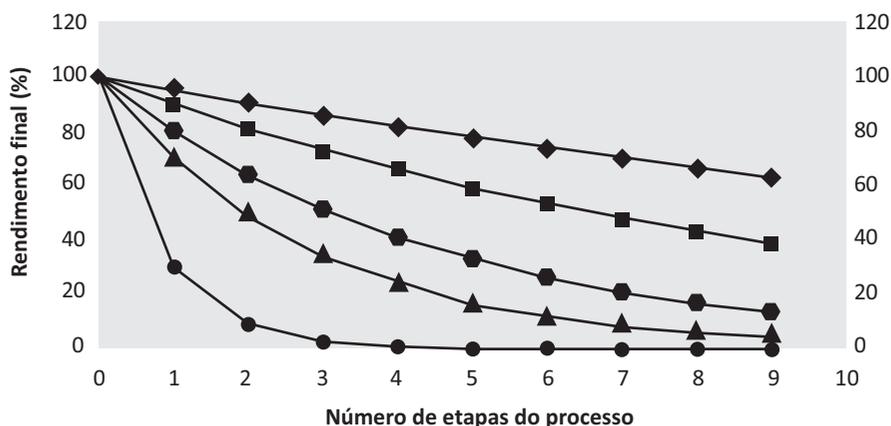
## 1.5 CUSTO DO PROCESSO DE PURIFICAÇÃO

O custo do processo de purificação depende em larga medida do número de etapas e do tipo de operação de elevada resolução na purificação, pois, como já foi dito, a porcentagem de recuperação está inversamente relacionada ao número de etapas, e as operações de elevada resolução são aquelas de maior custo no processo. Resulta daí que a natureza da molécula a ser purificada e seu uso final são, dentre os tantos fatores interferentes no processo, aqueles de maior impacto. Produtos ditos farmacêuticos, que são aqueles aplicados nas análises diagnósticas e, sobretudo, nos tratamentos terapêuticos de humanos e animais, são os que requerem maior grau de pureza e, portanto, a complexidade do processo de purificação para tais produtos é elevada, podendo representar 80% do custo final do produto. No decorrer deste livro, sobretudo nos capítulos dedicados às separações cromatográficas, as dificuldades e a crescente complexidade do processo de purificação serão paulatinamente reveladas.

O custo e as perdas da molécula-alvo no processo de purificação são de fundamental importância na viabilidade do processo. A Figura 1.4 mostra como o aumento do número de etapas do processo de purificação, assim como o rendimento de cada etapa, influencia o rendimento e, conseqüentemente, o custo do produto final. Por exemplo, se a cada operação unitária o rendimento em produto for de 90%, um rendimento significativamente elevado, a aplicação de nove operações levará a um rendimento final de cerca de apenas 40%. Já para um rendimento de 80% em cada etapa, sete etapas reduziriam a produção celular a pouco mais de 20%. Recuperações usuais da ordem de não mais que 50% da produção de um anticorpo são reportadas, o que dá uma ideia da importância da questão da ordem de grandeza da porcentagem de recuperação.

Pode-se reduzir o número de etapas do processo combinando finalidades diferentes em uma única etapa, por exemplo, clarificando, concentrando e pré-purificando simultaneamente por meio da extração em sistemas de duas fases aquosas (Capítulo 7). A aplicação das etapas cromatográficas em uma ordem ótima também contribui para a redução de etapas e perdas no processo. Por fim, deve-se mencionar a introdução de modificações genéticas no desenvolvimento do microrganismo com o objetivo

de aumentar a resolução na purificação, integrando totalmente as etapas de desenvolvimento do processo (Capítulo 22). Uma modificação clássica é aquela em que se introduzem sequências adicionais de histidina em uma proteína ou peptídeo, a fim de torná-la susceptível à adsorção em zinco ou níquel, previamente ligado a um leito cromatográfico (adsorção baseada em afinidade química).



**Figura 1.4** Rendimento total (%) em massa na recuperação de uma molécula-alvo a cada etapa de um processo de purificação com um total de nove etapas, cujos rendimentos variam de 70% a 95%.

Há uma tendência em dotar proteínas resultantes de DNAr de sequências específicas de aminoácidos, denominadas etiquetas ou rótulos (*tag*, em inglês), para que sejam eficientemente adsorvidas por meio dessas etiquetas, simplificando o processo de purificação, pois a pureza necessária à aplicação pode ser alcançada em uma só operação de cromatografia de adsorção por afinidade. Por exemplo, anticorpos monoclonais são purificados por meio de etiquetas, *tags*, em operações de adsorção bem desenvolvidas e consolidadas na forma de plataformas, dado que tais biomoléculas constituem importantes fármacos na área de saúde humana (Capítulo 20). Para proteínas de modo geral, sem *tags* específicas, o processo será definido, sobretudo, com base nas características físico-químicas da molécula e poderá contar, dependendo da molécula e da pureza necessária, com várias operações de purificação. Se por um lado as *tags* facilitam o processo, reduzindo o número de etapas, por outro, podem requerer a eliminação da *tag*.

## 1.6 TENDÊNCIAS EM PROCESSOS DE PURIFICAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS

Os processos de purificação têm sido desafiados a tratar volumes cada vez maiores de meios contendo altas concentrações de produtos de elevado valor agregado. Dentre tais produtos destacam-se os anticorpos monoclonais, mAbs, largamente aplicados no tratamento de câncer e doenças relacionadas ao sistema imunológico

como a artrite reumatoide, em face do crescimento da população de idosos em muitos países. Anticorpos monoclonais são as principais moléculas que impulsionam o desenvolvimento dos processos de purificação, pois respondem por 40% do mercado de produtos biotecnológicos. Em vista de sua importância, os anticorpos monoclonais são abordados em um capítulo específico, o Capítulo 20. A purificação de anticorpos monoclonais é geralmente realizada por meio de adsorção por afinidade específica à proteína A, uma proteína da parede celular da bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*. Tendo em vista que essa adsorção específica é a etapa mais custosa da purificação de mAbs, é nela que estão centrados os esforços de desenvolvimento de processos. As tendências apontam, sobretudo, para operações de cromatografia do tipo multimodal, que utiliza múltiplos tipos de interação entre a fase estacionária e a fase móvel, que não só pode substituir a adsorção específica em proteína A como pode fazê-lo com vantagem na diferenciação entre moléculas heterogêneas quanto à glicosilação, quando se trata de anticorpos humanizados. Outras cromatografias, como a interação hidrofóbica e a adsorção específica a metais, são discutidas entre as tendências futuras abordadas no Capítulo 20.

O interesse na possibilidade de se estabelecer processos químicos em regime contínuo na escala industrial reside nas vantagens já bem conhecidas em comparação ao regime de batelada, como redução de custos e aumento da produtividade com consequente redução do tamanho da planta, além de proporcionar aumento de qualidade do produto e flexibilidade na operação da planta para mais de um produto, vantagens que também se verificam para os processos bioquímicos, incluindo o processo de purificação. A possibilidade de se obter bioprodutos de melhor qualidade em comparação às operações unitárias de purificação em regime de batelada é um atrativo especial do processo de purificação em regime contínuo.

Nas operações unitárias de clarificação, como a filtração convencional, a centrifugação e as filtrações tangenciais, é perfeitamente possível conduzir o processo em regime contínuo, conforme se verá nos Capítulos 4 e 5. Na purificação intermediária por meio de precipitação e extração em sistemas de duas fases aquosas, também o regime contínuo pode ser aplicado, conforme descrito nos Capítulos 6 e 7. Entretanto, nas operações de cromatografia, tanto as baseadas nas separações por adsorção da molécula-alvo quanto nas separações baseadas no tamanho molar das moléculas, todas as etapas transcorrem de tal modo que sua eficiência está firmemente ligada ao seu modo descontínuo. Além disso, nos largos tempos de retenção das moléculas que ocorrem nas cromatografias em regime de batelada podem ocorrer agregações e desnaturações de proteínas, resultantes de desarranjos espaciais, resultando em perda da molécula-alvo. A possibilidade de aumento da velocidade de separação das moléculas no regime contínuo contribuirá para minimizar tais perdas.

Os maiores desafios para o avanço e o estabelecimento do processo de purificação de biomoléculas no regime contínuo encontram-se, sobretudo, nas operações de cromatografias, as quais são imprescindíveis à purificação das biomoléculas destinadas à área de saúde. No Capítulo 15 descreve-se em detalhes a cromatografia em leito móvel simu-

lado, uma operação em regime contínuo de processos cromatográficos adsorptivos aplicados à separação de enantiômeros na indústria farmacêutica. Outras configurações de cromatografias em regime contínuo podem ser encontradas na literatura especializada.

Conduzir a adsorção da molécula-alvo por meio de duas fases móveis líquidas, uma estacionária, assim mantida em função de uma força centrífuga, e a outra em movimento, é uma das novas tendências das operações cromatográficas, denominada CPC, cromatografia de partição centrífuga, ou LLC, cromatografia líquido-líquido. O sistema CPC por ora é empregado em fase preparativa, a fim de gerar massa de produto para o desenvolvimento do processo de purificação e validação de rotinas analíticas de reconhecimento da molécula-alvo, com perspectivas reais de operação em escala industrial. Em comparação à cromatografia convencional, o sistema CPC consome menor volume de fase móvel e não apresenta absorções irreversíveis, o que é importante tendo em vista que as porcentagens de recuperação ainda são gargalo na produção de biomoléculas.

Contribui para a viabilidade do regime contínuo do processo de purificação o aumento dos títulos de biomoléculas nos meios de cultivo. Por exemplo, anticorpos monoclonais chegam a atingir altíssimos cinco g/L, o que leva à viabilidade de se aplicar operações de purificação distintas da cromatografia, como as extrações em duas fases líquidas, as separações através de membranas e as separações magnéticas apresentadas no Capítulo 20, operações unitárias mais facilmente adaptáveis ao regime contínuo.

A tecnologia de uso único (SUT, *Single Use Technology*) é de uso disseminado na produção de fármacos, quando dispositivos descartáveis são empregados em lugar de vasos e equipamentos, substituindo as tradicionais plantas de aço inoxidável, sobretudo para volumes reduzidos e produtos de elevado valor agregado. Esta opção é, em larga medida, beneficiada pela redução de riscos, redução de investimentos de capital e energia e aumento de flexibilidade na operação do processo. Trata-se de técnica consolidada para células animais, manuseio e armazenamento de líquidos, mas apresenta-se mais desafiadora para os processos de purificação de biomoléculas conduzidos em larga escala, sobretudo com relação às resinas cromatográficas e às membranas de filtração tangencial.

## 1.7 ORGANIZAÇÃO DOS CAPÍTULOS

As operações unitárias que se aplicam aos processos de purificação de produtos microbianos e de células animais são descritas ao longo dos capítulos, ordenados segundo a lógica do fluxograma da Figura 1.3, compreendendo, na sua maioria, uma operação unitária por capítulo, salvo as operações de filtração e centrifugação, reunidas no Capítulo 4, as operações que se aplicam para o rompimento de células, reunidas no Capítulo 3, as várias operações unitárias que aplicam membranas, no Capítulo 5, seja para clarificação, para aumento da concentração de uma solução ou mesmo para isolamento de uma determinada molécula. O Capítulo 2 trata de discorrer sobre as metodologias analíticas na identificação, caracterização e quantificação de biomoléculas,

com a devida aplicação nos cálculos de rendimento e fator de purificação alcançado em uma ou mais etapas do processo, os quais são ferramentas para o monitoramento do processo de purificação, isto é, o controle do efetivo progresso no isolamento da molécula-alvo em cada etapa do processo. O Capítulo 2 discorre também sobre a estabilidade de proteínas em face de condições físicas e químicas, aspecto de importância fundamental a qualquer operação unitária.

Os capítulos 19 a 21 tratam da purificação de grupos de moléculas específicas, os plasmídeos, os anticorpos e os peptídeos, cuja importância merece destaque. O Capítulo 22, por fim, trata das possibilidades de integração de propósitos de duas ou mais operações unitárias numa única etapa, bem como da ordenação adequada delas. Com esta publicação, não se pretende esgotar nenhuma das proposições do processo de purificação, quais sejam, de clarificar, concentrar, isolar e estabilizar uma dada biomolécula, e, sim, proporcionar ao estudante informação suficiente para capacitá-lo ao tema e à busca de publicações específicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLISON, N.; RICHARDS, J. Current status and future trends for disposable technology in the biopharmaceutical industry. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 89, p. 1283-1287, 2014.

FORCINITI, D. Bioseparations: Current and future challenges. *Laboratory Journal – Business Web for Users in Science and Industry*, 28 maio 2013. Disponível em: <<https://www.laboratory-journal.com/printpdf/10501>>. Acesso em: 29 jun. 2018.

ZYDNEY, A. L. Continuous downstream processing for high value biological products: A Review. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 113, n. 3, p. 465-475, 2016.

**Vacinas, anticorpos monoclonais, antibióticos, enzimas, polímeros, combustíveis líquidos e gasosos obtidos a partir de biomassa fazem parte da gama de biomoléculas produzidas em células microbianas e animais. A produção se dá em meios líquidos ou sólidos úmidos, fazendo-se necessário, posteriormente, isolar a biomolécula até que ela atinja um grau de pureza que a torne adequada para o uso previsto.**

Nos 22 capítulos desta obra, os autores, pesquisadores de renomadas instituições de ensino e pesquisa do Brasil, da Argentina, da Eslovênia, de Portugal e do Peru, abordam de maneira didática parte expressiva das operações unitárias que compõem os processos empregados no isolamento de biomoléculas, nas escalas industrial e laboratorial. Dedicase um capítulo aos métodos de quantificação e caracterização das biomoléculas e às técnicas para estabilização de enzimas, necessárias à manutenção da atividade dessas proteínas. Moléculas de elevado interesse, como anticorpos monoclonais, peptídeos e plasmídeos, mereceram capítulos exclusivos. No que tange à forma de condução das operações, foram contempladas a cromatografia multimodal e a aplicação do regime contínuo às operações unitárias quando esse regime apresenta viabilidade operacional. Por fim, destaca-se a importância didática da obra em vista dos exemplos industriais, dos exercícios resolvidos e da extensa bibliografia.

Esta obra é destinada a alunos de cursos de graduação em Engenharia Química e de Alimentos, Farmácia-Bioquímica, Química, Engenharia de Bioprocessos, Biotecnologia, Engenharia Bioquímica e Biologia; e pós-graduação em áreas correlatas. Indústrias e laboratórios que atuam na área de biotecnologia também são beneficiados, pois são apresentadas técnicas de uso consagrado e em desenvolvimento.

[www.blucher.com.br](http://www.blucher.com.br)

ISBN 978-85-212-1946-0



9 788521 219460

**Blucher**



Clique aqui e:

**VEJA NA LOJA**

# Purificação de Produtos Biotecnológicos

## Operações e processos com aplicação industrial

**Beatriz Vahan Kilikian, Adalberto Pessoa Jr.**

ISBN: 9788521219460

Páginas: 760

Formato: 17 x 24 cm

Ano de Publicação: 2020

Peso: 1.199 kg