بسم الله الرحمن الرحيم

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات

و نوآوری ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه

متعلق به دانشگاه رازی است.

دانشکده فنی و مهندسی
گروه مهندسی شیمی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته‌ی مهندسی شیمی

گرایش ترمودینامیک و سینتیک

عنوان پایان نامه:

بهینه سازی شرایط عملیاتی جداسازی پروتئین آنتی ژن هپاتیت‌ب به روش جذب سطحی با استفاده از جاذبهای معدنی

استاد راهنما:

دکتر شهرام شریف نیا
دکتر سید نظام الدین حسینی

نگارش:

پریسا قیصری

اسفند 1391

راز و رمز پویای علم و کشف معانی بدیع و تجلی جلوه‌های شهودی معرفت کیمیایی است که آسمان علم به برکت سیما و سیره‌ی نورانی نبی مکرم صلی الله علیه و آله و سلم، انسان دربند خاک را به معراج حضور می‌خواند.

با تقدیر و تشکر شایسته از استاد فرهیخته و فرزانه جناب آقای **دکتر شهرام شریف نیا** که با نکته‌های دلاویز و گفته‌های بلند ، صحیفه‌های سخن را علم پرور نمود و همواره راهنما و راه گشای نگارنده در اتمام واکمال پایان نامه بوده است.

معلما مقامت ز عرش برتر باد همیشه توسن اندیشه‌ات مظفر باد

به مصداق «من لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق » بسی شایسته است از استاد فرهیخته و فرزانه جناب آقای **دکتر سید نظام الدین حسینی** رئیس بخش تولید در مجتمع انیستیتوپاستور ایران که با کرامتی چون خورشید ، سرزمین دل را روشنی بخشیدند و گلشن سرای علم و دانش را با راهنمایی‌های کار ساز و سازنده بارور ساختند ; تقدیر و تشکر نمایم.

همچنین از کلیه کارمندان مجتمع تولیدی و تحقیقات انیستیتوپاستور ایران جهت همکاری بیدریغ ایشان جهت پیشبرد این پایان نامه سپاسگذارم.

تقدیم به پدر و مادرم :

خدای را بسی شاکرم که از روی کرم، پدر و مادری فداکار نسبیم ساخته تا در سایه درخت پربار وجودشان بیاسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم. والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم، چرا که این دو وجود، پس از پروردگار ، مایه هستی‌ام بوده‌اند دستم را گرفتند و راه رفتن را در این وادی زندگی پر از فراز و نشیب آموختند. آموزگارانی که برایم زندگی، بودن و انسان بودن را معنا کردند.

تقدیم به همسرم:

که سایه مهربانیش سایه‌سار زندگیم می‌باشد، او که اسوه صبر و تحمل بوده و مشکلات مسیر را برایم تسهیل نمود.

چکیده

هدف در این پروژه بهبود راندمان جداسازی آنتی ژن سطحی هپاتیت‌ب از مخلوط پروتئینی به روش جذب سطحی می‌باشد که از نرم افزار طراحی آزمایشات (تاگوچی) استفاده می‌شود. در اینجا از چهار نوع جاذب معدنی مختلف با نام‌های تجاری Celite(A,B,C) و Aerosil استفاده می‌شود و به مقایسه راندمان جذب آنتی‌ژن بر روی این چهار جاذب پرداخته شده است. در فرایند جذب ، با تغییر و تنظیم شرایط محیطی، آنتی ژن سطحی هپاتیت‌ب بر جاذب جذب می‌شود و در فرایند دفع، پروتئین‌های جذب شده در مرحله قبل ، از جاذب دفع می‌گردند سپس از آزمایش ELISA[1] برای اندازه گیری میزان آنتی ژن جداشده در نمونه‌ها و از روش بردفورد جهت اندازه‌گیری مقدار پروتئین‌های ناخواسته در فرآیندهای جذب و دفع استفاده می‌شود. نتایج آزمایشات نشان داده‌اند، بالاترین راندمان جداسازی آنتی‌ژن هپاتیت‌ب در شرایط بهینه، به ترتیب مربوط به جاذب‌های Aerosil> Celite-C > Celite-A> Celite-B و برابر 95، 87، 78 و 45 درصد می‌باشد. در ادامه طبق نتایج بدست آمده، اثر pH، دور همزن، غلظت اولیه محلول، مدت زمان اختلاط مواد جذب شونده با جاذب، ایزوترم‌های تعادلی و مدل‌های سینتیکی برای جاذب‌های مصرفی مورد بررسی قرار می‌گیرند. نتایج بدست آمده از آزمایشات تعادلی نشان می‌دهد که بهترین ایزوترم برای جاذب‌های Aerosil و Celite-C ، ایزوترم لانگمویر است که نشان دهنده تک لایه بودن جذب می‌باشد. در حالی که جاذب Celite-A با ایزوترم لانگمویر و تمکین با ضریب رگراسیون بالای 99/ . به خوبی مطابقت دارد و جاذب Celite-B با ایزوترم فرندلیچ که بیانگر چند لایه بودن جذب است،هم خوانی خوبی دارد. نتایج بدست آمده از آزمایشات سینتیکی نشان می‌دهد که بهترین مدل برای جاذب Aerosil ، مدل شبه درجه اول با ضریب رگراسیون 99/ . است که بیانگر جذب فیزیکی می‌باشد. در حالی که برای هر سه نوع جاذب Celite ، مدل شبه درجه دو مطابقت خوبی دارد که بیانگر جذب شیمیایی می‌باشد. همچنین دور همزن بهینه برای اختلاط مواد جذب شونده با جاذب به منظور بالاترین راندمان جداسازی و ظرفیت، 600 rpm بدست آمده است.

کلمات کلیدی: پروتئین، جاذب، جذب، دفع، Aerosil ، Celite

[1] Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول : جذب سطحی و جاذب ها

1-1- جذب 2

1-1-1-جذب سطحی 2

1 -1-1-2- جذب فیزیکی 3

1-1-1-3- جذب شیمیایی 3

1-1-2- معیار انتخاب فرآیندهای جذب سطحی 4

1-1-3- پارامترهای موثر بر جذب 4

1-1-3-1- تأثیر نوع جاذب 4

1-1-3-2- تأثیر نوع جذب شونده 5

1-1-3-3- اثر شرایط فرآیند 5

1-2- جاذب ها 6

1-2-1- ظرفیت 6

1-2-2- گزینش پذیری 6

1-2-3- قابلیت احیا 7

1-2-4- سینتیک 7

1-2-5- سازگاری 7

1-2-6- قیمت 7

1-3- جاذب های انتخاب شده در این پروژه 8

1-3-1- خاک دیاتومه (Celite) 8

1-3-2- Aerosil 9

عنوان **صفحه**

1-4- منحنی هم دمای جذب 9

1-4-1- ایزوترم های جذب سطحی 11

1-4-1-1- ایزوترم لانگمویر 11

1-4-1-2- ایزوترم فرندلیچ 12

1-4-1-3- ایزوترم تمکین 12

1-4-1-4- ایزوترم دوبنین رادوشکیویچ 13

1-4-1-5- ایزوترم ردلیش پترسون 13

1-4-1-6- ایزوترم لانگمویر توسعه یافته 14

1-4-2-7- ایزوترم لانگمویر- فرندلیچ 14

1-5- سینتیک جذب 15

1-5-1- مدل شبه درجه یک 15

1-5-2- مدل شبه درجه دو 16

1-5-3- مدل الوویچ 17

1-5-4- مدل نفوذ درون ذره ایی 18

1-5-5- مدل درجه دو اصلاح شده 18

1-5-6- مدل واکنش درجه دو بازگشت پذیر 21

1-5-7- مدل واکنش درجه دو بازگشت ناپذیر 22

1-5-8- مدل نیکول 23

فصل دوم : ساختار پروتئین‌ها و روش‌های جداسازی

2-1- پروتئین 25

2-1-1- قدرت اسیدی 25

عنوان **صفحه**

2-1-2- ساختمان آمینو اسیدها 26

2-1-3- گروه های هفت گانه آمینو اسیدی 28

2- 1-3-1- آمینو اسیدهای آلیفاتیک 28

2-1-3-2- آمینو اسیدهای آروماتیک 28

2- 1-3-3- آمینواسیدهای الکلی 28

2- 1-3-4- آمینواسیدهای گوگردی 28

2- 1-3-5- آمینواسیدهای اسیدی 29

2-1-3-6- آمینواسید های آمیدی 29

2- 1-3-7- آمینواسیدهای بازی 29

2-1- 4- پیوند پپتیدی 30

2-1-5- سطوح ساختاری در پروتئین ها 30

2- 1-5-1- ساختار اولیه پروتئین 31

2- 1-5-2- ساختارهای دوم پروتئین 31

2- 1- 5-3- ساختار سوم پروتئین 31

2- 1-5 -4- ساختار چهارم پروتئین 31

2-1-6- غیر طبیعی شدن پروتئین 32

2-1-7- نیروهای پایدار کننده ساختمان پروتئین 32

2-1-7-1- بر هم کنش های آب گریز 32

2-1-7-2- پیوند های یونی (پل های نمکی) 32

2-1-7-3- پیوند های هیدروژنی 33

2-1-7-4- پیوند دی سولفیدی 33

عنوان **صفحه**

2-1-7-5- برهمکنش های واندروالسی 33

2-2- استراتژی خالص سازی محصول نوترکیب 34

2-3- روش های جداسازی پروتئین 34

2-3-1- روش های آزمایشگاهی جداسازی پروتئین 35

2- 3-1-1- کنترل بار الکتریکی 35

2- 3-1-2- استخراج پروتئین با حلال 36

2-3-1-3- کنترل آب پوشی 36

2-3-1-4- کروماتوگرافی ژل جذبی 36

2- 3-1-5- کروماتوگرافی تبادل گر یونی 37

2- 3-1-6- کروماتوگرافی غربال مولکولی - صاف کردن توسط ژل 37

2- 3-1-7- کروماتوگرافی بر اساس میل ترکیبی 37

2-3-1-8-الکتروفورسیس 38

2- 3-2- روش های جداسازی پروتئین ها در مقیاس صنعتی 38

2- 3-2-1- فرایندهای پایین دستی 38

2- 3-2-2- فرایندهای جدایش بر اساس تشخیص مولکولی 38

2- 3-2- 3- رسوب گذاری وکریستالیزلسیون پروتئین 39

2- 3-2-4- فرایند های استخراج با حلال 39

2- 3-2- 5- فیلتراسیون غشایی 39

2-3-2-6-استخراج با سیال بحرانی برای تولیدات بیولوژیکی و غذایی 40

2- 3-2- 7- روش های پایه ریزی شده بر پایه ی استخراج مایع – مایع 40

2-4- ویروس هپاتیت ب 40

عنوان **صفحه**

2-5- مروری بر کارهای انجام شده 41

2-5-1- جذب آنتی ژن هپاتیت ب توسط جاذب های مختلف 41

2-5-2- موارد استفاده از جاذب Celite در مقالات 46

فصل سوم : مواد و روش انجام آزمایشات

3-1- تجهیزات مورد استفاده در این پروژه عبارتنداز: 48

3-2- مواد مورد استفاده برای انجام آزمایش عبارتنداز: 48

3-3- آماده سازی Celite و Aerosil 49

3-4- پارامترهای موثر بر جذب سطحی 50

3-5- طراحی آزمایش‌ها به روش تاگوچی 51

3-5-1- طراحی آزمایش‌ها برای جاذب Celite 54

3-5-2- طراحی آزمایش‌ها برای جاذب Aerosil 55

3-6- شرح آزمایشات 57

3-6-1- آزمایشات تعادلی 57

3-6-1-1- آزمایشات توسط جاذب Celite 57

3-6-1-2- آزمایشات توسط جاذب Aerosil 58

3-6-2- آزمایشات سینتیکی 60

3-6-2-1- آزمایشات توسط جاذب Celite 60

3-6-2-2- آزمایشات توسط جاذب Aerosil 61

3-7- روش اندازه گیری 62

3-7-1- اندازه‌گیری مقدار آنتی ژن هپاتیت ب از مخلوط پروتئینی 62

3-7-2- اندازه‌گیری پروتئین‌های ناخواسته 63

عنوان **صفحه**

فصل چهارم : بحث و نتایج

4-1- بهینه یابی شرایط عملیاتی جداسازی آنتی ژن 65

4-2- بررسی اثر pH 68

4-3- اثر غلظت اولیه محلول 70

4-4- اثر دور همزن 72

4-5- اثر مدت زمان اختلاط مواد جذب شونده با جاذب 74

4-6- سیستم جذب در حالت تعادلی 77

4-6-1- ایزوترم لانگمویر 77

4-6-2- ایزوترم فرندلیچ 79

4-6-3- ایزوترم تمکین 81

4-6-4- ایزوترم دوبنین رادوشکیویچ 83

4-6-5- جمع بندی آزمایشات تعادلی 85

4-7- سیستم جذب در حالت سینتیکی 88

4-7-1- مدل شبه درجه یک 88

4-7-2- مدل شبه درجه دو 90

4-7-3- مدل الویچ 92

4-7-4- مدل نفوذ درون ذره ایی 94

4-7-5- جمع بندی آزمایشات سینتیکی 95

4-8 - آنالیز FESEM 98

4-9- آنالیز FTIR 100

فصل پنجم : نتیجه گیری و پیشنهادات

عنوان **صفحه**

5-1- نتیجه‌گیری 103

5-2- پیشنهادات 104

منابع..... 105

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل 1-1 : ساختمان سطح سیلیکا و نمونه های مختلف باندها و گروه های سیلانول.....9

شکل 1-2 : منحنی‌های هم دمای جذب.....10

شکل 2-1 : ساختمان عمومی آمینواسید.....25

شکل 2-2 : نمودار تیتراسیون آمینواسید گلیسین 27

شکل 2-3 : نحوه تشکیل آمینواسید سیستین از سیستیین 29

شکل 2-4 : نحوه تشکیل پیوند پپتیدی در آمینواسیدها 30

شکل 2-5 : سطوح ساختاری در پروتئین‌ها.....30

شکل 2-6 : ساختمان ویروس هپاتیت ب.....41

شکل 2-7 : جذب آنتی ژن هپاتیت ب بر روی آلومینوم هیدروکسید بر حسب غلظت آنتی ژن در ^0C 25 و pH=7/4 42

شکل 2-8 : نمودار ایزوترم لانگمویر خطی شده برای جذب آنتی ژن بر آلومینوم هیدروکسید بر حسب غلظت آنتی ژن در ^0C 25 و pH=7/4 42

شکل 2-9 : نمودار جذب آنتی ژن هپاتیت ب بر روی آلومینوم هیدروکسید بر حسب غلظت آنتی ژن در ^0C 25 و pH=7/4 ، (آلومینوم هیدروکسید)AH (♦) 43

شکل 2-10 : پارامترمیزان آنتی ژن/ کل پروتئین‌ها (mg/ µg) بر حسب pH عملیات دفع 45

شکل 3-1 : پلیت هپاتیت ب بعد از تزریق نمونه در درون چاهک ها.....63

شکل 4-1 : تغییرات پارامتر آنتی ژن/ کل پروتئین (µg/ml) بر حسب pH فرایند دفع برای جاذب‌ها در شرایط بهینه آزمایشگاهی.....68

شکل 4-2 : تغییرات راندمان وظرفیت جذب-دفع بر حسب pH های متفاوت برای جاذب Aerosil (دور همزن : 600 rpm ، غلظت اولیه : 42µg/ml، ریت جامد- مایع :g/ml 01/ .).....69

شکل 4-3 : تغییرات راندمان بر حسب pH های متفاوت برای جاذب Celite (دور همزن : 600 rpm ، غلظت اولیه : 42µg/ml، ریت جامد- مایع : g/ml 06/ .).....70

عنوان **صفحه**

شکل 4-4 : تغییرات ظرفیت جذب بر حسب غلظت‌های اولیه برای جاذب Aerosil (دور همزن : 600 rpm و شرایط آزمایشگاهی بهینه، ریت جامد- مایع :g/ml 01/ .)..... 71

شکل 4-5 : تغییرات ظرفیت جذب بر حسب غلظت‌های اولیه برای جاذب Celite (دور همزن : 600 rpm و شرایط آزمایشگاهی بهینه، ریت جامد- مایع : g/ml 06/)..... 72

شکل 4-6 : تغییرات راندمان جداسازی و ظرفیت بر حسب دور همزن برای جاذب Aerosil (غلظت اولیه : 42µg/mlو در شرایط آزمایشگاهی بهینه، ریت جامد- مایع : g/ml 01/ .)..... 73

شکل 4-7 : تغییرات راندمان جداسازی بر حسب دور همزن برای جاذب Celite (غلظت اولیه : 42µg/mlو در شرایط آزمایشگاهی بهینه، ریت جامد- مایع : g/ml 06/ .)..... 74

شکل 4-8 : تغییرات ظرفیت جذب بر حسب زمان برای جاذب Aerosil (غلظت اولیه : 42µg/mlو در شرایط آزمایشگاهی بهینه، ریت جامد- مایع : g/ml 01/ .)..... 75

شکل 4-9 : تغییرات ظرفیت جذب بر حسب زمان برای جاذب Celite (غلظت اولیه : 42µg/mlو در شرایط آزمایشگاهی بهینه، ریت جامد- مایع : g/ml 06/ .)..... 76

شکل 4-10 : نمودارهای خطی شده ایزوترم لانگمویر برای هرچهار جاذب مصرفی (در شرایط آزمایشگاهی بهینه، (a) : ریت جامد- مایع= g/ml 01/ . ، زمان تماس = 4 ساعت ، (c,b,d) : ریت جامد- مایع= g/ml 06/ . ، زمان تماس = 60 دقیقه)..... 79

شکل 4-11 : نمودارهای خطی شده ایزوترم فرندلیچ برای هرچهار جاذب مصرفی (در شرایط آزمایشگاهی بهینه، (a) : ریت جامد- مایع= g/ml 01/ . ، زمان تماس = 4 ساعت ، (c,b,d) : ریت جامد- مایع= g/ml 06/ . ، زمان تماس = 60 دقیقه)..... 81

شکل 4-12 : نمودارهای خطی شده ایزوترم تمکین برای هرچهار جاذب مصرفی (در شرایط آزمایشگاهی بهینه، (a) : ریت جامد- مایع= g/ml 01/ . ، زمان تماس = 4 ساعت ، (c,b,d) : ریت جامد- مایع= g/ml 06/ . ، زمان تماس = 60 دقیقه)..... 83

شکل 4-13 : نمودارهای خطی شده ایزوترم دوبنین رادوشکیویچ برای هرچهار جاذب مصرفی (در شرایط آزمایشگاهی بهینه، (a) : ریت جامد- مایع= g/ml 01/ . ، زمان تماس = 4 ساعت ، (c,b,d) : ریت جامد- مایع= g/ml 06/ . ، زمان تماس = 60 دقیقه)..... 85

شکل 4-14 : نمودار چهار ایزوترم برای جاذب Aerosil 86

شکل 4-15 : نمودار چهار ایزوترم برای جاذب‌های Celite 87

عنوان **صفحه**

شکل 4-16 : نمودارهای خطی شده مدل شبه درجه اول برای هرچهار جاذب مصرفی (غلظت اولیه : 42µg/mlو در شرایط آزمایشگاهی بهینه، ریت جامد- مایع : (a) 01/ . g/ml ، (c,b,d) 06/ . g/ml).....89

شکل 4-17 : نمودارهای خطی شده مدل شبه درجه دوم برای هرچهار جاذب مصرفی (غلظت اولیه : 42µg/mlو در شرایط آزمایشگاهی بهینه، ریت جامد- مایع : (a) 01/ . g/ml ، (c,b,d) 06/ . g/ml).....91

شکل 4-18 : نمودارهای خطی شده مدل الوویچ برای هرچهار جاذب مصرفی (غلظت اولیه : 42µg/mlو در شرایط آزمایشگاهی بهینه، ریت جامد- مایع : (a) 01/ . g/ml ، (c,b,d) 06/ . g/ml).....93

شکل 4-19 : نمودارهای خطی شده مدل نفوذ درون ذره‌ایی برای هرچهار جاذب مصرفی (غلظت اولیه : 42µg/mlو در شرایط آزمایشگاهی بهینه، ریت جامد- مایع : (a) 01/ . g/ml ، (c,b,d) 06/ . g/ml).....95

شکل 4-20 : نمودار چهار مدل سینتیک برای جاذب Aerosil 96

شکل 4-21 : نمودار چهار مدل سینتیک برای جاذب‌های Celite 97

شکل 4-22 : تصاویر جاذب‌های مصرفی قبل از فرایند جذب..... 98

شکل 4-23 : تصاویر جاذب‌هایAerosil و Celite-C بعد از فرایند جذب و بعد از فرایتد دفع.....99

شکل 4-24 : طیف FTIR جاذب Aerosil قبل از فرایند جذب، بعد از فرایند جذب و بعد از فرایتد دفع.....100

شکل 4-25 : طیف FTIR جاذب‌های Celite قبل از فرایند جذب، بعد از فرایند جذب و بعد از فرایتد دفع...101

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول 2-1 : اثر pH بر روی مقدار آنتی ژن جذب شده و مقدارکل پروتئین ، 44

جدول 2-2 : اثر غلظت دی اکسی کلات سدیم بر روی آنتی ژن جذب شده توسط جاذب Aerosil، 45

جدول 3-1 : ویژگی‌های جاذب‌های مصرفی 49

جدول 3-2 : پارامترها و سطوح برای جاذب Celite 54

جدول 3-3 : طراحی آزمایشات به روش تاگوچی برای جاذب Celite 54

جدول 3-4 : پارامترها و سطوح برای جاذب Aerosil.....55

جدول 3-5 : طریقه درست کردن بافرهای مرحله دفع برای جاذب Aerosil.....56

جدول 3-6 : طراحی آزمایشات به روش تاگوچی برای جاذب Aerosil.....56

جدول 4-1 : نتایج طراحی آزمایشات برای جاذب Celite-B جهت بهبود راندمان جداسازی.....65

جدول 4-2 : نتایج طراحی آزمایشات برای جاذب Aerosil جهت بهبود راندمان جداسازی.....66

جدول 4-3 : شرایط بهینه جداسازی توسط جاذب های مصرفی.....66

جدول 4-4 : مقایسه میزان راندمان جداسازی آنتی ژن هپاتیت ب توسط جاذب های مصرفی.....67

جدول 4-5 : ثوابت ایزوترم‌های لانگمویر و فرندلیچ برای جاذب‌های مصرفی.....85

جدول 4-6 : ثوابت ایزوترم‌های تمکین و دوبین رادوشکیویچ برای جاذب‌های مصرفی.....86

جدول 4-7 : ثوابت سینتیک‌های مدل شبه درجه اول و شبه درجه دوم برای جاذب‌های مصرفی.....96

جدول 4-8 : ثوابت سینتیک‌های مدل الوویچ و نفوذ درون ذره‌ایی برای جاذب‌های مصرفی.....96

پیشگفتار

ویروس هپاتیت‌ب مهمترین عامل در بروز بیماری های عفونی کبد انسان است . تاکنون دو نوع واکسن برای کنترل و پیشگیری این عفونت استفاده شده است . نوع اول ، واکسن پلاسمایی بوده که از استخراج ذرات آنتی ژن (HB_S) از پلاسمای افراد مبتلا به عفونت مزمن به دست آمده است ، این واکسن به خاطر خطرات بالقوه ای که داشت عملاً از رده خارج شده است . نوع دوم ، واکسن نوترکیب است که در حال حاظر از این نوع استفاده می‌شود ، بنابراین آنتی ژن سطحی هپاتیت‌ب هم‌اکنون به روش نوترکیب توسط کشت مخمر تولید می‌شود . این پروتئین به صورت درون سلولی به همراه سایر پروتئین و آنزیم‌های دیگر تولید می‌شود . روشهای مختلفی برای تخلیص آنتی ژن سطحی هپاتیت‌ب ، از جمله کروماتوگرافی تبادلگر یونی ، افینیتی ، ژل فیلتراسیون و اولتراسانتریفوژ وجود دارد .اگرچه با استفاده از کروماتوگرافی افینیتی می‌توان به درجه خلوص بالا دست یافت ، اما درحال حاضر این ژل در کشور ما تولید نمی‌شود و تهیه آن مشکل و هزینه بر است از طرفی زمانی که پروتئین با بار آلودگی زیاد به این ستون اعمال می‌شود بازدهی ستون کروماتوگرافی افینیتی را کاهش داده و این ژل خیلی زود خراب می‌شود . بنابراین لازم است قبل از خالص سازی نهایی ، یک مرحله خالص سازی اولیه بر مخلوط پروتئینی اعمال شود ، لذا با افزودن مرحله جذب سطحی به فرآیند تخلیص با افزایش خلوص میان محصول ورودی به ستون کروماتوگرافی افینیتی ، در نهایت موجب افزایش کارایی این ستون می‌گردد.

بنابرین هدف ما در طی عملیات جذب و دفع ، با تغییر دادن شرایط محیط از جمله دما ، pH ، بافر حاوی پروتئین ها ، مدت زمان تماس جاذب با جذب شونده و حتی تغییر دادن نوع جاذب ، راندمان جاذب یا فرایند جذب بهبود داده شود و در ادامه بهترین جاذب از میان چهار جاذب مصرفی از نظر راندمان جداسازی انتخاب گردد .

این پروژه در پنج فصل گرد آوری شده است . در فصل اول و دوم به بیان مطالب تئوری و کارهای مشابه انجام شده در مقالات پرداخته می‌شود ، در فصل سوم نحوه انجام آزمایشات و طراحی آزمایش بیان می‌گردد و در فصل چهارم به بررسی نتایج بدست آمده می‌پردازیم ، سپس در آخرین فصل نتیجه گیری و پیشنهادات بیان می‌شود.