

Purificação do Ácido Hialurônico Proveniente de Caldo de Fermentação através da Adsorção de Impurezas em Carvão Ativado e Alumina

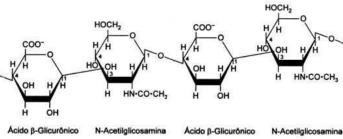
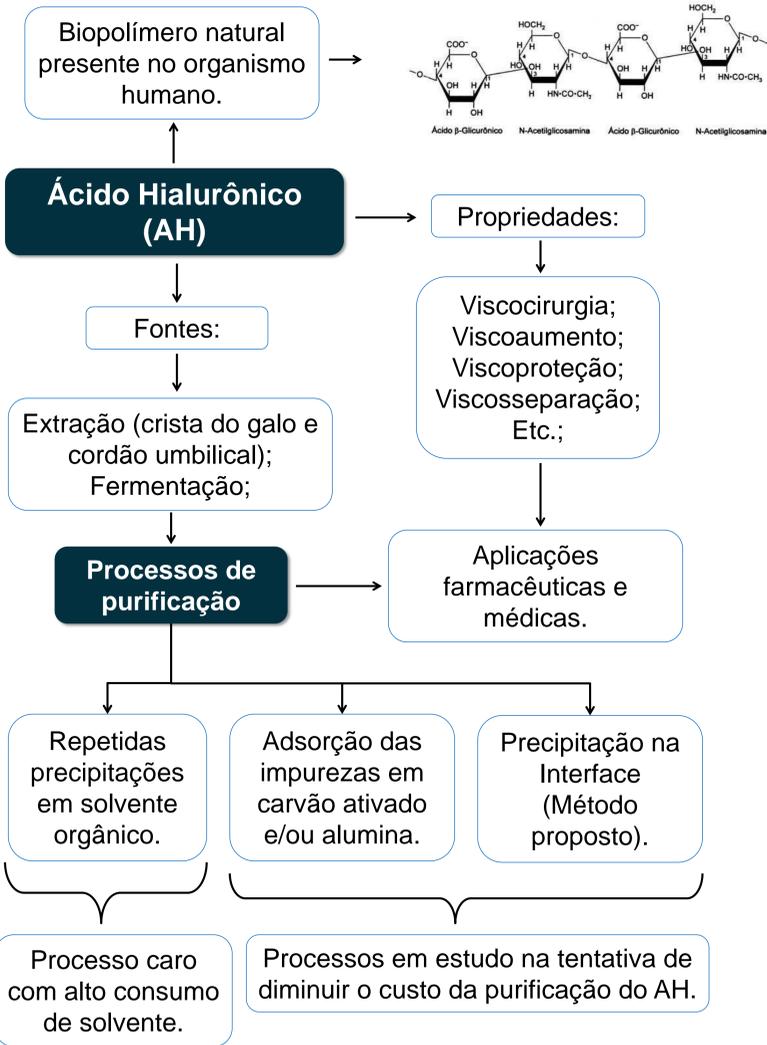


Thiago Rincon Ribeiro; Maria Helena Andrade Santana
 Laboratório de Desenvolvimento de Processos Biotecnológicos (LDPB),
 Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP
 e-mail: lena@feq.unicamp.br, telefone: (19) 3521-3921
 Agência Financiadora: CNPq / PIBIC – UNICAMP



Palavras-chave: ácido hialurônico – purificação – adsorção – precipitação em etanol

INTRODUÇÃO



Precipitação na Interface

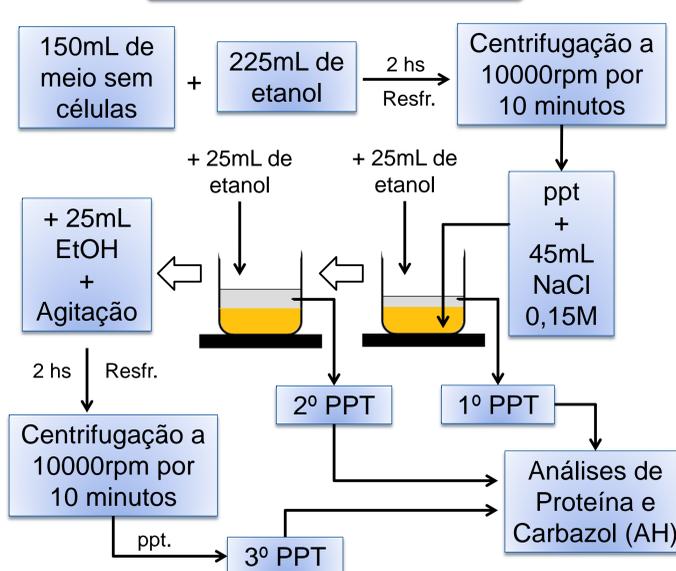


Tabela 2: % em massa de AH e proteínas por massa de precipitado obtido pelo método convencional e na interface para os caldos C e E.

Precipitação	% m/m de AH		%m/m de Proteínas	
	Caldo C	Caldo E	Caldo C	Caldo E
Interface	67,0 ± 1,0	18,5 ± 0,9	6,1 ± 0,6	10,5 ± 0,7
Convencional	57,0 ± 3,0	19,6 ± 0,6	5,8 ± 0,5	10,7 ± 0,2

Pureza de AH nos 3 ppt's da Interface → O precipitado que apresenta maior pureza de AH é aquele obtido após a 3^a adição de etanol. Mesmo assim, a massa molar não varia entre os 3 ppt's.

Tabela 3: % em massa de AH e proteínas por massa de precipitado obtido em cada adição de etanol na precipitação na interface para os caldos C e E.

Precipitação	% m/m de AH		%m/m de Proteínas	
	Caldo C	Caldo E	Caldo C	Caldo E
1 ^o ppt	60,7 ± 0,1	16,0 ± 1,0	6,4 ± 0,8	12,7 ± 0,2
2 ^o ppt	60,0 ± 4,0	17,0 ± 1,0	7,4 ± 0,8	11,8 ± 0,5
3 ^o ppt	70,0 ± 3,0	18,6 ± 0,9	5,6 ± 0,6	10,4 ± 0,7

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Adsorção das Impurezas

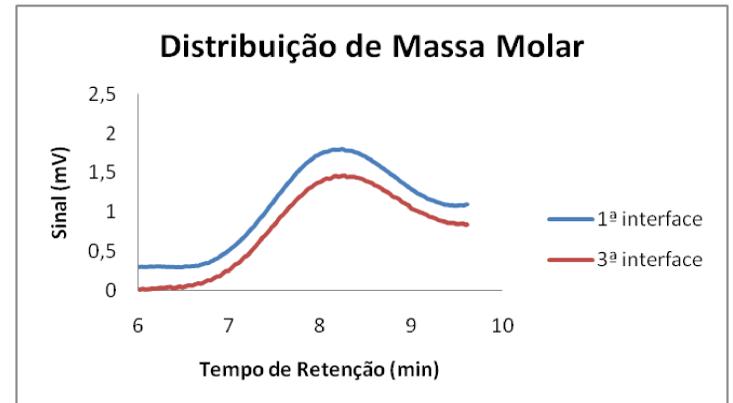
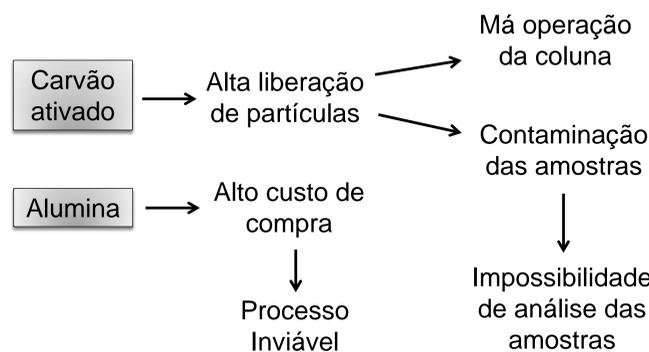


Figura 1: Massa molar do AH das amostras da 1^a e 3^a precipitações na interface do caldo C.

CONCLUSÃO

- Coluna de adsorção** → Não pode ser recheada com carvão ativado de baixa granulometria que libera partículas finas.
- Velocidade de Centrifugação** → A configuração que resulta em um ppt mais puro em AH é a retirada de células a 10000rpm por 10 minutos seguida da separação do precipitado a 3200rpm por 20 minutos.
- Precipitação na Interface** → É viável apenas para caldos de fermentação com alta concentração de AH.
 O precipitado obtido após a 3^a adição de etanol apresenta maior pureza de AH.
 A massa molar do AH não varia entre os ppt's.

AGRADECIMENTOS

O autor deste trabalho agradece à Profa. Dra. Maria Helena Andrade Santana pela orientação e tempo dedicados; a todos do Laboratório de Desenvolvimento de Processos Biotecnológicos (LDPB) pela disponibilidade e aconselhamento durante a realização dos experimentos; e ao CNPQ/PIBIC pelo auxílio financeiro que possibilitou a realização desta pesquisa.

MATERIAIS E MÉTODOS

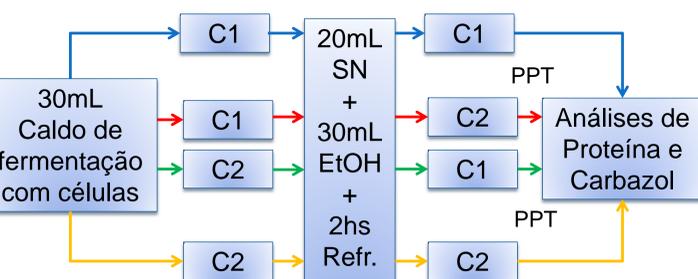
- Caldo de fermentação; Alcool Etilico absoluto (99-100%).

Adsorção das Impurezas



Influência da Velocidade de Centrifugação

- C1 → Centrifugação a 10000rpm por 10 minutos.
- C2 → Centrifugação a 3200rpm por 20 minutos.



Influência da Velocidade de Centrifugação

- % m/m de AH no precipitado (ppt) → Depende da velocidade centrifugação na separação das células.
- % m/m de Proteínas no ppt → Independe da velocidade centrifugação.

Tabela 1: % em massa de AH e massa de proteínas por massa de precipitado nos ensaios de precipitação a diferentes velocidades de centrifugação.

Retirada de células ^{1a} precipitação	% m/m de AH		%m/m de Proteínas	
	3200 rpm	10000 rpm	3200 rpm	10000 rpm
3200 rpm	38,0 ± 1,0	32,9 ± 0,1	12,0 ± 1,0	9,5 ± 0,4
10000 rpm	*45,0 ± 1,0	33,0 ± 4,0	*9,2 ± 0,4	9,0 ± 2,0

Precipitação na Interface

Precipitação na interface → Para caldos com alta concentração de AH, o ppt da interface é mais puro que na precipitação convencional.