

Fundamentación:

En los últimos años, la problemática bio-separativa ha cobrado relevancia debido a la creciente necesidad de disponer de grandes cantidades de moléculas de origen biológico en diferentes procesos productivos. Entre dichas biomoléculas podemos mencionar a las enzimas, antioxidantes, surfactantes y pigmentos, como los de mayor interés biotecnológico. Al presente, la obtención de estas biomoléculas se realiza a partir de dos fuentes principales. Por un lado, muchas de ellas se están expresando en microorganismos, vegetales o insectos empleando herramientas de la ingeniería genética. Por otro lado, y en un contexto global de mayor cuidado del medioambiente, también se está impulsando la recuperación de biomoléculas de interés comercial a partir de desechos/subproductos industriales como orujo de uva, desodorizado de aceite de soja, tejidos animales, entre otros. Todos los ejemplos mencionados son sistemas complejos desde donde debe aislarse la molécula blanco con variado grado de pureza, que depende de su aplicación final. Asimismo, es importante remarcar que el proceso total de recuperación de dichas biomoléculas puede representar hasta el 60% de su costo final. En este contexto, el conocimiento de diferentes metodologías de purificación aplicables a macro-escala provee al alumno de herramientas útiles y potencialmente utilizables en su desarrollo profesional.

Objetivos generales:

Proveer al alumno de herramientas útiles para su desarrollo profesional, como lo son las diferentes metodologías de purificación de biomoléculas, potencialmente aplicables a escalas industriales.

Unidades temáticas:

Unidad 1: Bioseparación: proceso de recuperación (downstream processing) de biomoléculas. Métodos a macroescala. Variables del proceso. Fuentes de obtención: microbianas, animales, vegetales, residuos o subproductos industriales. Preparación de extractos crudos: métodos.

Unidad 2: Interacción del agua y cosolventes con proteínas. Teoría de Timasheff. Parámetros de unión e interacción preferencial. Exclusión, unión preferencial de cosolventes. Precipitantes, agregantes y estabilizantes de macromoléculas. Efecto de las sales sobre solubilidad de proteínas: aspectos termodinámicos.

Unidad 3: Precipitación de proteínas. Agentes precipitantes. Precipitación salina, con solventes. Ventajas, desventajas. Fraccionamiento proteico.

Unidad 4: Extracción líquido-líquido con sistemas bifásicos acuosos. Ventajas, desventajas. Formación de sistemas bifásicos acuosos. Diagramas binodiales: interpretación y manejo. Preparación de sistemas bifásicos acuosos. Factores que afectan el coeficiente de reparto. Diseño de una estrategia de purificación.

Unidad 5: Interacción bioespecífica molécula-ligando. Clasificación de ligandos. Factores que afectan el reparto de afinidad. Modelo termodinámico. Aplicaciones de bioligandos. Integración del reparto de afinidad con otras técnicas separativas. Aplicaciones a sistemas biológicos para la optimización de la extracción.

Unidad 6: Formación de complejos polielectrolitos-proteínas: Definición y clasificación de polielectrolitos. Modelos binarios y terciarios; modelos con $e > 1$ y $e < 1$. Precipitación con polielectrolitos: Aplicaciones Biotecnológicas de los complejos PE-P. Caracterización la formación del y la disolución del complejo insoluble complejo. Dependencia de las variables del medio. Evaluación el estado conformacional de la proteína unida al polímero. Descripción de las técnicas más empleadas para estudiar los complejos proteínas-polielectrolitos. Aplicación de la metodología de precipitación con polielectrolitos a un sistema biológico de interés. Diseño del método.

Unidad 7: Formación de matrices poliméricas. Definición y clasificación de las diferentes matrices. Modelos de adsorción/desorción. Factores que afectan la adsorción de proteínas. Aplicación de dicha metodología en la purificación de biomoléculas a partir de una un sistema biológico complejo.

Unidad 8: Surfactantes. Clasificación. Sistemas de dos fases acuosas micelares. Temperatura de separación de fases. Factores que afectan el reparto de biomoléculas.

Trabajos prácticos de Laboratorio

- 1) Diagramas binodiales: interpretación y manejo.
- 2) Determinación del coeficiente de reparto (K_r) de polifenoles mediante extracción líquido-líquido.
- 3) Precipitación de alfa amilasa con polielectrolitos.
- 4) Mecanismo de adsorción de tripsina a matrices esféricas de polímeros.