

## 4.4. fejezet CSAPADÉKKÉPZÉS

Dr. Pécs Miklós



Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem,  
Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

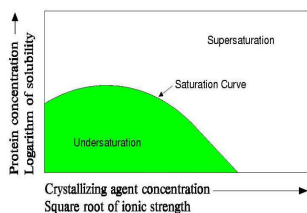
---

### Csapadékképzés

Túltelített oldatból amorf (rendetlen szerkezetű) szilárd fázis leválasztása.

Ha rendezett a szerkezet = kristályosítás, lásd később.  
Az amorf anyag sok szennyezést 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

---

---

---

---

---

---

---

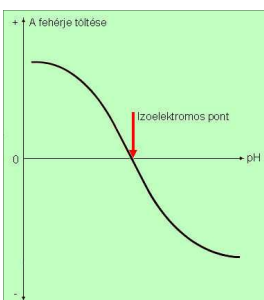
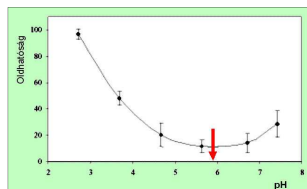
---

## 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, acetont) 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 oldatához vizet adunk, ezzel csapjuk ki a hatóanyagot.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Oldószeres kicsapás

### Irányelvek:

- Célszerű 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.
- Célszerű 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:
 
$$\text{acetontf}\% = 1,8 - 0,12 \cdot \ln(\text{móltömeg})$$
- Nem ideális oldatok, a fehérjék csökkentik egymás oldhatóságát



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

---

---

---

---

---

---

---

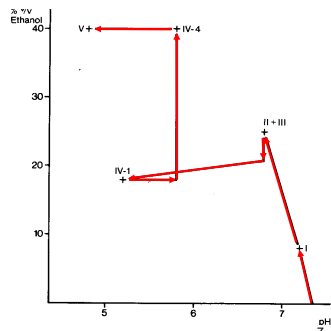
---

---

---

## 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	$\alpha$ - és $\beta$ -globulinok, AT-III, $\alpha$ 1-antitrypsin, IgM
IV-4	40	5,8	$\alpha$ - és $\beta$ -globulinok, transferrin, ceruloplasmin, haptoglobin
V	40	4,8	Albumin ( $\alpha$ - és $\beta$ -globulinok)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## 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:

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

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Kisózás

**Irányelvek**  
Az ionok hatékonysága: Hofmeister sorozat:

<b>most stabilizing</b> strongly hydrated anions	<b>most destabilizing</b> weakly hydrated anions
citrate <sup>3-</sup> >sulfate <sup>2-</sup> >phosphate <sup>2-</sup> >F <sup>-</sup> >Cl <sup>-</sup> >Br <sup>-</sup> >I <sup>-</sup> >NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> >ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	
N(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> <sup>+</sup> >NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> >Cs <sup>+</sup> >Rb <sup>+</sup> >K <sup>+</sup> >Na <sup>+</sup> >H <sup>+</sup> >Ca <sup>2+</sup> >Mg <sup>2+</sup> >Al <sup>3+</sup>	
weakly hydrated cations	strongly hydrated cations

Vizsgáljuk meg az oldat és a csapadék sűrűségkülönbségét  
Minél kevésbé hígítsunk a só hozzáadásánál (meleg, telített oldat, esetleg szilárd só).  
Ipari méretben számít a só ára → legyen olcsó  
Legtöbbször az ammónium-szulfát a legjobb.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
10

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### A sókoncentráció hatása

Általános modell:  
ln (fehérje oldhatóság) = K<sub>1</sub> - K<sub>2</sub>\*sókoncentráció

Fehérje oldhatósága  
besózás                      kisózás  
Sókoncentráció

Specifikus kicsapószerrek nukleinsavakra: sztreptomycin-szulfát, mangán-klorid, protamin-szulfát, poli-etilénimin

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
11

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Kicsapás hővel

= szelektív denaturálás → nem a terméket csapjuk ki, hanem a szennyezést inaktiváljuk.  
Példa: kétféle élesztő dehidrogenáz  
Hődenaturálódásuk:  $dP/dt = -kP$        $k = k_0 \exp(-E/RT)$

	20°C-on	50°C-on
$k_A = 5 \cdot 10^{57} \text{ sec}^{-1} \cdot \exp(380 \text{ kJ}/RT)$	$= 8,3 \cdot 10^{-11}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$
$k_B = 4,2 \cdot 10^{64} \text{ sec}^{-1} \cdot \exp(415 \text{ kJ}/RT)$	$= 4 \cdot 10^{-10}$	$3,0 \cdot 10^{-3}$

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
12

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## 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:

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

$\rho$  – sűrűség       $v$  - viszkozitás  
 $P$  – teljesítmény     $V$  - térfogat



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

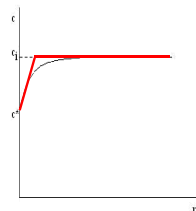
## Gócképződés - gócnövekedés

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

Diffúziós gócnövekedés: A góc elég kicsi ahhoz, hogy Brown mozgást végezzen → 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:

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

$\alpha$  – 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 tisztító részecskék töltésének lecsökkentése.

Aggregáció: a részecskék összetapadása

Mindezt különböző anyagok hozzáadásával lehet kiváltani.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

18

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Felületi töltések

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

A felület → Nernst potenciál  
 Stern sík → Stern potenciál  
 Nyírási sík →  $\zeta$  potenciál  
 Diffúzió réteg határa

The diagram illustrates the electrical double layer of a colloidal particle. It shows a central particle with surface charges (red '+' and blue '-' signs). Surrounding it is the Stern layer (Stern-sík), followed by the shear plane (Nyírási sík), and finally the diffuse layer (Diffúzió réteg). A graph below shows the potential (POTENCIÁL) as a function of distance (TÁVOLSÁG). The curves represent the Nernst potential (NERNST), Stern potential (STERN), and zeta potential ( $\zeta$  POT).

BME Alkalmazott Biotechnológia

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### 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 addition of electrolytes (strong electrolytes) compresses the double layer, making the repulsive curve steeper and reducing the height of the resultant energy barrier.

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

---

---

---

---

---

---

---

---

### Hídkepző 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. Gócképzés	nincs hatása
3. Diffúziós gócnövekedés	nincs hatása
4. Áramlási gócnövekedés	mérsékelt keverés
5. Aggregáció	csak kavarási

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

---

---

---

---

---

---

---

---