

Wpływ warunków środowiska na stabilność fikocyjaniny pozyskiwanej z *thermosynechococcus* PCC6715

A. Antecka*, R. Szelaż, S. Ledakowicz

*Katedra Inżynierii Bioprocessowej, Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony
Środowiska, Politechnika Łódzka, Wólczańska 213,*

**anna.antecka@p.lodz.pl*

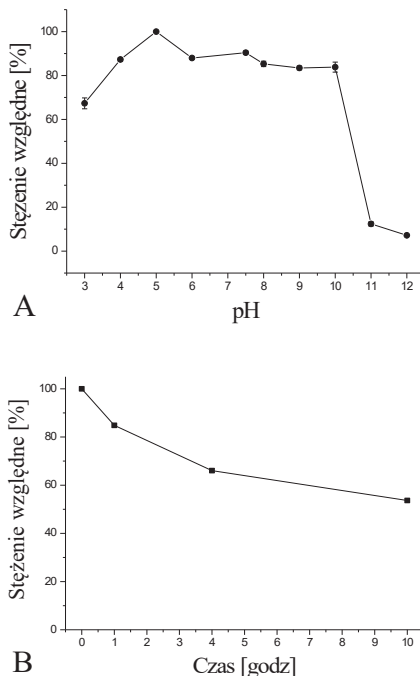
Fikocyjanina (C-PC), będąca kompleksem białka i pigmentu fikocyjanobilina, jest jedną z fikobiliprotein o głębokim, intensywnym niebieskim kolorze [Patil i in., 2006:76–81]. Dzięki temu znajduje szereg zastosowań w barwieniu kosmetyków lub jako dodatek do żywności. Ponadto z uwagi na jej właściwości przeciwnowotworowe, przeciwzapalne i przeciwutleniające jest pożądana w przemyśle farmaceutycznym oraz medycynie [da Silva Figueira i in., 2018:1117–1128]. Fikocyjanina przy długości fali około 620 nm wykazuje charakterystyczny pojedynczy pik absorpcji, a fluorescencję emituje przy około 642 nm. C-PC jest wytwarzana przez wiele fotoautotroficznych cyanobakterii (sinic), z których najbardziej popularna jest *Spirulina platensis* oraz przez dwa rodzaje glonów eukariotycznych: *Rhodophyta* i *Cryptophyta*. Niestety C-PC izolowana z organizmów mezofilnych, posiada wysoką wrażliwość na czynniki fizyczne, takie jak: światło, temperatura, pH i tlen, gdzie ulega rozkładowi w około 90–95%. Zastosowanie takiej fikocyjaniny w przemyśle będzie zatem ograniczone ze względu na obróbkę cieplną, która powoduje wytrącanie i blaknięcie niebieskiego pigmentu [Pan-utai i in., 2018:231–242].

Thermosynechococcus to rodzaj termofilnych, jednokomórkowych cyjanobakterii, zasiedlających alkaliczne gorące źródła o temperaturze 50–65°C. Mechanizmy adaptacji termofilnych sinic do różnych stresujących warunków gorących źródeł powodują, że takie organizmy i ich bioprodukty stanowią ogromną wartość dla biotechnologii oraz różnych zastosowań przemysłowych [Cheng i in., 2020:1–13].

Celem pracy było zbadanie stabilności fikocyjaniny w roztworze otrzymanym po dezintegracji i ekstrakcji biomasy ciepłolubnych cyjanobakterii *Thermosynechococcus* PCC6715 wobec zmiennych warunków środowiska, takich jak: temperatura, pH i światło oraz określenie parametrów umożliwiających korzystne warunki jej przechowywania.

Wartość pH i stężenie fikocyjaniny są głównymi czynnikami mającymi wpływ na agregację i dysocjację C-PC [Chaiklahan i in., 2012:659–664]. W roztworze stanowi ona złożoną mieszaninę monomerów, trimerów, heksamerów i innych oligomerów. Przy pH 5 C-PC występuje jako forma heksameryczna, która dzięki swojej stabilności stanowi ochronę przed denaturacją. Przy pH wyższym niż 7 występuje głównie jako monomer lub trimer, co powoduje niższą termostabilność. Wiąże się to z tym, że wzrost pH powyżej pI powoduje zwiększenie rozpuszczalności fikocyjaniny ze względu na wzrost odpychania elektrostatycznego, który zmniejsza agregację i wytrącanie związków [Mogany i in., 2019:1661–1674].

Na rysunku 1 przedstawiono zależność stężenia C-PC od odczynu pH środowiska (A) oraz stabilność C-PC podczas 10-cio godzinnego naświetlania (B) w temperaturze pokojowej.

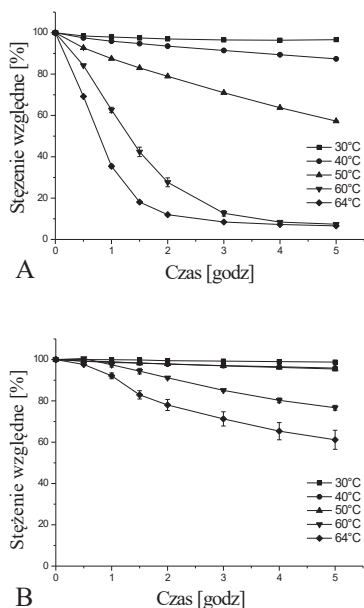


Rys. 1. A – Wpływ pH na stabilność C-PC, B – rozkład C-PC pod wpływem światła

Źródło: opracowanie własne.

Badana fikocyjanina zachowuje swoje właściwości przy pH w zakresie 4–10, natomiast pH zasadowe powoduje jej szybką degradację. Najwyższe stężenie wykazuje przy pH równym 5, co jest zgodne z literaturą przedmiotu [Mogany i in., 2019:1661–1674]. Ponadto wykazuje wrażliwość na światło, a jej odporność fotochemiczna po 10-cio godzinnej inkubacji wynosi jedynie 50% stężenia początkowego.

Z kolei na rysunku 2, przedstawiono wpływ temperatury na stabilność C-PC.



Rys. 2. A – Stabilność fikocyjaniny z *Thermosynechococcus* podczas 5-cio godzinnej inkubacji w zakresie temperatur od 30 do 64°C bez regulacji pH, B – przy pH = 5

Źródło: opracowanie własne.

Wykazano, że w roztworze bez regulacji pH (pH ok. 7,5) C-PC jest stabilna w temperaturach do 40°C (rysunek 1A), natomiast podczas 5-cio godzinnej inkubacji w 50°C traci około 40% swojego stężenia początkowego. Jednakże stwierdzono zależność, że w zakresie pH od 5 do 8, im niższa wartość pH środowiska, tym wyższa może być temperatura, przy której C-PC jest nadal stabilna. Najlepsze wyniki otrzymano dla pH 5, gdzie C-PC podczas 5-cio godzinnej inkubacji w 50°C nadal zachowuje ponad 95%, a w 64°C – 60% wartości początkowego stężenia. Potwierdza to wcześniejsze doniesienia o odwrotnie proporcjonalnej

zależności między wartościami parametrów temperatury i pH w badaniach degradacji C-PC [Chaiklahan i in., 2012:659–664]. Ponadto stwierdzono, że fikocyjanina nie traci swoich właściwości w temperaturze -20°C nawet podczas 3-miesięcznego okresu przechowywania, natomiast w 4°C już po miesiącu jej stężenie zaczyna spadać, a po 3 miesiącach wynosi jedynie 25% wartości początkowej.

Otrzymane wyniki potwierdzają, że fikocyjanina izolowana z *Thermosynechococcus* PCC6715 charakteryzuje się wyższą termostabilnością niż ta pochodząca z organizmów mezofilnych.

Bibliografia

Chaiklahan R., Chirasuwan N., Bunnag B., (2012). *Stability of phycocyanin extracted from Spirulina sp.: Influence of temperature, pH and preservatives*, "Process Biochemistry", vol. 47, nr 4, s. 659–664.

Cheng Y.I., Chou L., Chiu Y.F., Hsueh H.T., Kuo C.H., Chu H.A., (2020), *Comparative Genomic Analysis of a Novel Strain of Taiwan Hot-Spring Cyanobacterium Thermosynechococcus sp. CL-1*, "Frontiers in Microbiology", vol. 11, s. 1–13.

da Silva Figueira F., Moraes C.C., Kalil S.J., (2018), *C-phycocyanin purification: Multiple processes for different applications*, "Brazilian Journal of Chemical Engineering", vol. 35, nr 3, s. 1117–1128.

Mogany T., Kumari S., Swalaha F.M., Bux F., (2019), *Extraction and characterisation of analytical grade C-phycocyanin from Euhalothece sp.*, "Journal of Applied Phycology", vol. 31, nr 4, s. 1661–1674.

Pan-utai W., Kahapana W., Iamtham S., (2018), *Extraction of C-phycocyanin from Arthrospira (Spirulina) and its thermal stability with citric acid*, "Journal of Applied Phycology", vol. 30, nr 1, s. 231–242.

Patil G., Chethana S., Sridevi A.S., Raghavarao K.S.M.S., (2006), *Method to obtain C-phycocyanin of high purity*, "Journal of Chromatography A", vol. 1127, nr 1–2, s. 76–81.