

ESTUDO SOBRE APLICABILIDADE DA CROMATOGRÁFIA PARA PURIFICAÇÃO E PRÉCONCENTRAÇÃO DE MANOPROTEÍNAS PARA USO EM COSMÉTICOS

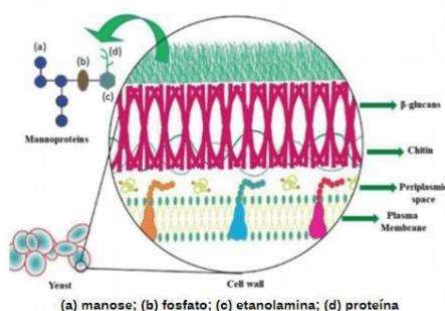
Juliana de Oliveira Miranda ¹
juliana.miranda7@fatec.sp.gov.br
Faculdade de Tecnologia Luigi Papaiz

Klauss Engelmann
klauss.engelmann@fatec.sp.gov.br
Faculdade de Tecnologia Luigi Papaiz

1. INTRODUÇÃO

A indústria cervejeira, de grande relevância econômica, gera resíduos significativos, entre eles a biomassa de leveduras do gênero *Saccharomyces*, cuja parede celular é rica em manoproteínas, glicoproteínas com estrutura anfifílica e propriedades emulsificantes [2]. Uma visão esquemática dessa parede celular é apresentada na Figura 1.

Figura 1 – Visão geral da parede celular das *Saccharomyces* spp.



Fonte: SILVA, E. B. B. et al. (2021) [7]

Métodos tradicionais de extração, como tratamentos térmicos, ácidos ou alcalinos, podem comprometer a integridade das manoproteínas [1]. Alternativamente, técnicas como pulsos elétricos e sonicação têm se mostrado eficazes para induzir a autólise celular e liberá-las de forma mais suave [6]. Para purificação, a cromatografia por troca iônica surge como método promissor, permitindo separar manoproteínas com eficiência e preservar sua estrutura [4]. Este

projeto busca otimizar essa etapa, visando à aplicação das manoproteínas como emulsificantes biodegradáveis em cosméticos.

2. METODOLOGIA

O A partir do caldo de leveduras, realizou-se lavagem em triplicata com 20% de tampão fisiológico (pH 7,4) para remoção de impurezas. As células foram então submetidas à sonicação em banho de gelo, promovendo autólise e liberação das manoproteínas. O material foi centrifugado, restando-se as manoproteínas no sobrenadante, que foi submetido à precipitação com etanol absoluto (1:3 v/v) e resfriamento a 4 °C por 18 h [2,6]. O processo foi ilustrado conforme Figura 2.

Figura 2 – Fluxograma do processo de extração e purificação tradicional.

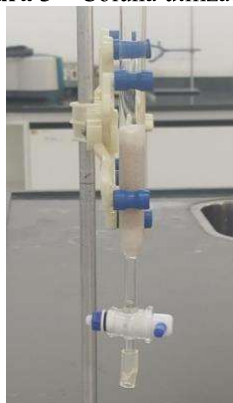


Fonte: Autoria própria

Posteriormente, para confirmar a presença de manoproteínas, foram realizados testes qualitativos tanto para caracterizar a parte proteica (teste do Biureto), quanto para a porção glicídica (teste de Molish) [5].

Para validação da cromatografia por troca iônica utilizou-se solução padrão de caseína a 1% e a resina catiônica Lewatit® Monoplus SP 112 H. Empregaram-se dois tampões: o de ligação (citrato de sódio 10 mM + ureia 1 M) e o de eluição (mesma composição com adição de cloreto de sódio 0,5 M). A coluna foi equilibrada, seguida da aplicação da amostra e da eluição [3]. A coluna cromatográfica utilizada encontra-se representada na Figura 3.

Figura 3 – Coluna utilizada para cromatografia



Fonte: Autoria própria

Alíquotas de 1 mL foram coletadas e analisadas pelo teste do Biureto para identificar a presença de proteínas e o ponto de saída. O método foi executado em triplicata e mostrou-se eficaz com a caseína [4,3], então foi aplicado às manoproteínas, usando-se também a precipitação com etanol absoluto como método complementar para identificação das frações [2].

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os testes qualitativos confirmaram a presença de carboidratos e proteínas, caracterizando a amostra como manoproteínas. Ambos os testes apresentaram coloração violeta intensa (no caso do teste do Biureto) e anel violeta, também de coloração intensa (no caso do teste de Molish) como esperado, evidenciando concentração satisfatória tanto da parte proteica quanto da parte glicídica (Figura 4 e Figura 5).

Figura 4 – Teste do Biureto



Fonte: Autoria própria

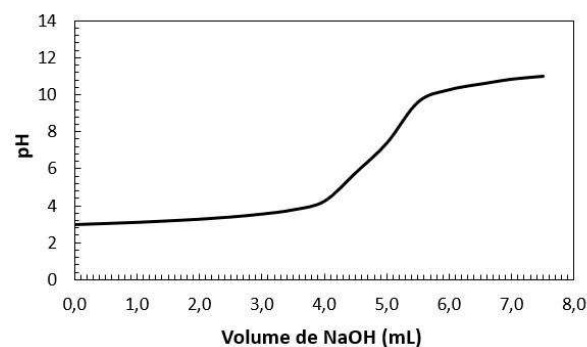
Figura 5 – Teste de Molish



Fonte: Autoria própria

A curva potenciométrica obtida (Gráfico 1) evidenciou que as manoproteínas apresentaram precipitação na faixa de pH 5–6, correspondente ao seu ponto isoeletrico. Esse resultado foi determinante para a escolha da resina de troca catiônica nos experimentos cromatográficos.

Gráfico 1 – Curva potenciométrica

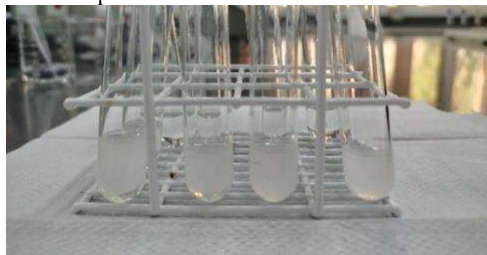


Fonte: Autoria própria

Na cromatografia de troca iônica, verificou-se retenção parcial da amostra na resina e eluição após aplicação de cloreto de sódio, sugerindo interação eletrostática eficaz. Observando o teste de precipitação com álcool, confirmou-se concentração satisfatória de manoproteínas nas alíquotas coletadas da etapa de eluição (Figura 6). Comparando-se aos métodos tradicionais, a técnica cromatográfica apresentou maior seletividade e potencial para recuperação de frações mais

puras, preservando a integridade das biomoléculas.

Figura 6 – Precipitação com álcool aplicado à eluição de manoproteínas.



Fonte: Autoria própria

4. CONCLUSÕES

A cromatografia de troca iônica demonstrou ser uma técnica promissora para purificação das manoproteínas obtidas de leveduras do gênero *Saccharomyces spp.*. Os resultados indicam sua viabilidade como alternativa aos métodos tradicionais, contribuindo para o desenvolvimento de emulsificantes biodegradáveis de aplicação cosmética. Estudos futuros devem otimizar as condições cromatográficas e avaliar a funcionalidade das manoproteínas em formulações.

REFERÊNCIAS

- [1.] AKLUJKAR, P. P. et al. Isolation of cell wall-bound glycogen in *Saccharomyces cerevisiae*. Institute of Brewing & Distilling, 2008.
- [2.] ARAÚJO, V. B. S. et al. Obtenção de manoproteínas de levedura. UFPB, 2014.

- [3.] HOLLAR, C. M. et al. Separation of casein fractions by cation-exchange FPLC. Journal of Dairy Science, 1991.
- [4.] KILIKIAN, B. V. et al. Purificação de produtos biotecnológicos. São Paulo: Blucher, 2005.
- [5.] LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de Bioquímica. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- [6.] MARTÍNEZ, J. M. et al. Pulsed electric fields and mannoprotein release. Food Research International, 2019.
- [7.] SILVA, E. B. B. et al. Manoproteínas: uma perspectiva biotecnológica. In: STAMFORDARNAUD, T. M.; STAMFORD, T. L. M. (Org.).
- [8.] Avanços da Tecnologia, v. 3, 2021.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à empresa Satirus Brewery, por gentilmente ceder a amostra de caldo de leveduras de sua fabricação de cervejas artesanais, essencial para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço também ao meu orientador, Prof. Dr. Klauss Engelmann, pelo apoio, orientação e confiança ao longo do projeto. Aos colegas de laboratório, pela colaboração e parceria durante os experimentos. E, especialmente, aos meus pais, pelo incentivo constante, apoio emocional e por acreditarem em mim em todas as etapas da iniciação tecnológica.

¹ Aluna de Iniciação Tecnológica (IT).
Agência de fomento: CNPq. Processo nº 168037/2024-6.