
UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

Second Semester Examination
2009/2010 Academic Session

April/May 2010

**EKC 376 – Downstream Processing Of Biochemical And
Pharmaceutical Products**
[Proses Hiliran Untuk Produk Biokimia Dan Farmaseutikal]

Duration : 3 hours
[Masa : 3 jam]

Please ensure that this examination paper contains SIX printed pages before you begin the examination.

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

Instructions: Answer **ALL** questions.

Arahan: Jawab **SEMUA** soalan.]

In the event of any discrepancies, the English version shall be used.

[Sekiranya terdapat sebarang percanggahan pada soalan peperiksaan, versi Bahasa Inggeris hendaklah digunapakai].

Answer ALL questions.

Jawab SEMUA soalan.

1. [a] Prove mathematically that for weak acid, solvent extraction should be carried out under acidic condition.
Buktikan secara matematik bahawa penyarian pelarut untuk asid lemah harus dijalankan dalam keadaan berasid.
[7 marks/markah]
- [b] List out three important factors to be consider during the selection of suitable solvent system in liquid extraction.
Senaraikan tiga faktor penting yang perlu dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut yang sesuai untuk penyarian cecair.
[3 marks/markah]
- [c] From thermodynamic point of view, suggest how the extraction process could be enhanced. Suggest three methods (other than pH) that could improve the extraction process.
Dari sudut termodinamik, cadangkan bagaimana proses penyarian boleh dipertingkatkan. Cadangkan tiga kaedah yang boleh digunakan untuk meningkatkan proses penyarian.
[3 marks/markah]
- [d] The mechanism of aqueous liquid-liquid extraction involves hydrogen, ionic, hydrophobic and other weak forces. List out Four (4) factors that influence the partition coefficient of solute.
Mekanisma penyarian cecair-cecair melibatkan hidrogen, ionik, hidrofobik dan daya lemah yang lain. Senaraikan Empat (4) faktor yang mempengaruhi pekali sesekat untuk zat terlarut.
[4 marks/markah]
- [e] Fermentation broth enters a continuous mixer settler extraction unit at a flow rate of 50 liters/min. This contains 10 g/L of glutamic acid and its pH has been adjusted to 3.0. Propanol which is used as the extracting solvent enters the extractor at a flow rate of 5 liters/min. At pH 3.0 the equilibrium relationship is given by $C_E = 30C_R$, where C_R and C_E are the glutamic acid concentrations in the raffinate and extract respectively and are expressed in g/L. The organic extract from the first extraction step enters a second continuous mixer settler extraction unit. An aqueous extracting solvent phase at pH 7.0 is fed into this extractor at a flow rate of 5 L/min. At pH 7.0 the equilibrium relationship is given by $C_E = 25C_R$. Calculate:

Air rebusan fermentasi memasuki unit penyarian pengadun pemendap berterusan dengan kadar aliran 50 liter/min. Ia mengandungi 10 g/L asid glutamik dan pH dilaraskan ke 3.0. Propanol yang digunakan sebagai pelarut penyarian memasuki penyarian dengan kadar aliran 5 liter/min. Pada pH 3.0, hubungkait keseimbangan yang diberi ialah $C_E = 30C_R$, di mana C_R dan C_E masing-masing ialah kepekatan asid glutamik dalam rafina dan sari dalam unit g/L. Sari organik dari penyarian pertama memasuki unit penyarian pengadun pemendap kedua. Pelarut penyarian akueous pada pH 7.0 disuap ke dalam penyarian kedua dengan kadar aliran 5 L/min. Pada pH 7.0, hubungkait keseimbangan yang diberi ialah $C_E = 25C_R$. Kira:

[i] The glutamic concentration in the extract and the raffinate of second stage.
Kepekatan glutamik pada sari dan rafina penyarian kedua.
 [6 marks/markah]

[ii] The overall fraction of glutamic acid extracted.
Pecahan keseluruhan asid glutamik yang disarikan.
 [2 marks/markah]

2. [a] Explain briefly the use of G and Σ factor in the scaling up of centrifuges.
Terangkan secara ringkas kegunaan G dan faktor Σ untuk pengskalaan besar pengempar.
 [7 marks/markah]

[b] The following data were obtained for the filtration of yeast in a constant pressure filtration equipment:
Data berikut telah diperolehi untuk penurasan yis dalam alat penuras pada tekanan malar:

t (time, min) t (masa, min)	4	20	48	76	120
V (filtrate, liter) V (cecair turasan, liter)	115	365	680	850	1130

By assuming that the cake is incompressible:
Dengan mengandaikan bahawa kek adalah tidak boleh mampat:

- [i] Determine the pressure drop across the filter.
Tentukan susutan tekanan merentasi penuras.
- [ii] Determine the filter medium resistance.
Tentukan rintangan media penuras.
- [iii] Determine the diameter of the filter for the same pressure drop to process 4000 liter of cell suspension in 20 minutes.
Tentukan diameter penapis pada susutan tekanan yang sama untuk memproses 4000 liter ampaiian sel dalam masa 20 minit.

Information:

Maklumat:

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

$$K = \frac{\mu\alpha\rho_0}{2\Delta P} \quad B = \frac{\mu R_M}{\Delta P} \quad \alpha = \alpha'(\Delta P)^s$$

$$A = 0.28 \text{ m}^2 \quad \rho_0 = 1920 \text{ kg/m}^3 \quad \mu = 2.9 \times 10^{-3} \text{ kg/m}\cdot\text{s} \quad \alpha = 4 \text{ m/kg}$$

[18 marks/markah]

3. [a] Briefly describe reverse phase adsorption. Why reverse phase adsorption is not suitable for macromolecules such as proteins and nucleic acids?

Terangkan secara ringkas penjerapan fasa berbalik. Kenapa penjerapan fasa berbalik tidak sesuai untuk makromolekul seperti protein dan asid nukleik?

[5 marks/markah]

- [b] One of the causes of deterioration of clarified juices of fruits is nonenzymatic browning due to the formation of melanoidins that can be eliminated from the juice by adsorption on activated carbon. The degree of nonenzymatic browning of a juice can be evaluated by measuring its absorbance at a wavelength of 420 nm (A_{420}). In an experimental series at the laboratory, different amounts of activated carbon are mixed with loads of 10° Brix juice (10% (s/w), with 10 grams of sugar per 100 grams of solution), whose A_{420} is 0.646, until reaching equilibrium. [Brix is a measurement of the dissolved sugar-to-water mass ratio of a liquid].

Salah satu punca kemerosotan jus yang disaring ialah pemerangan bukan enzim yang disebabkan oleh pembentukan melanoidins yang boleh disingkirkan daripada jus melalui penjerapan karbon teraktif. Pemerangan bukan enzim jus boleh ditentukan melalui pengukuran jerapan pada panjang gelombang 420 nm (A_{420}). Pada satu siri eksperimen yang dilakukan di makmal, amaun karbon teraktif yang berbeza dicampurkan dengan beban 10° jus Brix (10% (g/a), 10 gram gula per 100 gram larutan) yang mana A_{420} adalah 0.646, sehingga mencapai keseimbangan. [Brix adalah pengukuran nisbah cecair berat bahan larut gula-kepada-air].

Data obtained are given in the following Table Q.3.[b]:
Data yang diperolehi di tunjukkan di Jadual S.3.[b]:

Table Q.3.[b].
Jadual S.3.[b].

A ₄₂₀	0.646	0.532	0.491	0.385	0.288	0.180
B	0.00	0.01	0.02	0.06	0.12	0.26

in which A₄₂₀ is expressed as absorbance/kg of solution, while b is the kg of carbon/kg of solution. Determine:

di mana A₄₂₀ dinyatakan sebagai penyerapan/kg larutan, manakala b adalah karbon/kg larutan. Tentukan:

- [i] the equilibrium isotherm data.
data isoterma keseimbangan.

- [ii] the number of stages required, operating under repeated single contact, if it is desired to decrease the A₄₂₀ of the juice down to a value of 0.200, using in each stage 0.025 kg of carbon per kg.
bilangan peringkat yang diperlukan, beroperasi pada ulangan sentuhan tunggal, jika ia dikehendaki untuk mengurangkan A₄₂₀ jus sehingga ke nilai 0.200, menggunakan 0.025 kg karbon per kg jus Brix pada setiap peringkat.

[14 marks/markah]

- [c] A plasmid was found to have a retention time of 10 minutes in a chromatographic column having a volume of 0.01 m³ and a voidage fraction of 0.3. The distribution coefficient (K) of the plasmid is known to be equal to 2. Calculate the mobile phase retention time and flow rate at which the above separation was carried out. We would like to use the same column-mobile phase system to separate the plasmid from ribonucleic acid (RNA) [which has a capacity factor of 4.66]. Comment on the feasibility.

Satu plasmid mempunyai masa penahanan selama 10 minit pada sebuah turus kromatograf berisipadu 0.01 m³ dan pecahan lompong 0.3. Pekali agihan (K) bagi pasmid tersebut ialah 2. Kirakan masa penahanan bagi fasa gerak dan kadar aliran di mana pemisahan tersebut berlaku. Kita ingin menggunakan sistem turus fasa gerak yang sama untuk memisahkan plasmid daripada asid ribonukleik (RNA) [mempunyai faktor muatan sebanyak 4.66]. Beri komen tentang kemungkinannya.

[6 marks/markah]

4. [a] The initial concentration of the protein was 20 g/liter. At ammonium sulfate concentrations of 0.75 and 1.25 M, the concentrations of the protein remaining in the mother liquor at equilibrium were 15.5 and 7.5 g/liter, respectively. Based on the above information, estimate the ammonium sulfate concentration to give 95% recovery of the protein as precipitate.

Kepekatan awal protein ialah 20 g/liter. Pada kepekatan 0.75 dan 1.25 M untuk ammonium sulfat, kepekatan protein yang tertinggal dalam cairan induk pada keadaan keseimbangan masing-masing adalah 15.5 dan 7.5g/liter. Berdasarkan informasi di atas, anggarkan kepekatan ammonium sulfat yang akan menghasilkan 95% protein pemulihan sebagai mendakan.

[9 marks/markah]

- [b] Name and describe 2 categories of dryers that have been extensively used in industry to dry biological materials.

Namakan dan terangkan 2 kategori pengering yang digunakan secara meluas dalam industri untuk mengeringkan bahan-bahan biologi.

[8 marks/markah]

- [c] Below is a penicillin production route. Identified the bioseparation process based on the RIPP scheme. Outline a method for each RIPP scheme and suggest the properties used in the separation.

Di bawah adalah satu laluan pengeluaran penisilin. Kenalpasti proses biopemisahan tersebut berdasarkan skim RIPP. Gariskan setiap kaedah yang digunakan untuk skim RIPP tersebut dengan mencadangkan ciri-ciri yang digunakan dalam pemisahan.

[8 marks/markah]

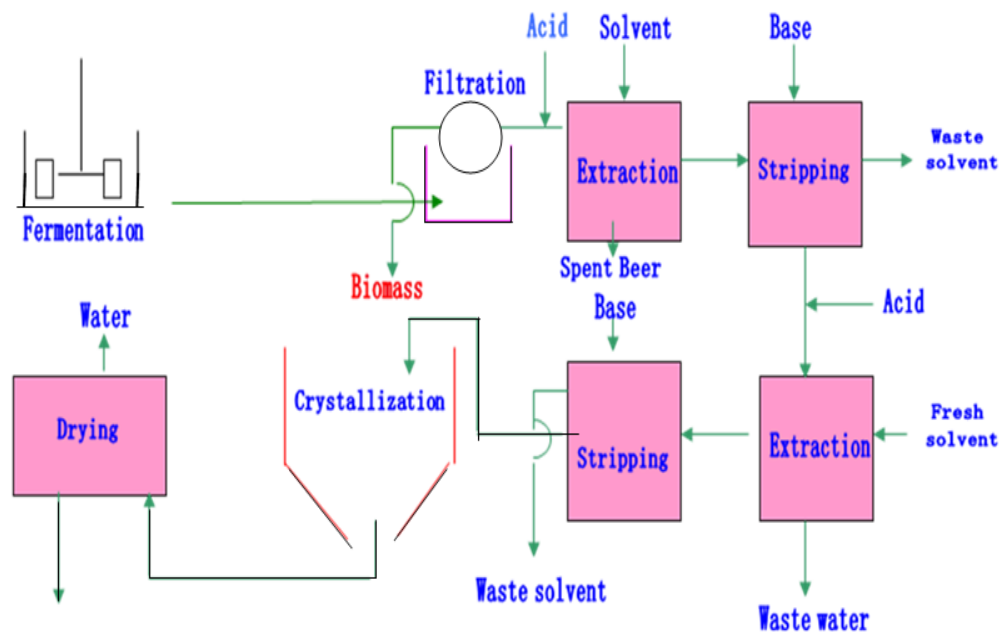


Figure Q.4.[c]
Jadual S.4.[c]