



高职高专“十一五”规划教材

★ 生物技术系列



生物分离 与纯化技术

邱玉华 主编

SHENGWU FENLI
YU CHUNHUA JISHU



化学工业出版社



高职高专“十一五”规划教材

★生物技术系列

生物分离 与纯化技术

邱玉华 主编

SHENGWU FENLI
YU CHUNHUA JISHU



化学工业出版社

·北京·

生物分离与纯化技术是生物技术及相关产业中使用最普遍的技术。本书第一篇以生物物质的基本制备过程为主线,阐述了离心、色谱、膜分离和浓缩干燥等分离纯化技术的基本原理,在结合生产实践的基础上详述了技术的应用以及相关设备的使用,并介绍了有关新知识、新技术、新方法和新工艺。本书的第二篇专门安排了生物分离与纯化技术的实训内容。其中单元操作实验主要是对学生各项分离纯化技术的单项训练,在此基础上,设计了综合实训内容,使学生进一步加深对理论知识的理解和对行业的了解,为从事生物产品的分离纯化工作打下良好的基础。

本书适用于高职高专生物技术类专业以及生物制药类专业作为教材使用,也可作为相关行业技术人员的培训教材。

图书在版编目(CIP)数据

生物分离与纯化技术/邱玉华主编. —北京:化学工业出版社, 2007.8

高职高专“十一五”规划教材★生物技术系列

ISBN 978-7-122-00568-7

I. 生… II. 邱… III. ①生物制品-分离法(化学)-高等学校:技术学校-教材 ②生物制品-化学成分-提纯-高等学校:技术学校-教材 IV. TQ464

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第124751号

责任编辑:李植峰 梁静丽 郎红旗
责任校对:凌亚男

文字编辑:张春娥
装帧设计:张辉

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:北京白帆印务有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张14 字数348千字 2007年8月北京第1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: 24.00 元

版权所有 违者必究

高职高专生物技术类“十一五”规划教材 建设委员会委员名单

主任委员 陈电容

副主任委员 王德芝

委员 (按姓氏笔画排序)

王云龙	王方林	王幸斌	王德芝	李崇高	李敏骞	吴高岭
员冬梅	辛秀兰	宋正富	张 胜	张 海	张文雯	张温典
张德新	陆 旋	陈 红	陈电容	陈忠辉	陈登文	周庆椿
郑 瑛	郑 强	赵凤英	赵书芳	胡红杰	娄金华	钱志强
黄根隆	崔士民	程云燕				

高职高专生物技术类“十一五”规划教材 编审委员会委员名单

主任委员 章静波

副主任委员 辛秀兰 刘振祥

委员 (按姓氏笔画排序)

王利明	王幸斌	王晓杰	卞 勇	叶水英	包雪英	兰 蓉
朱学文	任平国	刘振祥	关 力	江建军	孙德友	李 燕
李双石	李玉林	李永峰	李亚芹	李晚燕	李晨阳	杨国伟
杨洪元	杨福林	邱玉华	余少军	辛秀兰	宋京城	张文雯
张守润	张星海	张晓辉	张跃林	张温典	张德炎	陈 玮
陈可夫	陈红梅	罗合春	金小花	金学平	周双林	周济铭
赵俊杰	胡斌杰	贺立虎	夏 红	夏未铭	党占平	徐安书
徐启红	郭晓昭	陶令霞	黄贝贝	章玉平	章静波	董秀芹
程春杰	谢梅英	廖 威	廖旭辉			

高职高专生物技术类“十一五”规划教材 建设单位名单

(按汉语拼音排序)

- | | |
|--------------|----------------|
| 安徽第一轻工业学校 | 湖北荆门职业技术学院 |
| 安徽万博科技职业学院 | 湖北荆州职业技术学院 |
| 安徽芜湖职业技术学院 | 湖北三峡职业技术学院 |
| 安徽医学高等专科学校 | 湖北生态工程职业技术学院 |
| 北京城市学院 | 湖北十堰职业技术学院 |
| 北京电子科技职业学院 | 湖北咸宁职业技术学院 |
| 北京吉利大学 | 湖北中医学院 |
| 北京协和医学院 | 湖南省药品检验所 |
| 北京医药器械学校 | 湖南永州职业技术学院 |
| 重庆工贸职业技术学院 | 华中农业大学 |
| 重庆三峡职业学院 | 江苏常州工程职业技术学院 |
| 甘肃农业职业技术学院 | 江西景德镇高等专科学校 |
| 广东科贸职业学院 | 江西应用技术职业学院 |
| 广西职业技术学院 | 开封大学 |
| 广州城市职业学院 | 山东滨州职业技术学院 |
| 贵州轻工职业技术学院 | 山东博士伦福瑞达制药有限公司 |
| 河北承德民族师范专科学校 | 山东东营职业学院 |
| 河北承德职业技术学院 | 陕西杨凌职业技术学院 |
| 河北旅游职业学院 | 上海工程技术大学 |
| 河南安阳工学院 | 四川工商职业技术学院 |
| 河南工业大学 | 苏州农业职业技术学院 |
| 河南科技学院 | 武汉软件工程职业学院 |
| 河南漯河职业技术学院 | 武汉马应龙药业有限公司 |
| 河南濮阳职业技术学院 | 武汉生物工程学院 |
| 河南三门峡职业技术学院 | 浙江大学 |
| 河南信阳农业高等专科学校 | 浙江金华职业技术学院 |
| 黑龙江农业职业技术学院 | 浙江经贸职业技术学院 |
| 呼和浩特职业学院 | 浙江医药高等专科学校 |
| 湖北大学知行学院 | 郑州牧业工程高等专科学校 |
| 湖北恩施职业技术学院 | 郑州职业技术学院 |
| 湖北黄冈职业技术学院 | 中国食品工业(集团)公司 |

《生物分离与纯化技术》编写人员

主 编 邱玉华

副主编 杨洪元 贺立虎

编写人员 (按姓氏笔画排序)

邱玉华 (常州工程职业技术学院)

杨洪元 (广西职业技术学院)

孟泉科 (三门峡职业技术学院)

孟祥斌 (常州工程职业技术学院)

贺立虎 (杨凌职业技术学院)

廖 威 (广西职业技术学院)

魏秋红 (漯河职业技术学院)

出版说明

“十五”期间，我国的高职高专教育经历了跨越式发展，高职高专教育的专业建设、改革和发展思路进一步明晰，教育研究和教学实践都取得了丰硕成果。但我们也清醒地认识到，高职高专教育的人才培养效果与市场需求之间还存在着一定的偏差，课程改革和教材建设的相对滞后是导致这一偏差的两大直接原因。虽然“十五”期间各级教育主管部门、高职高专院校以及各类出版社对高职高专教材建设给予了较大的支持和投入，出版了一些特色教材，但由于整个高职高专教育尚未进入成熟期，教育改革尚处于探索阶段，故而现行的一些教材难免存在一定程度的不足。如某些教材仅仅注重内容上的增减变化，过分强调知识的系统性，没有真正反映出高职高专教育的特征与要求；编写人员缺少对生产实际的调查研究和深入了解，缺乏对职业岗位所需的专业知识和专项能力的科学分析，教材的内容脱离生产经营实际，针对性不强，新技术、新工艺、新案例、新材料不能及时反映到教材中来，与高职高专教育应紧密联系行业实际的要求不相适应；专业课程教材的编写缺少规划性，同一专业的各门课程所使用的教材缺乏内在的沟通衔接等。为适应高职高专教学的需要，在总结“十五”期间高职高专教学改革成果的基础上，组织编写一批突出高职高专教育特色、以培养适应行业需要的高级技能型人才为目标的高质量教材不仅十分必要，而且十分迫切。

“十一五”期间，教育部将深化教学内容和课程体系改革作为工作重点，大力推进教材向合理化、规范化方向发展。2006年，教育部不仅首次成立了高职高专40个专业类别的“教育部高等学校教学指导委员会”，加强了对高职高专教学改革和教材建设的直接指导，还组织了普通高等教育“十一五”国家级规划教材的申报工作。化学工业出版社申报的200余本教材经教育部专家评审，被列选为普通高等教育“十一五”国家级规划教材，为高等教育的发展做出了积极贡献。依照教育部的部署和要求，2006年化学工业出版社与生物技术应用专业教育部教改试点高职院校联合，邀请50余家高职高专院校和生物技术相关企业作为教材建设单位，共同研讨开发生物技术类高职高专“十一五”规划教材，成立了“高职高专生物技术类‘十一五’规划教材建设委员会”和“高职高专生物技术类‘十一五’规划教材编审委员会”，拟在“十一五”期间组织相关院校的一线教师和相关企业的技术人员，在深入调研与整体规划的基础上，编写出版一套生物技术相关专业基础课及专门课的教材——“高职高专‘十一五’规划教材★生物技术系列”。该批教材将涵盖各类高职高专院校的生物技术及专业、生物化工工艺专业、生物实验技术专业、微生物技术及应用专业、生物科学专业、生物制药技术专业、生化制药技术专业、发酵技术专业等专业的核心课程，从而形成优化配套的高职高专教材体系。目前，该套教材的首批编写计划已顺利实施。首批编写的教材中，《化学》、《细胞培养技术》和《药品质量管理》已列选为“普通高等教育‘十一五’国家级规划教材”。

该套教材的建设宗旨是从根本上体现以应用型职业岗位需求为中心，以素质教育、创新教育为基础，以学生能力培养为本位的教育理念，满足高职高专教学改革的需要和人才培养的需求。编写中主要遵循以下原则：①理论教材、实训教材中的理论知识遵循“必需”、“够用”、“管用”的原则；②依据企业对人才的知识、能力、素质的要求，贯彻职业需求导向的

原则；③坚持职业能力培养为主线的原则，多加入实际案例、技术路线、操作技能的论述，教材内容采用模块化形式组织，具有一定的可剪裁性和可拼接性，可根据不同的培养目标将内容模块剪裁、拼接成不同类型的知识体系；④考虑多岗位需求和学生继续学习的要求，在职业岗位现实需要的基础上，注重学生的全面发展，以常规技术为基础，关键技术为重点，先进技术为导向，体现与时俱进的原则；⑤围绕各种具体专业，制订统一、全面、规范性的教材建设标准，以协调同一专业相关课程教材间的衔接，形成有机整体，体现整套教材的系统性和规划性。同时，结合目前行业发展和教学模式的变化，吸纳并鼓励编写特色课程教材，以适应新的教学要求；并注重开发实验实训教材、电子教案、多媒体课件、网络教学资源等配套教学资源，方便教师教学和学生学习，满足现代化教学模式和课程改革的需要。

在该套教材的组织建设和使用过程中，欢迎高职高专院校的广大师生提出宝贵意见，也欢迎相关行业的管理人员、技术人员与社会各界关注高职高专教育和人才培养的有识之士提出中肯的建议，以便我们进一步做好该套教材的建设工作；更盼望有更多的高职高专院校教师和相关行业的管理人员、技术人员参加到教材的建设工作和编审工作中来，与我们共同努力，编写和出版更多高质量的教材。

化学工业出版社 教育分社

前 言

迅猛发展的现代生物技术是当代新技术革命的重要力量，正逐步实现产业化，且已渗透到医药、化工、环保、能源等行业，其产品的主要成分——生物物质对人类生活的影响日益突出，应用越来越广泛。生物物质的生产包括上游工程和下游加工过程。下游加工过程即生物物质的分离纯化过程，其中涉及的技术统称为生物分离与纯化技术。生物分离与纯化技术是相关产业中使用最普遍的技术，是从事生物物质生产必须掌握的基本技术。高职高专生物技术、生物制药专业的学生是生产实践中生物技术的具体实施者和应用者，熟练掌握生物分离与纯化技术的原理和关键技术是非常重要的。生物分离与纯化技术也是高职生物技术、生物制药专业的专业必修课程之一。

为了适应高职高专教学的特点，本书的理论部分坚持“够用、适度、实用”的原则，以生物物质的基本制备过程为主线，阐述了离心技术、细胞破碎技术、萃取技术、固相析出分离技术、色谱（层析）技术、膜分离技术和浓缩干燥技术等分离纯化技术的基本原理，在结合生产实践的基础上介绍了生物技术的应用以及相关设备的使用，并介绍了有关的新知识、新技术、新方法和新工艺。

为了适应生物技术产业发展需要，使学生对相关分离纯化技术实现“学得好、用得上、用得好”，本书专门安排了生物分离与纯化技术的实训内容。其中，单元操作实验主要是对学生各项分离纯化技术的训练，要求学生熟悉分离纯化实训的目的和基本要求，掌握各种仪器设备和分离方法的操作过程和技术要领，培养学生的动手能力以及分析解决问题的能力。在此基础上，学生通过部分生物物质的制备综合实训，能熟练地综合应用破碎、过滤、色谱（层析）、超滤膜、离子交换等技术进行生物物质的分离纯化、能够设计生物物质分离纯化的简单工艺流程和控制要点，从而进一步加深对理论知识的理解和对行业的了解，为从事生物物质的分离纯化工作打下良好的基础。实训项目参考了“教育部高等学校高职高专药品类专业教学指导委员会”制定的“高等职业教育生物制药技术专业实训项目与设备配置推荐方案”，并进行了一定的综合和创新，使其符合不同院校的实际情况，更适应教学要求。

本书由高等职业技术学院的生物技术、生物制药专业教师结合自身的教学经验和实践应用知识共同编写完成。在编写过程中，北京电子科技职业学院的辛秀兰教授，浙江经贸职业技术学院的张星海副教授、秦钢老师，重庆工贸职业技术学院的罗合春副教授，武汉软件工程职业学院的金学平副教授提出了宝贵的建议和意见，化学工业出版社给予了大力支持和帮助，在此表示衷心的感谢。

由于编者水平有限，书中难免有不妥之处，敬请广大读者和同仁批评指正。

编者

2007年4月

目 录

第一篇 技术理论篇

第一章 绪论	2	五、破碎技术的发展方向	35
第一节 生物分离纯化的概念与原理	2	第五节 离心技术	36
一、生物物质及其来源	2	一、离心分离的基本原理	36
二、分离纯化技术	4	二、离心分离纯化的方法	37
三、分离纯化基本原理	4	三、影响离心效果的因素	38
第二节 分离纯化策略	5	四、常用离心分离设备	39
一、分离纯化的特点	6	复习思考题	43
二、分离纯化方法选择的原则	6	第三章 固相析出分离技术	44
三、分离纯化的原材料选择与成品 保存	7	第一节 盐析法	44
四、分离纯化的准备工作	9	一、基本原理	44
五、分离纯化的基本步骤	9	二、盐析常用的无机盐种类及其选择	45
六、分离纯化技术的综合运用与工艺 优化	10	三、影响盐析的因素	46
七、分离纯化工艺的中试放大	11	四、盐析操作过程及其注意事项	46
八、生物药品生产工艺的验证	13	第二节 有机溶剂沉淀法	49
第三节 生物分离纯化技术的发展	15	一、基本原理	49
一、生物分离纯化技术的发展历史	15	二、常用的有机溶剂及其选择	49
二、生物分离纯化技术的发展趋势	16	三、影响有机溶剂沉淀的因素	50
复习思考题	18	第三节 其他沉淀技术	51
第二章 预处理技术	19	一、等电点沉淀法	51
第一节 概述	19	二、选择性变性沉淀法	51
第二节 发酵液过滤特性的改变与相对 纯化	19	三、有机聚合物沉淀法	52
一、发酵液过滤特性的改变	20	第四节 结晶技术	53
二、发酵液的相对纯化	21	一、基本原理	53
第三节 凝聚和絮凝技术	22	二、结晶的过程	53
一、凝聚	23	三、影响结晶析出的因素	56
二、絮凝	23	四、结晶操作	57
三、混凝	25	五、结晶设备	58
第四节 细胞破碎技术	26	复习思考题	60
一、细胞壁的结构及特点	26	第四章 色谱分离技术	61
二、细胞破碎效果的检查	28	第一节 概述	61
三、细胞破碎的方法	28	一、色谱分离技术的概念	61
四、选择破碎方法的依据	34	二、色谱分离系统的组成	61
		三、色谱分离技术的分类	61
		四、色谱分离技术的特点	62
		五、色谱分离技术的应用	62

第二节 吸附色谱分离技术	62	七、超滤技术在生物制药中的实际应用	123
一、简介	62	第五节 透析技术	123
二、吸附色谱分离操作及其设备	66	一、基本原理	123
三、吸附色谱分离技术的应用	71	二、透析膜的特性与分类	124
第三节 离子交换色谱分离技术	71	三、透析设备及工艺流程	124
一、简介	71	第六节 其他过滤技术	126
二、离子交换色谱分离操作及设备	76	一、反渗透技术	126
三、离子交换色谱分离技术的应用	80	二、电渗析技术	128
第四节 凝胶色谱分离技术	80	三、纳米过滤技术	130
一、简介	80	四、膜蒸馏技术	131
二、凝胶色谱分离操作	85	复习思考题	132
三、凝胶色谱分离技术的应用	87	第六章 萃取技术	133
第五节 亲和色谱分离技术	88	第一节 概述	133
一、简介	88	一、萃取的概念	133
二、亲和色谱分离操作	92	二、萃取的分类	133
三、亲和色谱分离技术的应用	94	三、萃取的特点	134
第六节 高效液相色谱分离技术	94	第二节 溶剂萃取技术	134
一、简介	94	一、基本原理	134
二、高效液相色谱技术分离操作及	101	二、溶剂萃取工艺流程	134
设备	101	三、影响溶剂萃取的主要因素	135
三、高效液相色谱分离技术的应用	103	四、溶剂萃取设备	136
复习思考题	103	第三节 双水相萃取技术	139
第五章 过滤与膜分离技术	104	一、基本原理	139
第一节 过滤技术	104	二、双水相萃取的工艺流程	140
一、基本原理	104	三、影响双水相萃取的因素	141
二、过滤介质	105	四、双水相萃取技术的应用	142
三、过滤装置	105	第四节 超临界流体萃取	143
四、常用的过滤方法	107	一、基本原理	143
五、影响过滤的因素	108	二、超临界流体萃取的基本方法	144
第二节 膜与膜组件	109	三、超临界流体萃取的工艺流程	144
一、膜的分类和性能	109	四、超临界流体萃取的特点	145
二、膜组件	110	五、超临界流体萃取设备	146
第三节 微滤技术	111	六、超临界流体萃取技术的应用	147
一、基本原理	111	第五节 其他萃取技术	149
二、微滤膜的特性	112	一、反胶团(胶束)萃取技术	149
三、微滤的工艺流程	112	二、固体浸取技术	151
四、微滤膜的污染与防治	114	三、液膜萃取技术	152
第四节 超滤技术	116	复习思考题	155
一、基本原理	116	第七章 浓缩干燥技术	156
二、超滤膜的特性	117	第一节 浓缩技术	156
三、超滤的特点和影响因素	119	一、基本原理	156
四、超滤前的准备	119	二、常用浓缩技术	157
五、超滤的工艺流程	121		
六、超滤设备	122		

三、浓缩设备及操作	159
第二节 干燥技术	166
一、简介	166

二、热干燥技术	167
三、冷冻干燥技术	170
复习思考题	174

第二篇 实 践 篇

第八章 生物分离与纯化技术实验

实训基本知识

一、实验实训内容和目的要求	176
二、生物分离纯化实验实训条件	176
三、实验实训室学生守则	177
四、实验实训室安全	177
五、教学方法的建议	179
六、实验实训记录与报告	180

第九章 单元操作实验

实验一 酵母细胞的破碎及破碎率的测定	182
实验二 细胞核与线粒体的分级分离	183
实验三 胰凝乳蛋白酶的制备	184
实验四 牛奶中酪蛋白和乳蛋白素粗品的制备	185
实验五 大蒜细胞 SOD 酶的提取和分离	186

实验六 凝胶色谱法分离蛋白质	187
实验七 离子交换色谱分离氨基酸	188
实验八 青霉素的萃取与萃取率的计算	189
实验九 蛋白质的透析	191
实验十 蛋白质的真空浓缩	192
实验十一 蛋白质的冷冻干燥	193

第十章 综合实训

实训一 L-精氨酸的分离纯化	196
实训二 木瓜蛋白酶的分离纯化及酶活检测	198
实训三 生物碱的分离纯化	201
实训四 土霉素提取与分离	205
实训五 黄酮类物质的分离纯化	208
实训六 多糖的分离纯化	210

参考文献

参考文献	212
------------	-----

第一篇 技术理论篇

-
- 第一章 绪论
 - 第二章 预处理技术
 - 第三章 固相析出分离技术
 - 第四章 色谱分离技术
 - 第五章 过滤与膜分离技术
 - 第六章 萃取技术
 - 第七章 浓缩干燥技术

第一章 绪 论

第一节 生物分离纯化的概念与原理

学习目标

熟悉生物物质的概念、种类和来源；了解分离纯化技术并掌握其基本原理。

突飞猛进、日趋成熟的现代生物技术，正在成为推动世界新技术革命的重要力量，其产业化发展必将对人类社会的经济发展和生活方式产生越来越大的影响。生物技术产业主要制备具有生物活性的生物物质并使其商品化，利用专门的设备和技术将生物物质从生物原料中分离纯化出来并保持其活性，其工艺复杂、周期长、影响因素多。分离纯化技术是现代生物技术产业下游工艺过程的核心，是决定产品的安全、效力、收率和成本的技术基础，在生物技术产业中起着重要的作用。

一、生物物质及其来源

1. 生物物质

“生物物质”这个词汇是在 20 世纪末随着生物技术的发展逐渐出现的，它指的是来源于生物中天然的或利用现代生物工程技术以生物为载体合成的，从氨基酸、多肽等低分子化合物到病毒、微生物活体制剂等具有复杂结构和成分的一类物质。它们存在于生物体内直接参与生物机体新陈代谢过程，并能与生物各种机能产生生物活化效应，因此也称为生物活性物质，而在产业中的生物物质的制成品被称为生物产品。生物物质的种类繁多，分布广。按照其化学本质和特性分类，常见的有如下一些类型。

(1) 氨基酸及其衍生物类 主要包括天然氨基酸及其衍生物。这是一类结构简单、分子量小、易制备的生物物质，约有 60 多种。目前主要生产的品种有谷氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、精氨酸、半胱氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸和色氨酸等，其中谷氨酸的产量最大，约占氨基酸总产量的 80% 左右。

(2) 活性多肽类 活性多肽是由多种氨基酸按一定顺序连接起来的多肽链化合物，分子量一般较小，多数无特定空间构象。多肽在生物体内浓度很低，但活性很强，对机体生理功能的调节起着非常重要的作用。主要有多肽类激素，目前应用于临床的多肽药物已达 20 种以上。

(3) 蛋白质类 这类生物物质主要有简单蛋白和结合蛋白（包括糖蛋白、脂蛋白、色蛋白等）。简单蛋白又称为单纯蛋白，这类蛋白质只由氨基酸组成肽链，不含其他成分，如清蛋白、球蛋白、醇溶谷蛋白、硬蛋白、干扰素、胰岛素、生长素、催乳素等。结合蛋白是由简单蛋白与其他非蛋白成分（如核酸、脂质、糖、血红素等辅基）结合而成，如促甲状腺素、绒毛膜激素、垂体促性激素等糖蛋白激素，尿抑胃素、胃膜素、硫酸糖肽等黏性糖蛋白类，血浆糖蛋白及纤维蛋白原、丙种球蛋白等其他糖蛋白类。

特异免疫球蛋白制剂和细胞生长因子是近年来十分引人注目的蛋白质类物质,如丙种球蛋白 A、丙种球蛋白 M、抗淋巴细胞球蛋白等已广泛用于原发性免疫球蛋白缺陷和一些病毒病的临床治疗。细胞生长因子是在体内对动物细胞的生长具有调节作用,并在靶细胞上具有特异受体的一类物质,它不是细胞的营养生长因子,目前已经应用于临床的有神经生长因子(NGF)、表皮生长因子(EGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)、集落细胞刺激因子(CSF)、红细胞生成素(EPO)以及淋巴细胞生长因子等。

(4) 酶类 酶是一种生物催化剂,是具有生物催化功能的生物大分子(蛋白质或RNA)。随着近年来现代生物技术的发展,作为商品的酶制剂已经广泛应用于食品工业、医药、化工、纺织、环保和能源等方面。它主要包括工业用酶如 α 淀粉酶、 β 淀粉酶、果胶酶、糖化酶、蛋白酶、纤维素酶、脂肪酶等,医疗用酶如消化酶、抗癌酶、酶诊断试剂等以及基因工程工具酶(如各种限制性内切酶和外切酶)等。

(5) 核酸及其降解物类 主要包括核酸碱基及其衍生物、腺苷及其衍生物、核苷酸及其衍生物和多核苷酸等,约有60多种。

(6) 糖类 主要包括单糖、寡糖、多糖和糖的衍生物,其中一些功能性的低聚糖(如海藻糖)和聚糖中的一些微生物黏多糖(如香菇多糖)在糖类中占有重要的地位,并日益显示出较强的生化作用和较好的临床医疗效果。

(7) 脂质类 脂类都呈非水溶性,但其化学结构差异较大,生理功能较广泛,主要包括磷脂类、多价不饱和脂肪酸、固醇、前列腺素、卞啉以及胆酸类等。

(8) 动物器官或组织制剂 这是一类对其化学结构、有效成分不完全清楚,但在临床上确有一定疗效的药物,俗称脏器制剂。现已发现40种左右,如动脉浸液、脾水解物、骨宁、眼宁等。

(9) 小动物制剂 主要有蜂王浆、蜂胶、地龙浸膏、水蛭素等。

(10) 菌体制剂 主要包括有活菌体、灭活菌体及其提取物制成的药物,如微生物肥料制剂、畜牧业饲用微生物制剂、污水处理微生物制剂以及用于医疗上的乳酶生、促菌生、酵母制剂等。

随着人们对各种生物物质的认识,尤其是对其生物功能认识得越来越清楚,它们的应用也越来越广泛和深入,在医药、农林牧渔、环保等产业中都有涉及。

2. 生物物质来源

上述各种生物物质主要来自于它们广泛存在的生物资源中,包括天然的生物体及其组织、器官以及利用现代生物工程技术改造的生物体等,目前常用的有如下几种。

(1) 动物器官与组织 包括猪、牛、羊等的肝脏、胰腺、乳腺以及鸡胚胎等。另外,从海洋生物的器官与组织中获得生物物质是重要的发展趋势。

(2) 植物器官与组织 植物器官与组织中含有很多药用活性成分,转基因植物又可产生大量的以传统方式很难获得的生物物质。

(3) 微生物及其代谢产物 从细菌、放线菌、真菌和酵母菌的初级代谢产物中可获得氨基酸和维生素等,由次级代谢产物中可获得青霉素和四环素等一些抗生素。基因工程技术的发展使得通过微生物培养获得大量其他生物物质成为可能。

(4) 细胞培养产物 细胞培养技术的发展使得从动物细胞、昆虫细胞中获得较高应用价值的生物物质成为可能,且发展迅速,应用越来越广泛,前景广阔。

(5) 血液、分泌物及其他代谢物 人和动物的血液、尿液、乳汁,以及胆汁、蛇毒等其他分泌物与代谢产物也是生物物质的重要来源。

二、分离纯化技术

生物物质是生物技术产品的主要成分，应用现代生物技术的主要目的是提高生物物质的生产效率，生产过程主要包括生物材料的上游加工过程和生物物质的下游加工过程。上游加工过程涉及微生物发酵技术、细胞培养技术、酶工程、基因工程、蛋白质工程、组织工程与转基因生物技术等；下游加工过程即生物物质的分离纯化过程，其中涉及的技术统称为分离纯化技术，主要有离心技术、细胞破碎技术、萃取技术、固相析出分离技术、色谱技术和膜分离技术等。

分离纯化技术是现代生物物质生产工艺的核心，是决定产品的安全、效力、收率和成本的技术基础。生物物质的分离纯化包括生物材料的预处理、初步纯化、高度纯化、成品加工等过程，由于生物物质的特殊性、复杂性以及要求的严格性，生物分离纯化过程所产生的成本费用约占整个生产成本的70%，而纯度要求更高的生物产品如天冬酰胺酶其分离纯化成本高达生产成本的85%。

生物分离纯化工作按照目标成分所要达到的规模和质量规格可以分为以下若干层次。

(1) 实验室规模 主要涉及基础或应用研究探索性的分离纯化工作，所提取的成分一般用于评价其潜在的应用前景等。

(2) 小试或中试规模 生物产品工艺开发中小量试验和中间试验生产时的分离纯化工作，以摸索和优化工艺条件为目的，试生产的产品常用于工艺评价、药效评审、活性试验。

(3) 常规生产规模 生物产品常规生产所涉及的分离纯化工作，所生产的产品用于市场销售和实际应用。

三、分离纯化基本原理

生物材料（含有生物物质的生物资源）在经过上游加工后通常转变为由一些生物细胞、细胞或组织外分泌物、细胞内代谢产物、残存底物以及其他组分组成的混合物，这些混合物有些是均相混合物，有些是非均相混合物。非均相混合物的分离主要靠质点运动与流体力学的原理进行分离，如过滤、沉降、离心分离等。均相混合物可以采用传质分离过程，即在一定条件下混合物中某一组分或某些组分由高浓度区移向低浓度区来实现分离混合物的操作过程，如萃取、蒸馏等。但无论是均相混合物还是非均相混合物，其分离的本质是有效识别混合物中不同组分间物理、化学和生物学性质的差别，利用能够识别这些差别的分离介质或扩大这些差别的分离设备来实现组分间的分离或目标产物的纯化，因此，混合物中不同组分之间的物理、化学、生物学性质是选择生物物质分离纯化技术和工艺的依据（表1-1），这些性质包括以下几个方面。

表 1-1 分离纯化基本原理

性 质	分离纯化技术	生物分离产物举例
分子大小、形状	离心 超滤 微滤 透析 电渗析 凝胶过滤色谱	菌体、细胞碎片、蛋白质 蛋白质、多糖、抗生素 菌体、细胞 尿素、盐、蛋白质 氨基酸、有机酸、盐、水 盐、分子大小不同的蛋白质
溶解性、挥发性	萃取 盐析 结晶 蒸馏 等电点沉淀 有机溶剂沉淀	氨基酸、有机酸、抗生素、蛋白质、香料 蛋白质、核酸 氨基酸、有机酸、抗生素、蛋白质 乙醇、香精 蛋白质、氨基酸 蛋白质、核酸

续表

性 质	分离纯化技术	生物分离产物举例
带电性	电泳 离子交换色谱 等电点沉淀	蛋白质、核酸、氨基酸 氨基酸、有机酸、抗生素、蛋白质、核酸 蛋白质、氨基酸
化学性质	电渗析 离子交换色谱 亲和色谱	氨基酸、有机酸、盐、水 氨基酸、有机酸、抗生素、蛋白质、核酸 蛋白质、核酸
生物功能特性	亲和色谱 疏水色谱	蛋白质、核酸 蛋白质、核酸

1. 物理性质

(1) 分子形状、大小 包括密度、几何尺寸和形状。利用这些性质差别,可采用差速离心与超离心、重力沉降、膜分离、凝胶过滤等分离纯化方法。

(2) 溶解度、挥发性 利用这些性质的分离方法有很多,如蒸馏、蒸发、萃取、沉淀与结晶、泡沫分离等。

(3) 分子极性即电荷性质 包括溶质的电荷特性、电荷分布、等电点等,生产中的色谱、离子交换、电渗析、电泳、等电点沉淀等技术就是利用这些性质进行分离的。

(4) 流动性 包括黏度、在特定溶液中的扩散系数等。利用溶质的流动性差异直接进行分离纯化的操作较少,但它在很多分离纯化操作单元(如萃取、离心)中发挥重要作用。

2. 化学性质

(1) 分子间的相互作用 包括分子间的范德华力、氢键、离子间的静电引力及疏水作用大小等。如分离纯化中电渗析、离子交换色谱等就是依据这些性质进行的。

(2) 分子识别 分子识别即是通过目标产物与某些分离纯化介质上的活性中心、基团进行的专一性结合。如亲和色谱操作。

(3) 化学反应 利用化学反应来进行产品的分离在目前生化产品的生产中使用比较多,如谷氨酸工业生产中的锌盐沉淀法、茶多酚生产中的铝盐沉淀法。此法主要是使目标产物通过与其他试剂发生特定的化学反应,使目标产物的理化性质、生物学性质发生改变而易于采用其他方法将其从混合物中分离纯化出来。

3. 生物学性质

生物学性质的应用是生物物质分离纯化所特有的,它的主要特征是生物大分子之间的分子识别和特异性结合。这种性质的利用主要在蛋白质、核酸、病毒等物质的亲和分离中比较多。

生物物质分离纯化就是根据目标产物与混合物中其他杂质之间的理化性质、生物学性质差异进行的,在实际分离纯化中有些操作仅是单一性质起作用,但更多的情况是多种性质共同发挥作用,因此在生物物质的实际分离纯化中,要达到产品的终极要求,往往需要利用基于目标产物与其他杂质的多种性质差异,采用多种手段、多步骤的分离纯化操作组合串联。

第二节 分离纯化策略

学习目标

掌握分离纯化的特点与一般步骤;了解分离纯化的原料选择和成品保存方法;熟悉分离纯化工艺的优化、放大和验证工作。