



普通高等教育“十一五”国家级规划教材
(高职高专教材)

生化分离技术

第二版

于文国 卞进发 主编
乔德阳 主审

3-43
=2


 化学工业出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材
(高职高专教材)

生化分离技术

第二版

于文国 卞进发 主编
乔德阳 主审

 化学工业出版社

· 北京 ·

本教材作为普通高等教育“十一五”国家级规划教材，在第一版教材内容基础上进行了适当修订。在加强介绍普遍应用的分离技术同时，也注重新的分离技术的介绍。本书主要介绍了固液分离技术、细胞破碎技术、萃取和浸取技术、沉淀技术、吸附及离子交换技术、膜分离技术、层析技术、电泳技术、结晶技术、蒸发与干燥技术的基本原理、基本方法、基本工艺、操作要点、影响因素及分离中常见问题及其处理手段等，同时也介绍了典型产品青霉素、维生素 C 及谷氨酸的分离与纯化工艺。

本书可作为高等职业生化制药技术、生物制药技术、化学制药技术、生物化工工艺等工艺类专业的教材，也可作为相关生产企业职业培训的教材，还可作为从事生产、科研开发等工作的有关技术人员的参考资料。

图书在版编目 (CIP) 数据

生化分离技术/于文国, 卞进发主编. —2 版. —北京: 化学工业出版社, 2010.5

普通高等教育“十一五”国家级规划教材 (高职高专教材)
ISBN 978-7-122-07971-8

I. 生… II. ①于…②卞… III. 生物化学-分离 IV. TQ033

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 045177 号

责任编辑: 于 卉

文字编辑: 周 侗

责任校对: 宋 玮

装帧设计: 于 兵

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 装: 大厂聚鑫印刷有限责任公司

787mm×1092mm 1/16 印张 15 $\frac{1}{4}$ 字数 378 千字 2010 年 6 月北京第 2 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 27.00 元

版权所有 违者必究

前 言

随着经济不断向前发展，生产技术领域发生了显著变化。新技术不断出现，老技术也不断更新优化。生化分离技术作为产物制备过程中的重要工程技术，也在不断地革新变化。高等职业院校肩负着培养面向生产、建设、服务和管理第一线需要的高技能人才的使命。只有培养掌握生产技术，并能应用技术解决具体问题的高技能人才，才能促进产业发展，适应社会经济发展的需要。

教材作为推广技术的一种载体，必须紧跟技术发展，瞄准技术领域现状，突出适用性内容，才能更好地辅助教学，适应培养一线岗位工作人员业务能力的需要。本教材作为普通高等教育“十一五”国家级规划教材，在第一版教材内容基础上进行了适当修订。在加强介绍普遍应用的分离技术同时，也注重新的分离技术的介绍。教材内容以培养学生技术应用能力为目标，从生化产品分离岗位一线工作出发，以分离岗位工作所需的知识、技能为导向，设计适当理论知识，突出实践性知识，旨在使学生学习后能做、会做、做好，并具备一定的创新能力。

为了更好地跟踪生化分离技术应用现状，编者深入多家有代表性的大中型企业进行调研，在企业通过与技术人员及生产操作人员进行深入的交流与研讨，掌握了大量的生产一线技术资料，为修订教材内容积累了丰富的素材，使得本版教材内容更加实用，生产实际知识得以加强。希望这版教材有助于培养学生的生产技能，同时，恳请广大读者提出宝贵意见。

本书配有电子课件，请选用此教材的老师到化学工业出版社教学资源网 www.cipedu.com.cn 上下载。

编 者

2010年2月

第一版前言

生物技术产业作为 21 世纪的“朝阳产业”，正在迅猛地发展。近年来，中国生物技术产业也正经历着前所未有的技术变革，并呈现出良好的发展态势。随着中国生物技术产业的稳步发展，对适应生产第一线的应用型高素质人才的需求也逐年递增。因此，开发适应高等职业技术教育的教材是搞好职业教育所必需的，是人才培养的基石。中国高等职业教育还处在一个起步阶段，适合于职业教育的相关教材种类少，特别是生物技术类专业教材更是非常匮乏。因此，加强此类教材建设是职业教育的迫切需要。本教材正是在这种形势下，经全国多所职业技术学院共同讨论研究下开发的，用以适应高等职业生物技术类人才培养的教学需要。

生化分离技术作为生物技术的一个分支体系，是利用待分离的物系中的目标组分与共存杂质之间在物理、化学及生物学性质上的差异进行分离的技术。本教材根据教育部高职高专生物技术类专业人才培养方案及指导性教学大纲而编写，是生物技术类专业开设的一门主干专业课。本书以生化产品生产中共性分离工艺技术的理论和实践为主线，兼顾典型产品分离等内容进行编写，编写内容突出实用性，尽量避免过多的理论分析及复杂计算。

本教材重点介绍了生产普遍应用的生化分离技术的基本原理、基本方法、基本工艺、操作要点、影响因素、问题分析及其处理手段等，对用于科研或正在工业化的生化分离技术进行简要介绍。教材中未介绍分离技术中所用到的相关设备知识，有关设备的内容重点在配套教材《生化设备》一书中介绍。因此，在工艺专业的教学中两本教材要配套使用。

全书共分十二章，绪论、第一章、第五章、第十一章由于文国编写，第二章、第三章由焦明哲编写，第六章、第七章、第八章由卞进发编写，第四章、第九章、第十章由李勤编写。全书由于文国统稿，乔德阳主审。

本书不妥之处敬请广大读者批评指正。

编 者

目 录

绪论	1
第一节 生物技术产品与生化分离过程	1
一、生物技术产品的特性	1
二、生化分离过程的重要性及其特点	2
三、生化分离过程的基本原理	3
四、生化分离过程的选择与设计	4
第二节 生化分离的一般过程及单元操作	5
一、生化分离的一般工艺过程	5
二、发酵液的预处理和固液分离	5
三、细胞破碎和其碎片的分离	6
四、初步纯化(提取)	6
五、高度纯化(精制)	9
六、成品加工	9
第三节 生化分离技术的发展	9
思考题	10
第一章 固液分离技术	11
第一节 发酵液的预处理技术	11
一、预处理的原理及方法	11
二、发酵液的相对纯化	15
三、发酵液预处理工艺及其操作	16
第二节 固液分离	16
一、发酵液的过滤	16
二、沉降	19
三、其他固液分离方法	21
四、传统固液分离工艺及其操作	22
五、预处理及固液分离技术应用实例	24
思考题	25
第二章 细胞破碎技术	26
第一节 细胞壁的结构与组成	26
一、细菌	26
二、真菌和酵母	27
三、藻类	27
第二节 细胞破碎技术实施	28
一、细胞破碎工艺及其操作	28
二、细胞破碎中的工艺问题及处理	33
第三节 包含体	33

一、包含体的形成、分离及洗涤	33
二、包含体的变性溶解	34
三、蛋白质的复性	34
思考题	37
第三章 萃取和浸取技术	38
第一节 溶剂萃取	38
一、溶剂萃取的理论基础	39
二、溶剂萃取方式	45
三、溶剂萃取工艺及其操作	52
四、溶剂萃取的工艺问题及处理	54
第二节 浸取	55
一、浸取理论	55
二、浸取方法及操作	58
三、浸取工艺	59
四、浸取的工艺问题及处理	62
第三节 新型萃取技术	63
一、双水相萃取	63
二、超临界流体萃取	66
三、反胶团萃取	70
思考题	75
第四章 沉淀技术	76
第一节 蛋白质沉淀的基本原理	76
一、蛋白质的溶解性	76
二、蛋白质胶体溶液的稳定性	77
三、沉淀动力学	77
第二节 蛋白质沉淀技术实施	78
一、基本方法	78
二、沉淀工艺及其操作	84
三、沉淀技术的应用	85
思考题	85
第五章 吸附及离子交换技术	86
第一节 吸附	86
一、吸附的基本原理	86
二、常用吸附剂	90
三、吸附技术的应用	91
四、吸附工艺及其操作	92
五、吸附的工艺问题及处理	96
第二节 离子交换基本原理	97
一、离子交换平衡	98
二、离子交换选择性	98
三、离子交换过程和速度	98

四、影响离子交换的因素	100
第三节 离子交换树脂	102
一、离子交换树脂的分类	102
二、离子交换树脂的命名	103
三、离子交换树脂的理化性质	104
四、离子交换树脂的功能特性	105
五、离子交换树脂的选择	107
六、有关计算	108
第四节 离子交换技术的实施	109
一、离子交换工艺及其操作	109
二、离子交换的工艺问题及处理	113
第五节 离子交换技术的工业应用	114
一、离子交换技术在水处理上的应用	114
二、离子交换技术在药物生产上的应用	116
第六节 离子交换技术的发展	118
一、新型离子交换树脂的开发及应用	118
二、离子交换技术与其他分离技术的结合	119
思考题	119
第六章 膜分离技术	121
第一节 膜及其应用	121
一、膜的分类及性能	121
二、膜组件	122
三、膜在生物技术行业中的应用	122
第二节 膜分离过程	125
一、膜分离过程的传质形式及机理	125
二、膜分离过程的类型	127
第三节 膜分离过程中的问题及处理	128
一、压密作用	129
二、膜的水解作用	129
三、浓差极化	129
四、膜的污染	130
第四节 膜分离技术的实施	132
一、反渗透	132
二、超滤	134
三、微滤	136
四、纳滤	138
五、透析	139
六、电渗析	140
第五节 液膜分离技术	143
一、液膜类型及膜相组成	144
二、乳化液膜的分离机制	145

三、乳化液膜分离工艺流程及应用	147
思考题	148
第七章 色谱分离技术	149
第一节 色谱分离的基本原理及分类	149
一、色谱分离的基本原理	149
二、色谱法的分类	153
第二节 凝胶过滤色谱	154
一、原理与操作	154
二、凝胶色谱的应用及特点	156
第三节 离子交换色谱	157
一、原理与操作	157
二、离子交换色谱的应用及特点	158
第四节 疏水性相互作用色谱	159
一、原理与操作	159
二、疏水性相互作用色谱的应用及特点	160
第五节 亲和色谱	161
一、原理及操作	161
二、亲和色谱的应用及特点	162
第六节 反相色谱	162
思考题	163
第八章 电泳技术	164
第一节 电泳的基本原理	164
一、电泳的理论基础	164
二、影响电泳迁移速率的因素	164
第二节 电泳及其应用	165
一、电泳的分类	165
二、几种典型的电泳技术	166
三、电泳的应用与操作过程	169
四、电泳应用实例	172
思考题	173
第九章 结晶技术	174
第一节 结晶基本原理	174
一、饱和和过饱和溶液的形成	174
二、成核	177
三、晶体生长	178
四、晶习及产品处理	179
第二节 结晶的类型	181
一、结晶分类	181
二、分批结晶	181
三、连续结晶	182
四、重结晶	183

五、分级重结晶	184
第三节 结晶操作控制	184
一、过饱和度	184
二、温度	184
三、晶浆浓度	185
四、流速	185
五、结晶时间	185
六、溶剂与 pH	185
七、晶种	186
八、搅拌与混合	186
九、结晶系统的晶垢	186
第四节 结晶技术的实施	186
一、结晶工艺及其操作	186
二、结晶的工艺问题及处理	190
第五节 结晶技术应用实例	191
一、青霉素 G 盐的结晶工艺	192
二、四环素碱的结晶工艺	192
思考题	192
第十章 蒸发与干燥技术	194
第一节 蒸发	194
一、蒸发的基本原理	194
二、蒸发的操作方法	196
三、蒸发工艺及其操作	198
四、蒸发的工艺问题及处理	199
第二节 干燥	200
一、干燥的基本原理	200
二、干燥的操作方法	203
三、干燥工艺及其操作	204
四、干燥的工艺问题及处理	209
五、干燥过程应用实例	210
思考题	211
第十一章 典型产品的分离工艺	212
第一节 青霉素的分离工艺	212
一、青霉素的分离原理	212
二、青霉素的分离工艺及其操作	215
第二节 维生素 C 的分离工艺	220
一、维生素 C 的分离原理	220
二、维生素 C 的分离工艺及其操作	221
第三节 谷氨酸的分离工艺	223
一、谷氨酸的分离原理	223

二、谷氨酸的分离工艺及其操作.....	225
思考题.....	228
附录一 室温 (25℃) 达到预定饱和度时每升硫酸铵原始水溶液应加入固体硫酸铵的质量 (g)	229
附录二 0℃下达到预定饱和度时每 100mL 硫酸铵原始水溶液应加入固体硫酸铵的质量 (g)	230
参考文献.....	231

绪 论

【学习目标】

- ① 了解生化产品及生化分离过程的基本特点，以及生化分离技术发展趋势；
- ② 理解生化分离过程的基本原理；
- ③ 掌握生化分离过程选择与设计基本方法；
- ④ 熟悉生化分离的一般工艺过程及单元操作技术。

生化分离技术是指从含有目标产物的发酵液、酶反应液或动植物细胞培养液中，提取、精制并加工制成高纯度的、符合规定要求的各种产品的生产技术，又称为下游加工技术。生化分离过程有别于一般的化学分离过程，它是依据生物产品的特殊性而采取的一定技术处理手段的加工过程。

第一节 生物技术产品与生化分离过程

一、生物技术产品的特性

生物技术产品是指在生产过程应用微生物发酵技术、酶反应技术、动植物细胞培养技术等生化反应技术制得的产品。它包括常规的生物技术产品（如用发酵生产的有机溶剂、氨基酸、有机酸、蛋白质、酶、多糖、核酸、维生素和抗生素等）和现代生物技术产品（如用基因工程技术生产的医疗性多肽和蛋白质等）。它们的生产不同于一般化学品生产，而产品本身又具有许多特殊性。有的是胞内产物，如胰岛素、干扰素等；有的是胞外产物，如抗生素、胞外酶等；有的是相对分子质量较小的物质，如抗生素、有机酸、氨基酸等；有的是相对分子质量很大的物质，如酶、多肽、重组蛋白等。概括起来生物技术产品主要有以下几方面特性。

① 生化产品具有不同的生理功能，其中有些是生物活性物质，如蛋白质、酶、核酸等。这些生物活性物质都有复杂的空间结构，而维系这种特定的三维结构主要是靠氢键、离子键、二硫键、疏水作用和范德华力等。这些生物活性物质对外界条件非常敏感，过酸、过碱、高温、重金属、剧烈的振荡和搅拌、空气和日光等都可能导致其生物活性丧失。

② 生化产品有些是胞内产品，有些是胞外产物。胞外产物直接由细胞产生，直接分泌至培养液中。而胞内产物较为复杂，有些是游离在胞浆中，有些结合于质膜上或存在于细胞器内。对于胞内的物质的提取要先破碎细胞，对于膜上的物质则要选择适当的溶剂使其从膜上溶解下来。

③ 生化产品通常是由产物浓度很低的发酵液或培养液中提取的，除少数特定的生化反应系统（如酶在有机相中的催化反应）外，其他大多数生化反应过程中的溶剂全部是水。产物（溶质和悬浮物）在溶剂（水）中的浓度很低，原因主要是受到细胞本身代谢活动限制及外在条件对传质传热的影响；而杂质的浓度很高，并且这些杂质有很多与目标产物的性质很

相近,有的还是同分异构体(如手性药物的制备过程)。

④ 发酵液或培养液是多组分的混合物,且是复杂的多相系统,固液分离很困难。由于各种细胞代谢活动是非常复杂的网络体系,导致在生产过程中会产生一系列复杂的产品混合物。另外,细胞本身组成成分也非常复杂,不同的细胞具有不同的细胞组成,细胞在培养过程中由于衰老和死亡,使细胞自溶而将相应组成成分释放到培养液中。这些混合物不仅包含大分子物质,如核酸、蛋白质、多糖、类脂、磷脂和脂多糖等,而且还包含小分子物质,即大量存在于代谢途径的中间产物,如氨基酸、有机酸和碱。另外,混合物不仅包含可溶性物质,而且还包含以胶体悬浮液和粒子形态存在的组分,如细胞和细胞碎片、培养基残余组分、沉淀物等。总之,组分的总数相当大,即使是一个特定的体系,也不可能对它们进行精确测定,何况各组分的含量还会随着细胞所处环境的变化而变化。

其次,在下游加工过程之前,由于对发酵液进行预处理,还会由于添加化学品或其他物理、化学和生物方面的原因而引起培养液组分的变化及发酵液流体力学特性的改变。分散在培养液中的固体和胶状物质,具有可压缩性,其密度又与液体接近,加上黏度很大,属于非牛顿型流体,使从培养液中分离固体很困难。

⑤ 生化产物的稳定性差,易随时间变化,如易受空气氧化、微生物污染、蛋白质水解、自身水解等。无论是大分子产物还是小分子产物都存在着产物的稳定性问题。产物失活的主要机制是化学降解或因微生物引起的降解。在化学降解的情况下,产物只能在一定的温度和pH范围内保持稳定。蛋白质一般稳定性范围很窄,超过此范围,将发生功能的变性和失活;对于小分子生化产物,可能由于它们结构上的特性,例如青霉素的 β -内酰胺环,在极端pH条件下会受损;对于手性分子的产物可能由于pH、温度和溶液中存在某些物质所催化而被外消旋,导致有活性的产物大量损失。微生物降解是由于产品被自身的代谢酶所破坏,或由于污染杂菌而被其他微生物的代谢活动所分解。

⑥ 生物技术产品的生产多为分批操作,生物变异性大,各批发酵液或培养液不尽相同。另外由于生物技术产品多数是医药、生物试剂或食品等精细产品,必须达到药典、试剂标准和食品规范的要求,因此对最终的产品质量要求很高。

二、生化分离过程的重要性及其特点

要想从各种杂质的总含量大大多于目标产物的悬浮液中制得最终所需的产品,必须经过一系列必要的分离纯化过程才能实现。因此,生化分离技术是生物技术产品制备过程中的必要技术手段,具有十分重要的地位,但由于生化产品的特点导致生化分离过程实施十分艰难且需付出昂贵的代价。据各种资料统计,分离纯化过程的成本在产品总成本中占有的比例越来越高,如化学合成药的分离成本是合成反应成本的1~2倍;抗生素类药物的分离纯化费用约为发酵部分的3~4倍;对维生素和氨基酸等药物的分离纯化费用而言,约为1.5~2倍;对于新开发的基因药物和各种生物药品,其分离纯化费用可占整个生产费用的80%~90%。由此可以看出,分离与纯化技术直接影响着产品的总成本,制约着产品生产工业化的进程。没有下游加工过程的配套就不可能有工业化结果,没有下游加工过程的进步就不可能有工业化的经济效益。开发和研究新的、先进的、适合于不同产品的分离纯化技术和过程是提高经济效益及顺利实现产品工业化的重要途径。

在分离与纯化过程中,要克服分离步骤多、加工周期长、影响因素复杂、控制条件严格、生产过程中不确定性较大、收率低且重复性差的弊端,就必须综合运用多种现代分离与纯化技术手段,才能保证产品的有效性、稳定性、均一性和纯净度,使产品质量符合标准要

求。下游加工过程呈现如下几方面特点。

① 发酵液或细胞培养液中杂质复杂，它们的确切组分不十分清楚，这给生化分离过程设计造成很大困难。生化分离实际上是利用各种物质的性质差别进行的分离，对成分的数据的缺乏是现在下游加工过程共同的障碍。

② 产物的起始浓度低，最终产品要求纯度高，常需应用多种分离技术，进行多步分离，致使产物收率较低，加工成本增大。例如发酵液中抗生素的质量百分含量为 1%~3%、酶为 0.1%~0.5%、维生素 B₁₂ 为 0.002%~0.005%、胰岛素不超过 0.01%、单克隆抗体不超过 0.0001%，而杂质含量却很高，并且杂质往往与目标药物成分有相似的结构，从而加大了分离的难度。因此，要想从原料液中得到纯度较高的产物就必须应用多种分离技术，进行多步分离，才能对目标产物进行高度浓缩与纯化。这必将使产物最终收率降低，加工成本增大。如有的产品达到要求要 9 步分离才能完成，即使每步的收率达 90%，最终的收率也只能达到 38%。

③ 生化分离过程通常在十分温和的条件下操作，以避免因强烈外界因子的作用而丧失产品的生物活性，同时生产要尽可能迅速，缩短加工时间。生物物质很不稳定，还有活性要求，从某种程度上来说，生物产品不是以数量的多少来衡量，而是生物活性的量化。遇热、极端 pH、有机溶剂都会引起失活或分解，如蛋白质的生物活性与一些辅因子、金属离子的存在和分子的空间构型有关。剪切力会影响蛋白质的空间构型，促使其分子降解，从而影响蛋白质活性，这是分离过程中要考虑的。另外，料液中有效组分通常性质不稳定，在各种分离过程中会发生水解，使其生物活性丧失。因此，对生化分离过程的操作条件应严格限制，同时尽可能缩短加工时间。

④ 发酵和培养很多是分批操作，生物变异性大，各批发酵液不尽相同，这就要求下游加工设备有一定的操作弹性，特别是对染菌的批号，也要能处理。发酵液的放罐时间、发酵过程中消沫剂的加入都对提取有影响。另外，发酵液放罐后，由于条件改变，可能会按另一条途径继续发酵，同时也容易感染杂菌，破坏产品。所以在防止染菌的同时，整个提取过程还要尽量缩短发酵液存放的时间。另外发酵废液量大，生化需氧量 (BOD) 较高，必须经过生物处理后才能排放。

⑤ 某些产品在分离与纯化过程中，还要求无菌操作或除去对人体有害的物质。对基因工程产品，还应注意生物安全问题，即在密闭环境下操作，防止因生物体扩散对环境造成危害。生物产物一般用于医药、食品及化妆品，与人类生命息息相关。因此，要求分离纯化过程必须除去原料液中含有的热原及具有免疫原性的异体蛋白等有害人类健康的物质，并且防止这些物质在操作过程中从外界混入，但可允许少量对人体无害的杂质存在。

由于生化产品生产所用原料的多样性、反应过程的复杂性、产品质量要求的高标准性，生化分离过程应做到以下几点：迅速加工，缩短停留时间；控制好操作温度和 pH 值；减少或避免与空气接触氧化和受污染的机会；设计好组分的分离顺序；选择合适的分离纯化方法。

三、生化分离过程的基本原理

生物反应产物一般是由细胞、游离的细胞外代谢产物、细胞内代谢产物、残存底物及惰性组分组成的混合液。因此，要想从混合液中得到目标产物，必须利用混合液中目标产物与共存杂质之间在物理、化学以及生物学性质上的差异，选择合理的生化分离技术，使目标产物与杂质在分离操作中具有不同的传质速率或平衡状态，从而实现分离。物理性质主要包

括：粒度大小、密度、相态、黏度、溶解度、电荷形式、极性大小、稳定性、沸点和蒸汽压等。化学性质主要包括：分子量、等电点、化学平衡、反应速率、离子化程度、酸性、碱性、氧化性与还原性等。生物学性质主要包括：疏水性、亲和作用、生物学识别、酶反应等。

生化分离技术按其分离原理可分为机械分离与传质分离两大类。机械分离针对非均相混合物，根据物质的大小、密度的差异，依靠外力作用，将两相或多相分开，此过程的特点是相间不发生物质传递，如过滤、沉降、膜分离等分离过程。传质分离针对均相混合物，也可用于非均相混合物，通过加入分离剂（能量或物质），使原混合物体系形成新相，在推动力的作用下，物质从一相转移到另一相，达到分离与纯化的目的，此过程的特点是相间发生了物质传递。

某些传质分离过程利用溶质在两相中的浓度与达到相平衡时的浓度之差为推动力进行分离，称为平衡分离过程，如蒸馏、蒸发、吸收、吸附、萃取、结晶、离子交换等分离纯化过程。某些传质分离过程依据溶质在某种介质中移动速率的差异，在压力、化学位、浓度、电势和磁场等梯度所造成的推动力下进行分离，称为速率控制分离过程，如超滤、反渗透、电渗析、电泳和磁泳等分离纯化过程。有些传质分离过程还要经过机械分离才能实现物质的最终分离，如萃取、结晶等传质分离过程都需经离心分离来实现液液、固液两相的分离。因此，机械分离的好坏也会直接影响到传质分离速度和效果，必须同时掌握传质分离和机械分离的原理和方法，合理运用各种分离技术，才能优化产品生产工艺过程。

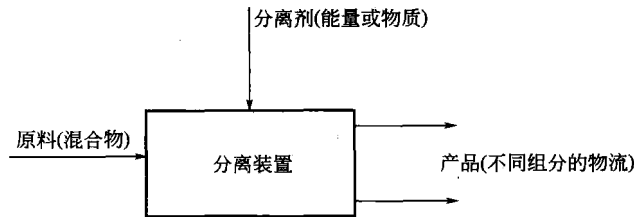


图 0-1 分离纯化过程的一般原则

图 0-1 表示了分离纯化过程的一般原则。原料是某种混合物，产品为不同组分或相的物流。分离剂是分离过程的辅助物质或推动力，它可以是某种形式的能量，也可以是某一种物质，如蒸馏过程的分离剂是热能，液液萃取过程的分离剂是萃取剂，离子交换过程的分离剂是离子交换树脂。分离装置主要提供分离场所或分离介质。

原料来源的不同，对分离程度的要求不同，所选用的分离剂不同，分离装置将有很大差异。另外，对于某一混合物的分离要求，有时用一种分离方法就能完成，但大多数情况下，需要用两种、甚至多种分离方法才能实现分离。有时分离在技术上可行，但经济上不一定可行，需要将几种分离技术优化组合，才能达到高效分离的目的。综上所述，对于某一混合物的分离过程，其分离工艺和设备可以是多种多样的。

四、生化分离过程的选择与设计

由于含有目标生物物质的原料液是一个多组分、多相态的混合料液。因此，选择什么样的生化分离过程，如何选择各过程的技术处理方法，以得到所需的目标物质，则要考虑很多因素，下面这些因素更应重点考虑。

- ① 产物所存在的位置（细胞内或细胞外）。
- ② 原料中产物和主要杂质浓度。
- ③ 产物和主要杂质的物理、化学及生物学特性的差异。

④ 产品的用途和质量标准等。

⑤ 生化分离过程自身规模和目标产物的商业价值也是选择分离纯化技术的重要因素。如各种形式的色谱分离技术多用于价格昂贵的医药产品及生理活性物质（如人干扰素）的分离纯化，但其分离过程成本较高，并且规模放大困难，不适用低价格生物产物的分离纯化。

⑥ 工艺要求。生物分离过程涉及许多问题，但在工业生产中尤其要注重以下几点。

a. 目标产物的纯度。这是分离的目标，纯度越高，分离过程难度越大。

b. 提高每一步的收率。过程的总收率为 $\eta = \prod_{i=1}^N \eta_i$ ，所以在保证统一计划的前提下，要通过提高每一步的收率来提高总收率。

c. 缩短流程和简化工艺过程，减少投资及运行成本。

d. 改善对环境的影响和原料的循环利用问题。

通过综合考虑上述相关因素，选择合理的分离方法，设计适宜的分离过程。一般分离过程设计原则是：①尽可能简单、低耗、快速、成熟；②分离步骤尽可能少；③避免相同原理的分离技术多次重复出现；④尽量减少新化合物进入待分离的溶液；⑤合理的分离步骤次序（原则：先低选择性，后高选择性；先高通量，后低通量；先粗分，后精分；先低成本，后高成本；先除去固体杂质，然后对液相物料进行处理，或者先使固体物料中的有效组分进入液相，再对液相进行后序分离操作）。

第二节 生化分离的一般过程及单元操作

一、生化分离的一般工艺过程

一般来说，生化分离过程主要包括四个方面：①原料液的预处理和固液分离；②初步纯化（提取）；③高度纯化（精制）；④产品加工这四个步骤。其一般工艺过程如图 0-2 所示。但就具体产品的提取和精制工艺要根据发酵液的特点和产品的要求来决定。如有的可以直接从发酵液中提取，可省去固液分离过程。

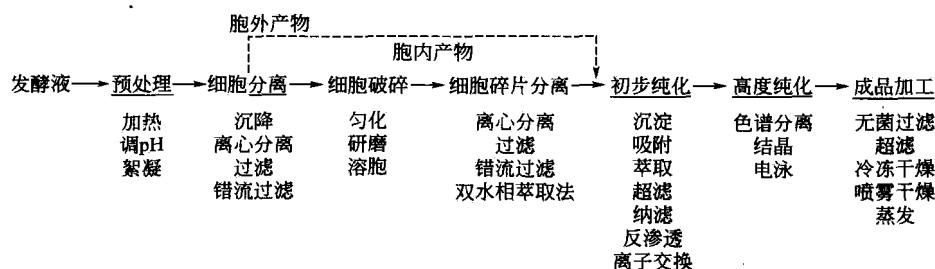


图 0-2 下游加工的一般流程

二、发酵液的预处理和固液分离

发酵液中含有菌（细胞）体、胞内外代谢产物、残余的培养基以及发酵过程中加入的其他一些物质等。发酵液的预处理和固液分离过程是下游加工的第一步操作。常用的预处理方法有酸化、加热、加絮凝剂等。如在活性物质稳定的范围，通过酸化、加热以降低发酵液的黏度；对于杂蛋白的去除，常采用酸化、加热或在发酵液中加絮凝剂的方法；有的产品的预处理过程更复杂，还包括细胞的破碎、蛋白质复性等。

固液分离方法主要分为两大类：一类是限制液体流动，颗粒在外力（如重力和离心力）的作用下自由运动，传统方法如浮选、重力沉降和离心沉降等；另外一类为颗粒受限，液体自由运动的分离方法，如过滤等。发酵液的分离过程中，当前较多使用的还是过滤和离心分离。随着新技术的发展，一种新的过滤方法引入固液分离领域，即错流过滤。这种分离方法采用了膜作为过滤介质，有过滤速度快、收率高、滤液质量好等优点。

三、细胞破碎和其碎片的分离

细胞破碎主要是用于提取细胞内的发酵产物。细胞破碎是指选用物理、化学、酶或机械的方法来破坏细胞壁或细胞膜，使产物从胞内释放到周围环境中的过程。在基因工程里，大肠杆菌是最常用的宿主，细胞破碎能释放细胞内产物并保持其生物活性。细胞破碎的方法按照是否外加作用力可分为机械法和非机械法两大类。大规模生产中常用高压匀浆器和球磨机。其他方法像超声波破碎法、冻融法、干燥法以及化学渗透法等还停留在实验室阶段。这几年，一种新的方法——双水相萃取技术引起了广泛的关注，它可以通过选择适当的条件，使细胞碎片集中于一相而达到分离的目的。

四、初步纯化（提取）

发酵产物存在于发酵液中，要得到纯化的产物必须将其从发酵滤液中提取出来。这个过程为初步纯化的过程。初步纯化的方法有很多，常用的有吸附法、离子交换法、沉淀法、溶剂萃取法、双水相萃取法、超临界流体萃取、反胶团萃取、超滤、反渗透、液膜萃取等。

(1) 吸附法 是指利用吸附剂与生物物质之间的分子引力而将目标产物吸附在吸附剂上，然后分离洗脱得到产物的过程，主要用于抗生素等小分子物质的提取。常用的吸附剂有活性炭、白土、氧化铝、各种离子交换树脂等。其中以活性炭应用最广，但由于其选择性不高，吸附性能不稳定，可逆性差，影响连续操作等，限制了它的使用。吸附法只有在新抗生素生产中或其他方法都不适用时才采用。例如维生素 B₁₂用弱酸 122 树脂吸附，丝裂霉素用活性炭吸附等。随着大网格聚合物吸附剂的合成和应用成功，吸附又呈现了新的广阔的应用前景。

大网格聚合物是指大网格离子交换树脂去掉功能基团，仅保留其多孔骨架，不能发生离子交换，其性质与活性炭、硅胶等吸附剂相似。如很早用做脱色的酚醛缩合树脂，用来提取某些产物如维生素 B₁₂的丙烯酸-二乙烯苯羧基树脂等。

(2) 离子交换法 是指利用离子交换树脂和生物物质之间的化学亲和力，有选择地将目的产物吸附，然后洗脱收集而纯化的过程，主要用于小分子的提取。

离子交换树脂是人工合成的不溶于酸、碱和有机溶剂的高分子聚合物，它的化学性质稳定，并具有离子交换能力。其结构由两部分组成：一部分是固定的高分子基团构成树脂的骨架，起着保持树脂不溶性和化学稳定性的作用；另一部分为能够移动的活性离子，起着与外界离子交换或吸附的作用。其通式可表示成：R—活性基团。

采用离子交换法分离的生物物质必须是极性化合物，即能在溶液中形成离子的化合物。如生物物质为碱性则可用酸性离子交换树脂提取；如果生物物质为酸性，则可用碱性离子交换树脂来提取。例如链霉素是强碱性物质，可用弱酸性树脂来提取，这主要是从容易解吸的角度来考虑的，否则如果采用强酸性吸附树脂，则吸附容易，洗脱困难。

尽管发酵液中生物物质的浓度很低，但是只要选择合适的树脂和操作条件，也能选择性地目的产物吸附到树脂上，并采用有选择的洗脱来达到浓缩和提纯的目的。