

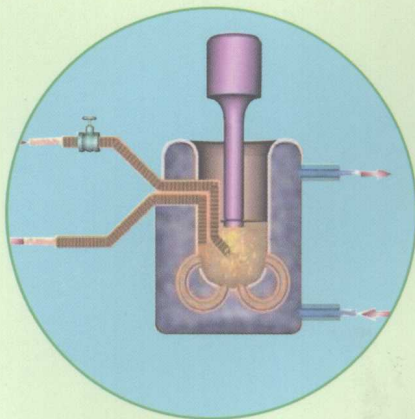



21世纪农业部高职高专规划教材

生物分离技术

生物技术 生物制药 食品类专业用

杨昌鹏 张爱华 主编



 中国农业出版社

21世纪农业部高职高专规划教材

生物分离技术

生物技术 生物制药 食品类专业用

杨昌鹏 张爱华 主编

中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物分离技术 / 杨昌鹏, 张爱华主编. —北京: 中国农业出版社, 2007. 8

21 世纪农业部高职高专规划教材

ISBN 978-7-109-11876-8

I. 生… II. ①杨…②张… III. 生物分解-高等学校: 技术学校-教材 IV. Q503

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 131366 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100026)

责任编辑 杨金妹

北京通州皇家印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

2007 年 8 月第 1 版

2007 年 8 月北京第 1 次印刷

开本: 720 mm×960 mm 1/16 印张: 19.75

字数: 348 千字

定价: 27.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

内 容 简 介

《生物分离技术》教材共分为两篇。第一篇为生物分离的基础理论，主要包括细胞破碎与固液初级分离、萃取分离、沉析分离、膜分离、静态吸附与离子交换分离、层析分离、电泳分离以及生物制品的浓缩结晶与干燥等内容；第二篇为生物分离实验技术，编写了32个实训项目，与第一篇中所介绍的各种生物分离知识相对应，便于加强学生综合技能的培养。书中实训内容丰富、覆盖面广，有利于各院校结合专业特点和自身的实验条件进行相应的选择。

本教材结构合理，内容充实、新颖，信息量大，且理论简明、实训突出、技术实用、可操作性强。本教材适用于高职高专生物技术、生物制药、食品生物技术、食品加工技术、食品营养与检测等专业使用，还可作为相关生产科技人员的参考用书或作为岗前培训的教材。

- 主 编** 杨昌鹏 (广西农业职业技术学院)
张爱华 (黑龙江生物科技职业学院)
- 副主编** 代书玲 (上海农林职业技术学院)
- 参 编** 覃海元 (广西农业职业技术学院)
王洪波 (潍坊职业学院)
聂振江 (黑龙江农垦林业职业技术学院)
- 审 稿** 滕建文 (广西大学)
刘 远 (江苏农林职业技术学院)

P

前 言

《生物分离技术》是依据《教育部关于加强高职高专教育人才培养工作的意见》、《关于加强高职高专教育教材建设的若干意见》等文件的精神，为适应我国高职高专教育对教学改革和教材建设的需要，由中国农业出版社组织编写的农业部规划教材。

教材共分两篇：第一篇为生物分离的基础理论，主要包括细胞破碎与固—液初级分离、萃取分离、沉析分离、膜分离、静态吸附与离子交换分离、层析分离、电泳分离以及生物制品的浓缩结晶与干燥等理论内容。第二篇为生物分离实验技术，编写了32个实训项目，与第一篇中所介绍的各种生物分离知识相对应，便于加强学生综合技能的培养。所编写的大部分实训项目都是以生物分离技术为手段进行提取或制备深加工产品的典型实例。换言之，本教材主要围绕深加工产品的生产或检测分析来组装实训，将生物分离的主要技术组装到有形产品的生产工艺和检测分析中，既可提高学生学习兴趣，又便于培养学生的综合职业技能。

考虑到生物分离技术是一门实践性很强的课程，在教学过程中应以实践性教学为主，理论教学为辅。使用本教材开展理论教学和实践性教学，可使学生比较系统地了解和掌握生物分离的基本原理与操作技术，能为今后开展食品的精深加工，开发新型功能性食品，搞好食品分析与检测，开展生物制药或生化产品的制备等奠定良好的技术基础。

本教材具有适应面广、结构合理、内容新颖、体系创新、图表丰富、理论简明、实训突出、技术实用、可操作性强等特点。所涉及的内容尤其是实训内容丰富、覆盖面广，各院校可根据教学计划，结合自身的实验实训条件，根据需要进行相应的选择，其余部分可作为拓宽学生

知识的阅读材料。

本教材由杨昌鹏、张爱华主编，全书由杨昌鹏统稿。编写的具体分工是：杨昌鹏编写第一、七章和实训 4、5、8、10、16、18、19、20、21、24、25、28、29；张爱华编写第四、六章和实训 7、9、11、12、13、17、22、23；代书玲编写第二、五章和实训 1、2、3、6、14、15；覃海元编写第九章和实训 26、27、32；王洪波编写第八章和实训 30、31；聂振江编写第三章。本教材承蒙滕建文与刘远教授审稿，并提出了宝贵意见。

本教材在编写过程中得到了广西农业职业技术学院、黑龙江生物科技职业学院、上海农林职业技术学院、潍坊职业学院、黑龙江农垦林业职业技术学院的大力支持；在编写中，广泛参考和借鉴了众多专家与学者的大量相关文献，限于篇幅不能一一列出，在此一并致以诚挚的谢意。

鉴于编者的知识水平有限，加上编写时间仓促，错漏之处难免，敬请广大读者批评指正。

编 者

2007年6月

目 录

前言

第一篇 生物分离的基础理论

第一章 绪论	2
第一节 概述	2
一、生物分离技术的基本含义	2
二、生物分离的基本原理	2
三、生物分离技术的发展历史	4
第二节 生物分离的过程与特点	4
一、生物分离的基本过程	4
二、生物分离技术的特点	6
第三节 生物分离方法的选择与评价	7
一、生物分离方法的选择	7
二、生物分离技术的评价	8
第四节 生物分离技术的作用与应用进展	9
一、生物分离技术的重要作用	9
二、生物分离技术的应用进展	11
第二章 细胞破碎与固-液初级分离技术	12
第一节 细胞破碎技术	12
一、破碎方法	12
二、选择破碎方法的依据	17
第二节 固-液初级分离技术	18
一、发酵液的预处理	19
二、固-液初级分离的方法与应用	22
【复习思考】	31

第三章 萃取分离技术	32
第一节 概述	32
一、萃取分离的基本概念	32
二、萃取分离的基本原理	33
第二节 萃取分离方法及其应用	35
一、溶剂萃取	36
二、液—固萃取	40
三、超临界流体萃取	42
四、双水相萃取	48
五、其他萃取技术	52
【复习思考】	54
第四章 沉析分离技术	55
第一节 盐析	55
一、盐析原理	55
二、盐析用盐的选择	56
三、影响盐析的因素	57
四、盐析的操作与应用	58
第二节 有机溶剂沉析	61
一、有机溶剂沉析原理	61
二、沉析溶剂的选择	62
三、影响有机溶剂沉析的因素	63
四、有机溶剂沉析的应用	64
第三节 等电点沉析	65
一、等电点沉析原理	65
二、等电点沉析的注意事项	66
三、等电点沉析的应用	66
第四节 有机聚合物沉析	67
一、有机聚合物沉析原理	67
二、有机聚合物的种类	68
三、有机聚合物沉析的应用	68
第五节 其他沉析技术	69
一、金属离子沉析	69
二、有机酸沉析	70
三、选择变性沉析	71

【复习思考】	71
第五章 膜分离技术	72
第一节 概述	72
一、膜分离技术的概念与分类	72
二、膜分离技术的应用概况	75
第二节 透析	76
一、透析原理	76
二、透析膜	77
三、透析的操作与应用	77
第三节 超滤	79
一、超滤原理	79
二、超滤膜	80
三、超滤装置	82
四、超滤的操作与应用	87
五、超滤膜的污染与清洗	89
第四节 其他膜分离技术	91
一、微滤 (MF)	91
二、反渗透 (RO)	92
三、电渗析	93
【复习思考】	93
第六章 静态吸附与离子交换分离技术	95
第一节 静态吸附分离技术	95
一、吸附的原理	95
二、常见的吸附剂	99
三、静态吸附分离法的操作与应用	104
第二节 静态离子交换分离技术	105
一、离子交换的原理	106
二、离子交换树脂	108
三、静态离子交换的基本操作	112
四、静态离子交换分离法的应用	115
【复习思考】	116
第七章 层析分离技术	117
第一节 概述	117

一、层析分离的基本原理	117
二、层析分离技术的分类	118
三、层析分离的特点与应用	118
第二节 层析分离的基本操作技术	120
一、柱层析分离的基本操作	120
二、纸层析分离的基本操作	126
三、薄层层析分离的基本操作	128
第三节 吸附柱层析	133
一、吸附柱层析的原理	133
二、吸附剂和洗脱剂的选择	134
三、吸附柱层析的操作与应用	135
四、吸附柱层析的特点与应用	136
第四节 离子交换柱层析	136
一、离子交换柱层析的原理	136
二、离子交换剂的种类	137
三、离子交换柱层析的操作与应用	138
第五节 凝胶柱层析	140
一、凝胶柱层析的原理	140
二、凝胶的种类	141
三、凝胶柱层析的操作与应用	145
第六节 疏水柱层析	147
一、疏水柱层析的原理	147
二、疏水性吸附剂	148
三、疏水柱层析的操作与应用	149
第七节 亲和柱层析	149
一、亲和柱层析的原理	150
二、亲和吸附介质	151
三、亲和柱层析的操作与应用	152
第八节 气相色谱	153
一、气相色谱仪的组成及其工作过程	153
二、气相色谱法的特点	155
三、气相色谱分离条件的选择	156
四、气相色谱分析方法	160
五、气相色谱的应用	163
第九节 高效液相色谱	165
一、高效液相色谱仪的组成及其工作过程	166

二、高效液相色谱的特点	168
三、分析型高效液相色谱的分析步骤与方法	168
四、制备型高效液相色谱的操作特点	172
五、高效液相色谱的应用	174
【复习思考】	176
第八章 电泳分离技术	177
第一节 电泳的基本理论及分类	177
一、电泳的基本理论	177
二、电泳的分类	179
第二节 常用电泳分离技术	180
一、聚丙烯酰胺凝胶电泳	180
二、SDS—聚丙烯酰胺凝胶电泳	185
三、等电聚焦电泳	187
四、其他电泳技术	191
【复习思考】	193
第九章 生物制品的浓缩、结晶与干燥	194
第一节 浓缩	194
一、蒸发浓缩	194
二、离子交换浓缩	197
三、吸水浓缩	198
第二节 结晶	198
一、结晶原理与过程	199
二、结晶器的种类	201
三、提高晶体质量的方法	203
第三节 干燥	205
一、干燥原理与过程	206
二、干燥方法、设备及其应用	207
【复习思考】	209
第二篇 生物分离实验技术	
实训 1 酵母细胞的超声波破碎及破碎率的测定	212
实训 2 表面活性剂法提取香蕉果皮多酚氧化酶	213
实训 3 RNA 的蔗糖密度梯度离心分离	215

实训 4	有机溶剂萃取法提取茶多酚	217
实训 5	双水相萃取分离猪心中的细胞色素 c	219
实训 6	盐析法和双水相萃取法制备白萝卜过氧化物酶	221
实训 7	有机溶剂萃取法提取红霉素	224
实训 8	沉析分离的基本方法	226
实训 9	等电点沉析和盐析法制备牛乳酪蛋白和乳蛋白素	228
实训 10	醇析法制备柑橘皮中的果胶	231
实训 11	单宁沉析法制备菠萝蛋白酶	233
实训 12	沉析法制备银耳多糖	235
实训 13	锌盐沉析法提取胰岛素	238
实训 14	蛋白质溶液的透析	241
实训 15	板式超滤法分离明胶蛋白水溶液	243
实训 16	中空纤维式超滤法浓缩酶溶液	247
实训 17	离子交换树脂静态提取肝素钠及肝素钙	249
实训 18	凝胶柱层析分离蛋白质	252
实训 19	大孔树脂吸附柱层析分离葡萄红色素	256
实训 20	离子交换柱层析分离氨基酸	258
实训 21	离子交换柱层析分离香蕉多酚氧化酶同工酶	261
实训 22	大孔树脂吸附柱层析制备甘草酸	264
实训 23	离子交换层析法制备谷胱甘肽 (GSH)	266
实训 24	纸层析分离氨基酸	268
实训 25	可溶性糖的硅胶 G 薄层层析	271
实训 26	高效液相色谱法检测抗生素残留量	274
实训 27	气相色谱法检测有机磷农药	277
实训 28	聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳 (PAGE) 分离技术	280
实训 29	SDS-聚丙烯酰胺凝胶平板电泳测定蛋白质相对分子质量	285
实训 30	DNA 的琼脂糖凝胶电泳	289
实训 31	血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳	291
实训 32	胃蛋白酶的结晶	295
主要参考文献		298

第一篇

生物分离的基础理论

第一章 绪 论

学习重点

1. 生物分离技术的基本含义。
2. 生物分离的基本原理。
3. 生物分离的一般工艺过程。
4. 生物分离技术的特点及作用。

第一节 概 述

一、生物分离技术的基本含义

生物分离技术是指从动植物与微生物的有机体或器官、生物工程产物（发酵液、培养液）及生物化学产品中提取、分离、纯化有用物质的技术过程。生物分离技术也常称为生物分离工程技术、生物工程下游技术，其实质是从混合物中把一种或几种物质分离出来的科学技术，是一门应用性很强、科技含量较高的学科，涉及物理、化学、生物学等方面的知识和操作技术，特别是与生物化学实验技术密切相关。

生物分离技术的内容主要包括：离心分离、过滤分离、泡沫分离、萃取分离、沉析（淀）分离、膜分离、层析（色谱）分离、电泳分离技术以及产品的浓缩、结晶、干燥等技术。每一种分离技术根据操作形式或分离机理的不同，又可以分为若干分离方法。例如，层析（色谱）分离，按层析的机理可分为：吸附层析、离子交换层析、凝胶层析、亲和层析、分配层析、等电聚焦层析等几种；按操作形式可分为：柱层析、纸层析和薄层层析3种。

被分离的对象可以是动植物与微生物原料，也可以是反应产物、中间产物或废物料；可以是小分子，也可以是大分子；可以是具有生物活性的物质（如酶类），也可以是不具有生物活性的物质。

二、生物分离的基本原理

生物分离的原理有很多，主要是依据离心力、分子大小（筛分）、浓度差、

压力差、电荷效应、吸附作用、静电作用、亲和作用、疏水作用、溶解度、平衡分离等原理对原料或产物进行分离、纯化。不同的分离对象需要采用不同的分离方法才能有效地被分离。主要生物分离技术的分离原理与分离对象见表 1-1。

表 1-1 主要生物分离技术的分离原理与分离对象

分离技术		分离原理	分离对象(举例)
离心分离	差速离心	离心力	菌体、细胞、血细胞、细胞碎片等
	密度梯度离心	离心力、离心介质	蛋白质、核酸等
泡沫分离	泡沫分离	气液平衡、表面活性	蛋白质、细胞、细胞碎片等
萃取分离	有机溶剂萃取	液液平衡	色素、有机酸、抗生素、氨基酸等
	双水相萃取	液液平衡	蛋白质、酶、抗生素、核酸等
	超临界流体萃取	相平衡	香料、脂质、生物碱等
膜分离	微滤	压力差、筛分	菌体、细胞等
	超滤	压力差、筛分	蛋白质、酶、多糖、抗生素等
	反渗透	压力差、渗透	水、盐、糖、氨基酸等
	透析	浓度差、筛分	蛋白质、酶、盐等
	电渗析	电荷、筛分	氨基酸、有机酸、水、盐等
层析分离	吸附层析	吸附作用	色素、抗生素、生物碱、萜类、蛋白质、酶等
	离子交换层析	静电作用、离子交换、浓度差	蛋白质、酶、核酸、多糖、氨基酸、有机酸、抗生素等
	凝胶层析	筛分、浓度差	蛋白质、酶等大分子分级、脱盐等
	亲和层析	亲和作用	蛋白质、酶、核酸、多肽等
	疏水层析	疏水作用、浓度差	蛋白质、酶、核酸等
	分配层析	分配系数差异	苷类、糖、氨基酸类等
	等电聚焦层析	电荷、浓度差	蛋白质、酶等
沉析分离/ 结晶	盐析	液固平衡、疏水作用、静电作用	蛋白质、酶、核酸等
	有机溶剂沉析	液固平衡、静电作用、疏水作用	蛋白质、酶、核酸、果胶等
	等电点沉析	液固平衡、静电作用、疏水作用	蛋白质、酶、氨基酸等
	溶液结晶	液固平衡(溶解度)	氨基酸、有机酸、蛋白质、酶、抗生素等

(续)

分离技术		分离原理	分离对象 (举例)
电泳分离	凝胶电泳	电荷、筛分	蛋白质、酶、核酸等
	等电聚焦电泳	电荷、筛分、浓度差 (pH)	蛋白质、酶、氨基酸等
	二维电泳	电荷、筛分、浓度差 (pH)	蛋白质、酶等
	色谱电泳	电泳、电渗、色谱	蛋白质、酶、核酸、糖等

分离纯化一个具体生化产品，常常需要根据它的各种理化性质和生物学特性，采用多种分离方法进行有机组合，才能达到预期的目的。

三、生物分离技术的发展历史

产业部门利用生物分离技术至今已有几百年的历史。16 世纪人们发明了用水蒸气蒸馏从鲜花与香草中提取天然香料的方法，而从牛奶中提取奶酪的历史则更早。近代生物分离技术是在欧洲工业革命以后逐渐发展形成的，最早的开发是由于发酵制酒精以及有机酸分离提取的需要，从产物含量较高的发酵液制备成品。到 20 世纪 40 年代初，大规模深层发酵生产抗菌素，反应粗产物的纯度较低，而最终产品要求的纯度却极高。近年来发展的新生物技术包括利用基因工程菌生产人造胰岛素、人与动物疫苗等产品，某粗产物的含量极低，而对分离所得最终产物的要求却更高了。因而，生物分离技术与装备的发展日趋复杂与完善。

第二节 生物分离的过程与特点

一、生物分离的基本过程

由于生物原料明显带有生物物质的特征，因此生物分离工艺不能简单地应用化工单元操作：按照生产过程，生物分离一般包括原料的选取、预处理、细胞破碎、固-液分离、初步纯化（分离）、精制（高度纯化）和成品加工等过程。生物分离的一般工艺过程见图 1-1。不同原料来源，其生物分离的工艺过程略有不同。