

4.4. fejezet CSAPADÉKKÉPZÉS

Dr. Pécs Miklós



Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem,
Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék



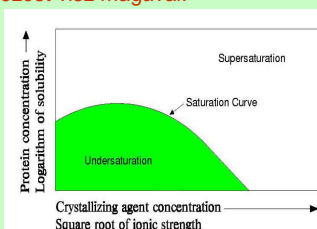
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Csapadékképzés

Túltelített oldatból amorf (rendezetlen szerkezetű) szilárd fázis leválasztása.

Ha rendezett a szerkezet = kristályosítás, lásd később.
Az amorf anyag sok szennyezőt visz magával.

1. Túltelítés
2. A kicsapást mindig szilárd-folyadék elválasztás követi (szűrés/centrifugálás)
3. Visszaoldás: a kicsapás legyen reverzibilis, és a visszaoldott termék tartsa meg a biológiai aktivitását.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

Csapadékképzés

A túltelítés létrehozása:

- Kisózás (ionerősség növelése)
- Oldószeres kicsapás (polaritás csökkentése)
- Hőmérséklet-változtatás. Lehet:
 - emeléssel: fehérjék kicsapása/denaturálása
 - (bepárlás +) hűtéssel: mint a kristályosításnál

Mindegyiknél: pH állítás → az izoelektromos pontra



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

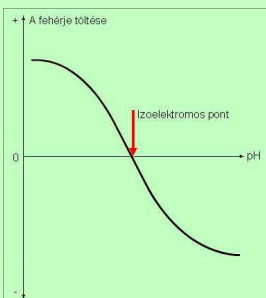
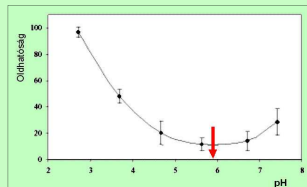
3

A pH hatása

A fehérjék töltése függ a pH-tól:

Ha a molekuláknak töltése van
→ taszítják egymást

Ha az eredő töltés megszűnik
→ könnyen összetapaszthatók



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

Oldószeres kicsapás

Vizes oldathoz elegyedő szerves oldószert (alkohol, aceton) adunk, ezzel az oldószer polaritása csökken. A poláris fehérjék oldhatósága csökken → kicsapódnak. Fokozatos adagolás esetén polaritási sorban válnak le (vérfehérjék Cohn féle frakcionálása →).

Fordítva: kicsapás/kristályosítás oldószerből vízzel. Apoláris anyagok (szteroidok, egyes antibiotikumok) oldószeres oldathoz vizet adunk, ezzel csapjuk ki a hatóanyagot.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

Oldószeres kicsapás

Irányelvek:

- Célzerű alacsony hőmérsékleten végezni, mert:
 - Csökken az oldhatóság, jobb a kihozatal
 - Csökken a denaturálódás
 - Lehet 0 °C alatt is végezni, mert az oldószer-víz elegyek fagyáspontja alacsony.
- Célzerű az ionerősséget alacsonyan (0,05-0,20) tartani (pufferolás kell, de a só növeli a polaritást)
- Hasonló fehérjék közül a nagyobb móltömegű csapódik ki először: pl. vérplazma fehérjékre:

$$\text{aceton tf\%} = 1,8 - 0,12 * \ln(\text{móltömeg})$$
- Nem ideális oldatok, a fehérjék csökkentik egymás oldhatóságát



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

Vérplazma frakcionálása etanollal

Cohn féle hideg etanolos eljárás (1946) a pH és az alkoholtartalom változtatásával lépésről lépésre csapja ki az egyes frakciókat

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Vérplazma frakcionálása etanollal

Frakció	Etanol %	pH	Fehérjék
I	8	7,2	Fibrinogén, Faktor VIII, Fibronectin, Komplement komponensek
II-III	25	6.9	IgG, IgA, IgM, Faktor II, VII, IX, X, globulinok
IV-1	18	5,2	α - és β -globulinok, AT-III, α 1-antitrypsin, IgM
IV-4	40	5,8	α - és β -globulinok, transferrin, ceruloplasmin, haptoglobin
V	40	4,8	Albumin (α - és β -globulinok)

8
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Kisózás

A kisózás mechanizmusára többféle modell is létezik:

1. Az oldószer polaritásának növelése (ellentétes az oldószeres kicsapással, az apoláris fehérjéket csapja ki).
2. A hidrátburok elvonása
3. A fehérjék ionpárokat képeznek a só ionjaival, erre formálisan felírható egy oldhatósági szorzat:

$$K = [\text{fehérje}][\text{NH}_4]^n[\text{SO}_4]^m$$

A só koncentrációjának növelésével az oldott fehérje koncentrációjának csökkennie kell \rightarrow kicsapódik

9
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Kicsapás hővel

10 perces hőkezelés után a maradék aktivitás (C/C_0):

	20°C-on	50°C-on
A	>0,999	0,91
B	>0,999	0,17

A B enzim eliminálható az A mellől.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

A csapadékképzés mechanizmusa

Szakaszai:

1. Átkeverés
2. Gócképzés
3. Gócnövekedés (diffúzió által limitált)
4. Gócnövekedés (áramlás által limitált)
5. Aggregáció
6. Elválasztás

A csapadékképzés reprodukciója, léptéknövelése nehéz, mert lokálisan, a molekulák, részecskék felületén kell azonos feltételeket biztosítani: koncentrációk (túltelítés), anyagtranszportok



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

Átkeverés

A kicsapás kiváltása mindig valamilyen folyadék hozzáadásával történik. Ennek elkeveredése sohasem pillanatszerű. Az átkeveredési idő számítható:

$$t = \frac{l^2}{4D}$$

ahol:
 l - a turbulens örvények átlagos mérete
 D - diffúziós állandó

Az örvény mérete:

$$l = \left(\frac{\rho v^3}{P/V} \right)^{1/4}$$

ρ – sűrűség v - viszkozitás
 P – teljesítmény V - térfogat



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

Gócképződés - gócnövekedés

A csapadékképződésnél a gócképződés gyors és spontán (ellentétben a kristályosítással).

Diffúziós gócnövekedés: A góc elég kicsi ahhoz, hogy Brown mozgást végezzon → tiszta diffúzió
→ Fick II. törvény

$$\frac{dc_i}{dt} = k(c_i - c^*)^2$$

$$K = 8 \cdot \pi \cdot d \cdot D \cdot N$$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

Gócnövekedés

Áramlási gócnövekedés:

A góc túl nagy ahhoz, hogy a hőmozgás megmozdítsa → a turbulens áramlás pótolja a felületen a molekulákat.

$$\frac{dc_i}{dt} = k(c_i - c^*)^2$$

Ez is másodrendű, de a k értelme más:

$$k = 2/3 \cdot \alpha \cdot N \cdot d^2 \cdot [(P/V)/(\rho \cdot v)]^{1/2}$$

α – tapadási faktor

$[(P/V)/(\rho \cdot v)]^{1/2}$ - sebesség-gradiens a folyadékban



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

17

Aggregáció

A növekvő gócek összetapadása előnyös → könnyebben ülepednek.

A koaguláció – flokkuláció szavakat többféle értelemben használják, ezért itt destabilizációról és aggregációról lesz szó.

Destabilizáció: a stabil kolloid megbontása, az egymást táasztító részecskék töltésének lecsökkentése.

Aggregáció: a részecskék összetapadása

Mindent különböző anyagok hozzáadásával lehet kiváltani.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

18

Felületi töltések

A kolloid részecskék felületén töltések vannak → erre az ellentétes töltésű ionokból kettősréteg rakódik le.

A felület → Nernst potenciál
 Stern sík → Stern potenciál
 Nyírásí sík → ζ potenciál
 Diffúzió réteg határa

The diagram illustrates the electrical double layer. On the left, a vertical line represents the particle surface with alternating positive (+) and negative (-) charges. To its right, a layer of counterions (opposite charges) is shown. Further out, a diffuse layer of ions is depicted. Key planes are marked: the Stern plane (Stern-sík) and the shear plane (Nyírásí sík). A graph below shows the potential (POTENCIÁL) versus distance (TÁVOLSÁG). The potential starts at a high value at the surface and decays towards zero. Labels on the graph include NERNST, STERN, and ζ POT.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Aggregáció sóadagolással

A töltött rétegek taszító erőt, a van der Waals kölcsönhatások vonzást generálnak. Az eredő egy potenciálgát, amin át kell lépni az összekapcsolódáshoz.

Erős elektrolitok (ásványi sók) összenyomják a felületi rétegeket → meredekebb a taszítási görbe → kisebb lesz a potenciálgát

The graph plots potential energy against distance (távolság). It shows three curves: a red curve for 'TASZÍTÁSI POTENCIÁL' (repulsive potential), a black curve for 'EREDŐ' (resultant potential), and a green curve for 'VONZÁSI POTENCIÁL' (attractive potential). The red curve is the steepest, and the black curve shows a significant energy barrier. The number '20' is in the bottom right corner.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Sweep floc coagulation

= párhuzamos csapadékképzés. Kémiai reakcióval nagy felületű, hidroxid típusú csapadékot választunk le, amelyek pelyhei eltávolítják a kolloid szemcséket.

Leggyakrabban $Al(OH)_3$, $Mg(OH)_2$, $Fe(OH)_3$ csapadék, fémsó adagolása + pH állítás.

Az idegen anyag szennyezi a csapadékot → derítésre jó

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Aggregáció ionpárképzéssel

A felületi töltéseket leárnýékolhatjuk megfelelő ellenionokkal, vagy ellentétes töltésű polielektrolitokkal.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 22

Hídképző molekulák

Hosszú láncú, tapadásra képes molekulák egyszerre több részecske felületén is kötődhetnek, ezzel „összehorgonyozzák” a szemcséket.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 23

A keverés intenzitása

A csapadékképzés különböző szakaszaiban eltérő keverési intenzitás szükséges.

1. Átkeverés	intenzív keverés
2. Göcképzés	nincs hatása
3. Diffúziós gócnövekedés	nincs hatása
4. Áramlási gócnövekedés	mérsékelt keverés
5. Aggregáció	csak kavarás

Az egyes szakaszok nem különülnek el élesen, párhuzamosan is zajlanak, ezért a szokásos keverési profil: fokozatosan lassuló keverés, kezdetben intenzív, a végén csak ülepedésgátló.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 24
