

Zastosowanie frakcjonowania pianowego i wodnej ekstrakcji dwufazowej do oczyszczania C-fikocyjaniny z *Thermosynechococcus* PCC 6715

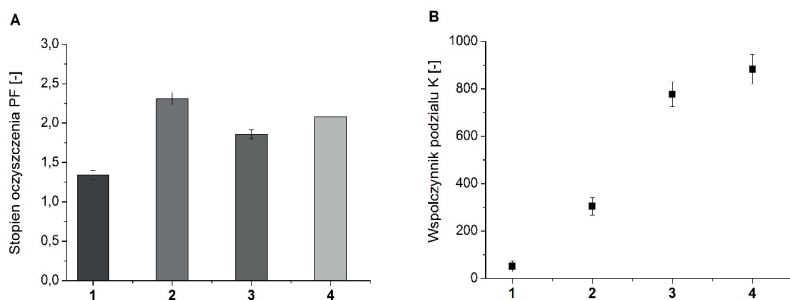
R. Szela^{*}, A. Antecka, S. Ledakowicz

*Katedra Inżynierii Bioprosesowej, Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony
Środowiska, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 213, *rafal.szela@dokt.p.lodz.pl*

C-fikocyjanina (C-PC) będąca kompleksem białkowo-pigmentowym o charakterystycznym intensywnie niebieskim zabarwieniu, należy do grupy fikobiliprotein, które biorą udział w procesie fotosyntezy (Pagels i in., 2019:422–443). C-PC znajduje szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym oraz w medycynie, gdyż wykazuje właściwości przeciwzapalne, antynowotworowe i przeciwutleniające. Tu podstawowe znaczenie ma stopień czystości produktu, definiowany jako stosunek absorbancji przy dwóch długościach fali wynoszących 620 i 280 nm (A_{620}/A_{280}). Dzieli on C-PC na trzy główne klasy: spożywczą – czystość w zakresie 0,7–3,9, reaktywną – >3,9 i analityczną – >4,0 (Brião i in., 2020:1129–1140). W innej klasyfikacji C-PC o czystości wynoszącej 0,5–1,5 jest zaliczana jako barwnik spożywczy, 1,5–2,5 – barwnik kosmetyczny, 2,5–3,5 – biomarker, a powyżej 4 do zastosowań medycznych (da Silva Figueira i in., 2018:1117–1128). Z tego względu procesy separacji oraz oczyszczania (downstream processing, DSP) mają kluczowe znaczenie w produkcji C-PC i szacuje się, że stanowią one ok. 50–80% kosztów całego procesu (da Silva Figueira i in., 2018:1117–1128).

Celem pracy było zbadanie możliwości zastosowania dwóch niestandardowych metod DSP: frakcjonowania pianowego oraz wodnej ekstrakcji dwufazowej, dla uzyskania zatężonego produktu o jak najwyższym stopniu czystości. Roztwór badany uzyskiwano w wyniku dezintegracji biomasy ciepłolubnego szczepu cyjanobakterii *Thermosynechococcus* PCC6715C, otrzymywanej z hodowli bioreaktorowej. *Thermosynechococcus* są głównym źródłem dwóch rodzajów fikobiliprotein: termostabilnej C-PC oraz allofikocyjaniny (A-PC) cechującej się niebiesko-zieloną barwą.

Frakcjonowanie pianowe (foam fractionation, FF) jest jedną z metod separacji pęcherzykowej, wykorzystującą zjawisko pienienia się roztworu zawierającego składniki powierzchniowo-czynne m.in. białka, które podczas procesu migrują do granicy faz ciecz-gaz (Burghoff, 2012:126–137). Proces prowadzono na stanowisku opisanym w (Antecka i in., 2022:108–563). W wodnej ekstrakcji dwufazowej (Aqueous Two Phase Extraction, ATPE) mechanizm oparty jest na selektywnym rozpuszczaniu się separowanej substancji w fazach układu. Do oczyszczania C-PC stosuje się głównie układ polimer-sól, gdzie C-PC wykazuje powinowactwo wobec fazy polimerowej (Nascimento i in., 2020:345–349). Proces prowadzono w kolbach ekstrakcyjnych (Antecka i in. 2022:108–563) w kilku układach z zastosowaniem glikolu polietylenowego o różnych masach cząsteczkowych oraz soli fosforanowej lub cytrynianu sodu. Dodatkowo podjęto próbę połączenia obu metod, wykorzystując do ATPE kondensat po FF. Na wykresach przedstawiono wybrane wartości stopni oczyszczenia (rysunek 1A) oraz współczynników podziału C-PC (rysunek 1B) otrzymane podczas różnych wariantów prowadzenia obu procesów.



Rys. 2. Odzyski fikobiliprotein w układach
 PEG6000-fosforan (A) i PEG6000-cytrynian (B)

Źródło: opracowanie własne.

Uzyskane wyniki potwierdzają, że obie badane metody FF oraz ATPE mogą być wykorzystane do oczyszczania C-PC, chociaż ATPE skutkuje wyższymi wartościami stopni oczyszczenia i współczynników podziału. Odkryto, że przy połączeniu obu metod (zastosowaniu ATPE do kondensatu po FF) uzyskuje się rozdział fikobiliprotein, tj. A-PC zatęża się w dodatkowej fazie polimerowej, którą można łatwo oddzielić od fazy polimerowej, gdzie zatężona jest C-PC. Oznacza to, że połączenie FF i ATPE daje możliwość rozdziału fikobiliprotein.

Bibliografia

Antecka A., Klepacz-Smółka A., Szelać R., Pietrzyk D., Ledakowicz S., (2022), *Comparison of three methods for thermostable C-phycoerythrin separation and purification*, "Chemical Engineering and Processing - Process Intensification", vol. 171, s. 108–563.

Brião V.B., Sbeghen A.L., Colla L.M., Castoldi V., Seguenka B., de Schimdt G.O., Costa J.A.V., (2020), *Is downstream ultrafiltration enough for production of food-grade phycocyanin from *Arthrospira platensis*?*, "Journal of Applied Phycology", vol. 32, s. 1129–1140.

Burghoff B., (2012), *Foam fractionation applications*, "Journal of Biotechnology", vol. 161, s. 126–137.

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, s. 1117–1128.

Nascimento S.S., Santos V.S.V., Watanabe E.O., de Souza Ferreira J., (2020), *Assessment of the purification of phycobiliproteins in cyanobacteria through aqueous two-phase systems with different proportions of PEG/salt*, "Food and Bioproducts Processing", vol. 119, s. 345–349.

Pagels F., Guedes A.C., Amaro, H.M., Kijjoo A., Vasconcelos V., (2019), *Phycobiliproteins from cyanobacteria: Chemistry and biotechnological applications*, "Biotechnology Advances", vol. 37, s. 422–443. Badanie kinetyki degradacji polimerów pochodzenia biologicznego w glebie w warunkach naturalnych