



PROCESO PROTOTIPO PARA LA PURIFICACION DE B-FICOERITRINA PRODUCIDA POR *Porphyridium cruentum*

Jorge Benavides, Marco Rito-Palomares.

Centro de Biotecnología, ITESM Campus Monterrey, Eugenio Garza Sada 2501, C.P. 64849, Monterrey, N.L. México.

Fax: 83 58 2000 Ext. 4842. E-mail: mrito@itesm.mx

Palabras clave: B-ficoeritrina, recuperación, sistemas de dos fases acuosas.

Introducción. Algunos colorantes sintéticos utilizados en industrias alimentarias producen efectos adversos en la salud humana, por lo que existe un creciente interés por utilizar colorantes de origen biotecnológico que puedan sustituirlos. La B-ficoeritrina (BPE) es una ficobiliproteína de color rosa intenso, representa un caso interesante en este contexto, debido a que ha demostrado tener aplicación en el área de alimentos, así como marcador molecular.

Los sistemas de dos fases acuosas Polietilenglicol – Fosfato de potasio han demostrado ser una alternativa a los protocolos de recuperación existentes para recuperar este tipo de productos. La recuperación primaria de BPE producida por *Porphyridium cruentum* a partir de una mezcla compleja, libre de restos celulares ha sido reportada previamente (1). Sin embargo, resulta evidente la necesidad de desarrollar procesos con un menor número de etapas (integración de procesos) y que permitan procesar suspensiones biológicas concentradas (intensificación de procesos).

El objetivo de este trabajo es diseñar un proceso prototipo, caracterizado por un reducido número de etapas fácilmente escalables, para la recuperación de BPE producida por *Porphyridium cruentum* que permita procesar suspensiones biológicas concentradas.

Metodología. La fermentación de *Porphyridium cruentum* fue llevada a cabo utilizando un medio de cultivo previamente reportado (2). Se hicieron pruebas de ruptura celular mediante dos métodos, maceración manual y sonicación, para determinar cual de los dos generaba mejor rendimiento respecto a la liberación de BPE.

La biomasa se recuperó por centrifugación, se resuspendió en agua, y se llevo a cabo ruptura celular mediante sonicación. Al homogenizado resultante se le llamo extracto crudo. El extracto crudo fue alimentado a sistemas de dos fases acuosas con parámetros anteriormente reportados (1). Se siguió una estrategia experimental en donde se variaron consecutivamente la cantidad de extracto crudo alimentada al sistema y la geometría del sistema para determinar la influencia de estos dos factores sobre la partición de BPE.

Se cuantificó proteína total mediante la técnica de Bradford, y se estimó la concentración de B-ficoeritrina en cada fase usando las ecuaciones reportadas por Bermejo *et al.* (2).

Resultados y discusión. Ruptura celular por sonicación resulto el método con la mayor de liberación de BPE (0.9 mg de BPE por gramo de biomasa húmeda) comparado con maceración manual.

El aumento en la concentración del extracto crudo en los sistemas de dos fases acuosas (de 10 a 40 %p/p) resulto en un incremento en la pureza de la proteína. La mayor pureza se obtuvo al 40 %p/p. La pureza obtenida (expresada como la relación de absorbancia 545nm/280nm) fue 3.25 (factor de purificación de 2.5), mientras que el porcentaje de recuperación de BPE en la fase superior de ese mismo sistema fue de 92%.

Distintas geometrías del dispositivo para la extracción en términos de HD no presentó efecto significativo sobre la pureza de BPE en sistemas de dos fases acuosas. Para todas las geometrías probadas (HD 1-5) un porcentaje de recuperación fase superior cercano a 90% y un factor de purificación entre 2 y 2.4 fueron obtenidos.

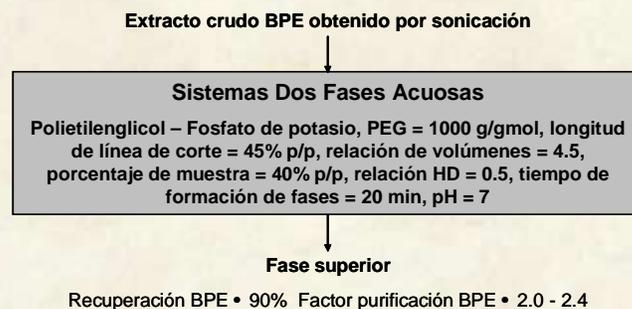


Fig. 1. Parámetros de proceso de sistemas de dos fases acuosas para la recuperación primaria de BPE en fase superior

Conclusiones. Los resultados demuestran el desarrollo de un proceso para la de recuperación de BPE procesando suspensión biológica con restos celulares. Los sistemas de dos fases acuosas probaron ser capaces de recuperar eficientemente BPE en la fase superior, obteniendo porcentajes de recuperación y factores de purificación atractivos para el potencial escalamiento a nivel comercial.

Agradecimiento. Se agradece al CONACYT (39645) y a la Cátedra de Investigación ITESM (CAT005).

Bibliografía.

- Benavides, J, y Rito-Palomares, M. (2004). Bioprocess intensification: a potencial aqueous two-phase process for the primary recovery of B-phycoerythrin from *Porphyridium cruentum*. *J. Chromatogr. B.* 807: 33-38.
- Bermejo Roman, R, Álvarez-Pez, J.M, Ación Fernández, F.G, Molina Grima, E. (2002). Recovery of pure B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum*. *J. Biotechnol.* 93: 73-85.