

Sinice lub inaczej cyjanobakterie są samożywnymi mikroorganizmami, posiadającymi zdolność fotosyntezy. Są powszechnie znane jako niepożądany składnik biocenozy w zbiornikach wodnych szczególnie w czasie tzw. zakwitów. Poza niekorzystnym działaniem (eutrofizacja, toksyny sinicowe) sinice mają również wpływ pozytywny na środowisko i zdrowie ludzi; wykorzystuje się je do wzbogacania gleby w związki azotowe, np. wprowadzone do upraw ryżu zwiększają plon o około 20%, a także mogą stanowić źródło fikobiliprotein (FBP). Te struktury białkowe uczestniczące w procesie fotosyntezy, pełniąc funkcje anten absorbujących światło w zakresie 470-650 nm, nazywane są fikobilisomami. Umożliwiają one wykorzystanie w procesie fotosyntezy długości fal świetlnych nie absorbowanych przez chlorofile. W skład fikobilisomów wchodzi fikobiliny, które jako jedyne barwniki fotosyntetyczne są rozpuszczalne w wodzie. Najbardziej znanymi fikobilinami są: fikocyjanina (C-PC) (niebieska) i fikoerytrobilina (czerwona). Fikobiliny wykazują fluorescencję i mogą być wykorzystywane w medycynie, technikach immunofluorescencyjnych jako znaczniki, a ponadto są znane ich właściwości terapeutyczne o działaniu antyoksydacyjnym, przeciwzapalnym i antynowotworowym. Biosynteza, wydzielanie i oczyszczanie tych cennych białek FBP jest głównym celem tych badań. Ostatnio nasza grupa badawcza scharakteryzowała C-fikocyjaninę z ciepłolubnych cyjanobakterii *Thermosynechococcus* PCC6715. Okazało się, że C-fikocyjanina produkowana przez te termofilowe sinice należy do najbardziej termostabilnych białek, jakie dotychczas opublikowano w literaturze przedmiotu. Wytwarzanie FBP wymaga zapewnienia optymalnych warunków do wzrostu mikroalg tzn. wyboru właściwej konstrukcji fotobioreaktora i wyznaczenia jego charakterystyki hydrodynamicznej i parametrów procesowych, doboru odpowiedniego źródła węgla, którym może być także gazowy CO₂, i azotu oraz warunków oświetlenia. Wytworzona biomasa mikroalg musi być odwodniona, zagęszczona i poddana dezintegracji komórek w celu uwolnienia fikobilin, które są związane z membraną tylakoidów tworzących aparat fotosyntetyczny u sinic. Jednym ze sposobów dezintegracji komórek jest homogenizacja, będąca metodą do pozyskania materiału biologicznego, znajdującego się we wnętrzu komórek. Istnieje kilka metod stosowanych w tym celu (zamrażanie/rozmarzanie, mielenie z rozcieraniem, stres osmotyczny, liza detergentami i rozpuszczalnikami organicznymi, sonikacja ultradźwiękami i in.), każda z nich prowadzi do zniszczenia ściany lub błony komórkowej, powodując dezintegrację i uwolnienie poszczególnych elementów komórki, w tym także fikobiliprotein. Kolejnym krokiem do uzyskania czystych bioproduktów jest ich wydzielenie, wyekstrahowanie i oczyszczenie. Wybór metody odzysku i oczyszczania naturalnych bioproduktów jest bardzo istotny i musi być poprzedzony szeregiem badań uwzględniających specyfikę produktu i warunków procesu. Dlatego dalszym celem badań będzie opracowanie zintegrowanego ciągu operacji jednostkowych wydzielania C-PC, w tym zagęszczania białek podczas frakcjonowania pianowego i ich ekstrakcji w wybranych wodnych układach dwufazowych (ATPS) oraz końcowego oczyszczania tych cennych białek z udziałem technik membranowych. Największy stopień oczyszczania zapewniają techniki chromatograficzne, które są czasochłonne i drogie. Zatem liczba niezbędnych operacji jednostkowych związanych z separacją i oczyszczaniem FBP wciąż rośnie i podraża końcowe produkty, a w każdej operacji oczyszczania tracona jest część bioproduktu. Redukcja liczby operacji jednostkowych oczyszczania bioproduktów jest naszym głównym wyzwaniem i jest możliwa poprzez integrację procesów. Przykładowo jednym z innowacyjnych pomysłów jest integracja techniki filtracji membranowej (ultrafiltracji) z ekstrakcją w wodnych układach dwufazowych, składających się z roztworu soli organicznej (np. cytrynianu sodu) i drugiej fazy wodnej, w której jest rozpuszczony polimer np. glikol etylenowy o odpowiednio dobranym stopniu polimeryzacji. Dotychczas do wydzielania C-PC metodą ATPS stosowane były układy wodne PEG–sole nieorganiczne, które w dużej skali mogłyby wносить duży ładunek zanieczyszczeń do środowiska.

Istnieje kilka czynników, które wyróżniają niniejszy projekt, przede wszystkim przedmiotem naszych badań jest termofilny szczep *Thermosynechococcus* 6715 i wyprodukowana przez niego C-PC, która według naszych wcześniejszych badań jest jedną z najbardziej termostabilnych, jakie do tej pory odnotowano. Następnie, są to optymalizacja wzrostu połączona z produkcją C-PC, jak również szczegółowe badanie przebiegu hodowli w dwóch typach fotobioreaktorów, a także opracowanie procedury izolacji C-PC z komórek i oczyszczania surowego ekstraktu. Zgodnie z naszą wiedzą metody oczyszczania, takie jak frakcjonowanie pianowe i ATPE połączone z ultrafiltracją (ekstrakcja membranowa), nie były do tej pory użyte do oczyszczania C-PC.

Wyniki badań poszerzą podstawową wiedzę na temat biosyntezy fikocyjaniny, jej ekstrakcji i oczyszczania metodami przyjaznymi dla środowiska naturalnego, dzięki zdolności sinic do wykorzystania CO₂ jako źródła węgla, produkcji tlenu oraz poprzez zastosowanie biodegradowalnych ekstrahentów. Może to mieć znaczący wpływ na produkcję i dalsze zastosowanie w najbliższej przyszłości tego nutraceutyku, nie tylko jako termostabilnego barwnika spożywczego.