



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

生物物质分离工程

第二版

严希康 主编

俞俊棠 主审



化学工业出版社



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

生物物质分离工程

第二版

王树生 主编

王树生 王树强



高等教育出版社

21
普通高等教育“十一五”国家级规划教材

生物物质分离工程

第二版

严希康 主编

俞俊棠 主审

Q81
Y066.02



化学工业出版社

·北京·

生物物质分离工程是生化分离工程的第二版,“十一五”国家级重点教材。本书在保持第一版全面、系统地阐述了传统和现代生物分离技术和工程内容的基础上,根据近年来生物物质分离技术的发展状况,就单元技术水平的提高和几种技术的集成化方向作了适当的修改和补充,还特别新增了蛋白类生物物质的分离、纯化及其在操作过程中的稳定性方面的基本知识和基础理论。

全书共 22 章,主要包括培养液的固液分离,细胞破碎技术,产物的初步分离,产物的提纯和产品的精制,以及重组蛋白包含体的体外复性,蛋白质在提取、分离和纯化过程中的稳定性和保存等内容。教材注重以工程观点揭示生物物质分离过程的本质及其规律,促使分离过程与设备设计、放大与操作等方面获得最佳化;教材中也包括了不少深入探讨的理论性内容。

本书可供生物化工、生物技术、生命科学专业及化学工程类一级学科及其下属的其他学科包括医药化工、精细化工、石油化工、环境工程等专业本科生使用,也可作为研究生的教材和相关学科科技工作者和工程技术人员的参考书。

图书在版编目 (CIP) 数据

生物物质分离工程/严希康主编.—2 版.—北京:化学工业出版社,2010.2
普通高等教育“十一五”国家级规划教材
ISBN 978-7-122-07467-6

I. 生… II. 严… 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 (2009) 第 243834 号

责任编辑:赵玉清
责任校对:吴静

文字编辑:周 倜
装帧设计:关 飞

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:化学工业出版社印刷厂

787mm×1092mm 1/16 印张 22 $\frac{1}{2}$ 字数 672 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: 38.00 元

版权所有 违者必究

第二版前言

随着化石资源的枯竭，人类社会不得不进入“后化石经济时代”，寻求化石资源的替代，建立低消耗、高附加值的可持续的循环经济发展模式，已成为全球社会经济发展的重大战略方向。

正是在这种形势的逼迫下，进入 21 世纪以来，全球生物经济及其产业迅猛发展，成为继信息技术及其产业之后又一个新的主导产业，标志着生物经济时代的来临。

自然界中各类生物资源为生物产业提供了丰富的原料。进入 21 世纪，生物技术又步入了后基因组计划 (post-genome project) 时代，并提出了功能基因组学 (functional genomics) 的新概念，这些生命科学基础研究领域的突破扩大和丰富了原料来源，极大地推动了生物技术和产业化进程。

生物技术、生物产业的目标是要为人类解决各种衣、食、住、行问题，即为社会提供各类生物物质和产品，也只有人们在得到高纯度的生物产物时，生物技术、生物产业才能真正造福于社会。这必然会涉及生物物质的分离、纯化问题，它是生物产品工程的重要环节。可见生物物质分离工程是生物技术及其产业的重要组成部分。它是低成本、高收率、高效率纯化目标产物，以及有效地控制有害物质的含量，将生物物质转变为具有现实价值和竞争力产品的重要工程。研究开发分离技术的新理论、新技术、新材料和新设备始终是生物物质分离工程发展的主要方向和目标。

本书是《生化分离工程》的再版，为适应生物经济时代的发展需求和拓宽生物工程专业课程的教学内容，将其改名为《生物物质分离工程》。

《生化分离工程》自出版以来，先后共重印了九次，并于 2004 年 9 月被评为上海市优秀教材，得到了生物技术领域内知识界的关注和读者的爱护，同时也提出了不少中肯的意见，希望完善以提高教材的水平。这次在华东理工大学和化学工业出版社领导的关心和支持下又被推荐并被教育部批准为普通高等教育“十一五”国家级规划教材出版，为教材的修订提供了新的机遇。

进入 21 世纪以来，生物物质分离工程呈现出新的发展趋势，其目的虽然还是力求缩短整个加工流程和提高单元操作效率，但已由过去那种局部改进思路转变成从全局高度上来看待问题，即不仅研制和完善了一些快速、高效的新型分离方法，而且进行了各种分离技术的高度集成化，同时将分离过程向减少环境污染的清洁生产工艺转变，取得了一定的成绩，这些都为教材的修订提供了源头。

本书为第二版，生化分离工程中的教学内容基本上也适用于生物物质的分离、纯化，所以保留了其中的大部分内容，除文字修饰外也增补了不少新的内容，包括对生物物质的泛指和定义，以及一些新的分离、纯化方法和集成化技术及其研究热点和发展方向。除此之外，为丰富蛋白质分离、纯化内容将原教材中“3.4 基因工程表达产物后处理的特性”删除，新增了“重组蛋白包含体体外复性”一章（第 20 章）；为保持蛋白质分离过程中生物活性不受损失，特增设了“提取、分离和精制过程中蛋白质活性的稳定性和保存”一章（第 2 章）。

本书第 2 章由张淑香博士编写，第 20 章由沈亚领教授和张颀博士编写，其余各章（第 1 章、第 3~19 章、第 21 章、第 22 章）以及全书的统稿均由严希康教授编写和完成。在书稿整理、缮写和出版过程中，得到了化学工业出版社高等教育出版分社，华东理工大学各级领导，特别是教务处，以及教育部长江学者、特聘教授、国家生物反应器工程重点实验室主任许建和教授的支持和关心，对于本重点实验室周文瑜副教授、杨雅琴实验师以及研究生张志钧、许迎霞、田璐、张闾、杨宝君、白云等同学为本书稿的计算机文字处理等工作给予的帮助，在此一并表示衷心的感谢！

最后，特别感谢我的家人多年来在学术上、文献资料收集、计算机文字处理等方面对我的关心和支持，使我能够在多所院校从教之余有时间和精力来完成此书稿的编写工作。

华东理工大学

严希康

于国家生物

反应器工程重点实验室

序 言

生物技术是当前国际上高新技术之一，它在工业中的应用主要集中于医药、化工和食品工业。利用生物技术生产的上述产品，一般都须从细胞内或由含有细胞的酶反应液中将其分离出来，并通过精制达到一定纯度（或活力）。由于目的产物在细胞或反应液中的含量通常都不高，而杂质的种类和数量却往往很多、很高，加上不少杂质的性质与产物相近，产物往往又不够稳定，因此对细胞或反应液的后处理——产物的分离和精制的要求很高，技术复杂。有人估计，上述生物技术产品的生产成本中，用于后处理的成本一般要占总成本的70%左右，由此可见生化分离技术及工程在生物技术产品生产过程中的重要性。

严希康教授是我校从事生化分离技术和工程教学和科研的老教授之一，近40年来，他在该领域的教学和科研实践中积累了丰富的心得和体会，并收集了不少资料。这次他毅然花了两年的时间编写了这本约45万字的《生化分离工程》，确实精神可嘉，值得佩服和高兴。

本人有幸能先睹此书全稿，感到此书内容丰富、编排合理，以产品分离过程的前后为序，逐章论著，并兼顾了常规生物技术产品和现代生物技术产品在分离、提取上的需要；在编写中注意了理论联系实际，一般都先阐明各种操作或过程的科学原理和工程基础，然后再介绍有关的操作方式、应用范围、选用原则以及相关的工程计算方法；在选材中注意了国内外内容相结合，基本内容和近期发展相结合以及学生当前的基本需要和今后的发展需要相结合，因此内容中既反映了国际较新的发展，也包括了若干国内生产中成功的经验。正因为上述特点，本人认为本书既可作为大学生物工程专业本科生的教材或生物化工专业研究生的参考书，也可供从事此方面工作的科技人员和生产人员参阅。

俞俊棠

2000.10 于华东理工大学

前 言

生化分离工程是生物化学工程的重要分支，又与生化反应工程相关联。

由于初给的生化反应物质，绝大部分属混合物，故生化分离工程就是从发酵液、酶反应液或动植物细胞培养液中将生化产物分离、提取并精制的一门工程学科，是生物技术转化为生产力时必不可少的重要环节。正因为其重要性，人们将生物技术比喻为一条河流，而把生化分离工程称为下游加工过程 (Downstream Processing for Biotechnology)。

生化分离工程源于化学工程中的分离工程，但是由于生物技术产品的特殊性，化工单元操作远不能满足生物技术产品分离与提纯的需要。特别是 1970 年以来，DNA 重组、基因克隆化等革命性技术的出现，不仅改变了生物学的面貌，而且也为人类提供了许多基因工程、细胞工程类的蛋白质大分子生化产物，由于它们的回收存在着较大的难度，既要考虑使用高选择性的分离、纯化手段，又要考虑不影响产品的生物活性，并形成生物技术产业，所以从 20 世纪 80 年代开始，人们将物理和化学分离、纯化原理与生物技术产品物性相结合，进行了大量的研究，开发了许多新技术、新材料和新设备，为生化分离工程的教学提供了大量的新鲜知识和内容。

生化分离工程是我国高等院校生物工程专业的一门必修课。现代社会处于信息时代，课程教学的手段多种多样，但教材仍不失为传授知识的一种良好载体，关键是要写好一本教材。

本人荣幸地接受了国家“九五”重点教材——生化分离工程的编写任务。虽然执教已经 40 年，辗转放射化工、抗生素制造、生物化工直至生物工程专业，从事过核燃料——无机的铀、钍和生物物质——有机的小分子和大分子化合物如抗生素和蛋白质的分离、纯化方面的科教工作，先后主讲了本科生的抗生素提取工艺学、生物提取工艺学和生物化工专业硕士研究生的生化分离工程学位课程，曾主编过《生物物质分离概论》、《生化分离技术》，并参编了《抗生素生产工艺学》、《生物工艺学》和《生化工程概论》等教材或丛书，作者也很想结合自己多年来在科学研究和教学工作中的成果和经验，把这本书编写好，为新世纪生物工程专业人才的培养做些有益的事情，但是限于本人的水平，以及时间仓促，收集的资料欠多，科学技术发展的突飞猛进，因而很可能难以如愿，书中误讹之处也在所难免，恳切希望广大读者给予批评、指正。

本教材注重以工程观点揭示生化分离过程的本质及其变化规律，促使分离过程与设备设计、放大与操作等方面获得最佳化。全书共有 20 章，按照生化分离过程中的一般次序排列。除第 1 章绪论外，全书大致分成四个部分：第一部分为固-液分离，包括细胞破碎 (第 2 章至第 8 章)；第二部分为初步纯化 (第 9 章至第 16 章)，第三部分为高度纯化 (第 17 章至第 18 章)，第四部分为成品加工或称精制 (第 19 章至第 20 章)。由于各分离方法之间不能截然分割，因而在编写中存在互有交叉的情况。

我国知名生化工程专家、华东理工大学俞俊棠教授作为本教材的主审人，在百忙中审阅了本书的全稿。他提出了许多宝贵的建议并欣然为本书作序，给予作者极大的帮助和支持。在此，作者谨向俞俊棠教授表示崇高的敬意和衷心的感谢，作者还要特别感谢原国家教育委员会和化学工业部将本书作为“九五”国家级重点教材立项并积极支持出版。

在本书的缮稿、出版过程中还得到化学工业出版社、华东理工大学各级领导，特别是教务处的支持与鼓励，研究生王兆同、朱润华，本科生严明、陈燕平和项奕同学为本书稿的计算机文字处理工作给予的帮助，在此一并表示衷心的感谢。

华东理工大学

严希康

2000 年 12 月于国家生物
反应器工程重点实验室

目 录

1 绪论	1
1.1 生物(物)质	1
1.2 生物物质分离过程	1
1.3 生物技术下游加工过程的特点及其重要性	2
1.3.1 发酵液或培养液是产物浓度很低的水溶液	2
1.3.2 培养液是多组分的混合物	2
1.3.3 生物产品的稳定性差	3
1.3.4 对最终产品的质量要求很高	4
1.4 生物技术下游加工过程的一般步骤和单元操作	4
1.4.1 发酵液的预处理与固-液分离(或称不溶物的去除)	4
1.4.2 初步纯化(或称产物的提取)	6
1.4.3 高度纯化(或称产物的精制)	6
1.4.4 成品加工	6
1.5 生物技术产品及下游加工过程的沿革	6
1.5.1 生物技术产品的类型	6
1.5.2 下游加工过程的沿革	6
1.6 生物技术下游加工过程的选择准则	8
1.7 生物技术下游加工过程的发展动向	10
1.7.1 基础理论研究	10
1.7.2 提高分离过程的选择性	11
1.7.3 开发分离介质	11
1.7.4 提高分离纯化技术	11
1.7.5 使用无毒无害物质	12
1.7.6 生物分离技术的规模化、工程化研究	12
2 提取、分离和精制过程中蛋白质活性的稳定性和保存	13
2.1 前言	13
2.2 蛋白质的三维结构	13
2.2.1 蛋白质的组织层次	13
2.2.2 三级结构	18
2.2.3 四级结构	19
2.2.4 相关的蛋白质	20
2.2.5 侧链基团和二级结构	21
2.3 蛋白质的失活	21
2.3.1 折叠与伸展	22
2.3.2 活性的可逆丧失	22
2.3.3 蛋白质的稳定	23
2.3.4 热稳定蛋白质	23
2.4 共价过程中导致的失活	24
2.4.1 活性中心上必需基团的反应	24
2.4.2 基团的化学修饰对三维结构的维系	25
2.5 对策	26
3 发酵液的预处理和菌体的回收	27
3.1 悬浮液的基本特性	27
3.2 悬浮液的预处理	28
3.2.1 预处理的目的是	29
3.2.2 预处理方法	29
3.3 悬浮液分离方法和分类	31
3.3.1 悬浮液分离过程的基本概念	31
3.3.2 固-液分离过程的分类	32
3.4 过滤法	32
3.4.1 过滤的理论基础	32
3.4.2 过滤器设计	33
3.4.3 连续过滤器设计	35
3.4.4 常用新型过滤器	36
3.4.5 错流过滤	41
4 细胞的破碎与分离	43
4.1 概述	43
4.2 细胞壁结构和化学组成	44
4.2.1 细菌	44
4.2.2 真菌和酵母	45
4.2.3 藻类	46
4.3 细胞壁的破碎	46
4.3.1 破碎率的评价	46
4.3.2 细胞破碎的方法	47
4.4 基因工程表达产物后处理的特殊性	55

5 离心分离	57		
5.1 离心沉降	57	5.2.3 离心过滤的计算	65
5.1.1 离心沉降的原理	57	5.3 离心机的选用	66
5.1.2 离心沉降的设备	58	5.4 离心机在生物工业上的应用	67
5.1.3 离心沉降的计算	61	5.5 超离心法	68
5.2 离心过滤	63	5.5.1 超离心技术的原理	68
5.2.1 离心过滤的原理	63	5.5.2 超离心技术的分类	69
5.2.2 离心过滤设备	64		
6 膜分离过程	73		
6.1 概述	73	6.5 浓差极化	83
6.2 膜分离过程的类型	74	6.6 膜的污染	84
6.2.1 以静压力差为推动力的膜分离 过程	75	6.7 膜过滤理论	85
6.2.2 以蒸气分压差为推动力的膜分离 过程	75	6.7.1 微孔模型	85
6.2.3 以浓度差为推动力的膜分离过程 ..	75	6.7.2 质量传递模型	86
6.2.4 以电位差为推动力的膜分离过程 ..	76	6.7.3 阻力模型	87
6.3 膜及其组件	76	6.7.4 渗透压模型	88
6.3.1 膜的定义和类型	76	6.8 过程讨论	89
6.3.2 表征膜性能的参数	79	6.8.1 过程方法	89
6.3.3 膜组件	80	6.8.2 中空纤维膜组件的工作模式	90
6.4 压力特性	83	6.8.3 超-微滤系统的工厂布置	91
		6.9 膜分离技术的应用简介	93
7 纳米膜过滤技术	94		
7.1 概述	94	7.4 纳滤膜的污染及解决方法	99
7.2 纳滤膜的性质与特点	95	7.5 纳米过滤的应用	100
7.3 纳米过滤的分离机理	98		
8 膜亲和过滤法	102		
8.1 亲和膜分离技术	102	8.3 亲和膜过滤	108
8.1.1 基本过程和操作方式	102	8.3.1 亲和膜过滤的特点	108
8.1.2 基本理论	104	8.3.2 亲和膜过滤过程及其关键问题	109
8.1.3 亲和膜制备	105	8.3.3 亲和膜过滤技术的基本理论	110
8.2 亲和膜分离技术的应用	107	8.3.4 亲和膜过滤的应用	111
9 渗透蒸发	113		
9.1 渗透蒸发的原理和特点	113	9.2.3 渗透池	119
9.1.1 渗透蒸发的定义和基础知识	113	9.3 渗透蒸发过程及其影响因素	120
9.1.2 渗透蒸发的原理	116	9.3.1 渗透蒸发的分离过程	120
9.1.3 渗透蒸发的特点	117	9.3.2 操作条件对分离过程的影响	120
9.2 渗透蒸发膜及膜材料的选择	117	9.4 渗透蒸发的应用	121
9.2.1 渗透蒸发膜的分类	117	9.4.1 渗透蒸发工艺流程实验装置	121
9.2.2 膜材料的选择	118	9.4.2 渗透蒸发膜分离的应用	121
10 溶剂萃取	124		
10.1 概述	124	10.2 萃取过程的理论基础	125
10.1.1 溶剂萃取的应用	124	10.2.1 分配定律	125
10.1.2 生物质的萃取与传统的萃取相 比较	125	10.2.2 萃取过程取决于溶剂的特性	127
		10.2.3 弱电解质的萃取过程与水相的	

特性	128	10.4.2 多级错流萃取	133
10.3 乳化和去乳化	130	10.4.3 多级逆流萃取	135
10.3.1 乳化和去乳化的本质是表面现象	131	10.4.4 微分萃取	137
10.3.2 乳状液的类型及其消除	131	10.4.5 分馏萃取	139
10.4 萃取方式和过程计算	132	10.5 离子对/反应萃取	140
10.4.1 单级萃取	132	10.5.1 离子对/反应萃取的一般介绍	140
		10.5.2 离子对/反应萃取的应用	141
11 反胶束萃取和浊点萃取	142		
11.1 反胶束萃取	142	进展	153
11.1.1 反胶束溶液形成的条件和特性	142	11.2 浊点萃取技术	154
11.1.2 反胶束萃取蛋白质的基本原理	145	11.2.1 浊点萃取	154
11.1.3 反胶束萃取体系及其操作	148	11.2.2 影响浊点萃取效率的因素	155
11.1.4 反胶束萃取蛋白质的应用	152	11.2.3 浊点萃取的应用	156
11.1.5 反胶束萃取蛋白质技术研究的新			
12 双水相萃取	157		
12.1 双水相体系	158	12.4 双水相萃取过程的选择性	164
12.1.1 双水相的形成	158	12.4.1 亲和双水相分配	164
12.1.2 双水相系统的类型	158	12.4.2 液体离子交换剂	165
12.1.3 混溶性和相平衡	160	12.5 双水相系统的应用	165
12.2 双水相萃取过程的理论基础	161	12.6 成相聚合物的回收	167
12.2.1 表面自由能的影响	161	12.7 双水相萃取过程的放大与设备	167
12.2.2 表面电荷的影响	161	12.8 双水相萃取技术的发展趋势	169
12.3 影响物质分配平衡的因素	161	12.8.1 新型双水相系统的开发	169
12.3.1 双水相中聚合物组成的影响	162	12.8.2 亲和双水相萃取技术	170
12.3.2 水相物理化学性质的影响	162	12.8.3 双水相萃取技术与相关技术的集成	170
12.3.3 盐类的影响	162	12.8.4 双水相萃取过程的开发	170
12.3.4 pH 值的影响	163	12.8.5 双水相萃取相关理论的发展	170
12.3.5 温度的影响	164		
13 超临界流体萃取法	171		
13.1 超临界流体萃取的基本原理	171	13.4 超临界流体萃取的基本过程和	
13.1.1 纯溶剂的行为	171	设备	182
13.1.2 超临界流体的性质	172	13.4.1 超临界流体萃取的基本过程	182
13.2 超临界流体萃取的热力学基础	176	13.4.2 超临界流体萃取的设备	183
13.2.1 超临界流体的相平衡	176	13.5 超临界流体萃取的应用	184
13.2.2 超临界流体溶解度现象的热力学分析	179	13.6 超临界流体萃取的优点和缺点	186
13.3 超临界流体相平衡的热力学模型	181	13.7 超临界流体萃取今后的主要研究	
		方向	187
14 液膜分离法	188		
14.1 液膜及其分类	188	14.3.1 液膜材料的选择	194
14.1.1 液膜的定义及其组成	188	14.3.2 液膜分离的操作过程及设备	195
14.1.2 液膜的分类	189	14.3.3 影响液膜分离效果的因素	196
14.2 液膜分离的机理	189	14.4 液膜分离技术的应用	198
14.2.1 无流动载体液膜分离机理	189	14.4.1 液膜分离萃取有机酸	198
14.2.2 有载体液膜分离机理	190	14.4.2 液膜分离萃取氨基酸	199
14.2.3 液膜萃取过程的数学模型	190	14.4.3 液膜分离萃取抗生素	199
14.3 液膜材料的选择与液膜分离的操作		14.4.4 液膜分离进行酶反应	200
过程	194	14.4.5 液膜分离萃取蛋白质	200

15 泡沫分离法	202		
15.1 泡沫分离法的分类	202	15.3.1 泡沫分离技术的实验室装置	205
15.2 泡沫分离技术的基本原理	203	15.3.2 泡沫分离的操作方式	205
15.2.1 表面活性剂及其界面特性	203	15.3.3 影响泡沫分离的因素	206
15.2.2 Gibbs (吉布斯) 等温吸附方程	203	15.4 泡沫分离过程的设计计算	207
15.2.3 气泡产生的方法、泡沫的形成与性质	204	15.4.1 泡沫液流量和泡沫塔塔径的计算	207
15.3 泡沫分离的装置、操作方式及其影响因素	205	15.4.2 理论级数的计算	208
		15.5 泡沫分离的应用	209
16 沉淀法	211		
16.1 概述	211	16.4.4 非离子型聚合物沉淀法	219
16.2 蛋白质的溶解特性	212	16.4.5 聚电解质沉淀法	220
16.3 蛋白质胶体溶液的稳定性	213	16.4.6 金属离子沉淀法	220
16.3.1 静电斥力	213	16.5 沉淀动力学	220
16.3.2 吸引力	213	16.5.1 凝聚动力学	221
16.4 蛋白质沉淀方法	214	16.5.2 絮凝体的破碎	221
16.4.1 中性盐盐析法	214	16.5.3 凝聚物的陈化	222
16.4.2 等电点沉淀法	217	16.6 亲和沉淀	222
16.4.3 有机溶剂沉淀法	218		
17 吸附与离子交换	224		
17.1 概述	224	17.5.4 膨胀床吸附技术的应用	237
17.2 吸附过程的理论基础	224	17.6 移动床和模拟移动床吸附	238
17.2.1 基本概念	224	17.7 离子交换吸附	238
17.2.2 吸附的类型	225	17.7.1 离子交换理论	238
17.2.3 物理吸附力的本质	226	17.7.2 离子交换材料	239
17.2.4 吸附等温线	227	17.7.3 离子交换吸附技术的应用	242
17.3 分批式与连续式吸附	230	17.8 其他类型的吸附	242
17.3.1 分批 (间歇) 式吸附	231	17.8.1 疏水作用吸附	242
17.3.2 连续搅拌罐中的吸附	232	17.8.2 盐析吸附	243
17.4 固定床吸附	233	17.8.3 亲和吸附	243
17.5 膨胀床 (EBA) 吸附	234	17.8.4 染料配位体吸附	244
17.5.1 概述	234	17.9 免疫吸附	245
17.5.2 膨胀床吸附过程的设备与操作	235	17.10 固定金属亲和吸附	247
17.5.3 膨胀床吸附过程的数学分析	236	17.11 羟基磷灰石和磷酸钙凝胶吸附	247
18 色层分离法	249		
18.1 概述	249	18.5 各类不同分离机制的色层分离法介绍	261
18.2 色层分离法的产生和发展	249	18.5.1 吸附色层分离法	261
18.2.1 沿革	249	18.5.2 疏水作用色层分离法	261
18.2.2 色层分离中的基本概念及其分类	250	18.5.3 金属螯合色层分离法	263
18.2.3 色谱展开技术	250	18.5.4 共价作用色层分离法	264
18.3 色层分离的有关术语	252	18.5.5 聚焦色层分离法	266
18.3.1 平衡关系	252	18.5.6 离子交换色层分离法	268
18.3.2 局部平衡定律	254	18.5.7 凝胶过滤色层分离法	271
18.4 色层分离过程理论	255	18.5.8 正相与反相层析	275
18.4.1 塔板理论	255	18.5.9 亲和色层分离法	275
18.4.2 色层分离的连续描述	258	18.5.10 连续环状色层分离法	277

18.5.11 拟似移动床型色层分离法	278	18.6 层析的放大	281
18.5.12 灌注色层分离法	279		
19 电泳	283		
19.1 动电过程	283	19.4.5 等电聚焦	296
19.1.1 zeta(ζ) 电位是动电现象的根本原因	283	19.4.6 二维电泳	298
19.1.2 动电现象	284	19.4.7 免疫电泳	299
19.2 电泳的理论基础	285	19.4.8 制备连续电泳	299
19.3 影响电泳迁移率的因素	286	19.5 第二代液相电泳	300
19.4 电泳的类型	288	19.5.1 毛细管电泳	300
19.4.1 自由界面电泳	289	19.5.2 自由流电泳	301
19.4.2 自由溶液中的区域电泳	289	19.6 电泳的其他用途	301
19.4.3 在不同支持物上的区带电泳	291	19.6.1 电泳解吸	301
19.4.4 等速电泳	295	19.6.2 电泳浓缩	302
20 重组蛋白包含体体外复性	303		
20.1 包含体的形成及一般特性	303	20.3.2 包含体的复性方法	310
20.1.1 包含体的形成	303	20.3.3 复性效果的检测与评价	313
20.1.2 包含体的特性	303	20.4 蛋白质结构研究技术	313
20.2 包含体蛋白复性的理论基础	305	20.4.1 X射线衍射技术	313
20.2.1 蛋白质折叠机理	305	20.4.2 核磁共振技术	314
20.2.2 包含体复性的影响因素	307	20.4.3 显微学技术	314
20.3 包含体蛋白的体外复性	308	20.4.4 光谱技术	314
20.3.1 包含体中活性蛋白的回收步骤	308		
21 结晶	316		
21.1 概述	316	21.3.3 连续结晶	324
21.2 结晶的基本原理	317	21.4 结晶过程的计算	325
21.2.1 溶液的饱和和过饱和度	317	21.4.1 晶粒大小分布	326
21.2.2 过饱和溶液的形成	318	21.4.2 溶液结晶过程的数学模型	327
21.2.3 晶核的形成	319	21.5 重结晶	330
21.2.4 晶体的生长	321	21.6 结晶过程的预测与改善	331
21.3 结晶的类型	323	21.7 结晶技术的进展	332
21.3.1 分类方法	323	21.7.1 理论方面的研究	333
21.3.2 分批(间歇)结晶	323	21.7.2 新技术的推广	333
22 成品干燥	335		
22.1 生物材料水分的性质及基本计算	335	22.5 喷雾干燥	342
22.1.1 生物材料水分的性质	335	22.5.1 喷雾干燥过程热计算	342
22.1.2 生物材料干燥时有关基本计算	336	22.5.2 喷雾干燥机	343
22.2 蒸发和干燥速率	337	22.6 升华干燥	343
22.3 生物产品的干燥方法	339	22.6.1 升华干燥过程	343
22.4 对流干燥	340	22.6.2 升华干燥设备	344
22.4.1 对流干燥过程热计算	340	22.7 组合干燥	346
22.4.2 对流干燥器	340		
参考文献	347		

1

绪论

生物物质分离工程是指在工业规模上,通过适当的分离纯化技术与装备并耗费一定的能量和分离介质来实现生物物质(产品)制备的过程,是生物产业的一个重要组成部分。

1.1 生物(物)质

生物(物)质(biomass)泛指自然界中由生物所产生的物质或通过人类的生产活动(包括农业、畜牧业、工业生产活动)所产生的有生命的物质或其初级加工物,如谷物、木材、肉类、皮毛、细胞等。有时也可指自然界中可供利用的生物性原料或废弃物,如禾草、纤维性物料、动物内脏等。在发酵和细胞培养过程中所获得的细胞也都属于生物(物)质,这类生物(物)质有的可以经简单加工成为产品,如单细胞蛋白(SCP),有的可将这些细胞作为生物催化剂(bio-catalyst)生产有关工业和医药产品。由此可见,生物(物)质包括大到有生命的物质、生物性原料或废弃物等小到某一具体的生物产品。

如果从微观的角度来认识生物(物)质,其内容更为丰富,仅生物体而言,用解剖的方法观察其结构有器官、组织和细胞,用分析的方法得到化学组分有数十万种蛋白质、核酸、酶、糖类、脂类等生物大分子;维生素、激素、多肽、氨基酸、有机酸、抗生素等中小分子、离子以及生物超分子体系,它们是一类具有生物活性、生理活性或药理活性的物质。目前已广泛用于国民经济各个部门和人们日常生活中的药品、疫苗、诊断和治疗试剂、精细生物化学品、大宗化学品、日用化学品、生物高分子材料、生物能源(生物制氢、生物柴油、燃料乙醇)、生物农药、生物化肥、生化试剂、功能食品和添加剂等商品都是一些具体的、纯度极高的单体或混合物,统称为生物产品或生物制品。

由于人类基因组草图的公布,生命科学研究已进入后基因组时代与蛋白质组学时代,另外生物芯片、干细胞等研究成果也不断涌现,充分显示其巨大的应用前景,这些都为新的生物(物)质拓展,创造了条件。

1.2 生物物质分离过程

生物产品或生物制品是一些对人体富有营养价值、对疾病治疗和工农业生产等更为有用的生物物质,它们均以上述有生命的物质、生物性原料或废弃物以及生物反应过程的细胞及其代谢物为原料,利用物理、化学和生物等手段,经深度加工过程后得到的两个或多个组成彼此不同的生物物质。

生物物质深度加工过程即生物物质分离、提取、精制的过程称为生物物质分离过程,将其应用于工农业生产部门便形成了生物物质分离工程。

由于被深度加工的原料范围很广,因此对不同原料的分离纯化过程的不同要求和特需,进行了研究和开发,可从诸如《天然产物有效成分的分离与应用》、《海洋天然产物的分离纯化与结构鉴定》、《中药化学成分提取分离手册》、《从动物脏器和废弃物提取有用制品》、《药物蛋白质分离纯化技术》、《抗生素的吸附与层离》、《生物制药设备和分离纯化技术》等著作中得到反映,显示出它们的分离纯化过程虽有一定的个性但存在着许多共性,其分离过程都为原材料的预处理与固-液分离、初步纯化、高度纯化和成品制作四个分过程组成,各分过程可选用若干化工单元操

作或现代分离操作，因此在使用的方法和手段、设备和工程等问题上可以相互借鉴。

本书着重讨论的生化分离工程是指由生物反应过程（由生物技术所引出的生产过程）得到的产物的分离工程，即从微生物发酵过程、酶反应过程或动植物细胞培养过程而得到的代谢产物（由细胞及胞内外代谢产物和残存的培养基所组成的悬浮液）中分离纯化各种生物产物的技术和工程问题，以此作为生物物质分离工程的内容框架。它是从各种原料中分离纯化生物产品最多、研究工作最深、成绩最著、发展最快的一个领域，因此，无论是分离纯化的原理、方法和过程还是其采用的技术、设备和工程都可以为那些泛指的生物物质的分离提供启示、参考或推广应用。

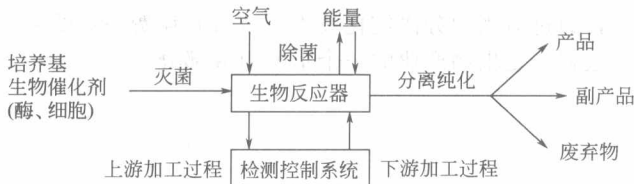


图 1.1 生物反应过程示意

是其采用的技术、设备和工程都可以为那些泛指的生物物质的分离提供启示、参考或推广应用。

生物物质分离工程是生物化学工程的重要组成部分，也是生物技术转化为生产力所不可缺少的环节，其技术的进步程度对保持和提高各国在生物技术领域内的经济竞争力

是至关重要的。

人们常把生物反应过程中的反应器作为过程的中心，而分别把反应前后的工序称为上游和下游加工过程（upstream and downstream processing）（见图 1.1）。故生物物质分离过程亦称为生物下游加工过程，从而更加突显了它的地位和作用。

1.3 生物技术下游加工过程的特点及其重要性

生物技术产品包括传统的（常规的）生物技术产品（如用发酵生产的有机溶剂、氨基酸、有机酸、抗生素）和现代生物技术产品（如用重组 DNA 技术生产的医疗性多肽和蛋白质）（详见节 1.5.2）。它们的生产不同于一般的化学品生产，有其自身的特点。

1.3.1 发酵液或培养液是产物浓度很低的水溶液

除了特定的生物反应系统外，在其他大多数生物反应过程中，溶剂几乎全部是水。产物（溶质和悬浮物）在水中的浓度都很低，原因是：①某些微生物在发酵过程中，细胞浓度虽可高达 120g/L，但高的细胞干重使培养液产生高黏度，导致发酵时混合效率降低，要改善这种状况，就会增加生产成本；②一般而言，微生物细胞的体积分数是其质量分数的 3 倍，在发酵过程中，对于最大体积分数为 0.64 的球形粒子，其细胞浓度的绝对限度受到物理条件的限制，约为 200~250g/L。此外，细胞密度还受代谢产物的抑制。

虽然现在可以通过 DNA 重组技术使蛋白质高效表达，但总体上，产物在水溶液中的浓度很低，如青霉素仅为 7.0%，庆大霉素低于 0.2%，酶法生产丙烯酰胺为 30%，羟基乙酸为 14%，天冬氨酸为 13%，而动物细胞培养液中的单克隆抗体为 0.5%~1%，重组蛋白为 0.05%~0.1%。

1.3.2 培养液是多组分的混合物

发酵过程会产生一些复杂的产品混合物。首先从细胞本身来看，各种类型细胞具有不同的细胞组成，见表 1.1。

表 1.1 细胞组成^①

类 型	蛋白质	核 酸	多 糖	类脂物
细菌	40~70	13~34	2~10	10~15
酵母	40~50	4~10	<15	1~6
丝状真菌	10~25	1~3	<10	2~9
藻类	10~60	1~5	<15	4~80
动物细胞	<10	<50	<50	<50
植物细胞	<70	<30	<50	<80

① 以占细胞干重的百分比表示。

这里介绍的混合物，不仅包含了大分子量物质，如核酸、蛋白质、多糖、类脂、磷脂和脂多糖，而且还包含了低分子量物质，即大量存在于代谢途径的中间产物，如氨基酸、有机酸和碱；混合物不仅包括可溶性物质，而且也包括以胶体悬浮液和粒子形态存在的组分，如细胞、细胞碎片、培养基残余组分、沉淀物等。总之，组分的总数是相当大的，并且各组分的含量还会随着细胞所处环境的变化而变化。

其次，在下游加工过程之前，由于对发酵液进行预处理，也会引起培养液组分的变化及发酵液流体力学特性的改变。

1.3.3 生物产品的稳定性差

无论是大分子量生物产物，还是小分子量生物产物都存在着稳定性问题。

产物失活的主要机制是化学或微生物引起的降解。在化学降解的情况下，产物只能在窄的pH值和温度变化范围内保持稳定。对于蛋白质一般稳定性范围很窄，超过此范围，将发生功能的变性和失活；对于小分子生物产品，可能它们结构上的特性，例如青霉素的 β -内酰胺环，在极

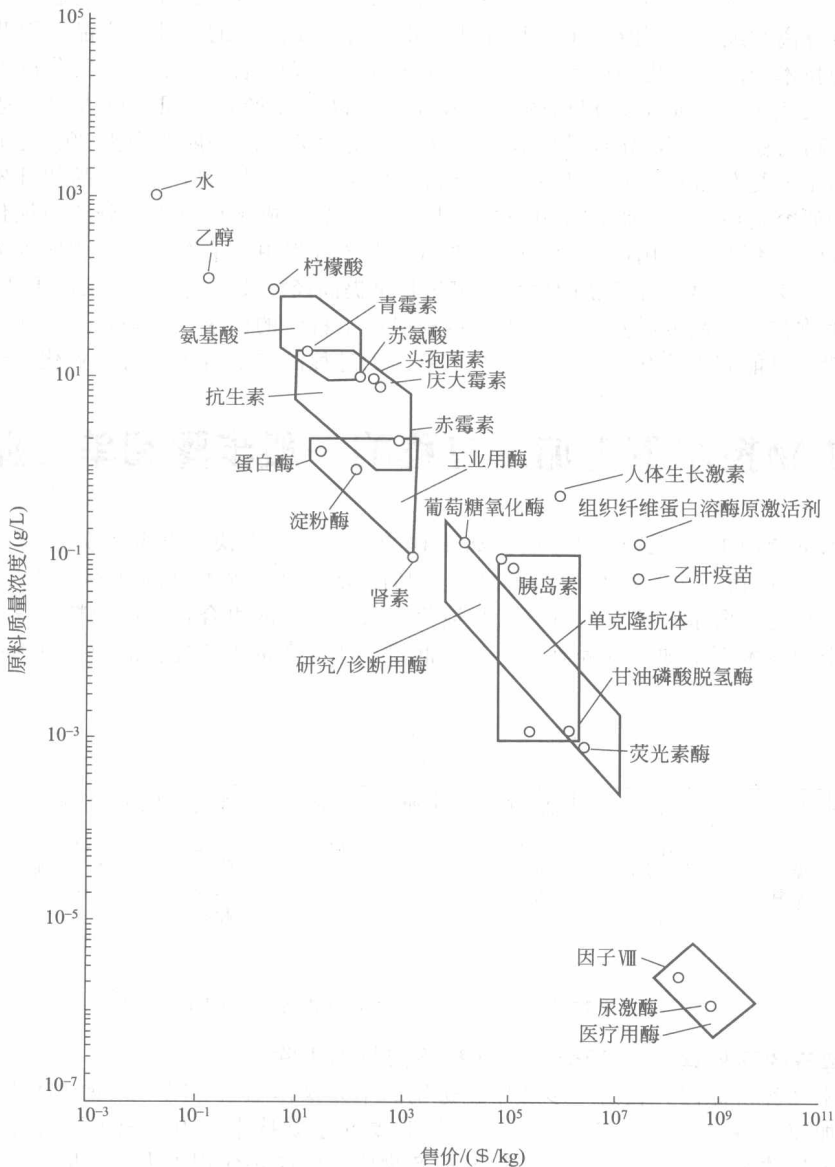


图 1.2 发酵液浓度和产品价格之间的关系

端 pH 条件下会受损。具有手性核的分子,可能由于 pH 值、温度和溶液中存在的某些物质所催化而被外消旋,导致产物大量损失。

微生物的降解作用是因为所有细胞中存在着不同的降解酶,如蛋白酶、脂酶等,都能使蛋白质活性分子破坏成为失活分子,因此在制备蛋白质、酶或相似产品时,应在尽可能低的温度和快的速度下操作。另外还应防止发酵产物染菌,因为这可能产生毒素和降解酶,从而引入新的杂质或导致产品损失。

1.3.4 对最终产品的质量要求很高

由于许多产品是医药、生物试剂或食品等精细产品,必须达到药典、试剂标准和食品规范的要求。如青霉素产品对其中一种强过敏原杂质——青霉噻唑蛋白类就必须控制在 RIA 值(放射免疫分析值)小于 100,对于蛋白质药物,一般规定杂蛋白含量低于 2%,而原亲酶素(protopin)和重组胰岛素(humulin)中的杂蛋白应低于 0.01%,不少产品还要求成为稳定的无色晶体。

由上可知,生物技术产品一般是从各种杂质的总含量大大多于目标产物的悬浮液中开始制备的,惟有经过分离和纯化等下游加工过程才能制得符合使用要求的高纯度产品,因此生物物质分离工程是生物技术产品工业化中的必要手段,具有不可取代的地位。生物物质分离工程的实施十分艰难且需很大代价,这是由特别稀的水溶液原料和高纯度产物之间的巨大差异造成的(见图 1.2),加上产物的稳定性差,导致其回收率不高,抗生素类产品一般要损失 20%左右。分离、纯化的方法也是十分复杂和昂贵的,从现有的资料分析可知,在大多数生物产品的开发研究中,下游加工过程的研究费用占全部研究费用的 50%以上;产品的成本构成中,分离与纯化部分占总成本的 40%~80%,精细、药用产品的比例则更高;生产过程中,下游加工过程的人力、物力占全部过程的 70%~90%。显然开发新的生物分离过程是提高经济效益或减少投资的重要途径。

总之,生物技术产品的特点给下游加工过程提出了特殊的要求,生物技术产业没有下游加工过程的配套就不可能有工业化的结果,没有下游加工过程的进步就不可有工业化的经济效益。

1.4 生物技术下游加工过程的一般步骤和单元操作

生物技术下游加工过程或生物物质分离工程的设计不仅取决于产品所处的位置(胞内或胞外)、分子大小、电荷多少、产品的溶解度、产品的价值和过程本身的规模,还与产品的类型、用途和质量(纯度)要求有关。所以分离和纯化步骤有不同的组合,提取和精制的方法也有不同的选择,但生物技术下游加工过程有一个基本框架,即常常按生产过程的顺序分为四个类似步骤(见图 1.3)。

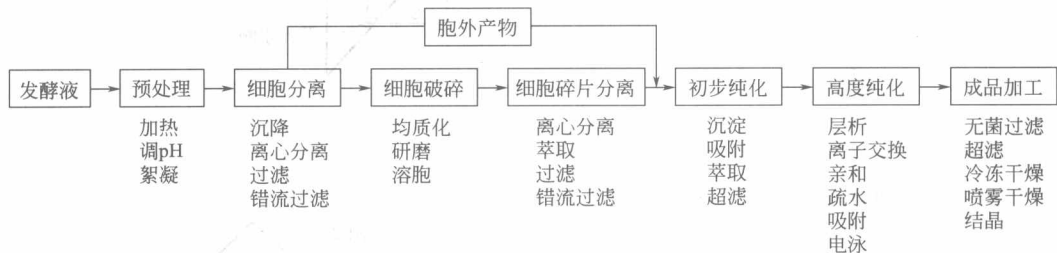


图 1.3 生物技术下游加工过程阶段和各阶段的单元操作

1.4.1 发酵液的预处理与固-液分离(或称不溶物的去除)

由于技术和经济原因,在这一步骤中能选用的单元操作相当有限,过滤和离心是基本的单元操作。为了加速固-液两相的分离,可同时采用凝聚和絮凝技术;为了减少过滤介质的阻力,可采用错流膜过滤技术,但这一步对产物浓缩和产物质量的改善作用不大。一般希望以低投资和低成本来换取高的回收率及去杂率,但是这些要求往往是相互矛盾的。

表 1.2 生物技术产品分离纯化常用单元操作

单元操作		分离类型	选择性	生产能力	应用
固-液分离	过滤 { 常规 微滤	固-液 固-液	低 中等	高 中	真菌 细菌、细胞碎片
	离心 { 常规 超离心	固-液 分离	低-中 中-高	高 低	真菌 病毒和细胞
细胞破壁	机械法	释放	低	中	胞内产品
	酶法	释放	低	中	酶
	化学法	释放	低	中	实验的
产品分离 纯化	蒸馏	纯化	中-高	高	乙醇和溶剂回收
	萃取 { 液体 双水相 超临界	分离 分离及纯化 分离	中 中-高 中-高	高 高 中	抗生素 酶 精制油
	沉淀 { 盐析 溶剂 金属配合物 结晶	分离 分离 分离 析出	低-中 低-中 低-中 中-高	高 高 高 高	酶 酶 — —
	吸附 { 非活性基 特殊活性基 混合活性基	分离 纯化 分离	中-高 中-高 中-高	高 高 高	抗生素 — —
	膜技术 { 超滤(透析过滤) 电渗析	分离和浓缩 分离和浓缩	中 中-高	高 中-高	脱盐和除热原 蛋白质溶液脱盐
	液相色谱 { 亲和 凝胶 离子交换 层析 高压 { 正相 逆相 高效	纯化 纯化 纯化 纯化 纯化 纯化	高 高 中-高 高 高 高 高	低-中 低-中 低-中 低 低 低-中	干扰素 胰岛素 血制品 蛋白质和多肽 — 抗生素和多肽
	其他 { 超临界流体萃取 逆流分离 电泳和等电聚焦	分离 纯化 纯化	中-高 高 高	低-中 低 低	实验的 实验的 蛋白质和多肽
	水和溶剂 的除去	浓缩 { 蒸发 反渗透/超滤 冷冻浓缩	浓缩 浓缩 浓缩	低 低-中 低	高 中 中
	干燥 { 冷冻干燥 喷雾干燥 滚筒干燥	干燥 干燥 干燥	低 低 低	低 高 干	多效药品 α -淀粉酶和单细胞蛋白