
UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

Second Semester Examination
Academic Session 2008/2009

April/May 2009

**EKC 376 – Downstream Processing of Biochemical and
Pharmaceutical Products**
[Proses Hiliran Untuk Produk Biokimia dan Farmaseutikal]

Duration : 3 hours
[Masa : 3 jam]

Please check that this examination paper consists of SIX pages of printed material before you begin the examination.

[Sila pastikan bahawa kertas peperiksaan ini mengandungi ENAM muka surat yang bercetak sebelum anda memulakan peperiksaan ini.]

Instruction: Answer **FOUR** (4) questions. Section A is **COMPULSORY** (1).
Answer **THREE** (3) questions from Section B.

Arahan: Jawab **EMPAT** (4) soalan. Bahagian A **WAJIB** (1) dijawab. Jawab **TIGA** (3) soalan dari Bahagian B.]

You may answer the question either in Bahasa Malaysia or in English.

[Anda dibenarkan menjawab soalan sama ada dalam Bahasa Malaysia atau Bahasa Inggeris.]

Section A : Question No. 1 is COMPULSORY.

Bahagian A : Soalan No.1 WAJIB dijawab.

1. [a] How do Good Practices regulations correlate to the development of a drug, starting from basic research through the manufacturing stage? Explain your answer with the aid of a diagram.

1. [a] Bagaimanakah peraturan amalan baik dikaitkan dengan pembangunan sesuatu ubat, bermula daripada penyelidikan asas kepada peringkat pembuatan? Terangkan jawapan anda dengan bantuan gambarajah.

[12 marks/markah]

[b] [i] Explain four examples of techniques used for releasing intracellular products from microorganisms.

[b] [i] Terangkan empat contoh teknik-teknik yang digunakan untuk mengeluarkan produk-produk intrasel daripada mikroorganisma.

[8 marks/markah]

[ii] Arrange the following cells in the order of ease at which they can be broken up (most difficult one first) and explain why this is so:

- (a) plant cells
- (b) bacteria
- (c) animal cells
- (d) yeasts
- (e) filamentous moulds/fungi

[ii] Susunkan sel-sel berikut dengan mengikut aturan yang paling sukar dipecahkan dahulu dan terangkan mengapa ini berlaku:

- (a) sel-sel tumbuhan
- (b) bakteria
- (c) sel-sel haiwan
- (d) yis
- (e) kulat

[5 marks/markah]

Section B : Answer any **THREE** questions.

Bahagian B : Jawab mana-mana **TIGA** soalan.

2. [a] What is the difference between concentration polarization and fouling in membrane separation? Describe concentration polarization in more detail.
2. [a] *Apakah perbezaan di antara pengutuban kepekatan dan kotoran dalam pemisahan membran? Terangkan pengutuban kepekatan dengan lebih terperinci.*

[10 marks/markah]

- [b] A 30 ml sample of broth from a penicillin fermentation is filtered in the laboratory on a 3 cm² filter at a pressure drop of 5 psi. The filtration time is 4.5 min. Previous studies have shown that filter cake of *Penicillium chrysogenum* is significantly compressible with $s = 0.5$. If 500 litres broth from a pilot-scale fermenter must be filtered in 1 hour, what size filter is required if the pressure drop is :

- [b] *30 ml sampel daripada kaldu penapaian penisilin telah dituras di dalam makmal dengan menggunakan 3 sm² penuras pada susutan tekanan 5 psi. Masa penurasan ialah 4.5 minit. Kajian terdahulu menunjukkan bahawa kek turas 'Penicillium chrysogenum' adalah boleh mampat dengan $s = 0.5$. Jika 500 liter kaldu daripada penapai skala pandu perlu dituras dalam masa 1 jam, apakah saiz penuras yang diperlukan jika susutan tekanan ialah :*

- [i] 10 psi

[6 marks/markah]

- [ii] 5 psi

[6 marks/markah]

Resistance due to the filter medium is negligible. Comment on the relationship of pressure drop to the size of filter needed for this filtration process.

Rintangan disebabkan bahantara penuras adalah diabaikan. Komenkan hubungkait susutan tekanan dengan saiz penuras yang diperlukan untuk proses penurasan ini.

[3 marks/markah]

Information:

Maklumat:

$$\frac{At}{V} = \frac{\mu\alpha\rho_0}{2\Delta P} \left(\frac{V}{A} \right) + \frac{\mu R_M}{\Delta P}$$

$$\frac{At}{V} = K \left(\frac{V}{A} \right) + B$$

$$K = \frac{\mu\alpha\rho_0}{2\Delta P}$$

$$B = \frac{\mu R_M}{\Delta P}$$

$$\alpha = \alpha'(\Delta P)^s$$

...4/-

3. [a] Describe the mechanisms that can lead to peak broadening in chromatography.
3. [a] *Terangkan mekanisma yang akan membawa kepada pelebaran puncak dalam kromatografi.*

[10 marks/markah]

- [b] Fumarase is recovered from solution by precipitation at 6°C by the addition of ammonium sulphate.

- [i] Explain how addition of salts can induce precipitation of protein.
[ii] Why is the temperature kept low?

Preliminary experiments show that at an ionic strength of 5.5 molL⁻¹, the soluble enzyme concentration is 20 units mL⁻¹. At an ionic strength of 6.5 mol L⁻¹, the soluble enzyme concentration is 5 units mL⁻¹. Estimate the soluble enzyme concentration at an ionic strength of 7.5 mol L⁻¹.

- [b] *Fumarase telah diasingkan daripada larutan melalui kaedah pemendakan pada 6°C dengan penambahan ammonium sulfat.*

- [i] *Terangkan bagaimana penambahan garam dapat mengaruh pemendakan protin.*
[ii] *Kenapakah suhunya dikekalkan rendah?*

Ujikaji awal menunjukkan pada kekuatan ionik 5.5 molL⁻¹, kepekatan enzim terlarut ialah 20 unit mL⁻¹. Pada kekuatan ionik 6.5 mol L⁻¹, kepekatan enzim terlarut ialah 5 unit mL⁻¹. Anggarkan kepekatan enzim terlarut pada kekuatan ionik 7.5 mol L⁻¹.

[15 marks/markah]

4. [a] Explain the differences between crystallization and precipitation.

4. [a] *Terangkan perbezaan di antara penghabluran dan pemendakan.*

[5 marks/markah]

- [b] A tubular bowl centrifuge is used to concentrate a suspension of *Bacillus subtilis* prior to cell disruption. The bowl of this unit has an inside radius of 15.5 cm and a length of 80.0 cm. The centrifuge operates at 15000 rpm and the volumetric capacity is 200 liters/h.

- [i] Calculate the settling velocity, v_g for the cells.
[ii] After disruption, the diameter of debris is reduced to half of the original cell diameter and the viscosity is increased three times. Estimate the new capacity of the centrifuge for this operation. Assume that the centrifuge operates at the same speed and efficiency.

- [b] *Pengempar mangkuk tiub digunakan untuk memekatkan ampaiian 'Bacillus subtilis' sebelum pemusnahan sel. Mangkuk unit ini mempunyai jejari dalaman 15.5 sm dan panjang 80.0 sm. Pengempar beroperasi pada 15000 rpm dan kapasiti isipadu ialah 200 liter/jam.*

- [i] *Kirakan halaju penenangan, v_g bagi sel.*

...5/-

- [ii] Selepas pemusnahan sel, diameter serpihan telah berkurangan separuh daripada diameter sel yang asal dan kelikatan bertambah tiga kali ganda. Anggarkan kapasiti baru pengempar untuk operasi ini. Andaikan pengempar beroperasi pada kelajuan dan kecekapan yang sama.

[10 marks/markah]

The following equations may help you to solve this problem:

Persamaan-persamaan berikut dapat membantu anda menyelesaikan masalah ini:

$$v_g = \frac{\rho_p - \rho_f}{18\mu} D_p^2 g \qquad v_c = \frac{\rho_p - \rho_f}{18\mu} D_p^2 \omega^2 r$$

$$Q = v_g \left[\frac{2\pi R^2 \omega^2}{g} \right] \qquad Q = v_g \left[\frac{2\pi m \omega^2}{3g} (R_0^3 - R_1^3) \cot \theta \right]$$

- [c] Cell-free fermentation liquor contains $5 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ immunoglobulin G. It is proposed to recover at least 90% of this antibody by adsorption on synthetic, non-polar resin. Experimental equilibrium data are correlated as follows:

$$C_{AS}^* = 8.0 \times 10^{-5} C_A^{*0.45}$$

where C_{AS}^* is mol solute adsorbed per cm^3 adsorbent and C_A^* is liquid-phase solute concentration in molL^{-1} . What minimum quantity of resin is required to treat 3.5 m^3 fermentation liquor in a single-stage mixed tank?

- [c] Kaldu penapaian bebas sel mengandungi $5 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ immunoglobulin G. Untuk memulihkan sekurang-kurangnya 90% antibodi ini, penjerapan menggunakan resin sintetik dan tidak berpolar adalah dicadangkan. Data keseimbangan eksperimen adalah seperti berikut:

$$C_{AS}^* = 8.0 \times 10^{-5} C_A^{*0.45}$$

C_{AS}^* ialah mol bahan larut terjerap per sm^3 penjerap dan C_A^* ialah kepekatan bahan larut fasa-cecair dalam unit molL^{-1} . Apakah kuantiti minimum resin yang diperlukan untuk merawat 3.5 m^3 kaldu penapaian dalam tangki campuran peringkat tunggal?

[10 marks/markah]

5. [a] You have been given the assignment to purify the antibiotic erythromycin. An extract from the Merck Index gave the following information on the erythromycin:

Hydrated crystals from water, mp $135\text{-}140^\circ\text{C}$, resolidifies with second mp $190\text{-}193^\circ\text{C}$. pKa 8.8. Basic reaction. Readily forms salts with acids. Solubility in water: $\sim 2 \text{ mg/mL}$. Freely soluble in alcohols, acetone, chloroform, acetonitrile, ethyl acetate. Moderately soluble in ether, ethylene dichloride, amyl acetate.

Give the most likely unit operations that should be used for the isolation and the purification of erythromycin. Justify your answers and discuss the equipment of the unit operations chosen.

...6/-

5. [a] *Anda telah diberi satu tugas untuk menuliskan antibiotik 'erythromycin'. Petikan berikut daripada indeks Merck memberikan maklumat tentang 'erythromycin':*

Kristal terhidrat daripada air, takat lebur 135-140°C, pemejalan semula dengan takat lebur kedua 190-193°C. pKa 8.8. Tindakbalas bes. Mudah membentuk garam dengan asid-asid. Kebolehlarutan dalam air: ~2 mg/mL. Mudah larut dalam alkohol, aseton, klorofom, asetonitril, etil asetat. Larut secara sederhana dalam eter, etilena diklorida, amil asetat.

Berikan unit-unit operasi yang perlu digunakan untuk mengasingkan serta menuliskan 'erythromycin'. Berikan sebab-sebab kepada jawapan anda dan bincangkan peralatan bagi unit-unit operasi yang dipilih.

[15 marks/markah]

- [b] *Aqueous two-phase extraction is needed to recover α -amylase from solution. A polyethylene glycol-dextran mixture is added and the solution separates into two phases. The partition coefficient is 4.2. Calculate the maximum possible enzyme recovery when:*

- [i] *the volume ratio of upper to lower phases is 5.0*
[ii] *the volume ratio of upper to lower phases is 0.5*

Comment on how you can enhance the enzyme recovery.

- [b] *Pengekstrakan dua-fasa akuas diperlukan untuk mengasingkan α -amylase daripada larutan. Satu campuran polietilena glikol-dekstran ditambah dan larutan itu terpisah kepada dua fasa. Pekali sekatan ialah 4.2. Kirakan perolehan bagi enzim tersebut semaksimum boleh sekiranya:*

- [i] *nisbah isipadu fasa atas ke fasa bawah ialah 5.0*
[ii] *nisbah isipadu fasa atas ke fasa bawah ialah 0.5*

Komen bagaimana cara untuk meningkatkan perolehan enzim.

[10 marks/markah]