



普通高等教育“十五”国家级规划教材

生物分离工程

第二版

孙彦 编著



化学工业出版社
教材出版中心

普通高等教育“十五”国家级规划教材

生物分离工程

第二版

孙彦 编著



化学工业出版社
教材出版中心

·北京·

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

生物分离工程/孙彦编著. —北京: 化学工业出版社,
2005. 2

普通高等教育“十五”国家级规划教材

ISBN 7-5025-6539-6

I. 生… II. 孙… III. 生物分解-高等学校-教
材 IV. Q503

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 023169 号

普通高等教育“十五”国家级规划教材

生物分离工程

第二版

孙彦 编著

责任编辑: 骆文敏

文字编辑: 杨欣欣

责任校对: 郑捷

封面设计: 于剑凝

*

化学工业出版社 出版发行
教材出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京市彩桥印刷厂印刷

三河市前程装订厂装订

开本 787mm × 960mm 1/16 印张 29½ 字数 539 千字

2005 年 3 月第 2 版 2005 年 3 月北京第 7 次印刷

ISBN 7-5025-6539-6/G · 1709

定 价: 45.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

初 版 序

生物技术是一门历史渊源的技术。20世纪60~70年代原生质体融合技术和DNA重组技术的出现,赋予了生物技术以崭新的内涵,使它迅猛地发展成为一门集现代生物科学和工程技术于一身的新兴学科,成为当前世界各国高新技术发展的主要领域。它已能从分子和细胞的水平上改造已有的物种和创建新的物种,为人类健康和社会生产服务。它的进一步发展将会在下一世纪引起一场新的技术革命的浪潮。

生物技术必须实现产业化才能造福于人类,才能得到社会效益和经济效益。近20年来的实践使人们认识到:在生物技术产业化的进程中,其“下游技术”往往成为技术和经济的关键。它不仅直接关系到产品的产量和质量,而且其成本常常占总成本的60%~90%。因此愈来愈受到人们的关注。

生物技术的“下游技术”包括细胞的大规模培养、产物的分离纯化、产品的成型加工和质量监控等一系列单元操作和过程中的主要技术。其中,生化产物的分离和纯化是其最重要的核心内容。

近年来,国内出版了不少有关生物技术的专著或科普读物,但有关生物下游工程的书籍并不多见,而适合作为教科书的更为罕见。这可能与生物下游工程涉及的面太广和下游过程的多样性,以及写一本好的书,尤其教科书不易有关。

《生物分离工程》正是应这一迫切需要应运而生的一本较好的教科书和技术参考书。此书系统和比较详尽地介绍了生物下游工程的主要技术,如:细胞的分离和破碎、生化产物提取的各种技术、产品纯化的主要方法等。书中各章既有独立性,又相互呼应,使读者对生物下游工程有一个比较全面的了解。

本书的书写深入浅出,既重视对原理的叙述,又介绍其实际应用,使其不仅适合作为高等院校有关专业的教材,而且可以作为从事生物工程的科研和技术人员的参考书。我相信,此书的出版将会受到从事生物技术的广大师生和科技人员的欢迎。

清华大学 沈忠耀

1998年7月于清华园

第二版前言

近30年来,以基因工程为标志的现代生物技术迅速发展,成为影响世界经济的主要科学技术之一。进入21世纪,随着人类基因组工程取得巨大成就,生物技术步入了后基因组时代。蛋白质组学、药物基因组学、生物信息学和系统生物学研究蓬勃兴起,为生物技术的发展注入了巨大的生机和活力。生物技术的主要目标是生物物质的高效生产,而分离纯化过程是生物产品工程的重要环节。因此,生物分离工程是生物技术的重要组成部分,在生物技术研究 and 产业发展中发挥着重要作用。生物分离工程的根本任务是设计和优化分离过程,提高分离效率,降低过程成本;而研究开发高容量、高速度和高分辨率的新技术、新介质和新设备则是生物分离工程发展的主要目标。

《生物分离工程》出版6年来,得到了有关教育界和科技界的广泛关注,多次重印。但是,初版中多有不完备之处;同时,与生物技术同步,近年来生物分离工程研究也取得了长足的发展。因此,有必要重新修订,以提高其作为生物工程及相关学科领域本科生与研究生教材的水平,并充分反映生物分离工程研究的最新进展。

本书第二版保留了初版的大部分内容。除文字方面的全面修订、部分章节标题的改动和章节次序的改变外,主要修订工作集中在以下4点。

(1) 在第2章中删除了“包含体的分离和蛋白质的复性”一节,新增“蛋白质复性”一章(第10章),以突出蛋白质复性在生物分离过程中的重要性。

(2) 吸附和色谱是生物分离过程的核心技术,为加强有关部分的系统性,对第6章至第8章进行了重点修订。在第6章中增加了“吸附平衡理论”和“吸附过程传质动力学”的内容,充实了近年来发展较快的“膨胀床吸附”部分的内容;在第7章中增加了“置换色谱”一节,充实了“流通色谱”(原名“灌注层析”)一节的内容;将第8章标题改为“亲和色谱”,突出了色谱方法作为亲和分离纯化技术主体的重要地位,并增加了亲和吸附平衡方面的内容。

(3) 第9章更名为“电泳和电色谱”,对内容也进行了部分修订,强调了电场存在下的色谱方法在生物分离技术中的重要性。

(4) 第3章更名为“初级分离”,将“沉淀”部分合并为一节,新增“泡沫分离”一节。

在第二版即将付梓之际,作者对国家自然科学基金委员会、国家教育部、天

津市科委和天津市教季等部门多年来提供的基金资助表示诚挚的谢意，该书中有
关作者的研究成果都是在上述多项基金资助下取得的。同时，作者衷心感谢国家
教育部将此书列为国家“十五”规划教材并提供基金资助；天津大学也对本书出
版提供了大力支持，激励作者尽最大努力完成了修订工作。史清洪博士在繁忙的
教学科研工作之余通读了书稿，提出许多修改意见，作者对其敬业精神和辛勤劳
动深表谢意。在书稿整理过程中，本室研究生杨征、杨坤、施扬、佟晓冬和孙国
勇等同学在文献整理和绘图等方面提供了大力协助，在此一并表示感谢。最后，
特别感谢我的家人多年来对我的关怀和支持，使我有充足的时间和精力投身于教
学科研工作。

孙彦

2004年9月于天津大学

初 版 前 言

分离过程贯穿于人们的日常生活以及社会的生产实践中,在化学工业、生物工业、资源开发和环境保护等领域发挥着重要作用。就生产实践而言,分离过程的重要性在于,天然的以及化学和生物过程所产生的物质,均不同程度地与其他物质以混合物的形式存在。有用物质的最终产品需要达到较高的纯度,而有害物质需要充分净化和妥善处理,这些都必须借助各种分离操作加以实现。混合物的分离不能自发进行,需要外界能量。这种能量可以储存于分离介质中,或者通过分离设备以热能和(或)机械能的形式提供。因此,高效分离介质、分离技术与设备的开发和设计是生产实践的重要环节。对于生物物质,由于其性质和用途的特殊性,需要特殊的分离技术和更多步骤的分离过程,进一步增加了分离操作的难度,使分离过程在生物技术产业中的地位愈显重要。近30年来,高效生物分离技术的研究开发一直是产学研界关注的焦点,取得了许多重要研究成果。可以预计,随着21世纪生物技术产业的飞速发展,生物分离技术的研究开发将得到更广泛的重视,人才需求将不断增长,竞争更趋激烈。因此,生物化工高等教育面临着更大的机遇和挑战。

作者从1993年春开始为天津大学生物化工专业硕士研究生开设“高等生物分离工程”学位课,其间深感由于教学资料零散给学生掌握授课内容带来的困难。有鉴于此,从1993年夏起,作者结合科研工作,着手“生物分离工程”讲义的编写。1995年后,由于生物化工专业本科生“生化分离工程”教学的需要,又对原讲义内容做了全面充实,加强了内容的系统性和完整性,形成本书的初稿。后经反复增删,并请资深教授审阅,最终完成了本书的修改工作。与此同时,书稿经过近年本科生和研究生课教学实践的检验,收到了良好的教学效果。因此,本书的大部分章节可作为本科生教材,部分章节可用于研究生的教学参考书。

本书重点阐述了近年来生物物质、特别是蛋白质类生物大分子的分离技术和理论的重要发展,如新型液液萃取、膜分离、色谱、电泳和亲和分离纯化技术等。对于涉及“化工原理”教材中较多的内容,如离心分离、过滤和干燥等从简介绍,仅针对其在生物过程中的应用背景略做阐述。

全书共分11章,其中第4章至第9章是本书的核心。第1章概述生物分离过程(生物下游加工过程)、分离操作和各种生物物质;第2章介绍了细胞分离

和破碎的主要方法，以及基因重组包含体蛋白质的复性；第3章以盐析沉淀为主，简述蛋白质的各种沉淀分级方法和动力学；第4章阐述了萃取的原理和萃取过程的设计基础，萃取方法既包括传统的溶剂萃取和浸取，也包括双水相萃取、液膜萃取、反胶团萃取和超临界流体萃取等新型萃取技术；第5章以超滤和微滤为中心，介绍各种膜分离技术的原理、特点和应用；第6章以固定床吸附过程理论为重点，介绍了主要吸附剂和离子交换剂、吸附和离子交换平衡、膨胀床和流化床等新型吸附分离方法；第7章以凝胶过滤和离子交换层析为重点，介绍层析过程的基本理论和各种层析方法的原理、层析介质、特点和应用；第8章阐述了生物亲和作用的本质，重点介绍了亲和层析的相关技术和过程理论，并概述了近年来不断发展的其他亲和纯化技术的原理和研究现状；第9章介绍了蛋白质的各种电泳分离方法；第10章介绍结晶原理、结晶动力学、主要工业结晶器和结晶操作与应用；第11章简要介绍干燥的一般原理、干燥过程的基础理论和生物过程中的主要干燥设备。

清华大学沈忠耀教授、天津大学王世昌教授和王静康教授在百忙中审阅了本书稿，提出许多宝贵的意见和建议。沈忠耀教授欣然为本书作序，体现了老一代科学家对青年教师的热情支持与鼓励。作者谨向三位先生表示崇高的敬意和衷心的感谢。作者还特别感谢天津市教委和天津大学分别将本书作为重点教材立项，使其得以顺利出版。

在本书整理过程中，本研究室历届研究生何利中、史清洪、李凌燕、李玉龙和金仙华等同学参与了部分书稿的计算机文字处理工作。化学工业出版社领导对本书的出版给予了大力支持，在此谨向他们表示真诚的谢意。另外，借此机会，作者向各界朋友、老师、学长、同事以及天津大学各级领导多年来给予作者的支持、鼓励和教诲表示感谢。

生物分离工程是蓬勃发展中的学科领域，由于作者知识和经验有限，加之时间较短，书中错误和不足之处在所难免，敬请读者给予批评指正。如果本书能激发更多青年学子投身于生物工程研究和生产实践，并成为生物工程研究和教育工作者的实用参考书，将是作者编著此书的最大收获。

孙 彦

1998年盛夏于天津大学

内 容 提 要

本书以生物大分子分离纯化技术为核心，系统介绍了生物产物分离纯化的基本原理、分离操作、过程理论及应用。本书内容分为 12 章，即绪论、细胞分离与破碎、初级分离、膜分离、萃取、吸附分离技术和理论、液相色谱、亲和色谱、电泳和电色谱、蛋白质复性、结晶和干燥等。其中第 2 章和第 3 章主要介绍了生物分离过程的前处理以及沉淀分级和泡沫分离等初级分离技术；第 4 章介绍了各种膜分离方法、特点及其在生物分离中的应用；第 5 章介绍了各种萃取方法，特别是可用于生物大分子分离纯化的双水相萃取和反胶团萃取技术；第 6 章至第 10 章阐述了吸附（包括离子交换）、色谱、电泳、电色谱以及蛋白质复性等生物分离过程的核心技术的基本原理、特点、基础理论和应用，内容包括近年来该领域的最新研究进展，是本书的核心部分；最后两章介绍了结晶和干燥的基础理论及其在生物分离中的应用。

本书主要用于高等院校生物工程、生物化工和其他相关学科本科生与研究生的教材，也可供从事生物技术、生物化工和生物制药研究的科研、技术和管理人员使用和参考。

目 录

1 绪论	1
1.1 生物技术与生物分离	1
1.2 生物物质和生物分离	2
1.2.1 生物物质	2
1.2.2 生物分离过程	2
1.3 生物分离过程的特点	4
1.4 生物分离技术和原理	5
1.4.1 物理性质	6
1.4.2 化学性质	6
1.4.3 生物学性质	6
1.5 生物分离效率	8
1.5.1 分离方法和设备	8
1.5.2 分离过程和产品	8
参考文献	10
2 细胞分离与破碎	12
2.1 细胞分离	12
2.1.1 重力沉降	12
2.1.2 离心沉降	14
2.1.3 过滤	20
2.2 细胞破碎	23
2.2.1 细胞的结构	23
2.2.2 细胞破碎和产物释放原理	24
2.2.3 细胞破碎技术	26
2.2.4 目标产物的选择性释放	32
习题	33
参考文献	34
3 初级分离	35
3.1 沉淀分级	35
3.1.1 蛋白质的表面特性	35
3.1.2 盐析沉淀	36
3.1.3 等电点沉淀	41

3.1.4	有机溶剂沉淀	42
3.1.5	热沉淀	42
3.1.6	其他沉淀法	43
3.1.7	沉淀生成动力学	44
3.2	泡沫分离	46
3.2.1	泡沫分离原理	46
3.2.2	泡沫分离设备和过程	48
3.2.3	泡沫分离的应用	50
	习题	53
	参考文献	54
4	膜分离	56
4.1	各种膜分离法及其原理	56
4.1.1	反渗透	57
4.1.2	超滤和微滤	60
4.1.3	透析	61
4.1.4	电渗析	62
4.1.5	渗透气化	62
4.2	膜材料及其特性	63
4.2.1	膜材料	63
4.2.2	膜的结构特性	64
4.2.3	水通量	66
4.3	膜组件	67
4.3.1	管式膜组件	68
4.3.2	平板膜组件	69
4.3.3	螺旋卷式膜组件	69
4.3.4	中空纤维(毛细管)式膜组件	69
4.4	操作特性	69
4.4.1	浓度极化模型	69
4.4.2	超滤膜的分子截留作用	71
4.5	影响膜分离速度的主要因素	73
4.5.1	操作形式	73
4.5.2	流速	73
4.5.3	压力	74
4.5.4	料液浓度	75
4.6	膜分离过程	76
4.6.1	分离操作	76
4.6.2	错流过滤过程的流体力学	80

4.7	膜的污染与清洗	81
4.8	应用	83
4.8.1	菌体分离	84
4.8.2	小分子生物产物的回收	84
4.8.3	蛋白质的回收、浓缩与纯化	84
4.8.4	膜生物反应器	85
	习题	87
	参考文献	88
5	萃取	90
5.1	基本概念	90
5.1.1	萃取	90
5.1.2	反萃取	91
5.1.3	物理萃取和化学萃取	92
5.2	分配定律与分配平衡	92
5.3	有机溶剂萃取	94
5.3.1	弱电解质的分配平衡	95
5.3.2	化学萃取平衡	96
5.3.3	溶剂萃取操作	98
5.4	液液萃取设备及其设计的理论基础	101
5.4.1	混合-澄清式萃取	101
5.4.2	多级错流接触萃取	102
5.4.3	多级逆流接触萃取	105
5.4.4	分馏萃取	106
5.4.5	微分萃取	109
5.5	双水相萃取	116
5.5.1	双水相系统	117
5.5.2	双水相中的分配平衡	118
5.5.3	影响分配系数的各种因素	122
5.5.4	双水相萃取操作	124
5.6	液膜萃取	130
5.6.1	液膜的种类	131
5.6.2	液膜萃取机理	132
5.6.3	液膜萃取动力学	134
5.6.4	液膜萃取操作	140
5.7	反胶团萃取	149
5.7.1	反胶团及其基本性质	149
5.7.2	反胶团的溶解作用	151

5.7.3	萃取和反萃取动力学	154
5.7.4	反胶团萃取操作	156
5.8	液固萃取(浸取)	166
5.8.1	浸取速度	166
5.8.2	液固萃取操作及设备	168
5.8.3	浸取剂	168
5.9	超临界流体萃取	169
5.9.1	超临界流体的性质	170
5.9.2	超临界流体中的溶解度	171
5.9.3	超临界流体萃取操作	173
5.9.4	应用	174
	习题	175
	参考文献	177
6	吸附分离技术和理论	181
6.1	吸附分离介质	182
6.1.1	吸附剂	182
6.1.2	离子交换剂	183
6.1.3	吸附剂的制备	187
6.2	吸附平衡理论	189
6.2.1	吸附等温线	189
6.2.2	离子交换吸附的计量置换模型	192
6.2.3	空间质量作用模型	196
6.2.4	静电吸附模型	198
6.3	吸附过程传质动力学	199
6.3.1	液相扩散	199
6.3.2	固相扩散	203
6.4	固定床吸附	212
6.5	固定床吸附过程理论	214
6.5.1	表面吸附速率控制	216
6.5.2	液膜扩散速率控制	217
6.5.3	内扩散速率控制	217
6.5.4	简化的速率方程	220
6.5.5	恒定图式假设	225
6.6	膨胀床吸附	229
6.6.1	膨胀床吸附原理和固相分级特性	229
6.6.2	膨胀床介质和设备	232
6.6.3	膨胀床吸附模型	234

6.6.4 膨胀床吸附操作和应用	236
6.7 移动床和模拟移动床吸附	239
6.8 搅拌釜吸附	241
6.8.1 吸附速率	241
6.8.2 搅拌釜吸附操作设计	242
习题	244
参考文献	245
7 液相色谱	250
7.1 色谱原理与分类	250
7.1.1 原理	250
7.1.2 分类	251
7.2 色谱过程理论基础	253
7.2.1 平衡模型	253
7.2.2 理论板模型	255
7.2.3 传质速率模型	257
7.3 分离度	260
7.4 凝胶过滤色谱	261
7.4.1 原理与操作	261
7.4.2 凝胶过滤介质	263
7.4.3 影响分离特性的因素	266
7.4.4 凝胶过滤色谱的应用及特点	269
7.5 离子交换色谱	271
7.5.1 原理与操作	271
7.5.2 线性梯度洗脱色谱	273
7.5.3 逐次洗脱色谱	278
7.5.4 离子交换色谱的应用及特点	279
7.6 疏水性相互作用色谱	281
7.6.1 原理	281
7.6.2 疏水性吸附剂	281
7.6.3 色谱操作和特点	282
7.7 色谱聚焦	284
7.7.1 原理与操作	284
7.7.2 多缓冲剂与多缓冲离子交换剂	286
7.7.3 色谱聚焦的应用	286
7.8 反相色谱	287
7.9 羟基磷灰石色谱	289
7.10 超临界流体色谱	290

7.11	流通色谱	291
7.11.1	流通色谱原理	291
7.11.2	流通色谱的发展	293
7.12	置换色谱	296
7.12.1	置换色谱原理	297
7.12.2	置换色谱过程	298
7.12.3	置换色谱的特点	303
7.12.4	置换剂和置换色谱的应用	304
	习题	307
	参考文献	308
8	亲和色谱	312
8.1	生物亲和作用	312
8.1.1	亲和作用的本质	312
8.1.2	影响亲和作用的因素	314
8.1.3	亲和作用体系	315
8.2	亲和色谱原理	317
8.3	亲和色谱介质	318
8.3.1	亲和配基	318
8.3.2	亲和吸附剂及其制备方法	322
8.3.3	间隔臂的作用	326
8.4	亲和吸附平衡	326
8.4.1	亲和吸附等温线	326
8.4.2	色素亲和吸附平衡	327
8.5	亲和色谱过程分析	329
8.5.1	分离过程	329
8.5.2	模型分析	332
8.6	亲和色谱的应用	334
8.6.1	t-PA 的纯化——酶的抑制剂为亲和配基	334
8.6.2	干扰素的纯化——免疫亲和色谱	334
8.6.3	脱氢酶的纯化——色素亲和色谱	335
8.6.4	淀粉酶抑制剂的纯化——固定化金属离子亲和色谱	337
8.6.5	基因重组融合蛋白的纯化	338
8.7	亲和膜色谱	340
8.7.1	原理和特点	340
8.7.2	应用	343
8.8	其他亲和分离技术	344
8.8.1	亲和错流过滤	344

8.8.2	亲和双水相分配	349
8.8.3	亲和反胶团萃取	352
8.8.4	亲和沉淀	355
	习题	358
	参考文献	358
9	电泳和电色谱	362
9.1	基础理论	362
9.1.1	电泳速度	362
9.1.2	电渗流速度	366
9.2	凝胶电泳	367
9.2.1	凝胶电泳	367
9.2.2	不连续凝胶电泳	368
9.3	等电点聚焦	372
9.3.1	分离原理	372
9.3.2	分离装置	373
9.3.3	特点	374
9.4	二维电泳	374
9.5	逆向作用色谱电泳	375
9.6	毛细管电泳和电色谱	376
9.6.1	分离装置	376
9.6.2	分离原理	377
9.6.3	特点	378
9.7	连续电泳和电色谱	379
9.7.1	Hannig 型连续自由流电泳	379
9.7.2	多通道连续自由流电泳	380
9.7.3	多通道连续等电点聚焦	380
9.7.4	旋转环形柱连续电泳 (电色谱)	381
9.7.5	旋转圆筒柱连续电色谱	381
	习题	382
	参考文献	382
10	蛋白质复性	384
10.1	包含体的形成和性质	384
10.1.1	包含体的形成	384
10.1.2	包含体的性质	385
10.1.3	包含体的体内抑制	386
10.2	包含体的纯化和溶解	386
10.2.1	包含体的分离纯化	386

10.2.2	包含体的溶解	388
10.3	蛋白质复性	388
10.3.1	稀释复性	389
10.3.2	辅助因子的作用	392
10.3.3	分子伴侣和人工分子伴侣	394
10.3.4	复性色谱	395
10.3.5	反胶团中的蛋白质复性	399
10.3.6	复性过程	400
	习题	402
	参考文献	402
11	结晶	407
11.1	结晶原理	407
11.1.1	溶解度	407
11.1.2	过饱和溶液与介稳区	408
11.1.3	成核	411
11.2	结晶的生长	414
11.2.1	生长速率	414
11.2.2	ΔL 定律	415
11.3	结晶过程设计基础	416
11.3.1	晶体粒度分布	416
11.3.2	粒数衡算方程	418
11.4	结晶器	426
11.4.1	冷却结晶器	427
11.4.2	蒸发结晶器	427
11.5	结晶操作及其应用	430
11.5.1	结晶操作特性	430
11.5.2	应用	433
	习题	436
	参考文献	437
12	干燥	438
12.1	干燥速度	438
12.1.1	传导干燥	438
12.1.2	对流干燥	440
12.2	湿空气和物料中水分的性质	441
12.2.1	湿空气的性质	441
12.2.2	物料中的水分	442
12.3	干燥过程	443