

INFLUÊNCIA DE SAIS NA PRODUÇÃO DO ÁCIDO HIALURÔNICO POR FERMENTAÇÃO



UNICAMP

Beiral, G. U.; Pires, A.M.B; Santana, M.H.A.
 guibeiral@yahoo.com.br; alinembp@yahoo.com.br lena@feq.unicamp.br
 FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA - UNICAMP
 Agência financiadora: PIBIC/CNPQ
 Palavras-chaves: ÁCIDO HIALURÔNICO - PRODUÇÃO - SAIS



Motivação e objetivo:

O ácido hialurônico (AH) foi descoberto em 1934 por Meyer e Palmer e desde então vem se mostrando um produto altamente atrativo do ponto de vista econômico, com aplicações nas áreas médico-farmacêutica e cosmética¹.

A produção comercial de AH pode ser de origem animal ou produção fermentativa de *Streptococcus equi* sub. *zooepidemicus*. Apesar de os polímeros de ambas as fontes serem quimicamente iguais, ocorre perigo de contaminação viral naqueles de origem animal. Dessa maneira, a produção por via fermentativa se torna cada vez mais atrativa e confiável¹.

Existe a oportunidade de otimizar a produção e aumentar a qualidade do AH pelo processo fermentativo através do controle do meio de cultura. Dada a importância dos sais minerais nas inúmeras funções biológicas dos seres vivos, o presente trabalho tem como objetivo estudar a influência dos íons minerais sobre o crescimento celular e rendimento da produção de AH.

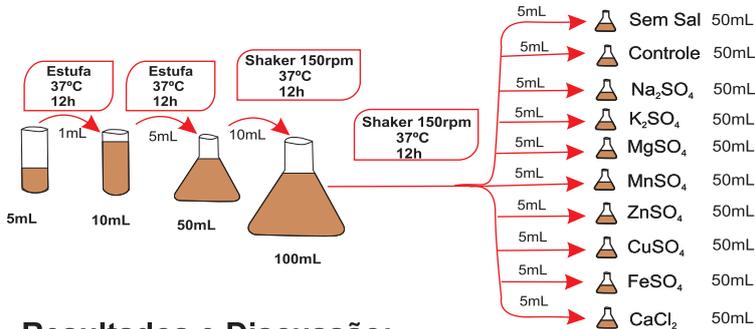
Metodologia:

Após a etapa de reativação da cultura, iniciou-se a propagação do inóculo em meio de cultivo contendo apenas glicose e extrato de levedura em concentrações propostas na literatura², afim de esgotar os sais no meio intracelular.

Para fazer o estudo da fermentação foram desenvolvidas duas avaliações para determinar a influência dos íons, como mostra o esquema:

- Por uma rota escolheu-se alimentar todos os íons, exceto aquele em análise, chamada agora de avaliação de Ausência ou (I);
- Por outra escolheu-se alimentar apenas o íon em análise, chamada de Presença ou (II).

Em ambas situações, seguiu-se as concentrações propostas na literatura².



Resultados e Discussão:

Avaliação de Ausência (I):

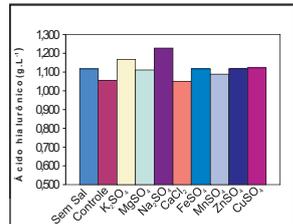


Figura 1.1 - Produção de AH

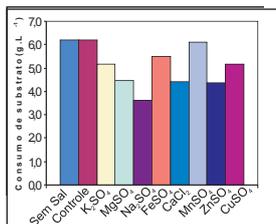


Figura 1.2 - Consumo de Substrato

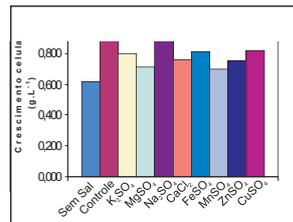


Figura 1.3 - Crescimento celular

Tabela 1: Parâmetros do crescimento celular da fermentação de AUSÊNCIA (I)

Amostra	Y _{px}	Y _{ps}	Y _{xs}
Sem sais	1,4114	0,2040	0,1445
Controle	1,2348	0,2334	0,1890
K ₂ SO ₄	1,2107	0,1598	0,1320
MgSO ₄	1,4120	0,1562	0,1106
Na ₂ SO ₄	1,0854	0,1120	0,1032
FeSO ₄	0,9511	0,0950	0,0999
CaCl ₂	1,5006	0,1076	0,0717
MnSO ₄	1,3819	0,1502	0,1087
ZnSO ₄	1,5333	0,1951	0,1273
CuSO ₄	1,6768	0,2110	0,1258

Resultados e Discussão(continuação):

Avaliação de Presença (II):

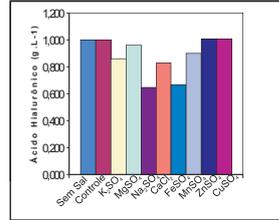


Figura II.1: Produção de AH

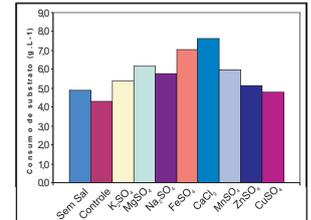


Figura II.2: Consumo de Substrato

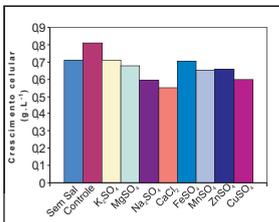


Figura II.3: Crescimento celular

Tabela 2: Parâmetros do crescimento celular da fermentação de PRESENÇA (II)

Amostra	Y _{px}	Y _{ps}	Y _{xs}
Sem sais	1,7988	0,1802	0,1002
Controle	1,1524	0,1707	0,1481
K ₂ SO ₄	1,4657	0,2263	0,1544
MgSO ₄	1,5643	0,2485	0,1588
Na ₂ SO ₄	1,3703	0,3403	0,2483
FeSO ₄	1,3732	0,2031	0,1479
CaCl ₂	1,3870	0,2367	0,1707
MnSO ₄	1,5557	0,1782	0,1145
ZnSO ₄	1,4901	0,2549	0,1711
CuSO ₄	1,3786	0,2180	0,1581

• Se compararmos os dados de consumo de substrato na fermentação controle e na isenta de sais da avaliação I, que foram os maiores dessa avaliação, com os dados de crescimento celular nota-se que a proporcionalidade não é mantida: para o meio controle, o consumo de substrato é dirigido para a produção de AH, como pode ser visto na Figura I.1.

• A utilização de substrato para produção de massa celular na fermentação com meio controle nas duas fermentações pode ser explicado pela concentração excessiva de sais no meio externo que gera um gasto excessivo de energia para que a célula se mantenha com concentrações fisiológicas adequadas em seu interior. Essa hipótese é reforçada pelo fato de que o consumo de substrato nas fermentações com ausência de um sal foi reduzido mas a produção de biomassa não é prejudicada (Figura I.3) e elevou a produção de AH (Figura I.1). Segundo Armstrong³, existe uma relação negativa entre a taxa de crescimento e a produtividade específica de AH, quando a inibição do crescimento não está associada com limitação de glicose. Assim, provavelmente a ausência de alguns dos sais avaliados, sem a limitação da glicose, inibiu o crescimento, resultando numa maior produção de AH.

• Nas duas avaliações, o maior rendimento Y_{px} foi do meio isento de sais

Conclusões:

• A condição de maior produção de AH por unidade de massa celular, Y_{px}, foi alcançada na fermentação isenta de sais, sendo possível afirmar que a produção microbiana de AH sem adição de sais é viável nas condições propostas nesse experimento.

• A ausência de Na₂SO₄ representou a maior produção absoluta de AH. Além disso, a forma com que as duas avaliações convergem para um mesmo resultado, vem comprovar a coerência do presente trabalho.

Bibliografia:

- ¹CHONG, B.F.; BLANK, L.M.; MCLAUGHLIN, R.; NIELSEN, L.K. Microbial hyaluronic acid production. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 66, n.4, p. 341-351, 2005
- ²SWANN, D. A.; SULLIVAN, B. P.; JAMIESON, G.; RICHARDSON, K. R.; SINGH, T. Biosynthesis of hyaluronic acid. United States Patent: 4,897,349, 1990.
- ³ARMSTRONG, D.C. The molecular weight properties of hyaluronic acid produced Streptococcus zooepidemicus. 1997. Queensland: University of Queensland, 1997. (PhD. Thesis).