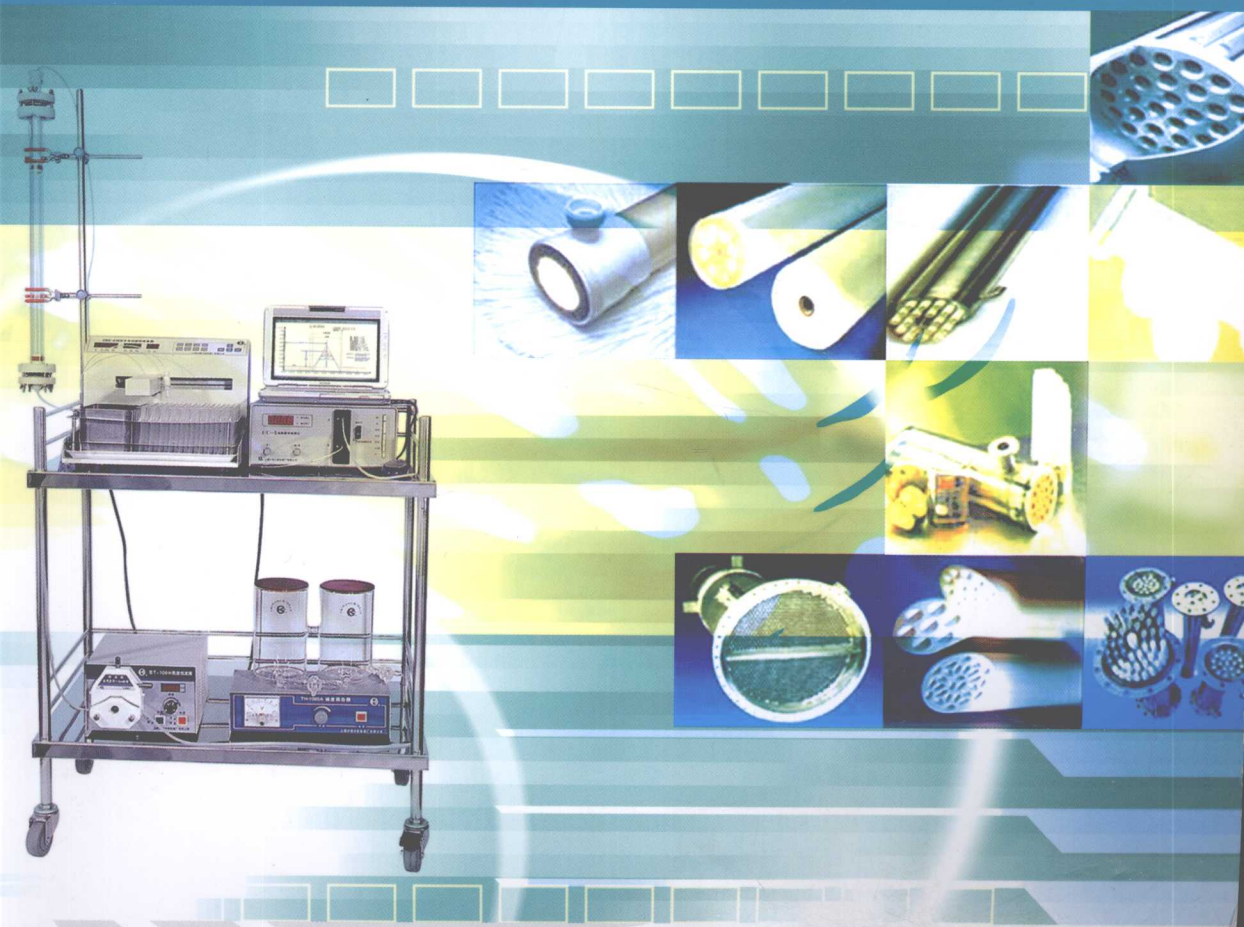


教育部高等学校高职高专生物技术类教学指导委员会“十一五”审定教材  
| 高等职业教育生物技术类专业系列教材

# 生物分离技术

SHENGWU FENLI JISHU

李万才 主编





教育部高等学校高职高专生物技术类教学指导委员会  
“十一五” 审定教材

高等职业教育生物技术类专业系列教材

# 生物分离技术

SHENGWU FENLI JISHU

李万才 主 编

 中国轻工业出版社

## 图书在版编目 (CIP) 数据

生物分离技术/李万才主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2009. 8

教育部高等学校高职高专生物技术类教学指导委员会  
“十一五” 审定教材

(高等职业教育生物技术类专业系列教材)

ISBN 978-7-5019-7000-1

I. 生… II. 李… III. 生物工程 - 分离 - 高等学校:  
技术学校 - 教材 IV. Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 085338 号

责任编辑: 江 娟

策划编辑: 江 娟 责任终审: 唐是雯 封面设计: 锋尚设计

版式设计: 王培燕 责任校对: 杨 琳 责任监印: 马金路

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 三河市世纪兴源印刷有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2009 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 720 × 1000 1/16 印张: 14

字 数: 282 千字

书 号: ISBN 978-7-5019-7000-1 定价: 25.00 元

邮购电话: 010-65241695 传真: 65128352

发行电话: 010-85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: [club@chlip.com.cn](mailto:club@chlip.com.cn)

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

81366J2X101ZBW

## 《生物分离技术》编委会

**主 编** 李万才

**副主编** 张健泓 杨洪元

### 参编人员

李万才 滨州职业学院

张健泓 广东食品药品职业学院

杨洪元 广西职业技术学院

刘 慧 陕西杨凌职业技术学院

刘 健 滨州职业学院

赵小平 重庆工贸职业技术学院

### 审 稿 人

王德芝 信阳农业高等专科学校

刘大程 长春医学高等专科学校

## 前 言

近年来,我国的高等职业教育发展迅速。根据高职教育的教学模式和人才培养目标要求,高职教育以服务为宗旨,以就业为导向,突出“在做中学,在学中做,边学边做”的特点,以理论知识“必需、够用”的原则,我们编写了本教材。

本书主要内容吸纳了行业的新知识、新工艺、新技术和新方法;在编写过程中突出实践特色,以生物分离与纯化技术实验方法操作为主线,每一单元在讲解理论的同时,都有配套的、针对性强的实验,以利于理论与实践的密切结合。

全书共分九个单元:第一单元介绍了生物分离技术的特点、一般工艺过程和方法选择原则;从第二单元开始到第八单元分别介绍了原料的预处理技术、萃取技术、固相析出分离技术、吸附与离子交换技术、膜分离技术、色谱分离技术和浓缩干燥技术等常用的生物分离与纯化技术;第九单元是实验实训,共安排了15项操作性强、实验效果好的分离与纯化实验,以利于学生巩固基本理论知识,更接近将来的就业岗位实际情况。

本书编者都是多年从事生物分离技术教学有经验的教师。滨州职业学院的李万才担任主编,广东食品药品职业学院的张健泓和广西职业技术学院的杨洪元担任副主编,陕西杨凌职业技术学院的刘慧、滨州职业学院的刘健、重庆工贸职业技术学院的赵小平参加了编写工作,信阳农业高等专科学校王德芝教授、长春医学高等专科学校刘大程教授进行了审稿。

为了使本书适应我国高等职业教育教学需要,使本书在生物技术和制药类专业高职教学中具有衔接性,编者参考了大量国内外有关书籍和文献,在此一并表示感谢!

由于作者水平有限,难免会有错误与不妥之处,敬请广大读者与同仁批评指正。

编 者  
2008年12月

# 中国轻工业出版社生物专业教材目录

## 本科教材

- 生物制药工程专业英语 37.00 元  
工业生物技术专业英语 29.00 元  
固态发酵工程原理及应用 30.00 元  
生化工程（第二版） 30.00 元  
生物化学实验 22.00 元  
生物化学学习指导 32.00 元  
生物工程工厂设计概论 36.00 元  
生物制药技术（第二版） 45.00 元  
氨基酸工艺学 42.00 元  
生物工艺技术 35.00 元  
微生物学 35.00 元  
微生物学实验技术 28.00 元  
酶工程 34.00 元  
酶学原理和酶工程 40.00 元  
生物工程专业实验（天津市高校“十五”规划教材） 25.00 元  
生物工业下游技术（普通高等教育“九五”国家级重点教材） 26.00 元  
微生物工程原理 40.00 元  
生物工程分析与检验 34.00 元  
生物化学 64.00 元  
发酵生物技术专业英语 20.00 元  
生物工程设备 50.00 元  
工业发酵分析 20.00 元  
生物制药技术 38.00 元  
发酵工业概论 30.00 元  
生物化学 40.00 元  
氨基酸发酵工艺学 42.50 元  
细胞生物学 32.00 元  
生物工程概论 12.00 元  
代谢控制发酵 32.00 元  
生化工程 14.00 元  
微生物学（第二版） 34.50 元

环境生物技术 30.00 元

### 高职高专教材

高职制药/生物制药系列

临床医学概要 28.00 元

医药商品学 48.00 元

药物化学 26.00 元

药品检验技术 26.00 元

中药学概论 30.00 元

生物制药工艺学 26.00 元

制药设备 26.00 元

药事管理与法规 39.00 元

药理学 32.00 元

药物制剂技术（普通高等教育“十一五”国家级规划教材） 34.00 元

药品营销原理与实务 36.00 元

药剂学 35.00 元

药品检验 35.00 元

高职生物技术系列

生物检测技术 24.00 元

发酵工艺原理 30.00 元

生物化学技术 28.00 元

生物检测技术 24.00 元

食用菌生产技术 35.00 元

现代生物技术概论 28.00 元

植物组织培养 28.00 元

微生物学 40.00 元

氨基酸发酵生产技术 30.00 元

生物化学 30.00 元

化工原理 48.00 元

有机化学 20.00 元

发酵工艺教程 24.00 元

发酵食品工艺学 28.00 元

### 中职教材

啤酒工艺学 36.00 元

生物化学 15.50 元



发酵工厂设备 45.25 元

微生物学 15.00 元

酒精工艺学 18.00 元

发酵调味品工艺学 20.00 元

### 职业资格培训教程

白酒酿造工教程（上） 26.00 元

白酒酿造工教程（中） 22.00 元

白酒酿造工教程（下） 38.00 元

购书办法：各地新华书店，本社网站（[www.chlip.com.cn](http://www.chlip.com.cn)）、当当网（[www.dangdang.com](http://www.dangdang.com)）、卓越网（[www.joyo.com](http://www.joyo.com)）、轻工书店（联系电话：010-65128352），我社读者服务部，联系电话：010-65241695。

# 目 录

<b>第一单元 绪论</b> .....	( 1 )
第一节 生物分离的概念及生物材料的来源 .....	( 1 )
第二节 生物分离技术的特点 .....	( 2 )
第三节 生物分离的一般工艺过程 .....	( 3 )
第四节 生物分离技术方法选择原则 .....	( 5 )
第五节 生物分离技术的发展 .....	( 6 )
复习思考题 .....	( 8 )
<b>第二单元 原料预处理技术</b> .....	( 9 )
第一节 概述 .....	( 9 )
第二节 预处理的目的是方法 .....	( 10 )
第三节 细胞破碎技术 .....	( 12 )
第四节 离心沉降与过滤分离技术 .....	( 17 )
典型实例 从动物组织提取基因组 DNA .....	( 26 )
复习思考题 .....	( 27 )
<b>第三单元 萃取技术</b> .....	( 28 )
第一节 萃取基本概念和原理 .....	( 28 )
第二节 双水相萃取 .....	( 34 )
第三节 超临界流体萃取 .....	( 39 )
第四节 中草药有效成分的提取 .....	( 45 )
阅读材料 超声波提取原理、特点与应用介绍 .....	( 59 )
典型实例 青霉素的提取和精制 .....	( 61 )
复习思考题 .....	( 64 )
<b>第四单元 固相析出分离技术</b> .....	( 65 )
第一节 沉淀法 .....	( 65 )
第二节 结晶技术 .....	( 72 )
典型实例 胰岛素分离纯化工艺 .....	( 85 )
复习思考题 .....	( 86 )
<b>第五单元 吸附与离子交换技术</b> .....	( 87 )
第一节 吸附法 .....	( 87 )
第二节 离子交换技术 .....	( 96 )
典型实例 赖氨酸的分离纯化工艺 .....	( 103 )

复习思考题 .....	(106)
<b>第六单元 膜分离技术 .....</b>	<b>(107)</b>
第一节 概述 .....	(107)
第二节 膜分离技术在生物分离纯化中的选择与应用 .....	(113)
第三节 反渗透 .....	(122)
复习思考题 .....	(125)
<b>第七单元 色谱分离技术 .....</b>	<b>(126)</b>
第一节 概述 .....	(126)
第二节 色谱分离理论基础 .....	(128)
第三节 常见色谱分离技术 .....	(133)
第四节 高效液相色谱分离技术 .....	(148)
典型实例 1 生长素分离纯化工艺 .....	(153)
典型实例 2 白细胞介素-2 分离纯化工艺 .....	(155)
复习思考题 .....	(156)
<b>第八单元 浓缩干燥技术 .....</b>	<b>(157)</b>
第一节 浓缩技术 .....	(157)
第二节 干燥技术 .....	(170)
复习思考题 .....	(178)
<b>第九单元 实验实训 .....</b>	<b>(180)</b>
实验实训 1 酵母细胞的破碎及破碎率的测定 .....	(180)
实验实训 2 细胞核与线粒体的分级分离 .....	(181)
实验实训 3 青霉素的萃取与萃取率的计算 .....	(182)
实验实训 4 胰凝乳蛋白酶的制备 .....	(184)
实验实训 5 牛乳中酪蛋白和乳蛋白素粗品的制备 .....	(185)
实验实训 6 吸附法制备细胞色素 C 粗品 .....	(186)
实验实训 7 超氧化物歧化酶 (SOD) 的制备 .....	(188)
实验实训 8 离子交换法提取 L-精氨酸 .....	(190)
实验实训 9 黄酮类物质的分离纯化 .....	(192)
实验实训 10 大鼠肝总磷脂的提取及薄层色谱分析 .....	(194)
实验实训 11 双水相萃取分离酿酒酵母中的延胡索酸酶 .....	(196)
实验实训 12 多糖的分离纯化 .....	(199)
实验实训 13 生物碱的分离纯化 .....	(201)
实验实训 14 土霉素的提取与分离 .....	(205)
实验实训 15 HPLC 法测定复方磺胺甲唑片中的磺胺甲噁唑和 甲氧苄啶 .....	(208)
<b>参考文献 .....</b>	<b>(210)</b>

# 第一单元 绪 论

## [学习目标]

1. 生物分离技术的基本概念。
2. 生物材料的来源和加工特性。
3. 生物分离的一般工艺过程。

## 第一节 生物分离的概念及生物材料的来源

### 1. 生物分离的概念

生物分离是生物工程的一个重要组成部分，它是描述回收生物产品分离过程原理和方法的一个术语，指从发酵液或酶反应液或动植物细胞培养液中分离、纯化生物产品的过程。它是生物技术转化为生产力所不可缺少的重要环节，其技术进步程度对于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。一般生物产物的生产过程称为生物加工过程，包括优良生物物种的选育和生物反应（酶反应、微生物发酵、动植物细胞培养等），生产粗原料的过程，及其后的目标产物的分离纯化过程（也称为下游加工过程）。生物分离过程包括目标产物的提取、浓缩、纯化及成品化等过程。生物分离过程的重要性主要体现在生物产物的特殊性、复杂性和对生物产品的严格要求上，导致生物分离与纯化过程的成本往往占整个生物加工过程成本的大部分。

### 2. 生物材料的来源

生物分离所用的原料称为生物材料。生物材料是指来源于生物中天然的或利用现代生物工程技术以生物为载体合成的，从氨基酸、多肽等低相对分子质量化合物到病毒、微生物活体制剂等具有复杂结构和成分的一类物质。它们存在于生物体内直接参与生物机体新陈代谢过程，并能与生物各种功能结合产生生物活化效应，因此也称为生物活性物质，而在产业中的生物物质的制品被称为生物产品。生物材料的来源有以下几类。

(1) 动物脏器 以动物组织或器官为原料可制备 100 多种生物药物及生物制品。动物组织或器官的主要来源是猪，其次是牛、羊、家禽和鱼类等的脏器。

(2) 血液、分泌物和其他代谢物 血液占体重的 6% ~ 10%，血液中水分占 80%，干物质占 20%。血液资源丰富，可用于生产药品、生化试剂、营养食品、医用化妆品及饲料添加剂等。以人血为原料生产的制品有人血制剂、免疫球蛋白、血纤溶酶原、人血清蛋白、SOD 等。以其他动物为原料生产的制品有凝血

酶、血活素、血红蛋白、血红素、SOD 等。

尿液、胆汁、蜂毒等也是重要的生物材料。由尿液可制备尿激酶、激肽释放酶、蛋白抑制剂等。由胆汁可生产胆酸、胆红素等。

(3) 海洋生物 海洋生物是开发防治常见病、多发病和疑难病的重要生物材料。用于生产生物制品的海洋生物主要有海藻动物、鱼类、软体动物等。

(4) 植物 药用植物种类繁多，除含有生物碱、强心苷、黄酮、皂苷、挥发油、树脂等有效药理成分外，还含有氨基酸、蛋白质、酶、激素、糖类、脂类等众多生化成分。由植物材料寻找有效生物药物已逐渐引起重视，品种逐年增加，如伴刀豆球蛋白、天花粉蛋白、人参多糖等。

(5) 微生物 微生物种类繁多、资源丰富，其代谢产物有 1300 多种，应用前景很广。以微生物为资源，除了可生产初级代谢产物，如氨基酸和维生素外，还可用于生产许多次级代谢产物，如在抗菌治疗方面有青霉素和四环素等，在抗癌、抗真菌感染方面有丝裂霉素、灰黄霉素等。生物工程中应用的微生物主要有细菌、放线菌、真菌和酵母菌。

## 第二节 生物分离技术的特点

生物分离是指从动植物组织、微生物培养产物或细胞培养产物中分离及纯化目标产物的过程。例如，从牛乳中分离乳清、单克隆抗体以及生产疫苗等。这些看似互不关联的产品，其生产过程却有很多共同点。大部分的产物都存在于液相中，而且与其他杂质共存。正是由于这一共同特点，才产生了生物分离这一技术。系统地研究生物分离与纯化过程，能够揭示其内在的分离原理。利用这些原理，可以设计目标产物的分离与纯化方法。

由于生物物质具有生理活性或药理作用，因此在分离与纯化的过程中必须根据目标产物的特点，在保持其生物功能的前提下进行分离与纯化操作。生物分离与纯化的特点主要体现在以下几个方面。

### 1. 目标产物浓度低，纯化难度大

原料液中目标产物的浓度一般都很低，有时甚至是极微量的，如胰腺中脱氧核糖核酸酶的含量为 0.04%、胰岛素含量为 0.002%，胆红素在胆汁中含量为 0.05% ~ 0.08%，但杂质的含量却相对较高，存在着危险物质（病毒、热原等）。这样就有必要对原料液进行高度浓缩。分离纯化和修饰决定产品纯度、有效性、回收率和安全性。目前我国除中药外 90% 以上的药品分离纯化工艺为引进或仿制的。发酵液的浓度和产品价格之间的关系见图 1-1。

### 2. 活性物质性质不稳定，操作过程容易失活

生物物质的生理活性大多是在生物体内的温和条件下维持并发挥作用的，目标产物大多数对热、酸、碱、重金属、pH 以及各种理化因素都比较敏感，容易

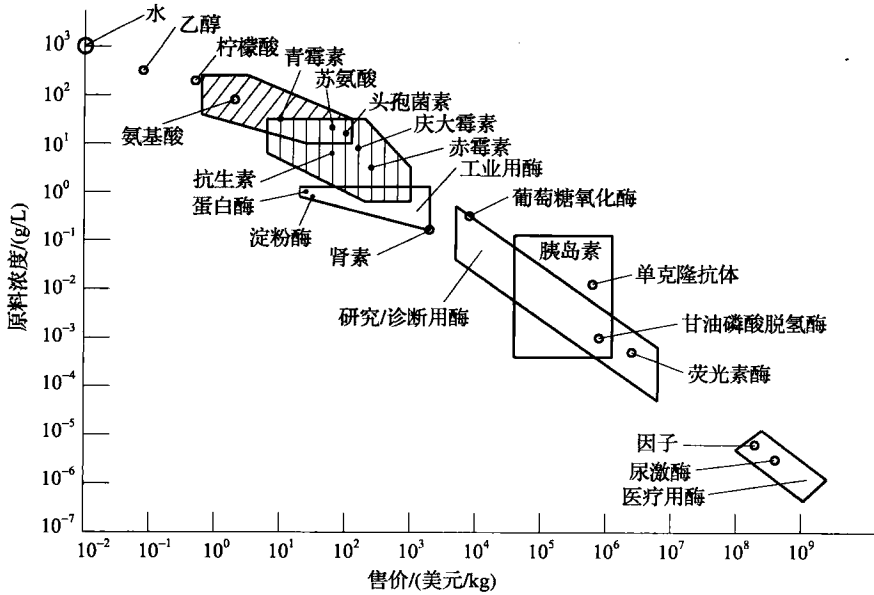


图 1-1 发酵液的浓度和产品价格之间的关系

失活。外部条件不稳定或急剧发生变化，容易引起生物活性的降低或丧失。因此，为维持生物物质的活性，对分离与纯化过程的操作条件有严格的限制。

### 3. 生物材料中的生化组分数量大，分离困难

目标产物与杂质的理化性质如溶解度、相对分子质量、等电点等都十分相近，所以分离比较困难。

### 4. 生物材料容易变质，保存困难

生物材料容易腐败、染菌、被微生物的活动所分解或被自身的酶所破坏，甚至机械搅拌、金属器械、空气、日光等对生物物质的活性都会发生影响。因此，生物分离方法的正确选择，对维持目标产物的稳定性起着至关重要的作用。

### 5. 生物产品质量标准高

生物产品一般用作医药、食品和化妆品，与人类生命息息相关。因此，要求分离与纯化过程必须除去原料液中的热原及具有免疫原性的异体蛋白等有害人体健康的物质，并且防止这些物质在操作过程中从外界混入。

## 第三节 生物分离的一般工艺过程

由于生物材料的品种多，原料来源广泛，反应过程多种多样，使其生成的含有目的成分的混合物组成复杂，分离与纯化工艺及设备各不相同。按生产过程的性质划分，分离与纯化工艺过程可划分为四个阶段，即分离与纯化前的预处理、提取、精制、成品加工。其一般工艺过程和典型药物生产工艺过程及牛生长激素分离提取工艺如图 1-2 和图 1-3、图 1-4 所示。

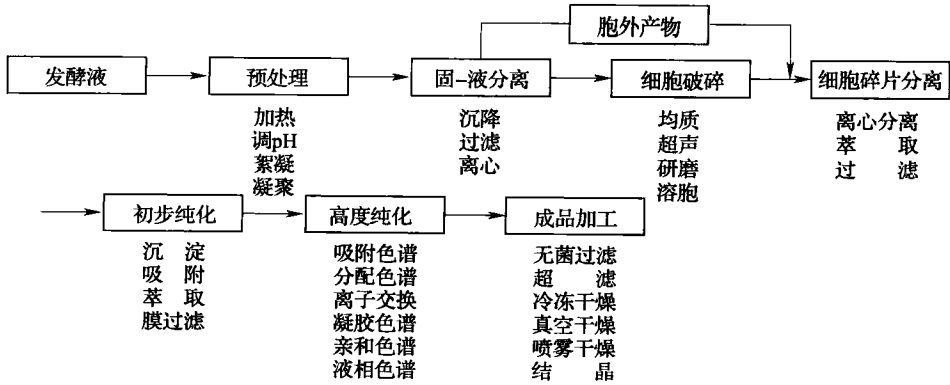


图 1-2 生物分离的一般工艺过程

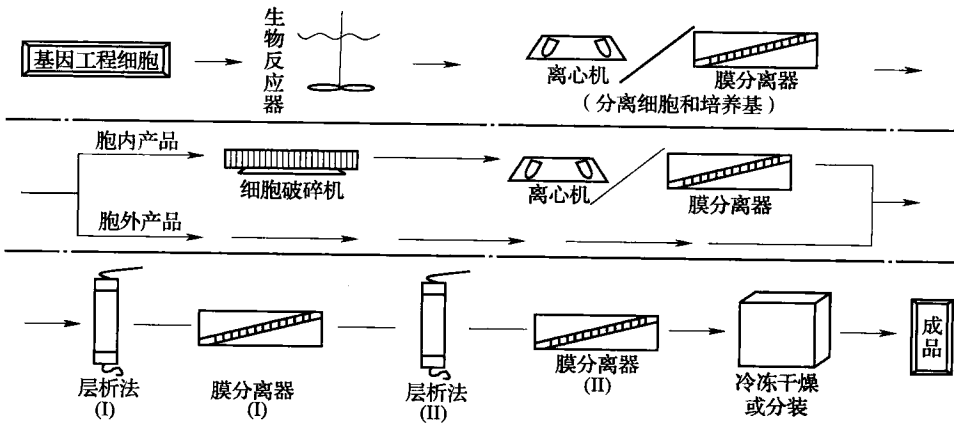


图 1-3 典型药物生产工艺过程

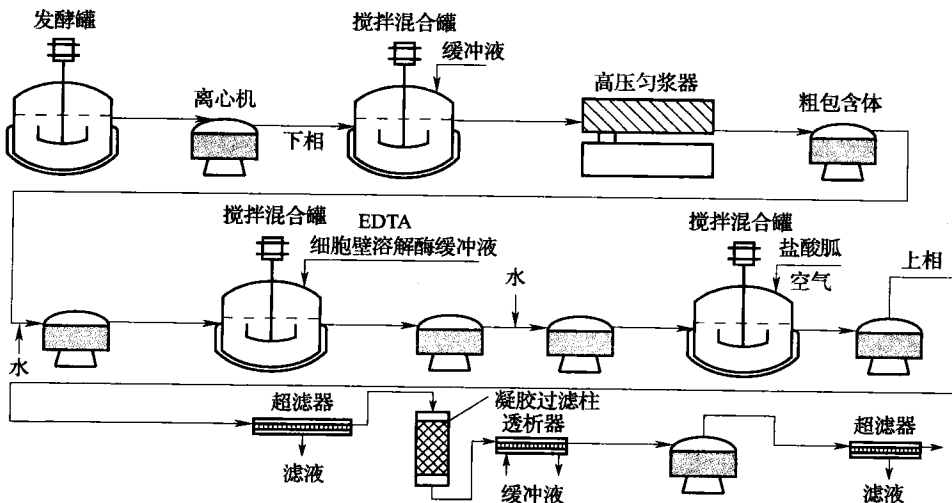


图 1-4 牛生长激素分离提取工艺

### 1. 分离纯化前的预处理

预处理为分离纯化操作的第一步。利用凝聚、絮凝、沉淀等技术，除去部分杂质，改变流体特性，以利于固-液分离；经离心分离、膜分离等固-液分离操作后，分别获得固相和液相。若目标药物成分存在于固相（如胞内产物），则将收集的固相（如细胞）进行细胞破碎和细胞碎片的分离，最终使目标药物成分存在于液相中，便于下一步的提取分离操作。

### 2. 提取

提取为分离纯化操作的主要步骤。利用超滤、萃取、吸附、离子交换等分离技术进行提取操作，除去与产物性质差异较大的杂质，提高目标药物成分的浓度，为下一步的精制操作奠定基础。

### 3. 精制

精制为药物分离与纯化操作的关键步骤。采用结晶、色谱分离、冷冻干燥等对产物有较高选择性的纯化技术，除去与目标药物成分性质相近的杂质，达到精制的目的。

### 4. 成品加工

根据药品应用的要求和《中华人民共和国药典》的质量标准，精制后还需进行无菌过滤和去热原、干燥、造粒、分离过筛等成品加工操作，经检验合格后包装，完成生产过程。

上述药物分离与纯化工艺过程可划分为两部分：初步分离和高度纯化。其中包含多种分离纯化技术，其中一些分离纯化技术既可用于初步分离过程，又可用于高度纯化过程。随着药品生产中反应技术的发展，对药物分离与纯化技术提出了更高的要求，将会有许多新型分离与纯化技术被开发应用。

## 第四节 生物分离技术方法选择原则

### 1. 产品的规格

产品的规格（或称技术规范）是用成品中各类杂质的最低存在量来表示的，它是确定纯化要求的程度以及由此而生的分离与纯化过程方案选择的主要依据。

### 2. 生产规模

物料的生产规模在某种程度上决定着被采用的过程。

### 3. 进料组成

除了产品的规格以外，进料组成也是影响分离过程的主要原因之一。

### 4. 产品的形式

最终产品的外形特征是一个重要的指标，必须与实际应用要求或规范相一致。



### 5. 产品的稳定性

通常用调节操作条件的办法,使由于热、pH 或氧化所造成的产品降解减少到最低程度。

### 6. 物性

表征产物的物理性质,对分离过程的设计是必需的。主要物理性质包括以下几点。

(1) 溶解度 溶解度如何受 pH、盐等影响。将指示沉淀过程或吸附过程怎样进行控制才最好。

(2) 分子电荷 分子电荷随 pH 而变化,可以指示如何有效地进行离子交换和选择用阳离子交换树脂还是阴离子交换树脂,同样可以指示离子对萃取的可能性。

(3) 分子大小 对于蛋白质,分子大小可以指示凝胶过滤操作与膜过滤操作哪种可行。

(4) 功能团 功能团为稳定条件、提取剂及亲和吸附剂的选择提供依据。

(5) 稳定性 适宜的 pH 范围、温度范围、半衰期(在保证目标产物稳定性的条件下可用来降解或沉淀杂质)。

(6) 挥发性 仅是小分子物质选择分离过程的重要依据。

### 7. 危害性

产品本身、工艺条件、处理用化学品,应用的微生物细胞都存在着潜在的危害。由于在生物系统中,大量地使用含水液流所以导致的危害较轻,但是,对于在萃取、沉淀和结晶中使用的溶剂,必须引起注意。总体来说,在常温和常压条件下,出现在生物物质加工过程中的危害是较低的。

### 8. 废水

随着操作规模的扩大,废水处理变得更加困难,从而需要重新评估使用的过程。生物量是生化需氧量(BOD)的主要来源,它将通过废水处理成本的大小来影响过程的经济性。

### 9. 分批或连续过程

发酵或生物反应过程可以用分批或连续的方式操作。由于要与这个条件相适应,所以下游加工过程的选择受到它们的限制。某些单元操作,例如色谱分离操作,在分批操作上是可行的,若想与连续发酵过程相适应,则必须进行改进。

## 第五节 生物分离技术的发展

随着生物产品生产中反应技术的不断创新和发展,反应生成的混合物成分越来越复杂,而药品质量要求不断提高。另外,人们的环保和节能意识进一步增强,都对药物分离与纯化技术提出愈来愈高的要求,从而促使传统分离技术的提