

全国普通高等院校
生命科学类“十二五”规划教材



生物分离工程

胡永红 刘凤珠 韩曜平 主编

*B*ioseparation *E*ngineering



华中科技大学出版社
<http://www.hustp.com>

全国普通高等院校生命科学类“十二五”规划教材

生物分离工程

主 编 胡永红 刘凤珠 韩曜平

副主编 李 华 汪文俊 朱德艳

张向前 梁剑光

编 委 (以姓氏笔画为序)

王 云 江苏大学

石晓华 郑州大学

冯自立 陕西理工学院

朱德艳 荆楚理工学院

刘凤珠 郑州轻工业学院

李 华 郑州大学

汪文俊 中南民族大学

张向前 延安大学

胡永红 南京工业大学

梁剑光 常熟理工学院

韩曜平 常熟理工学院



华中科技大学出版社

中国·武汉

内 容 简 介

本书是全国普通高等院校生命科学类“十二五”规划教材。

本书系统介绍了生物分离工程常用技术的基本原理、分离操作、过程理论及应用。全书分为 11 章,内容包括绪论、固液分离技术、沉析技术、萃取技术、膜分离、吸附与离子交换、色谱分离、电泳技术、亲和分离、精制及清洁生产。在保证教材理论性、科学性、前瞻性的基础上,注重论述的简洁性、概括性和实用性,以有效激发学生的学习热情,也便于教师的教学。

本书主要作为高等院校生物工程和生物技术等相关专业本科生的教材,也可供相关专业研究生以及生物技术、生物化工和生物制药领域的科研、技术和管理人员使用和参考。

图书在版编目(CIP)数据

生物分离工程/胡永红,刘凤珠,韩曜平主编. —武汉:华中科技大学出版社,2014.5
ISBN 978-7-5609-9700-1

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

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 101456 号

生物分离工程

胡永红 刘凤珠 韩曜平 主编

策划编辑:罗 伟

责任编辑:罗 伟

封面设计:刘 卉

责任校对:张 琳

责任监印:周治超

出版发行:华中科技大学出版社(中国·武汉)

武昌喻家山 邮编:430074 电话:(027)81321915

录 排:华中科技大学惠友文印中心

印 刷:武汉鑫昶文化有限公司

开 本:787mm×1092mm 1/16

印 张:18.5

字 数:486 千字

版 次:2015 年 2 月第 1 版第 1 次印刷

定 价:42.00 元



本书若有印装质量问题,请向出版社营销中心调换
全国免费服务热线:400-6679-118 竭诚为您服务
版权所有 侵权必究

全国普通高等院校生命科学类“十二五”规划教材

编委会



主任委员

余龙江 华中科技大学教授,生命科学与技术学院副院长,2006—2012 教育部高等学校生物科学与工程教学指导委员会生物工程与生物技术专业教学指导分委员会委员,2013—2017 教育部高等学校生物技术、生物工程类专业教学指导委员会委员

副主任委员(排名不分先后)

胡永红 南京工业大学教授,南京工业大学研究生院副院长

李 钰 哈尔滨工业大学教授,生命科学与技术学院院长

任国栋 河北大学教授,2006—2012 教育部高等学校生物科学与工程教学指导委员会生物科学基础课程教学指导分委员会委员,河北大学学术委员会副主任

王宜磊 菏泽学院教授,2013—2017 教育部高等学校大学生物学课程教学指导委员会委员

杨艳燕 湖北大学教授,2006—2012 教育部高等学校生物科学与工程教学指导委员会生物科学专业教学指导分委员会委员

曾小龙 广东第二师范学院教授,副校长,学校教指委主任

张士瑾 中国海洋大学教授,2006—2012 教育部高等学校生物科学与工程教学指导委员会生物科学专业教学指导分委员会委员

委员(排名不分先后)

陈爱葵	胡仁火	李学如	刘宗柱	施文正	王元秀	张 峰
程水明	胡位荣	李云玲	陆 胤	石海英	王 云	张 恒
仇雪梅	贾建波	李忠芳	罗 充	舒坤贤	韦鹏霄	张建新
崔韶晖	金松恒	梁士楚	马 宏	宋运贤	卫亚红	张丽霞
段永红	李 峰	刘长海	马金友	孙志宏	吴春红	张 龙
范永山	李朝霞	刘德立	马三梅	涂俊铭	肖厚荣	张美玲
方 俊	李充璧	刘凤珠	马 尧	王端好	徐敬明	张彦文
方尚玲	李 华	刘 虹	马正海	王金亭	薛胜平	郑永良
耿丽晶	李景蕻	刘建福	毛露甜	王伟东	闫春财	周 浓
郭晓农	李 梅	刘 杰	聂呈荣	王秀利	杨广笑	朱宝长
韩曜平	李 宁	刘静雯	彭明春	王永飞	于丽杰	朱长俊
侯典云	李先文	刘仁荣	屈长青	王有武	余晓丽	朱德艳
侯义龙	李晓莉	刘忠虎	邵 晨	王玉江	曾丽霞	宗宪春

全国普通高等院校生命科学类“十二五”规划教材 组编院校

(排名不分先后)

北京理工大学	华中科技大学	云南大学
广西大学	华中师范大学	西北农林科技大学
广州大学	暨南大学	中央民族大学
哈尔滨工业大学	首都师范大学	郑州大学
华东师范大学	南京工业大学	新疆大学
重庆邮电大学	湖北大学	青岛科技大学
滨州学院	湖北第二师范学院	青岛农业大学
河南师范大学	湖北工程学院	青岛农业大学海都学院
嘉兴学院	湖北工业大学	山西农业大学
武汉轻工大学	湖北科技学院	陕西科技大学
长春工业大学	湖北师范学院	陕西理工学院
长治学院	湖南农业大学	上海海洋大学
常熟理工学院	湖南文理学院	塔里木大学
大连大学	华侨大学	唐山师范学院
大连工业大学	华中科技大学武昌分校	天津师范大学
大连海洋大学	淮北师范大学	天津医科大学
大连民族学院	淮阴工学院	西北民族大学
大庆师范学院	黄冈师范学院	西南交通大学
佛山科学技术学院	惠州学院	新乡医学院
阜阳师范学院	吉林农业科技学院	信阳师范学院
广东第二师范学院	集美大学	延安大学
广东石油化工学院	济南大学	盐城工学院
广西师范大学	佳木斯大学	云南农业大学
贵州师范大学	江汉大学文理学院	肇庆学院
哈尔滨师范大学	江苏大学	浙江农林大学
合肥学院	江西科技师范大学	浙江师范大学
河北大学	荆楚理工学院	浙江树人大学
河北经贸大学	军事经济学院	浙江中医药大学
河北科技大学	辽东学院	郑州轻工业学院
河南科技大学	辽宁医学院	中国海洋大学
河南科技学院	聊城大学	中南民族大学
河南农业大学	聊城大学东昌学院	重庆工商大学
菏泽学院	牡丹江师范学院	重庆三峡学院
贺州学院	内蒙古民族大学	重庆文理学院
黑龙江八一农垦大学	仲恺农业工程学院	

前 言

现代生物制造已经成为全球性的战略性新兴产业,是世界各经济强国的战略重点,大力发展工业生物技术呈现出前所未有的紧迫性和必要性。工业生物过程是一个集成系统,由上游(菌种)、中游(生物反应过程优化)和下游(分离过程处理)3个部分组成。与上游和中游过程相比,处于整个产品生产过程后端的生物分离技术“难度大、成本高”,但要实现生物技术产品的商品化和产业化,下游技术是关键。近几十年来,生物分离技术的研究开发取得了许多重要成果,随着基因组学、系统生物学、合成生物学等前沿技术的飞速发展,生物分离技术的研究开发将得到更多的重视。

目前,生物分离工程是很多高校的专业必修课之一,对生物分离工程人才的培养也提出了越来越高的要求。为了适应新形势下高校课程建设特点,切实提高课程教学质量,探索创新人才培养模式,满足各院校实际教学要求,华中科技大学出版社在认真、广泛调研的基础上,提出普通高等院校生命科学类教材建设思路,组织编写了“全国普通高等院校生命科学类‘十二五’规划教材”,本编写组有幸参与其中。

参与编写本书的老师来自国内9所高校,并长期从事与生物分离工程相关的教学及研究工作,有着扎实的理论功底和丰富的实践经验。本教材力求准确定位,体现最新教学理念,反映最新教学成果,紧密联系最新的教学大纲和学科发展前沿,将基础理论和实践能力相结合,体现高素质复合型人才培养的要求。为突出实用性、先进性、启发性和创造性,本教材综合、继承了国内经典教材的长处,吸收了国外教材的新知识点,内容上注重实践和创新能力的培养,以有效激发学生的学习热情,也便于教师的教学。

本书编写分工如下:胡永红(南京工业大学,绪论),朱德艳(荆楚理工学院,固液分离技术),韩曜平(常熟理工学院,沉析技术),李华、石晓华(郑州大学,萃取技术),刘凤珠(郑州轻工业学院,膜分离),汪文俊(中南民族大学,吸附与离子交换),王云(江苏大学,色谱分离),冯自立(陕西理工学院,电泳技术),张向前(延安大学,亲和分离、精制),梁剑光(常熟理工学院,清洁生产)。在本书的编写过程中,参考了许多国内外相关的教材和文献资料,引用了一些重要的结论、公式、数据及图表,在此向各位前辈及同行表示深深的谢意。本书的编写得到了相关院校领导及有关部门的关心和大力支持,特别是得到了华中科技大学出版社领导的支持及编辑的悉心指导,在此表示衷心的感谢。

由于现代生物技术发展迅速,加上编者水平有限,不妥之处恳请读者批评指正,不胜感激!

编 者

目 录

第 1 章 绪论 /1

- 1.1 生物分离工程概述 /1
- 1.2 生物分离工程过程的特点 /2
- 1.3 分离操作流程 /3
- 1.4 发展趋势 /5
- 1.5 生物分离工程研究中应注意的问题 /7
- 1.6 结论 /7

第 2 章 固液分离技术 /9

- 2.1 料液预处理 /9
- 2.2 细胞破碎 /21
- 2.3 固液分离 /28
- 2.4 离心技术 /33
- 2.5 全发酵液的提取 /37
- 2.6 固液分离进展 /38

第 3 章 沉析技术 /41

- 3.1 盐析技术 /42
- 3.2 有机溶剂沉析 /47
- 3.3 等电点沉析法 /50
- 3.4 其他沉析法 /51
- 3.5 大规模沉析 /53
- 3.6 沉析技术应用实例 /56

第 4 章 萃取技术 /59

- 4.1 萃取概述 /59
- 4.2 液液萃取 /62
- 4.3 有机溶剂萃取 /63
- 4.4 固体浸取 /74
- 4.5 超临界流体萃取 /83
- 4.6 双水相萃取 /91
- 4.7 液膜萃取 /100

- 4.8 反胶团萃取 /113
- 4.9 萃取技术进展 /120

第5章 膜分离 /125

- 5.1 膜分离概述 /125
- 5.2 压力驱动膜过程 /133
- 5.3 电推动膜过程——电渗析 /138
- 5.4 膜分离装置 /145
- 5.5 影响膜分离速度的主要因素 /150
- 5.6 膜的污染和清洗 /153
- 5.7 应用 /155

第6章 吸附与离子交换 /160

- 6.1 吸附类型 /160
- 6.2 吸附剂 /161
- 6.3 吸附与离子交换的理论 /172
- 6.4 吸附与离子交换的应用 /182

第7章 色谱分离 /187

- 7.1 色谱概述 /187
- 7.2 色谱过程基本术语 /188
- 7.3 凝胶过滤色谱 /192
- 7.4 疏水相互作用色谱 /203
- 7.5 反相色谱 /206
- 7.6 高效液相色谱 /211

第8章 电泳技术 /217

- 8.1 电泳概述 /218
- 8.2 电泳的分类 /222
- 8.3 聚丙烯酰胺凝胶电泳 /224
- 8.4 不连续凝胶电泳 /227
- 8.5 SDS-PAGE 电泳 /230
- 8.6 等电聚焦电泳 /232
- 8.7 二维电泳 /234
- 8.8 毛细管电泳 /235
- 8.9 制备连续电泳 /240
- 8.10 免疫电泳 /240

第9章 亲和分离 /244

- 9.1 生物亲和作用 /245

- 9.2 亲和层析 /247
- 9.3 亲和膜 /257
- 9.4 亲和错流过滤 /258
- 9.5 亲和双水相分配 /259
- 9.6 亲和沉淀 /260

第 10 章 精制 /262

- 10.1 蒸发浓缩 /262
- 10.2 结晶工艺 /269
- 10.3 干燥工艺 /274
- 10.4 应用 /279

第 11 章 清洁生产 /281

- 11.1 清洁生产概述 /281
- 11.2 清洁生产实施 /283
- 11.3 末端治理技术 /285
- 11.4 生物安全与管理 /286

本章要点

本章概述了生物分离工程的定义、在生物工程中的地位、研究内容及发展历程,对生物分离过程的原料特点和产品特点进行了描述。详细描述了分离操作的流程,对今后生物分离工程的发展趋势进行了展望,并提出了生物分离工程研究中应注意的问题。

随着基因组学、系统生物学、合成生物学等前沿技术的飞速发展,工业生物技术体系逐渐形成。经济合作与发展组织(OECD)“面向 2030 生物经济施政纲领”的战略报告预计:到 2030 年,大约有 35% 的化学品和其他工业产品将来自生物制造。欧、美、日等发达地区或国家已先后制定出今后几十年内将用生物过程取代传统化学过程战略计划及目标,以便加速发展清洁、高效和低碳的工业生物制造技术,促进形成与环境协调的战略产业体系。美国明确将“生物制造技术”作为战略技术领域,并列为 2020 年制造技术挑战的 11 个主要方向之一,预期到 2030 年将以生物制品替代 25% 的有机化学品和 20% 的石油燃料;欧洲制定了“工业生物技术 2025 远景规划”,期望于 2025 年取得向基于生物技术型社会转变的实质进展,大幅度降低对化石资源的依赖,显著提高欧洲工业可持续发展能力与全球竞争能力。现代生物制造已经成为全球性的战略性新兴产业,是世界各经济强国的战略重点;大力发展工业生物技术呈现出前所未有的紧迫性和必要性。

生物制品的形成需要生物技术的支撑。工业生物过程是一个集成系统,由上游(菌种)、中游(生物反应过程优化)、下游(分离过程处理)3 个部分组成。中、下游是生物技术与化学工程等多学科发展与结合的产物,渗透了生物学、化学、医药学、工程学等许多学科领域。上游是基础,下游是支撑,实现生物技术产品商品化和产业化,必须将上、下游相结合,优先发展支撑技术。

1.1 生物分离工程概述

1.1.1 生物分离工程定义及其在生物工程中的地位

随着生化新产品的不断涌现,对生物制造过程中的分离技术也提出了越来越高的要求。与上游和中游过程相比,处于整个产品生产后端的生物分离技术“难度大、成本高”,生物分离工程是指从微生物、动植物细胞及其生物化学产品中提取、分离、纯化出有用物质的过程。因为它描述了生物产品分离、纯化过程的原理、方法和设备,且处于整个生物产品生产过程的

后端,所以也称为生物工程下游技术。

分离和纯化是最终获得生物制品的重要环节。生物分离工程技术广泛应用于食品、轻工、医药等领域产品的分离及提纯。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。因此,生物分离过程是生物工程中必不可少的,也是极为重要的环节之一。生物分离纯化技术是生物技术转化为生产力时所不可缺少的重要环节,它的进步对于保持和提高各国在生物技术领域内的经济竞争力至关重要。

1.1.2 生物分离工程的研究内容

生物分离工程的最终目标是实现生物制品的高效分离纯化,因此,生物分离工程的研究内容主要是设计和优化分离过程,根据产品选择合适的分离纯化技术,包括基本方法和基本设备。

研究设计、优化分离操作过程对生物制品的生产十分重要。目前促进生物下游工程发展的研究内容主要有:①新的分离过程和技术的研究与开发;②分离技术的集成化;③生物反应与生物分离过程耦合;④分离设备的更新和现代化。生物分离工程设备是实现生物制品高效率分离和纯化的保证。具体的分离方法和设备应满足高容量、高速度和高分辨率的要求。

1.1.3 生物分离工程的发展历程

从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备酒精以及有机酸分离提取的需要,以及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,虽然这些产品粗产物的含量极低,但对分离所得最终产物的要求却十分高。因此,生物分离工程技术与装备的发展日趋复杂与完善。

1.2 生物分离工程过程的特点

1.2.1 原料特点

生物分离的原料是生物反应过程中的产物,一般是由细胞、细胞内及细胞外代谢产物、残留底物及惰性组分组成的混合液。生物物质的生物活性大多是在生物体内的温和条件下维持并发挥作用的,当遇到高温、pH值变化等环境的变化时极不稳定,易发生活性降低甚至变性失活。

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,且原料液中常存在与目标分子在结构、成分等理化性质上极其相似的分子及异构体,形成用常规方法难以分离的混合物;其次,需处理的物料往往是成分复杂的黏稠多相体系,因此,无论是在热力学特性,还是在流变学特性等方面,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,往往是要求纯度高、无色、结晶以及能长期保存等。

1.2.2 产品特点

随着各种生物全基因组序列的测定以及重组 DNA、组学技术、系统生物学等生物技术的飞速发展,细菌基因组工程、系统代谢工程、合成生物学技术、元基因组学技术、最小基因组细胞工厂、虚拟细胞及人工生命组装技术等重大科技前沿技术为重大工业产品的生物制造展现了无限的潜能。生物制革、生物纺织、生物造纸、生物印染、生物采矿、生物采油等已经成为节能、减排、降耗的新工业模式。一系列新的产品和技术形成了一个庞大的现代工业生物技术产业王国。生物技术药物是生物技术产品的核心部分,如果说典型的石化产品大约 100 种,则典型的制药工业产品则在 200 种以上,其中很多需用生物化学方法来转化。ExxonMobil、DuPont、BASF、DSM、Lonza、Degussa、Roche 等众多全球大型传统化工或制药行业的跨国公司都投入大量资金用于工业生物技术的研发,甚至于 IBM、Microsoft 等 IT 巨头也纷纷涉足工业生物技术研发领域,全球生物基商业活动趋势显示出一个大规模的生物制造产业即将到来。

分离手段多种多样,与化学工业常用的方法相比较(表 1-1),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必须经过小规模试验、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 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

1.3 分离操作流程

1.3.1 一般流程

虽然生物制品的品种繁多,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,绝大多数生物分离技术可分为以下几类。①不溶物的去除,主要是预处理和固液分离。当需要生产胞内产物时,细胞破碎是必须的。②产物的初步纯化,该过程就是产物的提取过程,通过这一阶段的操作,除去与目标产物性质有较大差异的杂质,可采用沉淀、吸附、萃取和膜分离等单元操作。③产物的高度纯化,该过程就是精制过程,这一阶段操作主要除去与目标产物性质相近的杂质。目前这一阶段的单元操作包括柱层析、薄层层析、离子交换、亲和色谱和吸附色谱等。④成品加工处理,这一阶段的单元操作有浓缩、结晶与干燥。以上 4 个步骤的合理组织需视产品的浓度与纯度在分离过程中的变化情况而定。

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。某些新的处理技术则将①、②步骤合并在一起。

图 1-1 是生物分离过程的一般流程。

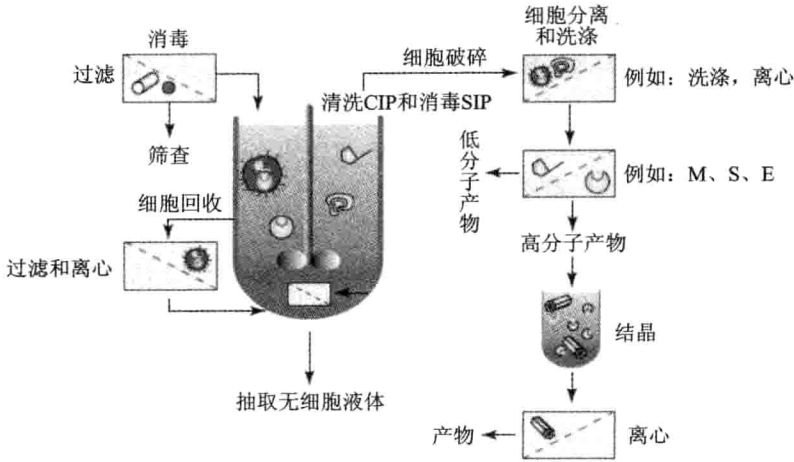


图 1-1 生物分离过程的一般流程

E—蒸发分离过程;M—膜分离过程;S—吸附(ab/吸附)分离的过程

1.3.2 预处理和固液分离

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。

一般而言,由于发酵液和生物溶液是高黏度和非牛顿流体,极难过滤,因此,都需要进行预处理。预处理是使细胞培养液或发酵液中所需的目标产物转移到液相中,同时还除去其他悬浮颗粒(如菌体、絮凝体或培养基残渣等)以及改善滤液的性状,以利于后续各步操作。

目前比较经济有效的固液分离方法是凝聚和絮凝技术,常用于菌体细小而且黏度大的发酵液的预处理中。对于发酵液中的可溶性杂蛋白质,目前用得较多的固液分离方法有盐析法、等电点沉淀法、加热法、溶剂沉淀法、吸附法等。

1.3.3 细胞破碎及碎片分离

一些微生物在代谢过程中将产物分泌到细胞之外的液相中(称胞外酶),如细菌产生的碱性蛋白酶,霉菌产生的糖化酶等,提取过程只需直接采用过滤和离心进行固液分离,然后将获得的澄清滤液再进一步纯化即可。但是,还有很多生化物质位于细胞内部(称胞内酶),如青霉素酰化酶、碱性磷酸酶、延胡索酸酶、二氢嘧啶酶、天冬氨酸酶、乙醇脱氢酶等,必须在纯化以前先将细胞破碎,使细胞内产物释放到液相中,然后再进行提纯。

细胞破碎(即破坏细胞壁和细胞膜)能使胞内产物获得最大程度的释放。通常细胞壁较坚韧,细胞膜由于强度较差易受渗透压冲击而破碎,因此破碎的阻力来自细胞壁。各种微生物的细胞壁的结构和组成不完全相同,主要取决于遗传和环境等因素,因此,细胞破碎的难易程度不同。另外,不同的生化物质,其稳定性亦存在很大差异,在破碎过程中应防止其变性或被细

胞内存在的酶水解,因此选择适宜的破碎方法十分重要。

细胞破碎主要分为机械破碎法和非机械破碎法两大类。机械破碎法是通过机械运动所产生的剪切力作用,使细胞破碎的方法。非机械破碎法是采用化学法、酶解法、渗透压冲击法、冻结融化法和干燥法等破碎细胞的方法。根据不同生物以及不同产品的要求,选择不同的细胞破碎方法。选择合适的破碎方法需要考虑下列因素:细胞的数量,所需要的产物对破碎条件(温度、化学试剂、酶等)的敏感性,要达到的破碎程度及破碎所需要的速度,尽可能采用最温和的方法,具有大规模应用潜力的生物产品应选择适合于放大的破碎技术。

1.3.4 初步纯化

产物的初步纯化过程就是产物的提取过程,通过这一阶段的操作,除去与目标产物性质有较大差异的杂质,使产物的浓度大幅度提高。这是一个多单元协同操作的过程,可采用沉淀、吸附、萃取和膜分离等单元操作。

1.3.5 高度纯化

产物的高度纯化过程就是其精制过程,这一阶段操作主要是除去与目标产物性质相近的杂质。在这个过程中常常采用对目标物具有高选择性的分离方法,能够有效完成这一生物分离过程的技术首选色谱分离技术。目前这一阶段的单元操作包括柱层析、薄层层析、离子交换、亲和色谱和吸附色谱等。

1.3.6 成品加工处理

经过上述几个阶段的分离纯化过程,初步获得所需的生物产品,要进入市场流通阶段,还需要根据产品的用途、质量要求进行最后的加工及产品的精制。这一阶段的单元操作有浓缩、结晶与干燥。

1.3.7 工艺选择依据

生物分离过程往往成本很高,回收与提纯的操作很复杂,需要的设备也多,所以分离过程常占有很大的投资比例。必须仔细分析设计的生物分离过程,以提高产品的质量,提高收率,降低成本。在工艺选择上需要认真考虑的问题有:①产品价格,产品的成本是分离纯化工艺设计的首要考虑因素;②产品质量标准;③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;④流程中产品与杂质流经的途径是否合理;⑤不同分离方案的技术经济指标的比较;⑥环保和安全要求。在设计生物分离过程时,要注意废液的排放和危险生物物品的处理。

1.4 发展趋势

1.4.1 生物分离工程的发展趋势

我国在工业生物技术领域虽然取得了一些成就,甚至某些方面在国际上处于领先水平,但

由于缺乏工业生物过程的规模放大、集成创新及系统设计与优化,导致生物质转化效率低、高排放等问题。工业生物过程的系统集成已成为制约我国生物技术产业发展的主要瓶颈。

过程强化已成为过程工业重要前沿发展方向。过程强化是指“在实现既定生产目标前提下,大幅度减小生产设备尺寸,简化工艺流程,减少装置数目,使工厂布局更加紧凑合理,单位能耗、废料、副产品显著减少”。工业生物过程作为一种重要的过程工业,生物过程强化必将成为提高工业生物过程效率的重要手段,可以使得生物过程的效率成百上千倍地提高。其核心问题是物质/能量微观传递的混合规律及其与反应过程协同性的机制。

反应/分离耦合是生物过程强化的重要手段。在线分离可以有效地移走生物反应过程中出现的反馈抑制物,推动反应平衡向产物方向移动,显著提高目标产物产率,并可实现连续或半连续生产。生物分离强化反应过程中,生物催化剂对分离单元操作的耐受性、分离机制本身对主/副产物的选择性、原位提取的容量、分离机制的再生性是生物分离强化过程中要解决的关键问题。

分离介质性能的好坏是生物分离效率高低与否的关键,因此,进行新型、高效的分离介质的研制是生物分离工艺改进的热点。色谱分离技术已成为目前行之有效和应用广泛的分离技术,膜分离技术具有选择性高、分离效率高、不制造污染源等优点,推广应用膜分离技术也是今后的发展方向。

1.4.2 生物分离工程的清洁生产

生物工程工厂的主要废渣、废水来自于原料处理后剩下的废渣,分离与提取主要产品后的废母液、废糟,以及生产过程中各种冲洗水、冷却水。近年来,通过工艺改革、回收和综合利用等方法,在减少或消除危害性较大的污染物方面已做了大量工作。用于治理污染的投资也在逐年增加,各种治理污染的装置相继投入运行。然而,从总体上看,生物工程行业的污染仍然十分严重,治理形势相当严峻。实施清洁生产有着积极、重要的意义。清洁生产是实现可持续发展战略的需要,是从根本上抛弃了末端治理的弊端,强调在污染产生之前就予以消减污染物的产生和减少对环境不利影响的一种思维和理念。

近10年来,在我国政府相关清洁生产政策的指导下,生物工程发酵工厂的清洁生产取得了可喜的成绩。如味精的生产中,先用微滤膜除去发酵液中的湿菌,再用超滤膜系统截留微滤透过液中的溶解性蛋白质。采用纳滤系统对超滤透过液中的有效成分进行浓缩,纳滤透过液回用,浓缩液等电点结晶,结晶母液用纳滤系统浓缩,透过液作为清液可回用于发酵。采用该清洁生产技术,整个工艺的生产时间缩短了6~8h,收率达95%,比传统工艺高7%,最主要的是工艺无污水的产生,实现了清洁生产。而在青霉素的生产过程中,主要采用液膜法提取青霉素工艺或双水相萃取提取青霉素工艺。膜分离是一种选择性高、操作简单和能耗低的分离方法,它在分离过程中不需要加入任何别的化学试剂,无新的污染源。在水相体系从发酵液中直接提取青霉素,工艺简单,收率高,避免了发酵液的过滤预处理和酸化操作,不会引起青霉素活性的降低;所需的有机溶剂量大大减少,更减少了废液和废渣的排放量。

1.5 生物分离工程研究中应注意的问题

1.5.1 加强基础理论研究

在基础理论研究方面,生物催化剂对分离单元操作的耐受性、分离机制本身对主/副产物的选择性、原位提取的容量、分离机制的再生性是生物分离强化过程中要解决的关键问题。此外,应大力开展分离过程热力学和动力学基础理论的研究,非理想液体中溶质与添加介质之间选择性及其影响因素的研究,以及生物分离过程数学模型的建立。

1.5.2 不同分离技术的协同创新

在成熟技术的基础上,吸取不同分离技术的优点,不同分离方法相互渗透、协同创新,发展交叉分离技术,形成新的分离方法。此外,上游的工艺设计应尽量为下游的分离纯化创造条件,注意生物工程上游与下游的结合,提高生产效率。

1.5.3 生产过程中需注意的问题

生产的最终目标是以最少的成本得到最好的产品。因此,在生产过程中,应尽量降低成本。生物分离过程的成本与样品的体积或流速紧密相关。在进入纯化和制剂成型阶段前,应尽量减少样品体积,初步得到目标产品,其实质就是除去水分。由于蒸发的能耗非常高,对于易分解或者沸点比水高的目标产品,可以通过沉淀、萃取、吸附或亲和作用将目标产品转移到另一相中。降低成本的另外一个方面可以通过减少生产步骤、简化生产工艺来进行。尽早提取目标组分可以减少所需分离步骤,简化分离过程。结晶和沉淀就是得到粗品的非常经济的方法,而产品的进一步纯化可以采用溶解或重结晶等操作。此外,将生物反应过程和分离过程集成可以提高生产效率、减少生产成本,这也是今后的发展方向。

生物分离工艺流程的设计必须注意节能、环保和可持续发展,尽量减少废物排放。从过程的观点来看,最简单的方法就是不让废料在过程中生成,这就要求人们关注清洁生物分离过程的设计。比如:①减少蛋白质生产中缓冲液的更换次数;②使用可再生或可循环的溶剂、色谱填料和膜材料;③尽可能使用连续生产过程而非批式生产过程,减少每一轮循环中产生的细胞废弃物;④尽量减少处理步骤。此外,还应考虑生物过程所需的设备、材料对环境的影响等问题。

1.6 结论

考虑到生物分离过程的复杂性,本书将分离过程分为4个阶段。①不溶物的去除,主要是预处理和固液分离。当需要生产胞内产物时,细胞破碎是必要的操作。②产物的初步纯化,该过程就是产物的提取过程,通过这一阶段的操作,除去与目标产物性质有较大差异的杂质,可采用沉淀、吸附、萃取和膜分离等单元操作。③产物的高度纯化,该过程就是精制过程,这一阶段操作主要除去与目标产物性质相近的杂质。目前这一阶段的单元操作包括柱层析、薄层层

析、离子交换、亲和色谱和吸附色谱等。④成品加工处理,这一阶段的单元操作有浓缩、结晶与干燥。此外,本书中最后一章还特别介绍了产品的清洁生产。

(本章由胡永红编写,李华初审,刘凤珠复审)

习题

1. 什么是生物分离工程?
2. 简述生物分离工程在生物工程中的地位。
3. 简述生物分离工程的发展进程。
4. 生物分离工程的特点有哪些?
5. 生物分离操作的一般流程是什么?
6. 生物分离工艺的选择依据有哪些?
7. 简述生物分离工程的发展趋势。
8. 什么是生物分离工程的清洁生产?
9. 生物产品生产过程中应注意哪些问题?

参考文献

- [1] 付卫平. 工业生物技术的现状、发展趋势及规划[J]. 生物加工过程, 2013, 11(2): 1-5.
- [2] 谭天伟, 秦培勇. 工业生物技术的过程科学研究概况及发展趋势[J]. 生物加工过程, 2013, 11(2): 6-13.
- [3] 张勋, 章银良, 刘红伟. 生物产品分离工程进展[J]. 中国食品学报, 2002, 2(4): 77-81.
- [4] 田瑞华. 生物分离工程[M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [5] 孙彦. 生物分离工程[M]. 2版. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [6] 欧阳平凯, 胡永红, 姚忠. 生物分离原理及技术[M]. 2版. 北京: 化学工业出版社, 2010.
- [7] Weatherley L R. Engineering processes for bioseparations[M]. Boston: Butterworth-Heinemann, 1995.
- [8] Keller K, Friedmann, Boxman A. The bioseparation needs for tomorrow[J]. Trends in biotechnology, 2001, 19(11): 438-441.
- [9] Garcia A A, Bonen M R, Ramirez-vick J, et al. 生物分离过程科学[M]. 刘铮, 詹劲, 译. 北京: 清华大学出版社, 2004.