



Separación de Proteína y Procesos Biotecnológicos Ejercicio 3

Primavera de 2010

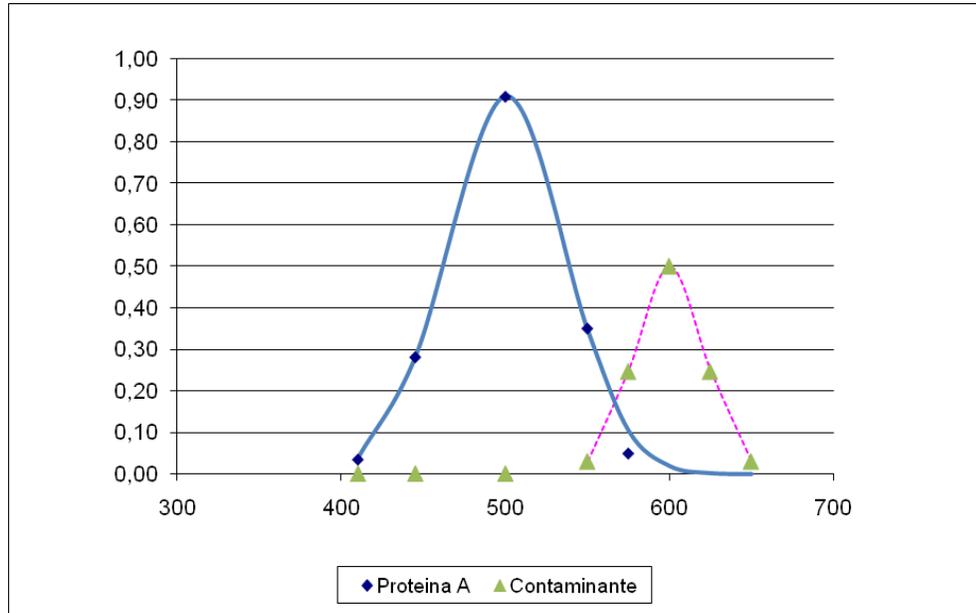
Una muestra de la proteína A ha sido inyectada a una columna de HIC, el perfil obtenido se muestra en la siguiente tabla:

Volumen [ml]	Proteína A [g/L]	Contaminante [g/L]
410	0,03	
445	0,28	
500	0,91	
550	0,35	0,03
575	0,05	0,25
600		0,5
625		0,25
650		0,03

- Determine los perfiles cromatográficos tanto para la proteína A como para el contaminante. Recomendación: Dibuje los perfiles. (3,0 puntos)
- Determine la concentración de proteína A y contaminante en la muestra que se inyecta a la columna (y_f) (1,5 puntos)
- Suponiendo que la fracción de huecos es de un 40%, y sabiendo que se ha determinado la constante de adsorción de la proteína A que es 10. Determine el volumen total de la columna y la constante de adsorción del contaminante. Comente. (1,5 puntos)

Pauta

a) A partir de los datos y graficando se tiene:



De allí se desprende que la ecuación de un perfil cromatográfico es:

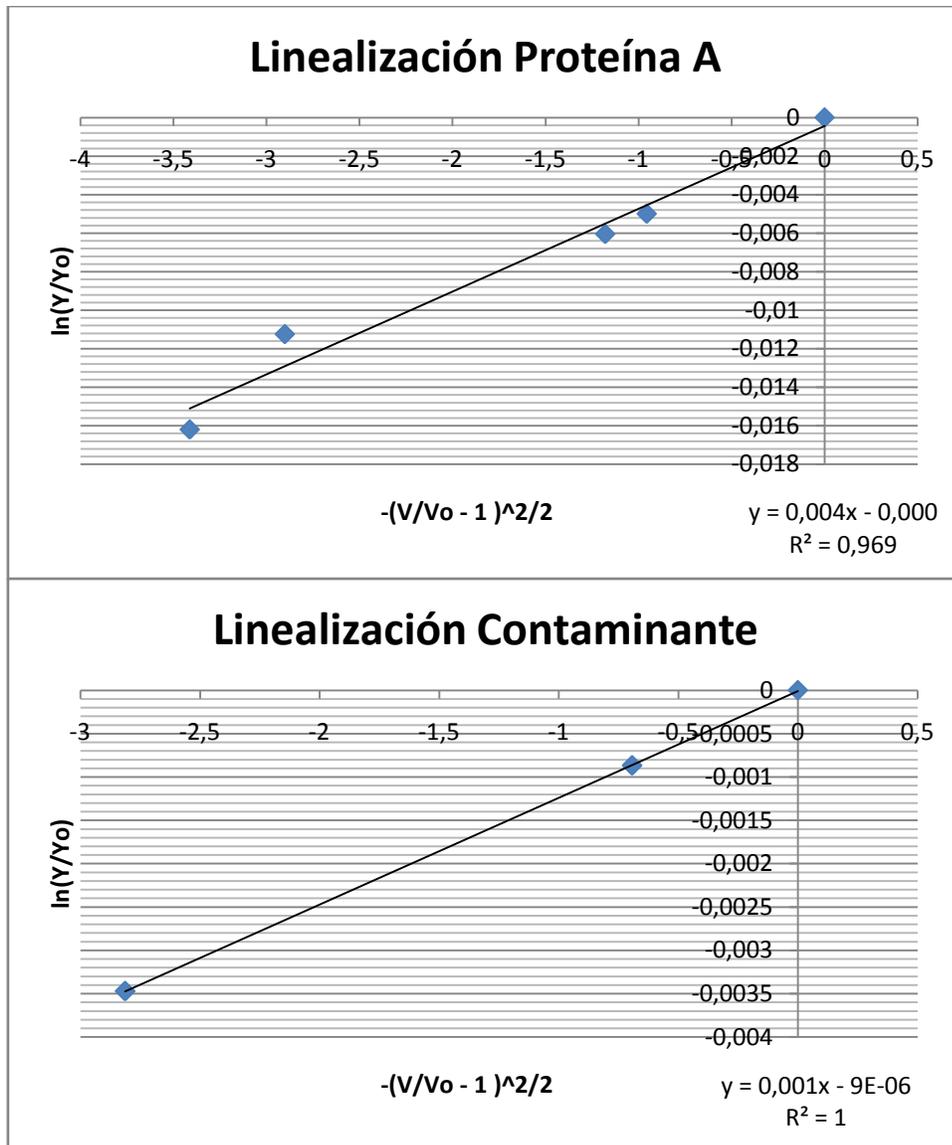
$$y = y_0 \cdot \exp\left(-\frac{\left(\frac{t}{t_0} - 1\right)^2}{2 \cdot \sigma_A^2}\right)$$

Del gráfico:

	Proteína A	Contaminante
y_0 (g/L)	0,91	0,5
V_0 (mL)	500	600

El valor de σ se obtiene al calcular la pendiente de:

$$\ln\left(\frac{y}{y_0}\right) = \frac{1}{\sigma^2} \cdot \frac{-\left(\frac{t}{t_0} - 1\right)^2}{2}$$



De allí se desprende que:

	Proteína A	Contaminante
σ^2	0,004	0,001
σ	0,0632	0,0316

Luego los perfiles serían:

Proteína A:

$$y = 0,91[gr / lt] \cdot \exp - \left(\frac{\left(\frac{V}{500[ml]} - 1 \right)^2}{2 \cdot 0,004} \right)$$

Contaminante:

$$y = 0,5[gr / lt] \cdot \exp - \left(\frac{\left(\frac{V}{600[ml]} - 1 \right)^2}{2 \cdot 0,001} \right)$$

b) Calculo de y_f , para ello se utiliza las ecuaciones

$$y_o = \frac{y_F}{\sqrt{2\pi N}} \quad N = \frac{1}{\sigma^2}$$

Combinando se tiene

$$y_F = \frac{y_o \sqrt{2\pi}}{\sigma}$$

	Proteína A	Contaminante
Yf (g/L)	36,1	39,7

c) Usando la ecuación:

$$k = \frac{V_o - \xi V_c}{(1 - \xi)V_c}$$

$\xi = 0,4$ y $k = 10$ según enunciado.

Despejando V_c con los datos para la proteína A:

$$V_c = \frac{V_o}{(\xi + (1 - \xi)k)} = \frac{500[ml]}{(0,4 + (1 - 0,4)10)}$$

$$V_c = 78,125 [ml]$$

Calculo de k del contaminante:

$$k = \frac{V_o - \xi V_c}{(1 - \xi)V_c} = \frac{600[ml] - 0,4 \times 78,125[ml]}{(1 - 0,4) \times 78,125[ml]}$$

$$K_{\text{contaminante}} = 12,13$$

Comentario:

La matriz tiene más afinidad por el contaminante, se recomendaría utilizar otra matriz.