

CROMATOGRAFIA FRONTAL DE PLASMIDOS: ESTIMACION DE PARAMETROS Y SIMULACION

FRONTAL CHROMATOGRAPHY OF PLASMIDS: PARAMETERS ESTIMATION AND SIMULATION

R. M. Montesinos-Cisneros¹, R. Guzmán-Zamudio², J. Ortega-López¹ y A. Tejeda-Mansir^{3*}

¹ *Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados. IPN. Av. Instituto Politécnico Nacional 2508. Colonia San Pedro Zacatenco. México, D. F. CP 07360.*

² *Chemical and Environmental Engineering Department. University of Arizona. Tucson, Az. 85721. USA.*

³ *Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Universidad de Sonora. Apartado Postal 593, Hermosillo, Sonora. México. C. P. 83000.*

Recibido 18 Junio 2004; Aceptado 2 Marzo 2005

Resumen

El comportamiento de una columna de intercambio iónico de Q Sepharose para la purificación del plásmido pMa5L, fue descrito mediante un modelo de transporte que toma en cuenta la resistencia a la transferencia de masa en la película, una velocidad de adsorción finita y un flujo disperso. Las constantes cinéticas y termodinámicas del sistema se obtuvieron de un sistema experimental reportado en la literatura. Los parámetros de transporte se estimaron mediante correlaciones para columnas empacadas y plásmidos. Los estudios de simulación se realizaron utilizando el método numérico de líneas. Este enfoque permitió analizar diferentes estrategias de diseño del sistema de separación, mediante el análisis del comportamiento paramétrico y de escalamiento del sistema.

Palabras clave: purificación de plásmidos, cromatografía de II, análisis frontal, MOL, modelación matemática.

Abstract

A transport model that considers external film resistance, finite kinetic rate and column dispersed flow was used to describe the performance of a Q Sepharose ion-exchange column in plasmid pMa5 purification. The system kinetic and thermodynamic constants were obtained from a experimental system from the literature. The transport parameters were estimated using mathematical correlations for packed-bed columns and plasmids. The simulation studies were conducted using the numerical method of lines. This approach allowed to examine different strategies of design of the separation system, by means of parametric analysis and by system scale up.

Keywords: plasmids purification, IE chromatography, frontal analysis, MOL, mathematical modelling.

1. Introducción

Actualmente existe un gran interés por la producción a escala comercial de plásmidos para su uso en terapia génica y vacunación, debido a la mayor seguridad de los vectores no-virales respecto a los virales. El mercado de estas moléculas de ácido desoxirribonucleico (pDNA de sus siglas en inglés) se estima exceda los 45,000 millones de dólares en el año 2010 (Prazeres y col., 1999). La terapia génica y las vacunas de DNA, son técnicas novedosas que consisten en la transferencia a células del cuerpo humano, de genes que codifican la síntesis de

una proteína que al expresarse realiza una acción terapéutica o inmunizante. La terapia génica tiene el potencial de tratar una gran variedad de enfermedades hereditarias monogénicas como la hemofilia y la fibrosis cística, así como enfermedades adquiridas como cáncer, problemas vasculares y desórdenes neurológicos (Ferreira y col., 2000). Las vacunas de DNA actualmente están dirigidas principalmente a la prevención de enfermedades contagiosas para las cuales no existen vacunas aún, o su costo es muy elevado, como la malaria, hepatitis B, influenza y SIDA (Schalk y col., 2001). Se considera que las vacunas de esta nueva

*Autor para la correspondencia: E-mail: atejeda@guayacan.uson.mx
Tel. (66) 22592169. Fax. (66) 22592171.

generación serán más seguras, baratas, y más fáciles de producir y administrar que las vacunas convencionales. Un prerrequisito para el éxito de la terapias basadas en el uso de pDNA es el desarrollo de procesos productivos genéricos y costo-efectivos.

Para satisfacer las estrictas regulaciones clínicas de estos productos, el material debe estar disponible como solución homogénea de pDNA altamente purificado en forma circular cerrada covalentemente unida y superenrollada (ccc) pDNA. www.wiley.co.uk/genmed/clinical).

1.1. Proceso para producción de plásmidos

El proceso de producción de plásmidos superenrollados (Fig. 1) inicia con la construcción del vector de expresión, mediante el uso de la técnica del rDNA. Es conveniente que el plásmido a utilizar tenga la capacidad de producir un alto número de copias. Posteriormente, el plásmido es usado para transformar células competentes, generalmente de *E. coli* y seleccionar una cepa de producción para generar un banco de células maestro (MCB de sus siglas en inglés) bajo condiciones de buenas prácticas de manufactura (GMP de sus siglas en inglés). La propagación de las células se lleva a cabo mediante su fermentación en un rico y complejo medio de cultivo, en condiciones adecuadas de temperatura, oxigenación y pH. Una vez concluida la fermentación, se realiza la cosecha de células y su lisis. Seguidamente, se llevan a cabo las operaciones de recuperación primaria (clarificación y concentración). Finalmente, se realizan las operaciones de purificación para obtener como producto final los plásmidos superenrollados de DNA (Varley y col., 1999).

1.2 Purificación de plásmidos

La purificación de plásmidos super enrollados, presenta cierta dificultad debido a la

similitud en la estructura física y química que existe entre ellos y los plásmidos contaminantes (v.g. circulares abiertos). Para conducir este tipo de separaciones frecuentemente se utiliza la cromatografía de intercambio iónico. La cromatografía de intercambio iónico está basada en la interacción que se presenta entre moléculas de soluto cargadas y zonas con carga opuesta de un soporte cromatográfico. El intercambio iónico en columna de lecho fijo es probablemente la técnica cromatográfica más empleada para la separación y purificación de proteínas, ácidos nucleicos, y otras biomoléculas cargadas. Esto se debe principalmente a su alta resolución y capacidad, así como a la relativa facilidad de operación de estos sistemas.

1.3 Escalamiento y simulación de procesos

Cuando se aplica una operación cromatográfica a un nuevo sistema o cuando se escala un proceso, es común llevar a cabo numerosos y costosos experimentos. El desarrollo de modelos matemáticos (Fig. 2) para describir la operación y el uso de estos modelos en programas de computadora para predecir el comportamiento de estos sistemas, es un enfoque muy utilizado para ayudar a realizar en forma más racional y económica estas tareas de la bioingeniería. Un requerimiento fundamental de esta metodología, es el entendimiento de los mecanismos fundamentales involucrados en estas separaciones que permita desarrollar modelos apegados a la realidad, basados en principios físicos y químicos o en teorías cinéticas. Las Ecs. que se obtienen mediante este enfoque generalmente involucran sistemas de ecuaciones diferenciales parciales (EDP) no-lineales que no son sujetas a soluciones analíticas. Se requiere expresar estas ecuaciones en forma aproximada mediante métodos numéricos y desarrollar programas de computadora para su solución

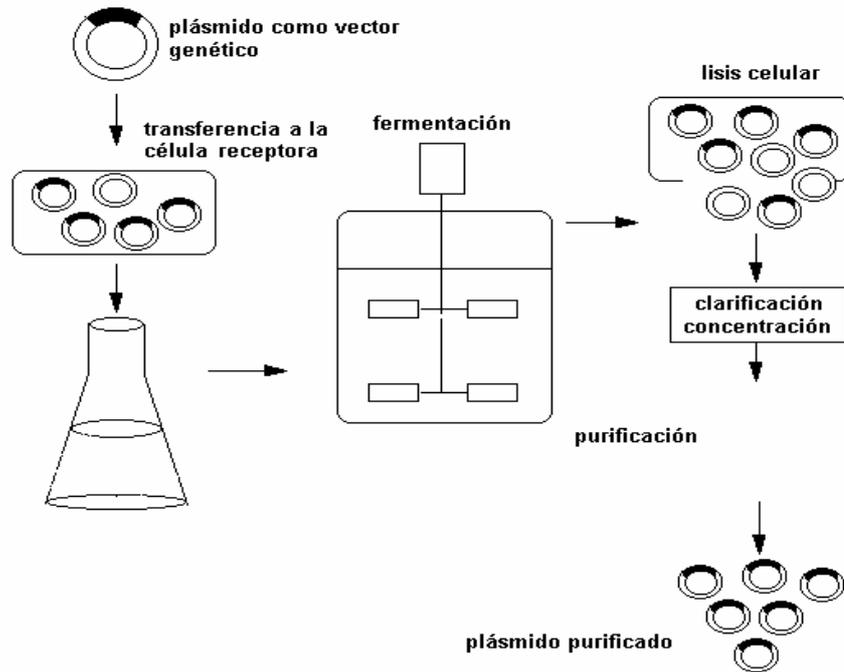


Fig. 1. Esquema de las diferentes etapas del proceso de purificación de un plásmido, divididas en operaciones previas al biorreactor, la fermentación y las operaciones posteriores. Adaptada de Ferreira y col. (2000).

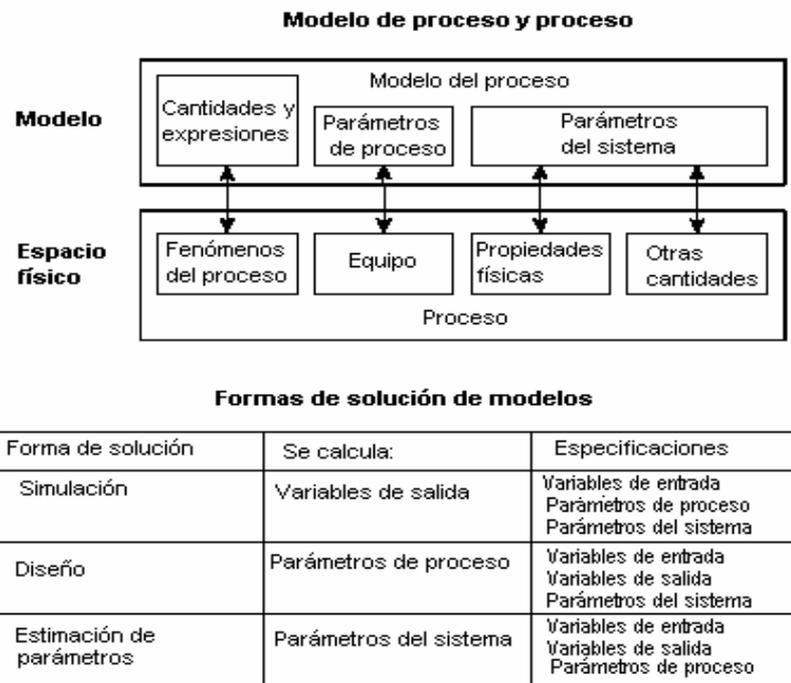


Fig. 2. En el cuadro superior se muestra la relación proceso-modelo para la construcción de un modelo de transporte. El cuadro inferior describe las diferentes formas del uso de los modelos.

1.4 Objetivo

El objetivo de este trabajo es analizar el comportamiento paramétrico y de escalamiento de columnas de intercambio iónico para purificación de plásmidos, mediante simulación con el uso de modelos y correlaciones de transporte apropiadas.

2. Marco teórico

La mayoría de las operaciones de purificación de plásmidos se realizan en columnas de intercambio iónico en modo frontal (también conocido como adsorción de lecho fijo). En esta sección se describe la forma de evaluar estas operaciones, así como los modelos físicos y matemáticos empleados para describir el comportamiento de las columnas.

2.1. Evaluación de separaciones cromatográficas en modo frontal

Durante la operación de una columna cromatográfica en modo frontal, la muestra es alimentada continuamente dentro de la columna. En un primer período de tiempo, el soluto de la alimentación se adsorbe casi completamente dentro de la columna. Sin embargo, después de cierto tiempo la concentración de soluto a la salida de la columna se incrementa con el tiempo hasta alcanzar la concentración de entrada (Fig. 3). Normalmente, la operación se conduce hasta alcanzar una concentración de ruptura a la salida (CR), típicamente del 10% de la de entrada.

La dinámica de la columna es resultado de las complejas interacciones de equilibrio, no-idealidad de flujo, velocidades de transferencia de masa finitas y de la cinética de la adsorción en sí misma. Como consecuencia, después de cierto tiempo de proceso coexisten dentro de la columna las zonas: de equilibrio, no-utilizada y la de transferencia de masa (ZTM). Gran parte de la información requerida para evaluar el

comportamiento de la columna, está contenida en estas gráficas típicas de concentración de soluto a la salida de la columna contra tiempo llamadas “curvas de ruptura”. Estas curvas pueden ser utilizadas para determinar: (1) la capacidad utilizada de la columna, (2) las pérdidas de soluto en el efluente, y (3) el tiempo de proceso. Esta es la información requerida para optimizar la separación (Arnold y col., 1985).

2.2 Modelo físico

El proceso de la adsorción de plásmidos a una matriz cromatográfica en una columna, se puede describir mediante el modelo físico presentado en la Fig. 4. En el estudio el modelo está basado en la adsorción isotérmica de un solo soluto durante su flujo a través de un lecho empacado con partículas no porosas de radio promedio r_0 . En el análisis, la concentración de soluto a la entrada es c_0 y la solución fluye a un flujo F a través de la columna con una velocidad intersticial v constante. La columna tiene una longitud L , una porosidad ε y un área transversal A . Inicialmente, la columna se encuentra libre de soluto y para un tiempo $t > 0$, la concentración de soluto en el seno del líquido es $c(z,t)$, y la concentración de soluto en el adsorbente está dada por $q(z,t)$. Para la descripción del proceso de adsorción se deben considerar tanto la hidrodinámica de la columna como la naturaleza del proceso de adsorción. En este estudio, se utiliza un modelo de transporte que considera un flujo disperso en la columna y dos resistencias en serie para simular el comportamiento del sistema.

La dispersión convectiva de Fick dentro de la columna se caracteriza por el coeficiente de dispersión axial D_{ax} . El transporte de plásmido se considera involucra su movimiento a través de la película estancada alrededor del adsorbente hasta la superficie de éste, y se caracteriza por el coeficiente de transferencia de masa k_f . La

velocidad de adsorción intrínseca se describe por un modelo de adsorción-desorción tipo Langmuir. La descripción del proceso de adsorción se realiza mediante un balance de

masa en la fase líquida, un balance de masa en el adsorbente y una expresión para la cinética de adsorción.

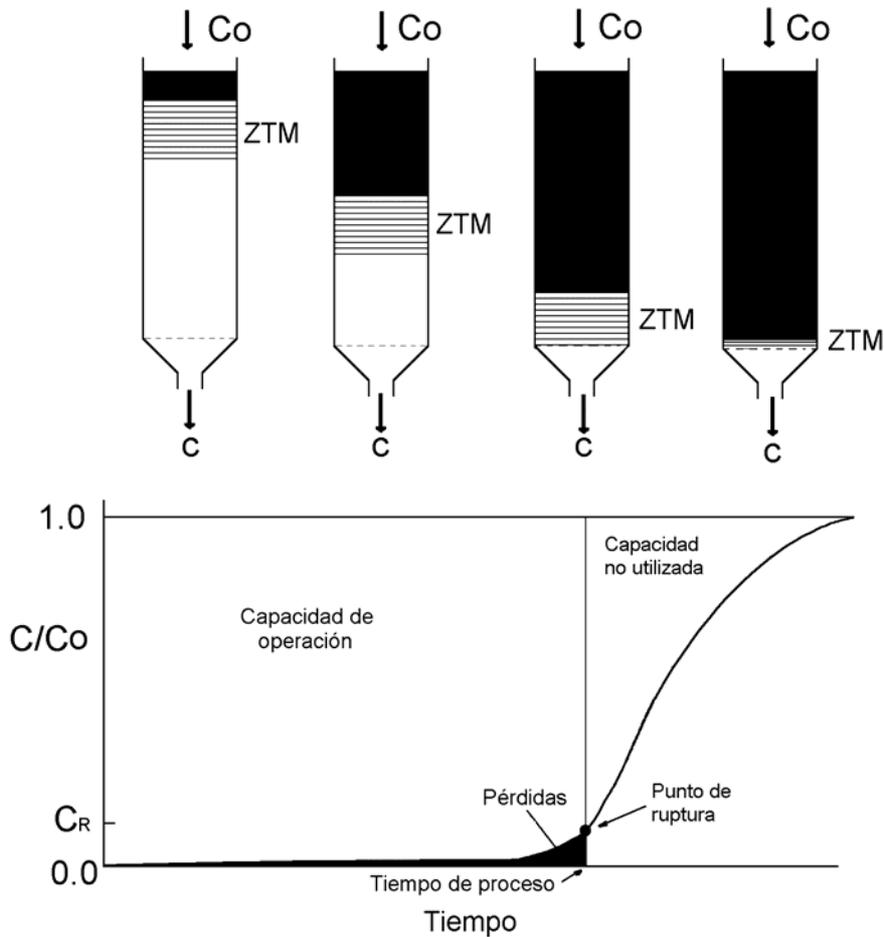


Fig. 3. Proceso de adsorción frontal en columna y curva de rompimiento. Cuando la etapa de adsorción termina en el punto de rompimiento CR, la mayor parte de la columna se ha utilizado en recuperar y concentrar prácticamente todo lo alimentado.

Tabla1. Valores de los parámetros utilizados en los estudios de simulación.

Parámetro	Valor
Concentración de entrada	$c_o=0.04$ mg/ml
Capacidad máxima de adsorción	$q_m = 2.46$ mg/ml
Porosidad del lecho	$\epsilon = 0.35$
Constante de desorción	$K_d = 0.0033$ mg/ml
Constante de adsorción intrínseca	$k_l = 8.96$ ml/mg-s
Radio de la partícula	$r_o = 45$ μ m
Difusividad	$DAB = 4.23 \times 10^{-8}$ cm ² /s

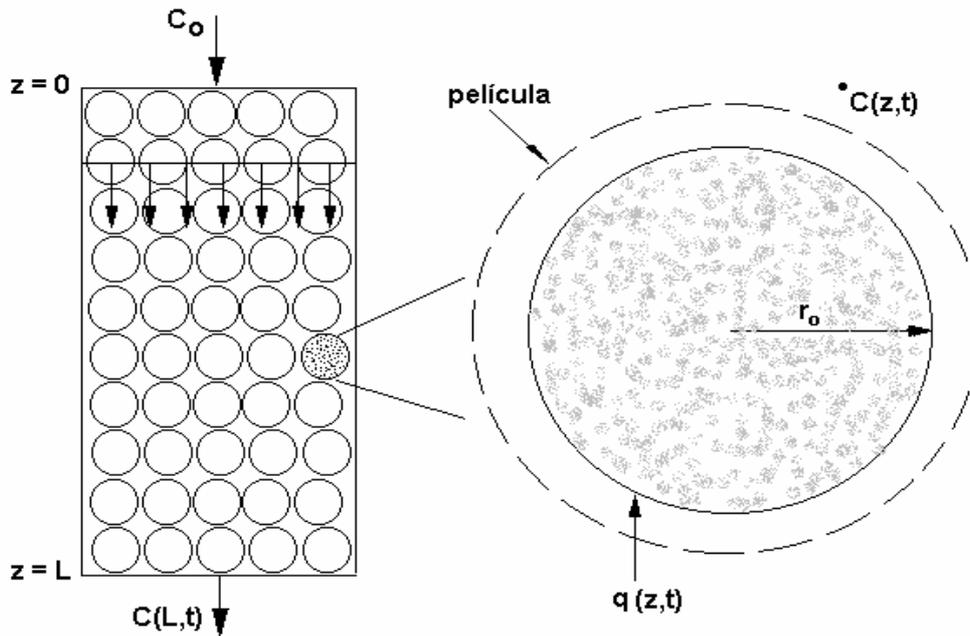


Fig. 4. Modelo físico de la adsorción de plásmidos en una columna de lecho fijo empacada con partícula no porosas.

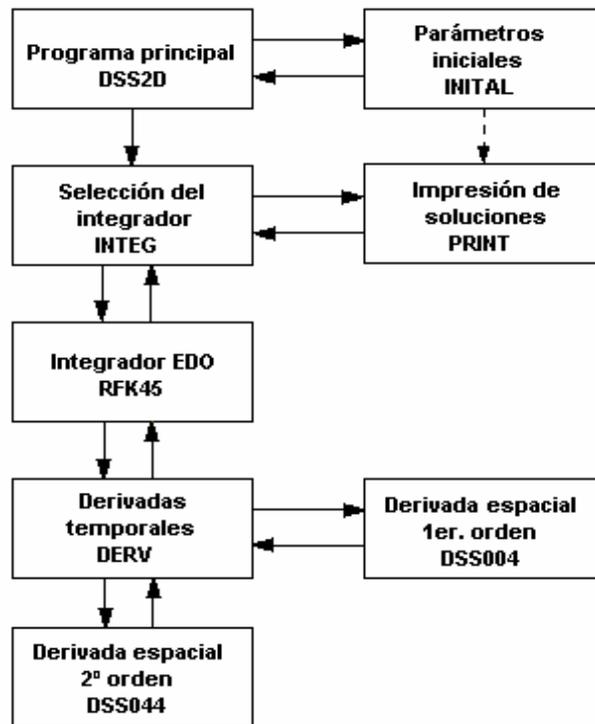


Fig. 5. Diagrama de flujo de la solución por el método de líneas del modelo de transporte de la columna de adsorción por intercambio iónico del plásmido pMa5L.

2.3 Modelo de transporte

En esta sección se presenta el modelo matemático que describe la adsorción de plásmidos en sistema tipo columna de lecho fijo, empacada con un adsorbente no-poroso. El modelo incluye los efectos de la dispersión axial, la transferencia de masa en la película externa del adsorbente y la reacción de adsorción. El proceso de adsorción en un sistema de columna empacada con partículas puede ser descrito mediante un balance de soluto en el líquido al interior de la columna, un balance de soluto en el adsorbente, una expresión cinética de la adsorción en la superficie y las condiciones iniciales y de frontera.

2.3.1 Balance en la fase líquida

El balance de masa en la fase líquida en un elemento de volumen del sistema se puede escribir como:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D_{ax} \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} - v \frac{\partial c}{\partial z} - \frac{(1 - \epsilon)}{\epsilon} \frac{\partial q}{\partial t} \quad (1)$$

donde:

- D_{ax} : es el coeficiente de dispersión axial, [cm²/s]
- ϵ : es la fracción del volumen del líquido en la columna o porosidad del lecho
- v : es la velocidad intersticial (velocidad superficial/porosidad del lecho), [cm/s]
- q : es la concentración de soluto en el adsorbente, [mg/ml]
- z : es la coordenada espacial tomada a lo largo de la columna, [cm]

2.3.2 Balance de masa en el adsorbente no poroso

El balance de masa en el adsorbente no poroso está dado por:

$$\frac{\partial q}{\partial t} = k_f a (c - c^*) \quad (2)$$

donde:

k_f : es el coeficiente de transferencia de masa en la película, [cm/s]

$a=3/r_0$: es el área específica de la partícula, [1/cm]

c^* : es la concentración hipotética de equilibrio del soluto en la fase líquida con la concentración de soluto en la fase sólida (en la superficie de la partícula), [mg/ml]

2.3.3 Cinética de la adsorción

La a cinética de adsorción puede ser descrita en forma aproximada por el modelo de Langmuir:

$$\frac{\partial q}{\partial t} = k_1 c^* (q_m - q) - k_{-1} q \quad (3)$$

donde:

k_1 : es la velocidad específica de adsorción [ml/mg-s]

k_{-1} : es la velocidad específica de desorción [1/s]

q_m : es la capacidad máxima del adsorbente [mg/ml]

2.3.4 Condiciones iniciales y de frontera del sistema

Al inicio de la operación, al interior de la columna las fases líquida y sólida se encuentran libres de soluto, y las condiciones iniciales se pueden expresar como:

en

$$t = 0, \quad c = 0 \quad y \quad q = 0 \quad \text{para } 0 \leq z \leq 1 \quad (4)$$

Las condiciones de frontera de Danckwerts son utilizadas para tomar en cuenta la dispersión a la entrada de la columna y que a la salida de la columna no existe dispersión (Danckwerts, 1986), de tal manera que:

en

$$z = 0, \quad \epsilon v c_o = \epsilon v c - \epsilon D_{ax} \frac{\partial c}{\partial z}$$

para

$$t > 0 \quad (5)$$

en

$$z = L, \quad \frac{\partial c}{\partial z} = 0 \quad \text{para} \quad t > 0 \quad (6)$$

Las Ecs. (1)-(6) constituyen el modelo de transporte para la adsorción de un plásmido en un lecho empacado con partículas esféricas no porosas.

2.3.5 Modelo de transporte adimensional

Para expresar el modelo en forma adimensional, primeramente se combinan las Ecs. (1) (2) y (3). Despejando c^* de Ec. (2) y sustituyendo en (3) se obtiene:

$$\frac{\partial q}{\partial t} = \frac{k_f a k_1 [c(q_m - q) - K_d q]}{k_f a + k_1 (q_m - q)} \quad (7)$$

donde:

$K_d = k_{-1}/k_1$ es la constante de equilibrio de desorción. Sustituyendo la ecuación anterior en (1) se obtiene:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D_{ax} \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} - v \frac{\partial c}{\partial z} - \frac{(1-\varepsilon) k_f a k_1 [c(q_m - q) - K_d q]}{\varepsilon [k_f a + k_1 (q_m - q)]} \quad (8)$$

El modelo se expresa en forma adimensional utilizando las variables adimensionales siguientes:

$$C = \frac{c}{c_o}; \quad \phi = \frac{q}{q_m}; \quad T = \frac{vt}{L}; \quad Z = \frac{z}{L}; \quad R = \frac{r}{r_o}; \quad Pe = \frac{vL}{D_{ax}} \quad (9)$$

Las Ecs. de balance, condiciones iniciales y condiciones de frontera adimensionales correspondientes son:

$$\frac{\partial C}{\partial T} = \frac{1}{Pe} \frac{\partial^2 C}{\partial Z^2} - \frac{\partial C}{\partial Z} - \frac{L(1-\varepsilon)}{c_o v \varepsilon} \left[\frac{3k_f k_1 q_m (C\phi - C\phi - K_d \phi)}{3k_f + r k_1 q_m (1-\phi)} \right] \quad (10)$$

$$\frac{\partial \phi}{\partial T} = \frac{L}{v} \left[\frac{3k_f k_1 (C\phi - C\phi - K_d \phi)}{3k_f + r k_1 q_m (1-\phi)} \right] \quad (11)$$

$$T=0, \quad C=0 \quad \text{y} \quad \phi=0 \quad 0 \leq Z \leq 1 \quad (12)$$

$$Z=0, \quad \frac{\partial C}{\partial Z} = Pe(C-1) \quad T > 0 \quad (13)$$

$$Z = 1, \quad \frac{\partial C}{\partial Z} = 0 \quad (14)$$

3. Metodología

3.1 Solución del modelo

En esta investigación el modelo adimensional del sistema dado por las Ecs. (10)-(14) fue resuelto utilizando el método numérico de líneas (Fig. 5). Se empleó el sistema simulador diferencial DSS2D como programa principal y las subrutinas INITAL, DERV, INTEG y PRINT. La subrutina DERV emplea una aproximación de cuarto orden con cinco puntos de malla para calcular la derivada y la subrutina INTEG utiliza las fórmulas Runge-Kutta Fehlberg 45 (RK45) para realizar la integración. Todos los códigos fueron incorporados en un programa Fortran 90 que se corrió en un equipo Compac Alpha ES40.

3.2. Datos utilizados en el estudio

Se utilizó como sistema modelo la adsorción del plásmido pMa5L en una columna de intercambio iónico de Q Sepharose FF considerando los parámetros cinéticos y termodinámicos (k_1 , K_d y q_m) reportados para el sistema (Ferreira y col. 2000). Los datos utilizados para conducir los estudios de simulación se presentan en la Tabla 1. El coeficiente de transferencia de masa fue estimado mediante la correlación de Foo y Rice (1975).

$$Sh = 2.0 + 1.45 Re^{1/2} Sc^{1/3} \quad (15)$$

donde: Sh es el número de Sherwood referido al diámetro de la partícula. Re y Sc son los números de Reynolds y Schmidt. Estos números están dados por:

$$Sh = \frac{k_f d_p}{D_{AB}} \quad Re = \frac{d_p (\varepsilon v) \rho}{\mu} \quad Sc = \frac{\mu}{\rho D_{AB}}$$

Para estimar el coeficiente de difusión del plásmido pMa5L de 4800 pares de bases se utilizó la correlación reportada por He y Niemeyer (2003):

$$D_{AB} = \frac{6.85 \times 10^{-8} T}{\mu \sqrt{M^{1/3} R_g}} \quad (16)$$

donde:

D_{AB} : coeficiente de difusión del plásmido [cm^2/s]

μ : viscosidad del medio, [cp]

T : temperatura, [$^{\circ}\text{K}$]

M : peso molecular del plásmido [g/mol]

R_g : radio de giro de la molécula de DNA, [Å]

Para calcular el coeficiente de dispersión axial, D_{ax} en la columnas se utilizó la correlación reportada por Kempe y col. (1999):

$$Pe_p = \frac{1}{\varepsilon} (0.2 + 0.011 Re^{0.48}) \quad (17)$$

3. Resultados y discusión

En el análisis del comportamiento de la columna de intercambio iónico de Q Sepharose para purificación del plásmido pMa5L, se utilizó una columna base de 1 x 5 cm, operando a un flujo de 0.25 ml/min con una concentración de 0.04 mg/ml a la entrada de la columna. Se efectuó un análisis paramétrico para estudiar la capacidad del modelo de predecir los efectos de los cambios en los parámetros de operación sobre el comportamiento de la columna. Las perturbaciones corrientes arriba en un proceso, pueden generar cambios en las concentraciones de entrada de las columnas que son importantes de estudiar. En el análisis la concentración a la entrada de la columna tomó los valores de 0.04 mg/ml, 0.08 mg/ml y 0.12 mg/ml. Las curvas de ruptura correspondientes se muestran en la Fig. 6. Conforme la concentración de entrada se incrementa la concentración de salida rompe en menor tiempo y la curva de ruptura es más empinada.

El proceso es más productivo y eficiente debido a un menor tiempo de

proceso, una mayor capacidad de operación y la disminución de las pérdidas de plásmido. Se realizó un estudio de escalamiento de la columna base para incrementar su productividad 200 veces bajo dos estrategias de diseño. Una que utiliza una columna esbelta de 8 x 16 cm. y otra consistente en una columna ancha de 10 x 5 cm. La primera estrategia representa el enfoque ingenieril y la segunda el escalamiento llamado “directo” donde la columna se escala sólo incrementado su diámetro. Las curvas de ruptura de las tres columnas se muestran en la Fig. 7. Puede observarse en la figura que solo las curvas de ruptura de la columna base y la de la columna esbelta tiene un comportamiento similar. Los datos del escalamiento se presentan en la Tabla 2. Para incrementar la productividad de las columnas 200 veces, el flujo se incrementa en la misma proporción. La columna “b” requiere un incremento de 200 veces del volumen utilizado y su caída de presión es 10 veces mayor que la columna base. La columna “c” solo requiere un incremento de 100 veces del volumen y su caída de presión es apenas dos veces mayor que la de la columna base. Sin embargo, su capacidad de operación es del orden del 45% respecto de la columna “b”, esto implica que para una producción dada se requiere efectuar un mayor número de ciclos en la columna “c”.

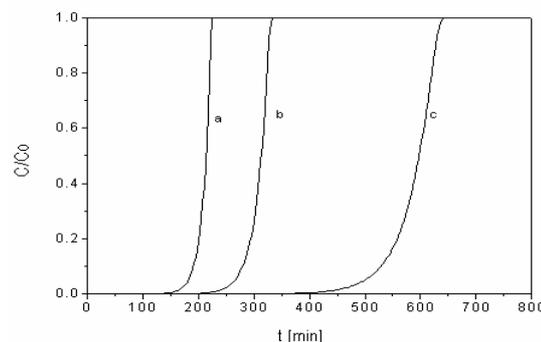


Fig. 6. Efecto de la concentración de plásmido pMa5L a la entrada de la columna sobre la curva de ruptura del sistema. Columna 1 x 5 cm y flujo de 0.25 ml/min. a) $c_0=0.12$ mg/ml, b) $c_0=0.08$, y c) 0.04 mg/ml.

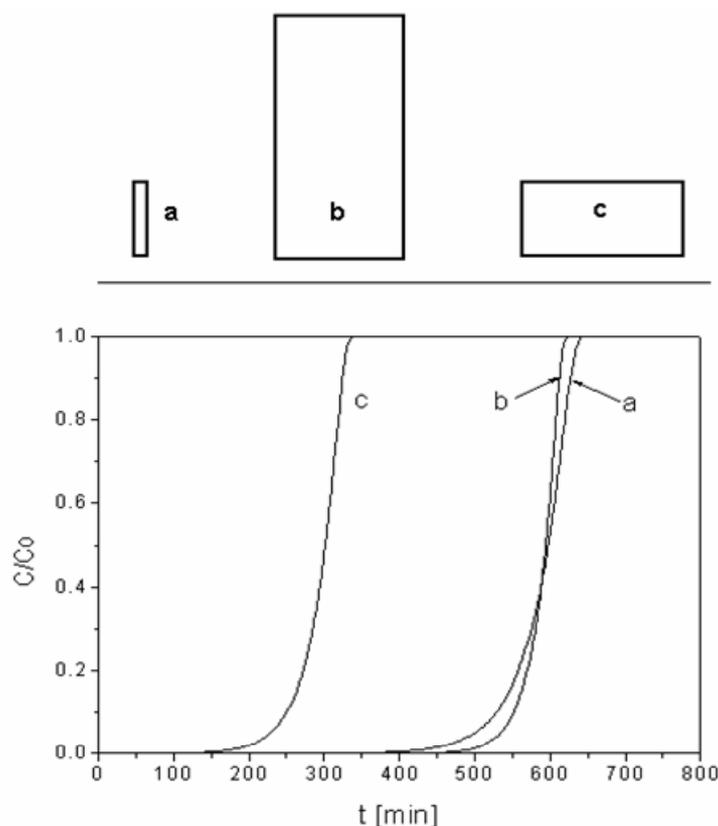


Fig. 7. Curvas de ruptura de las columnas de adsorción por intercambio iónico del plásmido pMa5L. a) columna 1 x 5 cm, b) columna 8 x 16 cm y, c) columna 10 x 5 cm. Escalamiento de la productividad de la columna “a” 200 veces

Tabla 2. Valores obtenidos en el estudio de escalamiento.

Parámetro	Columna a	Columna b	Columna c
co (mg/ml)	0.04	0.04	0.04
dp (µm)	90	90	90
qm (mg/ml)	2.46	2.46	2.46
Kd (mg/ml)	0.0033	0.0033	0.0033
F (ml/min)	0.25	50	50
Diámetro columna (cm)	1	8	10
Longitud (cm)	5	16	5
Volumen (cm ³)	4	800	400
Esbeltez L/D	5	2	0.5
L/v (s)	329	329	165
Pe	318	1000	318
kf (cm/s)	3.87x10 ⁻⁵	6.17x10 ⁻⁵	5.09x10 ⁻³
Tiempo de ciclo (min)	525	550	250
Cap. de operación (mg/ciclo)	5.25	1100	500
Productividad (mg/ciclo/min)	0.01	2	2
ΔPi/ΔPa		10	2

Conclusiones

En este estudio se utilizó un modelo de transporte para simular el comportamiento de la adsorción frontal de plásmidos. Los parámetros del modelo se estimaron utilizando novedosas correlaciones que toman en cuenta las características distintivas de los plásmidos. El análisis paramétrico realizado puede ayudar a entender la influencia de los parámetros de operación en el proceso de purificación plásmidos. Asimismo, el estudio de escalamiento permite analizar diferentes estrategias de diseño.

Símbolos

- A : área transversal de la columna [m²]
 a : área superficial externa de la partícula de adsorbente, $a=3/r_0$
 c_0 : concentración inicial de plásmido en la solución [µg/ml]
 c : concentración de plásmido en la solución [µg/ml]
 c^* : concentración hipotética de equilibrio del soluto en la fase líquida con la concentración de soluto en la fase sólida.
 DAB : coeficiente de difusión [cm²/s]
 Dax : coeficiente de dispersión axial [m²/s]
 dp : diámetro de la partícula de adsorbente [m]
 F : flujo [ml/min]
 kI : velocidad específica de adsorción [ml/mg-s]
 $k-I$: velocidad específica de desorción [1/s]
 Kd : constante de equilibrio de desorción ($=k-I/kI$) [mg/ml]
 kf : coeficiente de transferencia de masa en la película [m/s]
 L : longitud de la columna [cm]
 Pe : número Peclet
 Pep : número de Peclet de partícula
 q : concentración de soluto en el adsorbente [µg/ml]
 qm : es la capacidad máxima del adsorbente [mg/ml]
 r_0 : radio de la partícula [m]

- z : coordenada espacial tomada a lo largo de la columna [m]

Letras griegas

- ϵ :: porosidad del lecho
 μ : viscosidad del medio, [g/cm-s]
 ρ : densidad de la solución [kg/m³]
 $\Delta\rho$: diferencia de densidades entre la partícula y la solución [kg/m³]
 v : velocidad intersticial [m/s]

Agradecimientos

Los autores agradecen sinceramente el apoyo para este trabajo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT) mediante el proyecto U39963Z y al Programa de Mejoramiento del Profesorado de la Secretaría de Educación Pública (PROMEP-SEP)

Referencias

- Arnold, F.H., Blanch, H.W. y Wilke, C.R. (1985). Analysis of affinity separations. I. Predicting the performance of affinity adsorbers. *Chemical Engineering Journal* 30, B9-B23.
- Danckwerts, P.V. (1986). Continuous flow systems. Distribution of residence times. *Chemical Engineering Science* 2, 219-230.
- Ferreira, G.N.M., Cabral, J.M.S. y Prazeres, D.M.F. (2000). Studies on the batch adsorption of plasmid DNA onto anion exchange chromatographic supports. *Biotechnology Progress* 16, 416-424.
- Foo, S.C. y Rice, R.G. (1975). On the prediction of ultimate separation in parametric pumps. *American Institute of Chemical Engineers Journal* 21, 1149-1158.
- He, L. y Niemeyer, B. (2003). A novel correlation for protein diffusion coefficients based on molecular weight and radius of gyration. *Biotechnolology Progress* 19, 544-548.
- Kempe, H., Axelsson, A., Nilsson, B. y Zacchi, G. (1999). Simulation of chromatographic processes applied to separation of proteins. *Journal of Chromatography A* 846, 1-12.

- Prazeres, D.M.F., Ferreira, G.N.M., Monteiro, G.A., Cooney, C. y Cabral, J.M.S. (1999). Large-scale production of pharmaceutical-grade plasmid DNA for gene therapy: problems and bottlenecks. *Trends in Biotechnology* 17, 169-174.
- Schalk, I.; Hegger, P.M.; Jongen, J.M. (2001). *Gene therapeutics and DNA vaccines, quality and regulatory aspects*. National Institute of Public Health and Environment. RIVM report 605200 001.
- Varley, D. L., Hitchcock, A. G., Weiss, A.M.E., Horler, W.A., Cowell, R., Peddie, L., Sharpe, G.S., Thatcher, D.R. y Hanak, J.A.J. (1999). Production of plasmid DNA for human gene therapy using modified alkaline cell lysis and expanded bed anion exchange chromatography. *Bioseparations* 8, 209-217.