



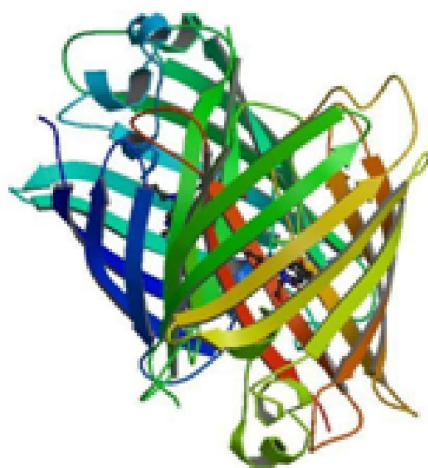
三峡大学
CHINA THREE GORGES UNIVERSITY

《生物分离工程》

Bioseparation Engineering

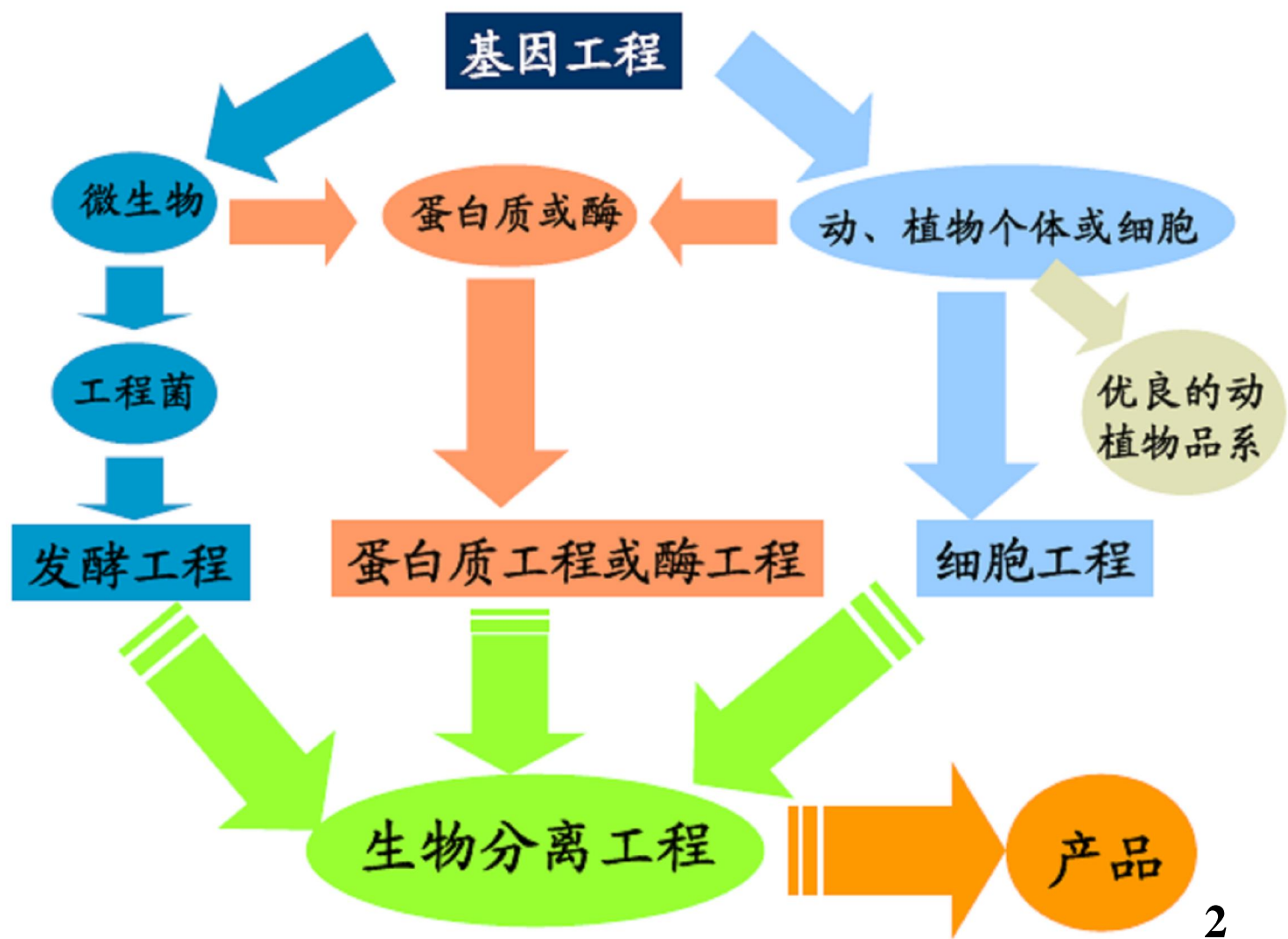
主讲教师：郭金玲

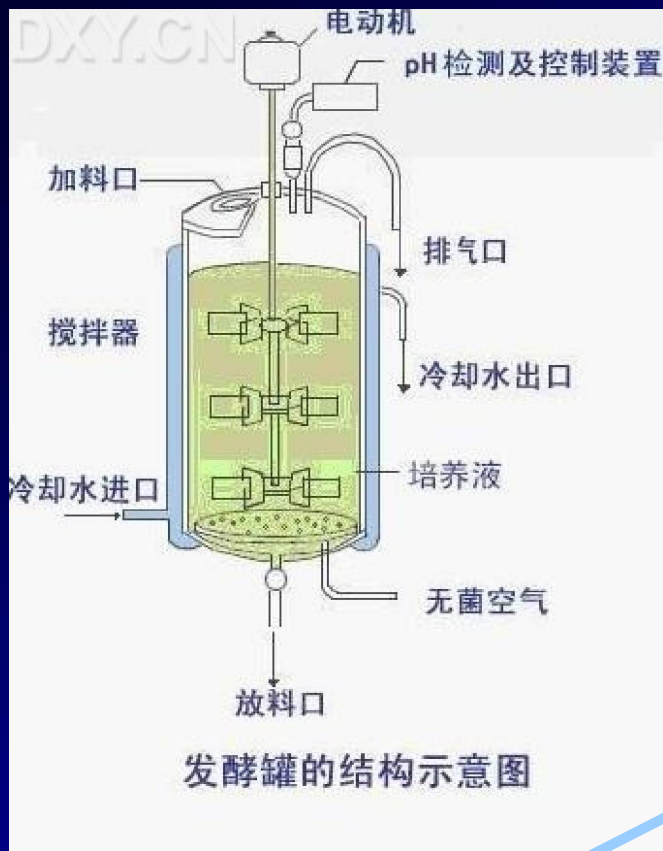
三峡大学生物与制药学院





围绕生物技术产品的相关技术支撑





发酵工程目的：获得高产量



生物分离工程目的：高收率、高纯度、低成本

选用教材



参考书目：

1. 谭天伟主编 《生物分离技术》
2. 曹学君 . 现代生物分离工程 . 上海：华东理工大学出版社，2007
3. 严希康主编 《生化分离工程》

References-journals

- 色谱
- 膜科学与技术
- 离子交换与吸附
- 生物工程学报
- 高校化学工程学报
- 现代化工
- 化工进展
- 化工学报
- 化学工程
- 化学工业与工程
- China Journal of Chemical Engineering

课程内容

- 第一章 绪论；
- 第二章 细胞分离与破碎；
- 第三章 初级分离
- 第四章 膜分离
- 第五章 萃取
- 第六章 吸附分离技术和原理
- 第七章 液相色谱
- 第八章 亲和色谱
- 第九章 电泳和电色谱
- 第十章 蛋白质复性

考核及成绩评定

- (1) 平时成绩占30%，包括：考勤、课堂表现、报告、网上作业、课程论文等。
- (2) 考试成绩占70%，闭卷考试。

为什么要学习生物分离工程？
在整个生物技术中占据怎样的位置？
生物分离工程包括哪些分离手段？

第一章 绪论

1.1 生物技术下游加工过程的重要性

生物加工过程——生物产品的生产过程

∅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

∅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

优良生物物种的选育、基因工程、细胞工程、生物反应过程、产物分离纯化过程 (下游生物加工过程)¹⁰



n下游加工过程：即生产粗原料的过程及其之后的目标产物的分离纯化过程。

下游加工过程：目标产物的分离纯化。
包括目标产物的**提取、浓缩、纯化及成品化**等

生物产物特殊性、复杂性和对其要求严格



分离过程成分占整个生产过程成本的大部分

传统发酵工业中下游部分的费用占整个工厂投资费用的**60%**；

大多数工业酶的分离过程成本约占生产过程的**70%**；

重组DNA生产蛋白质等基因工程产品，下游加工的费用可占整个生产费用的**80% - 90%**。

因此，分离过程的好坏决定生物加工过程的成败！

1.2 生物分离过程的特点

(1) 发酵液或培养液是产物浓度**很低**的水溶液

如青霉素仅为4.2%，庆大霉素为0.2%，而动物细胞培养液中的产物含量在5~50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 之间。

? 目标物含量很低，除目标物还是杂质？

(2) 培养液是多组分的混合物

(3) 生化产物的稳定性差——易引起产物失活

(4) 对最终产品的质量要求很高

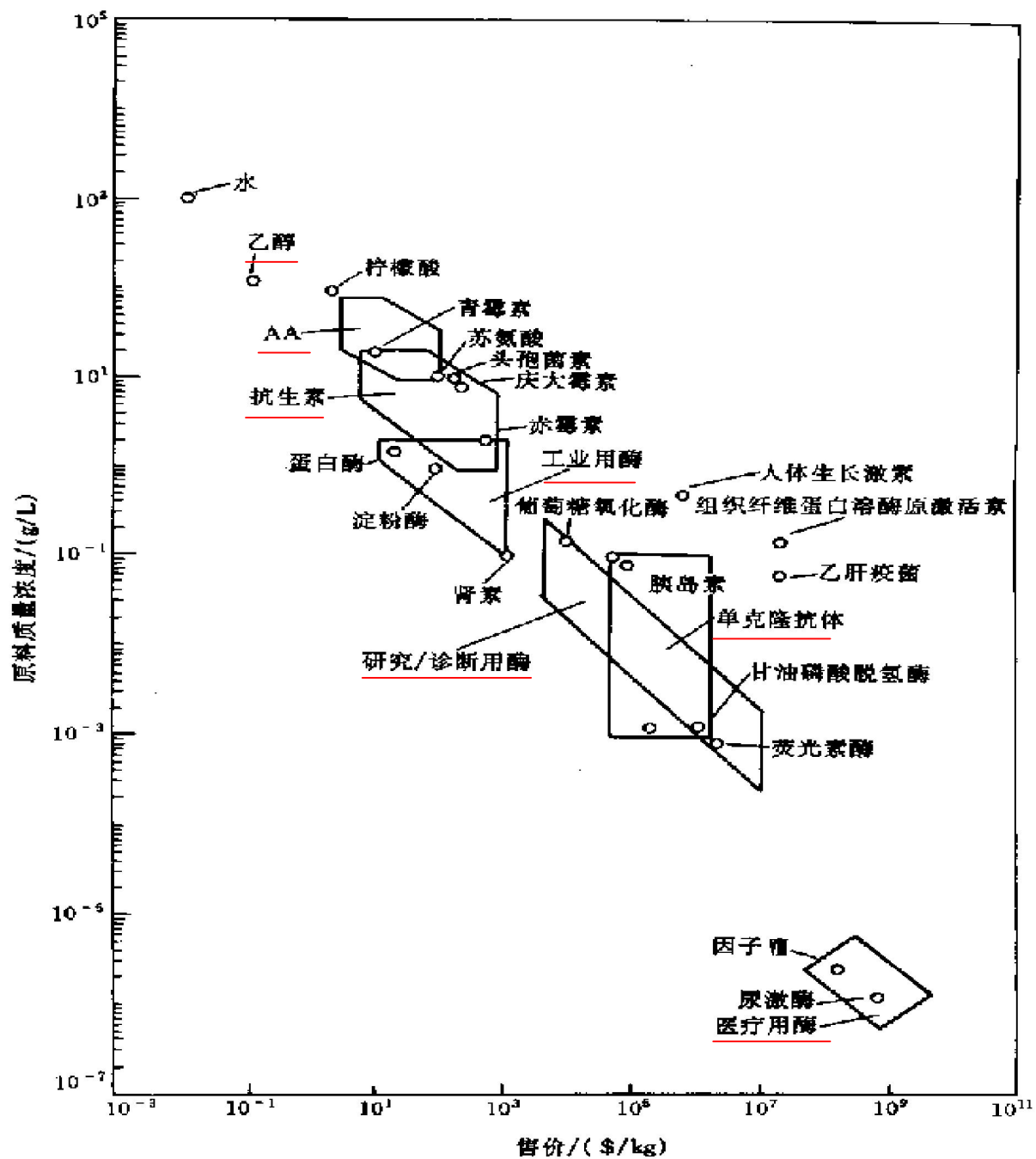


图 1.1 发酵液的浓度和产品价格之间的关系

1.3 生物分离过程的一般流程

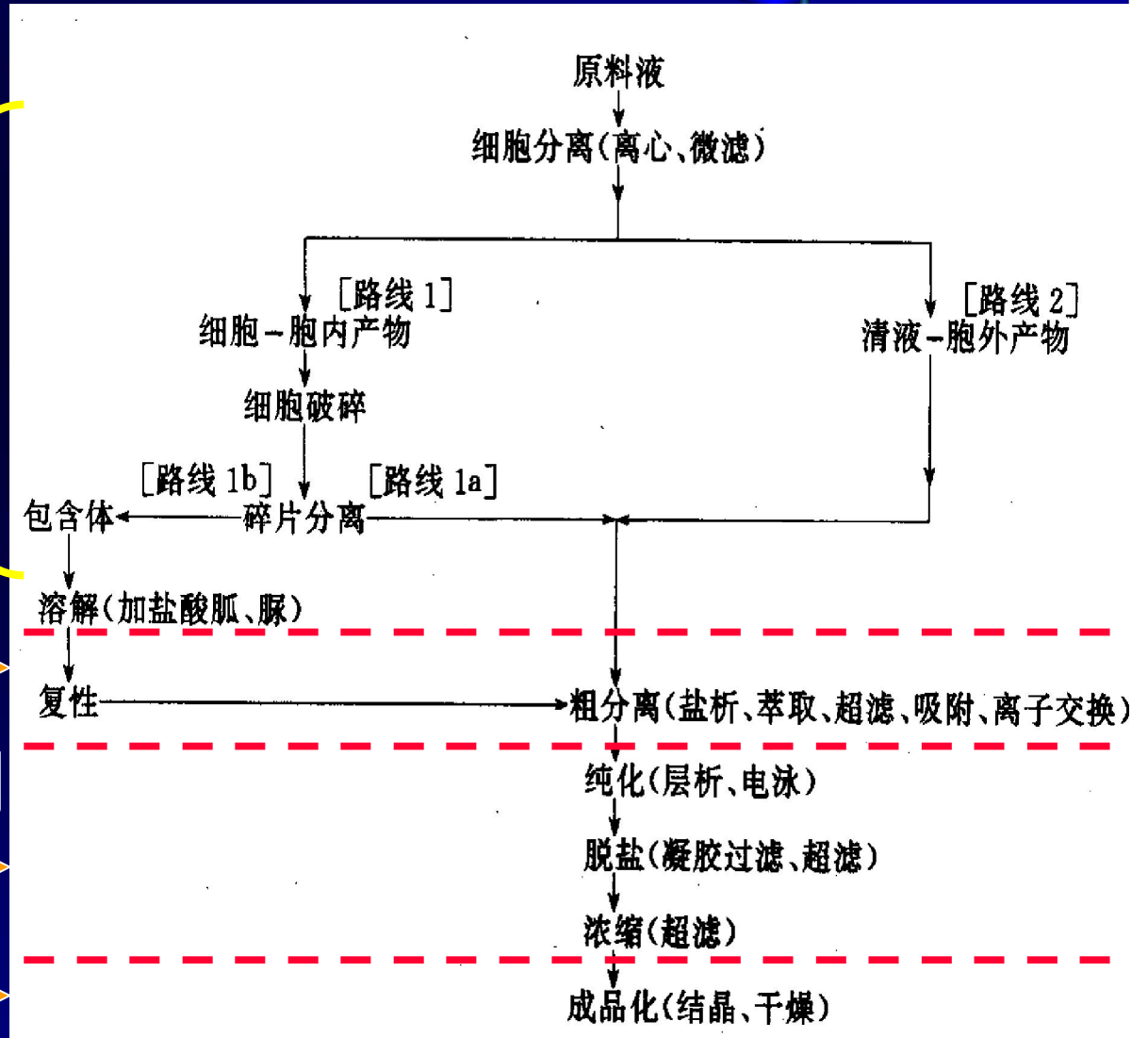
4个阶段：

(1) 培养液的预处理和固液分离

(2) 初步纯化

(3) 高度纯化与精制

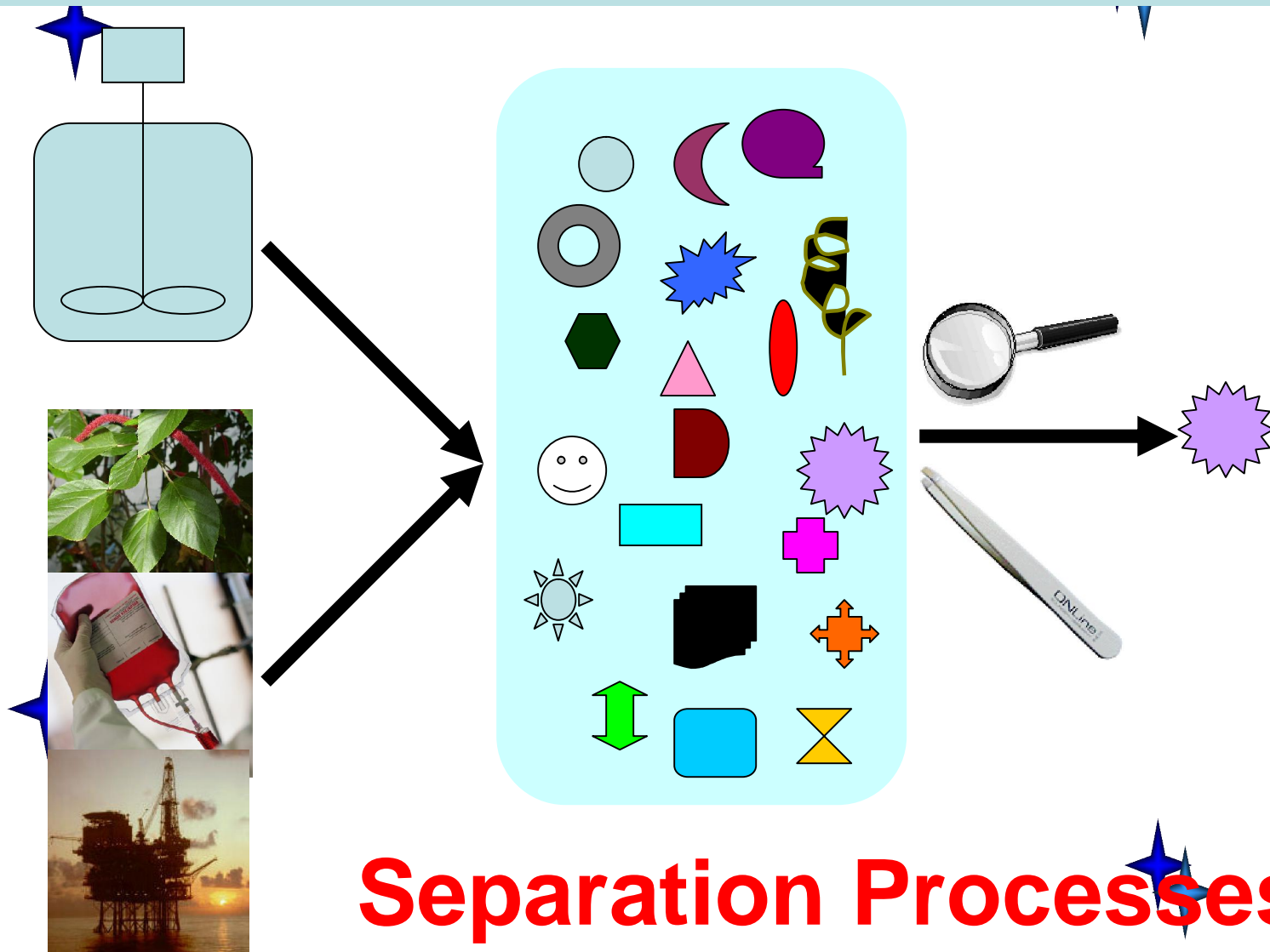
(4) 成品加工



1.4 生物分离技术和原理

生物分离的本质是有效识别混合物中不同种溶质间物理、化学和生物学性质的差别，利用能够识别这些差别的分离介质和能够扩大这些差别的分离设备，实现各种物质的分离，或使被分离的目的产物得以纯化。

性质不同的物质在分离过程中，具有不同的传质速率或平衡状态，从而可实现彼此的分离。



Separation Processes  17

1、物理学性质

ρ 力学性质

溶质的**密度**、**尺寸**、**大小和形状**。利用这些力学性质的不同可进行颗粒（如细胞）的**重力沉降**，分子或颗粒的**离心分离**和**膜分离**。

ρ 热力学性质

溶质的**溶解度**（液相固相平衡）、**挥发度**（气液相平衡）、**表面活性**及在相间的**分配平衡**行为的差异等性质，可进行**蒸馏**、**蒸发**、**吸收**、**萃取**、**结晶**、**沉淀**、**泡沫分离**、**吸附**和**离子交换分离**等。

✦

✦

p 传质性质

粘度、分子扩散系数和热扩散现象等，利用传质速度的差异也可进行分离，如透析。

p 电磁性质

溶质的荷电特性，如电荷分布、电离度、等电点和磁性等可采用电泳、电色谱、电渗析、离子交换、磁性分离等方法进行分离。

2、化学性质

化学热力学性质（化学平衡常数）

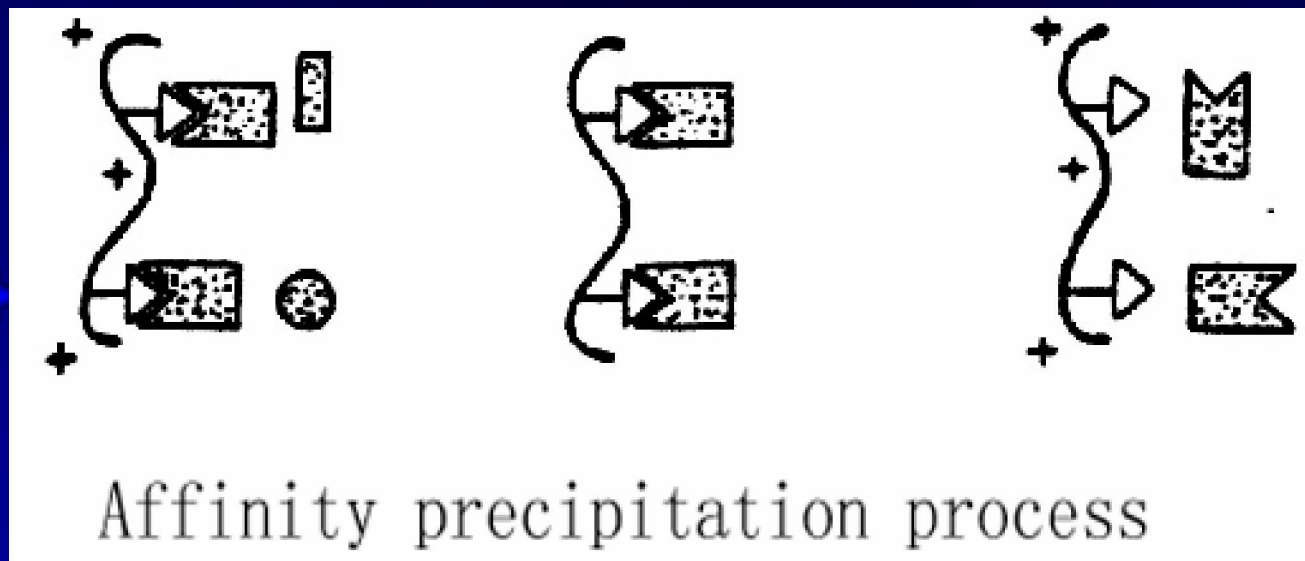
反应动力学(反应速率)

化学解离特性（激光激发作用极化、离子化）

化学吸附和化学吸收是利用化学反应进行的分离的典型例子。

3、生物学性质

- ρ 生物分子识别：生物亲和作用；
- ρ 生物输送性质：生物膜输送；
- ρ 生物反应、控制：酶反应、免疫系统。





原理	分离纯化技术	产物举例
分子大小 形状	离心 超滤 微滤 透析 电渗析 凝胶色谱	菌体、细胞碎片、蛋白质 蛋白质、多醣、抗生素 菌体、细胞 尿素、盐、蛋白质 氨基酸、有机酸、盐、水 盐、分子大小不同的蛋白质
溶解度 挥发性	萃取 盐析 结晶 蒸馏 等电点沉淀 有机溶剂沉淀	氨基酸、有机酸、抗生素、蛋白质、香料 蛋白质、核酸 氨基酸、有机酸、抗生素、蛋白质 乙醇、香精 蛋白质、氨基酸 蛋白质、核酸





原理	分离纯化技术	产物举例
带电性	电泳 离子交换色谱 等电点沉淀	蛋白质、核酸、氨基酸 氨基酸、有机酸、抗生素、蛋白质、核酸 蛋白质、氨基酸
化学性质	电渗析 离子交换色谱	氨基酸、有机酸、盐、水 氨基酸、有机酸、抗生素、蛋白质、核酸
生物功能特性	亲和色谱 疏水色谱	蛋白质、核酸 蛋白质、核酸



1.4 分离效率的评价

分离目的：

- u 生物活性不受或少受损伤；
- u 满足纯度和回收率的要求；
- u 成本低

评价分离效率三个标准

- n 目标产品的浓缩程度
- n 分离纯化程度
- n 回收率

浓缩程度一般用**浓缩率**(concentration factor)表达：是以浓缩为目的分离过程的最重要指标

目标产物的浓缩率：

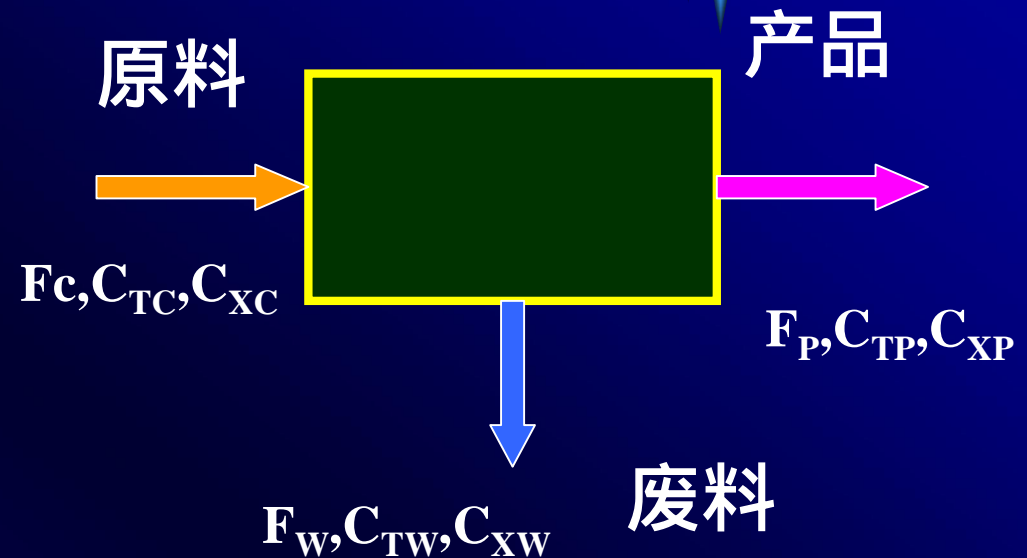
$$m_T = \frac{c_{TP}}{c_{TC}}$$

杂质的浓缩率：

$$m_X = \frac{c_{XP}}{c_{XC}}$$

T,X：目标物和杂质

如果 $m_T = m_X$ ，则目标产物未得到分离纯化



连续稳态的分离过程

目标产物的分离纯化程度用分离因子 α 表达

分离因子 α

$$\alpha = \frac{c_{TP} / c_{TC}}{c_{XP} / c_{XC}}$$

α 是目标产物和杂质在两相间分配系数的比值

$\alpha=1$ 时未产生分离。

α 值越大，分离效果越好

无论是以浓缩还是以分离为目的，目标产物均应以较大的比例回收，即有较高的回收率。

目标产物的回收率为

$$R = \frac{F_P C_{TP}}{F_C C_{TC}} \times 100\%$$

间歇过程(分批操作)，若原料液和产品溶液的体积分别为 V_C 和 V_P ，则回收率为

间歇过程的回收率

$$R = \frac{V_P C_{TP}}{V_C C_{TC}} \times 100\%$$

具有生物活性的蛋白质类产物，用分离前后目标产物的比活A之比表示目标产物的分离纯化程度

纯化因子

$$\alpha = \frac{A_P}{A_C}$$

比活A的单位一般为U/mg(U为生物活性单位),

下游加工过程的总回收率：

$$Y_T = \prod_i Y_i$$

Y_i ：第*i*步操作的回收率

提高回收率的方法：

- (1) $Y_i \uparrow$ ，
- (2) 减少操作步骤；
- (3) 开发新型高效的分离方法

1.5 生物技术下游加工过程的选择原则

不仅要**高产率**和**低成本**，还要做到以下几点

在不影响产品质量的前提下，采用**步骤数应越少越好**

一种蛋白提取经过5步操作，每步操作的得率为75%，最终得率为 $0.75^5=0.24$

采用步骤的次序要相对合理

一般次序为细胞破碎、沉淀、离子交换、亲和
吸附、凝胶过滤



一般规律：

先进行处理量大（便宜）的操作；

先进行操作简单（粗糙）的单元；

前面进行的单元操作可以简化后续的单元操作；

其他因素

产品规格：产品中允许的各类杂质的最低含量（热原，产品的微生物污染）

生产规模：技术方法的选择与生产规模相关（超声波与高压匀浆破碎）

进料的组成：产品在细胞的位置，过滤或离心的选择

产品的形式：固体要有一定的湿度和粒径分布；液体必须有一定的浓度

产品的稳定性：温度、pH、保护剂等将目标产物的降解降到最小

物理性质：粘度、溶解度、电荷、分子量和大小、官能团等

危害性：菌体、发酵液、试剂安全化处理

废水：除菌体、回收溶剂、降低盐浓度

分批或连续操作：既要考虑理论可行性又要考虑整个发酵过程



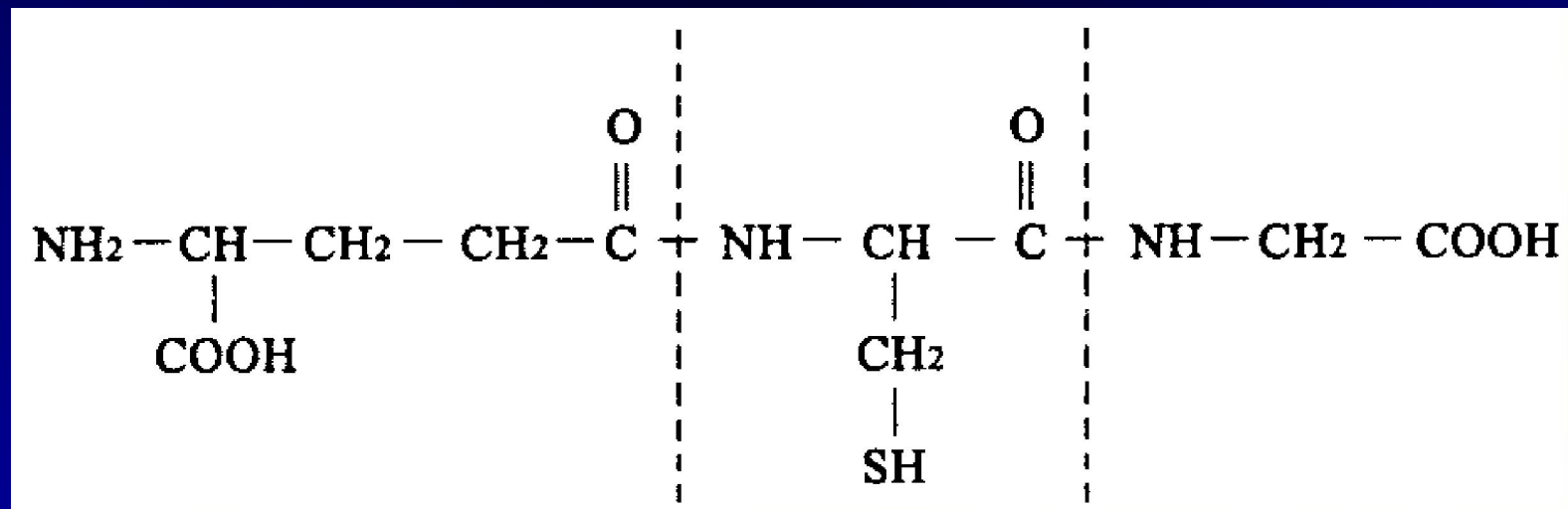
介绍 两个生物产品分离的例子

谷胱甘肽的分离提纯——发酵产物

番茄红素的提取分离——天然产物

谷胱甘肽的结构与性质

- 谷胱甘肽 (GSH) 由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸组成，其结构如图



谷氨酸

半胱氨酸

甘氨酸

谷胱甘肽的性质与特点

1. 谷胱甘肽的相对分子量为307.22，熔点189-193（分解），晶体呈无色透明细长柱状，等电点5.93。
2. 溶于水，稀醇，液氨和二甲基甲酰胺，而不溶于醇，醚和丙酮。
3. 还原型谷胱甘肽具有生理活性。
4. 胞内产物

谷胱甘肽的生产

酵母

酵母细胞的破碎

离子交换柱

减压浓缩

萃取

谷胱甘肽的分离纯化

洗脱

乙醇沉淀

真空冻结干燥

谷胱甘肽的精制

成品

番茄红素的性质

- 1 脂溶性色素，不溶于水，难溶于强极性溶剂如甲醇、乙醇等；
- 2 溶于非极性溶剂，如乙醚、石油醚、己烷、丙酮，易溶于氯仿、苯、二硫化碳等。
- 3 溶解度随着温度的上升而增大。
- 4 样品越纯时，溶解越困难。



番茄红素的来源

✓番茄、西瓜、胡萝卜、葡萄、粉红葡萄柚、草莓、柑桔等果实，其中以番茄含量最高，而且其含量随品种和成熟度的不同而异。

品种	番茄红素含量(mg/100g)
一般	3~8
特殊	可高达40

目前市场上6%含量的番茄红素
价格为3000元/公斤



番茄红素的提取

原理：利用亲脂性有机溶剂浸提。

- 工艺过程：

番茄皮 干燥 粉碎 有机溶剂浸提

过滤 合并滤液 浓缩 结晶 番茄红素

滤渣 二次浸提

思考题？

1. 生物分离工程在生物技术中的地位？
2. 生物分离工程的特点是什么？
3. 生物分离工程可分为几大部分，分别包括哪些单元操作？
4. 在设计下游分离过程前，必须考虑哪些问题方能确保我们所设计的工艺过程最为经济、可靠？