

生物 分离技术

梁世中编译

华南理工大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

生物分离技术/梁世中 编译. —广州: 华南理工大学出版社, 1995. 12

ISBN 7-5623-0800-4

I. 生…

I. 梁…

Ⅱ. 生物化学-应用-生物分解

Ⅳ. Q503

华南理工大学出版社出版发行

(广州·五山 邮编:510641)

责任编辑: 张巧巧

*

各地新华书店经销

东盛印刷厂印装

开本 787×1092 1/32 印张:7 字数:157千

1995年12月第1版 1995年12月第1次印刷

印数:1—1 000

定价:7.00元

前 言

生物技术是当今最活跃、发展最迅速的科学技术,在国计民生中起着越来越重要的作用,尤其在轻工、食品、医药及环保等领域更是举足轻重。而生物工程的下游技术,即产物的分离纯化等,是生物技术的重要组成部分。事实上,分离纯化过程对生物工程生产来说,不仅在技术上十分重要,而且对生产的经济效益有关键性影响,因分离纯化费用往往占产品总成本的一半或更多。

生物反应过程中,无论是微生物反应或酶反应,也无论是基因操作或细胞融合,都可能使反应产物含有各式各样的杂质,如细胞菌体、培养基残余成分、热源和各种副产物。同时,生物反应系统通常含有蛋白质或活细胞、无机盐、多糖等生物活性物质,而蛋白质和多糖等是生物大分子,具有特殊生物活性,且是热敏性的,所以生物工程生产总要通过一系列生物分离单元操作,才能获得符合质量要求的目的产物。

现代生物分离技术把传统的化工分离的基本原理和生物反应的特殊性有机地结合起来,构成一系列新型生物分离技术,主要有:过滤(包括常规过滤、微滤和超滤)、离心分离、萃取、吸附分离、电泳、层析及其他色谱分离等操作。为了在合理费用的情况下获得合格的产品,必须通过理论分析结合实验研究,选择最佳的分离工艺,进行精确的设计计算。

作者参考了 Paul A. Belter 等所著的《Bioprocess Engineering (Downstream Processing for Biotechnology)》,结合国内外有

AM 36/06

关发酵生产等生物分离技术编译而成。本书共分9章,分别介绍了生物分离的基本原理、分离过程、典型实验设备及计算、放大设计等。还介绍了各种分离方法在生物工程生产中的实际应用和发展前景。另外,各章还附有习题供计算参考。

本书可供从事生物工程、制药、食品、化学化工以及环境工程等专业的高等学校教师、研究生,科研机关及生产工厂的科技工作者、工程技术人员学习参考。

本书是由国家教委直属的华南理工大学外国教材中心组织研究外国优秀教材,选择其中选材合理、读者急需、研究体会较深的书籍而编译出版的。

本书的编写和出版,得到了国家教委条件装备司、华南理工大学图书馆外国教材中心的大力支持以及华南理工大学出版社编辑部工作人员的热情关怀和帮助。在此致以衷心的感谢!

由于编译者的水平所限,书中难免有错漏不当之处,敬请同行专家、读者批评指正。

编译者

目 录

第一章 绪论	1
第二章 过滤操作	7
第一节 概述	7
第二节 常用的过滤设备	8
第三节 发酵液的预处理	11
一、加热处理	12
二、凝聚和絮凝	12
三、使用助滤剂	13
四、细胞破碎	14
第四节 过滤基本方程	20
一、过滤基本方程	20
二、不可压缩滤饼的过滤操作方程	21
三、可压缩滤饼的过滤操作方程	21
第五节 转鼓真空过滤机	24
一、过滤过程滤饼的形成	26
二、滤饼的洗涤	27
三、计算举例	29
四、间歇过滤与连续过滤生产能力的计算	30
第六节 小型过滤试验装置及过滤过程的放大	31
一、布氏漏斗过滤实验装置	31
二、滤叶过滤试验装置	32

重要符号说明	34
习 题	35
第三章 离心分离	37
第一节 概述	37
第二节 悬浮固体粒子的沉降	38
第三节 常用离心机的类型及操作原理	42
一、管式离心机	42
二、碟片式离心机	46
第四节 离心分离过程的放大	50
第五节 离心过滤分离	55
重要符号说明	59
习 题	60
第四章 液液萃取	61
第一节 概述	61
第二节 萃取分离原理	62
一、基本方程	64
第三节 萃取操作过程	69
一、单级萃取过程	70
二、多级萃取过程	74
三、微分萃取操作	78
重要符号说明	83
习 题	84
第五章 吸附分离过程	86
第一节 概述	86
第二节 吸附剂与吸附过程	87
一、吸附剂	87
二、吸附等温式	88

三、离子交换等温吸附	89
四、亲和吸附	90
第三节 间歇吸附	93
第四节 连续搅拌的吸附操作	95
第五节 固定床吸附过程	97
一、固定床吸附的动力学方程	99
二、固定床吸附器的计算	100
重要符号说明	105
习 题	106
第六章 洗提色谱分离	108
第一节 概述	108
第二节 吸附剂	109
第三节 色谱分离过程的回收率和纯度	112
第四节 亲和色谱分离	117
第五节 色谱分离动力学	119
一、色谱分离原理	119
二、色谱分离动力学	121
三、洗提色谱分离的放大	126
重要符号说明	130
习 题	131
第七章 沉淀分离技术	132
第一节 概述	132
第二节 溶剂沉淀	132
第三节 盐析沉淀	134
第四节 加热沉淀	136
第五节 沉淀分离过程的放大	138
一、初混合	139

二、晶核生成	139
三、晶体(粒子)的扩散限制长大	139
四、对流混合粒子的长大	140
五、絮凝	141
重要符号说明	144
习 题	145
第八章 膜分离和电泳	146
第一节 概述	146
一、膜分离及应用简介	146
二、渗透压	147
三、蛋白质的支链	149
第二节 膜分离和电泳过程的传质动力学	150
一、超滤的传质方程	150
二、电泳过程的物质传递	156
第三节 超滤膜及超滤装置	160
一、超滤膜	160
二、超滤装置	162
三、超滤操作过程的分析	165
第四节 电泳、电渗析	169
一、电泳方法及原理	169
二、电渗析过程及装置	176
重要符号说明	180
习 题	181
第九章 结晶操作	183
第一节 有关结晶的基本问题	183
一、过饱和溶液与母液	183
二、晶核形成和晶体长大	185

三、结晶产物的纯度	186
四、晶体的长大及其影响因素	186
第二节 结晶大小的分布	189
一、结晶群体密度	190
二、连续结晶过程的晶群密度分布	191
三、主导晶体尺寸	193
第三节 间歇结晶过程	200
一、结晶过程冷却曲线	201
二、间歇结晶过程的放大	203
第四节 重结晶操作	205
重要符号说明	207
习 题	208
参考文献	211

第一章 绪 论

生物技术是当今发展最快的科学领域之一,在医药、食品、环境治理、能源、精细化工以及矿冶等国民经济各部门均占重要位置。从传统的啤酒和白酒的酿造、酵母和单细胞蛋白的生产、有机酸发酵,到氨基酸和酶制剂生产、抗菌素发酵,胰岛素、乙肝疫苗和干扰素的生产以及从动植物细胞培养生产有用物质等,各应用技术日新月异,前景光明。

和自然界存在的天然物料一样,用发酵和生物工程方法生产的原始产物,几乎都是混合物,通常都必须经分离纯化处理才能获得终产品。而且,分离设备投资和分离费用在总投资和总费用占有相当大的比重。所以,对于发酵和生物工程生产,分离方法的选择和优化,新型分离设备的研制开发,具有极重要的意义。

一、生物分离特征

生物技术的主要特征是产品的巨大变化,目前较大宗的产品类型、数量如表 1-1 所示。大型的生化制药公司可能生产上百种生化药品,且生物分离有下述特征:①发酵液中目的产物浓度低,如抗菌素 1~3%,酵母 2~4%,酒精 7~12%,酶 0.2~0.5%,有机酸 4~10%,维生素 B₁₂ 0.002%,且含有物化性质类似的副产物和杂质;②目的产物大多是热敏性的,对 pH 值较敏感,易失活;③易受微生物污染变质。

表 1-1 发酵与生物工程的产品类型

类 型	品 种 数	类 型	品 种 数
抗菌素	85	维生素、酵母、核苷酸	6
氨基酸	18	葡聚糖、类固醇	8
酶	15	色素、皂甙	4
有机酸和醇类	11	疫苗、干扰素	4

生物工程产品的多样化和特殊性导致了各式各样分离方法的应用,如表 1-2 所示。

表 1-2 发酵与生物工程产品分离纯化法

产 物	典型加工方法及步骤
酒精	精馏,生产无水酒精用萃取蒸馏
食醋	沉降分离→过滤→蒸馏(食用醋精)
饮料酒	静置沉降(或过滤)→陈酿→澄清过滤
氨基酸	发酵液过滤除菌体→等电点或真空浓缩结晶
抗菌素	青霉素 G、头孢霉素、链霉素
酶 (胞外酶)	发酵液→絮凝→冷却→过滤或离心除去固形物→超滤或真空浓缩→吸附或色谱分离纯化→干燥
微生物 多糖	发酵液→离心或过滤收集菌体→细胞自溶→过滤除去固形物→加酒精使多糖沉淀→过滤→干燥

由上述可知,原始发酵液含目的产物浓度低、杂质多,而终产品纯度高。这意味着分离纯化过程的复杂性和高费用,分离提取设备需耗大量投资。所以,产品的提取、精制过程必须精心设计。

为了实现高回收率和低消耗,在进行分离纯化设备设计前,必须明确下述几点:

- (1)产品的价值;
- (2)产品的质量及指标;
- (3)分离过程产物和杂质的位置;
- (4)产物和主要杂质特殊的物化性质;
- (5)各种可能的分离方法的经济分析。

二、分离精制的理想过程

生物工程领域的产品及其分离方法多种多样,虽然在许多分离过程之间难以找出其共性,但从总体来说,还是存在相似性的。对现存各类发酵和生物工程生产的分离进行分析归纳,可发现大多数有四个类似的步骤,即:

1. 不溶物的除去

发酵液中常含有菌体或培养基残渣的不溶物质,常用过滤和离心分离单元操作,但产物的浓度和纯度只有较小的提高。

2. 产物提取

除去与目的产物的物化性质差异较大的杂质,可获得相当高的产物浓度,纯度也有较大的提高。典型的单元操作是吸附和萃取。

3. 纯化

常用的单元操作有色谱分离、电泳和沉淀析出,可除去物化性质与产物类似的杂质。处理操作选择性高,可获得高纯度的产物。

4. 精制

最后的加工程序是精制,其方法取决于产品的应用目的,

结晶和干燥是生化产品最常用的单元操作。

上述四个主要分离过程的分析构成了本书的轮廓。对这四个过程评价的途径是根据目的产物的浓度和纯度。表 1-3 给出了某些产物分离过程的特点。

表 1-3 产物分离过程及纯度

过程	典型过程	产物浓度(kg/m ³)	纯度(%)
生化反应	发酵	0.1~100	0.1~10
不溶物除去	过滤	1.0~5	0.2~2.0
产物分离	萃取	5~50	1~10
纯化	色谱分离	50~200	50~80
精制	结晶	50~200	90~100

由表 1-3 不难看出,分离过程可使产物浓度提高的程度最大,但产物纯度的提高主要在纯化步骤。

根据目的产物的类型、分子量及物理化学特性的差异,选择不同的分离纯化单元操作,具体的选择可参考图 1-1。

表 1-3 和图 1-1 所介绍的生物分离单元操作,是对细胞外的代谢产物或细胞本身的分离纯化而言的。至于包含于细胞内的产物分离,必须先进行细胞破碎操作。下面介绍几个典型生物产品的分离纯化流程,以加深对上述分析的理解。

由上述可知,发酵与生物工程生产的分离过程变化万千,但可把这些操作归并到四个理想化的过程——不溶物的除去、产物提取、纯化和精制。当目的产物存在于细胞内时,还必须加上细胞破碎步骤。其中,不溶物的除去可采用过滤、离心分离和重力沉降过程;产物分离方法有萃取、吸附、离子交换

和蒸馏等；纯化方法包括色谱分离、超滤、电渗析和电泳过程；而产物的精制步骤主要有结晶、干燥等。本书对发酵和生物工程常用的而普通化学工程著作较少涉及的分选过程逐章进行介绍。

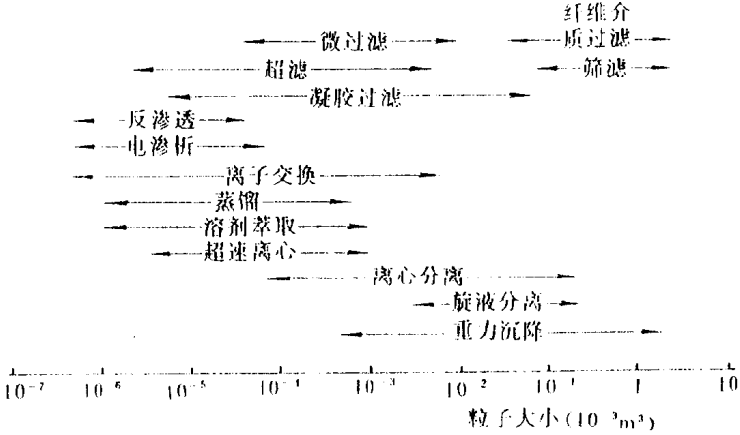


图 1-1 常用的生物分离纯化单元操作及适用范围

本书具有两个特点，一是着重说明操作过程的基本原理，而不是全面介绍特殊生化产品的分离；二是把发酵液的特性，包括微生物细胞的形态、粘性、滤饼的可压缩性、污染的危险以及蛋白质的脆性等对分离纯化方法的选择与操作的影响加以分析。由于生物反应涉及的生物和培养基等多种多样，故所得的成熟发酵液的流态特性及过滤性质变化很大，在实践中必须通过理论分析和实验研究去确定所需的过滤和离心分离设备及操作条件。

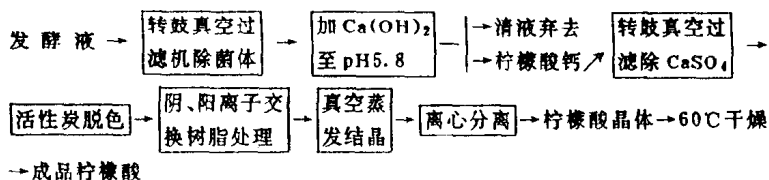


图 1-2 柠檬酸提取精制流程图

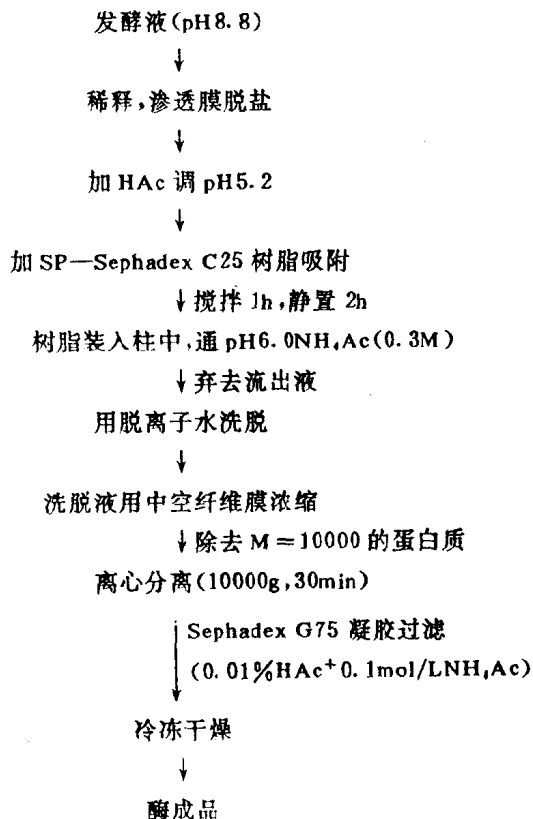


图 1-3 小球核酸酶的分离纯化流程

第二章 过滤操作

第一节 概述

在生物反应领域,几乎所有的发酵液均存在或多或少的悬浮固体,如生物细胞、固态培养基或代谢产物中的不溶物质;在原料处理过程也常应用过滤操作,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。通过这两个过程均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,则必须经历细胞破碎过程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、柠檬酸晶体等轮廓分明的晶体,过滤无疑是简单的操作,但对微小的而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,过滤速度将十分缓慢,甚至无法进行。

本章有两个主要目标。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。下面将分别介绍传统过滤和微过滤操作的有关理论、设备和过滤前处理。

第二节 常用的过滤设备

对具体过滤处理的不同对象,应根据下列因素,选取合适的过滤设备。这些因素包括:(1)料液的粘度、腐蚀性;(2)固态悬浮物的粒度、浓度以及变形性等;(3)目的产物是液体部分还是悬浮固体等。

过滤设备多种多样,有传统的板框式压滤机、回转真空过滤机等。

图 2-1 所示的有板框压滤机、水平板式过滤机和垂直叶片过滤机。其中,板框式压滤机适用于要求滤饼较干的场合,但不适用于含挥发性有毒物质或有生物危害的场合。而板式过滤机只有滤板,没有滤框,过滤介质用纸板或石棉纤维板,适用于醪液含少量悬浮固体的过滤,如啤酒、果酒的澄清过滤。

垂直叶片过滤机占地面积小,单位容积的过滤面积大,但需要足够的空间来更换滤叶和清除滤饼,发酵工厂中常用于啤酒过滤,即垂直叶片硅藻土过滤机。

对于大规模生物工程生产,转鼓真空过滤机也是最常用的过滤设备,适合于含酵母、霉菌等难过滤的固体微粒的分离,具有自动化程度高、处理能力大的优点。其过滤设备结构原理见图 2-2。大型柠檬酸发酵工厂的柠檬酸提取过程常常应用转鼓真空过滤机,其分离纯化过程如图 2-3 所示。

由图 2-2 可看出,这种过滤机主要部件是一转鼓,施加于