

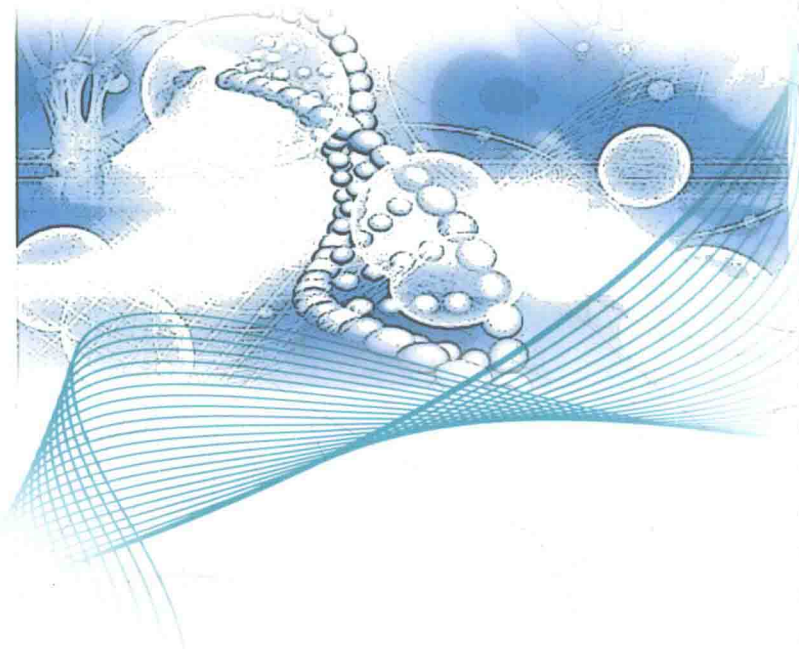


高等教育“十三五”规划教材

生物分离科学与工程

SHENGWU FENLI
KEXUE YU GONGCHENG

余润兰 主编



中南大学出版社
www.csupress.com.cn

生物分离科学与工程

主 编 余润兰
副主编 曾伟民
编 委 吴学玲 申 丽 李交昆 刘元东



中南大学出版社
www.csupress.com.cn

·长沙·

图书在版编目(CIP)数据

生物分离科学与工程 / 余润兰主编. --长沙:
中南大学出版社, 2018.3
ISBN 978-7-5487-3057-6

I. ①生… II. ①余… III. ①生物工程—分离
IV. ①Q81

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第056744号

生物分离科学与工程

主编 余润兰

-
- 责任编辑 韩雪
责任印制 易红卫
出版发行 中南大学出版社
社址: 长沙市麓山南路 邮编: 410083
发行科电话: 0731-88876770 传真: 0731-88710482
印装 长沙印通印刷有限公司

-
- 开本 787×1092 1/16 印张 17.25 字数 434千字
版次 2018年3月第1版 2018年3月第1次印刷
书号 ISBN 978-7-5487-3057-6
定价 45.00元
-

图书出现印装问题, 请与经销商调换

前 言

生物分离科学与工程是生物技术与化学工程技术相互融合、相互交叉的一门学科，在生物技术研究 and 生物产业发展中发挥着非常重要的作用，是现代生物技术的重要组成部分。

本书注重以工程学观点揭示生物分离过程的本质及变化规律、基本原理与技术，系统地介绍了生物加工过程中的沉淀分离、固液分离、细胞破碎、膜分离、萃取分离、吸附分离、色谱分离、亲和分离、电泳分离等生物分离原理及其技术。在此基础上，本书还介绍了生物分离的设计策略以及生物分离技术的新进展。

本书具有以下几个特色：

(1) 从生物分离的目的来讲，生物分离可划分为三大类：①生物分离为分析；②生物分离为制备；③生物分离为产品。大部分现有教材主要涉及生物分离的第二类和第三类内容。我院生物工程系有生物工程和生物技术两个专业，前者偏工科，后者偏理科。生物工程专业学生需掌握的是第三类生物分离内容，生物技术专业学生则需掌握的是第一类生物分离，而第二类生物分离内容两个专业的学生都需掌握。因此，本书从内容上强化了第一类生物分离技术知识，注重了生物分离中“工”“理”的协同统一。

(2) 在参阅现有一些教材的基础上，调整了部分内容的结构，使之更加科学合理，更适合学生自主地、系统地学习。例如，本书把亲和分离技术如亲和色谱、亲和沉淀、亲和膜分离、亲和超滤等归结为独立的一章，充实了相关内容，使亲和分离理论更加系统，又便于各种亲和分离方法与前面所述方法之间的比较，以及各种亲和分离方法彼此之间的相互比较。最后增加了生物分离策略及其发展一章，增强了学生对分离方法选择、分离技术路线设计及其应用的综合理解。

(3) 根据蛋白质组学、代谢组学、手性药物分离分析的发展，本书强化和充实了多层凝胶电泳、多维电泳、毛细管电泳、毛细管胶束电动色谱、毛细管微乳液电色谱及其与分析仪器组合等一些新的生物分离分析技术及其应用。

本书可为本科生、研究生研发生物新产品、开发生物生产新工艺以及生产管理提供有关生物分离的理论与技术指导，也可作为生物工程、生物技术及相近专业的本科生、研究生的参考用书。

书稿在编写过程中，在读研究生收集和提供了大量资料，并对有关章节的图片进行了绘制，在此对他们的辛勤工作表示感谢。

由于编者水平有限，书中难免存在不足之处，敬请批评指正。

目 录

第一章 绪 论	(1)
一、生物分离的重要性	(1)
二、生物分离的特点	(1)
三、生物分离的一般过程及其理论基础	(2)
四、生物分离效率评价	(4)
第二章 沉淀分离	(6)
第一节 发酵液的预处理	(6)
一、加热	(6)
二、调整 pH	(7)
三、加预处理剂	(7)
四、加入反应剂或助滤剂	(7)
第二节 盐析沉淀	(8)
一、蛋白质的溶液特性	(8)
二、盐析沉淀	(10)
三、影响盐析的因素	(12)
四、硫酸铵盐析法及其操作	(14)
第三节 其他沉淀分离方法	(16)
一、等电点沉淀法	(16)
二、有机溶剂沉淀法	(16)
三、聚合物沉淀法	(18)
四、选择性(变性)沉淀法	(18)
第三章 固液分离	(20)
第一节 重力沉降	(20)
一、颗粒重力沉降原理	(20)
二、重力沉降的流动状态	(21)
三、非球形颗粒的重力沉降	(21)

第二节 离心沉降	(22)
一、离心分离原理	(22)
二、离心分离方法	(24)
三、离心机及其生产能力	(26)
第三节 过滤	(30)
一、过滤的基本理论	(30)
二、板框压滤机及其生产能力	(32)
三、转筒真空过滤机及其生产能力	(34)
第四章 细胞破碎	(36)
第一节 细胞壁结构组成与细胞破碎	(36)
一、细胞壁的结构与组成	(36)
二、细胞壁与细胞破碎	(38)
第二节 细胞破碎方法	(38)
一、珠磨法	(38)
二、高压匀浆法	(40)
三、超声破碎法	(40)
四、酶溶法	(41)
五、化学渗透法	(42)
第三节 破碎率的检测方法和破碎方法选择	(43)
一、破碎率的检测方法	(43)
二、破碎方法的选择	(44)
第五章 膜分离	(47)
第一节 膜分离概述	(47)
一、膜分离技术的发展史	(47)
二、膜及膜分离的概念	(47)
三、膜分离的特点	(48)
第二节 膜的分类及其特性	(49)
一、膜的分类	(49)
二、膜制造及其特性	(51)
第三节 膜分离过程及其操作	(52)
一、各种膜分离原理及其过程	(52)
二、膜操作过程与特性	(54)
三、各种膜组件及其特点	(55)
第四节 膜分离性能及其影响因素	(56)
一、膜性能参数及其测定	(56)
二、膜分离中的极化现象	(57)
三、影响膜分离的因素	(58)

第五节 膜污染及其控制	(59)
一、膜污染及其影响因素	(59)
二、膜污染控制	(59)
第六节 膜分离技术的应用及其发展	(60)
一、膜分离技术的应用	(60)
二、膜分离技术的发展	(62)
第六章 萃取分离	(63)
第一节 概述	(63)
一、萃取的分类及其原理	(63)
二、萃取操作的基本过程	(64)
三、萃取的乳化现象	(65)
四、萃取过程的经济性	(66)
五、萃取剂的选择	(66)
六、萃取的应用	(66)
第二节 溶剂萃取	(67)
一、萃取分离操作的基本参数	(67)
二、萃取操作原理及其计算	(69)
三、萃取设备及其选择	(73)
第三节 双水相萃取	(76)
一、概述	(76)
二、双水相萃取原理及其主要影响因素	(77)
三、双水相萃取的特点	(80)
四、双水相萃取的应用	(80)
五、双水相萃取技术的进展	(82)
第四节 反胶团萃取	(83)
一、反胶束溶液的形成	(84)
二、反胶束萃取原理	(85)
三、影响反胶束萃取的因素	(89)
四、反胶束萃取蛋白质的应用	(91)
第五节 超临界萃取	(92)
一、概述	(92)
二、超临界萃取剂	(92)
三、超临界萃取的影响因素	(94)
四、超临界萃取的操作模式	(95)
五、超临界萃取的应用	(96)
第七章 吸附分离	(100)
第一节 概述	(100)

一、吸附的分类	(100)
二、吸附操作的基本过程	(101)
第二节 吸附剂和离子交换剂	(101)
一、吸附剂	(101)
二、离子交换剂	(104)
第三节 吸附平衡	(107)
一、吸附等温线	(107)
二、离子交换平衡	(108)
三、影响离子交换平衡及其选择性的因素	(109)
第四节 吸附过程与操作	(112)
一、固定床吸附操作及其特点	(112)
二、流化床吸附操作及其特点	(118)
三、移动床吸附操作及其特点	(119)
第五节 膨胀床吸附分离技术	(120)
一、膨胀床吸附操作的特点	(120)
二、膨胀床的结构与原理	(121)
三、膨胀床的操作过程	(123)
四、膨胀床吸附技术的应用	(124)
第六节 吸附分离在生物工程中的应用	(125)
第八章 色谱分离	(127)
第一节 概述	(127)
第二节 色谱分类及其特点	(127)
一、色谱分类	(127)
二、色谱方法的选择	(131)
三、色谱分离的特点	(131)
第三节 色谱分离基本理论	(132)
一、色谱分离的理论模型	(132)
二、色谱分离度	(136)
第四节 色谱操作过程与技术	(138)
一、层析剂	(138)
二、柱色谱操作及其技术	(144)
三、分析色谱与工业色谱的区别	(147)
第五节 凝胶色谱	(148)
一、凝胶色谱分离原理	(148)
二、凝胶过滤层析介质	(149)
三、影响分离特性的因素	(152)
四、凝胶过滤色谱操作的注意事项	(155)
五、凝胶过滤色谱的特点及应用	(156)

第六节 离子交换色谱与色谱聚焦	(157)
一、离子交换色谱分离原理	(157)
二、离子交换色谱的洗脱方式	(158)
三、离子交换色谱的影响因素	(160)
四、离子交换色谱操作的注意事项	(162)
五、离子交换色谱的特点	(163)
六、离子交换色谱聚焦	(163)
第七节 疏水相互作用色谱与反相色谱	(164)
一、疏水相互作用色谱原理	(164)
二、疏水作用色谱的层析剂	(164)
三、影响疏水作用色谱的因素	(165)
四、疏水相互作用色谱操作的注意事项	(166)
五、疏水相互作用色谱的特点	(167)
六、反相色谱及其与 HIC 的区别	(167)
第八节 高速逆流色谱	(168)
一、高速逆流色谱原理	(168)
二、高速逆流色谱仪器的装置	(168)
三、高速逆流色谱的影响因素	(169)
四、高速逆流色谱的特点及其应用	(171)
第九节 混合模式吸附色谱简介	(174)
第九章 亲和分离	(176)
第一节 亲和色谱	(176)
一、概述	(176)
二、亲和色谱原理	(176)
三、亲和色谱的基本过程	(177)
四、亲和层析剂	(178)
五、亲和色谱的特点	(180)
第二节 亲和沉淀	(181)
一、亲和沉淀原理	(181)
二、亲和沉淀分离过程	(181)
三、亲和沉淀剂	(181)
四、亲和沉淀分离的特点	(185)
第三节 亲和膜分离	(186)
一、亲和膜分离原理	(186)
二、亲和膜分离的基本过程	(186)
三、亲和膜的制备	(187)
四、亲和膜分离的特点	(189)
第四节 亲和超滤	(190)

一、亲和超滤原理	(190)
二、亲和超滤载体	(190)
三、影响亲和超滤的主要因素	(191)
四、亲和超滤分离的特点	(191)
第五节 分子印迹技术简介	(192)
一、分子印迹技术原理	(192)
二、分子印迹聚合物的制备	(192)
三、分子印迹分离技术的应用及其特点	(193)
第十章 电泳分离	(195)
第一节 概述	(195)
一、电泳及其分类	(195)
二、电泳色谱	(195)
三、电渗与电色谱	(195)
四、电泳和电色谱的应用	(196)
第二节 凝胶电泳	(196)
一、凝胶电泳的基本原理	(196)
二、影响凝胶电泳的主要因素	(197)
三、各种凝胶电泳的原理及特点	(200)
四、一般凝胶电泳的操作及其注意事项	(201)
五、双向电泳	(203)
第三节 毛细管电泳	(205)
一、毛细管电泳的基本原理	(205)
二、毛细管电泳的分类	(206)
三、毛细管电泳仪器系统	(208)
四、影响毛细管电泳的因素	(209)
五、毛细管电泳的特点	(210)
第四节 毛细管胶束电动色谱	(211)
一、毛细管电泳色谱概述	(211)
二、毛细管胶束电动色谱的原理	(211)
三、毛细管胶束电动色谱的影响因素	(213)
四、毛细管胶束电动色谱的应用	(214)
第五节 毛细管微乳液电色谱	(215)
一、毛细管微乳液电色谱的原理及特点	(215)
二、微乳液体系组成及其影响因素	(216)
三、毛细管微乳液电色谱与其他毛细管电泳模式的比较	(218)
四、影响毛细管微乳液电色谱分离的因素	(221)
五、毛细管微乳液电色谱的应用	(222)

第十一章 生物分离策略及其发展	(226)
第一节 生物分离的工艺设计	(226)
一、生物分离工艺的基本要求	(226)
二、生物分离工艺的设计原则	(226)
三、生物分离工艺的设计方法	(227)
四、影响分离工艺设计的主要因素	(227)
第二节 生物分离的宏观策略	(229)
一、基于工艺的生物分离宏观策略	(229)
二、基于分离目的的生物分离宏观策略	(229)
三、基于分离对象的生物分离宏观策略	(230)
四、基于天然与重组蛋白的生物分离宏观策略	(230)
五、蛋白质复性方法及其策略	(232)
第三节 柱色谱分离策略	(235)
一、柱色谱的宏观纯化策略	(235)
二、柱色谱分离模式选择	(235)
三、柱色谱分离工艺条件选择	(236)
四、离子交换色谱的纯化策略	(237)
第四节 生物分离工艺案例	(242)
一、血源白蛋白分离工艺的演化	(242)
二、重组白蛋白分离工艺的演化	(243)
第五节 生化实验室提取分离策略	(246)
一、基因组分离提取技术及策略	(246)
二、质粒的分离提取技术及策略	(247)
三、RNA 分离提取技术及策略	(249)
第六节 蛋白质组学的分离分析策略及进展	(251)
一、蛋白质组学研究对分离分析的要求	(251)
二、蛋白质组学研究中的分离分析策略	(251)
第七节 生物分离技术的发展	(255)
参考文献	(256)

第一章 绪论

一、生物分离的重要性

生物技术从技术角度来讲,可分为上游技术、中游技术和下游技术。上游技术主要包括菌种选育技术、基因工程技术、细胞工程技术和分子生物学技术等;中游技术主要包括微生物发酵技术、动植物细胞的培养技术、酶催化反应工程技术和生物反应器工程技术等;下游技术即为生物分离工程,以实现目标产物的低成本、高质量、高收率的分离、纯化、成品化为目标,最终以生物工程产品形式服务于人类社会。

生物分离过程是生物技术产业化的必经之路,它直接影响到生物工程产品的质量、收率和成本。通常,现代生物分离成本占生物工程产品总成本的50%~90%,它的技术进步对于保持和提高生物工程产品的经济竞争力是至关重要的。例如,发酵生产乙醇的回收成本一般占生产总成本的14%,发酵生产青霉素的回收成本约占生产总成本的50%;大多数酶的回收成本占生产总成本的70%,医用级酶(如天门冬酰胺酶)纯化成本占总成本的85%,基因工程表达产物回收成本一般占总成本的85%~90%。因此,生物分离技术是现代生物技术产业化的关键技术之一,生物分离工程在生物加工过程中占有非常重要的地位。

二、生物分离的特点

生物工程产品多种多样,大体可分为大分子生物产品和小分子生物产品两大类。大分子生物产品的相对分子质量可从几千到几十万,主要包括各种酶、抗体、多肽、基因重组蛋白等;小分子生物产品主要包括氨基酸、有机酸、抗生素、天然植物成分等。生物工程产品的生产不同于一般化学品的生产,而有其自身的特点。

1. 生物分离的物质对象体系具有复杂性和多样性

生物分离的对象是生物物质体系。生物物质种类繁多,包括小分子化合物、生物大分子、超大分子、细胞以及具有复杂结构和组成的生物组织。蛋白质本身结构就十分复杂,细胞则是由众多生物物质(含蛋白质)组成的,而生物组织是由各种细胞构成的,生物体是由各种生物组织构成的。生物物质来源广泛,在形态、大小、性质上差异较大,不仅包括自然界天然存在的各种生物资源,而且包括用现代生物技术手段生产的各种生物物质。这些生物物质广泛涉及生物医药、精细生物化学制品、生物材料、生物能源、食品工业、生物农业等众多领域,涉及抗生素、有机酸、氨基酸、多肽、蛋白质、酶、核苷酸、核酸、糖类、糖苷、脂类、生物碱等众多物质。

2. 生物分离的样品体系成分复杂且目标产物浓度低

生物分离的原料液体系一般为来自生物体的破碎提取液或发酵液或细胞培养液。首先,生物体本身组成十分复杂,包括核酸、蛋白质、多糖等众多生物大分子,还包括氨基酸、有机酸等众多生物小分子的代谢产物,这些物质在形状、大小、相对分子质量以及理化性质方面,差异巨大,甚至还有一些是我们至今尚未认知的物质。其次,在发酵或细胞培养过程中,会加入各种营养成分(培养基),这也增加待分离原料液体系的复杂性。

大多数目标产物在原料液中的浓度很低,一般为 $0.001 \sim 10 \text{ g/L}$,杂质含量很高。要从大体积的原料液中分离纯化出目标产物,往往需要对原料液进行高度浓缩。例如,发酵生产中,浓度最高的乙醇为10%左右,氨基酸不超过8%,抗生素不超过5%,酶制剂不超过1%,胰岛素不超过0.01%,单克隆抗体不超过0.0001%。对原料液进行高度浓缩,是造成分离能耗高、分离过程成本高的主要原因之一。目标产物浓度越低,所需能耗越高,生物分离成本也越高。

3. 生物产品大多具有生物活性、稳定性较差

生物产品大多具有生物活性。具有生物活性的物质一旦离开生物体环境,则容易发生变性,分子结构易被破坏。特别是蛋白质的生物活性与一些辅助因子、金属离子的存在以及分子的空间构型有关,甚至剪切力也会影响其空间构型甚至使分子降解。因此,在分离过程中,过酸过碱、高温高压、重金属离子环境、剧烈搅拌以及机体自身的酶作用,都可能破坏这些分子的生物活性,因此,在分离纯化过程中必须根据目标产物的特点,在尽可能地保持其生物活性的前提下进行分离纯化。一般情况下,其分离纯化条件必须在温和、低温和洁净环境中进行。

供体、受体和载体称为基因工程的三大要素。从供体中提取目的基因,通过载体转入受体中,通过筛选鉴定获得克隆。目的基因的载体的相对分子质量远大于蛋白质的相对分子质量($10^6 \sim 10^7$ 量级),尺寸为 $30 \sim 1000 \text{ nm}$,是超大分子,剧烈搅拌所带来的剪切作用,就可能破坏其结构。

4. 生物分离的产品质量要求高,增大了生物分离过程的复杂性

许多生物产品是食品和药品以及生物试剂。相关产品必须满足食品药品对质量的严格要求。现代生物技术产品的主体是蛋白质药物。蛋白质药物包括细胞因子(如干扰素、生长因子等)、各类激素(如生长激素、胰岛素等)、抗体药物(如单克隆抗体等)、酶类药物、溶血栓药物(如尿激酶、组织纤溶酶原激活剂等)、基因工程疫苗、核酸药物,这些产品对纯度提出了很高的要求,要求去除病毒、热原以及具有免疫原性的异体蛋白,并且要防止在分离过程中从外界引入。因此,通常需要多种生物分离方法及其组合,才能达到满意的结果。

三、生物分离的一般过程及其理论基础

1. 生物分离的一般过程

一个生物工程产品的分离纯化过程,如图1-1所示,是由多个操作单元串联起来,一般包括原料液的预处理与固液分离、初步纯化(提取)、高度纯化(精制)和成品加工等几个基本过程。

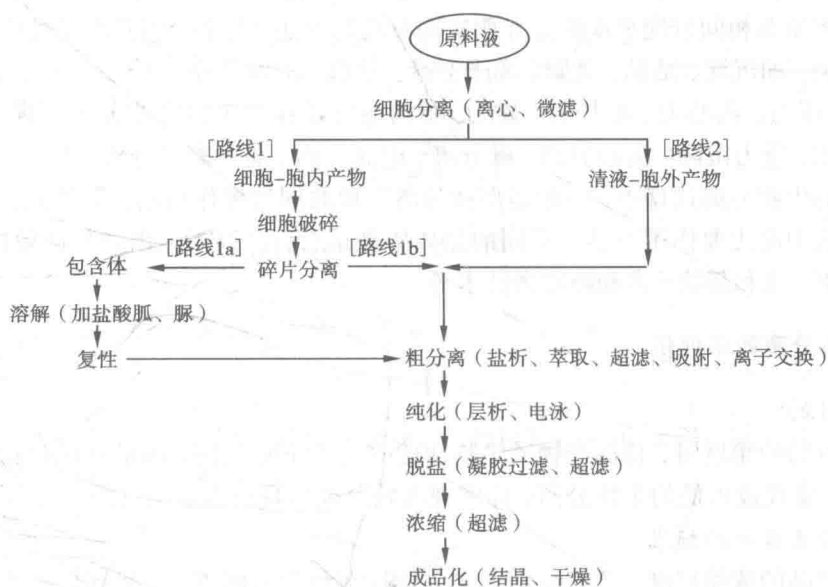


图 1-1 生物工程产品的分离纯化过程

2. 生物分离的一般原理

生物分离的一般原理是利用目标产物与共存杂质在物理、化学、生物学性质之间的差异，使其在分离操作中具有不同的传质速率和(或)平衡状态，从而达到彼此分离的目的。

(1) 物理性质

物理性质包括力学性质、热力学性质、传质性质和电磁性质等。

利用溶质颗粒的密度、尺寸和形状等力学性质的差异，可以进行重力沉降、离心分离和膜(筛分)分离等生物分离操作。

利用溶质的溶解度(液固相平衡)、挥发度(气液相平衡)、表面活性及相间分配平衡行为等热力学性质的差异，可以进行沉淀与结晶、吸附与离子交换、萃取分离、蒸发与蒸馏等生物分离操作。

黏度、分子扩散系数和热扩散现象等传质性质、传质速度的差异，在分离过程中发挥着重要作用。传质过程理论是生物分离工程操作的理论基础。

利用溶质的荷电性质、电荷分布、等电点以及磁性等电磁性质的差异，可以进行电泳、电色谱、离子交换吸附及色谱、等电点沉淀、磁性分离等生物分离操作。

(2) 化学性质

化学性质包括化学平衡、反应动力学和光化学等，化学吸附和吸收是利用化学性质差异进行生物分离的典型例子。在利用物理性质差异进行分离的过程中，目标产物及杂质的化学性质差异，也会在某种程度上影响其分离过程及其分离方法的选择。

(3) 生物学性质

生物学性质是生物分离所独有的。利用生物分子的分子识别作用，可以进行亲和分离；利用生物分子(如酶)的立体选择性，可以进行手性分离。利用生物学亲和作用，进行亲和色谱、亲和萃取、亲和膜分离、亲和超滤、亲和沉淀等，是生物分离技术发展的重要方向。

从生物分离操作角度讲,分离技术又可以分为平衡分离法和差速分离法两大类。平衡分离法是基于溶质在相间分配平衡的差异而实现分离的方法,与系统的热力学性质(化学势)和传质性质有关,如沉淀、结晶、吸附、离子交换、萃取、蒸发等分离方法。差速分离是利用外力(如重力、压力、离心力、电场力、磁力)驱动溶质迁移产生速度差异而实现分离的方法,如传统的过滤、重力沉降、离心分离、磁分离、电泳分离、膜分离等分离方法。

在实际的生物分离过程中,一般是多种分离原理共同发挥作用的,只是某种分离机理在某一分离方法中起主要作用而已。不同的分离原理组合,可以派生出新型高效的分离技术,如亲和膜分离、亲和超滤、亲和膨胀床技术等。

四、生物分离效率评价

1. 分离目的

从分离目的的角度讲,目标产物的生物活性少受或不受损伤,满足目标产物的纯度和回收率的要求,实现成本低的生物分离,即实现高效分离是我们追求的目标。

2. 评价分离效率的标准

对目标产品的浓缩程度、分离纯化程度(质量控制)及其回收率,是评价分离效率的三个标准。

图 1-2 所示为一个稳态分离过程, F 表示原料液的流速, C 表示浓度, T 、 X 分别表示目标溶质和杂质, P 、 W 分别表示目标产物和分离废液。

浓缩程度一般用浓缩率(concentration factor)表达,它是以浓缩为目的分离过程的最重要指标,如膜分离等。则其浓缩率 M 为:

$$M_T = \frac{C_{TP}}{C_{TC}} \quad (1-1)$$

$$M_X = \frac{C_{XP}}{C_{XC}} \quad (1-2)$$

目标产物的分离纯化程度则用分离系数 α 表示:

$$\alpha = \frac{M_T}{M_X} \quad (1-3)$$

某些平衡分离过程如萃取、蒸馏等,其分离系数则用产品与废液的相平衡状态的溶质浓度之比来表示,又称为分离的选择性:

$$\alpha = \frac{C_{TP}/C_{TC}}{C_{XP}/C_{XW}} \quad (1-4)$$

$\alpha = 1$ 表示目标产物和杂质不能分离。在以分离为目的时, α 应远大于 1 或远小于 1。上述计算公式也适合于间歇操作。对于具有生物活性的产品,也可以用分离前、后目标产物的比活来表示目标产物的分离纯化程度,即:

$$\alpha = \frac{A_P}{A_C} \quad (1-5)$$

对于回收率 Y ,则可以表示为:

$$Y = \frac{F_P \times C_{TP}}{F_C \times C_{TC}} \quad (1-6)$$

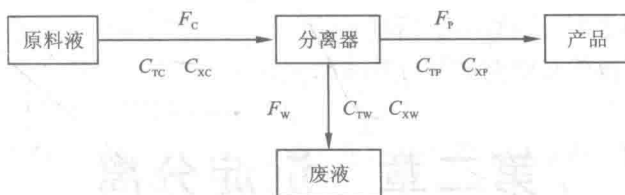


图 1-2 生物分离过程示意图

对于有多个分离操作步骤 i 的串联组合, 则其总回收率 Y_T 为:

$$Y_T = \prod_i Y_i \quad (1-7)$$

通过选择分离方法、优化分离过程与设备, 提高目标产品的浓缩程度、分离纯化程度及其回收率, 最终达到高效分离的目标。

思考题

1. 如何理解生化分离在生物工程中的重要性?
2. 生化分离有何特点?
3. 简述生物分离工程的一般流程, 涉及哪些基本的分离操作单元?
4. 生物分离涉及哪些分离原理?

第二章 沉淀分离

在生物加工工业中,发酵液或细胞培养液多为悬浮液,不仅成分复杂(含有菌体、菌种代谢产物和剩余培养基),而且黏度大,存在菌体自溶、核酸和蛋白质等有机黏性物。同时,还含有高价无机离子(如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 等),其沉降速度慢,也不容易过滤,同时还影响后续分离。如高价无机离子和水溶性杂蛋白的存在都会影响后续的吸附操作;水溶性杂蛋白在有机溶剂或双水相萃取时易产生乳化现象以致难以分相;它们在常规过滤或膜过滤时,会使滤速下降,污染滤膜。因此,发酵液的预处理是生化分离过程中必不可少的首要步骤,而絮凝沉淀是发酵液预处理方法中最常用的、最简单的方法。

沉淀法也是提取、分离和制备蛋白质时最常用的方法之一。蛋白质溶解度降低或浓度升高时,或大量杂蛋白共存时,蛋白质往往形成不定型的沉淀物,利用此特性,可以进行沉淀分级,实现初步分离。一般情况下,沉淀法的浓缩作用大于纯化作用;在有些蛋白质的纯化工艺中,沉淀法可能是最有效的分离纯化方法,如从血浆中,通过 5 步沉淀即可生产纯度高达 99% 的免疫球蛋白(IgG)和 96% ~ 99% 的白蛋白。

沉淀分离,在生化分离前期,可使原料液体积很快地减小 10 ~ 15 倍;沉淀分离时的中间产物可保持在中性、温和环境;沉淀分离速度快,可避免蛋白质的降解,提高产物的稳定性;沉淀分离作为蛋白质纯化分离的前处理,可大大改善或提高后续分离如色谱分离的效率。沉淀法具有成本低、收率高、浓缩倍数高、设备和操作简单的特点,因此,沉淀分离法不仅广泛应用于生化实验室的分离操作中,而且广泛应用于发酵液的预处理等生化分离工程中。

第一节 发酵液的预处理

发酵液预处理的目的是主要有两个:一是初步去除发酵液中杂质,包括除去杂蛋白、高价无机离子以及色素、热原质、毒性物质等有机物质;二是改变发酵液的理化性质,为后续的分​​离操作奠定良好基础。

常见的预处理方法有加热、调整 pH、凝聚与絮凝、加入适当反应剂或助滤剂等。例如,啤酒生产中糖化醪维持在 78℃ 下过滤,并加入适量的 β -葡萄糖苷酶来降低麦汁的黏度。

一、加热

加热可以降低发酵液的黏度,破坏胶体体系,促进某些蛋白质等物质形成较大颗粒的凝聚物,使得固液分离更加容易,这是一个比较简单的预处理方法。如在柠檬酸的生产过程