

SÍNTESIS QUÍMICA DE ADSORBENTES DE INTERCAMBIO ANIÓNICO USANDO ÁCIDO γ GUANIDINIO BUTÍRICO COMO LIGANDO PARA LA SEPARACIÓN DE PROTEÍNAS.

David S. Castelán-Gálvez, Jesús A. Valencia-Gallegos, José González-Valdez, Marco A. Mata-Gómez, Tecnológico de Monterrey, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Puebla, Pue., 72453, mmatag@tec.mx

Palabras clave: cromatografía de intercambio iónico, ácido γ guanidinio butírico, adsorbente.

Introducción. Debido a las ventajas que presenta, la cromatografía es la mejor operación unitaria o técnica biotecnológica para separar proteínas tanto a nivel laboratorio como en escalas industriales. Por ende, el desarrollo de nuevos adsorbentes cromatográficos es de vital importancia para obtener bioseparaciones más eficientes. La incorporación de nuevos ligandos para generar mejores materiales adsorbentes es una práctica que está aumentando en el mercado y es de interés para la comunidad científica (1,2). En este contexto, la cromatografía de intercambio iónico (IEXC, por sus siglas en inglés), basada en la interacción electrostática entre un ligando y la biomolécula, es de gran importancia en los primeros pasos de un proceso de purificación para aislar y concentrar la proteína de interés y la selección de un ligando adecuado en el soporte es de suma importancia para lograr los objetivos del proceso (2,3). Este soporte debe brindar una alta capacidad de adsorción para tener un proceso eficiente, además de purificar la proteína de interés sin dañar su estructura y función biológica. En IEXC también es importante que el ligando permita que el proceso cromatográfico opere en un amplio rango de pH (3,4). Razón por la cual es importante seleccionar un ligando con valor elevado de pKa para intercambio aniónico, como es el caso del guanidinio (Gnd).

El propósito de este trabajo fue, sintetizar un nuevo adsorbente novedoso usando ácido γ -guanidinio butírico como ligando de intercambio aniónico y evaluar su desempeño en la separación de proteínas.

Metodología. Para la síntesis química del adsorbente, el soporte PRAESTO Pure-45 (Purolite, Life Sciences) se modificó con dos reacciones. Primero se unió el Bis-MPA a la resina y posteriormente se esterificó el ácido γ -guanidinio butírico al Bis-MPA ligado al resina, de acuerdo a la metodología descrita anteriormente (3). La nueva resina con guanidinio (R-Gnd) se caracterizó químicamente con espectrofotometría de UV-Visible. Se realizaron pruebas de adsorción en modo batch usando una concentración de 90 mg BSA/ ml para observar el desempeño de la resina.

Resultados. En el análisis UV-Visible de la resina R-Gnd el perfil de la banda ancha entre 190 y 240 nm, el cual no está presente en el espectro de UV-Visible de la resina sin modificar, coincide con el perfil de absorción del guanidinio solo, indicando la presencia de este grupo en la resina (Fig. 1). Esto demuestra que la síntesis química se llevo a cabo bajo las condiciones de reacción empleadas.

Adicionalmente, en la Tabla 1 se observa que a mayor cantidad de guanidinio en la mezcla de reacción, mayor es la capacidad de adsorción logrando adsorber hasta 91.7 mg de BSA/ml de resina cuando se usaron 400 mg de guanidinio.

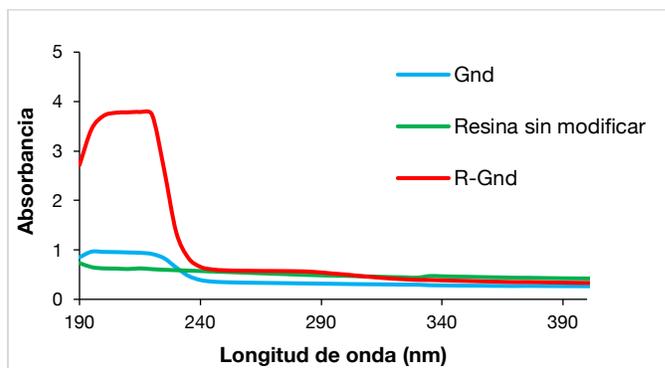


Fig. 2. Análisis de UV-Visible

Tabla 1. Capacidad de adsorción de la resina R-Gnd sintetizada con diferentes cantidades de Guanidinio.

Ácido γ -guanidinio butírico (mg)	Adsorción (mg de BSA/ml de resina)
20	21.65
200	37.28
400	91.69

Conclusiones. Se desarrolló un nuevo adsorbente cromatográfico funcional usando guanidinio como ligando de intercambio aniónico. Los resultados del análisis de UV-Visible confirmaron la presencia del guanidinio. La resina mostró una adsorción de 91.7 mg de BSA/ml de resina. Es importante mencionar que hasta ahora se ha logrado sintetizar una nueva resina funcional. Posteriores estudios incluyen tratar de aumentar la capacidad de adsorción así como evaluar el efecto del pH en el desempeño de la resina.

Agradecimientos. Los autores agradecen al CONACyT por la beca No. 884771 y al CONCYTEP por el financiamiento otorgado a través del programa de Estímulos la Investigación para Doctoras y Doctores 2017.

Bibliografía.

- Dhamane S *et al.* (2014). *J Chromatogr A.* 1324: 135–140.
- Li X, Liu Y & Sun Y (2017). *Biochem Eng J.* 126: 50–57.
- Mata-Gómez MA *et al.* (2016). *J Chromatogr A.* 1443: 191–200.
- Grasselli M *et al.* (2015). Procesos adsorbtivos: cromatografía. En: *Proteínas puras. Entre el laboratorio y la industria.* Grasselli M (ed), Universidad Nacional de Quilmes Editorial, Argentina. pp 133-160.