

Estudo do desempenho de agentes precipitantes na purificação do ácido hialurônico obtido por fermentação

Bruno A. M. Ferreira*, André D. D. Cavalcanti, Maria H. A. Santana.

Resumo

Este trabalho teve como objetivo o estudo do desempenho do etanol como agente precipitante na purificação do ácido hialurônico (AH) a partir de caldo obtido por fermentação com *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. Foram observados os efeitos desse agente sobre a pureza do AH recuperado para diversas condições experimentais, realizando-se três precipitações consecutivas e variando-se o pH e a razão caldo-precipitante utilizada.

Palavras-chave:

Ácido hialurônico, purificação, precipitação.

Introdução

O ácido hialurônico (AH) é um polissacarídeo glicosaminoglicano (GAG) naturalmente encontrado em tecidos animais^[1] e que, em virtude de suas propriedades físico-químicas e mecânicas, possui características hidratantes e lubrificantes de interesse clínico, com aplicação em áreas como oftalmologia, ortopedia e estética^[2]. O AH produzido por fermentação bacteriana é idêntico ao AH eucariótico e apresenta menores riscos de contaminação e maior aceitação, se comparado àquele extraído a partir de tecidos animais^[3]. Em geral, uma das primeiras etapas de purificação do AH a partir da fermentação é a precipitação. Diferentes autores mencionam o uso de diversos agentes precipitantes^[4]. Entretanto, há poucos estudos que comparam o efeito de diferentes condições experimentais sobre o desempenho de tais agentes.

Resultados e Discussão

Durante a primeira etapa do trabalho foi realizada uma revisão bibliográfica envolvendo artigos científicos e patentes relacionadas à purificação de AH, em especial à precipitação. A partir da revisão bibliográfica realizada, foi redigido um artigo de revisão^[5].

Para a determinação da pureza em todas as etapas do trabalho, foram utilizadas técnicas de análise espectrofotométricas para quantificar o AH e as impurezas, representadas por proteínas totais e fenólicos totais.

Foram estudadas as razões etanol:caldo (v/v) 2:1 e 3:1 para os pHs 3, 4 e 7, em três precipitações consecutivas. De modo geral, a razão 2:1 forneceu maior pureza em relação à razão 3:1 (dados não mostrados). Possivelmente, maiores proporções de etanol provocam maior desidratação e agregação das proteínas presentes no caldo, levando à sua precipitação e redução da pureza do AH recuperado. A Figura 1 mostra como a pureza varia para a razão 2:1 em relação aos três pHs estudados.

A comparação dos resultados mostra que para o pH 4, a pureza do AH foi de cerca de 55% para a primeira precipitação e de cerca de 60% para as duas últimas. Assim, a pureza após apenas uma precipitação se assemelha àquela atingida depois de três precipitações, algo não observado para os demais valores de pH.

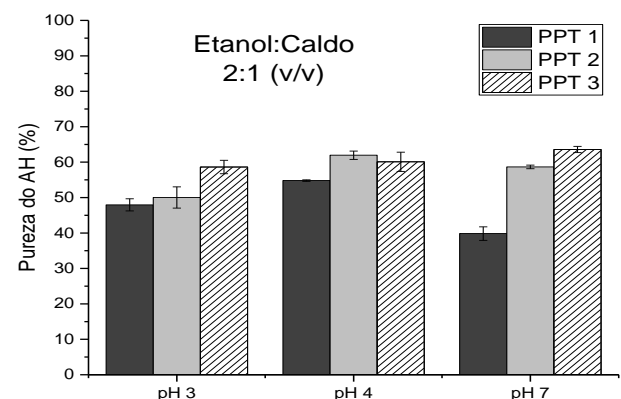


Figura 1. Pureza após cada uma das três precipitações para a razão etanol:caldo 2:1.

Conclusões

O estudo sugeriu, para o caso do etanol como agente precipitante, que há uma tendência geral de aumento da pureza com o aumento do número de precipitações consecutivas. Além disso, verificou-se que a razão etanol:caldo 2:1 apresentou os melhores resultados em termos de pureza obtida. Constatou-se que, embora o efeito do pH seja pequeno, para pH igual 4, a pureza alcançada com apenas uma precipitação é muito próxima àquela obtida após três precipitações.

Agradecimentos

Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

¹Hardingham, T. *Chemistry and Biology of Hyaluronan*, 1st ed.; Elsevier, **2004**, 1-19.

²Balázs, E. A. *Journal of Structural Chemistry*, **2009**, 20, 341-349.

³Chong, B. F.; Blank, L. M.; McLaughlin, R.; Nielsen, K. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **2005**, 66, 341.

⁴Selyanin, M. A.; Boykov, P. Y.; Khabarov, V. N. *Hyaluronic Acid: Preparation, Properties, Application in Biology and Medicine*, 1st ed.; John Wiley & Sons, **2015**, 1-7, 77-95.

⁵Cavalcanti, A. D. D.; Melo, B. A. G de; Ferreira, B. A. M.; Santana, M. H. A. *Process Biochemistry*, **2017** (artigo submetido).