

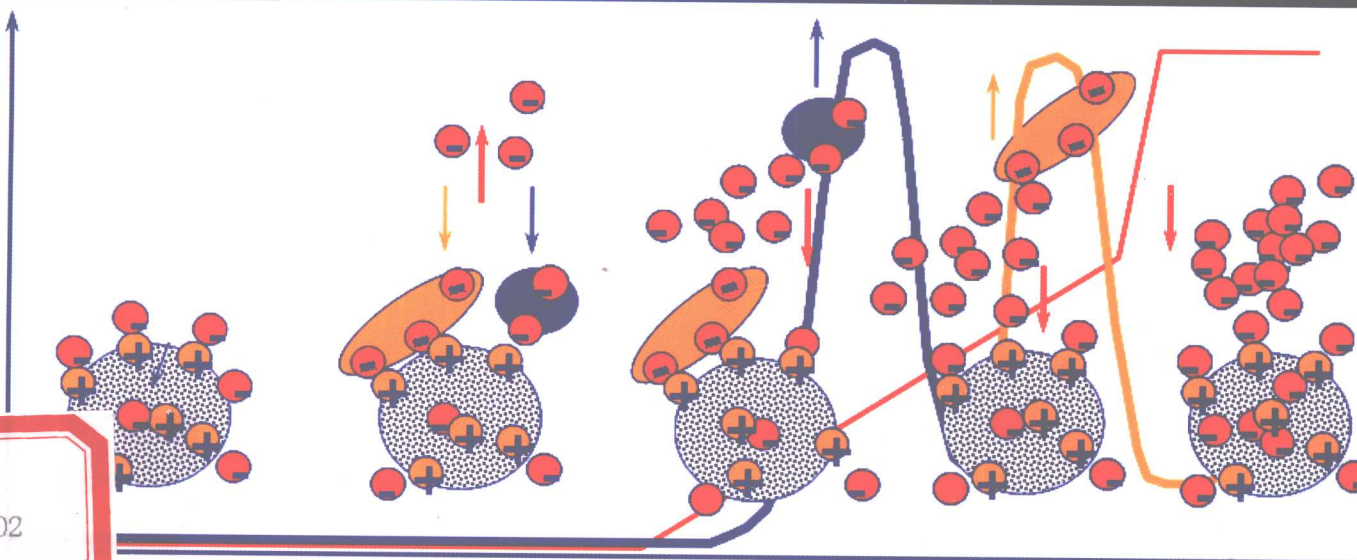


普通高等教育“十一五”国家级规划教材

第二版

生物分离原理 及技术

欧阳平凯 胡永红 姚忠



化学工业出版社



中华人民共和国教育部 2019 年 1 月 1 日 批准立项

第三版

生物分离原理 及技术

周建波 周志远 周志



化学工业出版社

Q503
0523.02



76
普通高等教育“十一五”国家级规划教材

第二版

生物分离原理 及技术

欧阳平凯 胡永红 姚忠

Q503
0523.02



化学工业出版社

·北京·

图书在版编目 (CIP) 数据

生物分离原理及技术/欧阳平凯, 胡永红, 姚忠.
—2 版. —北京: 化学工业出版社, 2010. 3
普通高等教育“十一五”国家级规划教材
ISBN 978-7-122-07653-3

I. 生… II. ①欧… ②胡… ③姚… III. 生物工程-分离-高等学校-教材 IV. Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 013239 号

责任编辑: 赵玉清
责任校对: 蒋宇

文字编辑: 周侗
装帧设计: 尹琳琳

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 17½ 字数 462 千字 2010 年 4 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: 32.00 元

版权所有 违者必究

第二版前言

工业生物技术是 20 世纪末以及 21 世纪发展国民经济的关键技术之一，工业生物技术的发展为解决人类所面临的能源、资源、环境及健康问题提供了可能的途径。随着现代生物技术的突飞猛进，目前人们已经可以利用动、植物或人工生物细胞生产大量的有用化学品，其中有些因为不能进行有效的工业分离而被白白浪费。

生物分离工程的重要性不仅因为生物分离过程是工业生物技术中最后获得产品的必要环节，而且还因为生物分离过程的成本、效益在整个生物工厂的技术经济分析中占有很大的比重。“难度大、成本高”，这是包括美国麻省理工学院（MIT）著名教授 Daniel I. C. Wang 在内的，活跃在生物工程领域里的专家对生物分离技术现状的评价。由于生物体系具有多组分、非均相、非牛顿型流体等特征，以及生物产品自身的易变性和复杂性，对生物产品的分离除了要达到化学物质分离的纯度和经济性指标外，还要满足构象、异质性和稳定性等要求，这对于产品纯度及杂质含量方面提出了很高的要求。对于现代生物技术产品，分离成本往往占产品总成本的 70% 以上。因此，生物分离原理及技术的基础、应用研究，以及新型单元技术的开发一直是生物、化工、医药、食品和环境等领域的热点，并取得了大量重要的成果。

再版教材保留了第一版教材的基本构架和主要内容，兼顾了应用技术的广泛性、新颖性、前沿性和实用性，除了对各种分离过程基本原理和方法进行全面介绍外，还注重基本概念的阐述、数学工具的应用及放大过程分析，这有助于引导读者进一步系统、深入地学习和思考生物分离技术所涉及的科学问题。为了便于读者阅读，本书仍然将生物分离的一般过程分为 4 个步骤，即不溶物的去除、产物粗分离、产物纯化及产品精制，将已有的和新近发展起来的新型分离技术进行了分类，以单元操作的方式逐一介绍，并列举了大量实例。

本书可作为高等院校相关专业本科生和研究生的专业课教材，也可作为教师和相关产业工程技术人员的参考书。

书稿编写过程中得到了长期从事生物分离工程领域科研和实践工作的前辈专家的指导，在此向他们致以崇高的敬意。本研究室研究生肖彦羚、刘步云、余维娜和宋希文等参与了书稿的编写、整理和校对，对他们的辛苦工作一并表示感谢！

由于作者专业知识水平有限，书中难免存在不足和疏漏之处，恳请广大读者批评指正。

编者

2009 年 11 月于南京工业大学

前 言

目前，人们已经从天然生物物质或人工生物细胞中发现了大量的化学物质，其中有些因为不能进行有效的工业分离而被白白浪费掉。由此可以预见，今后十年内，化工技术在生物科学领域中的重点应用将是生物物质的分离和提纯。生物分离工程的重要性不仅因为生物分离过程是工业生物技术中最后获得产品的必要环节，而且还因为生物分离过程的成本、效益在整个生物工厂的技术经济分析中占有很大的比重。此外，生物分离过程本身可以产生独立的成品，譬如用天然生物物质分离制取淀粉、糖、蛋白质、香精及其他各种化学品。生物分离技术已经具有了上百年的发展历史，形成了一些传统的轻化工产业体系。

鉴于生物分离技术应用的广泛性，本书以单元操作的方式介绍现代生物分离技术的基本理论与实践，并列举了大量实例，希望从事生化工艺技术的读者在阅读本书后能有所收益。

中国科学院院士时钧教授对本书的编写给予了热情的关心和鼓励，肖人卓教授审阅了全稿，同时许诚洁同志对本书的出版给予了大力支持。在此，谨表示诚挚的谢意。

欧阳平凯 胡永红

1997年2月

目 录

1 绪论	1
1.1 生物分离工程的历史及其应用	1
1.2 生物分离过程的特点	1
1.3 生物分离技术的发展趋势	3
2 过滤	4
2.1 过滤的基本概念	4
2.2 关于过滤的一般情况	10
2.2.1 不可压缩滤饼	10
2.2.2 可压缩滤饼	11
2.3 连续旋转式真空抽滤机的操作原理	12
2.3.1 滤饼的形成	13
2.3.2 滤饼的洗涤	13
2.4 过滤的设备及其结构	14
2.4.1 过滤设备的分类	14
2.4.2 过滤设备的选择	15
2.4.3 过滤介质	16
2.4.4 典型过滤设备的种类和结构	18
习题	21
3 离心与沉降	22
3.1 颗粒的沉降	22
3.2 重力沉降式固液分离设备	24
3.2.1 矩形水平流动池	24
3.2.2 圆形水平流动池	24
3.2.3 垂直接流式沉降池	25
3.2.4 斜板式沉降池	25
3.3 离心式沉降分离设备及其原理	26
3.3.1 管式离心机	27
3.3.2 碟片式离心机	28
3.4 离心分离过程的放大	31
3.5 离心过滤分离过程分析及其设备	33
3.5.1 离心过滤分离过程分析	33
3.5.2 离心过滤设备	34
习题	36
4 细胞破碎	37
4.1 细胞壁	37
4.2 化学破碎法	38
4.2.1 渗透冲击法	39
4.2.2 增溶法	39
4.2.3 脂溶法	40
4.3 机械破碎	40
4.4 其他破碎方法	43
习题	44
5 萃取	45
5.1 萃取分离原理	45
5.2 单级萃取	49
5.3 多级逆流萃取过程	51
5.4 微分萃取操作	53
5.4.1 微分萃取设备简介	53
5.4.2 微分萃取过程的解析计算法	54
5.5 液-液萃取设备与流程	55
5.6 固体浸取	57
5.6.1 固体浸取的原理与计算	58
5.6.2 浸取设备	59
5.7 超临界流体萃取	62
5.7.1 超临界流体的性质	62
5.7.2 超临界流体萃取过程	64
5.7.3 超临界流体萃取的应用	66
5.8 双水相萃取	69
5.8.1 双水相萃取法概述	69
5.8.2 影响双水相萃取的因素	72
5.8.3 双水相萃取的应用	75
5.9 反胶团萃取	77
习题	79

6 吸附与离子交换	80		
6.1 吸附类型	80	6.5.2 亲和吸附的特点	88
6.1.1 物理吸附	80	6.5.3 亲和吸附载体	89
6.1.2 化学吸附	81	6.5.4 影响吸附剂亲和力的因素	94
6.1.3 交换吸附	81	6.6 间歇吸附	95
6.2 常用吸附剂	81	6.7 连续搅拌吸附	96
6.2.1 活性炭	81	6.8 固定床吸附过程分析	97
6.2.2 活性炭纤维	82	6.9 离子交换	101
6.2.3 球形炭化树脂	82	6.9.1 离子交换的基本概念	101
6.2.4 大孔网状聚合物吸附剂	82	6.9.2 离子交换树脂的分类	102
6.3 吸附等温线	85	6.9.3 离子交换树脂的命名	112
6.4 影响吸附的因素	86	6.9.4 离子交换树脂的制备	112
6.4.1 吸附剂的性质	86	6.9.5 离子交换树脂的理化性能	116
6.4.2 吸附质的性质	86	6.9.6 离子交换过程理论	119
6.4.3 温度	87	6.9.7 离子交换的选择性	125
6.4.4 溶液 pH 值	87	6.9.8 偶极离子吸附	130
6.4.5 盐的浓度	87	6.9.9 离子交换操作方法	131
6.4.6 吸附物浓度与吸附剂用量	87	6.9.10 软水与无盐水的制备	134
6.5 亲和吸附	88	6.9.11 离子交换提取蛋白质	136
6.5.1 亲和吸附原理	88	习题	139
7 色谱分离法	140		
7.1 色谱分离法分类	140	7.6.3 凝胶的结构和性质	157
7.2 色谱分离基本概念	140	7.6.4 应用举例	162
7.2.1 分配系数	141	7.7 纸色谱法	163
7.2.2 阻滞因子 R_f	142	7.7.1 滤纸	163
7.2.3 洗脱容积 V_e	142	7.7.2 展开剂	164
7.2.4 色谱法的塔板理论	143	7.7.3 纸色谱操作方法	164
7.2.5 色谱分离回收率和纯度	143	7.8 薄层色谱法	166
7.3 吸附色谱法	146	7.8.1 薄层色谱法的特点	166
7.3.1 吸附色谱法的基本原理	146	7.8.2 薄层色谱法的操作	167
7.3.2 吸附剂	147	7.9 高压液相色谱	169
7.3.3 展开剂	150	7.9.1 高压液相色谱分离方法的原理	169
7.3.4 应用举例	153	7.9.2 制备性高压液相色谱	170
7.4 分配色谱法	153	7.10 蛋白质分离常用的色谱法	171
7.4.1 载体	153	7.10.1 免疫亲和色谱法	171
7.4.2 分配色谱的展开剂选择	153	7.10.2 疏水作用色谱法	172
7.4.3 应用举例	154	7.10.3 金属螯合色谱法	173
7.5 离子交换色谱法	154	7.10.4 共价作用色谱法	174
7.5.1 离子交换色谱法对树脂的要求	154	7.11 柱色谱的工业放大	175
7.5.2 应用举例	155	7.11.1 利用放大准则确定色谱柱的 初始规格	175
7.6 凝胶色谱法	156	7.11.2 凝胶排阻色谱的放大	176
7.6.1 基本原理	156	习题	180
7.6.2 凝胶色谱的特点	156		
8 沉析	181		
8.1 盐析	181	8.1.1 盐析原理	181

8.1.2	盐析用盐的选择	183	8.4.3	离子型表面活性剂	192
8.1.3	影响盐析的因素	184	8.4.4	离子型多聚物沉析剂	192
8.1.4	盐析操作	185	8.4.5	氨基酸类沉析剂	192
8.2	有机溶剂沉析	186	8.4.6	分离核酸用沉析剂	192
8.2.1	有机溶剂沉析原理	186	8.4.7	分离黏多糖的沉析剂	192
8.2.2	沉析溶剂的选择	187	8.4.8	选择变性沉析法	192
8.2.3	影响有机溶剂沉析的因素	188	8.5	大规模沉析	193
8.3	等电点沉析法	189	8.5.1	初步混合	193
8.3.1	等电点沉析原理	189	8.5.2	起晶	194
8.3.2	等电点沉析操作	189	8.5.3	扩散控制晶体生长阶段	194
8.4	其他沉析法	190	8.5.4	对流沉析	195
8.4.1	水溶性非离子型多聚物沉析剂	190	8.5.5	絮凝阶段	195
8.4.2	生成盐类复合物的沉析剂	190	习题		197
9	膜分离	198	9.6.1	超滤膜	206
9.1	概述	198	9.6.2	超滤装置	210
9.2	基本的膜分离过程	199	9.6.3	超滤过程分析	214
9.3	膜通量	199	9.6.4	超滤的应用	216
9.4	渗透压的计算	200	习题		217
9.5	影响膜通量的主要因素	203	10	结晶	218
9.6	超滤	205	10.1	结晶过程的分析	218
10.1	概述	198	10.2	过饱和溶液的形成	219
10.2	基本的膜分离过程	199	10.2.1	热饱和溶液冷却	219
10.3	膜通量	199	10.2.2	部分溶剂蒸发	220
10.4	渗透压的计算	200	10.2.3	真空蒸发冷却法	220
10.5	影响膜通量的主要因素	203	10.2.4	化学反应结晶方法	220
10.6	超滤	205	10.2.5	盐析法	220
10.1	结晶过程的分析	218	10.3	晶核的形成	220
10.2	过饱和溶液的形成	219	10.3.1	临界半径及形核功	221
10.2.1	热饱和溶液冷却	219	10.3.2	临界半径与过冷度	222
10.2.2	部分溶剂蒸发	220	10.3.3	成核速率	222
10.2.3	真空蒸发冷却法	220	10.3.4	工业起晶法	223
10.2.4	化学反应结晶方法	220	10.3.5	晶种控制	224
10.2.5	盐析法	220	10.4	晶体的生长	224
10.3	晶核的形成	220	10.4.1	晶体生长的扩散学说及速度	225
10.3.1	临界半径及形核功	221	10.4.2	影响晶体生长速率的因素	226
10.3.2	临界半径与过冷度	222	10.5	晶体纯度的计算	226
10.3.3	成核速率	222	10.6	晶体大小分布	227
10.3.4	工业起晶法	223	10.6.1	晶体群体密度	227
10.3.5	晶种控制	224	10.6.2	连续结晶过程的晶群密度分布	228
10.4	晶体的生长	224	10.6.3	晶体大小	229
10.4.1	晶体生长的扩散学说及速度	225	10.7	间歇结晶过程分析	232
10.4.2	影响晶体生长速率的因素	226	10.8	提高晶体质量的方法	234
10.5	晶体纯度的计算	226	10.8.1	晶体大小	234
10.6	晶体大小分布	227	10.8.2	晶体形状	235
10.6.1	晶体群体密度	227	10.8.3	晶体纯度	236
10.6.2	连续结晶过程的晶群密度分布	228	10.8.4	晶体结块	236
10.6.3	晶体大小	229	10.8.5	重结晶	237
10.7	间歇结晶过程分析	232	习题		238
10.8	提高晶体质量的方法	234	11	干燥	239
10.8.1	晶体大小	234	11.1	干燥的基本概念	239
10.8.2	晶体形状	235	11.1.1	干燥操作的流程	239
10.8.3	晶体纯度	236	11.1.2	物料内所含水分的种类	239
10.8.4	晶体结块	236	11.2	干燥过程分析	241
10.8.5	重结晶	237	11.2.1	干燥曲线	241
习题		238	11.2.2	干燥速率曲线	242
11	干燥	239	11.2.3	恒速干燥阶段	242
11.1	干燥的基本概念	239	11.2.4	降速干燥阶段	242
11.1.1	干燥操作的流程	239	11.3	干燥过程基本计算	242
11.1.2	物料内所含水分的种类	239	11.3.1	水分蒸发量	243
11.2	干燥过程分析	241	11.3.2	干燥空气用量的计算	244
11.2.1	干燥曲线	241	11.4	干燥的副作用	246
11.2.2	干燥速率曲线	242	11.5	干燥设备的分类与选择原则	247
11.2.3	恒速干燥阶段	242	11.5.1	干燥设备分类的目的	247

11.5.2	干燥装置的不同分类法	247	11.6.5	红外线干燥	255
11.5.3	干燥设备选择的原则	247	11.6.6	微波干燥	255
11.6	干燥设备	250	11.6.7	喷动床干燥设备	256
11.6.1	箱式干燥设备	250	11.6.8	冷冻干燥器	257
11.6.2	气流干燥设备	251	11.6.9	适用于膏糊状物料干燥的 设备	259
11.6.3	喷雾干燥设备	253			
11.6.4	流化床干燥设备	254			
12	辅助操作	262			
12.1	水质及热原的去除	262	12.2	溶剂回收	265
12.1.1	水质与供水	262	12.3	废物处理	266
12.1.2	热原及其去除方法	264	12.4	生物安全性	266
参考文献	268			

1 绪论

1.1 生物分离工程的历史及其应用

生物分离工程是从微生物、动植物细胞及其生物化学产物中提取有用物质的技术。就利用与培养动植物细胞及微生物的一般意义而言，产业部门利用生物分离技术已有几百年的历史。例如，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生素，反应粗产物的纯度较低，而最终产品要求的纯度却极高。近年来发展的新型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，某些粗产物的含量极低，而对分离所得最终产品的要求却更高了。因而，生物分离工程技术与装备的发展日趋复杂与完善。图1-1是利用酶工程方法生产L-苹果酸的分离提取流程。

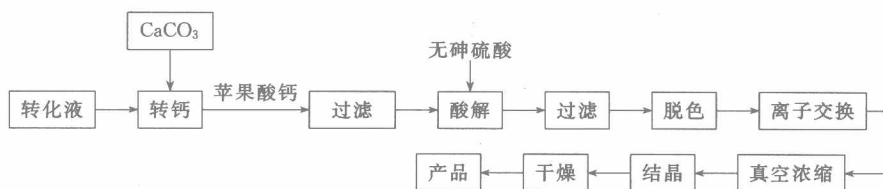


图 1-1 L-苹果酸的分离提取工艺流程

生物分离工程技术广泛应用于食品、发酵、轻工、医药等领域的产品分离及提纯。另外，环境工程中污水的净化与有效成分的回收，也常采用生物分离技术。一般而言，工业生物技术可分为三个过程，即前处理、生物反应过程、生物分离过程。

综上所述，生物分离过程是生物工程中必不可少的也是极为重要的过程环节之一。

1.2 生物分离过程的特点

生物技术的特点之一就是产品的品种很多，如果说典型的石化产品大约有100种左右，则典型的制药工业产品至少有200种，其中很多需要用生物化学方法来转化。

表1-1列出了某些成熟的发酵工业制造的化学产品品种数，该表尚未包括近10年来许多新开发出来的诸如基因工程胰岛素、人工动物用疫苗、激素以及干扰素等新产品。分离手段多种多样，与化学工业常用的方法相比较（见表1-2），可以看出化工传统分离方法在生物分离工程中80%以上是有效的。生物分离技术的工业化只有经过小规模试验、中间试验以及技术经济的可行性分析，才能放大到工业规模进行生产。

表 1-1 发酵工业制造的化学产品品种数

类 型	品种数
抗生素	85
氨基酸	18
酶	15
有机酸与溶剂	11
维生素、生长激素等	6
葡聚糖、类固醇等	8
合计	143

表 1-2 生物分离方法与化学工业分离方法的比较

分离方法	用于化学工业	用于生物分离
物理分离	7	7
平衡控制分离	22	18
速度控制分离	13	10
合计	42	35

特点之二是生物物质分离的难度比一般化工产品大。首先，在粗产物中，被提取物浓度通常很低；其次，需处理的物料往往是成分复杂的黏稠的多相体系，因此，无论在热力学特性、流变学特性，还是在流动、传热、传质等方面，生物体系与一般化工体系相比都要复杂得多。而对生物制品，往往要求纯度高、无色、结晶以及能长期保存等。

由于上述种种原因，使得生物分离过程往往成本很高，回收与提纯的操作很复杂，需要更多的设备，所以分离过程常占有很大的投资比重。必须仔细分析设计生物分离过程，提高产品的质量，提高收率，降低成本。需要认真考虑的问题有：①产品的价格，产品质量标准；②产品与主要杂质有何特殊的物化性质或有何显著的性质差别；

③工艺流程中，产品与杂质流经的途径是否合理；④不同分离方案的技术经济指标的比较。

虽然生物制品品种繁多，分离过程复杂，但也存在着一定的相似性。将发酵、食品、轻工、医药、环保等各类工艺过程的单元操作进行归纳分类，可将绝大多数生物分离技术分为以下四个阶段。

① 不溶物的去除 (removal of insolubles) 目的是去除生物 (反应) 体系中的不溶物，以利于后续的分和精制。过滤和离心操作是该阶段常用的单元技术。同时，该阶段还可起到一定的产品浓缩及质量改进的作用。

② 产物粗分离 (separation) 目的是去除体系中的大部分杂质，同时提高目标产物的浓度。由于生物体系中可溶性组分复杂，难以通过简单的一步操作获得高的分离效率和选择性，通过该步骤可在分离初期尽可能去除主要的杂质和干扰物，如在分离蛋白质 (酶) 等生物大分子时，要尽可能快地去除蛋白 (酶) 等杂质，防止目标产物降解。鉴于上述目的，对该阶段中所用单元技术 (如吸附、离子交换、萃取等) 的处理能力和分离速度有较高要求。

③ 纯化 (purification) 该阶段要求在保证产物回收率的前提下，尽可能地提高产品纯度。该步骤中所采用的单元技术需去除与目标产物化学性质相近的杂质，处理技术要求有高度的选择性，通常利用色谱法。

④ 精制 (polishing) 该阶段的主要目的是在进一步提高产物纯度的同时，形成最终的产品形态。该步骤经常采用的单元技术为色谱分离和结晶技术。

以上四个阶段的合理组织需视产品的浓度与纯度在分离过程中的变化而定。抗生素分离过程中浓度与纯度变化如表 1-3 所示。

表 1-3 抗生素分离过程中浓度与纯度的变化

步 骤	典型过程	产品浓度/(g/L)	纯度/%
最终发酵液	发酵	0.1~5	0.1~1
固形物分离	过滤	1.0~5	0.2~2
分离	萃取	5~50	1~10
纯化	色谱	50~200	50~80
产品精制	结晶	50~200	90~100

注：表中纯度泛指化学纯度或相对活性。

产品浓度的增加主要在杂质分离阶段，而纯度的增加则在纯化阶段。某些新的处理技术可将第一、第二步骤合并在一起，如扩张床吸附分离技术（expand bed adsorption）。

目前出现的各种生物分离技术和生物分离过程，除了传统的沉淀、吸附与离子交换、萃取和结晶之外，还有超滤、反渗透、电渗析、凝胶电泳、离子交换色谱、亲和色谱、疏水色谱、等电聚焦、区带离心分离、凝胶萃取、超临界流体萃取、反胶团萃取、双水相分配技术等。

1.3 生物分离技术的发展趋势

生物分离的主要目的是要缩短整个下游过程的流程和提高单项操作的效率及选择性。现在对整个生物分离过程的研究有了一个质的转变，国内外许多专家和研究者认同了这种转变，并认为可以从两个方向着手，一是继续研究和完善一些适用于生化工程的新型分离技术；二是进行各种分离技术的高效集成化。目前出现的一些新型单元分离技术，如双水相分配技术、反胶团法、液膜法、各类高效色谱法等就是方向一的研究结果。生物分离过程的高效集成化的含义在于利用已有的和新近开发的生化分离技术，将下游过程中的有关单元进行有效组合（集成），或者把两种以上的分离技术合成为一种更有效的分离技术，达到提高产品收率、降低过程能耗和增加生产效益的目标。目前已形成了许多基于技术、过程和系统集成的生物分离新技术和新工艺。该领域今后的发展方向将集中在以下几个方面。

(1) 提高分离过程的选择性 主要应用分子识别与亲和作用来提高大规模分离技术的分离精度，利用生物亲和作用的高度特异性与其他分离技术如膜分离、双水相萃取、反胶团萃取、沉淀分级、色谱和电泳等相结合，相继出现了亲和过滤、亲和双水相萃取、亲和反胶团萃取、亲和沉淀、亲和色谱和亲和电泳等亲和纯化技术。

(2) 强化传质过程 例如将电泳与色谱耦合产生的电动色谱技术，又如将亲和色谱、离子交换色谱与液-固流态化技术耦合的膨胀床色谱技术等。通过强化生物分离过程中的传质，可以缩短分离时间，增加处理量。

(3) 生物分离过程的优化 生物分离过程的优化能产生显著的经济效益，但大多数生物分离过程目前尚处于经验状态，对其机理缺乏必要的认识，使得准确描述和控制生物分离过程变得很困难。生物分离科学是一个交叉学科，需要综合运用化学、工程、生物、数学、计算机等多学科知识和工具，学科间的联合将有助于在该领域取得突破。

本书第1~3章讨论不溶物去除的方法与手段。当需要分离胞内产物时，细胞破碎是必需的，有关细胞破碎的技术与方法将在第4章讨论。第5、6章重点讨论应用于产物粗分离的典型单元技术，即萃取、吸附与离子交换。产物纯化的手段有很多，本书只讨论已获得大规模应用的色谱分离法（第7章）、沉析（第8章）和膜分离（第9章）等技术。精制阶段主要讨论结晶法，第11章讨论干燥。最后一章论述了单元操作过程中所需要的一些辅助操作。

2 过 滤

在生物反应领域，几乎所有的发酵液均或多或少地存在悬浮固体，如生物细胞、固态培养基或代谢产物中的不溶性物质；在原料处理过程也常采用过滤操作，如谷氨酸发酵用糖液的脱色过滤处理和啤酒生产麦芽汁的过滤澄清；不少目的产物存在于细胞内，如胞内酶、微生物多糖等；有时产物就是菌体本身，如酵母、单细胞蛋白等。但不论何种情况，往往都要进行固液分离操作。

发酵液的固液分离常用方法为过滤和离心分离，据此可得到清液和固态浓缩物（滤渣）两部分。若目的产物存在于细胞内，则必须经细胞破碎操作才能进一步进行产物的提取分离，细胞破碎是生物分离的辅助工序。

过滤是传统的化工单元操作，其原理是使料液通过固态过滤介质时，固态悬浮物与溶液分离。对谷氨酸钠、枸橼酸晶体等轮廓分明的晶体，过滤无疑是简单的操作。但对微小的形状多变的微生物细胞，发酵液的过滤就变得复杂了。实践表明，若只用传统过滤设备和技术，对谷氨酸等许多发酵液，过滤速率将十分缓慢，甚至无法进行。

本章首先将扼要解释传统过滤的工作原理，然后阐明在生物分离上如何改进这些传统过程，其中的关键是设法改进滤饼的特性和采用非常规的过滤设备技术。下面分别介绍传统过滤的过滤理论及相应设备。

2.1 过滤的基本概念

传统的过滤操作是在某一支撑物上放过滤介质，注入含固体颗粒的溶液，使液体通过，

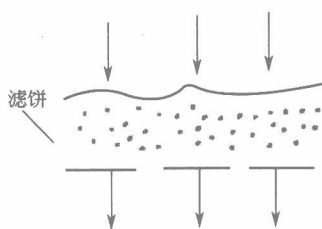


图 2-1 传统的过滤

固体颗粒（如结晶体）留下。但将发酵醪采用传统的方式过滤，如图 2-1 所示，其速率极其缓慢，生产难以进行。因此，既要参考传统的过滤原理，又要考虑生物物质过滤的特点，如生物物质过滤前一般都需要进行预处理，过滤时还需注意滤饼形成的过程，以及滤饼的性质等。

一般而言，由于发酵液和生物溶液是高黏度的非牛顿型流体，所以过滤是相当困难的，高黏性的可压缩滤饼有时呈难渗透的胶状，使过滤难以进行，菌丝体尤为如此，因此，用于过滤的发酵醪一般应进行预处理。常用的方法是加热、絮凝、加助滤剂等，这些方法也适用于离心和沉降过程。

(1) 加热 最简单最经济的预处理方法是加热。加热能使液体黏度降低，加快过滤速率。例如链霉素预处理时，调 pH 至 3.0 左右，加热至 70℃，维持半小时以凝固蛋白质，这样可使过滤速率增大 10~100 倍，滤液黏度降低至 $(1.1 \sim 1.2) \times 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$ ，为原先的 1/6。加热变性的方法只适合于对热较稳定的生化物质，因此加热的温度和时间须严加选择。

(2) 凝聚和絮凝 凝聚与絮凝在预处理中常用于细胞、菌体（胞外产物）、细胞碎片

(胞内产物)，以及蛋白质等胶体粒子的去除。

① 凝聚作用是指在某些电解质作用下，使扩散双电层的排斥电位（即 ζ 电位）降低，破坏胶体系统的分散状态，而使胶体粒子聚集的过程。胶体粒子在溶液中都存在着扩散双电层的结构模型。发酵液中的细胞、菌体或蛋白质等胶体粒子的表面都带有电荷，带电的原因很多，主要是吸附溶液中的离子或自身基团的电离。通常发酵液中细胞或菌体带负电荷，由于静电引力的作用将溶液中带相反电性的粒子（即正离子）吸附在周围，在界面上形成了双电层。但是，这些正离子还具有因热运动而离开胶粒表面的趋势。在这两种相反作用的影响下，双电层可看成由两部分组成，在相距胶核表面约一个离子半径斯特恩平面以内，正离子被紧密束缚在胶核表面，称为吸附层。在斯特恩平面以外，剩余的正离子在溶液中扩散开去，距离越远，浓度越小，最后达到主体溶液的平均浓度，称为扩散层。这样就形成了扩散双电层的结构模型，如图 2-2 所示。当胶粒在溶液中做相对运动时，总有一薄层液体随着一起滑移，这一薄层的厚度比吸附层稍大，滑移面在图 2-2 中用波纹线表示。此结构在不同界面上有不同的电位，胶核表面的电位 Φ_s 是整个双电层的电位，斯特恩平面上的电位为 Φ_d ，滑移面上的电位为 ζ ，称 ζ 电位（Zeta 电位或电动电位）。这三种电位中，只有 ζ 电位能实际测得，可以认为它是控制胶粒间电排斥作用的电位，用来表征双电层的特征，并作为研究凝聚机理的重要参数。

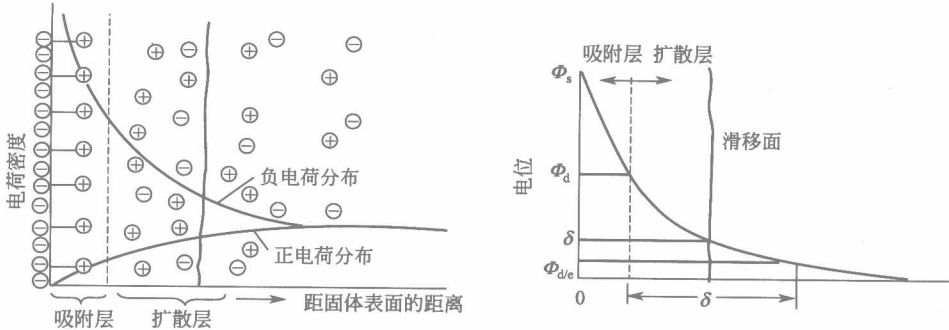


图 2-2 扩散双电层的构造

胶粒能保持分散状态的原因是带有相同电荷和扩散双电层的结构。一旦布朗（Brown）热运动使粒子间距离缩小到它们的扩散层部分重叠时，即产生电排斥作用，使两个粒子分开，从而阻止了粒子的聚集。 ζ 电位越大，电排斥作用就越强，胶粒的分散程度也越大。胶粒能稳定存在的另一个原因是其表面的水化作用，形成了粒子周围的水化层，阻碍胶粒间的直接聚集。

如果在发酵液中加入具有相反电性的电解质，就能中和胶粒的电性，使 ζ 电位降低。因此，对带负电性菌体的发酵液，阳离子的存在会促使 ζ 电位迅速降低。当双电层的排斥力不足以抗衡胶粒间的范德华引力时，热运动的结果就导致胶粒的互相碰撞。此外，电解质离子在水中的水化作用会破坏胶粒周围的水化层，使其能直接碰撞而聚集起来。

影响凝聚作用的主要因素是无机盐的种类、化合价以及无机盐的用量。根据静电学基本定理，可推导 ζ 电位的基本公式为

$$\zeta = \frac{4\pi q\delta}{\epsilon} \quad (2-1)$$

式中， q 表示胶体的电动电荷密度，即滑移面上的电荷密度， C/m^2 ； ϵ 表示水的介电常数， F/m ； δ 表示扩散层的有效厚度，即吸附层和扩散层界面处电位 Φ_d 降低到其值为 $1/e$ 处

的距离，不能直接测定， m 。

$$\delta = \sqrt{\frac{1000\epsilon k T}{4\pi N e}} \cdot \sqrt{\frac{1}{\sum c_i Z_i^2}} \quad (2-2)$$

式中， N 为阿伏加德罗常数， mol^{-1} ； e 为电子电荷， C ； k 为玻耳兹曼常数， J/K ； T 为热力学温度， K ； c_i 为 i 离子浓度， mol/L ； Z_i 为 i 离子化合价。

由式(2-1)和式(2-2)可知， ζ 电位与溶液中带相反电荷的离子强度有关，因此，提高离子的化合价和浓度可以压缩扩散双电层，使厚度减小，从而使 ζ 电位降低。

电解质的凝聚能力可用凝聚价或凝聚值表示，其定义为使胶粒发生凝聚作用的最小电解质浓度 (mol/L)，根据 Schuze-Hardy 法则，反离子化合价越高，该值就越小，即凝聚能力越强。阳离子对带负电荷的胶粒凝聚能力的次序为： $\text{Al}^{3+} > \text{Fe}^{3+} > \text{H}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+$ 。常用的凝聚剂有： $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (明矾)、 $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 FeCl_3 、 ZnSO_4 、 MgCO_3 等。

② 絮凝作用是指在某些高分子絮凝剂存在下，在悬浮粒子之间产生架桥作用而使胶粒形成粗大的絮凝团的过程。

作为絮凝剂的高分子聚合物必须具有长链线状的结构，易溶于水，其相对分子质量可高达数万至千万以上，在长链节上含有相当多的活性官能团，根据所带电性不同，可以分为阴离子型、阳离子型和非离子型三类，离子型絮凝剂带多价电荷，电荷密度会直接影响絮凝效果。絮凝剂的官能团能强烈地吸附在胶粒的表面上，而且一个高分子聚合物的许多链节分别吸附在不同颗粒的表面上，因而产生架桥连接。高分子聚合物絮凝剂在胶粒表面上的吸附机理是基于各种物理化学作用，如范德华力、静电引力、氢键和配位键等，究竟以哪一种机理为主，则取决于絮凝剂和胶粒两者的化学结构。如果胶粒相互间的排斥电位不太高，只要高分子聚合物的链节足够长，跨越的距离超过颗粒间的有效排斥距离，就能把多个胶粒连接在一起，形成粗大的絮凝团。高分子絮凝剂的吸附架桥作用如图 2-3 所示。

絮凝剂包括各种天然的聚合物和人工合成的聚合物。天然的有机高分子絮凝剂包括多糖类物质 (如壳聚糖及其衍生物)、海藻酸钠、明胶和骨胶等，它们都是从天然动植物中提取而得的，无毒，使用安全，适用于食品或医药。人工合成的有机高分子絮凝剂包括聚丙烯酰胺类衍生物、聚苯乙烯类衍生物和聚丙烯酸类等，在生物物质中还常采用聚乙烯亚胺，该类

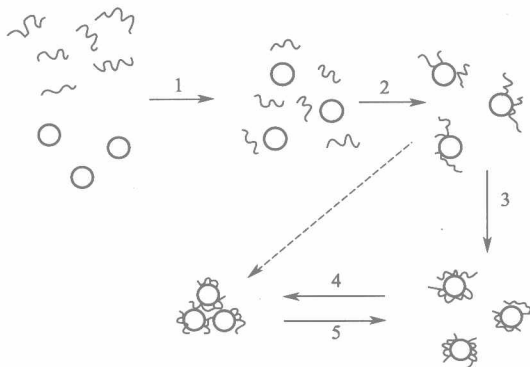


图 2-3 高分子絮凝剂的混合、吸附和絮凝作用示意

- 1—聚合物分子在液相中分散，均匀分布在粒子之间；
- 2—聚合物分子链在粒子表面的吸附；3—被吸附链的重排，高分子链包围在胶粒表面，产生保护作用，是架桥作用的平衡构象；4—脱稳粒子互相碰撞，形成架桥絮凝作用；5—絮凝团的打碎

絮凝剂具有用量少、絮凝体粗大、分离效果好、絮凝速度快以及种类多、适用范围广等优点，但是某些絮凝剂可能具有一定的毒性，如聚丙烯酰胺类絮凝剂，在食品和医药工业的使用中应考虑最终能否从产品中除去。除此之外，某些无机高分子聚合物如聚合铝盐和聚合铁盐也可作为絮凝剂。

对于带负电性菌体或蛋白质，阳离子型絮凝剂同时具有降低粒子排斥电位和产生吸附架桥的双重机理，而非离子型和阴离子型絮凝剂主要通过分子间引力和氢键等作用吸附架桥。它们常与无机电解质絮凝剂搭配使用，加入无机电解质使悬浮粒子间的排斥能降低，脱稳而凝聚成微粒，然后加入絮凝剂。无机电解质的凝聚作用为高分子絮凝剂的架桥创造了良好的条件，两者相辅相成，从而

提高了絮凝效果。

影响絮凝效果的因素很多，主要是絮凝剂的分子量和种类、絮凝剂用量、溶液 pH、搅拌速率和时间等。有机高分子絮凝剂分子量越大，链越长，吸附架桥效果就越明显，但是随分子量增大，絮凝剂在水中溶解度减少，因此分子量的选择应适当。絮凝剂的用量是一个重要因素，当絮凝剂浓度较低时，增加用量有助于架桥充分，絮凝效果提高，但是用量过大反而会引引起吸附饱和，在胶粒表面上形成覆盖层而失去与其他胶粒架桥的作用，造成胶粒再次稳定的现象 [见图 2-3(3)]，絮凝效果反而降低。絮凝剂用量对酵母细胞的影响如图 2-4 所示，可见絮凝剂用量过多，残留在液体中的细胞含量反而增多。溶液 pH 的变化会影响离子型絮凝剂官能团的电离度，从而影响链的伸展形态，提高电离度可使分子链上同号电荷间的电排斥作用增大，链就从卷曲状态变为伸展状态，因而能发挥最佳的架桥能力。絮凝过程中，剪切应力对絮凝团的作用是必须注意的问题，在加入絮凝剂时，液体的湍动（如搅拌）是很重要的，它能使絮凝剂迅速分散，但是在絮凝团形成后，高剪切力会打碎絮凝团，因此，操作时搅拌转速和搅拌时间都应控制，在絮凝后的料液输送和固液分离中也应尽量选择剪切力小的操作方式和设备。

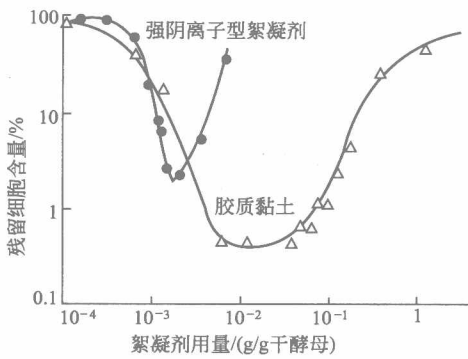


图 2-4 絮凝剂用量对酵母细胞的影响

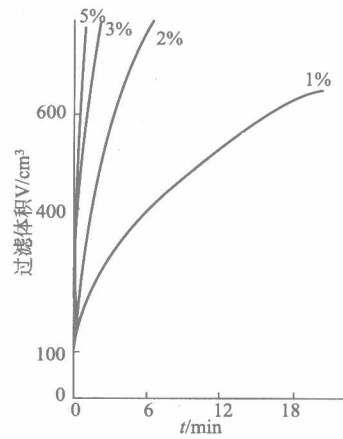


图 2-5 滤液中的助滤剂含量对过滤的影响

(3) 助滤剂上的吸附 第三种预处理方法就是在过滤之前加入固体的助滤剂。助滤剂对过滤的影响见图 2-5。

助滤剂是一种具有特殊性能的细粉或纤维，它能使某些难以过滤的物料变得容易过滤。硅藻土和珍珠岩是两种最常用的助滤剂，硅藻土是几百年前的水生植物沉淀下来的遗骸，珍珠岩是处理过的膨胀火山岩。表 2-1 列出了硅藻土的主要用途。表 2-2 列出了硅藻土的主要化学组成。

表 2-1 硅藻土的主要用途

型号	相对流速	相对澄清度	用途
Celatom FP-2	100	1000	啤酒、果胶、糖、醋、乙醇、枸橼酸、明胶、猪油、硬脂、聚合物
Celatom FP-4	200	995	啤酒、明胶、脂肪、果酸、漆、汽油产品、果胶、醋、乙醇、枸橼酸、磷酸、蔗糖、润滑油
Celatom FW-6	300	986	抗生素、啤酒、腐蚀剂、化学药品、苹果酒、搪瓷、明胶
Celatom FW-20	1000	960	果汁、海藻、猪油、汽油产品、酸、枸橼酸(盐)、硬脂、水、化学药品
Celatom FW-50	2500	940	苹果汁、天麻油、柴油、石油、褐藻胶、麦芽汁、抗生素、酪蛋白、漆、聚合物、糖浆、高粱、猪油、水、肽、谷蛋白、柠檬汁
Celatom FW-80	5500	927	抗生素、生物药剂、聚合物、树脂、水、麦芽汁