

PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DA BIOMASSA DA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS

Francisco Fábio Pereira de Souza, Men de Sá Moreira de Souza Filho, Bartolomeu Warlene Silva de Souza, Igor Iuco Castro da Silva, Andre Luis Coelho da Silva

Microalgas são seres eucarióticos unicelulares e fontes de biomoléculas de largo interesse biotecnológico, incluindo proteínas e peptídeos. Os protocolos de extração de proteínas de microalgas são heterogêneos e variam de acordo com o tipo de amostras e a finalidade. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de um protocolo de extração de proteínas da biomassa seca de *Chlorella vulgaris*. 4 g de biomassa foram adicionados a 20 mL de água ultrapura na proporção 1:5 (m/v), homogeneizados e submetida a três ciclos de congelamento e descongelamento a -20 °C seguido de 100 ciclos de ultrassonicação (com duração 10 segundos e intervalos de 5 segundos cada) sob refrigeração em ultrassonicador com amplitude ajustada em 30%. A mistura foi colocada em tubo plástico de 50 mL com 10 pérolas de vidro e agitada vigorosamente em vórtex por 30 minutos. Por fim, a amostra foi centrifugada a 14000 rpm por 45 minutos a 5 °C e o sobrenadante foi coletado e filtrado obtendo-se, assim, o extrato aquoso bruto total (EBt). O EBt foi submetido a precipitação por sulfato de amônio para separação das frações 40-60 e 60-80. As amostras foram submetidas à quantificação de proteínas pelo método BCA (Ácido Bicinconínico), para o qual foram preparadas em 3 diluições (1x, 5x e 10x diluídas), e análise eletroforética por SDS-PAGE sob condição redutora. Embora 10x diluído, o EBt apresentou alta absorbância e concentração muito acima da faixa de sensibilidade do método BCA (200 - 1000 µg/mL), não sendo possível quantificar a concentração real de proteínas da amostra na diluição analisada. As frações F40-60 e F60-80 apresentaram ~1000 µg/mL e 516 µg/mL, respectivamente. O EBt apresentou grupo de bandas proteicas com peso molecular estimado variando entre 6,5 a >60 KDa. As frações proteicas apresentaram bandas bem definidas com peso molecular variando de <6,5 Kda a >60 KDa. O protocolo utilizado mostrou eficiência para extração de grande quantidade de proteínas da biomassa de *Chlorella vulgaris*.

Palavras-chave: Extração de proteínas. Microalgas. *Chlorella vulgaris*. Bioprospecção.