



COMPORTAMIENTO DE PARTICION DE B-FICOERITRINA PRODUCIDA POR *Porphyridium cruentum* EN SISTEMAS DE EXTRACCION POLIMERO-POLIMERO

Tanhia Hernandez-Mireles, 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. El creciente interés por utilizar colorantes de origen biotecnológico que puedan sustituir colorantes sintéticos, demanda la búsqueda de productos candidatos y el desarrollo de procesos atractivos para su implementación a nivel comercial. La B-ficoeritrina (BPE) es una ficobiliproteína de color rosa intenso, que representa un caso interesante en este contexto, debido a que ha demostrado tener aplicación en el área de alimentos, así como marcador molecular.

Si bien los sistemas de dos fases acuosas Polietilenglicol (PEG)-Fosfato de potasio han demostrado ser una alternativa a los protocolos de recuperación existentes para recuperar BPE, la pureza máxima superior a 4 (expresada como la relación de absorbancia 545nm/280nm) necesaria para tener un producto de alto valor comercial no ha sido obtenida. La recuperación primaria de BPE producida por *Porphyridium cruentum* a partir de una mezcla compleja, libre de restos celulares ha sido reportada previamente (1-2). Sin embargo, resulta evidente la necesidad explorar nuevas alternativas para poder alcanzar un producto de alta pureza. El objetivo de este trabajo es evaluar el comportamiento de partición de BPE producida por *Porphyridium cruentum* en sistemas de separación polímetro-polímetro, particularmente PEG-dextrano (PEG-Dx), a fin de establecer condiciones que permitan obtener un producto de alta pureza.

Metodología. La fermentación de *Porphyridium cruentum* y liberación de BPE fue llevada a cabo como se describe anteriormente (1). Al homogenizado resultante se le llamo extracto crudo. Los sistemas de dos fases acuosas fueron contruidos con el extracto crudo como se ha reportado previamente (1). Se cuantificó proteína total mediante la técnica de Bradford, y se estimó la pureza de B-ficoeritrina en cada fase usando la metodología reportada por Bermejo y col. (2).

Resultados y discusión. El reducido entendimiento de los mecanismos moleculares que gobiernan el fenómeno de partición de colorantes proteicos en sistemas de dos fases acuosas, limita el diseño predictivo de procesos de extracción que utilizan esta técnica. Como consecuencia, el establecimiento de las condiciones óptimas de extracción se define sobre la base de la experiencia en conjunto con un enfoque empírico. En este estudio, se presenta el comportamiento de la pureza de B-ficoeritrina en los sistemas de fases acuosas PEG-Dx (Tabla 1). Es evidente que los sistemas con un peso molecular de polietilen-glicol (PEG) de 1000 daltons presentaron las purezas mas bajas

comparadas con las obtenidas en los sistemas de PEG 1450. Los resultados preliminares demuestran la afinidad del colorante proteico por la fase superior rica en PEG y los contaminantes por la fase inferior rica en dextrano. Lo anterior permite la potencial definición conceptual de la etapa de extracción. Los sistemas PEG 1000-Dx no presentaron cambios en la pureza de BPE cuando dextranos de diferente peso molecular fueron utilizados. En contraste, cuando sistemas PEG1450-Dx fueron utilizados, se observo un incremento en la pureza de BPE en la fase superior asociada al aumento en el peso molecular de Dx. Se anticipa que para estos sistemas, la mayoría de los contaminantes presentes en el extracto crudo tienden a acumularse en la fase inferior cuando el peso molecular del dextrano aumenta.

Tabla 1. Comportamiento de la pureza de B-ficoeritrina en sistemas de dos fases acuosas polimero-polimero

Sistema	Peso molecular PEG (g/gmol)	Peso molecular Dextrano (g/gmol)	Pureza de BPE en fase superior (545/280nm)
1	1000	37500	0.5
2		65282	0.5
3		428000	0.5
4	1450	37500	1.0
5		65282	1.9
6		428000	2.1

De los ATPS evaluados hasta el momento, el sistema PEG1450-Dx428000, dio como resultado la máxima pureza (2.1 en Tabla 1), en una sola etapa de extracción

Conclusiones. El comportamiento de partición de BPE en los sistemas de dos fases acuosas polimero-polimero merece reconocimiento como una alternativa para el desarrollo de etapas de extracción para la recuperación primaria de colorantes proteicos. Un mejor entendimiento de los mecanismos de partición involucrados es necesario para el diseño de sistemas de recuperación y purificación.

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

Bibliografía.

1. 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.
2. 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.