

全国高等医药院校药学类规划教材

QUANGUO GAODENG YIYAO YUANXIAO

YAOXUELEI GUIHUA JIAOCAI

分离纯化 工艺原理

FENLI CHUNHUA
GONGYI YUANLI

主编 顾觉奋



中国医药科技出版社

内 容 提 要

本书系全国高等医药院校药学类规划教材。全书前12章属总论,后8章为各论,共20章。总论部分着重于理论上的阐述,重点介绍了现代分离方法和技术在生物药品生产中应用的基本原理、理论基础、技能和方法,包括细胞破碎、溶剂萃取法、化学萃取法、超临界流体萃取法、双水相萃取法、离子交换法、吸附法、沉淀法、膜分离法、免疫亲和色谱法、疏水作用、金属螯合和共价色谱法、旋转薄层色谱法、高效液相色谱法和结晶等,各论部分主要讨论了各类生物药物的分离与纯化。该书可作为高等医药院校药学类专业的主要必修课教材和生物工程及其相关专业的研究和教学参考书,也可供生物制药厂(包括抗生素工厂、微生物发酵工厂)或生物药品检验部门的科技人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

分离纯化工艺原理/顾觉奋主编. —北京:中国医药科技出版社,2002.6

全国高等医药院校药学类规划教材

ISBN 978-7-5067-2607-8

I. 分… II. 顾… III. ①药剂-分离-理论-医学院校-教材②药剂-提纯-理论-医学院校-教材
IV. TQ460.6

中国版本图书馆CIP数据核字(2002)第039161号

出版 中国医药科技出版社
地址 北京市海淀区文慧园北路甲22号
邮编 100082
电话 责编:010-62278402 发行:010-62227427
网址 www.cspyp.cn
规格 787×1092mm¹/₁₆
印张 26¹/₄
字数 589千字
印数 5001—6000
版次 2002年8月第1版
印次 2008年5月第2次印刷
印刷 廊坊市海翔印刷有限公司
经销 全国各地新华书店
书号 ISBN 978-7-5067-2607-8
定价 45.00元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

全国高等医药院校药学类规划教材常务编委会

名誉主任委员 吴阶平 蒋正华 卢嘉锡

名誉副主任委员 邵明立 林蕙青

主任委员 吴晓明 (中国药科大学)

副主任委员 吴春福 (沈阳药科大学)

姚文兵 (中国药科大学)

吴少楨 (中国医药科技出版社)

刘俊义 (北京大学药学院)

朱依淳 (复旦大学药学院)

张志荣 (四川大学华西药学院)

朱家勇 (广东药学院)

委 员 (按姓氏笔画排列)

王应泉 (中国医药科技出版社)

叶德泳 (复旦大学药学院)

毕开顺 (沈阳药科大学)

吴 勇 (四川大学华西药学院)

吴继洲 (华中科技大学同济药学院)

李元建 (中南大学药学院)

杨世民 (西安交通大学药学院)

陈思东 (广东药学院)

姜远英 (第二军医大学药学院)

娄红祥 (山东大学药学院)

曾 苏 (浙江大学药学院)

秘 书 罗向红 (沈阳药科大学)

徐晓媛 (中国药科大学)

浩云涛 (中国医药科技出版社)

高鹏来 (中国医药科技出版社)

编写说明

经教育部和全国高等医学教育学会批准，全国高等医学教育学会药学教育研究会于2004年4月正式成立，全国高等医药院校药学类规划教材编委会归属于药学教育研究会。为适应我国高等医药教育的改革和发展、满足市场竞争和医药管理体制对药学教育的要求，教材编委会组织编写了“全国高等医药院校药学类规划教材”。

本系列教材是在充分向各医药院校调研、总结归纳当前药学教育迫切需要补充一些教学内容的基础上提出编写宗旨的。本系列教材的编写宗旨是：药学特色鲜明、具有前瞻性、能体现现代医药科技水平的高质量的药学教材。也希望通过教材的编写帮助各院校培养和推出一批优秀的中青年业务骨干，促进药学院校之间的校际间的业务交流。

参加本系列教材的编写单位有：中国药科大学、沈阳药科大学、北京大学药学院、广东药学院、四川大学华西药学院、山西医科大学、华中科技大学同济药学院、复旦大学药学院、西安交通大学药学院、山东大学药学院、浙江大学药学院、北京中医药大学等几十所药学院校。

教材的编写尚存在一些不足，请各院校师生提出指正。

全国高等医药院校药学类
规划教材编写办公室

2004年4月16日

前 言

《分离纯化工艺原理》系根据国家教委“十五”期间高等学校教材建设纲要的精神，由中国药科大学主编，沈阳药科大学、山东大学和华中科技大学等单位参编，经全体编委共同努力编写而成。本书可作为高等医药院校药学类专业的主要必修课教材和生物工程及其相关专业的研究和教学参考书，也可供生物制药厂（包括抗生素工厂、微生物发酵工厂）或生物药品检验部门的科技人员参考。

作者在1994年曾主编过《分离纯化工艺原理》（第1版）——国家教委“八五”期间高等教育药学类规划教材。为适应新世纪生物技术产品的需要，根据国家教委“十五”期间高等学校规划教材的精神，在广泛听取了师生们意见基础上进行修订的，修订的宗旨是“面向21世纪，将生物产品的分离纯化教学推上一个新台阶”。对传统生物技术产品和现代生物产品的分离与纯化做了全面、系统的阐述，是目前国内该领域中内容最新、最丰富的教材之一。

全书共20章，前12章属总论，后8章为各论。总论部分着重于理论上的阐述，重点介绍了现代分离方法和技术在生物药品生产中应用的基本原理、理论基础、技能和方法，以产品分离过程的前后为序，逐章论著。主要包括细胞破碎、溶剂萃取法、化学萃取法、超临界流体萃取法、双水相萃取法、离子交换法、吸附法、沉淀法、膜分离法、免疫亲和色谱法、疏水作用、金属螯合和共价色谱法、旋转薄层色谱法、高效液相色谱法和结晶等。各论部分主要讨论了各类生物药物的分离与纯化。

本书尤其新编了化学萃取法、超临界流体萃取法、双水相亲和分配、液体离子交换剂、径向膜色谱、高效径向膜色谱和增添了HPLC的理论和应用方面新进展等章节，各论部分也做了较大变动，删去了多肽类、多烯类、林可霉素类抗生素等章节，新增了基因工程产品、多糖等章节，实例也有不少增减，并适当增加深度和细致程度，准确反映了国内外先进成果，内容丰富、编排合理。参加编写的各位编委都是多年从事生物制药教学、科研的专家、教授，所述工艺来自实践第一线，先进、可靠，具有较高参考价值。

本书编写过程中，得到了中国医药科技出版社在出版过程中的技术指导，中国药科大学各级领导，特别是教务处及生物制药学院的关心支持，在

此一并谨致谢意。

本书第一章、第四、八、十二、十三、十四、十五、十六章，第六章第三、四节，第十章第五、七节以及附录，由顾觉奋教授编写；第二、三、十一章由王鲁燕副教授编写；第六、七、九章由项勇副教授编写；第十七、十八、十九、二十章由王凤山教授编写；第五、十章由杨光教授编写，由顾觉奋最后统稿。

为了使本书适应我国药学科技和医药工业发展的需要，我们参考了大量国内外有关书籍和文献；并结合自己几十年教学经验和科研实践中积累的丰富心得和体会，进行编撰工作，但限于水平和时间仓促，难免会有误讹和不足之处，祈盼专家、同仁及广大读者批评指正。

顾觉奋 谨识

2002年5月于南京中国药科大学

目 录

第一章 分离与纯化概论	(1)
第一节 分离纯化技术在生物制药中的地位	(1)
第二节 生物技术下游加工过程的特点	(1)
第三节 传统生物产品的分离纯化方法	(2)
一、一般工艺流程和单元操作	(2)
二、发酵液的预处理和固液分离	(3)
三、细胞破碎和碎片分离	(3)
四、溶剂萃取法	(3)
五、离子交换分离法	(4)
六、吸附分离法	(4)
七、沉淀分离法	(4)
八、化学萃取法	(4)
九、超临界流体萃取法	(4)
十、膜分离法	(5)
第四节 现代生物药物的分离纯化	(5)
一、初步分离方法	(6)
二、高度纯化方法	(6)
三、成品加工	(8)
第五节 分离纯化方法的选择依据	(8)
一、传统生物药物分离纯化方法的选择依据	(8)
二、基因工程药物分离纯化方法的选择依据	(12)
第六节 分离和纯化技术的发展趋向	(13)
第二章 生物材料的预处理和细胞破碎及液固分离	(15)
第一节 确定预处理方法的基本条件	(15)
一、了解生物活性物质存在的部位	(15)
二、稳定性	(15)
三、提取工艺对滤液质量的要求	(16)
第二节 生物材料的预处理	(16)
一、菌丝体及蛋白质的处理	(16)
二、高价金属离子的去除	(19)

第三节 细胞破碎	(19)
一、机械法	(19)
二、非机械法	(22)
三、破碎率的评价及各种破碎方法的评述	(24)
第四节 发酵液的液 - 固分离	(25)
一、过滤设备	(25)
二、过滤方式	(27)
三、助滤剂和过滤介质	(28)
四、影响液 - 固分离的因素	(28)
五、液 - 固分离技术的发展动向	(29)
第三章 溶剂萃取法分离原理	(30)
第一节 溶剂萃取法的基本概念	(30)
一、萃取体系	(30)
二、分配定律	(31)
三、萃取因素	(32)
四、萃取率	(32)
五、分离因素	(32)
第二节 溶剂萃取法的基本原理	(33)
一、萃取原理	(33)
二、弱电解质在有机相与水相间的分配平衡	(33)
三、萃取方法和理论收率的计算	(35)
第三节 乳化和破乳化	(38)
一、乳状液的形成和稳定条件	(39)
二、影响乳状液类型的因素	(41)
三、乳状液的破坏	(42)
四、常用的去乳化剂	(43)
第四节 影响溶剂萃取的因素	(45)
一、pH 的影响	(45)
二、温度和萃取时间的影响	(45)
三、盐析作用的影响	(46)
四、溶剂种类、用量及萃取方式的选择	(46)
第五节 溶剂回收	(48)
一、单组分溶剂的回收	(48)
二、低浓度溶剂的回收	(48)
三、回收与水部分互溶并形成恒沸混和物的溶剂	(49)
四、回收完全互溶的混和溶剂并不形成恒沸混和物	(49)
第六节 萃取设备	(49)
一、混和设备	(49)

二、分离设备	(50)
三、离心萃取机	(52)
第四章 化学萃取法	(54)
第一节 概述	(54)
第二节 化学萃取的基本原理	(54)
一、络合反应萃取	(54)
二、阳离子交换反应萃取	(54)
三、离子缔合反应萃取	(55)
四、协同反应萃取 (加合反应萃取)	(55)
五、带同萃取反应	(55)
第三节 影响化学萃取的因素	(55)
一、萃取剂的选择	(55)
二、稀释剂的选择	(56)
三、第四胺离子的选择	(56)
四、被萃取化合物的结构	(56)
五、pH 值的影响	(57)
六、温度的影响	(57)
七、缓冲液的种类	(57)
第四节 化学萃取的应用	(58)
一、青霉素的化学萃取	(58)
二、氨基糖苷类抗生素的化学反应萃取	(60)
三、含氮碱性抗生素的化学反应萃取	(60)
四、四环类抗生素的化学反应萃取	(61)
五、碳青霉烯类抗生素的化学反应萃取	(61)
第五章 超临界流体萃取法	(63)
第一节 概述	(63)
第二节 基本原理	(64)
一、超临界流体的性质	(64)
二、超临界流体的溶解性能	(66)
三、超临界萃取的热力学基础	(67)
第三节 影响超临界 CO₂ 流体溶解能力的因素	(69)
一、压力的影响	(69)
二、温度的影响	(70)
三、夹带剂的影响	(70)
四、不同溶质在 SC - CO ₂ 流体中的溶解度	(71)
第四节 超临界萃取的典型流程	(72)
第五节 超临界流体技术的应用和发展	(73)
一、超临界流体萃取技术在医药工业上的应用	(73)

二、超临界流体萃取技术在生物工程中的应用	(74)
第六章 双水相萃取	(77)
第一节 双水相萃取法概述	(77)
一、水溶性高聚物相系统	(77)
二、双水相萃取的基本概念	(79)
三、相图	(80)
第二节 双水相萃取理论	(82)
一、布朗运动和界面张力引起的粒子分配	(82)
二、分配系数与活度的关系	(82)
三、相系统的道南电位	(82)
第三节 影响双水相萃取的因素	(84)
一、成相高聚物的分子量	(84)
二、成相高聚物浓度——界面张力	(85)
三、电化学分配 (electrochemical partition) ——盐类的影响	(86)
四、疏水效应	(87)
五、生物亲和分配	(87)
六、温度及其他因素	(88)
第四节 双水相萃取的应用	(89)
一、双水相分配进行粒子浓缩	(90)
二、双水相体系萃取胞内酶	(91)
三、不同葡聚糖相中酶的双水相萃取	(93)
四、双水相酶法	(95)
五、双水相萃取干扰素的工业规模实例	(95)
第五节 双水相萃取技术的发展	(95)
一、廉价双水相体系的开发	(95)
二、双水相亲和分配 (affinity partition)	(96)
三、液体离子交换剂 (liquid ion exchanger)	(97)
第七章 离子交换分离原理	(98)
第一节 离子交换树脂的基本概念	(98)
第二节 离子交换树脂的分类及理化性能	(99)
一、分类	(99)
二、命名	(104)
三、离子交换树脂的理化性能	(105)
第三节 离子交换树脂的合成	(110)
一、加聚法 (共聚法)	(110)
二、逐步共聚法 (缩聚法)	(110)
第四节 离子交换过程的理论基础	(114)
一、离子交换平衡方程式	(114)

二、离子交换速度	(117)
三、离子交换过程的运动学	(120)
第五节 离子交换过程的选择	(122)
一、离子的水化半径(水合离子半径)	(122)
二、离子的化合价	(123)
三、溶液的 pH 值(酸碱度)	(124)
四、交联度、膨胀度、分子筛	(124)
五、树脂和交换离子之间的辅助力	(125)
六、有机溶剂的影响	(126)
第六节 偶极离子吸着	(126)
第七节 大网格离子交换树脂	(127)
第八节 树脂和操作条件的选择及应用实例	(129)
一、树脂和最适操作条件的选择	(129)
二、应用实例	(130)
第九节 软水和无盐水制备	(131)
一、软水制备	(132)
二、无盐水制备	(132)
三、再生方式	(133)
四、有机物污染问题	(134)
第十节 离子交换膜和电渗析	(134)
一、离子交换膜	(134)
二、电渗析制备无盐水	(135)
第十一节 离子交换法分离蛋白质	(136)
一、蛋白质的离子交换平衡及动力学	(136)
二、适用于分离纯化蛋白质的离子交换剂	(137)
三、离子交换剂的交换容量	(138)
四、应用实例	(139)
第八章 吸附分离法	(140)
第一节 概述	(140)
第二节 吸附过程的理论基础	(140)
一、基本概念	(140)
二、吸附的类型	(141)
三、吸附力的本质	(142)
四、吸附等温线	(143)
第三节 几种常用的吸附剂	(144)
一、活性炭	(144)
二、漂白土(fuller's earth)	(145)
三、氧化铝	(145)

四、硅胶	(146)
五、纤维素	(146)
第四节 影响吸附过程的因素	(146)
一、吸附剂的性质	(147)
二、吸附物的性质	(147)
三、溶剂的影响	(147)
四、溶液 pH 的影响	(147)
五、温度的影响	(148)
六、其他组分的影响	(148)
第五节 大孔网状聚合物吸附剂	(148)
一、大孔网状聚合物吸附剂的类型和结构	(148)
二、大孔网状聚合物吸附剂吸附机制	(150)
三、大孔网状聚合物吸附剂的应用特点	(151)
第六节 吸附分离法的应用	(152)
一、活性炭的应用实例	(152)
二、氧化铝分离纯化维生素 B ₁₂	(152)
三、硅胶分离纯化柱晶白霉素	(152)
四、大孔网状聚合物吸附剂在微生物制药生产上的应用	(153)
第九章 膜分离法	(156)
第一节 分类和定义	(157)
第二节 分离机制	(159)
一、毛细孔流动理论	(159)
二、溶解-扩散理论	(160)
第三节 表征膜性能的参数	(161)
一、水通量	(161)
二、截留率和截留分子量	(161)
三、影响截留率的因素	(163)
第四节 传递理论——浓差极化-凝胶层模型	(163)
一、过滤模型	(163)
二、浓差极化-凝胶层模型	(164)
第五节 影响膜的因素	(165)
一、膜的化学性质	(165)
二、蛋白质种类与溶液 pH	(165)
三、无机盐	(166)
四、压力的影响	(166)
五、进料浓度和流速的影响	(167)
六、温度的影响	(167)
第六节 膜过滤装置的型式及操作方式	(167)

一、膜过滤装置	(167)
二、超滤过程的操作方式	(169)
三、膜的污染与清洗	(172)
第七节 膜分离技术的应用	(172)
一、小分子产品的生产	(173)
二、大分子产品的生产	(173)
第八节 径向膜色谱法	(175)
一、径向膜色谱技术的原理及特点	(175)
二、膜色谱柱的应用	(176)
三、高效径向膜色谱	(179)
四、色谱膜污染及处理方法	(179)
第十章 色谱分离法	(181)
第一节 概述	(181)
一、色谱法的产生及发展	(181)
二、色谱法的分类	(182)
三、色谱法的基本原理	(183)
第二节 柱色谱法	(190)
一、吸附剂	(190)
二、流动相的选择	(193)
三、色谱柱	(193)
四、展开	(194)
第三节 凝胶色谱法	(195)
一、基本原理	(195)
二、葡聚糖凝胶的构造和性质	(196)
三、操作方法	(197)
四、应用举例	(198)
第四节 亲和色谱法	(199)
一、基本原理	(199)
二、载体	(200)
三、配基	(201)
四、载体活化及耦联	(202)
五、亲和吸附和洗脱	(205)
六、亲和色谱法的应用	(206)
第五节 疏水作用、金属螯合和共价色谱法	(208)
一、疏水作用色谱法	(208)
二、金属螯合色谱法	(211)
三、共价作用色谱法	(212)
第六节 薄层色谱法	(214)

一、硬板的制备	(216)
二、软板的制备	(218)
三、点样、展开和显迹	(218)
第七节 旋转薄层色谱法	(222)
一、旋转薄层色谱仪结构及工作原理	(222)
二、吸附剂与吸附层	(224)
三、溶剂的选择	(225)
第八节 高效液相色谱法	(226)
一、高效液相色谱分离方法和原理	(226)
二、分离方法选择的依据	(227)
三、高效液相色谱的固定相	(228)
四、高效液相色谱的流动相	(231)
五、高效液相色谱在抗生素分离上的应用	(233)
第十一章 沉淀分离法	(236)
第一节 盐析沉淀法	(236)
一、基本原理	(236)
二、无机盐的选择	(237)
三、影响盐析的各种因素	(239)
第二节 有机溶剂沉淀	(243)
一、基本原理	(243)
二、影响沉淀效果的因素	(243)
第三节 其他沉淀方法	(244)
一、等电点沉淀法	(244)
二、成盐沉淀法	(244)
三、高分子聚合物沉淀	(246)
四、表面活性剂	(246)
第四节 沉淀法的应用实例	(247)
一、胰岛素的提取	(247)
二、四环素的提取	(247)
第十二章 结晶	(249)
第一节 结晶过程的理论基础	(249)
一、结晶过程是表面化学反应过程	(249)
二、晶核形成和晶体的生长	(251)
第二节 过饱和溶液的形成	(254)
一、蒸发法	(254)
二、冷却法	(254)
三、化学反应结晶法	(255)
四、盐析结晶法	(255)

五、等电点法	(255)
六、复合法	(256)
七、共沸蒸馏结晶法	(256)
第三节 提高晶体质量的途径	(257)
一、晶体大小	(257)
二、晶体形状	(259)
三、晶体纯度	(260)
四、晶体结块	(261)
五、重结晶	(261)
第四节 工业生产实例	(262)
一、化学反应结晶	(262)
二、利用温度差结晶	(262)
三、利用浓度差结晶	(263)
四、盐析结晶(加入不同溶剂结晶)	(263)
五、利用等电点结晶	(263)
六、盐析和冷却并用结晶	(263)
七、冷却和化学反应并用结晶	(263)
八、共沸蒸馏结晶	(263)
九、重结晶	(265)
第十三章 β -内酰胺类抗生素	(266)
第一节 β -内酰胺类抗生素的分类、命名和特性	(266)
一、分类	(266)
二、命名	(267)
三、物理性质	(268)
四、 β -内酰胺环的反应性能	(269)
第二节 青霉素的理化性质	(269)
一、溶解度	(269)
二、抗菌活性	(271)
三、吸湿性	(271)
四、稳定性	(271)
五、酸碱性	(272)
六、降解反应	(272)
七、聚合反应	(276)
八、过敏反应	(277)
第三节 青霉素的分离纯化工艺	(277)
一、分离纯化工艺流程	(277)
二、分离纯化工艺要点	(278)
三、从青霉素钾工业盐转化制备几种无菌原药	(281)

第四节 头孢菌素 C 的理化性质	(282)
一、头孢菌素 C 的物理性质	(283)
二、头孢菌素 C 的化学性质及反应性能	(283)
第五节 头孢菌素 C 的分离纯化工艺	(285)
一、分离纯化工艺流程	(285)
二、分离纯化工艺要点	(285)
第六节 克拉维酸的分离纯化	(287)
一、克拉维酸的理化特性	(287)
二、克拉维酸的分离纯化	(287)
第十四章 氨基糖苷类抗生素	(290)
第一节 概述	(290)
第二节 链霉素的理化性质	(292)
一、稳定性	(294)
二、溶解度	(294)
三、光学性质	(295)
四、链霉素的盐类	(295)
五、链霉素的降解反应	(296)
六、氧化和还原反应	(297)
七、醛基反应	(297)
八、互变异构现象	(298)
第三节 链霉素的分离纯化工艺	(300)
一、离子交换法分离纯化链霉素的工艺	(300)
二、国内外工艺分析	(300)
第四节 影响分离纯化工艺的因素	(301)
一、发酵液的过滤及预处理	(301)
二、吸附和解吸	(301)
三、精制	(302)
第五节 卡那霉素的分离纯化工艺	(303)
一、理化性质	(304)
二、分离纯化工艺流程	(304)
三、分离纯化工艺要点	(304)
第六节 庆大霉素的分离纯化工艺	(304)
一、理化性质	(305)
二、分离纯化工艺流程	(305)
三、分离纯化工艺要点	(305)
第七节 妥布拉霉素的分离纯化工艺	(306)
一、理化性质	(306)
二、分离纯化工艺流程	(306)

三、分离纯化工艺要点	(306)
第十五章 四环类抗生素	(308)
第一节 四环类抗生素的理化性质	(308)
一、结构和物理性质	(308)
二、化学性质和降解反应	(310)
第二节 四环类抗生素的分离纯化	(315)
一、沉淀法	(315)
二、溶剂萃取法	(316)
三、离子交换法	(317)
四、沉淀后分离纯化四环类抗生素的工艺	(317)
第三节 分离纯化工艺影响因素	(318)
一、影响发酵液预处理的因素	(319)
二、影响四环素成品纯度的因素	(319)
三、影响脱水化合物形成的因素	(320)
四、影响晶体颗粒大小的因素	(321)
第十六章 大环内酯类抗生素	(322)
第一节 概述	(322)
第二节 红霉素类抗生素的主要化学反应	(324)
一、分子反应	(324)
二、基团反应	(325)
第三节 几种主要的大环内酯类抗生素的结构和性质	(325)
一、红霉素 (erythromycin)	(325)
二、麦迪霉素 (midecamycin)	(327)
三、螺旋霉素 (spiramycin)	(328)
四、柱晶白霉素 (leucomycin)	(329)
第四节 大环内酯类抗生素分离纯化工艺	(331)
一、红霉素分离纯化工艺	(331)
二、麦迪霉素分离纯化工艺	(333)
三、螺旋霉素分离纯化工艺	(333)
四、柱晶白霉素分离纯化工艺	(334)
第五节 影响分离与纯化过程的因素	(334)
一、发酵液预处理	(334)
二、防止乳化及破乳	(334)
三、pH 和温度	(335)
四、结晶	(335)
第十七章 氨基酸类药物的分离纯化	(336)
第一节 概述	(336)
一、氨基酸的结构	(336)