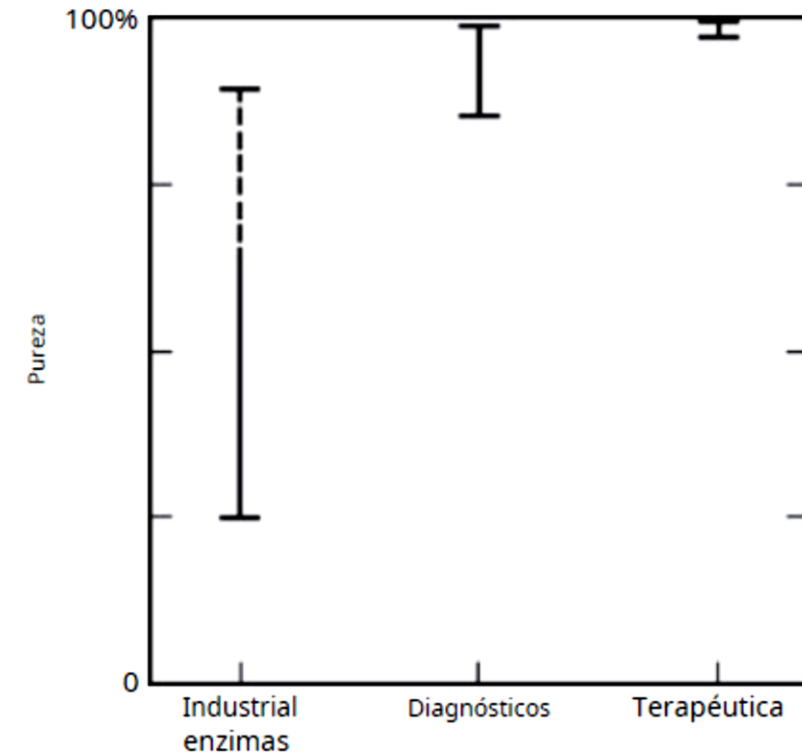


TEMA 10. Purificación de los productos

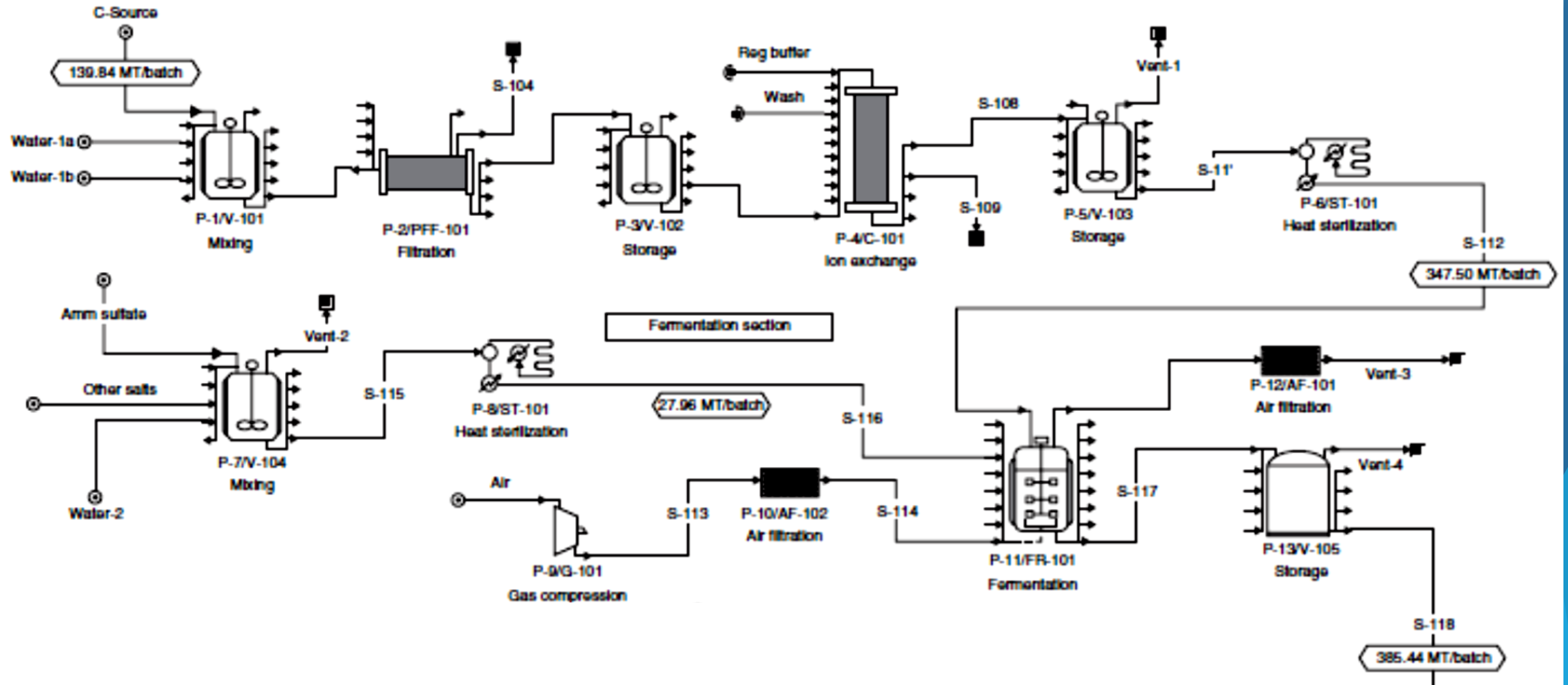
Sector I: alta concentración al final de la etapa de producción y tienen un precio de mercado bajo: commodities: levadura de panadería, bebidas alcohólicas, alimentos fermentados, queso, yogurt, etc.

Sector II: alto rendimiento y alto costo de purificación (30 al 70 % del costo total) algunos antibióticos, enzimas y anticuerpos monoclonales.

Sector III: Baja concentración en la etapa de producción y muy alto precio de venta: insulina, factores de coagulación y otros. El costo de purificación representa el 20 % del total, ya que llevan un costo de investigación y desarrollo muy alto.



Producción de ácido cítrico



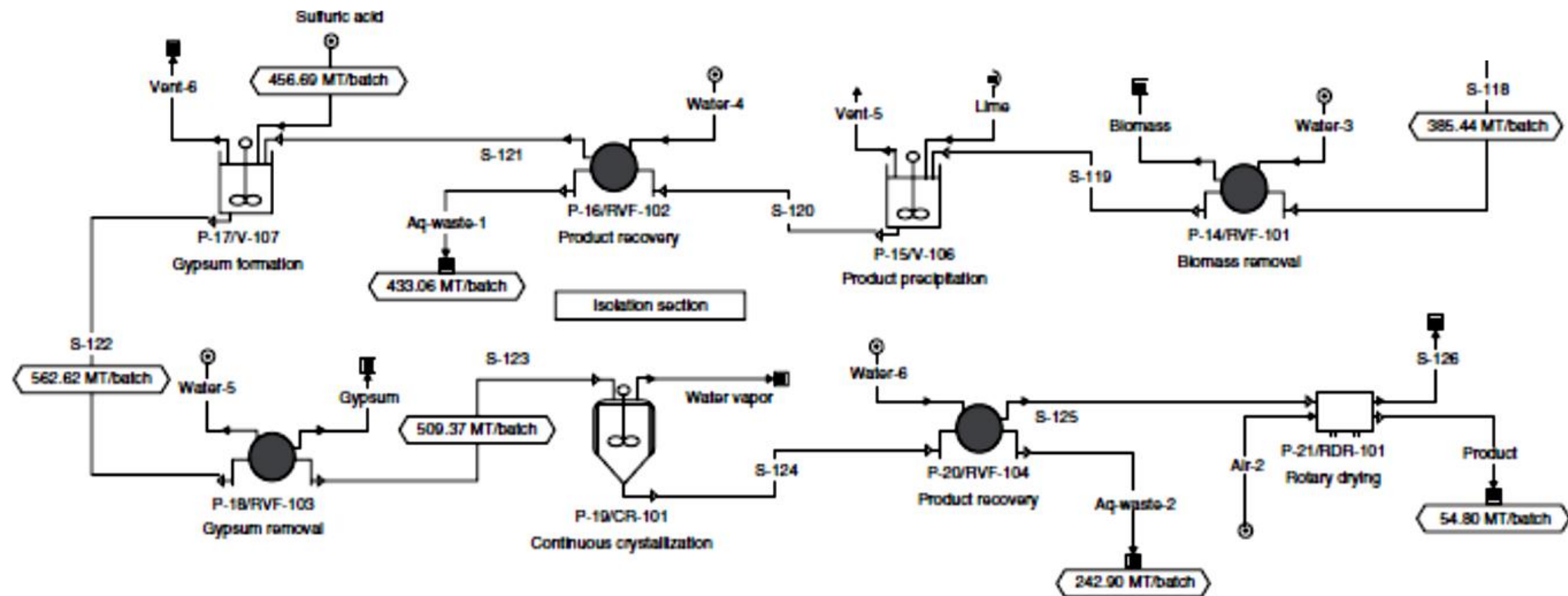
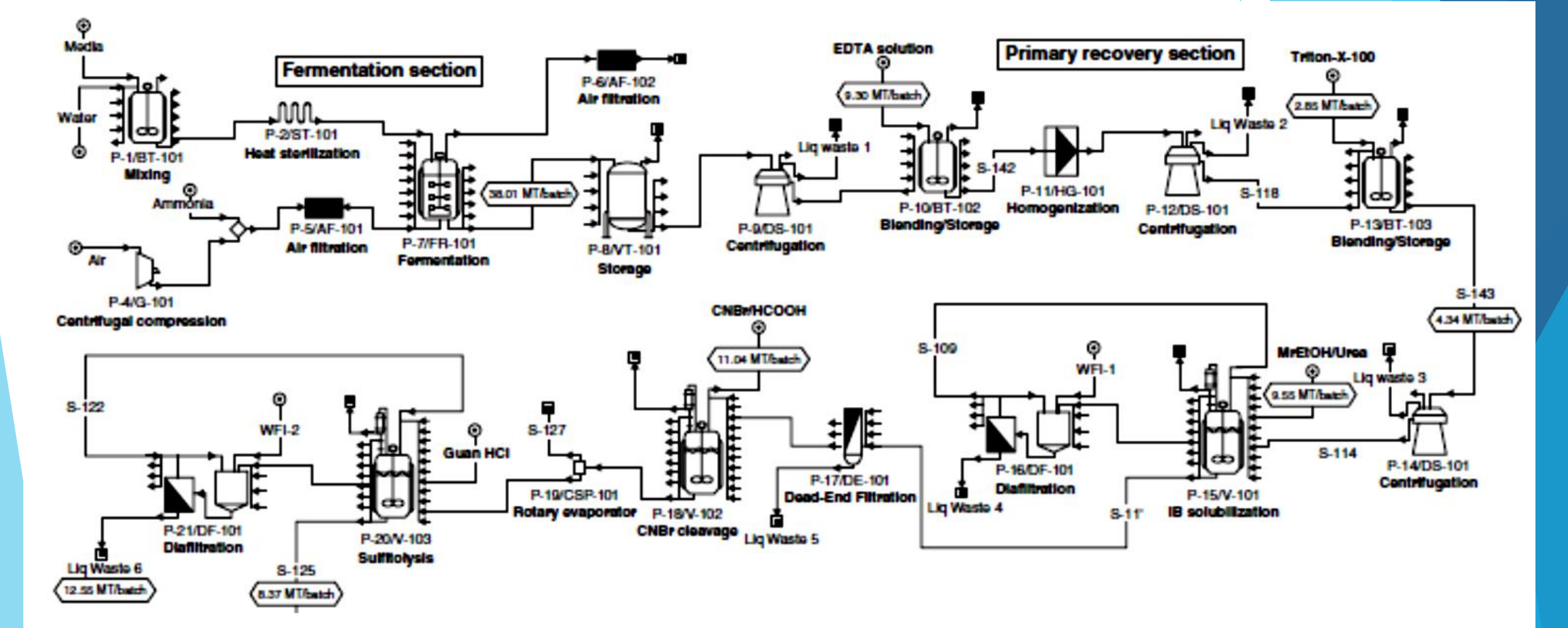


FIG. 20-64 Citric acid production flowsheet. [Reproduced from *Bioseparations Science and Engineering*, 2d ed., by Roger C. Harrison, Paul W. Todd, Scott R. Rudge, and Demetri P. Petrides (2015). By Permission of Oxford University Press.]



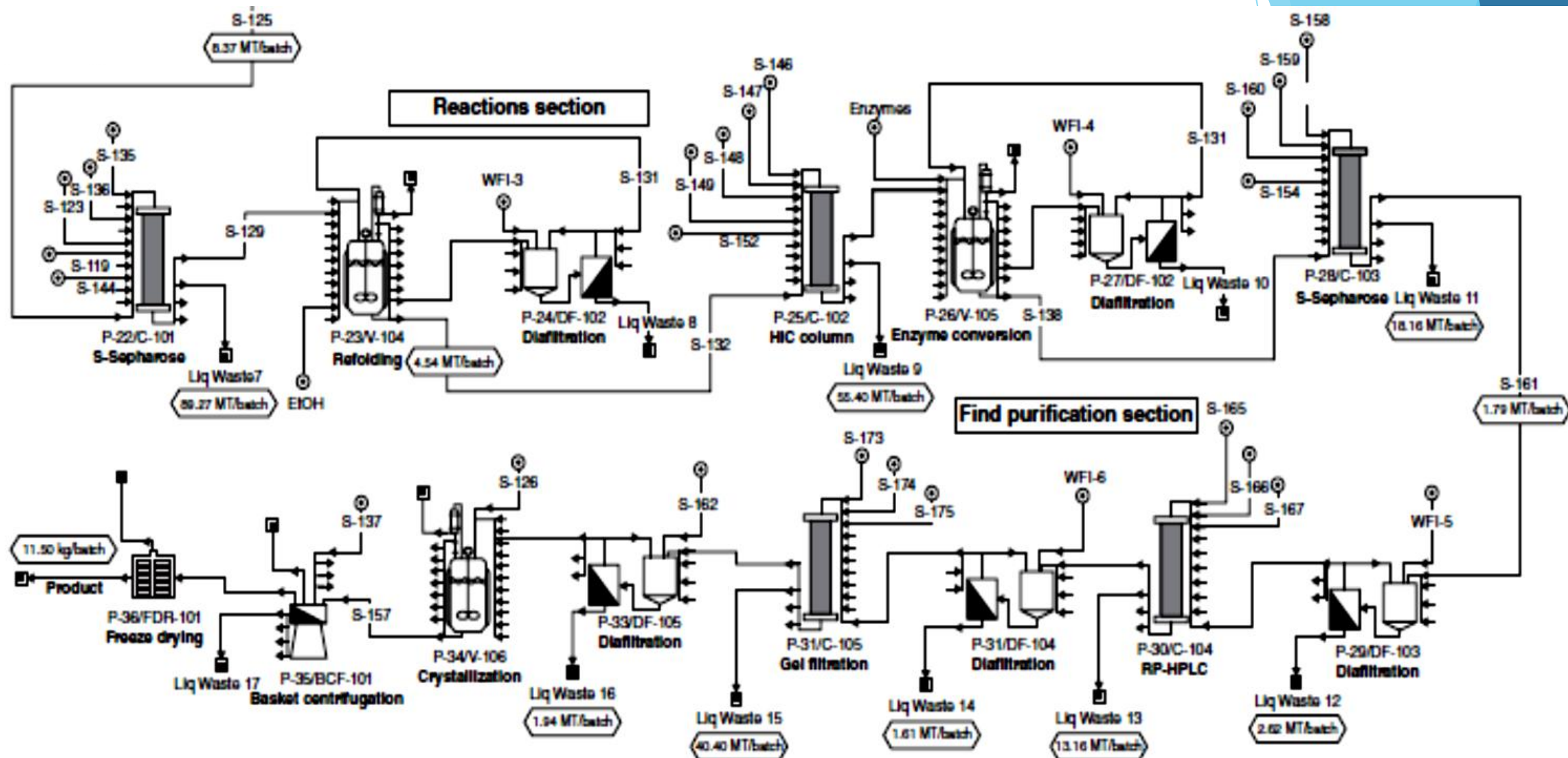
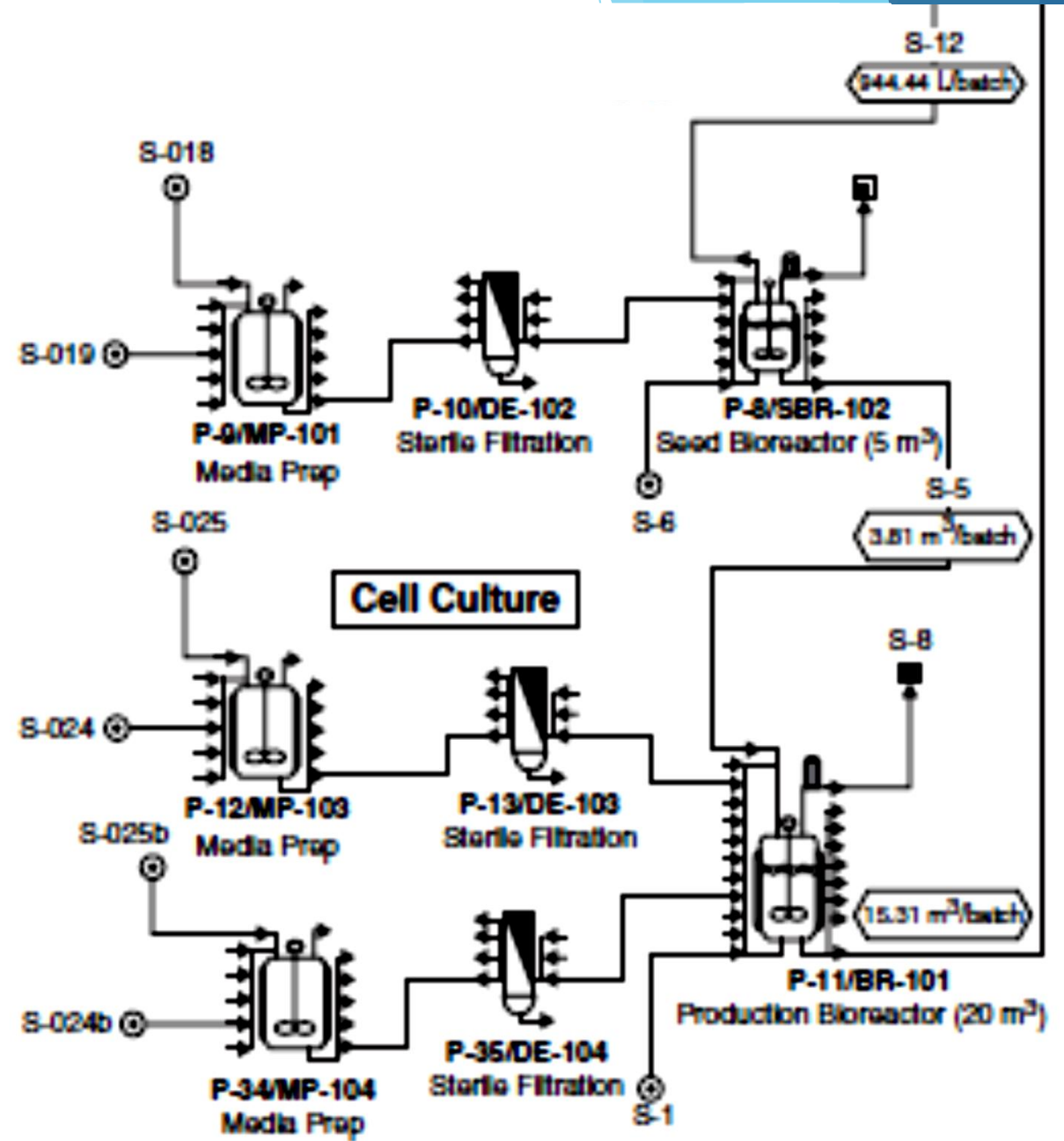
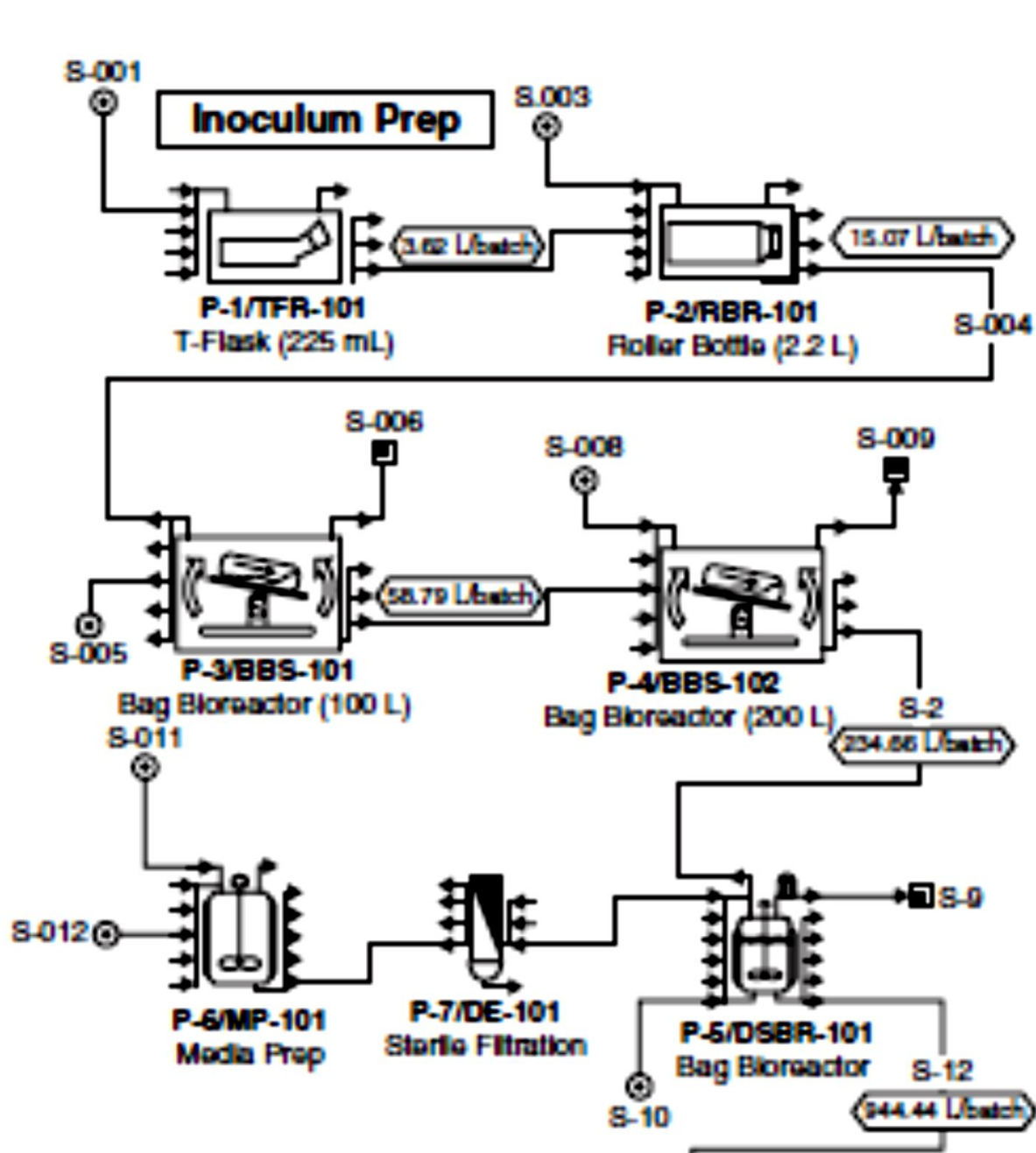
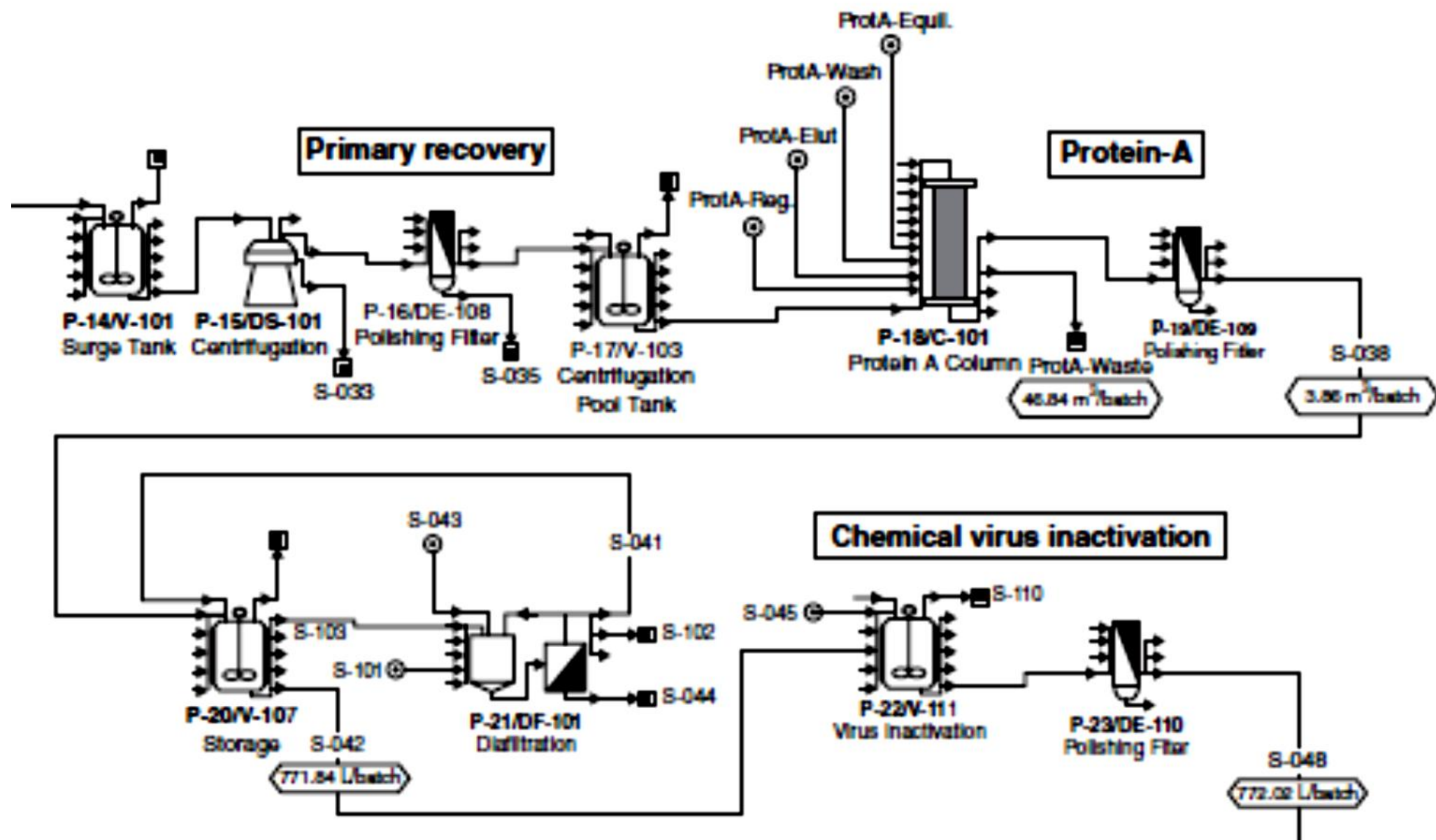
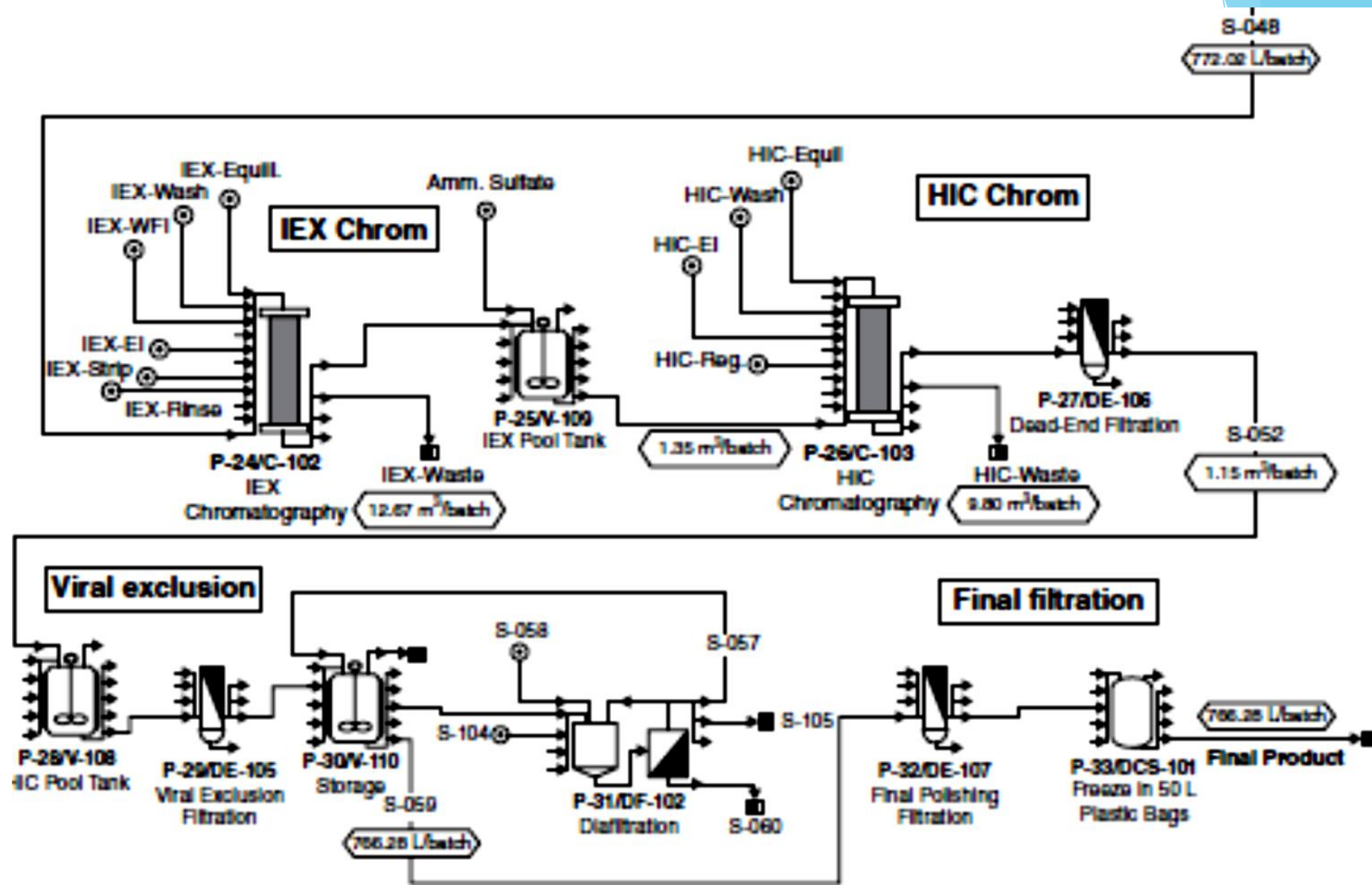


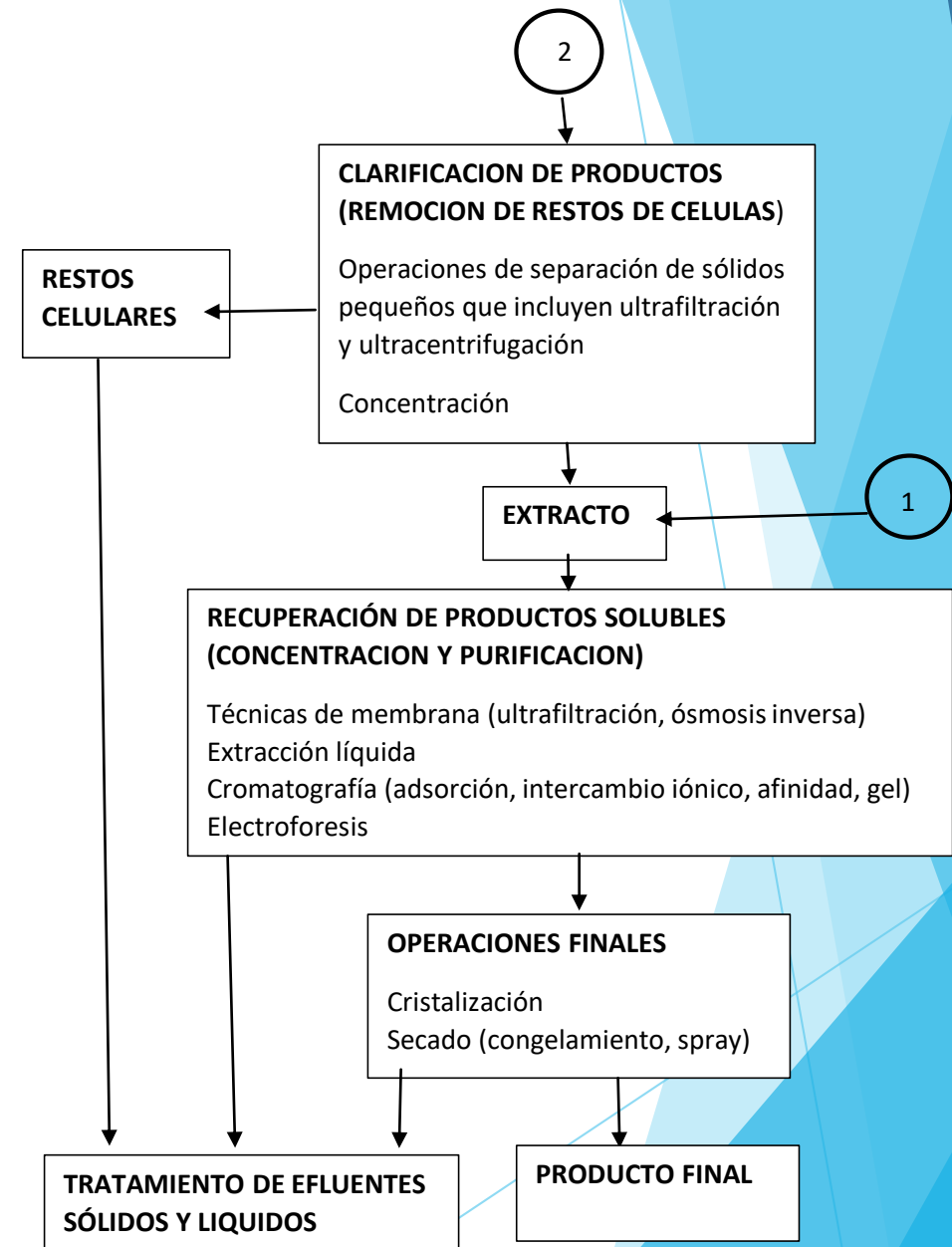
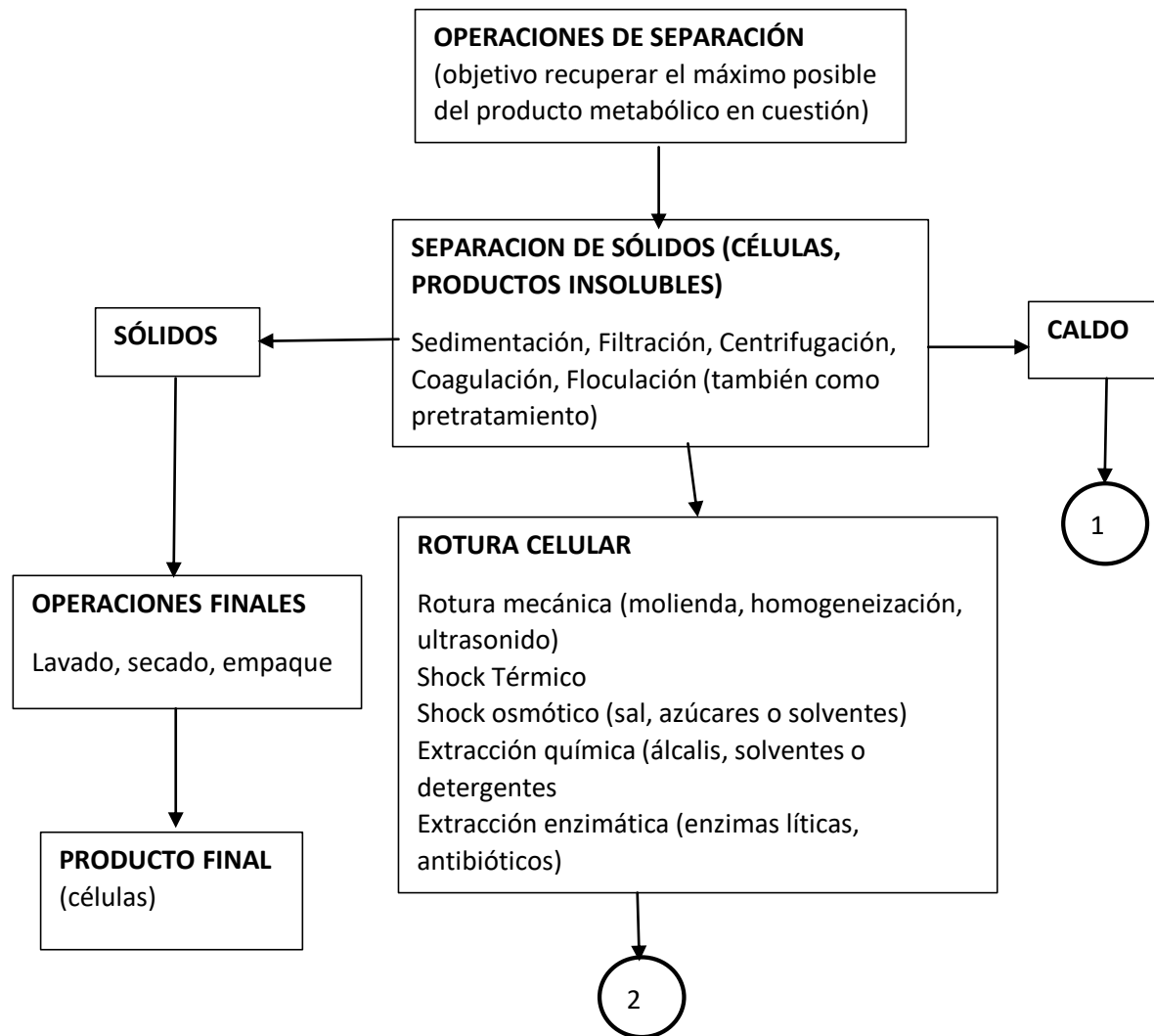
FIG. 20-66 Insulin production flowsheet. [Reproduced from *Bioseparations Science and Engineering*, 2d ed., by Roger C. Harrison, Paul W. Todd, Scott R. Rudge, and Demetri P. Petrides (2015). By Permission of Oxford University Press.]

Producción de anticuerpos monoclonales







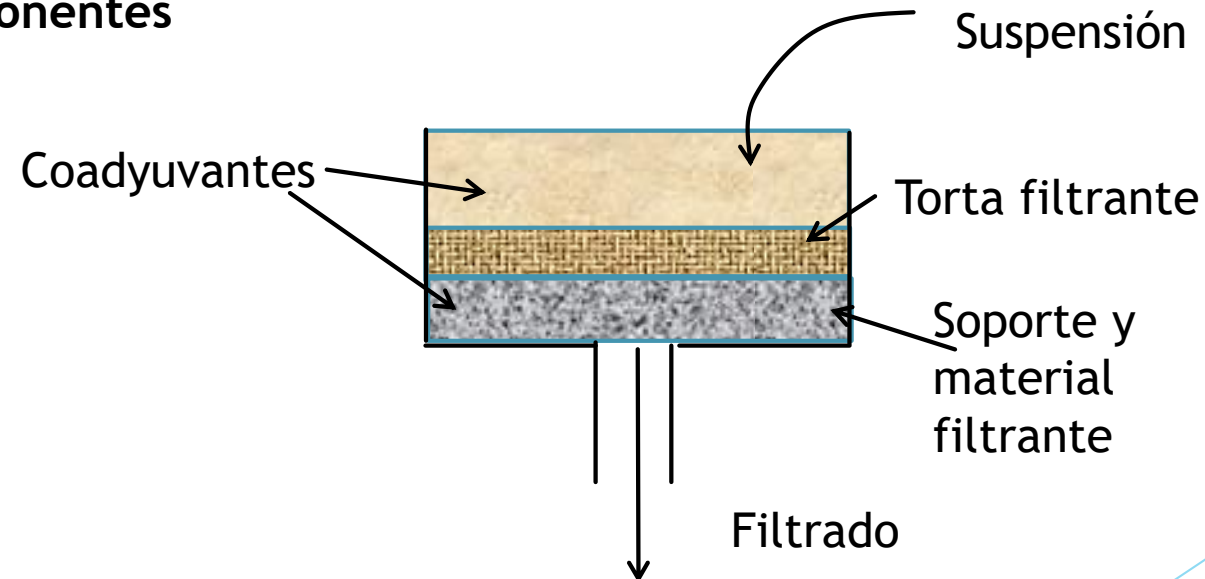


FILTRACION

Bibliografía: Operaciones Unitarias en Ing Química. Mc Cabe-Thiele- Cap 29
Elementos de Ing Química Vian Ocon Cap 14

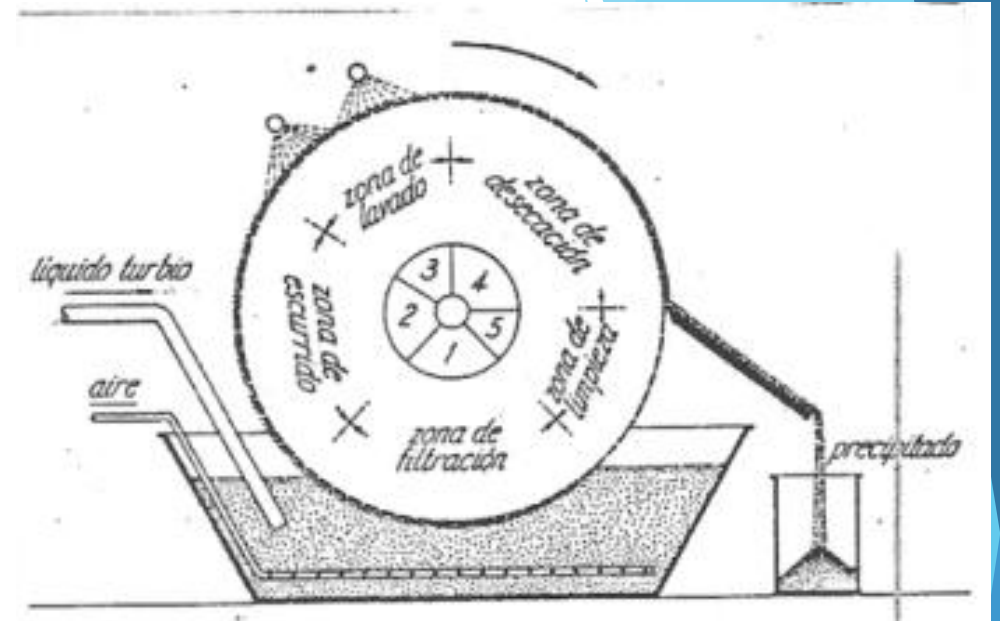
La filtración es la separación de partículas sólidas a partir de un fluido mediante el paso del fluido a través de un medio filtrante o *pared separadora* sobre el que se depositan los sólidos. Las filtraciones industriales van desde un sencillo colado hasta separaciones altamente complejas. El fluido puede ser un líquido o un gas

Componentes



FILTROS

Filtros de vacío



Filtros de presión

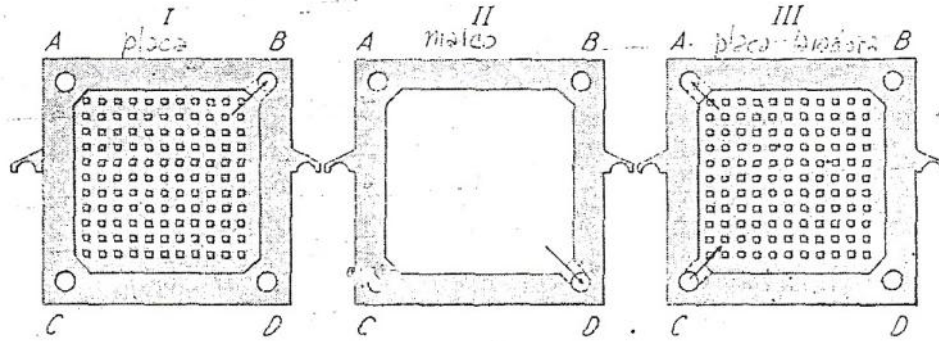
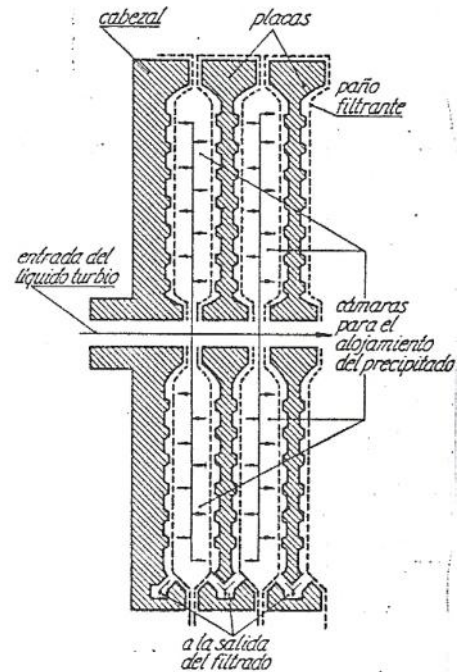
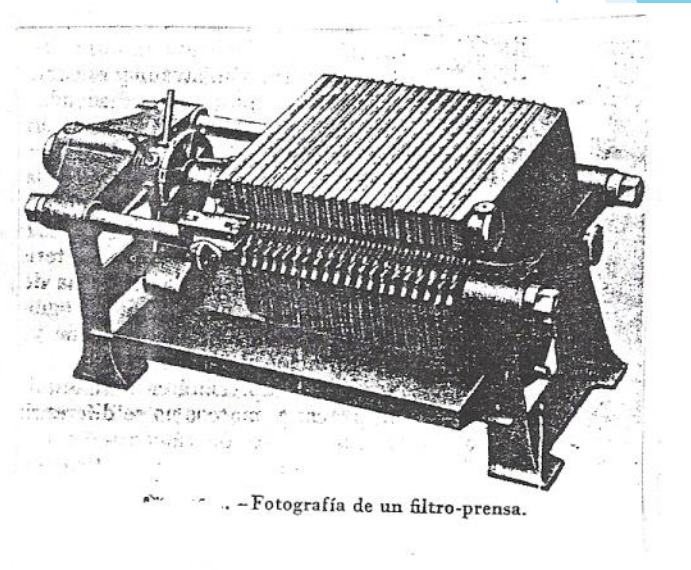


Fig. 17. — Placas I, II y III de un filtro-prensa.
A, canal de salida del filtrado; B, canal de salida del filtrado o del líquido de lavado; C, canal de entrada del líquido de lavado; D, canal de entrada del líquido turbio.



— Filtro-prensa de cámaras.



— Fotografía de un filtro-prensa.

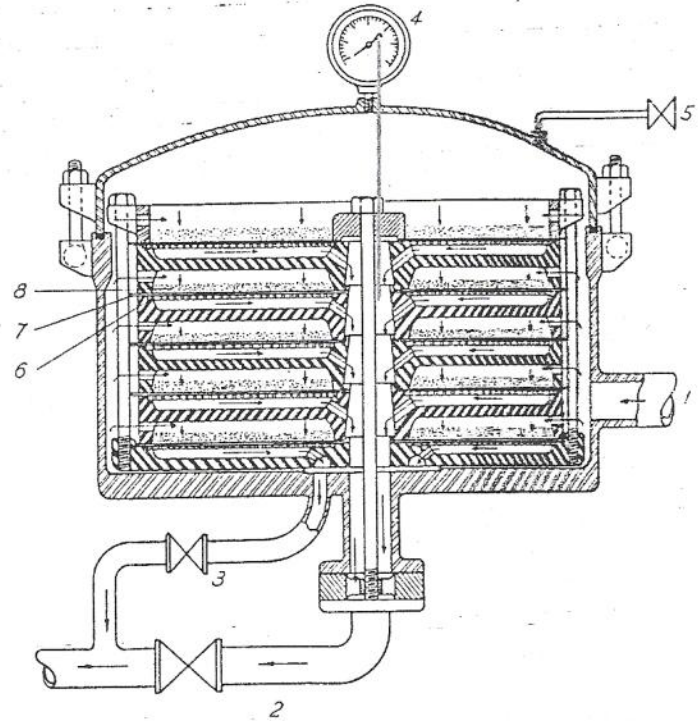
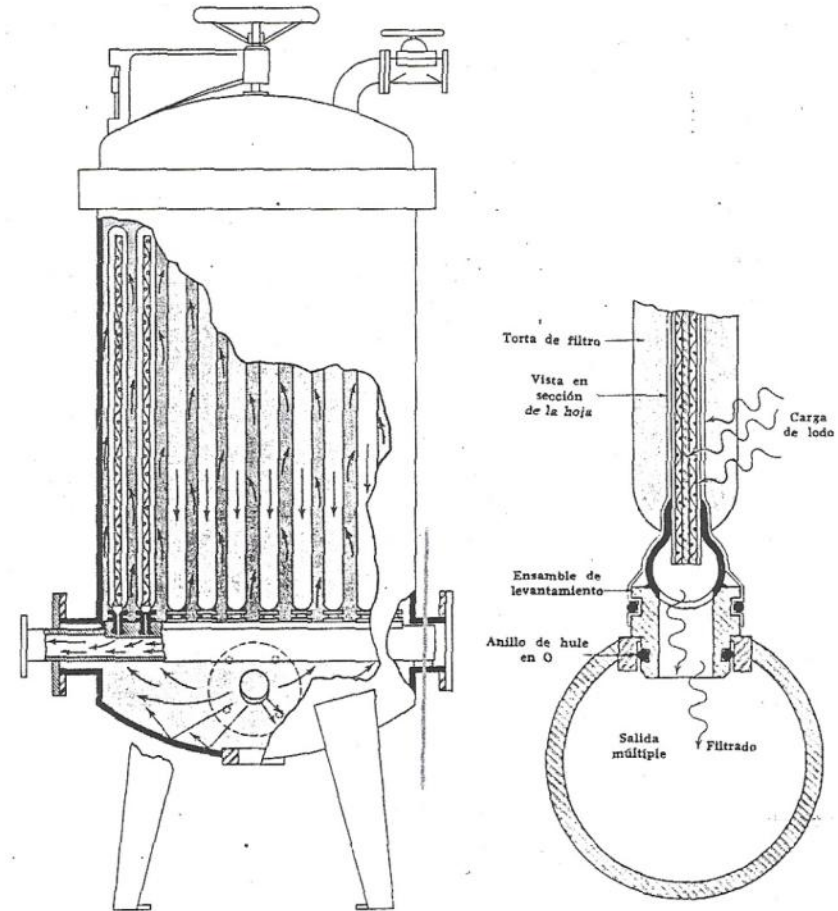


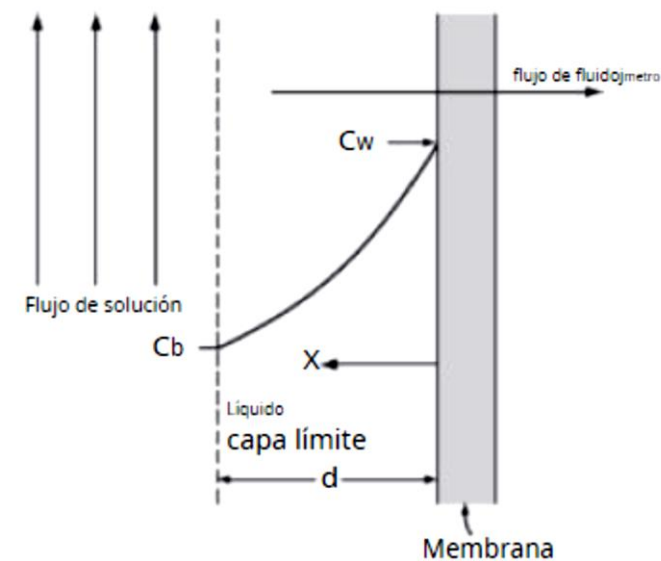
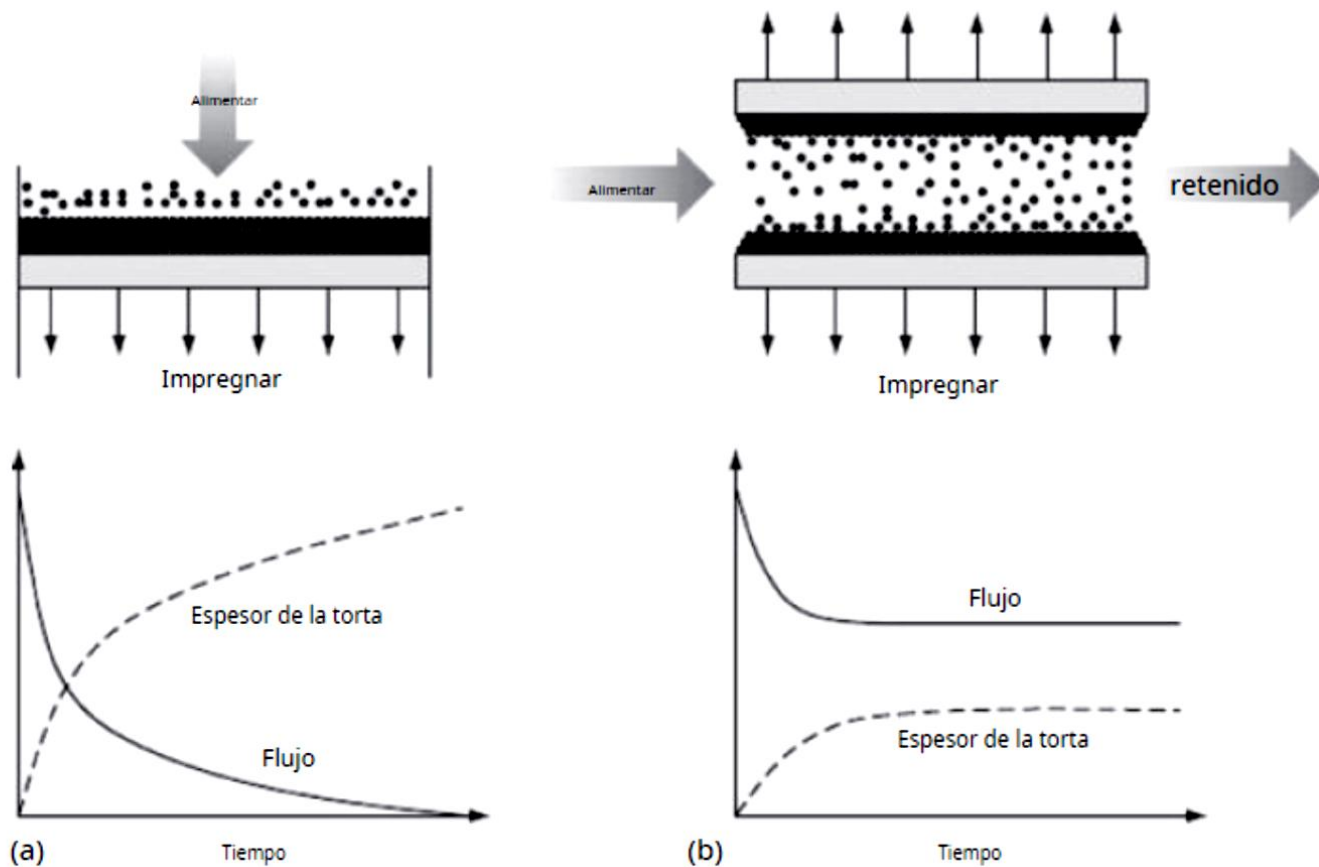
Fig. 1. — Filtro SPARKLE.

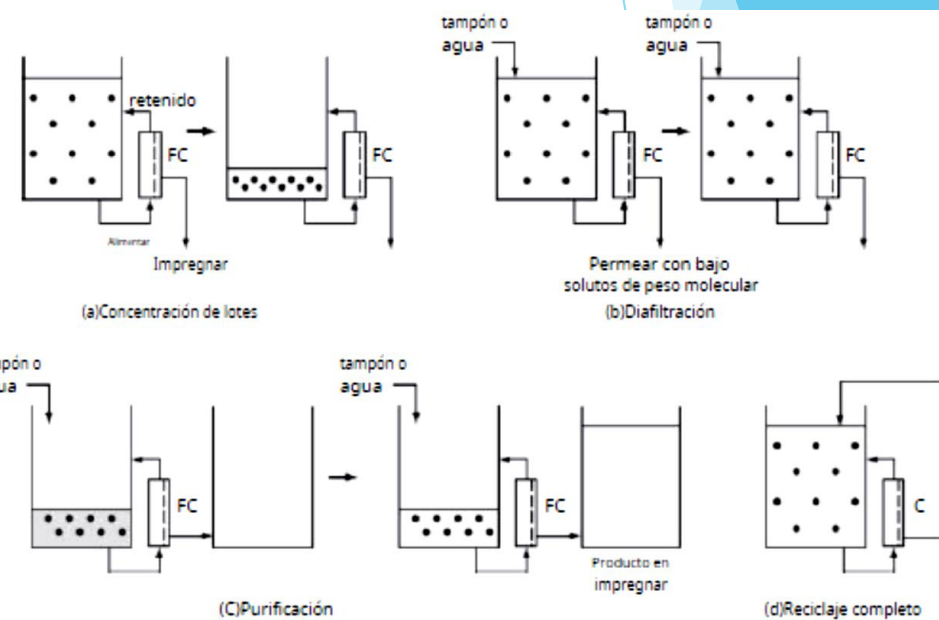
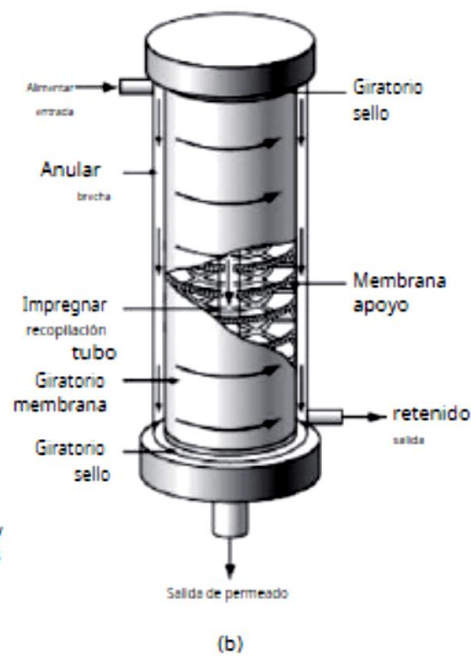
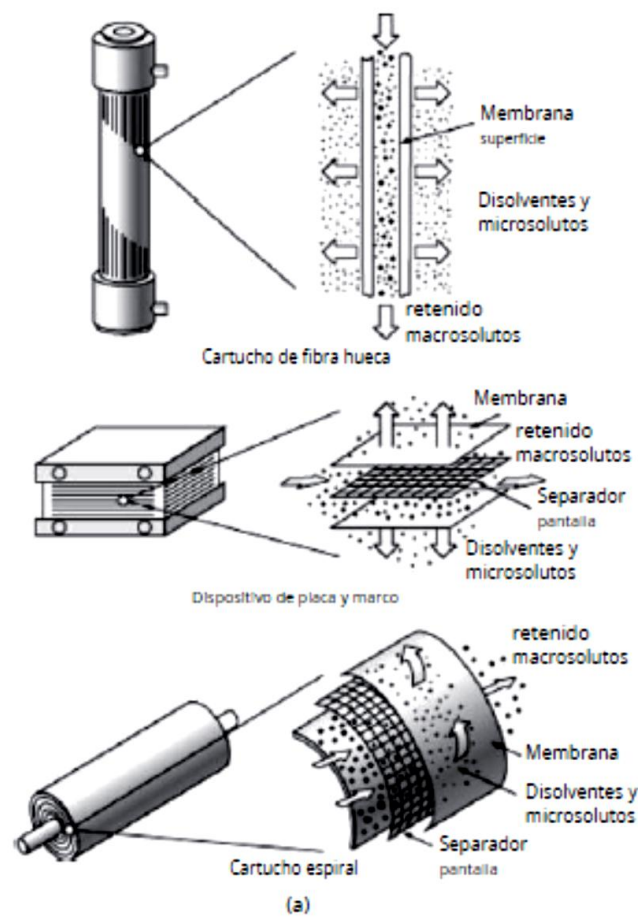
1, entrada del líquido turbio; 2, salida de filtrado; 3, salida independiente para el filtrado del plato inferior (de agotamiento); 4, manómetro; 5, purga de aire; 6, plato perforado (soporte del material filtrante); 7, material filtrante; 8, torta de precipitado.



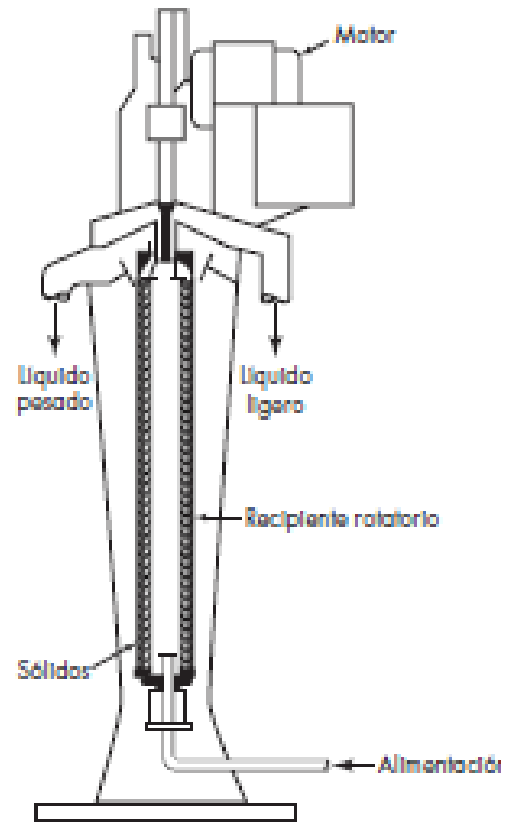
Vista del corte de un filtro de hojas vertical, y diagrama seccional que muestra la construcción de la hoja filtrante. (Cortesía de Industrial Filter & Pump Mfg. Co)

Filtración y filtración de flujo tangencial

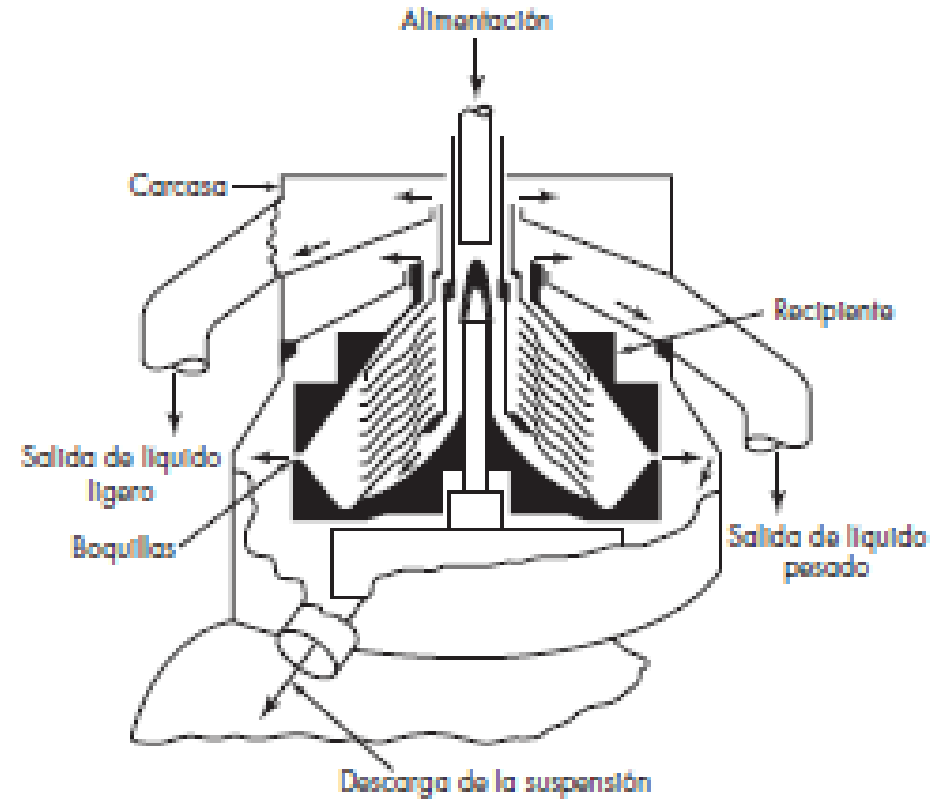




SEDIMENTADORES CENTRÍFUGOS: CENTRÍFUGAS

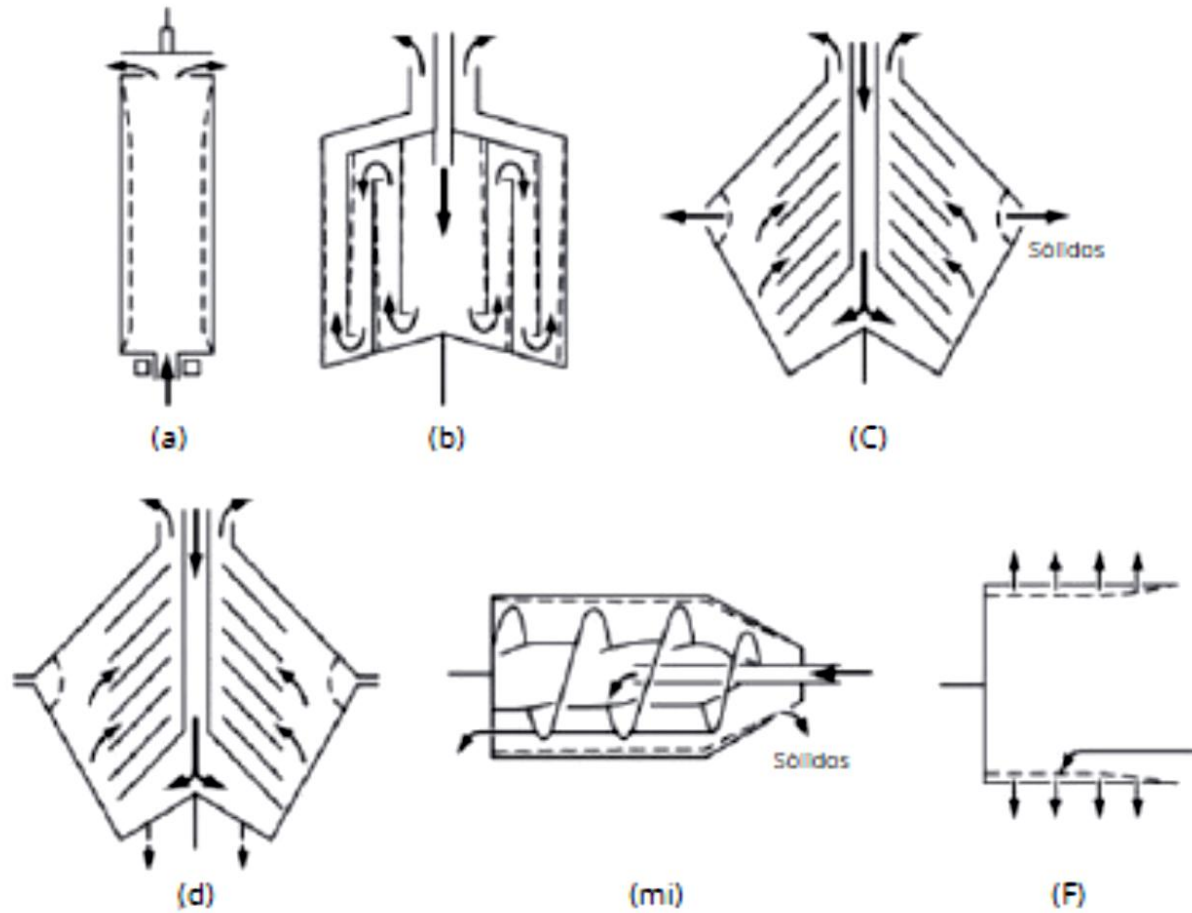


Cilindro de eje
vertical



Centrífuga de discos

Sedimentación y centrifugación



Teoría de la sedimentación aplicada a las centrífugas

Velocidad terminal

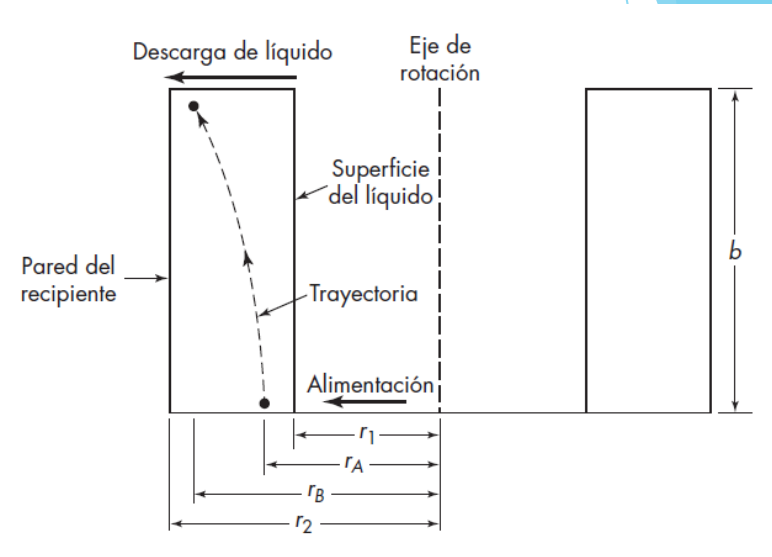
$$u_t = \frac{\omega^2 r (\rho_p - \rho) D_p^2}{18\mu}$$

Tiempo de residencia

$$t_T = \frac{18\mu}{\omega^2 (\rho_p - \rho) D_p^2} \ln \frac{r_B}{r_A}$$

Tiempo de residencia = Volumen/Caudal

$$\text{Caudal } q = \frac{\pi b \omega^2 (\rho_p - \rho) D_p^2}{18\mu} \frac{r_2^2 - r_1^2}{\ln(r_B/r_A)}$$



Se puede definir el *punto de corte* como el diámetro de la partícula que justamente alcanza la mitad de la distancia entre r_1 y r_2 .

Flujo volumétrico diámetro de corte

$$q_c = \frac{\pi b \omega^2 (\rho_p - \rho) D_{pc}^2}{18\mu} \frac{r_2^2 - r_1^2}{\ln[2r_2/(r_1 + r_2)]}$$

$$q_c = \frac{2V u_t}{s} = \frac{2V D_p^2 (\rho_p - \rho) \omega^2 r_2}{18\mu s}$$

$$u_t = \frac{D_p^2 (\rho_p - \rho) \omega^2 r_2}{18\mu}$$

Ruptura celular y separación del extracto celular

La ruptura celular se lleva a cabo mediante uno de tres tipos de procedimientos: ruptura mecánica, ruptura no mecánica o una combinación de ruptura mecánica y no mecánica.

La ruptura mecánica mediante molienda o molienda con perlas cerámicas abrasivas es uno de los métodos de desintegración más comunes y exitosos a gran escala. Un tambor parcialmente lleno con perlas y suspensión de células gira sobre un eje horizontal (típicamente a 6000 rpm) y las células se rompen por abrasión y desgaste cuando entran en contacto con las perlas.

La homogeneización a alta presión es otro método muy utilizado de ruptura mecánica de células, que en la mayoría de los casos se puede escalar, manteniendo buenas eficiencias. Aquí la suspensión celular se fuerza a través de una válvula estrecha a alta presión (hasta 10^5 kPa) donde las fuerzas de corte rompen las células.

Otros medios de ruptura mecánica están restringidos al uso a escala de laboratorio. Por ejemplo, el ultrasonido, un método rápido y eficaz de ruptura celular utilizado ampliamente en aplicaciones a escala de laboratorio, no es adecuado para operaciones a gran escala. Durante la sonificación, aproximadamente 20 Hz se traducen en oscilaciones de una punta de titanio, creando así microburbujas. La implosión de las microburbujas provoca ondas de choque que provocan cambios de presión que rompen las células.



La ruptura no mecánica incorpora metodologías físicas, químicas y biológicas. El método físico más común se basa en inducir un cambio de fase en la suspensión celular. Una suspensión de células congeladas se empuja a través de un orificio, lo que produce cambios de presión y temperatura que inducen un cambio en la fase y, correspondientemente, en la estructura cristalina. Los cambios en la estructura cristalina provocan la ruptura celular. Generalmente este método es adecuado sólo para aplicaciones a pequeña escala.

Otros métodos físicos incluyen la ruptura de las paredes celulares mediante choque osmótico utilizando tampones, disolventes o azúcares o choque térmico durante el cual los cristales de hielo rompen las células

La ruptura celular química y biológica, aunque eficaz, tiene una aplicabilidad limitada.

Una vez que las células se destruyen, los restos celulares aún deben eliminarse del extracto celular. Se emplean operaciones de separación sólido-líquido como centrifugación o filtrado

Precipitación

La precipitación se utiliza principalmente para la concentración y separación de una mezcla de proteínas de otros productos o para la separación de diferentes proteínas, en cuyo caso se denomina precipitación fraccionada.

Sin embargo, en el contexto del procesamiento biológico, la precipitación no se utiliza en el sentido convencional como en la precipitación de estructuras cristalinas. Más bien, se refiere a la precipitación de una masa amorfa que tiene una solubilidad reducida en relación con los otros componentes en solución.

La precipitación se puede inducir de varias maneras. Si la actividad biológica de la proteína no es un factor, la precipitación se puede inducir mediante la desnaturalización de la proteína mediante un aumento de la temperatura o un cambio de pH.

Si se debe mantener la actividad biológica, la precipitación se puede llevar a cabo mediante la adición de una sal o, menos frecuentemente, mediante la adición de polímeros no iónicos, polielectrolitos, disolventes miscibles en agua o iones metálicos. La precipitación de la sal, tradicionalmente denominada técnica de "salado", se lleva a cabo más comúnmente mediante la adición de sulfato de amonio debido al amplio rango de solubilidad y al bajo coste de esta sal, aunque también se utilizan en menor medida fosfato de potasio y sodio

Extracción de líquidos

La extracción con solventes es la operación de extracción líquida mejor establecida; esto depende de la solubilidad preferencial del producto en una fase orgánica añadida, inmisible con la fase acuosa.

La eficiencia de la extracción con solventes, medido en términos de un coeficiente de distribución que relaciona las concentraciones del soluto en las diferentes fases, depende en gran medida de la idoneidad del disolvente. Un coeficiente de distribución alto indica una solubilidad preferencial en el disolvente y, por tanto, una buena separación.

La extracción con solvente con acetato de amilo como solvente se ha utilizado con éxito para recuperar penicilina

CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS Y ADSORCIÓN

La cromatografía se lleva a cabo en una columna que contiene un adsorbente sólido como fase estacionaria y un disolvente que contiene el soluto que se mueve a través de la columna como fase móvil. Los solutos se distribuyen entre las fases móvil y estacionaria según sus características de equilibrio específicas. Estos se describen mediante isothermas de adsorción que relacionan la concentración de soluto en la fase móvil con la concentración de soluto en la superficie del adsorbente.

La separación cromatográfica se realiza en varios pasos. Inicialmente, el adsorbente de la columna se carga con solutos de la fase móvil. Cuando aparece el primer soluto en el eluyente, se detiene la carga y el o los solutos adsorbidos se eluyen con el eluyente apropiado.

Se encuentran disponibles varios tipos de separación cromatográfica. Estos dependen del tipo de adsorción entre el soluto y las fases estacionarias. En el más simple de ellos, la cromatografía de adsorción, la adsorción del soluto se produce mediante fuerzas débiles de Van der Waals. La no especificidad de los enlaces de Van der Waals limita la aplicabilidad de este método principalmente a procesos de tipo biorremediación donde el objetivo final es la eliminación de todos los componentes de la corriente .

Las otras técnicas cromatográficas (intercambio iónico, gel y afinidad) se utilizan para la purificación de productos, principalmente cuando se requiere un alto grado de pureza

La cromatografía de intercambio iónico, en la que los solutos cargados se adsorben en resinas aniónicas o catiónicas por fuerzas electrostáticas, dependiendo de la carga del soluto. Las resinas aniónicas tienen iones negativos unidos, mientras que las resinas catiónicas tienen iones positivos

La cromatografía de afinidad es una técnica altamente especializada que se utiliza cuando se requiere una pureza superior para productos de alto costo. Se puede lograr una purificación cien veces mayor en un solo paso y se usa ampliamente para la recuperación de enzimas.

En esta técnica cromatográfica, la columna se rellena con ligandos unidos covalentemente sobre un soporte sólido como poliacrilamida, agarosa o celulosa, donde los ligandos tienen una afinidad muy específica por el soluto de modo que, al unirse con el ligando, el soluto quedará retenido. en la columna.

La cromatografía en gel, también llamada filtración en gel, separa los solutos según la exclusión por tamaño. Las perlas de gel porosas con tamaños de poro controlados, hechas de polisacáridos como el dextrano o las poliacrilamidas, permiten que moléculas más pequeñas penetren en los poros de las perlas. Los solutos más grandes son los que menos penetran en los poros y, por tanto, son transportados hasta el extremo más alejado de la columna.

Electroforesis

Finalmente, la electroforesis se puede utilizar para separar moléculas de diferentes cargas pero se utiliza exclusivamente para separar diferentes proteínas a pequeña escala. Básicamente, se aplica una carga eléctrica a los extremos de una columna que contiene macromoléculas cargadas (por ejemplo, proteínas) en un fluido o gel (por ejemplo, agar o poliacrilamida). Como las proteínas tienen cargas netas, se moverán dentro del gel hasta el final de la carga opuesta a una velocidad proporcional a la magnitud de su carga. De esta forma, las proteínas se acumularán en diferentes posiciones del gel.

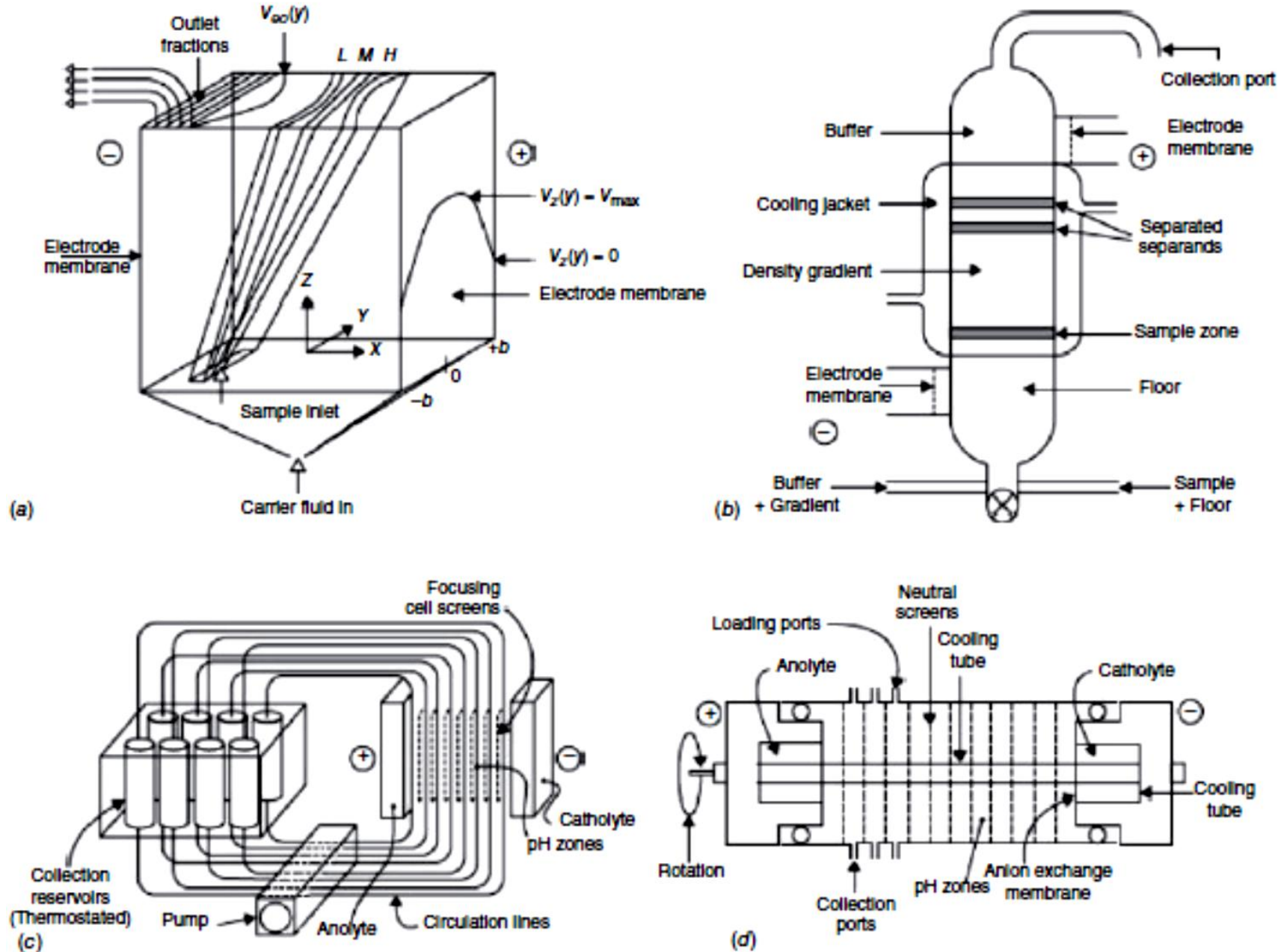


FIG. 20-78 Schematic drawings of four methods of preparative electrokinetic separation. (a) free-flow electrophoresis (FFE), (b) density-gradient electrophoresis (DGE), (c) recycling free-flow isoelectric focusing (RIEF), and (d) rotating isoelectric focusing (Rotofor). In (a), separand concentration trajectories are denoted for low- (L), medium- (M), and high- (H) mobility separands. [Reproduced from *Bioseparations Science and Engineering*, 2d ed., by Roger C. Harrison, Paul W. Todd, Scott R. Rudge, and Demetri P. Petrides (2015). By Permission of Oxford University Press.]

BIOSEPARACIONES MAGNÉTICAS

La captura magnética es un método potente y altamente selectivo para recolectar compuestos presentes en baja abundancia en una suspensión o solución altamente mezclada utilizando perlas magnéticas mediante una adsorción por afinidad. Una vez que un compuesto ha reaccionado con las perlas magnéticas mediante una mezcla extensiva, las mismas son capturadas y retenidas por una fuerza magnética para que todos los demás componentes puedan enjuagarse, de forma similar a un paso de lavado por centrifugación. El principio general no es diferente al de la cromatografía de afinidad, en la que las moléculas de ligando se fijan, generalmente mediante reacciones covalentes, a microesferas de polímero (o nanopartículas) que contienen óxido de hierro (del 3 al 80 por ciento en masa). Ejemplos de moléculas de ligando incluyen ácidos nucleicos, glicoconjugados, avidina y, con mayor frecuencia, anticuerpos. Los reactivos magnéticos se han fabricado para varios propósitos, y sus tamaños ahora varían desde unos 20 nm hasta 10 μm de diámetro. Si bien la mayoría son esféricas, algunas pueden tener una forma irregular, especialmente si el contenido de óxido de hierro es alto.

Separaciones magnéticas.

- El papel de la densidad de flujo magnético y el gradiente ∇B en la aplicación de una fuerza ponderomotriz (que causa movimiento) a una partícula magnéticamente susceptible (representada como un círculo con una flecha que lo atraviesa). La flecha que atraviesa la partícula representa la polarización de la magnetización M .
- La configuración general de una nanopartícula o micropartícula de reactivo magnético que muestra un núcleo susceptible, un recubrimiento de material no susceptible, una molécula reactiva al enlazador y un ligando externo para reaccionar con separandos con alta especificidad
- Funcionamiento de un separador de columna (en equilibrio) que muestra una columna de bolas de acero o lana metálica susceptible, en la que se adsorben los agentes magnéticos y de la que se desorben para la recolección por lotes mediante la eliminación del campo magnético.
- Funcionamiento de un separador cilíndrico de flujo (de velocidad) con núcleo y divisores de entrada y salida, que muestra la extracción de reactivos magnéticos de un flujo anular paralelo interno a uno externo para la recolección continua de separandos.

