

1.11.2006

תהליכי הפרדה – הרצאה 1

לב ליבו של כל תהליך ביוטכנולוגי הוא הביוריאקטור. לשלב זה יש מספר תהליכים מקדימים:

- עיקור.
- הכנת חומרי גלם ומילוי הריאקטור
- הכנת מזרע.

תהליכים אילו נקראים תהליכי מעלה הנהר – upstream . השלב הבא אחרי הביוריאקטור הם תהליכי ההפרדה – תהליכי מורד הנהר downstream . ברוב תהליכי הביוטכנולוגיה, רוב התהליכים קשורים להפרדה, ולא דווקא לחלק הקשור לביוריאקטור. יש מגוון תוצרים ביוטכנולוגיים (הרחבה במצגת מבוא): תאים שלמים, תוצר חוץ תאי, תוצר תוך תאי (inclusion bodies – גופי קטנים המיוצרים כחלק ממניפולציה גנטית שלנו).

שלבי ההפרדה של מוצר ביוטכנולוגי:

1. סינון, סרכוז – הפרדה מכאנית ראשונית. אין שינוי של ריכוז או איכות התוצר.
2. בידוד התוצר – סילוק על בסיס תכונות פיסיקליות, כלומר שוני מאד גדול בין המוצר למרכיבים אחרים. (תכונות הידרופוביות הידרופיליות, משקל סגולי...). מעלים את רמת האיכות של התוצר.
3. טיהור וניקוי – הפרדה מחומרים דומים מאד למוצר שלנו (חלבונים, נוגדנים) יש צורך בתהליכים סלקטיביים מאד (אלקטרו פורזה, כרומטוגרפיה – כרומטוגרפית זיקה היא הסלקטיבית ביותר).
4. עיבוד סופי – polishing – קבלת תוצר בצורה הסופית שלנו ברמת הניקיון המבוקשת – תהליכי ייבוש, גיבוש, המסה לפי ריכוז מבוקש (להפצה).

הפרדה בכלליות מבוצעת על סמך: גודל צורה מטען קוטבית מבנה מרחבי... שיטות הפרדה: מיצוי, ספיחה, סינון, כרומטוגרפיה, תהליכי ממבראנות, זיקוק, הפרדה לפי אפיניות ביולוגית, ייבוש ואידוי, שיקוע, גיבוש, אלקטרו פורזה, סרכוז. בקורס שלנו אנו נתרכז בשיטות המכאניות יותר – המופיעות בשלבים הראשונים.

חשיבות ובעייתיות של תהליכי הפרדה :

- מורכבות התערובת המתקבלת בסוף התהליך בביוריאקטור. מספר מטבוליטים, תוצרים, מומסים רבים.
- רגישות תוצרים – pH , טמפרטורה חוזק יוני – עלול לפגוע בפעילות ביולוגית של חלבונים, דהנטורציה.
- מיהול – לרוב התוצר המתקבל יהיה בכמות קטנה ובריכוז נמוך בהשוואה לחומרים אחרים בתערובת.
- דמיון בין התוצר הרצוי לחומרים אחרים (סוכרים דומים מאד בתכונותיהם, חלבונים)
- אינטראקציה בין התוצר לחומרים אחרים בתערובת.
- לעיתים קורה שיש חוסר בידע על תכונות רלבנטיות לביצוע הפרדה.
- דרישות ניקיון גבוהות לתוצר. בתעשייה הפרמצבטית לעיתים יש צורך ברמות ניקיון של 95% ומעלה.
- בטיחות.
- עלות – קבלת תוצר ברמת ניקיון גבוהה מאד, כמו בפרמצבטיקה, משמעותה עלות גבוהה מאד.

מדדים לניקיון: החשיבות של המדדים היא קבלת אומדן כלכלי וכמותי-איכותי לתהליך

1. יחס ריכוז – Concentration Ratio – ריכוז התחלתי של התוצר/ריכוז סופי של התוצר. חשיבות מרכזית היא חשיבות כלכלית – קבלת תוצר בריכוז נמוך יוביל לטיפול בנפחים גדולים מאד ועלויות גדולות, לכן נצטרך לבצע ריכוז של התוצר בשלבים מוקדמים יותר.
2. פעילות ספציפית – Specific Activity – כמות חלבון כללית בדוגמא (mg) / פעילות ביולוגית בדוגמא (u) . החשיבות של מדד זה - קבלת משוב לניקיון נכון ואיכותי של התהליך. עליה בערך המספרי מעידה על רמות ניקיון גבוהות יותר. פעילות ביולוגית היא לא בהכרח של אנזימים. ניתן לראות נוגדנים, פקטורים לרצפטורים ועוד.
3. פקטור ניקוי – Purification Factor – פעילות ספציפית התחלית של התוצר/פעילות ספציפית של התוצר. החשיבות של מדד זה – קבלת מדד לרמת הניקיון של התוצר, בכל אחד ואחד משלבי הפרדה, והסקה לשלב משמעותי יותר ופחות.
4. ניצולת הפרדה – מוגדרת ככמות התוצר שהתקבלה לאחר ביצוע תהליך או שרשרת תהליכי הפרדה ביחס לכמות ההתחלתית. $\eta = C_{out}/C_{in}$ ניצולת הוא מאזן מסה ואך ורק מסה. חישוב ניצולת חייב להתייחס למסות (ריכוז * נפח), וזאת נקודה חשובה מאד, מהווה מקור לבעיות רבות.

מיון תהליכי הפרדה

סינון :

1. סינון רגיל -1 מ"מ ומעלה. מבוסס על גודל החלקיקים.
2. מיקרופילטריציה – הפרדה בין מולקולות (בין חלבונים לסוכרים) $0.1\ \mu\text{m} - 10\ \mu\text{m}$.
3. אולטרהפילטריציה – סינון ברמה מולקולארית. מסה מולרית. $100,000\text{Da} - 500\text{Da}$.
4. אוסמוזה ואוסמוזה הפוכה – הפרדה של מים ממלחים.
5. גיל כרומטוגרפיה – הפרדה לפי גודל, M_w .

מסיסות :

1. שיקוע – על בסיס מטענים.
2. מיצוי – הפרדה בין שתי פאזות בעלות תכונות שונות
3. ספיחה – זיקה בין חומר מסוים למצע.

מטען חשמלי :

1. אלקטרופורוזה – הפרדה על פי שדה חשמלי.
2. כרומטוגרפית חילוף יונים – ספיחה סלקטיבית על פי המטען החשמלי, שינוי pH לשינוי תכונות יוניות.

נדיפות :

1. זיקוק – פחות ישים ונפוץ בביוטכנולוגיה.
 2. זיקוק מולקולארי.
- זיקה ביולוגית/כימית - זיקה ביולוגית – הפרדה הכי סלקטיבית שקיימת, באמצעותה ניתן להימנע מהרבה מאד תהליכים אחרים. תהליך זה יכול להיות מאד יקר ולכן לא בהכרח מצדיק את התהליך.
- משקל סגולי - צינטרפוגה – הפרדה על פי משקל החלקיקים אינה אפשרית במידה ואין הבדלים במשקל הסגולי של המרכיבים. ההפרדה מבוססת על הבדלי הצפיפויות בין המרכיבים לממס, ולא (כמו שחשבונו) על בסיס המשקל.

שבירת תאים

מבנה מעטפת תאים שונים – חזרה במצגת מההרצאה.

חוזק המעטפת ישפיע ישירות על יכולת שבירת התאים שלנו. החוזק מושפע ממספר פרמטרים: הרכב החומרים, דרגת הצלוב, תנאי הגידול של התא, זן התא (חיידק, פטרייה, שמר). באופן כללי: גרם- > גרם+ > שמר > פטרייה.

קיימות שתי קבוצות שיטות עיקריות לשבירת תאים:

שיטות שבירת תאים

שיטות

שיטות לא- מכניות**פיזיות:**

- אוסמוזה
- הקפאה והפשרה (טיפול תרמי)

כימיות:

- דטרגנטים (חפ"ש)
- אנטיביוטיקה
- ממיסים אורגנים
- בסיסים

אנזימטיות:

- ליזוזים
- תערובות אנזימים

שיטות מכניות**עם כוחות גזירה חמרים מוצקים:**

- הימגון בלחץ גבוה
- טחינה

כוחות גזירה בנוזל:

- הימגון
- אולטרהסוניקציה
- ערבוב

דוגמאות	עלות	אפקט על התא	העיקרון	השיטה
תאי דם	נמוכה	חלש	פיצוץ התא בגלל לחץ אוסמוטי	אוסמוליה
ליזוזים בחיידקים	גבוהה	חלש	פירוק מרכיבי הממברנה	עיכול אנזימטי
חיידקים	בינונית	חלש	דטרגנטים אשר ממיסים הממברנה	המססה
טולואן בשמרים	נמוכה	בינוני	ממיסים אורגניים להמסת השומנים בממברנה	המסת שומנים
	זול	חזק	הידרוליה בסיסית	הבססה
תאים בקנ"מ גדול	בינונית	בינוני	מאמצי גזירה ע"י ערבול או מעבר דרך פתח צר	הימגון
תאים בקנ"מ גדול	זול	חזק	מאמצי גזירה ע"י כדורי מצע מוצק	טחנת כדורים
	יקר	חזק	גלי קול	סוניקציה

מכאניות :

- שימוש בכוחות גזירה בנוזל (גרדיאנט מהירויות בתוך נוזל ככלי לשבירת התאים), סוניקציה – הפעלת גלי קול על תמיסה, מתקבלות נקודות בנוזל שבהן יש הפרשי לחצים, ועל ידי כך הורדת נקודת הרתיחה של הנוזל וקבלת בועיות אדי מים בתוך הנוזל, אשר נעות בתמיסה ובגלל אותם הפרשי לחצים הן מתפוצצות ויוצרות גלי הלם אשר יוצרים כוחות גזירה בתוך הנוזל ושבירת התאים. תהליך זה נקרא תהליך קויטציה. בעיה עם שיטה זו היא פירוק או שינוי בתכונות של תוצרים בהם אנו מעוניינים כמו חלבונים או סוכרים (דהנטורציה). שיטה זו נפוצה יותר במעבדות ופחות בתעשייה.
- שימוש בכוחות גזירה במוצק (שבירה כנגד משטח מוצק) –
- השיטות הנפוצות ביותר היום בתעשייה – HPH – high pressure homogenizer – מעביר נוזל דרך חריר קטן מאוד, במהירות גבוהה מאוד ומתקבל כוח גזירה גדול מאוד בנוזל, הגורם למעיכת התא ושבירתו. יש שילוב של 3 השפעות: אימפקט מעיכה בין זרם החיידקים לבוכנה, כוח גזירה בין שכבות הנוזל וכוח גזירה בין התא לדופן המהגן. בעיה בשיטה היא התחממות המערכת כתוצאה מהחיכוך הרב במערכת. משוואת Hetherington היא המשוואה שנותנת קנה מידה ליעילות המכשיר שנשתמש לביצוע ההימגון. (משוואה אמפירית). כדי להשתמש במשוואה צריך לקבוע קודם כל את ערכי α -ו K על סמך ניסוי מקדים.

שיטות לא-מכאניות :

- אנזמטיות (שימוש באנזים הקיימים בטבע) – שימוש למקרים שבהם התא מוגן היטב על ידי ממברנה/מעטפת. הדרך היחידה לשבור תאים כאילו היא שימוש באנזימים מפרקי קשרים. (לזוזים, או אף שימוש בקומבינציות של מספר אנזימים וסינרגיזם ביניהם).
- פיזיות – אוסמוליזה – שימוש בלחץ אוסמוטי לשבירה. שתי סביבות הצמודות אחת לשנייה ומופרדות על ידי ממבראנה חצי חדירה. לחץ אוסמוטי של תמיסה נקבע על פי מספר המולים שמומסים בה, אין תלות בגודל אך ורק במספר המולים. משוואת ואנט הוף מתארת את זה.

$$\Delta\Pi = P_{out} - P_{in} = RT \left(\sum_i C_i^{out} - \sum_i C_i^{in} \right)$$

- P-הלחץ האוסמוטי הנגרם מהחומרים המומסים, atm
 - P_{out} -הלחץ האוסמוטי מחוץ לתא במקרה של מים טהורים (שווה לאפס), atm
 - P_{in} - הלחץ האוסמוטי בתוך לתא, atm
 - R- קבוע הגזים, (0.082 l*atm/mol*°K)
 - T – הטמפ' במעלות קלווין
 - C_i-הריכוז של חומר מומס מסוים, mol/l
- באם $\Delta\Pi$ שונה מ-0 – יהיה מעבר של מים מהתמיסה המהולה אל התמיסה המרוכזת יותר. לצורך השוואת ריכוזים. מטרת מעבר המים היא שיווין ריכוזים בין שתי התמיסות.

- כימיות – המססה – הוספת דטרגנטים (חומרים פעילי שטח). מבנה כללי מוכר – קצה הידרופובי וקצה הידרופילי, ומפרקים מרכיבים שומניים בממבראנה, ומובילים לשבירתה. לכל דטרגנט יש ריכוז אופטימאלי להמססה אופטימאלית. דרך נוספת היא שימוש בממסים אורגניים – טולואן לדוגמא – ספיגת החומר לממבראנה גורמת להמסת השומנים וחירור הממבראנה. בעיה בשיטה זו היא הפרדת החומר האורגני משאר המרכיבים.

מדדים לבדיקת יעילות שבירת תאים :

מדדים לבדיקת יעילות שבירת תאים

- ספירת תאים (מיקרוסקופ, coulter counter)
 - כמות תוצר בתמיסה (רמת חלבון, פעילות אנזים וכו')
 - כמות מוצקים מומסים
 - עליית הצמיגות (בעיקר בגלל ה-DNA)
 - ספירת תאים
 - עליית המוליכות (שבירת התאים משחררת מלחים, אלקטרוליטים מהציטופלזמה)
- מדד פגיעות- מאפיין סוגי תאים ומצביע על חוזק הממברנה שלהם, ככל שהמספר גדול יותר קל לשבור את התא.
- חיידקים < שמרים < פיטריות

משוואת Hetherington (אמפירית)

$$\ln \frac{R_m}{R_m - R} = \ln \frac{1}{1-D} = k'N = KN P^\alpha$$

R = רמת השחרור R_m = רמת השחרור המקסימלית

$D = R/R_m$ יחס השבירה

k' = קבוע פרוק אמפירי הנקבע לכל מכשיר ומיקרואורגניזם

K = קבוע פרוק אמפירי הנקבע לכל מכשיר

N = מספר המעברים

α = (1.5 עד 3) קבוע פרוק אמפירי הנקבע לכל מיקרואורגניזם

להץ P -

ככל ש- α גבוה יותר השבירה טובה יותר/ קלה יותר כיוון שהתא רגיש יותר לשבירה

אנליזת מימדים להומוגניזר המשמש לשבירת

תאים

הפרמטרים המשפיעים על פעולת ההומוגניזר הם:

- להץ $P = M/(L \cdot t^2)$, מסה ליחידת אורך ליחידת זמן בריבוע
- תדירות התנועה של הבוכנה $\omega = 1/t$
- צפיפות הנוזל $\rho = M/L^3$, מסה ליחידת נפח של הנוזל
- המרווח בין הבוכנה לבסיס $d=L$, אורך

מאחר ולא ידוע היחס בין הפרמטרים הנ"ל קבוע המערכת τ מגדירים:

$$\tau \propto P^\alpha \cdot \omega^\beta \cdot \rho^\gamma \cdot d^\delta$$

אנליזת מימדים להומוגניזר המשמש לשבירת תאים

בקשר הבסיסי הנ"ל מציבים את היחידות מחלצים את המקדמים כתלות באחד מהם ומציבים בחזרה במשוואה המקורית:

$$\tau \propto \left(\frac{M}{L \cdot t^2}\right)^\alpha \cdot \left(\frac{1}{t}\right)^\beta \cdot \left(\frac{M}{L^3}\right)^\gamma \cdot (L)^\delta$$

$$t \propto M^{(\alpha+\gamma)} \cdot L^{-\alpha-3\gamma+\delta} \cdot t^{-2\alpha-\beta}$$

$$0 = \alpha + \gamma \rightarrow \alpha = -\gamma$$

$$0 = -\alpha - 3\gamma + \delta \rightarrow \delta = \alpha + 3\gamma \rightarrow \delta = -2\alpha$$

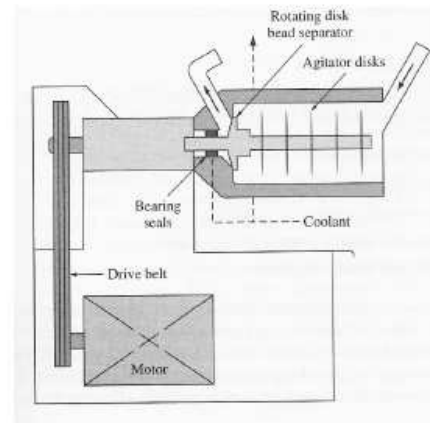
$$1 = -2\alpha - \beta \rightarrow \beta = -2\alpha - 1$$

$$\tau \propto P^\alpha \cdot \omega^{(-1-2\alpha)} \cdot \rho^{-\alpha} \cdot d^{-2\alpha} \rightarrow \tau \cdot \omega \propto \left(\frac{P}{d^2 \cdot \omega^2 \cdot \rho}\right)^\alpha$$

$$\tau \cdot \omega < \left(\frac{P}{d^2 \omega^2 \rho}\right)^2$$

הסתכלות על הביטוי לערך קבוע הזמן להומוגיניזציה, מראה כי ערכו של α צריך להיות שלילי – על מנת לקבל תוצאה הגיונית מבחינה פיזיקאלית.

טחנת כדורים – מיכל מסתובב, עם תאים בתוכו, המכיל כדורים מפעיל כוחות השוברים את התאים. כתוצאה מהפרשים נקודתיים ניתן לקבל תופעת קויטציה, אך הפעולה העיקרית ש למכשיר זה, היא כתישה של התאים. גודל הכדורים משתנה בהתאם לגודל התאים שאנו רוצים לשבור. טחינה רציפה :



פרמטרים משפיעים

- קוטר כדוריות (0.1-1.5 מ"מ)
- ריכוז (loading) כדוריות (עד 85%)
- ריכוז תאים (4-20% אין כמעט השפעה)
- ספיקת זרם התאים (במערכות רציפות)
- זמן שהיה במיכל
- מבנה האימפלר
- מהירות הסיבוב של האימפלר (5-15 m/s)
- מהירות הסיבוב של המיכל
- טמפרטורה -

אימפלר – דיסקים שמרימים את הכדורים וגורמים להפלתם וריסוק התאים.

גם במכשיר זה ניתן לבצע אנליזת מימדים ולקבל אומדנים לגבי ערכו של τ – שימוש במשוואת הטרינגטון.

שבירת תאים בטחנת כדורים

$$\ln \frac{R_m}{R_m - R} = \ln \frac{1}{1-D} = \boxed{K_t * N * t}$$

R = רמת השחרור R_m = רמת השחרור המקסימלית

D = יחס השבירה R/R_m

K_t = קבוע פרוק אמפירי הנקבע לכל מכשיר

N = מספר המעברים

t = זמן השהייה

צורות יישום של תהליכי שבירת תאים:

1. הימגון מנתי – כל מערכת לשבירת תאים, לא בהכרח מהמגן. עד עכשיו הסתכלנו על D

שהתייחס על אחוז השבירה של תאים במעבר במערכת, מעכשיו נסתכל על ערך K , כביטוי

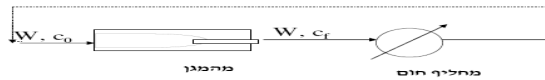
של התאים השורדים במערכת (שבר התאים השורדים). $k = \frac{c^f}{c^0}$. כאשר אנו מבצעים

מעבר חוזר דרך המכשיר, ערכו של K נשמר – אם במעבר הראשון העברתי 100 תאים וערכו של K 50%, נשארו 50 תאים, במעבר חוזר ישרדו 25 תאים, וכן הלאה. ערכו של K

קבוע למכשיר. ומתקבל כי $\frac{C_{f,n}}{C_0} = k^n$. מושג חדש: ספיקה ממוצעת – כאשר מבצעים

מספר מעברים בהומוגניזר, בתהליך מנתי, הספיקה הממוצעת תהיה כמות הנוזל

שהכנסנו עד ליציאתו, אחרי כל המעברים שדרשנו - $\bar{F} = \frac{W}{n}$.



2. הימגון מנתי עם סחרור – באמצעות הוספת מיכל לפני המהגן, משתנה ריכוז התאים

השלמים הנכנסים אליו, ובמקביל עולה מספר התאים השבורים במיכל. הביטוי למעקב

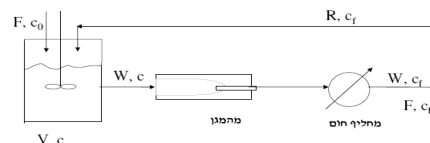
אחר מה קורה במיכל: $V \frac{dc}{dt} = W(c_f - c) = Wc \left(\frac{c_f}{c} - 1 \right) = Wc(k - 1)$.

לאחר אינטגרציה: $\frac{c_f}{c_0} = \exp\left(-\frac{Wt(1-k)}{V}\right)$. נפח תרחיף $\bar{F} = \frac{V}{t}$.

התאים הכולל ו- t זמן הפעלה כולל.

3. הימגון רציף עם תחזיר – אותה מערכת כמו מערכת 2, בנוסף יש הזרמת תאים שלמים

בצורה רציפה למיכל ויציאת תאים שבורים ושלמים מחוץ למערכת.



שמירה על קצב כניסה וקצב יציאת הנפחים תשמור על מצב עמיד, ונוכל לעבוד באופן

רציף. ניתן לשלוט על יחס זרם התחזיר לזרם היציאה, ועל ידי כך לשנות את ריכוז

התאים השבורים לאחר המהגן. מאזן מסות ותאים על המערכת:

$$Fc_0 + (W - F)c_f = Wc \implies F(c_0 - c_f) = W(c - c_f) = Wc_f \left(\frac{1}{k} - 1 \right)$$

$$F(c_0 - c_f) = Wc_f \left(\frac{1}{k} - 1 \right)$$

$$\left(\frac{c_0}{c_f} - 1 \right) = \frac{W}{F} \left(\frac{1}{k} - 1 \right) \implies \frac{c_0}{c_f} = \frac{W}{F} \left(\frac{1}{k} - 1 \right) + 1$$

$$\frac{c_f}{c_0} = \frac{1}{\frac{W}{F} \left(\frac{1}{k} - 1 \right) + 1}$$

כאשר: $\bar{F} = F$

נסכם את התהליכים עד כה:

טבלת השוואה – תהליכי המגון

	<u>מדד ליעילות השבירה</u> k קטן- יעילות גבוהה	<u>ספיקה ממוצעת</u> F גבוה- זמן שבירה נמוך
המגון מגנתי מעבר יחיד	$\frac{c_f}{c_0} = k$	$\bar{F} = W$
המגון מגנתי n מעברים	$\frac{c_f}{c_0} = k^n$	$\bar{F} = \frac{W}{n}$
המגון מגנתי עם סחרור	$\frac{c_f}{c_0} = \exp\left(-\frac{Wt(1-k)}{V}\right)$	$\bar{F} = \frac{V}{t}$
המגון רציף עם תחזיר	$\frac{c_f}{c_0} = \frac{1}{\frac{W}{F} \left(\frac{1}{k} - 1 \right) + 1}$	$\bar{F} = F$

22.11.2006

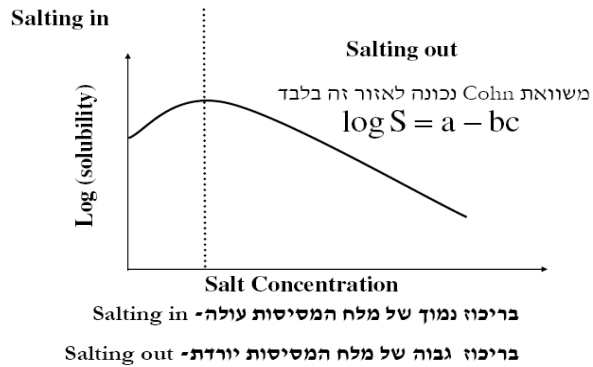
הרצאה 4

תהליך שיקוע

מסיסות של חומרים – מולקולות של מומס הבאות באינטראקציה עם הממס, ליצירת קשרים. כאשר מדובר על חלבונים ומים, אנו מדברים על קשרי מימן, ון דר ואלס, אינטראקציה הידרופובית. בממסים אורגניים, לרוב נראה קשרים הידרופוביים. בתהליך שיקוע אנחנו רוצים "להפריע" לקשרים שנוצרו בין הממס למומס על מנת לשקע את המומס. לדוגמא:

1. הכנסת חומרים שיתחרו/יגנבו את מולקולות המים מהמומס השני, כמו מלחים.
 2. פולי-אלקטרוליטים – שרשראות פולימרות טעונות, לרוב פוליסוכרים.
 3. שינוי pH.
 4. שינוי טמפרטורה-גורם לדהנטורציה ושיקוע.
- לפעמים אנחנו רוצים לסלק חומצות גרעין מתמיסה, כדי למנוע הפרעה לתהליך מסוים – סטרפטומיציין יעיל לפעולה זו.

עקרון השיקוע על ידי מלחים – מפורט במצגת.
 מסיסות החלבון בתמיסת מלח יורדת עם עליית ריכוז המלח באופן לוגריתמי.



קיימת גרסה נוספת לגרסת Cohn, אשר מתייחסת לחוזק היוני של התמיסה ולא לריכוז המולרי

של שמלח בתמיסה. דוגמא לחישוב חוזק יוני: (אמוניום סולפט 2M)

$$I = \frac{1}{2} \sum c_i Z_i^2$$

$$(NH_4)_2SO_4 \rightarrow 2NH_4^+ + SO_4^{--}$$

$$I = \frac{1}{2} * \sum C_i * Z_i^2 = \frac{1}{2} * (4 * 1^2 + 2 * 2^2) = 6M$$

שיקולים בבחירת סוג המלח: יעילות אניון, יעילות קטיון, מסיסות בתמיסה, קיום הפרש צפיפויות בין המלח לחלבון (לתהליכי הפרדה עתידיים), השפעה על pH, עלויות.

במקרה שיש לנו מספר חלבונים שונה בתמיסה, יכולה להתקבל התנהגות שונה באינטראקציה עם תמיסת מלח ושינוי ריכוזה.

הוספה של לאמוניום סולפט יכול להתבצע על ידי הוספת תמיסה, אך זה יוביל למיהול ושינוי ריכוז אפקטיבי של החלבון, עדיף להוסיף את המלח בצורת מוצק, ואז שנוי הנפח הוא אפסי.

שיקוע על ידי pH מבוסס על נקודה איזו-אלקטרית. לכל חלבון יש נקודה איזו-אלקטרית שלו, ולכן שיטה זו יותר נוחה.

שיקוע על ידי הוספת ממס גרוע – עקרון הקטנת נפח, ליצירת אגרגטים של החלבון. יש סכנת דה-נטורציה, עדיף לבצע בטמפרטורה נמוכה, יש קשר בין משקל מולקולארי של החלבון לכמות הממס שמוסיפים.

שיקוע על ידי שינויי טמפרטורה – דה-נטורציה (על מנת להפטר מחלבונים). הקינטיקה מתנהגת

$$k = k_0 e^{-E/RT}$$

לפי משוואת ארניוס.

שיקוע על ידי הוספת פולימרים – הקטנת נפח אפקטיבי של התמיסה, צריך שיהיו בעלי מסיסות גבוהה. נהוג להשתמש בפולי-אתילן-גליקול PEG. ניתן גם להשתמש בפולימרים טעונים – מנגנון הפעולה שלהם הוא יצירת קומפלקס בצורת גשר בין מולקולות חלבון ליצירת אגרגט השוקע, הבעיה היא להפטר מהפולימר לאחר מכן. הוספת ליגנד לתמיסה וקישורו לחלבון יכולה להוביל לאותה תוצאת שיקוע.

שלבי השיקוע:

1. שלב הנוקלאציה – הופעת חלקיקים קטנים של מוצק בתוך התמיסה.
2. גידול החלקיקים – עקב התנגשויות בין החלקיקים, הצמדות ותחילת שקיעה. ריכוז המומס תלוי בקצב ההתנגשויות וההצמדות של החלקיקים הבא לידי ביטוי במשוואה הבאה: $\frac{dy_i}{dt} = -k y_i^2$ פתרון המשוואה הוא: $\frac{1}{y_i} = \frac{1}{y_{i0}} + 8\pi dDN_a$ קוטר החלקיק. D מקדם הדיפוזיה. במקרה שבמערכת שלנו נוסף אלמנט ערבוב או זרימה מוגברת (לשיקוע מיטבי), המשוואה נראית: $\frac{y_i}{y_{i0}} = \exp\left[-\left(\frac{4}{\pi} \alpha \phi \left[\frac{P_w/V}{\rho v}\right]^{1/2}\right) t\right]$ $\phi = \left(\frac{1}{6} \pi d^3\right) y_i N_a$
3. פלוקולציה – שקיעה של הגושים לקרקעית. ערבול במקרה כזה יכול לפגוע על ידי שבירה של הגושים.

29.11.2006

הרצאה 5

שיקוע חופשי וסרכוז (צנטריפוגה).

שימוש בהבדלים פיזיקאליים על מנת להפריד בין חומרים שונים (צפיפות לדוגמה). בסיס פיזיקאלי כמאפיין תכונות הצנטריפוגה, ואלמנט אשר יכוון אותנו בתכנונה. נסתכל על חלקיק הנופל בתמיסה:

הכוחות הפועלים עליו הם:

1. כוח המשיכה.
2. כוח ציפה.
3. כוח הגרר – מקביל לכוח החיכוך שיש בין משטחים מוצקים – כוח החיכוך בין החלקיק לשכבות הנוזל העוטפות אותו. פונקציה של מהירות החלקיק. החלקיק נמצא בתרחיף, ומתחיל תנועה כלפי מטה, במקביל פועל עליו כוח ציפה המתנגד לתנועה זו, ככל שהתנועה כלפי מטה מתגברת כוח הגרר גדל, עד למצב שמתקיים שוויון בין כוח הגרר וכוח הציפה לכוח הגרוויטציוני. בשוויון זה תאוצת החלקיק שווה לאפס.

כוח הציפה הוא מסת החלקיק לחלק לצפיפות החלקיק כפול צפיפות המים.

C_D – מקדם הגרירה של גוף בנוזל – הוא תלוי במספר פרמטרים: 1. שטח ההיטל של החלקיק בכיוון הנפילה (שטח היטל A_p). מקדם הגרר תלוי בסוג הזרימה שיש במערכת (למינרית או טורבולנטית – לפי מספר ריינולדס) – הוא נקבע בצורה אמפירית. בזרימה טורבולנטית (ריינולדס גדול מ-2000) ערכו של המקדם נשאר קבוע ($0.4=C_D$), בזרימה למינרית (ריינולדס קטן מ-1) יש תלות ליניארית מסוימת (בגרף $24/Re=C_D \text{ Log}$). ההתייחסות במשפטים האחרונים היא לגוף כדורי, במקרה ששטח הפנים של החלקיק הנע שונה מכדור, צריך לחשב מספר ריינולדס אמפירית.

דברנו על 3 כוחות הפועלים, ועל פי החוק השני של ניוטון נוכל לסכום אותם ולהשוות ל- ma , ומכאן לחלץ את תאוצת החלקיק. כמו שאמרנו תאוצה קיימת רק בתחילת התהליך, לאחר פרק

זמן קצר כרעו של dv/dt שווה לאפס. פיתוחים מתמטיים של המשוואה ייתן לנו את מהירות השיקוע של חלקיק מסוים.

מעכשיו נתמקד בחלקיק כדורי (בזרימה למינרית) :

לאחר המשך פיתוחים מתמטיים ומספר הצבות במשוואות מקבלים את משוואת סטוקס. הדבר שחשוב להבין שהכוח המניע של חלקיק בתמיסה, הוא הפרש הצפיפויות בין החלקיק למנוזל!!! אינטואיטיבית אנחנו אומרים כי מהירות השיקוע תלוי רק בגודל החלקיק, וזה נכון חלקית – יש תלות גם בקוטר אבל יש תלות חזקה בהפרש הצפיפויות.

מה קורה לחלקיק בצנטריפוגה? נסתכל על צנטריפוגת סלים. המבחנה שמסתובבת הופכת להיות אנכית לציר הסיבוב, במרחק מסוים (r) מציר הסיבוב במהירות סיבובית מסוימת ($2\pi f = \omega$).

מהירות הנפילה שווה: $v_\omega = \frac{D^2(\rho_p - \rho)}{18\mu} \omega^2 R = \frac{v_g}{g} \omega^2 R$ קיים ערך מסוים Z שהוא Relative

: Centrifugal Force

$$Z = \frac{w^2 R}{g} = R.C.F$$

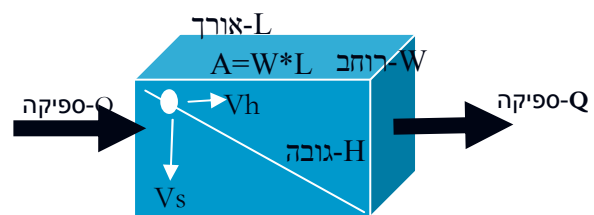
במהלך הצנטריפוגציה הרדיוס מציר הסיבוב הולך וגדל, ולכן מהירות השקיעה שלו הולכת וגדלה. התמודדות עם שינוי הרדיוס כתלות בזמן תבוצע על ידי אינטגרציה, ומקבלים כי :

$$\ln \frac{R_2}{R_1} = \frac{V_g}{g} w^2 t$$

מכאן ניתן לדעת את משך הזמן לשיקוע חלקיק.

שיקוע חופשי בתהליך רציף (טיהור שפכים)

שיקוע של חלקיק הנכנס לצינור ריבועי בספיקה נתונה, אנו רוצים שיושקע עד קצה התעלה. החלקיקים מפוזרים בכל שטח הפנים של התעלה, החישובים יבוצעו על פי החלקיק שייקח לו הכי הרבה זמן עד לשיקוע, כלומר הנקודה הכי גבוהה בתעלה.



■ פרק הזמן בו ישהה החלקיק הקריטי באגן הוא: $t_c = L/V_h$

■ עבור המקרה הגבולי, כדי שהחלקיק ישקע צריך להתקיים: $H/V_s = L/V_h$

■ ניתן לרשום את מהירות הזרימה כספיקה הנכנסת חלקי שטח חתך הזרימה:

$$V_h = Q/H*W$$

■ ומתוך הצבה מגיעים למהירות השקיעה של החלקיק הקריטי:
 $Q/W * L = Q/A = V_s$

■ או $Q = A * V_s$, כלומר הספיקה המקסימאלית אשר מאפשרת הרחקה מלאה של חלקיק עם מהירות שקיעה שווה או גדולה מ- V_s שווה למהירות השיקוע כפול שטח הפנים של המשקע.

דוגמא: יש להרחיק חלקיקים בעלי צפיפות של 1.02 גרם לסמ"ק וקוטר של 150 מיקרון מנוזל בעל צפיפות של 1 גרם לסמ"ק וצמיגות דינאמית של 1.1 סנטיפואז, במיכל בעל נפח של 50 ליטר אשר היחס גובה לקוטר הוא 1.5. יש להעריך את הזמן הנדרש לשיקוע חופשי של החלקיקים.

תשובה: מחשבים את מהירות השיקוע של החלקיקים לפי נוסחת סטוקס:

$$V_g = \frac{d^2}{18 * \mu} * (\rho_s - \rho) * g = \frac{(0.015cm)^2}{18 * (0.011 \frac{gr}{cm * sec})} * (1.02 - 1) \frac{gr}{cm^3} * 980 \frac{cm}{sec^2} = 0.022 \frac{cm}{sec}$$

מוודאים שבאמת נמצאים באזור סטוקס $Re < 1$:

$$Re = \frac{V * d * \rho}{\mu} = \frac{0.015cm * 0.022cm / sec * 1gr / cm^3}{0.011gr / cm * sec} = 0.03 < 1$$

מחשבים את גובה המיכל מתוך ידיעת הנפח והיחס בין הקוטר לגובה:

$$H = 1.5 d \Rightarrow d = \frac{H}{1.5}$$

$$V = A * H = \frac{\pi * d^2}{4} * H = \frac{\pi * (\frac{H}{1.5})^2}{4} * H = 50 * 10^{-3} cm^3$$

$$H = 52.3 cm$$

מחשבים את הזמן ע"י חלוקה של הגובה (הדרך) במהירות השקיעה:

$$t = \frac{H}{V_g} = \frac{52.3cm}{0.022 \frac{cm}{sec}} = 2400 sec \approx 40 min$$

פרמטרים המאפיינים צנטריפוגות:

$$Z = \frac{\omega^2 * R}{g} = \frac{4 * \pi^2 * N^2 * R}{g}$$

■ W-מהירות הסיבובית

■ R-רדיוס הסיבוב (המרחק מהציר לדופן),

■ N-מס' סיבובים לשנייה

■ Z- היחס בין תאוצת הצנטריפוגה לתאוצת הכובד או פי כמה גדולה תאוצת הצנטריפוגה מתאוצת הכובד (שיקוע חופשי)

■ שטח אקוויולנטי תיאורטי (Σ) שטח החתך של מיכל שיקוע חופשי שהיה מפריד חלקיקים בגודל הנתון באותה ספיקה כשל הצנטריפוגה כאשר מהירות השיקוע שלהם היא Vg (גרביטציונית).

זהו נתון המאפיין את הצנטריפוגה (גיאומטריה ומהירות סיבוב) ולא את התרחיף.

$$\Sigma = A = \frac{Q}{Vg}$$

לכל סוג צנטריפוגה יש חישוב שונה של פרמטר זה

6.12.2006

הרצאה 6

צנטריפוגות תעשיות:

1. צנטריפוגה טובולרית – Tubular Bowl Centrifuge – גליל מסתובב. התערובת מוזנת על

ידי צינור במרכז הצנטריפוגה. הנוזל יוצר טבעת על דופןותיה. התרחיף מוזן באופן רציף, ויש שתי תופעות: עליית התרחיף כלפי מעלה, ובנוסף כתוצאה מהכוח הצנטריפוגלי שקיעת חלקיקים לכיוון הדופן. נוזל צלול יוצא מלמעלה. המטרה שלנו בתכנון הצנטריפוגה היא לוודא כי כל החלקיקים יישארו בתמיסה. בצנטריפוגה זו ניתן להפריד גם נוזלים בעלי צפיפויות שונות, ולא רק מוצק מנוזל. במקרה זה יש פתחי יציאה – שכבה

$$V\omega = \frac{dr}{dt} = \frac{d^2}{18 * \mu} * (\rho_s - \rho) * \omega^2 * r$$

$$\omega = 2 * \pi * N$$

$$t = \frac{18 * \mu}{d^2 * (\rho_s - \rho) * \omega^2} * \ln \frac{R}{r}$$

$$Q_{\max} = \frac{V}{t} = \frac{d^2 * (\rho_s - \rho)}{18 * \mu} * \frac{V * \omega^2}{\ln \frac{R}{r}}$$

$$\Sigma = \frac{V * \omega^2}{g * \ln \frac{R}{r}}, \quad Q = \Sigma * Vg$$

אחת הקרובה לדופן (צפיפות גבוהה יותר) ושכבה שנייה בעל צפיפות נמוכה יותר בכיוון מרכז הצנטריפוגה. כל פתח ינקז שכבה אחת.

נפתח את משוואות הצנטריפוגה: סיגמה הוא הערך שבאמצעותו נקבע האם להשתמש בצנטריפוגה או לא. סיגמה הוא ערך קבוע עבור – רדיוס, נפח, מהירות סיבוב מסוימת. אין אפשרות לשנות את תכונותיה לאחר הרכישה. צורת ההצגה של סיגמה יכולה להשתנות, היא לא בהכרח נראית כמו בצד שמאל. כאשר :

$$V = \Pi * (R^2 - R_1^2) * l$$

$$\frac{(R_o^2 - R_i^2)}{\ln \frac{R_o}{R_i}} \cong 2 R^2 : \text{כשאין אינפורמציה על עובי שכבת הנוזל או כשהעובי קטן עושים קירוב}$$

ומציבים בנוסחה של Q, כאשר R₀ ו-R₁ הינם המרחקים מציר הצנטריפוגה אל שכבת הנוזל ואל קצה המיכל (השכבה הקרובה לדופן). תכונות הצנטריפוגה:

• אפשרויות הפרדה Liquid-Liquid, Solid-Liquid, Solid-Liquid-Liquid :

• חצי רציפה, אנכית

• הפרדת חלקיקים 0.1-200 μm

• עד 10% מוצקים בתערובת

• הפרש צפיפויות מינימאלי 3%

• מהירות סיבוב גבוהה יחסית (כ- 15000 rpm) לצנטריפוגה תעשייתית

• עלות נמוכה לרכישה

• עלות נמוכה יחסית לתחזוקה

• קלה לניקוי

• ניתן לבצע סטריליזציה

יתרונות וחסרונות:

יתרונות

• עלות שימוש נמוכה

• פעילות הפרדה מהירה

• טווח רחב של מודלים המאפשרים גמלון

• זמן ניקוי קצר

• קל ופשוט לתפעול

• עמיד בטמפרטורות גבוהות

חסרונות

• יעילות נמוכה עבור תערובות בעלות אחוז מוצקים גבוה

• הגבלה על ביצוע צנטריפוגה בזמן הגברת קצב ההזנה עקב עיבוי שכבת המוצקים

• יעילות נמוכה בעבודה בקנה מידה רחב עקב הגבלה באגירת מוצקים

• נדרש ניקוי ידני

צנטריפוגת סל – Basket Centrifuge – הזנה מהחלק העליון, מבנה דומה לטובולרית. אופן האיסוף שונה במקצת.

2. Multibowl – Clarifier centrifuge – סדרה של גלילים קו-צנטריים, אשר מסתובב יחדיו. התרחיף נכנס אל הגליל בעל הקוטר הקטן ביותר. בתא הראשון יישקעו החלקיקים הגדולים ביותר, מה שלא שקע יעבור אל הגליל השני, בעל קוטר גדול יותר, בו יישקעו חלקיקים בעלי קוטר קטן יותר. אנו מקבלים בשיטה זו יכולת לפרקצונציה של התמיסה. ניתן גם להשתמש בה כמנקה והצללה של תמיסה. מבחינת המבנה שלה – קשה יותר לתחזק ולנקות אותה, יקרה יותר, כבדה יותר (סיבוב נמוך יותר).

3. צנטריפוגת דיסק – Disk-type centrifuge – בנויה ממערך דיסקים היושבים אחד על השני (חרוט קטום – כמו חצאיות היושבות אחת על השנייה). במרכז יש את צינור ההזנה, התרחיף נכנס בתחתית הצנטריפוגה. גם פה יש כוח מניע אחד בכיוון היציאה (במעלה הדיסקים כלפי מעלה), וכוח נוסף הדוחף את החלקיקים אל הפריפריה. בשיטה זו אנו מקטיין את מרחק השקיעה של החלקיק, במקביל להגדלת שטח הפנים לשיקוע החלקיקים---> יעילות גבוהה מאד. צנטריפוגה תעשייתית.

- מורכבת מקערה שמכילה אוסף דיסקים בצורת חרוט קטום המורכבים זה מעל זה.
- הדיסקים ממוקמים במרחק $2\text{ mm} - 0.5$ ביניהם.
- הזנת החומר שמיועד להפרדה מתרחשת דרך צינור שממוקם בציר הסיבוב של הקערה.
- החומר המוזן מוזרם כלפי מטה בצינור ואחרי יציאתו מהצינור זורם כלפי מעלה בגוף הצנטריפוגה.
- הכוח הצנטריפוגלי דוחף את המוצקים לקצוות הדיסקים לכיוון האזור המיועד למוצקים. בעוד הנוזל ממשיך לזרום כלפי מעלה ויוצא מפתח הנמצא בראש הצנטריפוגה.
- ישנן צנטריפוגות בהן פליטת המוצקים היא אוטומטית, דרך נחירים בקוטר מתאים, וכאלו הדורשות ניקוי ידני.
- בצנטריפוגה עם פליטת מוצקים אוטומטית, ניתן לווסת את תדירות הניקוי כתלות באופי התהליך ובאחוז המוצקים.

- בדגמים מסוימים כאשר המקום שמיועד למוצקים מתמלא הפתחים נפתחים ומתרחש פינוי של המוצקים .

$$V_g = \frac{d^2 * (\rho_s - \rho) * g}{18 * \mu}$$

- R0- המרחק מהציר עד דופן הצנטריפוגה

$$Q_{max} = V_g * \frac{2 * \Pi * \omega^2 * n * \cot(\theta) * (R_o^3 - R_1^3)}{3 * g}$$

- R1- המרחק מהציר עד הכניסה לתאים

$$Q_{max} = \frac{2 * \Pi * d^2 * (\rho_s - \rho) * \omega^2 * n * \cot(\theta) * \frac{R_o^3 - R_1^3}{3}}{18 * \mu}$$

$$\Sigma = \frac{2}{3 * g} * \Pi * \omega^2 * n * \cot(\theta) * (R_o^3 - R_1^3)$$

- n – מס' הצלחות (דיסקים)

$$Q = \Sigma * V_g$$

- O- הזווית של התאים

יתרונות

- רזולוציה גבוהה של הפרדה.
- ניתן להפריד חלקיקים שנמצאים בריכוז נמוך בנפח גדול של נוזל .
- ניתן להפריד בין נוזלים בעלי צפיפויות שונות.
- הצנטריפוגה מתאימה לשיטות ביוטכנולוגיות .

חסרונות

- עלות השימוש בצנטריפוגה זו גבוהה ביחס לשימוש בצנטריפוגות אחרות .
- המוצקים המופרדים מכילים כמות גדולה של נוזלים .
- בזמן ההפרדה נוצרים גושי משקע שיכולים לסתום מרווחים בין הדיסקים ופתחי יציאה של החומרים המופרדים .
- קשה לנקות את הצנטריפוגה.

3. Decanter centrifuge – צנטריפוגת שבלול – שימושית לסילוק פסולת (איכות סביבה) . יש חלוקה לאזור רטוב ואזור יבש (בקרבת החלק הקוני), בו יש משקע מוצקים עם פחות נוזלים. המוצקים אינם יבשים לחלוטין. התערובת (מוצקים ונוזלים) מוזנת למיכל באופן רציף דרך צינור המצוי במרכז הבורג .

המיכל מסתובב במהירות גבוהה, כך שנוצר כוח צנטריפוגלי הפועל על התערובת וגורם לה להיצמד לדפנות המיכל.

גלל ההבדל בצפיפויות של הנוזל וחלקיקי המוצק, מתקבלות 2 פאזות:

1. פאזת המוצקים, בעלת הצפיפות הגבוהה יותר, צמודה לדפנות המיכל.

2. פאזת הנוזלים, בעלת הצפיפות הנמוכה יותר, מיצוייה מעל לפאזת המוצקים.

פעולת המתקן גורמת לכך שהנוזל יוצא מהפתח בצידו הרחב של המיכל ואילו המוצק יוצא מפתח המצוי בצידו הצר של המיכל, בצורה זו מתקבלת הפרדה בין חלקיקי המוצק והנוזל.

יציאת הנוזל מתאפשרת רק מהפתח המצוי בצידו הרחב של המיכל (האזור הרטוב – ראו תמונה בעמ' הבא) וזאת משום שהכוח הצנטריפוגלי גורם לכך שפני השטח של פאזת הנוזלים ימצאו במקביל לציר הסיבוב של המיכל. בנוסף גובה פתח היציאה של הנוזלים אשר קובע את עובי שכבת התערובת וכן צורת החרוט של המיכל, אינם מאפשרים לתערובת להגיע לאזור הצר של החרוט, כך שמתקבל באזור זה קטע "יבש".

חלקיקי המוצק שנצמדו לדפנות המיכל מוסעים באופן רציף, ע"י בורג שנע במהירות שונה ממהירות המיכל, דרך הקטע היבש (בו הם עוברים ייבוש נוסף) אל הקצה הצר של המתקן שם מצוי פתח היציאה למוצקים.

פרמטרים המשפיעים על התהליך

1. הפרש המהירויות בין המיכל והבורג, צריך להיות מותאם לסוג המוצק אותו מעוניינים להפריד. למשל, כאשר המוצק "רך" יחסית, הפרש המהירויות צריך להיות קטן יותר וזאת בכדי למנוע את שטיפתו מהמיכל יחד עם הנוזל.

2. בהתאם למטרת ההפרדה (טיהור נוזלים או ייבוש מוצקים) נקבע את היחס בין אורך המיכל לבין קוטרו. ככל שהקטע היבש ארוך יותר ניתן יהיה להזין ספיקה קטנה יותר אבל המוצקים שיתקבלו יהיו יבשים יותר, ולכן כאשר המטרה היא ייבוש מוצקים נשתמש במיכל ארוך יותר ובעל קוטר צר יותר. כאשר המטרה היא טיהור נוזלים (אין חשיבות לאזור היבש) נעדיף להשתמש במיכל קצר יותר ובעל קוטר רחב יותר על מנת להגדיל את ספיקת הנוזל.

3. ספיקת הכניסה תלויה בקוטר המיכל, הפרש המהירויות בין הבורג והמיכל, וכן מהמרחק שבין כל סיבוב של הבורג.

יתרונות

- המתקן מאפשר הפרדה רציפה של חלקיקי מוצק מתוך תערובת נוזלים, ולכן עלות הניקוי הינה נמוכה.
- התערובת המוזנת למיכל יכולה להכיל ריכוז גבוה של מוצקים.
- המתקן מאפשר הפרדה של מוצקים "רכים" מנוזלים.
- באמצעות המתקן ניתן לטפל בנפח גדול של תערובת בזמן קצר יחסית.
- המתקן צורך מעט אנרגיה ולכן עלות אחזקתו נמוכה, כמו כן ההשקעה הראשונית במתקן נמוכה יחסית.

חסרונות

- תנועת הבורג גורמת לטורבולנציה שעשויה לגרום נזק לתאים ולתוצרים.
- המוצקים שמתקבלים הינם "רטובים" יותר מאשר אלו המתקבלים בשיטות אחרות כגון, צנטריפוגת סינון.
- הכוח הצנטריפוגלי חלש יחסית, דבר המשפיע על איכות ההפרדה.
- סיכום נושא צנטריפוגות:

Table 1 Equations for Σ for Various Bowl Geometries

Machine type	Equation for Σ	Symbols used	Ref.
Tubular bowl	$\frac{\pi\omega^2}{g} L \frac{r_2^2 - r_1^2}{\ln\left(\frac{2r_2^2}{r_2^2 + r_1^2}\right)}$ <p>or</p> $\frac{\pi\omega^2}{g} 2L \left(\frac{3}{4}r_2^2 + \frac{1}{4}r_1^2\right)$	r_1 = inner radius of liquid r_2 = inner radius of bowl L = inner length of bowl	Ambler (1959)
Multichamber bowl	$\frac{\pi\omega^2}{g} \frac{L}{3} \sum_{i=1}^{n-1} \frac{r_{2i+1}^3 - r_{2i+2}^3}{r_{2i+1} - r_{2i+2}}$	r = radius of liquid Indices with even numbers = inner radius of chamber Indices with odd numbers = outer radius of chamber $n + 1$ = number of chambers	Sokolov (1971)
Decanter	$\frac{\pi\omega^2}{g} \left[L_1 \left(\frac{3}{2}r_2^2 + \frac{1}{2}r_1^2\right) + L_2 \left(\frac{r_2^2 + 3r_2r_1 + 4r_1^2}{4}\right) \right]$	L_1 = length of cylindrical part L_2 = length of conical part	Ambler (1959) Svarovsky (1977)
Disc bowl	$\frac{\pi\omega^2}{g} \frac{2}{3} N (r_2^3 - r_1^3) \cot \alpha$	N = number of discs r_2 = max. radius of disc r_1 = min. radius of disc α = half cone angle of disc	Ambler (1952)

13.12.2006

הרצאה 7

צנטריפוגות מעבדתיות.

מורכבות מ-4 חלקים:

1. רוטור.
2. בקרת מהירות.
3. בקרת טמפרטורה (שמירה על החומר המופרד, התחממות הרוטור, חיכוך בין המרכיבים של הצנטריפוגה).
4. מערכת ואקום (להקטנת החיכוך בתוך הצנטריפוגה).

שימושים:

- שיקוע מוצקים מתרחיף.
- פרקצוניה – הפרדה לפי חלקיקים, הפרדה לפי צפיפות
- קביעת תכונות חומרים מתוך קבוע השקיעה שלהם.

סוגי רוטורים:

- Fixed angle – רוטור קבוע, גודל המבחנות קבוע, המבחנות יושבות בזווית מבוזרת יחסית לציר הסיבוב. עד RPM 30000.
- Swinging bucket –
- Vertical rotor – המבחנות קבועות במקביל לציר הסיבוב.

20.12.2006

הרצאה 8

תהליכי סינון.

תהליך שבו שמשמשים במדיום מסוים על מנת להפריד חומר המורכב מגדלים שונים של חלקיקים, בניגוד לצנטרפוגציה המבוססת על צפיפויות שונות.

זרם נכנס למסנן – נקרא תרחיף (כמו צנטרפוגציה).

זרם שעובר את מדיום הפילטציה – נקרא תסנין.

שכבת מוצקים על פני המסנן – עוגה. יש עוגות דחיסות ועוגות בלתי דחיסות. לרוב בתהליכים

ביוטכנולוגיים העוגה היא דחיסה. (שיקוע חלבונים או חיידקים לדוגמא).

קיימים טווחי גודל של חלקיקים המגדירים לנו את סוג הסינון שנבצע:

1. חלקיקים מעל 100 מיקרון <--- פילטציה רגילה, כלומר תרחיף המוזרם על פאות סינון וקבלת עוגה.
2. 0.1 מיקרון ומעלה – מיקרופילטציה <--- מתקבלת עוגה על פני הפאזה המסננת, לא תמיד נשים לב בעין, אך תחת מיקרוסקופ נראה. משמש לבדיקת רמות חיידקים במים.
3. תחום אולטרא-פילטציה – רמות הפרדה מולקולארית. ממבראנות המפרידות לפי molecular weight cut off – MWCO. הפרדה של נוגדנים לדוגמא. תחום ההפרדה הוא בין 2000-Da

200000. לא ניתן להבחין בחלקיקים על פני הממבראנה, נשאר נוזל וחלקיקים מומסים בו על פניה.

4. מולקולות קטנות יותר – אוסמוזה הפוכה, אלקטרודיאליזה. הוצאת מים מתמיסת מלחים – תחום מסות מולריות מאד נמוכות.

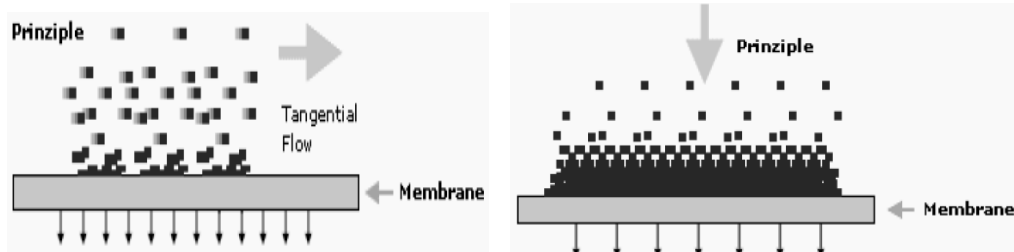
אנו נחלק את עולם הסינון לשני תחומים: קונבנציונאלית וממבראנלית. ההתנהגות הפיזיקאלית שונה, העקרונות זהים.

פילטרציה קונבנציונאלית.

בחירת שיטת הסינון: לפי תכונות הנוזל (צמיגות, צפיפות), תכונות החומר המופרד (נמצא במוצק או בנוזל, גודל, צורה), ריכוז/כמויות חומר מופרד (כמה עוגה תוצר במהלך התהליך), ספיקה נדרשת לסינון, איכות התוצר שרוצים לקבל (מכתוב פעולות נוספות לתהליך הסינון – ייבוש או שטיפה). מושגים מהתחום:

- Strainers – מערכות המיועדות להרחיק מוצקים גדולים מתרחיף – מערכת סינון גסה מאד.
 - Cake filters – תרחיף עם ריכוז מוצקים גבוה.
 - Clarifiers – הצללה של תמיסות. לא מתקבלים הרבה מוצקים.
 - Filter thickeners – לא מפרידות באופן מוחלט בין המוצק לנוזל, מטרתה לרכז את התמיסה, כלומר הוצאת חלק מהממס. מיועד במקרים שנרצה להקטין ספיקה נכנסת למכשיר שהשימוש בו יקר, או ריכוז תמיסה לפני הכנסתה לתהליך המשך (מיצוי) וקבלת תוצאות איכותיות יותר.
- דברנו על חלוקה לסוגי סינון לפי גודל החלקיק, ניתן לבצע חלוקה לפי סוג הפאזה המופרדת:
1. גז/מוצק – חדרים נקיים לדוגמא, הוצאת חיידקים מהאוויר.
 2. נוזל/גז.
 3. נוזל/נוזל – לא שכיח, לרוב נשתמש בצנטריפוגה.
- חלוקה נוספת לסוגים:

- לפי רציף או מנתי.
- אופן הזרימה של התרחיף על מדיום הסינון – אנכי או אופקי.



- סינון במקביל (ציור שמאלי) – יתרון בכך שאין השפעה על קצב הסינון, מפני שעובי העוגה הנוצרת דק יותר בהשוואה לסינון מאונך.

- הלחץ במערכת (וואקום, על לחץ, גרביטציוני).
- ספיקת המערכת.

זרימה דרך מצע נקבובי

משוואת Hagen – Poiseuille :

$$v = \frac{\Delta P_s D^2}{32 \Delta L \mu}$$

תזכורת: זרימה סביב חלקיקים:

$$C_D = \frac{F_D / A_p}{\rho v^2 / 2} \longrightarrow F_D = \frac{C_D \rho v^2 A_p}{2}$$

C_D מקדם הגרר – Drag Coefficient

F_D כוח הגרר – Total Drag

A_p שטח היטל – Projected Area

חוק סטוקס:

$$F_D = 3\pi\mu v D_p$$

מכאן:

$$C_D = \frac{6\pi\mu D_p}{\rho v A_p}$$

ועבור חלקיק כדורי:

$$C_D = \frac{24}{\rho v D_p / \mu} = \frac{24}{N_{Re}}$$

זרימה דרך שכבת מוצקים:

הנחה: בין החלקיקים יש תעלות בעלות צורות כלשהן שאנו מניחים שהן אקוויוולנטיות לתעלות גליליות ששטח הפנים הכולל שלהן ונפחן שווה לזה של התעלות במצע הסינון.

שטח פנים כולל: שטח פנים של חלקיק X מספר החלקיקים

או: שבר נפחי של חלקיקים בשכבה X היחס שבין שטח הפנים לנפח החלקיקים S_p/V_p

לכדור:

$$V_p = \frac{1}{6} \pi D_p^3 \qquad S_p = \pi D_p^2$$

והיחס S_p/V_p הוא $6/D_p$

לחלקיקים לא כדוריים משתמשים במשתנה Φ_s - sphericity

$$\left(\frac{S_p}{D_p} \right)_{particle} = \frac{6}{\Phi_s D_p} \quad \text{כלומר:} \qquad \Phi_s = \frac{\left(\frac{S_p}{V_p} \right)_{sphere}}{\left(\frac{S_p}{V_p} \right)_{particle}} = \frac{6/D_p}{S_p/V_p}$$

פורוזיביות המצע – Void fraction – מוגדר ע"י ε - שבר נפחי של "חללים" במצע. ניתן להתייחס רק לחללים שבין החלקיקים השונים במצע או גם לפורוזיביות של החלקיקים עצמם.

שבר נפחי של חלקיקים במצע: $1 - \varepsilon$.

מגדירים לתעלות האקוויוולנטיות קוטר אקוויוולנטי ואותו קובעים באופן הבא:

$$\left(\frac{S_p}{V_p} \right)_{particle} \times V_{particles} = (n \pi D_{eq} L) \quad (L \text{ תעלות באורך } L)$$

$$AL(1-\varepsilon) = (V_{particles}) \quad \text{נפח החלקיקים}$$

A - שטח חתך של המצע L - אורך

$$n \pi D_{eq} L = AL(1-\varepsilon) \frac{6}{\Phi_s D_p} \quad (1)$$

כמו כן:

$$\text{void volume} = \left(\frac{1}{4} n \pi D_{eq}^2 L \right) \quad \text{נפח תעלות}$$

$$\frac{1}{4} n \pi D_{eq}^2 L = AL\varepsilon \quad (2)$$

מ (1) ו- (2) מקבלים:

$$D_{eq} = \frac{2}{3} \Phi_s D_p \frac{\varepsilon}{1-\varepsilon}$$

אם $\varepsilon = 0.4$ (גודל אופייני) אז: D_p

ואם Φ_s קרוב ל-1 מקבלים כי: $D_{eq} = \frac{1}{2} D_p$

tortuosity פיתוליות:

λ_1 - פקטור תיקון לכך שהתעלות אינן ישרות אלא מפותלות.

מהירות זרימת נוזל במצע: $\bar{v} = \frac{\bar{v}_0}{\varepsilon}$

כאשר: \bar{v}_0 - מהירות ממוצעת לתנועת הנוזל ב"עמוד ריק".

מצבים נתונים אלו במשוואת האגן- פואסל:

$$\frac{\Delta P}{L} = \frac{32 \bar{v} \mu}{D^2} = \frac{32 \lambda_1 \bar{v}_0 \mu (1-\varepsilon)^2}{\frac{4}{9} \varepsilon \Phi_s^2 D_p^2 \varepsilon^2} \quad \leftarrow \quad \bar{v} = \frac{\Delta P_s D^2}{32 \Delta L \mu}$$

משוואת Kozeny-Carman - (עבור $Re \leq 1$):

$$\frac{\Delta P}{L} = \frac{72 \lambda_1 \bar{v}_0 \mu (1-\varepsilon)^2}{\Phi_s^2 D_p^2 \varepsilon^3}$$

תיקון אמפירי:

$$\frac{\Delta P}{L} = \frac{150 \bar{v}_0 \mu (1-\varepsilon)^2}{\Phi_s^2 D_p^2 \varepsilon^3}$$

פרמטרים הקשורים לתכונות המצע בלבד:

$$k = \frac{\Phi_s^2 D_p^2 \varepsilon^3}{72 \lambda_1 (1-\varepsilon)^2}$$

$$\frac{\Delta P}{L} = \frac{\bar{v}_0 \mu}{k} \quad \text{ואז:}$$

חוק Darcy:

$$\bar{v} = \frac{\Delta P k}{\mu L}$$

הגדרה:

permeability - פרמיאביליות - k/L

התנגדות לסינון: $R = \frac{1}{\text{permeability}}$

$$\Delta P = \Delta P_c + \Delta P_m$$

ΔP_c - הפרש לחצים כתוצאה מהתנגדות העוגה לסינון

ΔP_m - הפרש לחצים כתוצאה מהתנגדות הממבראנה לסינון

$$v = \frac{\Delta P}{\mu (R_c + R_m)}$$

התנגדות הממבראנה R_m היא קבועה אך התנגדות העוגה R_c משתנה במהלך הפילטרציה - ההתנגדות גוברת ככל שעובי שכבת הסינון הולך וגדל.
בנוסף:

$$v = \frac{Q}{A} = \frac{dV/dt}{A}$$

ולכן:

$$\frac{1}{A} \frac{dV}{dt} = \frac{\Delta P}{\mu (R_m + R_c)}$$

ההתנגדות של העוגה לסינון גדלה ככל שעובי שכבת העוגה גדל. לכן R_c תלוי בכמות התרחיף שסוננה.
אם העוגה היא בלתי דחיסה, עובייה יהיה פרופורציונאלי ביחס ישר לנפח התרחיף שסונן וביחס הפוך לשטח הסינון.

המסה המצטברת בשכבת הסינון תהיה: CV

C – ריכוז המוצקים – מסת המוצקים ליחידת נפח **תסנין**.

V – נפח תסנין

ואם: $A =$ שטח הסינון, עובי (L) שכבת הסינון יהיה פרופורציונאלי ל: $\frac{CV}{A}$

נגדיר: α - התנגדות סגולית של העוגה ואז:

$$R_c = \alpha C \frac{V}{A}$$

נציב במשוואת דרסי ונקבל:

$$\frac{1}{A} \frac{dV}{dt} = \frac{\Delta P}{\mu \left(\alpha C \left(\frac{V}{A} \right) + R_m \right)}$$

ממשוואה זו אנו רואים כי במהלך הסינון חייב להיות שינוי בספיקת הסינון $\left(\frac{dV}{dt} \right)$ או במפל הלחצים במערכת (ΔP) .

ניתן לבצע סינון במפל לחצים קבוע (ואז הספיקה משתנה במהלך הסינון) או בספיקה קבועה (ואז מפל הלחצים משתנה במהלך הסינון).

סינון במפל לחצים קבוע:

בזמן $t=0$ $V=0$:

$$\frac{1}{A} \int_0^V \mu \left(\alpha C \left(\frac{V}{A} \right) + R_m \right) dV = \int_0^t \Delta P$$

$$\frac{1}{A} \mu \left(\alpha C \frac{V^2}{2A} + VR_m \right) = t \Delta P$$

ובצורה שונה:

$$\frac{V}{A} \left(\frac{\mu \alpha C}{2 \Delta P} \frac{V}{A} + \frac{\mu R_m}{\Delta P} \right) = t \quad \leftarrow \quad \frac{V}{A} \left(\frac{\mu \alpha C}{2} \frac{V}{A} + \mu R_m \right) = t \Delta P$$

אם עובדים בסינון במפל לחצים קבוע ניתן להגדיר שני קבועים:

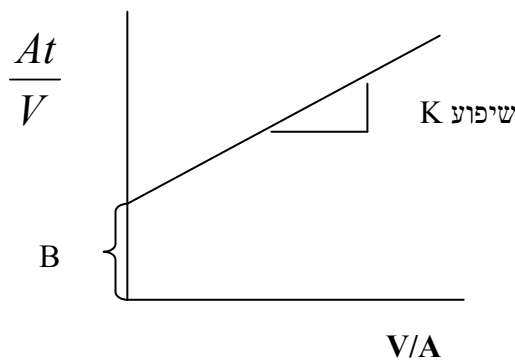
$$\frac{\mu \alpha C}{2 \Delta P} = K \quad \frac{\mu R_m}{\Delta P} = B$$

ואז ניתן לכתוב את המשוואה בצורה:

$$\boxed{\frac{At}{V} = K \frac{V}{A} + B}$$

או: $K \frac{V}{A} + B = t \frac{A}{V}$

זוהי למעשה משוואת קו ישר וניתן לצייר גרף:



בהרבה מקרים התנגדות הממבראנה לסינון זניחה לעומת התנגדות העוגה, ואז:

$$t = K \left(\frac{V}{A} \right)^2$$

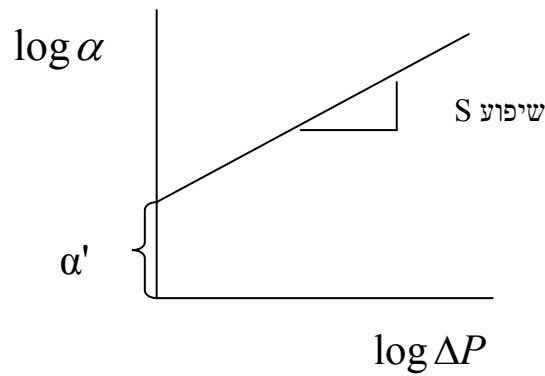
הפיתוח למעלה מתייחס למקרים בהם העוגה לא דחיסה.

כאשר העוגה היא דחיסה ההתנגדות הסגולית לסינון גדלה ככל שמפל הלחצים גדל - כשהעוגה נדחסת קצב הסינון קטן.

נניח ש- α תלוי ב- ΔP באופן הבא: $\alpha = \alpha' (\Delta P)^S$

S – דחיסות העוגה כאשר: 0=S העוגה לא דחיסה (ואז $\alpha = \alpha'$ - קבוע ולא תלוי במפל הלחצים), כאשר: 1=S הדחיסות הגבוהה ביותר. בפועל ערכי S לעוגות דחיסות נעים בין 0.1 ל-0.8.

ניתן לקבוע באופן נסויי את S ו- α' :



המשוואות הבסיסיות לסינון עבור מקרה זה אינן משתנות:

$$\frac{At}{V} = K \frac{V}{A} + B$$

אבל ערכו של K שונה.

סינון בקצב קבוע (ספיקה קבועה):
 ΔP חייב להשתנות

$$\frac{1}{A} \frac{dV}{dt} = \frac{\Delta P}{\mu \left(\alpha C \left(\frac{V}{A} \right) + R_m \right)}$$

בעבודה בספיקה קבועה: $\frac{1}{A} \frac{dV}{dt} = \text{קבוע} = \frac{V}{At}$

$$\frac{V}{At} = \frac{\Delta P}{\mu \left(\alpha C \left(\frac{V}{A} \right) + R_m \right)}$$

$$\frac{V}{At} R_m + \frac{\mu \alpha C}{t} \left(\frac{V^2}{A^2} \right) = \Delta P$$

נכתוב את המשוואה בצורה שונה:

$$\frac{V}{At} R_m + \frac{\mu \alpha C}{t} \left(\frac{V^2}{A^2 t^2} \right) = \Delta P$$

ואז:

$$vR_m + \mu \alpha C t v^2 = \Delta P$$

אם התנגדות הממבראנה לסינון קטנה יחסית להתנגדות העוגה לסינון אזי:

$$\frac{\Delta P}{\alpha} = \mu C t v^2$$

ואם העוגה דחיסה:

$$\frac{\Delta P}{\alpha' \Delta P^s} = \mu C t v^2$$

$$\Delta P^{(1-s)} = \alpha' \mu C v^2 t = K_r t$$

27.12.2006

הרצאה 9

מערכות סינון

עקרון הפעולה – דופן מסננת (מדיום כלשהו – בד, ממבראנות בגדלים שונים), בין שני קירות. מספר רב של תת יחידות מסוג זה, וקבלת תעלה המאפשרת זרימת נוזלים דרכה. התרחיף מגיע מתעלה אחת עובר דרך המדיום ויוצא כתסנין לתעלה שנייה. מערכות היכולות לעבוד בלחצים גבוהים מאד.

מסנן פלטות יכול להגדיל את ניצולת התהליך. בתכנון נכון של הפלטות ניתן להוסיף אלמנט ששוטף את העוגה ולאחר מכן הזרמת אויר חם לייבוש. אי אפשר לעבוד רציף, או ריכוז מוצקים גבוה. פילטר תוף-סובב – מדיום הסינון נמצא בהיקף התוף, כאשר יש מערכת וואקום בתוף התוף, ששקוע בחלקו באמבט הפרקציה לסינון. במערכת זו יש יניקה, שטיפה, ייבוש והוצאת העוגה. מערכת זו היא מערכת רציפה, תמיד נשארת שכבה קטנה שלו מוצקים על התוף, כדי לא לפגוע במדיום הסינון. השטח האפקטיבי לסינון הוא רק החלק השקוע באמבט, בשונה ממערכות אחרות. הבעיה בשיטה זו היא הפרש לחצים המקסימאלי בסך הכול 1 אטמוספירה.

Precoat – עזרים לסינון הבאים לעזור לנו להתמודד עם הירידה ביעילות הסינון של עוגה דחיסה, תוך כדי העלאת הלחץ. עזרים אילו גורמים לעוגה להיות פחות דחיסה – בדרך כלל הוספת חומרים כרמיים, קונכיות. כמובן שיש פגיעה באיכות המוצק במתקבל ולכן נשתמש בזה רק אם התוצר שלנו בנוזל.

פילטר חגורה – מערכת המכילה מערכת ואקום על פני פס נע, רציפה, גם כן יש בעיה של הפרש לחצים בעוגה דחיסה. מערכת פתוחה, בניגוד לתוף-סובב שהוא מערכת סגורה ולכן ניתן לעבוד בתנאים סטריליים.

מסנן נרות – מערכת סגורה, ניתן להגיע ללחצים גבוהים מאד. מערכת של צינורות רבים המהווים מדיום סינון – הנוזל עובר דרך דופן הצינורות והמשקע נותר על פני השטח החיצוני.

ניתוח תהליך ייצור של האנזים בטא גאלקטוזידאז:

תיאור המוצר:

- האנזים בטא גאלקטוזידאז מיוצר ע"י חיידקי E.Coli בריכוז של 1-2%, מדובר על אנזים תוך תאי המפרק את סוכר החלב לקטוז לגלוקוז וגאלקטוז.
- השימוש העיקרי בו נעשה בתעשיית החלב לצורך המתקת מוצרים או ייצור מוצרים נטולי לקטוז המיועדים לאוכלוסיית הצרכנים שאינם מסוגלים לעכל לקטוז.
- במסגרת הייצור הביוטכנולוגי של אנזים זה משתמשים בכלים של הנדסה גנטית כדי להאיץ ולהגדיל את ייצור האנזים עד לרמות ריכוז של 20-25%. תהליך זה נעשה ע"י אינדוקציה של

Lac Operon

תהליך הייצור מורכב משלושה שלבים עיקריים:

1. **שלב הפרמנטציה**- הייצור נעשה בריאקטור מנתי אירובי במספר מחזורי ייצור. מצע ההזנה מיוצר במיכל נפרד מפלב"מ ועובר עיקור בסטריליזטור רציף. החמצן לתהליך התסיסה מסופק ע"י הזרמת אוויר שעובר עיקור בסינון. כמקור חנקן לפרמנטציה משתמשים באמוניה גזית.
2. **שלב ההפרדה הראשונית**- שימוש במיקרופילטרציה לריכוז התאים במצע התסיסה, שבירת התאים במהמגן לחץ גבוה, הרחקת שברי התאים בצנטריפוגת צלחות ולאחר מכן בסינון עדין להרחקת שיירי התאים, ולבסוף ריכוז התמיסה ע"י אולטרהפילטרציה כאשר החלבונים מצטברים ברטנאט (הרכוז). מתעסק בהפרדת התאים ושבירתם.
3. **שלב הבידוד**- הרטנאט עובר טיפול בעמודת כרומטוגרפית חילוף יונים, לאחר מכן התמיסה הטעונה בחלבון עוברת אולטרהפילטרציה לריכוז החלבון שמצטבר בראטנט וטיפול בעמודת גל כרומטוגרפיה ומסנן דיאליזה, לבסוף תמיסת החלבון עוברת ייבוש בהקפאה ומתקבלת אבקה שהיא התוצר הסופי. ההפרדה הראשונית - הפרדה של חומרים כימיים דומים לתוצר שלנו, אשר קל לנו להפריד אותם ורק לאחר מכן שימוש בשיטות מורכבות יותר.

כל תהליך הייצור הוא מנתי, ניתן להשתמש גם ברציף אבל הדוגמא במצגת היא של רציף. יש מיכל לפני הפרמנטור המשמש להכנת המצע, לאחר מכן סטריליזציה וכניסה לפרמנטור לתסיסה אירובית. בתום הפרמנטציה מעבר לחלק ההפרדה. לפני ההפרדה מבוצע ריכוז של התוצר וזאת כדי להשיג נפח עבודה קטן יותר <--- תפעול נוח יותר וזול יותר. יחידת הסינון של המיקרופילטרציה ומיכל האחסון עובדים כיחידה אחת, עד להשגת נפח וריכוז מבוקשים.

השלב הבא, לאחר הריכוז, הוא המהמגן או טחנת כדורים. לאחר ההימגון התאים שבורים והנוזל התוך תאי נשפך אל מחוץ התא. הנפח נכנס לצנטריפוגה - המטרה להפריד בין השכבות כשאנו מעוניינים בנוזל העליון (שמכיל את האנזים). מהצנטריפוגה יש שני זרמי יציאה: חומר עליון שמעניין אותנו, ושברי תאים (פסולת). לאחר הצנטריפוגה יש מסנן ליטוש, שמיעל את התהליך של הוצאת שברי התאים (כתלות

בגודל הממוצע של החלקיקים). חשוב לציין כי אחרי כל שלב בתהליך יש מיכל אחסון שמאפשר לשנות ולשלוט בנפחים בהם אנחנו משתמשים (שיקולים של זמן מול עלות). השלב הבא הוא הבידוד באולטרא-פילטריציה לפי ה-cutoff של המולקולה הרצויה על ידי שימוש במחזור וקבלת פרקציה הגדולה מגודל הממבראנה שסיננו באולטרא-פילטריציה. התהליך התעשייתי שונה מזה שמתרחש במעבדה – אנחנו חייבים לדעת הרבה מאד נתונים על גודל ותכונות האנזים כדי לתכנן מראש את התהליך. השלב הבא הוא עמודת כרומטוגרפיה – בעלת מטען הופכי לאנזים (על ידי שימוש בבופר, חומצה ובסיס ניתן לשלוט ולשנות את רמות ה-pH), ובאמצעות שטיפות ותמיסות ניתן לשטוף את המקטע שבו אנו מעריכים כי נמצא החלבון שלנו. עם הפרקציה הזאת נמשיך לשלב הבא, שהוא אולטרא-פילטריציה נוספת עם ממבראנה מדויקת יותר, שתאפשר לנו להפריד עוד קצת. במצב הזה יש לנו את החלבון שלנו ביחד עם חלבונים נוספים בעלי גודל ותכונות דומים = תהליך ההפרדה הופך להיות יותר קשה ומסובך. לאחר האולטרא-פילטריציה יש ג'ל כרומטוגרפיה – הפרדה לפי גודל. יש מצע גרגרי (תעלות קטנות), שבו המולקולות הקטנות יותר ישהו יותר זמן מאשר הגדולות, ובכך אנו מצמצמים עוד יותר את כמות המזהמים. בשלב זה נגדיר שהצלחנו לבודד את החלבון שלנו. יש שלב נוסף של אולטרא-פילטריציה שונה קצת: תוספת של מים באיכות גבוהה מאד, אשר ניתן להוסיף לתהליך, כדי לשטוף את הפרקציה ממרכיבים קטנים (בייחוד מלחים ויונים). לאחר השלב הזה יש לנו תמיסה בריכוז מסוים שמכילה את החלבון עם מעט מאד מזהמים אם בכלל (רמת הניקיון תלויה במה שהגדרנו בתחילת התהליך). השלב האחרון הוא ייבוש בהקפאה – למנוע פעילות ביולוגית של התוצר.

השקעות

- פירוט כתב כמויות הכולל את כל מרכיבי התהליך (יחידות תהליך, צנרת, משאבות, מפוחים, תשתיות-מבנה וכו'), כמויותיהם ועלויותיהם, וחשוב השקעה בציוד.
- הערכת עלויות עבודות ההתקנה וההקמה ב-% מההשקעה בציוד או לפי עלויות סגוליות (למשל הקמת מבנה חומרים ועבודות ניתנת לחישוב לפי עלות למ"ר), וחשוב עלות ההשקעה בציוד והעבודות.
- הוספת תכנון ופיקוח, רווח לקבלן ובצ"מ (בלתי צפוי מראש) כ-10% מערך הפרויקט, וחשוב ההשקעה בפרויקט.
- הוספת הון חוזר (סכום כסף נדרש לתפעול עד לקבלת מימון שוטף מההכנסות) וריביות במהלך ההקמה, וחשוב ההשקעה הכוללת בפרויקט.
- חישוב השקעה סגולית ביחידות של עלות לקצב ייצור. ההשקעה הסגולית מאפשרת להעריך את היקף ההשקעה הנדרש כתלות בהיקף הייצור. **במקרים רבים מחשבים את ההשקעה בפרויקט לפי נתון של השקעה סגולית הידוע מהניסיון.**

הערכת השקעות לפרויקט חדש על בסיס פרויקט קיים

- ניתן להשתמש בנוסחה המקשרת בין העלות לגודל כאשר ידועים עלות וגודל של מתקן מסוים ניתן לחשב את עלות אותו מתקן בגודל אחר לפי מקדם הגמלון.
- ההשוואה לגבי הגודל נעשית לפי פרמטר מאפיין כגון ספיקה או שטח וכו'.
- מקדם הגמלון (n) הוא מספר הנע במרבית המקרים בין 0.5 ל-1 כאשר ככל שהמתקן יותר מתוחכם ומכיל מערכות אלקטרומכניות ומיחשוב, המקדם ישאף ל-1 (בין 0.9 ל-1), עבור מערכות פשוטות שעיקרן מרכיבי בנייה כגון בטון המקדם יהיה קרוב ל-0.5 (מבנים, מיכלים וכו').

חישוב החזר הון שנתי- פונ' PMT

- פונקציה זו מחשבת את התשלום על הלוואה בהתבסס על תשלומים קבועים ושיעור ריבית קבוע.

$$PMD = \frac{i * (1+i)^N}{(1+i)^N - 1}$$
$$PMT = PV * PMD$$

- פונקציה זו נמצאת בקבוצות הפונקציות הכלכליות בתוכנת האקסל.

PMT(pv,nper,rate,fv,type)

- PMD - מקדם החזר הון
- PMT - סכום ההחזר החודשי של הלוואה
- Rate (i) - שיעור הריבית בהלוואה, עשרוני.
- Nper מספר התשלומים הכולל להחזר הלוואה (יחשוב לפי תקופת הקיים של הפרויקט או

הציוד).

- pv סכום הלוואה או ההשקעה
- Fv הוא הערך העתידי, או מאזן כספי שאליו ברצונך להגיע לאחר ביצוע התשלום האחרון. אם fv מושמט, המערכת תניח כי הוא שווה ל-0 (אפס), כלומר, הערך העתידי של הלוואה הוא 0.
- Type המספר 0 או 1, מציין את מועד התשלומים, כאשר הערך 1 מתייחס לתשלום בתחילת התקופה, מאחר והחזר ההון מקבל ערך שלילי עדיף לסמן בתא זה מינוס אחד.

השקעה סגולית

- ניתן לתאר את ההשקעה הנדרשת בפרויקט/מתקן/יחידת תהליך כתלות בתפוקת התהליך.
- יחידות ההשקעה הסגולית הן השקעה ליחידת ייצור.
- לדוגמא, עבור מערך רציף לייצור חלבון מסוים בהיקף של 100 ק"ג ליום שההשקעה בו היא 1,000,000 דולר העלות הסגולית תהיה:

$$S.Cost = \frac{1,000,000\$}{100 \frac{kg}{day}} = 10,000 \frac{\$}{kg / day}$$

- עבור אותם ערכים בתהליך מנתי ההשקעה הסגולית תהיה:

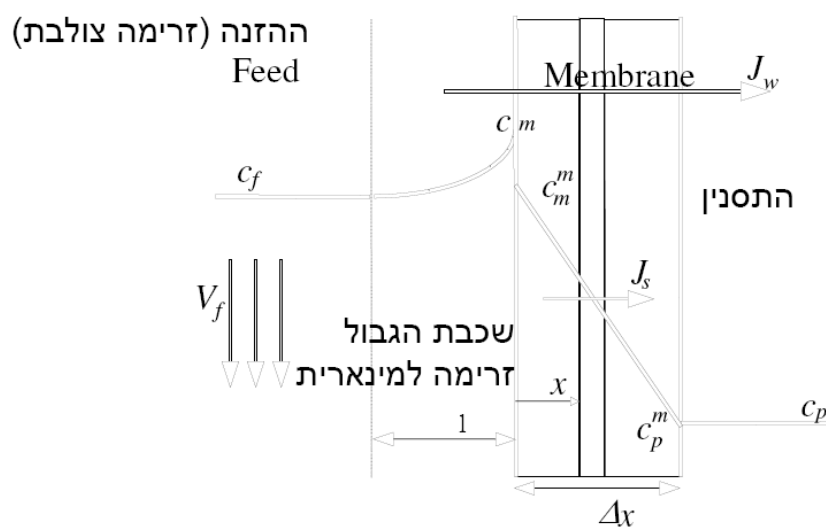
$$S.Cost = \frac{1,000,000 \$}{100 \frac{kg}{Batch}} = 10,000 \frac{\$}{kg / Batch}$$

- בעזרת ידיעת העלות הסגולית והיקף הייצור הנדרש ניתן להעריך את היקף ההשקעה הנדרשת.

24.1.2007

הרצאה 11

מצגת – סינון ממברני עמודים 37-סוף.



מעבר מומסים דרך הממברנה

השטף של מומס דרך הממברנה הוא תוצאה של:

$$Dv = \left(\frac{K_b * T}{3 * \Pi * \mu * d_m} \right)$$

- מעבר נוזל+מומס דרך הממברנה
- דיפוזיה של מומס משכבת המומסים המצטברת בפני השטח של הממברנה (שכבת הג'ל שבה ריכוז המומסים גבוה מזה שבהזנה) בחזרה לאזור שבו ריכוז המומס נמוך יותר לפי חוק פיק.

$$J * c - D_v \frac{dC}{dx} = J * C_p$$

- מאזן מסה נותן:
- Dv - מקדם הדיפוזיה, m^2/hr
- J - שטף המוצר, (m^3/m^2*hr)
- C_p - ריכוז המומס בפרמיאט, $mg/1,gr/m^3$
- C - ריכוז המומס בהזנה בנקי כלשהיא, $mg/1,gr/m^3$
- X - עובי הממברנה, m
- L - אורך הקטע בו ריכוז המומס גדל ביחס לריכוזו בהזנה עד הגעה לריכוז מקסימלי בפני השטח של הממברנה, m
- dC/dX - השתנות ריכוז המומס כתלות במרחק מפני השטח של הממברנה
- K_b - קבוע בולצמן $1.38 * 10^{-16} gr * cm^2 / sec^{2 * o} K$
- T - טמפי במעלות קלווין
- μ - צמיגות התמיסה, $gr/cm * sec$ d_m - קוטר המומס, cm

תיאור הזרימה דרך הממברנה

משוואת האגן פואסל מתארת את הזרימה (הסעה) דרך ממברנת האולטרפילטריציה: המשתנים:

$$J = \frac{(\Delta P - \Delta \pi) D^2 \varepsilon}{32 L \tau \mu}$$

- J - השטף דרך הממברנה (ספיקה ליחידת שטח)
- ε - void volume של התעלות בממברנה
- ΔP - הפרש לחצים טרנס ממברני
- $\Delta \Pi$ - הפרש לחץ אוסמוטי
- τ - פיתוליות התעלות בממברנה
- D - קוטר התעלות בממברנה
- L - עובי הממברנה

$$J = Q_m \Delta P$$

- ניתן לשקלל את כולם לפרמטר אחד - פרמיאביליות הממברנה - Q_m
- הפרמיאביליות מגדירה את השטף של מים (או ממש אחר) בטמפי החדר עם השינוי בלחץ. כאשר מבצעים אולטרפילטריציה לתמיסה, המכילה מומסים שאינם עוברים את הממברנה, אזי יש לתקן את המשוואה בהתאם:

$$J = Q_m (\Delta P - \sigma \Delta \pi) \frac{\mu_w}{\mu}$$

- μ - צמיגות התמיסה
- μ_w - צמיגות מים
- σ - מקדם דחייה (כשערכו 1 כל המומס נדחה ע"י הממברנה)

מעבר מומסים דרך הממברנה

$$K_c = \frac{Dv}{L}$$

- מגדירים קבוע מעבר מסה
- פותרים את המשוואה עבור תנאי השפה $C=C_f$ $L=X$ $C=C_m$ $0=X$ ומקבלים

$$\ln \frac{C_m - C_p}{C_f - C_p} = \frac{J * L}{D_v} = \frac{J}{K_c}$$

אם כל המומס נדחה מהממברנה ואינו עובר אותה $C_p=0$ (למשל חומר בעל מ.מולרית גבוהה מסף המעבר של הממברנה) אז ומקבלים

$$J = K_c \ln \frac{C_m}{C_f}$$

כאשר חלק מהמומס עובר את הממברנה וחלק נדחה- מגדירים מקדם דחייה R_f לעיתים הוא מסומן כ- σ

$$R_f = \sigma = 1 - \frac{C_p}{C_f}$$

- C_p - ריכוז המומס בפרמיאט, $mg/1,gr/m^3$
- C_f - ריכוז המומס בהזנה, $mg/1,gr/m^3$

חישוב מקדם מעבר המסה - Kc

- את Kc מחשבים מתוך אנלוגיות (קורלציות) אמפיריות של מעבר מסה.
- לצורך זה צריך להגדיר מספרים חסרי מימד :

■ מס' Sherwood $Sh = k_c D / D_v$ D – קוטר תעלות הזרימה

■ מס' Schmidt $Sc = \mu / \rho D_v$ Dv - מקדם דיפוזיה

■ מס' Reynolds $Re = \rho v D / \mu$ v – מהירות הזרימה

- האנלוגיות מבטאות את הקשר בין הפרמטרים השונים בתנאי סביבה משתנים.

- למשל (עבור מספרי Sc קטנים מ-1), עבור זרימה טורבולנטית, מעבר המסה לקיר של צינור יבוטא ע"י :

$$Sh = 0.023 Re^{0.8} Sc^{1/3} \left(\frac{\mu}{\mu_w} \right)^{0.14}$$

- עבור מספרי Sc גדולים :

$$Sh = 0.0096 Re^{0.913} Sc^{0.346}$$

- קורלציה אחרת לזרימה טורבולנטית : $Sh = 0.082 Re^{0.69} Sc^{0.33}$

■ לזרימה למינרית : $k_c = 0.816 \left(\gamma_w \frac{D_v^2}{L} \right)^{1/3}$

■ כאשר בצינור : $\gamma_w = \frac{8u}{D}$

- (u – מהירות זרימת התמיסה ב – bulk)