



INSTITUTO
SUPERIOR
TÉCNICO

Laboratórios Abertos 2008

Departamento de Engenharia Química e Biológica



Laboratórios Abertos
4ª Edição

18-22 de Fevereiro de 2008

Actividades:

(Cada turno tem a duração de 2 h 30 min)

➤ **Experiências no Laboratório**

Módulo 1:

- Corrosão e Novos Materiais
- Análises Químicas, para quê?
- Novas Tecnologias

Ou

Módulo 2:

- A Microbiologia na época da Genómica
- Produtos Biológicos, como se produzem e purificam?

➤ **Visita a um Laboratórios de Investigação**

➤ **Show do Azoto**

➤ **O que fazem os Engenheiros?**

➤ **Palestras:**

- Energia, que Futuro?
- Divisão Celular no Tratamento do Cancro
- Ambiente
- Biotechnologia – fábricas celulares
- Qualidade dos Alimentos

Actividades:

2ª feira – 6ª feira

Manhã: 10 – 12 h 30 min

Tarde: 14 – 16 h 30 min

Inscrições (até 16/01/2008):

Conceição Venâncio

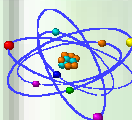

Tel. 218419184

Fax. 218417246

Email: lic.deq@ist.utl.pt

Laboratórios Abertos

14 - 22 de Fevereiro

2   8



Palestras:

- Ambiente, Prof^a Dr^a Helena Pinheiro
- Energia, que Futuro?, Prof. Dr. Clemente Pedro Nunes
- Divisão Celular no Tratamento do Cancro, Prof. Dr. Álvaro Tavares
- Que segurança?, Prof^a Dr^a Fernanda Carvalho
- Qualidade dos Alimentos, Prof. Dr. José Empis
- O Laboratório de Análises do IST, Doutora Cândida Vaz
- Biotecnologia – fábricas celulares, Prof. Dr. José Cardoso Menezes
- Refinação de petróleo e produção de combustíveis, Prof^a Dr^a Filipa Ribeiro
- Pózinhos milagrosos, Prof^a Dr^a Ana Paula Soares
- A Química e a Medicina na Rota das Novas Descobertas, Prof^a Dra^a Amélia Seabra



Visitas a um Laboratório de Investigação



Experiências no Laboratório

- Corrosão e Novos Materiais
- Análises Químicas, para quê?
- Novas tecnologias
- A Microbiologia na época da Genómica
- Produtos Biológicos, como se produzem e purificam?



Show do Azoto



O que fazem os Engenheiros?

Patrocínios:





Departamento de Engenharia Química e Biológica

Laboratórios Abertos 2008

MÓDULO 1

- Quente ou frio
- Qual a cor da solução
- Agita-me que eu fico azul
- Visualização da corrosão
- Paleta de cores – a couve roxa
- Presença de amido em alimentos
- Análise de alimentos
- Actividade anti-oxidante
- Quimiluminescência do pirogalol e luminol
- Análise em investigação criminal
- Análise do ar
- Raposa
- Série de equipamentos
- Tecnologia



INSTITUTO
SUPERIOR
TÉCNICO

Laboratórios Abertos

Departamento de Engenharia Química e Biológica

Química Visual *Enigmas que a Química Explica*

Descrição das experiências laboratoriais

1. *Agita-me que fico azul.*

Uma reacção redox que explica o mistério de uma solução que fica azul sempre que se agita.

2. *Quente ou frio*

A solução que muda de cor com a temperatura revela o equilíbrio químico em acção.

3. *Qual a cor da solução*

Emissão e absorção de luz explicam o enigma de uma solução que tem cores diferentes consoante a forma como se olha para ela.

Quente ou Frio

A solução que muda de cor com a temperatura

Esta experiência mostra como o equilíbrio químico pode ser alterado com a temperatura.

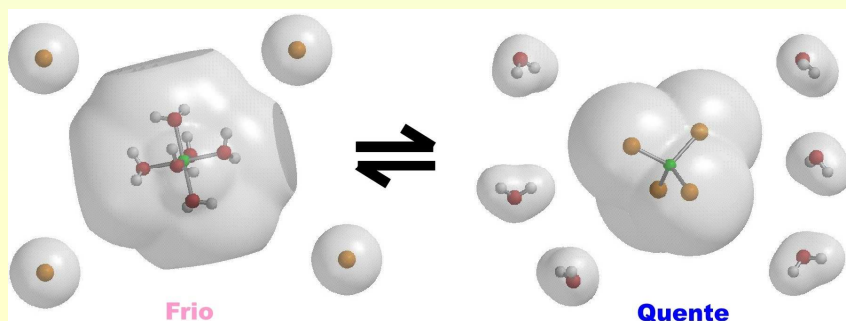
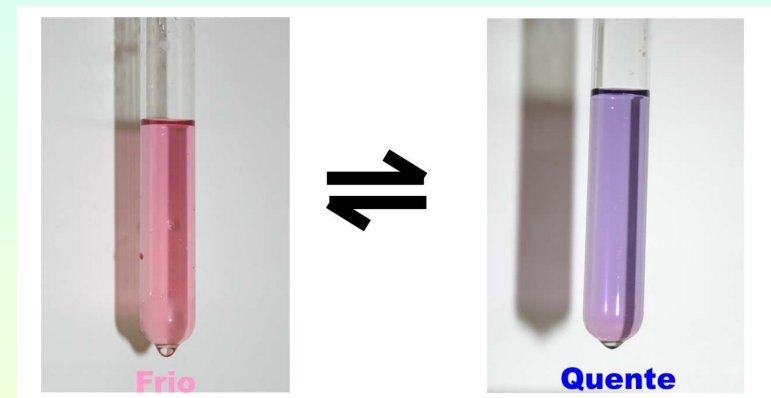
O balão que está na bancada contém uma solução que:

- Num banho de gelo apresenta uma coloração rosa pálido
- Em água a ferver apresenta uma coloração azul

Porquê?

O balão contém uma solução de cloreto de cobalto e cloreto de sódio. O cobalto, quando em solução aquosa:

- A baixa temperatura forma um complexo com seis moléculas de água. Complexo este que confere uma tonalidade rosa à solução
- Este complexo está em equilíbrio com um outro complexo com quatro cloretos, que confere à solução uma tonalidade azul.



- A reacção de formação do clorocomplexo a partir do aquocomplexo é endotérmica (consome energia).

Quando se fornece energia à solução contendo o aquocomplexo este vai-se transformando gradualmente no clorocomplexo.

Qual a Cor da Solução

Um mistério colorido

Nesta experiência vemos como um mesmo objecto pode ter dois aspectos completamente diferentes, consoante o ângulo pelo qual o observamos.

O balão que está na bancada, quando iluminado de um dos lados com uma luz forte apresentará:

- um aspecto de uma solução límpida de um vermelho profundo, se o olharmos do lado contrário ao da iluminação
- ou um aspecto verde brilhante, se o olharmos do lado em que incide a luz.

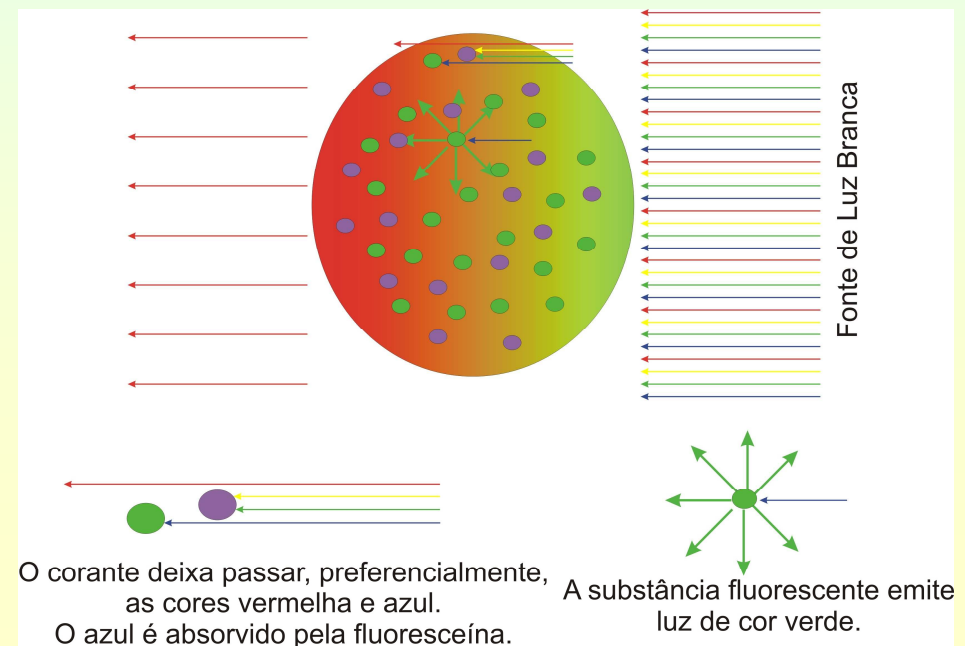
Porquê?

O balão contém dois componentes distintos:

- um corante (o azul de bromofenol em meio alcalino) que, em combinação com a fluoresceína, faz com que a solução deixe passar unicamente a radiação de cor vermelha
- uma substância fluorescente (a fluoresceína de sódio) - absorve uma parte da radiação que sobre ela incide e emite luz com uma tonalidade verde.

Assim, do lado do balão em que incide a luz, o efeito preponderante será a emissão provocada pela fluoresceína, dando à solução um aspecto verde brilhante. Do lado oposto à incidência da luz, a solução apresenta o aspecto de solução límpida de cor vermelha.

Esta experiência permite ainda demonstrar a diferença entre luz emitida e luz absorvida. A cor da solução que se observa do “lado vermelho” deve-se à absorção de componentes da luz branca incidente por parte do corante. Esta é a forma como, por exemplo, os óculos escuros alteram a cor do ambiente de quem olha através deles. Pelo contrário, a cor da solução que se observa do “lado verde” deve-se à emissão de luz por parte da fluoresceína. A emissão é a forma pela qual, por exemplo, as imagens são construídas numa televisão.



Agita-me que eu fico azul

Esta experiência mostra como a transferência de matéria pode ser importante para uma reacção química.

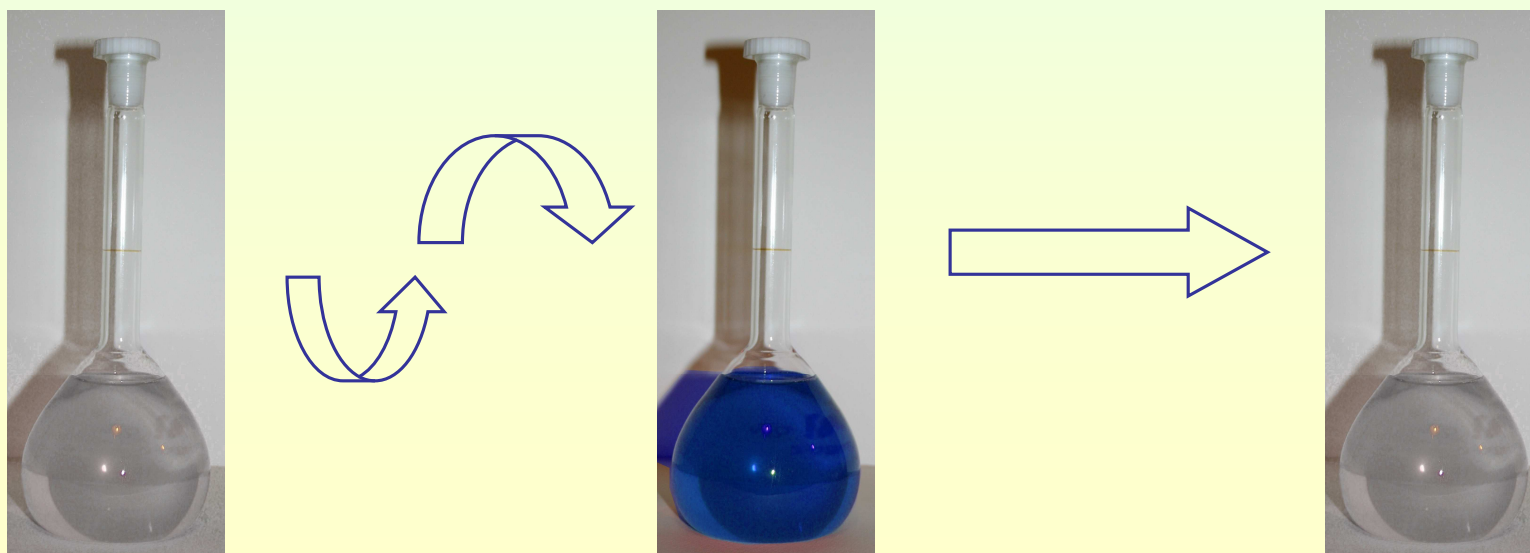
O balão que está na bancada tem uma solução que:

- Quando em repouso se apresenta incolor
- Quando se agita apresenta uma coloração azul

Porquê?

O balão contém uma solução básica de glucose com azul de metileno:

- O azul de metileno é reduzido pela glucose - incolor
- Quando a solução é agitada o azul de metileno é oxidado pelo oxigénio do ar - tonalidade azul
- Quando a solução volta ao estado de repouso o azul de metileno é novamente reduzido pela glucose, fazendo com que a solução volte a ficar incolor.



Visualização da corrosão

Como se forma a ferrugem ?

1. Pregos de ferro (Fe) que se “transformam” em iões Fe^{2+} .
Visualização - cor azul do composto $\text{Na} \{ \text{Fe}[\text{Fe}(\text{CN})_6] \}$

2. Quando os iões de Fe^{2+} se formam,

H^+ passa a H_2

ou

O_2 passa à forma de H_2O

com a conseqüente aumento do pH - **côr rosa da fenolftaleína.**

Onde ocorre a corrosão ?

Pode evitar-se ?

O Grupo de Estudos de Corrosão do IST esteve envolvido na escolha das ligas a utilizar nas moedas de 100\$00 e 200\$00.

Pretendia-se um par constituído por ligas de cor diferente, com preço aceitável e que fossem compatíveis entre si.



- As ligas deveriam ter potenciais electroquímicos semelhantes, para evitar fenómenos de corrosão galvânica que degradariam o aspecto e poderiam levar à separação entre as duas partes.

- Os testes foram feitos em vários pares de ligas, num meio que simulava o suor das mãos
- Escolheu-se o par onde a corrente galvânica fluindo entre as duas ligas metálicas era menor

Corrosão de próteses em contacto com os tecidos vivos:

Aço inoxidável 316L \rightarrow Fe / Cr18 / **Ni10** / Mo 3 Corrosão \rightarrow Libertação de iões Ni



Próteses contendo Ni

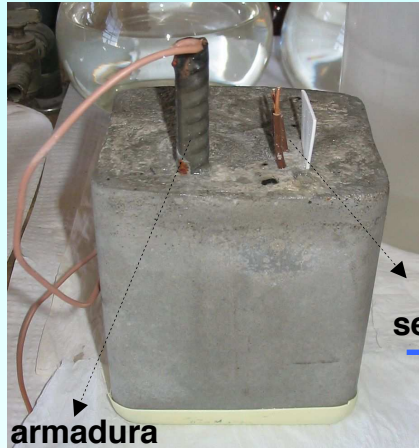
- Cerca de 10% da população feminina e 6% da população masculina são alérgicos ao **Níquel**.



Dermatite por contacto com Ni



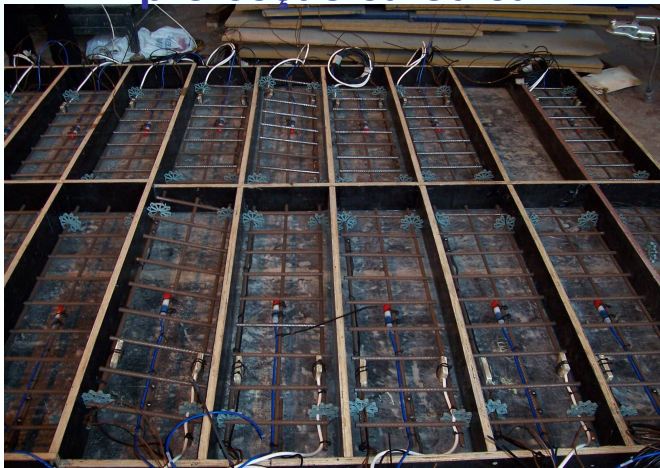
CONTROLE DA CORROSÃO DAS ARMADURAS EM ESTRUTURAS DE BETÃO ARMADO POR PROTECÇÃO CATÓDICA



Estudos de laboratório:
- Mecanismos de corrosão.
- Desenvolver metodologias de protecção.

Testes piloto para quantificar o desempenho da técnica de protecção catódica

Provetes de betão armado



Estrutura real
Protecção catódica



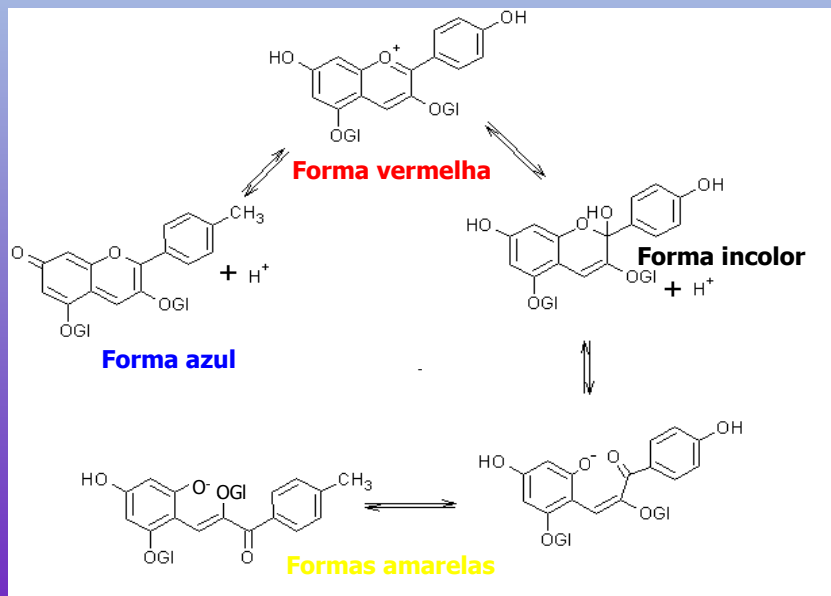
Ligação às armaduras e eléctrodos

Unidade de controle e monitorização



Paleta de cores – a couve roxa

A couve roxa contém **antocianinas**, que são pigmentos responsáveis por uma variedade de cores de frutas, flores e folhas. As suas cores variam do vermelho ao amarelo em função do pH da solução em que se encontram.



pH	Cor das antocianinas
1 – 5	vermelho / rosa
6 – 7	violeta
8 – 10	azul
11 - 12	verde
> 13	amarelo



Presença de amido em alimentos

Os hidratos de carbono são a principal fonte de energia para o corpo, mas também desempenham um papel importante no prazer que sentimos quando nos alimentamos visto que adicionam sabor doce, aroma e textura a uma larga variedade de alimentos que de outra forma não conseguiríamos ingerir.



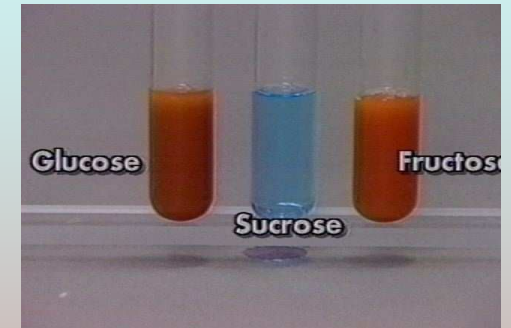
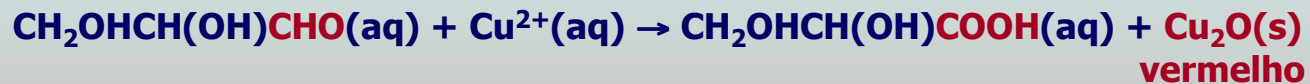
Identificação de amido



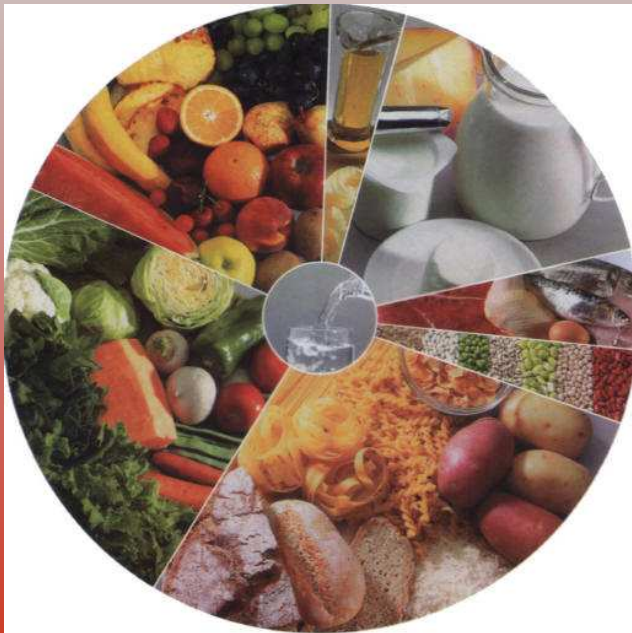
Amido: 25% amilose + 75% amilopectina

ANÁLISE DE ALIMENTOS

Identificação de açúcares redutores



Teste de Benedict



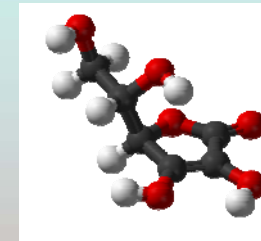
Identificação de amido



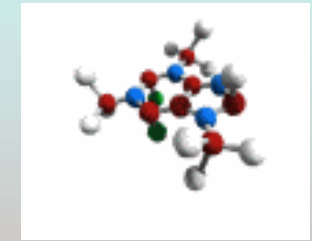
Amido: 25% amilose + 75% amilopectina

ACTIVIDADE ANTI-OXIDANTE

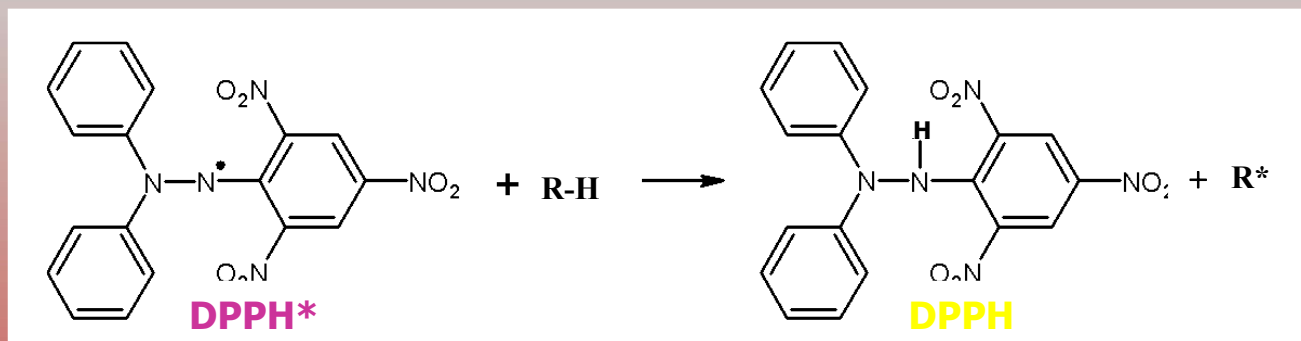
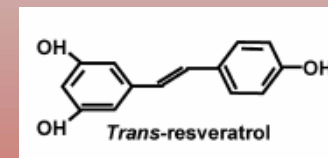
O nosso organismo produz radicais livres que são importantes no combate a inflamações. Porém, quando produzidos em excesso, são responsáveis por danos celulares e estão associados ao cancro e a processos degenerativos tais como o envelhecimento. Os anti-oxidantes interferem no processo de oxidação reagindo com os radicais livres.



vitamina C



cafeína



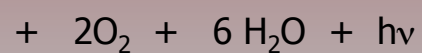
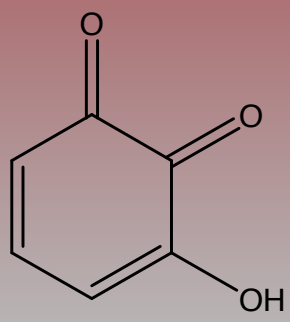
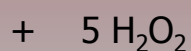
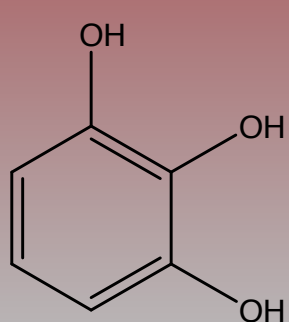
Conservação de cosméticos e anti-envelhecimento cutâneo

Anti-age para todas as idades e "gostos"

para ativos anti-age são a atender ao desejo dos consumidores, racionalidade e diversidade.

ANTI-OXIDANTES	ALIMENTOS
Vitamina A	Melão, pêra, abóbora, cenoura
Vitamina C	Laranja, kiwi, morango, espinafres
Vitamina E	Nozes, amêndoas, grão, lacticínios
Carotenóides	Tomate, pimento, goiaba, melancia
Flavenóides	Chá, vinho tinto, cebola, soja, maçã
Selénio	Frutos do mar, carne, vegetais, alho
Zinco	Carne vermelha, peixe, aves

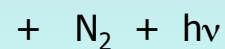
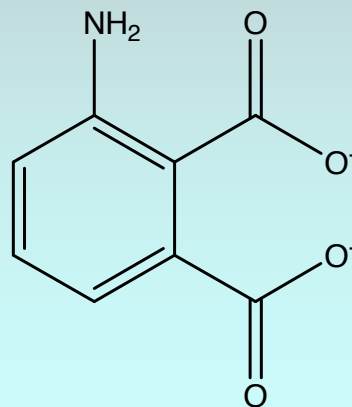
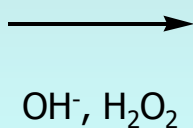
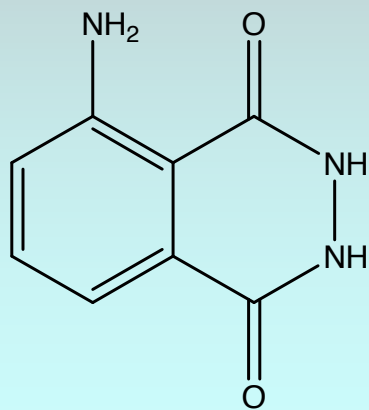
Quimiluminescência do Pirogalol e do Luminol



$$\lambda = 633,703 \text{ nm}$$



Pyrogallol



$$\lambda = 431 \text{ nm}$$



Luminol

ANÁLISE EM INVESTIGAÇÃO CRIMINAL

Despiste da presença de mercúrio num preparado gástrico

Teste de Reinsch - Reacção de redução da espécie com formação de um depósito sólido sobre o fio de cobre.

Espécie	Depósito sobre fio cobre	Sensibilidade (mg/L)
As	Preto	5
Bi	Preto brilhante	2
Hg	Cor de prata	2
Sb	Púrpura escuro	2

ANÁLISE DO AR

Decretos-Lei nº 78/2006 e 79/2006



Os analisadores de ar permitem dosear mais de 350 gases, vapores ou aerossóis. A quantificação realiza-se colorimetricamente de modo extremamente rápido.

Qualidade do ar interior

Parâmetros	Concentração máxima
Partículas suspensas no ar	0,15 mg/m ³
Dióxido de carbono	1800 mg/m ³
Monóxido de carbono	12,5 mg/m ³
Ozono	0,2 mg/m ³
Formaldeído	0,1 mg/m ³
Compostos orgânicos voláteis	0,6 mg/m ³
Bactérias	500 UFC
Fungos	500 UFC
Legionella	100 UFC



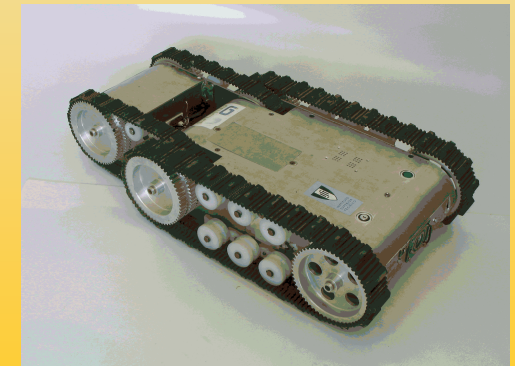
Canário



Analisador manual e tubos colorimétricos



Analisador com chips



Robot Raposa

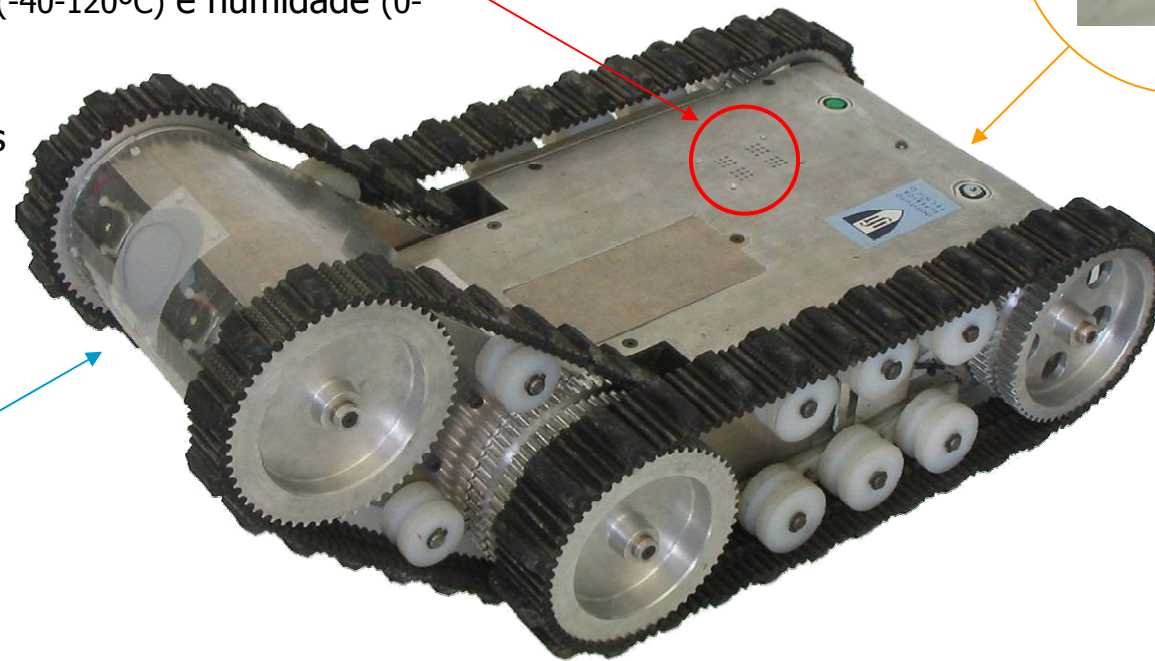
Raposa

Robot de Busca e Salvamento, projectado para operar em ambientes hostis à presença humana

Sensores meio ambiente: gases explosivos (metano, propano, butano 500-10000 ppm), CO (20-1000 ppm), sulfureto de hidrogénio (5-100 ppm), temperatura (-40-120°C) e humidade (0-100%)

Webcams frontais LEDs
iluminação
Câmara térmica

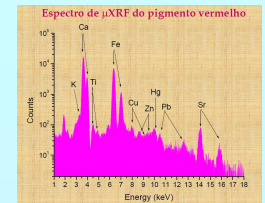
Cabo umbilical acoplável
(alimentação, comunicações)



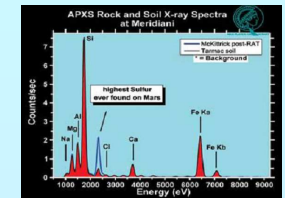
OUTROS EQUIPAMENTOS NO IST

• FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X

Análise de pigmentos em fragmentos de cartonagem e amostras de linho de múmias egípcias

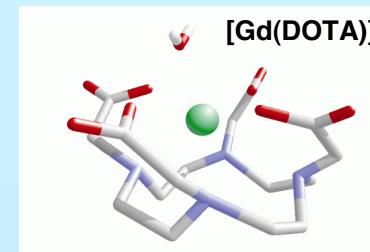


Enxofre em Marte



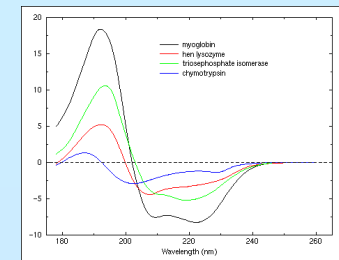
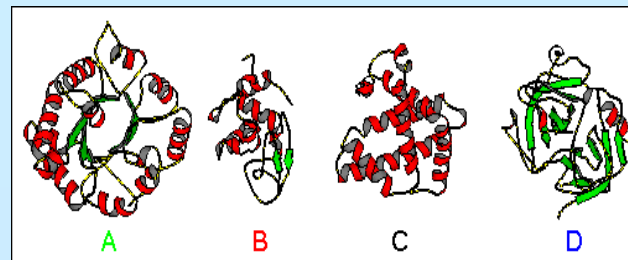
• RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Avaliação de lesões ósseas e dos tecidos moles



• DICROÍSMO CIRCULAR

Estrutura das proteínas



HPLC – CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

- **Indústria Farmacêutica**

Controlo qualidade em formulações farmacêuticas

Ex: Ácido acetilsalicílico em comprimidos



- **Indústria Alimentar**

Vitaminas A, C e E

Cafeína em bebidas

Pesquisa de conservantes



- **Investigação Criminal e Arqueológica**

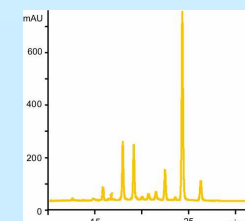
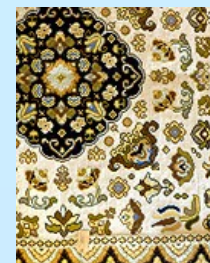
Datação de dentes

(relação D-/L- ácido aspártico em dentina)



- **Património Cultural**

Análise pigmentos em tapetes e pinturas



CI – CROMATOGRAFIA IÓNICA

- **Prevenção e Controlo da Poluição Ambiental**

Controlo de qualidade (catiões e aniões) em águas de abastecimento e engarrafadas

Nitrato em resíduos (lixeiros)



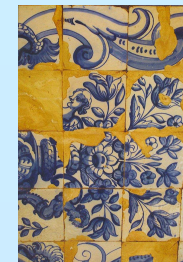
- **Saúde**

Controlo de qualidade (catiões e aniões) em águas de hemodiálise



- **Património Cultural**

Composição das eflorescências em azulejos



AA – ABSORÇÃO ATÓMICA COM CHAMA

- **Prevenção e Controlo da Poluição Ambiental**

Metais pesados em efluentes



Metais em plantas de solos contaminados



Digestão em micro-ondas

- **Indústria Alimentar**

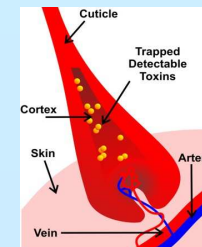
Cu e Fe em vinhos e aguardentes

Ca em produtos lácteos



- **Investigação Criminal**

Detecção de arsénio na pele, unhas e cabelo





INSTITUTO
SUPERIOR
TÉCNICO

Laboratórios Abertos

Departamento de Engenharia Química e Biológica

QUÍMICA E O AMBIENTE

Trabalhos expostos

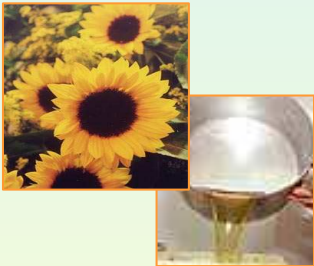
1. *Desenvolvimento de Catalisadores para Tratamento dos Gases de Combustão / Escape dos Automóveis*
2. *Produção de Biodiesel a partir de Óleos de Fritura Usados.*
3. *Processos com Membranas para Tratamento de Águas /Efluentes*
4. *Aplicação de Polímeros Super-Absorventes para Tratamento de Efluentes*
5. *Utilização de espumas de poliésteres de célula aberta com características hidrofóbicas capaz de conter e absorver derrames de petróleo no mar*
6. *Sistema de controle de nível*
7. *Máquina de refrigeração*



Fontes de energia alternativas ao Petróleo

Actuais

Biodiesel



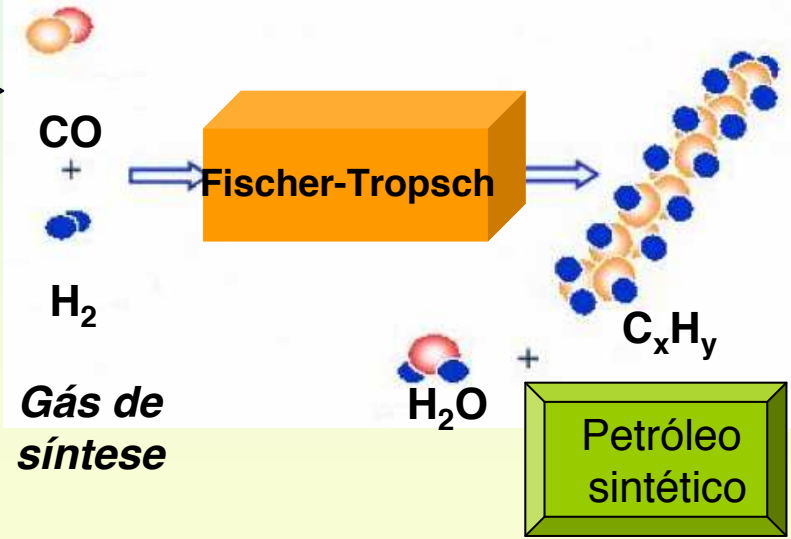
Bioetanol



Electricidade



Futuras



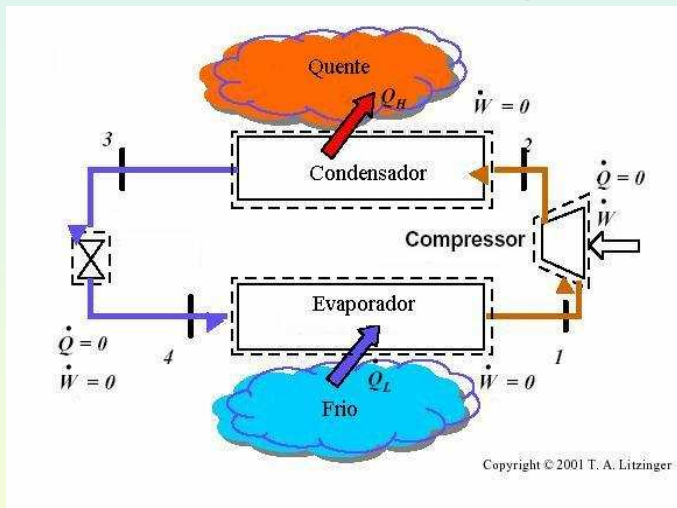
Biocombustíveis 2ª geração

Hidrogénio



Máquina de Refrigeração / Bomba de Calor

Ciclo de Refrigeração



Fluidos Refrigerantes → CFC; HCFC; HFC →
Destruição da Camada de Ozono / Efeito de Estufa



R134 → C₂H₂F₆ → sem Cl →
→ Destruição Camada de O₃ - ✗ (não)
Efeito de Estufa - ✓



Sistema de Condicionamento de Ar Deficiente



Má Qualidade do Ar interior →
Síndrome do Edifício Doente



Departamento de Engenharia Química e Biológica

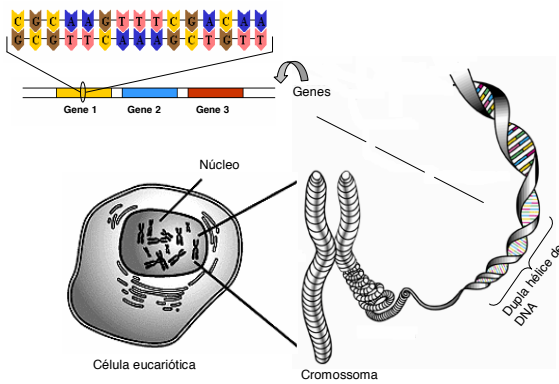
Laboratórios Abertos 2008

MÓDULO 2

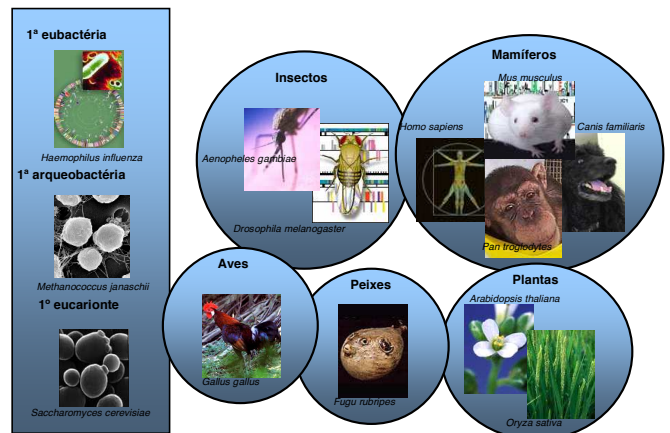
- Mecanismos de resistência a fármacos: estudos dinamizados pela sequenciação de genomas
- Mecanismos de infecção bacteriana: relação bactéria-hospedeiro na fatura e na doença
- Produção de gelano: um polissacárido extracelular de interesse industrial
- Produtos biológicos, como se produzem e purificam?

MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A FÁRMACOS: ESTUDOS DINAMIZADOS PELA SEQUENCIAÇÃO DE GENOMAS

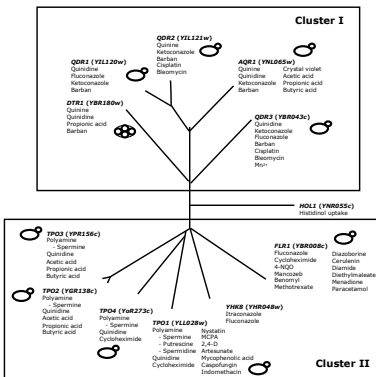
Sequenciação de genomas



Exemplos de organismos com o genoma sequenciado

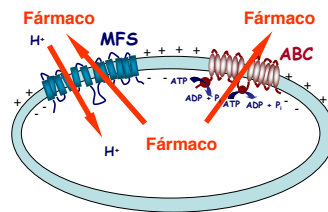


Milhares de genes de função desconhecida Exemplo da família MFS-MDR da levedura *Saccharomyces cerevisiae*

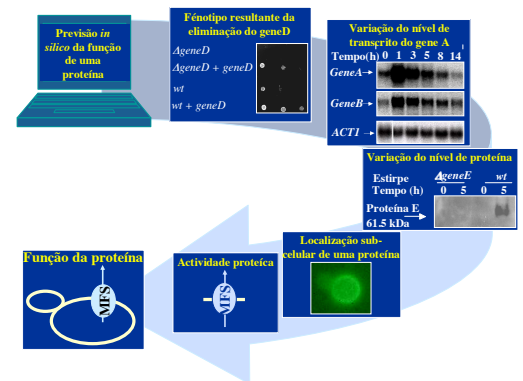


Análise funcional: da ORF (grelha de leitura aberta) à função fisiológica

TRANSPORTADORES DE MÚLTIPLAS DROGAS NA LEVEDURA

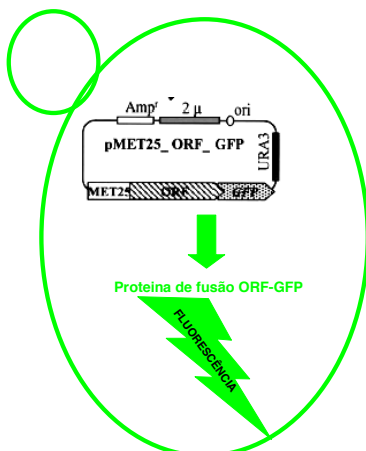


Estudos em levedura têm conduzido à identificação de determinantes e mecanismos de resistência a agentes antimaláricos, anticancerígenos e antifúngicos em eucariotas superiores



Localização subcelular de uma proteína

GFP= Green Fluorescence Protein da alforreca *Aequoria victoria*

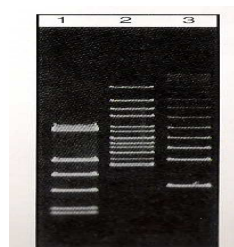


Extracção de DNA plasmídico

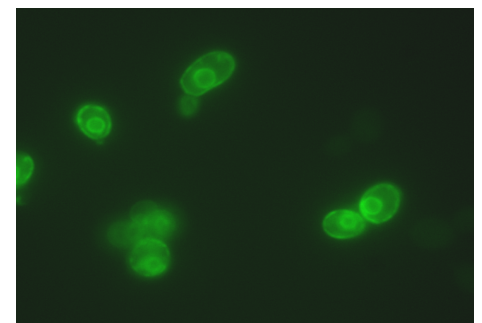
Hidrólise com endonucleases de restrição

Separação dos fragmentos de restrição por electroforese em gel de agarose

Visualização e fracionamento dos fragmentos por irradiação com luz ultravioleta



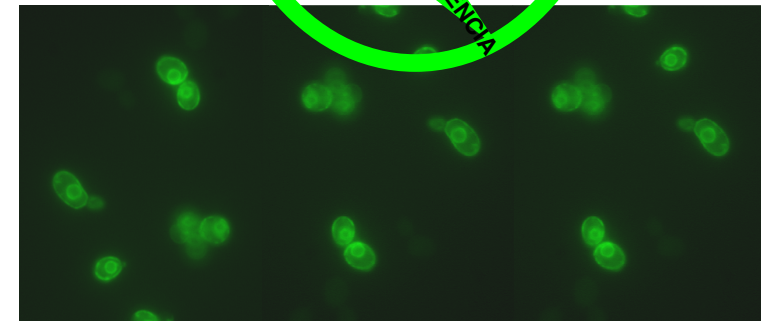
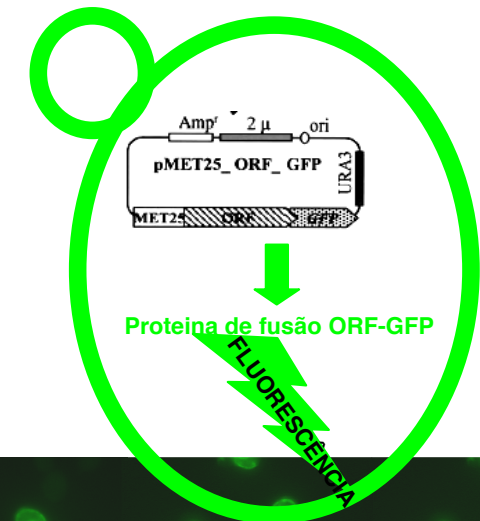
Visualização por microscopia de fluorescência da proteína em estudo



LABORATÓRIOS ABERTOS

ACTIVIDADE **A1**
MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A FÁRMACOS

Microscópio de Epi-fluorescência



Visualização da localização sub-celular de uma proteína em células de levedura que sintetizam proteína híbrida resultante da fusão da proteína de interesse com a proteína GFP (Green Fluorescent Proteína de *Aequoria victoria*)



INSTITUTO
SUPERIOR
TÉCNICO

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E BIOLÓGICA

MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A FÁRMACOS

Análise transcritômica

Controlo

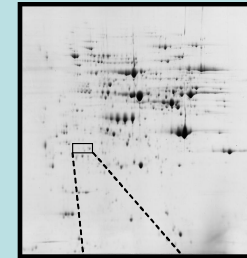


Stresse

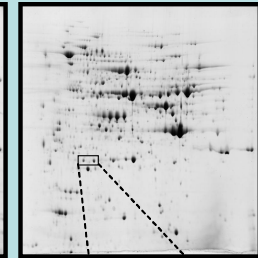


Análise proteómica

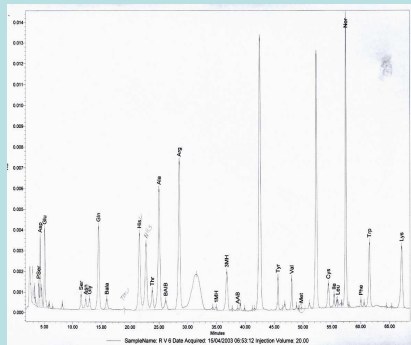
Controlo



Stresse

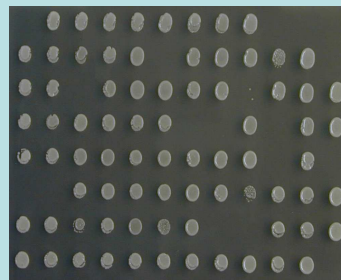


Análise metabolómica

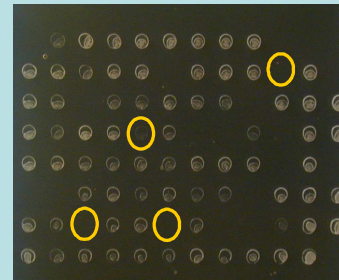


Análise quimiogenómica

Controlo



Stresse



Ferramentas computacionais para análise bioinformática

Base de dados
YEASTRACT
www.yeasttract.com

MECANISMOS DE INFECCÃO BACTERIANA: RELAÇÃO BACTÉRIA-HOSPEDEIRO NA FARTURA E NA DOENÇA

Infeção de raízes de plantas leguminosas com bactérias fixadoras de azoto do género *Rhizobium*



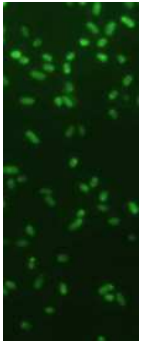
Infeção de doentes de fibrose quística com bactérias do complexo *Burkholderia cepacia*

Fibrose Quística em Portugal

- 1 em cada 5000 recém-nascidos, 30 novo pacientes/ano
- Aproximadamente 300 pacientes

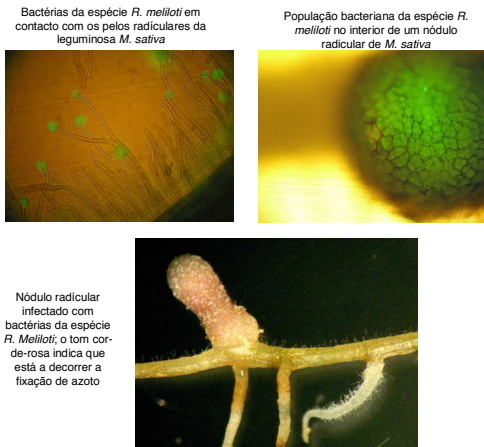
Centro de Fibrose Quística do Hospital de Santa Maria em Lisboa

- 100 pacientes com Fibrose Quística
- Acompanhamento de adultos e crianças
- Acompanha a população das zonas de Lisboa, Sul, Madeira e Açores



Estima-se que a colonização pulmonar dos doentes com FQ com bactérias do complexo *B. cepacia* reduza significativamente a sua sobrevivência e que cerca de 20% a 30% dos doentes sucumbam ao "síndrome da cepacia".

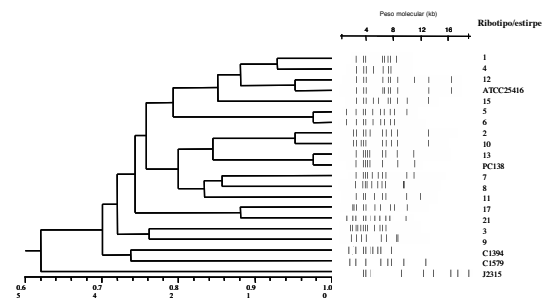
Identificação dos mecanismos de infeção de raízes da planta *Medicago sativa* por *Rhizobium meliloti*



Trabalho realizado em colaboração com a Prof. Anke Becker da Universidade de Bielefeld, na Alemanha

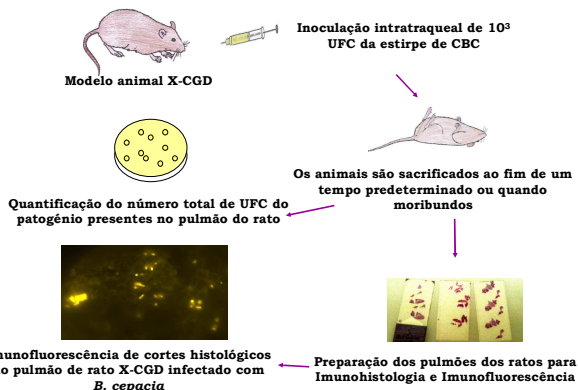
Estudos epidemiológicos da população de bactérias do complexo *Burkholderia cepacia* em doentes com fibrose quística

IMPRESSÃO DIGITAL DE BACTÉRIAS



OBJECTIVO: Permite identificar clones infecciosos, avaliar a possibilidade de transmissão de estirpes entre pacientes e esclarecer a origem e a disseminação de estirpes causadoras de surtos infecciosos.

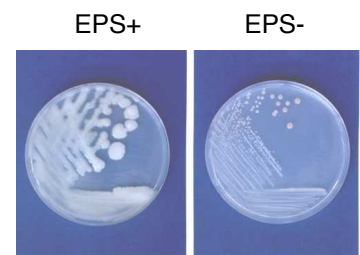
Identificação de mecanismos de virulência e infeção usando como modelos o rato e o nemátodo *Caenorhabditis elegans*



O nemátodo *Caenorhabditis elegans* está a ser utilizado como modelo de infeção por bactérias do complexo *Burkholderia cepacia* com vista a identificar novos determinantes de virulência. Nesse sentido têm sido testada uma vasta coleção de mutantes.

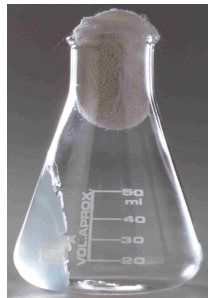
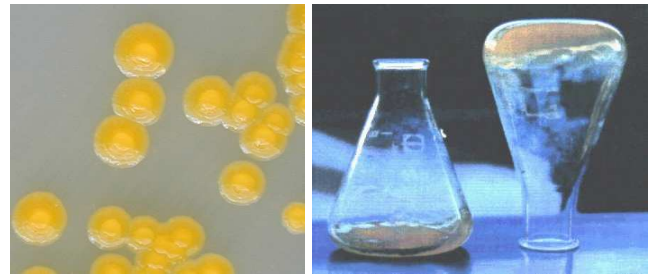


Produção de Exopolissacárido: um dos factores que afectam a virulência, a resistência e a persistência de bactérias nos hospedeiros



PRODUÇÃO DE GELANO: UM POLISSACÁRIDO EXTRACELULAR DE INTERESSE INDUSTRIAL

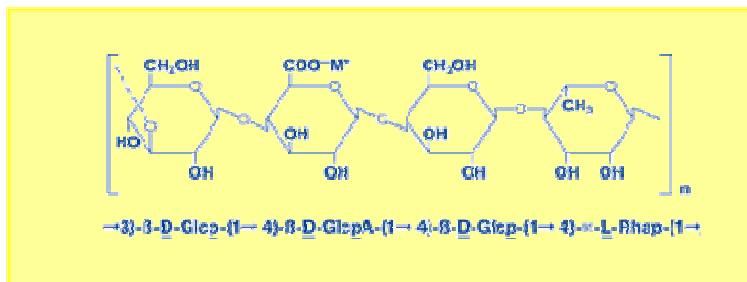
O **gelano** é um agente gelificante com interesse comercial, produzido com elevado rendimento pela estirpe bacteriana *Sphingomonas elodea* ATCC31461. É um polissacárido constituído por uma unidade tetrassacarídica linear repetitiva contendo duas moléculas de D-glucose, uma de ácido-D-glucurónico e uma de L-ramnose, na razão de 2:1:1 parcialmente esterificada com grupos glicerato e acetato.



Quando desacidado, é capaz de formar géis rígidos na presença de iões metálicos divalentes, como é o caso do Mg^{2+} .

É usado como substituinte do agar e de outras gomas tradicionais, com **aplicações várias nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentar.**

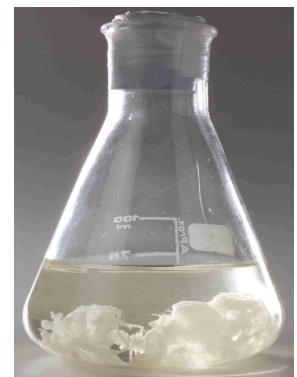
Estrutura química do gelano



Aspecto do polissacárido gelano, após purificação e liofilização

Recuperação do gelano de uma cultura em meio líquido de *S. elodea*

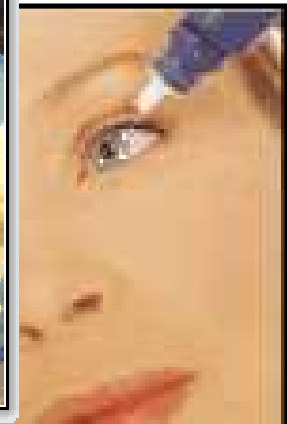
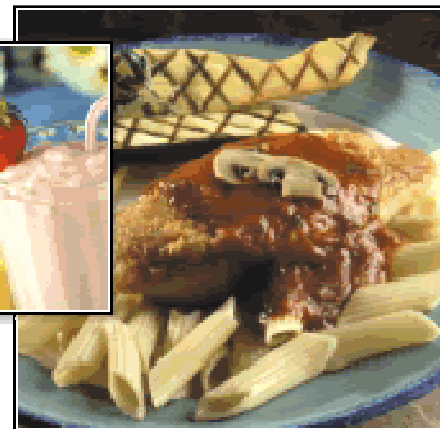
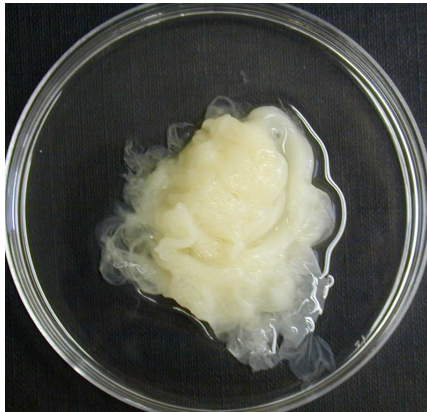
- 1 - Pipetar 2 ml de cultura para um tubo de ensaio.
- 2 – Adicionar 6 ml de etanol frio.
- 3 – Tapar o tubo com rolha de borracha ou parafilm
- 4 - Agitar até obter um precipitado de cor amarelada.
- 5 – Decantar o etanol e substituir por novo (3 ml).
- 6 – Com o auxílio de uma vareta de vidro, recolher o precipitado e deixar secar ao ar.



Sphingomonas elodea e a produção de gelano

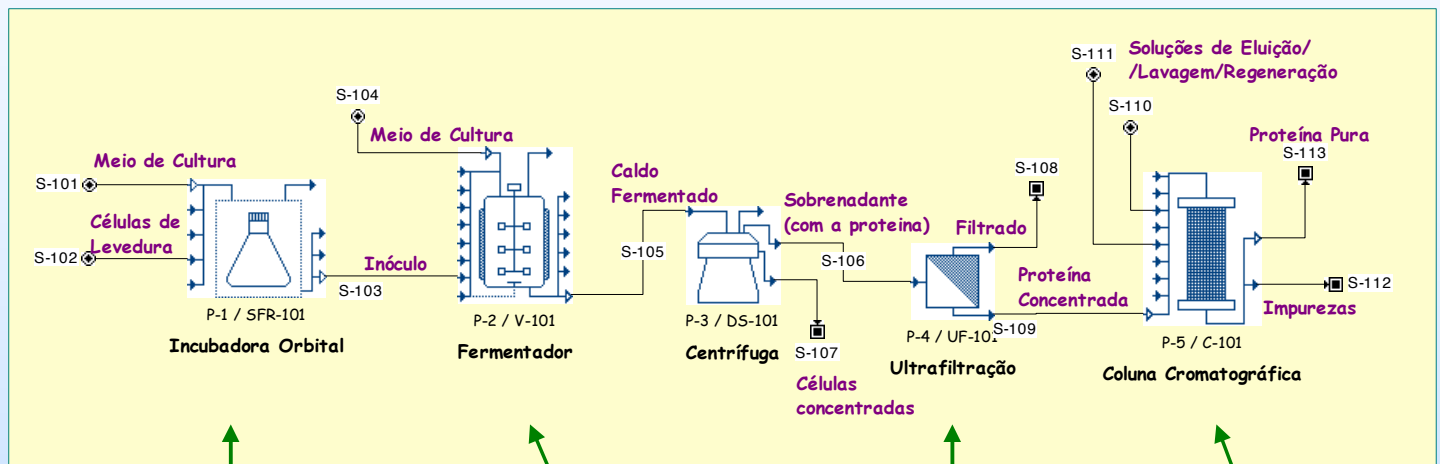


Quando multiplicada num meio de cultura apropriado, a bactéria *Sphingomonas elodea* produz o exopolissacárido **gelano**. Este exopolissacárido é um novo **gelificante comercial** que apresenta vantagens face aos convencionais. A utilização do gelano como agente gelificante, estabilizante e suspensor **nas indústrias alimentar e farmacêutica** foi aprovada inicialmente nos Estados Unidos (1992), pela Food and Drug Administration e, posteriormente, na União Europeia. O gelano é comercializado pela Kelco Comp. sob as designações Kelcogel e Gelrite.



Os **PRODUTOS BIOLÓGICOS** incluem células e seus derivados (etanol, cerveja, vinho, proteínas, enzimas, antibióticos, plasmídeos, hormonas de crescimento, etc.) com elevado interesse nas indústrias **alimentar, farmacêutica, e química.**

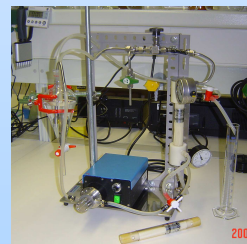
O processo de produção, separação e purificação de um produto biológico pode ser dividido várias etapas de acordo com o figura seguinte:



Incubadora Orbital



Fermentador



Sistema de Ultrafiltração



Coluna Cromatográfica

PURIFICAÇÃO e CONCENTRAÇÃO da proteína por precipitação.

A solubilidade de uma proteína em solução aquosa depende de vários factores designadamente do tamanho, da carga superficial, do pH e da força iónica (concentração salina) da solução.

A proteína em estudo pode também ser purificada e concentrada por precipitação, aumentando a concentração de sal (sulfato de amónia) em solução, ou **baixando o pH** (adição de ácido clorídrico).