

Renata Pinto da Silva Matos ¹ (Bolsista SAE/Unicamp), Anayla dos Santos Sousa ² (Doutoranda), Prof. Dr. César Costapinto Santana ³ (Orientador)

E-mails: renatapsmatos@hotmail.com ¹, anaylasousa@gmail.com ², santana@feq.unicamp.br ³

Departamento de Processos Biotecnológicos - FEQ - Unicamp
SAE/UNICAMP

Palavras-Chave: Ácido Hialurônico - Cromatografia - Reciclo Externo Estacionário

INTRODUÇÃO

O ácido hialurônico (AH) é um polissacarídeo de alta massa molecular composto por unidades repetitivas dos dissacarídeos ácido D-glicurônico e N-acetil-D-glicosamina, com cerca de 200 a 20.000 dissacarídeos por cadeia. Tamanhos específicos de AH devem ser utilizados de acordo com a sua aplicação, em áreas como a médica, a farmacêutica e a cosmética. A separação de suas moléculas por tamanho pode ser feita pelo processo de cromatografia de permeação em gel, que é baseado na diferença de volumes hidrodinâmicos. Neste trabalho foram analisadas as melhores condições de separação por tamanho do AH obtido por fermentação do bagaço do caju, utilizando a técnica de cromatografia de permeação em gel utilizando um sistema com reciclo externo estacionário composto por duas colunas analíticas de mesmo tamanho preenchidas com o gel Sephacryl S-300 HR.

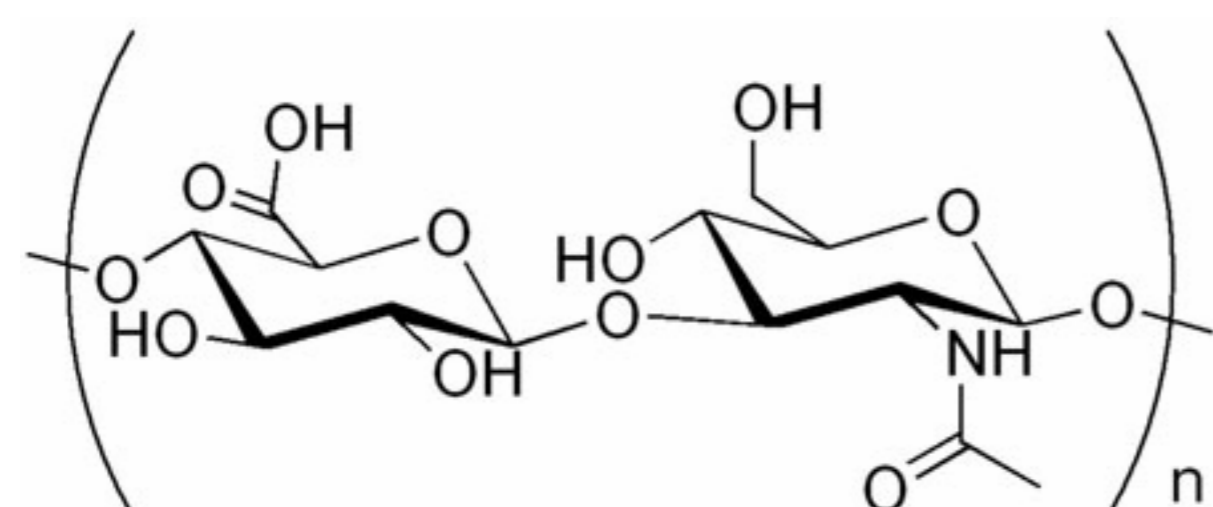


Figura1: Monômero formador do ácido hialurônico.

METODOLOGIA

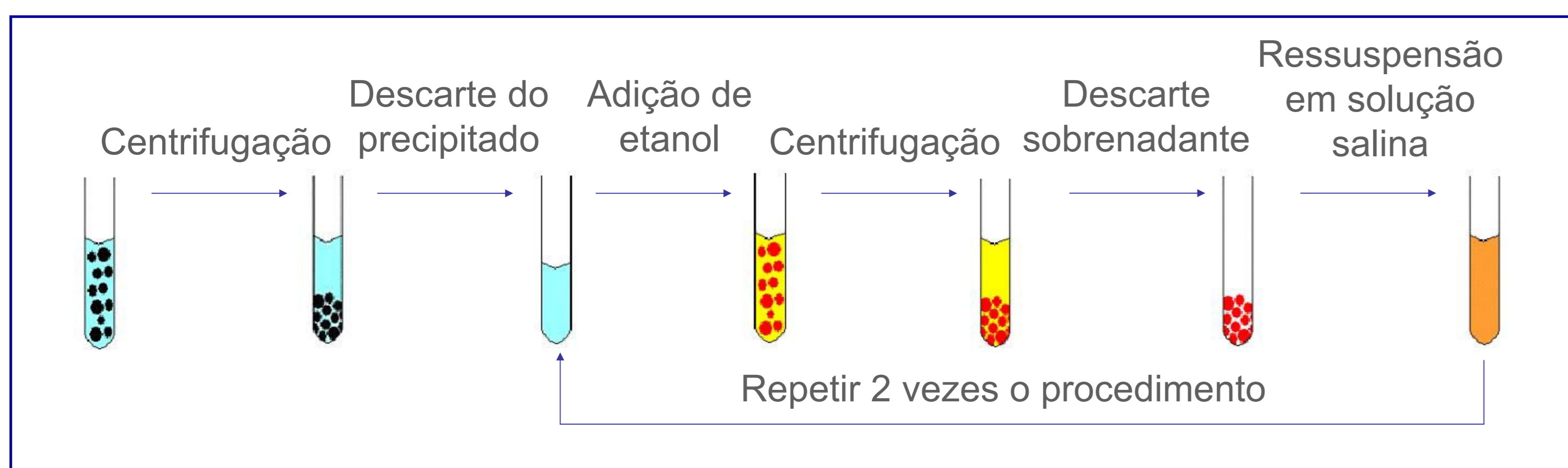


Figura 2: Obtenção do AH a partir do mosto fermentado.

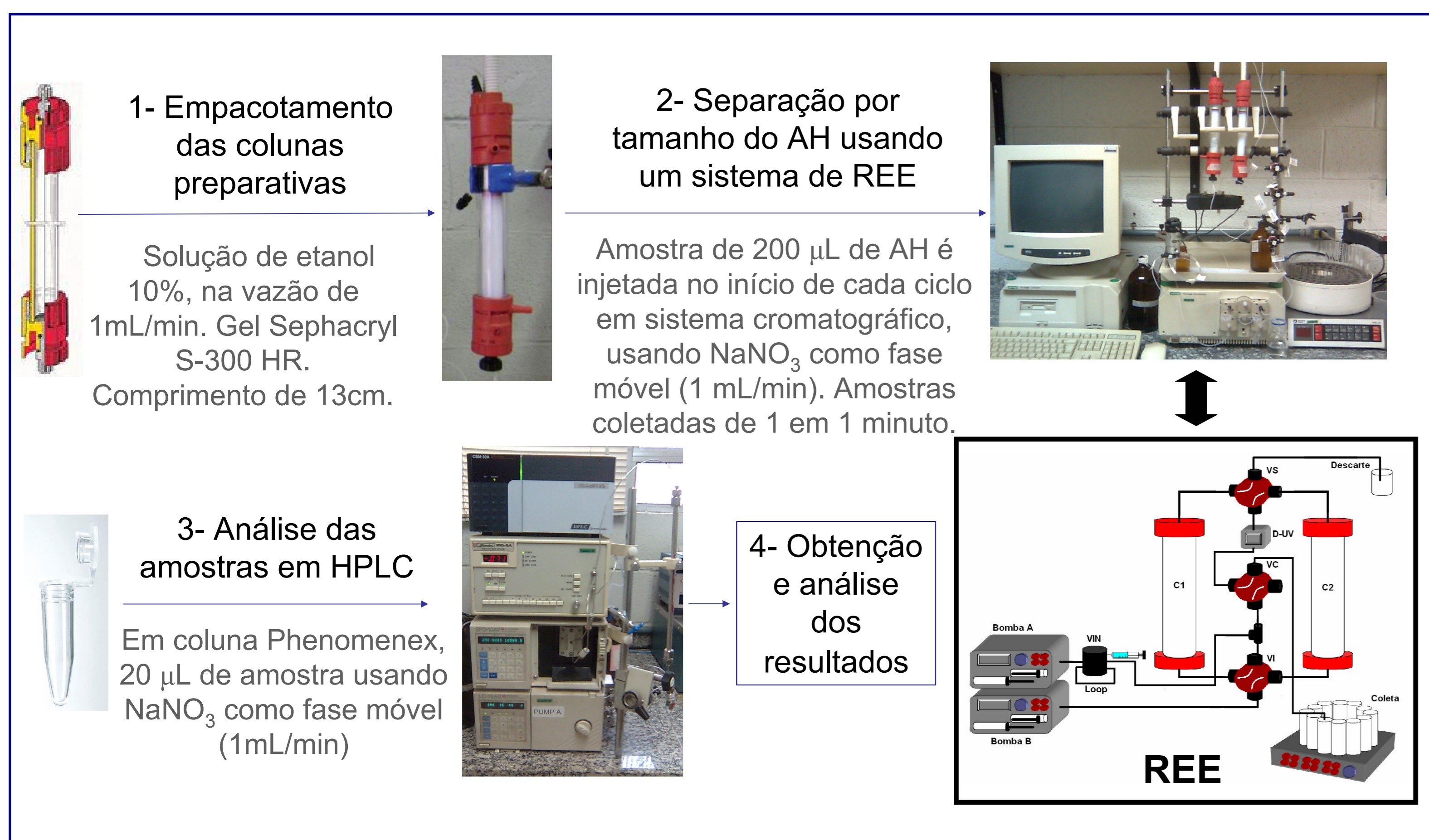


Figura 3: Procedimento de separação do AH com o REE.

RESULTADOS

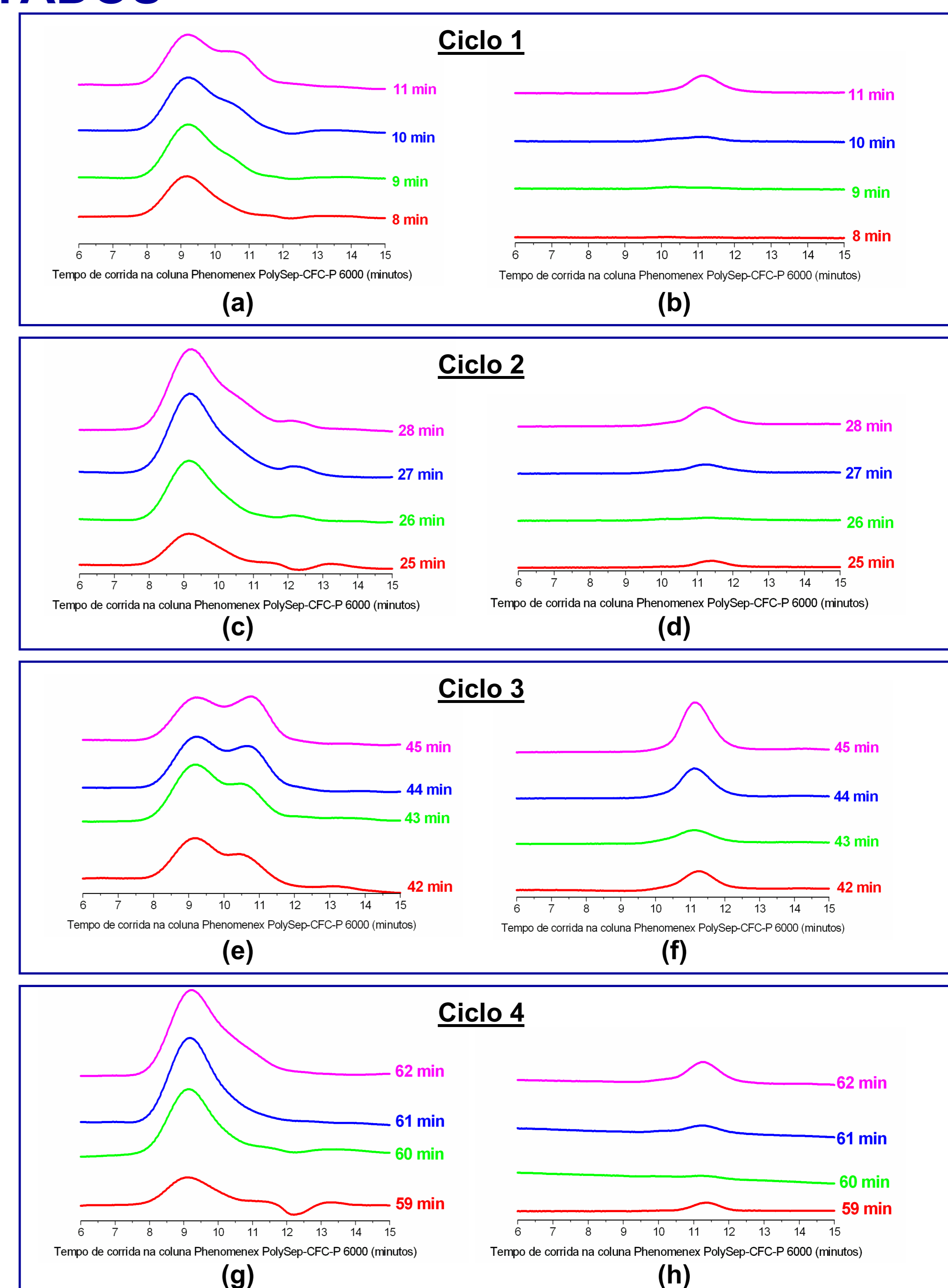


Figura 4: Cromatogramas, obtidos por HPLC, das alíquotas coletadas à saída da coluna semi-preparativa XK 16/20, empacotada com o gel Sephacryl S-300 HR, durante o processo de purificação do AH no sistema de Reciclo Externo Estacionário com 4 Ciclos, utilizando 2 colunas contendo o mesmo gel e mesma altura de leito (13 cm), uma vazão de 1,0 mL/min e NaNO₃ 0,1M como fase móvel. As condições cromatográficas utilizadas na análise por HPLC foram: coluna Phenomenex PolySep-CFC-P 6000, NaNO₃ 0,1M como fase móvel, vazão de 1,0 mL/min e detector de IR(a), (c), (e) e (g); e UV(280nm) (b), (d), (f) e (h).

CONCLUSÕES

Fazendo uma comparação com dados usando apenas uma coluna, os resultados obtidos para o REE foram satisfatórios, visto que foi obtida uma melhor separação por tamanho com maior economia de solvente por quantidade de AH obtida. O melhor resultado foi obtido para 4 ciclos com 5 minutos de reciclo e 4 minutos de coleta a cada ciclo. Porém ainda não foi obtido AH com alto teor de pureza em todas as etapas, por isso algumas variáveis do processo ainda precisam ser otimizadas. Contudo, o REE mostrou-se um método semi-contínuo bastante eficiente para eliminação de proteínas das amostras de AH obtido por via fermentativa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GARG, H.G., HALES, C.A.; **Chemistry and Biology of Hyaluronan**; Editora Elsevier; 2004.
- GRILL, C.M.; **External Steady State Recycling: A New Binary Preparative Chromatographic Technique**; Isolation & Purification. v. 3, p. 29-50, 1999.