

第五章 萃取

主讲：郭金玲

化学与生命科学学院

13697277424

Email: guojingle@163.com

本章内容

- 第一节 概述
- 第二节 分配定律和分配平衡
- 第三节 有机溶剂萃取
- 第四节 双水相萃取
- 第五节 反胶团萃取
- 第六节 超临界流体萃取

第一节 概述

一. 定义

萃取（extraction）：利用溶质在互不相溶的两相之间分配系数的不同而使溶质得到纯化或浓缩的方法。

二. 分类

萃取是利用液体或超临界流体为溶剂提取原料中目标产物的分离纯化操作，萃取操作中至少有一相为流体，即为萃取剂（extractant）。

分类	萃取剂	目标产物的原料
液液萃取	液	液
固液萃取或 浸取 (leaching)	液	固
超临界流体萃取	超临界流体	固或液

根据萃取剂种类和形式不同：

液液萃取 { 有机溶剂萃取 (简称溶剂萃取)
 双水相萃取
 液膜萃取
 反胶团萃取

萃取剂与溶质之间有无化学反应：

物理萃取：溶质根据相似相溶原理

化学萃取：发生离子交换或络合等化学反应，形成脂溶性复合分子。

物理萃取：应用于石油化工、抗生素及天然植物中有效成分的提取。

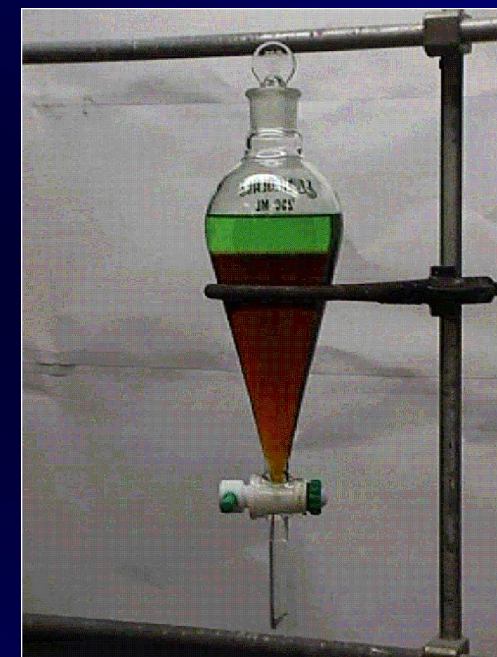
化学萃取：用于金属、氨基酸、抗生素和有机酸等。多需加稀释剂（diluent）改善萃取相的物理性质，常加入煤油、己烷、四氯化碳和苯

三．萃取操作的几个过程

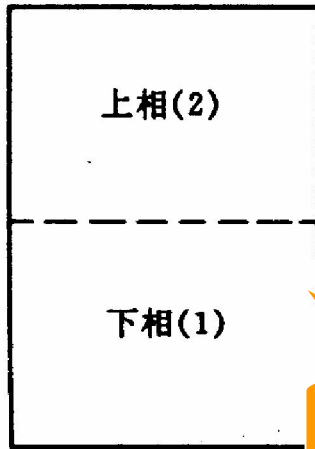
混合过程：原料液和萃取剂充分接触，各组分发生不同程度的相际转移，进行质量传递。

澄清过程：分散的液滴凝聚合并，形成两相

溶剂再生：多采用蒸馏或反萃取。



萃取相L



料液H

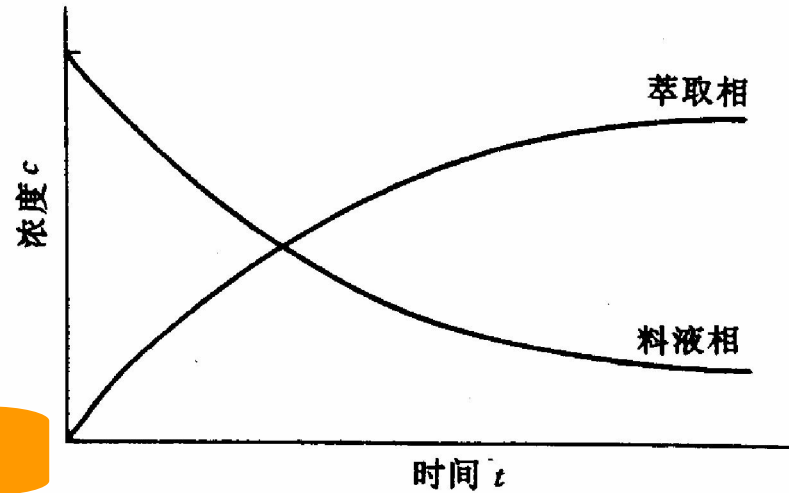


图 5.1 两相接触状态示意图

图 5.2 萃取过程中料液相和萃取相溶质浓度的变化

萃取速率：

$$-\frac{dc}{dt} = ka(c - c^*)$$

k—传质系数

a—相间接触比表面积

c—料液相溶质浓度

四．反萃取（Back extraction）

反萃取：

萃取完成后 → → → 纯化目标产物或便于下一步分离
→ → → 调节水相条件，将目标产物从有机相转入水相的萃取操作。

洗涤操作：

除去萃取到有机相的杂质，提高反萃液中目标产物的纯度。

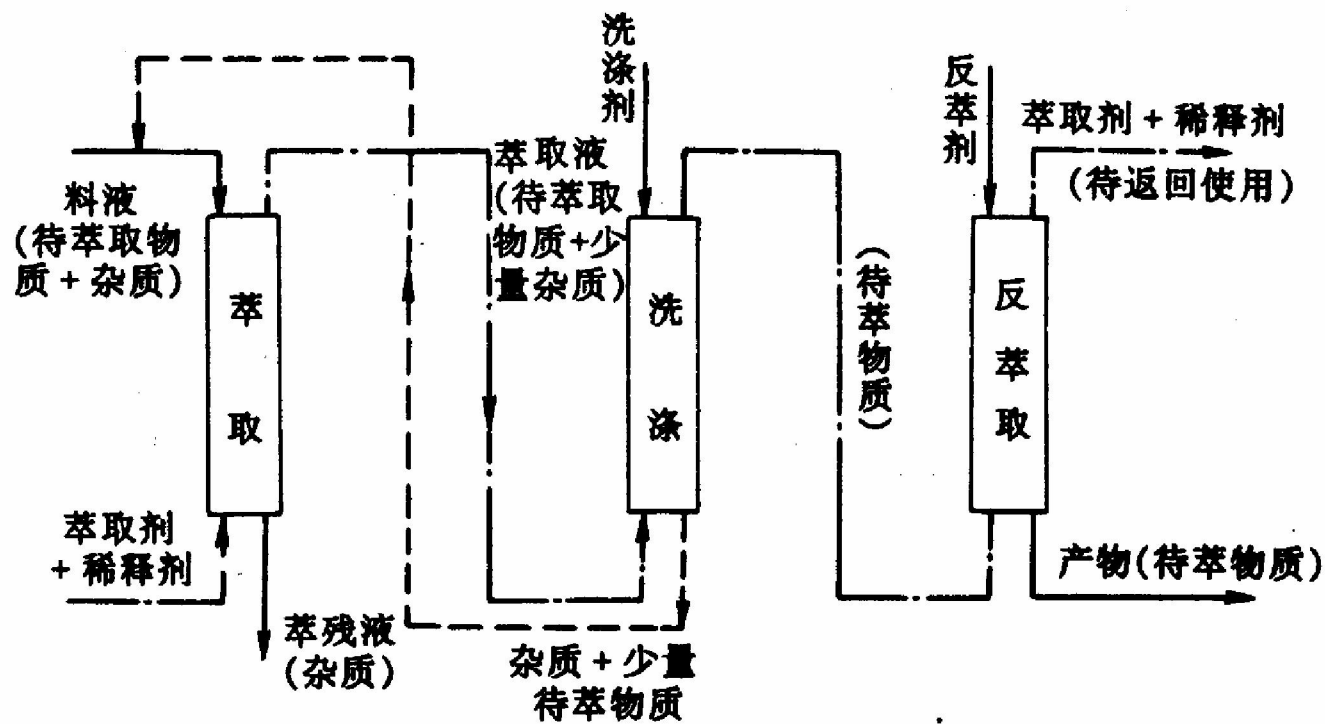


图 5 3 萃取、洗涤和反萃操作过程示意图^[1]

图5.3 萃取、洗涤和反萃取操作示意图

五. 应用范围

- ρ 液体混合物中相对挥发度 ≤ 1 ，精馏操作不经济
- ρ 液体混合物在蒸馏时出现恒沸物；
- ρ 热敏性物料，加热易分解、聚合或变性，如制药、食品、生物产品。
- ρ 液体混合物中含有较多气化潜热很大的易挥发组分，而组分又不是目标物，精馏操作中能耗大。

第二节 分配定律和分配平衡

1. 分配定律：即溶质的分配平衡规律

在**恒温恒压**下，溶质在**互不相溶**的两相中达到分配平衡时，如果**其在两相中的相对分子质量相等**，则其在两相中的平衡浓度之比为常数，即分配常数。

分配常数

$$A = \frac{C_L}{C_H} \quad (1)$$

C_L 、 C_H : mol/L

2. 热力学推导

在一定T和P，互不相溶的两相达到分配平衡时，溶质在两相中的化学势相等，

即：
$$\mu_L = \mu_H \quad (2)$$

L相和H相的化学势

化学势是溶质活度的函数，与溶质活度的关系为：

$$\mu_L = \mu_L^{(-)} + RT \ln a_L \quad (3)$$

$$\mu_H = \mu_H^{(-)} + RT \ln a_H \quad (4)$$

活度与浓度的关系：
$$a = \gamma \cdot c \quad (5)$$

活度、活度系数、浓度

$\mu_L^{(-)}$ 和 $\mu_H^{(-)}$ 分别是L相和H相的标准化学位。

则得：

$$\mu_L^{(-)} + RT \ln a_L = \mu_H^{(-)} + RT \ln a_H$$

A^0 ：活度之比，则

$$A^0 = \frac{a_L}{a_H} = \frac{r_L c_L}{r_H c_H} = \exp\left(\frac{\mu_H^{(-)} - \mu_L^{(-)}}{RT}\right)$$

在T、P下， $\mu_L^{(-)}$ 和 $\mu_H^{(-)}$ 为常数 $A^0 = \text{常数}$ ，

即Nerst分配常数

则：分配系数

$$A = \frac{r_H}{r_L} \cdot A_0$$

3.讨论：

(1) 活度系数 是溶质浓度的函数，只有当溶质浓度很低时， $\gamma = 1$ ，浓度近似于活度， $A = A^0$

(2) 溶质浓度较高时， $\gamma < 1$ ， $A < A^0$ ， A 随浓度而变

(3) 分配常数也可用溶质的摩尔分数之比来表达

$$A = \frac{y}{x}$$

分配定律的应用条件？

分配定律的应用条件：

- 1.必须是稀溶液；
- 2.溶质对溶剂的互溶度没有影响；
- 3.必须是同一种分子，不发生缔合或解离。

4.分配系数 (distribution coefficient) 或 分配比 (distribution ratio)

分配系数：溶质在两相中的总浓度之比

$$m = \frac{C_{L,t}}{C_{H,t}}$$

或

$$m = \frac{y_t}{x_t}$$

L相

H相

$C_{L,t}$ 和 $C_{H,t}$ ：总摩尔浓度。

y_t, x_t ：总摩尔分数。

m ：分配系数。

分配常数是分配系数的一种特殊情况

分配平衡

在生物产物的液液萃取中，一般产物浓度较低，并且很少出现溶质溶解萃取剂的现象，因此液液平衡关系

可用 $x - y$ 线图表示： $y=f(x)$

y, x ：总摩尔浓度mol/L，或摩尔分数。

当溶质浓度较低， m 为常数

则

$$y=mx$$

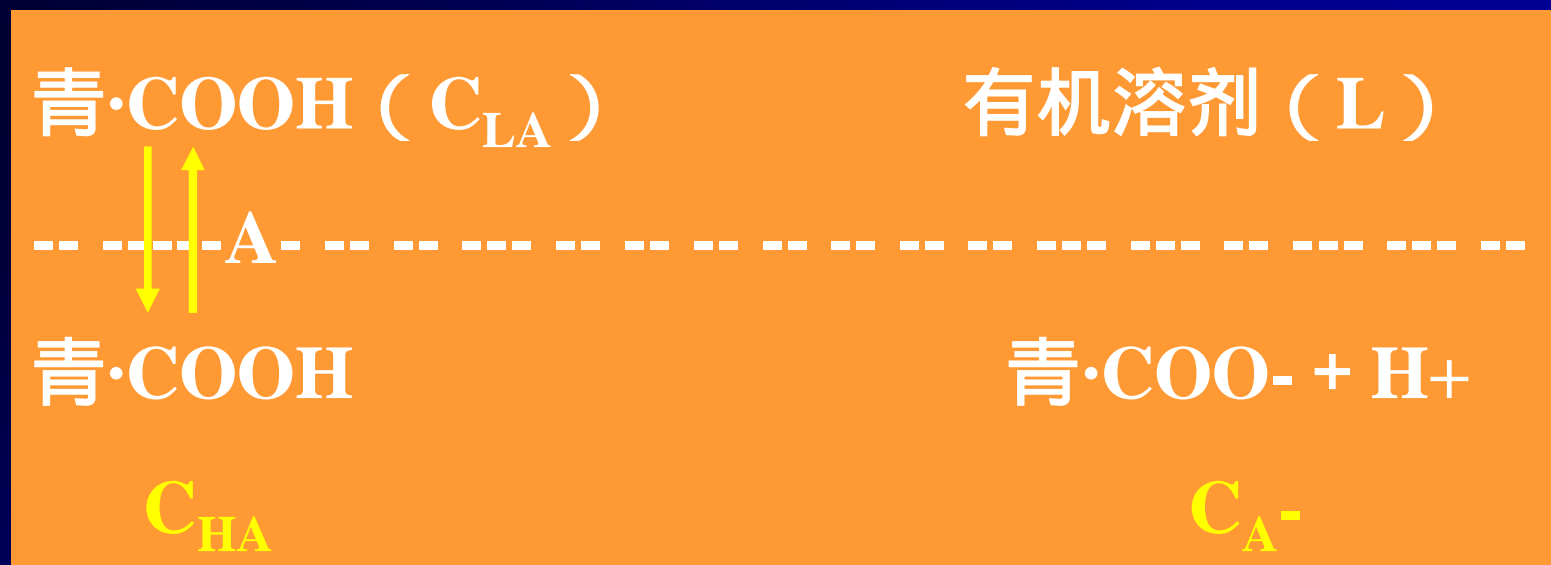
Henry型平衡关系

浓度较高

$$y = \frac{m_1 x}{m_2 + x}$$

$$y = \frac{m_1 x^n}{m_2 + x^n}$$

Langmuir型平衡关系， m_1 ， m_2 为常数。



青霉素游离酸存在两种平衡：

两相间的分配平衡

$$A = \frac{C_{LA}}{C_{HA}}, m = \frac{C_{LA}}{C_{HA} + C_{A^-}}$$

水中的电离平衡

$$K = \frac{[\text{青}^{\ominus}][H^+]}{[\text{青}COOH]}$$

只有两相中的游离酸分子才符合分配定律

比较Nerst分配常数 A^0 ,分配常数A和分配系数m的区别？

：分配常数是分配系数的特例。

	Nerst分配常数 A^0	分配常数 A	分配系数 m
定义式			
浓度	活度之比	浓度之比	总摩尔浓度之比
应用	全部浓度范围内	稀溶液	稀溶液
分子形态		两相中分子形态相同	分子形态可不同

5. 多组分萃取

料液中存在A.B两种组分，A.B在两相中分配不同

分离因素

$$= \frac{C_{LA} / C_{HA}}{C_{LB} / C_{HB}} = \frac{A_A}{A_B}$$

萃取剂对溶质A和B分离能力的大小

类似于蒸馏里的相对挥发度
越大，分离效果越好， $\alpha = 1$ ，没有分离

第三节 有机溶剂萃取

(Organic solvent extraction)

简称溶剂萃取 (Solvent extraction)

特点：

1. 石化，湿法冶金和生物产物
2. 处理量大，能耗低，速度快，可连续操作和自动化控制。

一. 弱电解质在有机溶剂——水相间的分配平衡

有机酸：



K_a ：弱酸的解离常数

$[\text{AH}]$ 和 $[\text{A}^-]$ ：游离酸和酸根在水相浓度

$\overline{[\text{AH}]}$ 游离酸在有机相浓度

萃取平衡后，存在两个平衡：

游离酸两相——分配平衡

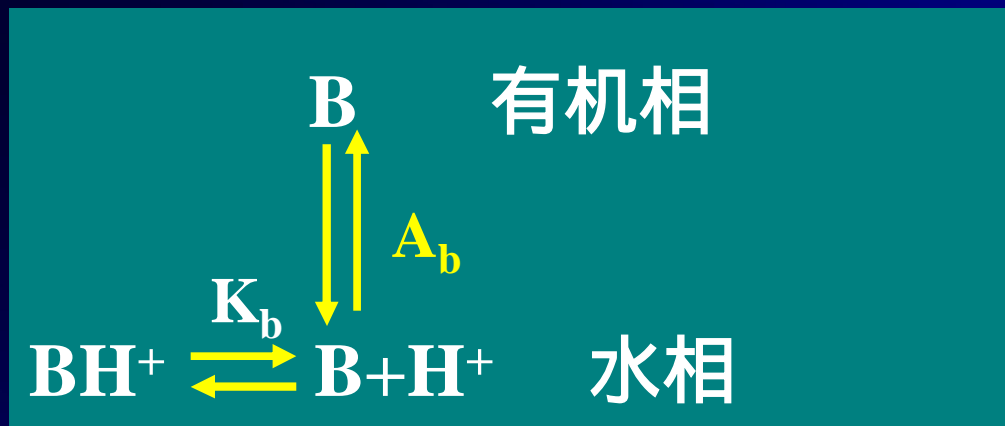
$$Aa = \frac{\overline{[AH]}_L}{[AH]_H} \quad (1)$$

✦(条件：游离酸在有机相没有缔合)

弱电解质水相——解离平衡

$$Ka = \frac{[A^-][H^+]}{[AH]} \quad (2)$$

有机碱也同样存在上述两个平衡：



有机碱：

K_b ：弱碱的解离常数

$[B]$ 和 $[BH^+]$ ：在水相中游离碱和碱基的浓度

$[B]$ ：游离碱在有机相浓度

分配平衡：

$$A_b = \frac{[\bar{B}]}{[B]}$$

(3)

解离平衡：

$$K_b = \frac{[B][H^+]}{[BH^+]}$$

(4)

以有机酸为例计算平衡常数m：

用水相总浓度C表示，为什么？

$$\text{则：} C = [AH] + [A^-]$$

(5)

由(2)和(5)得水相中游离酸浓度为：

$$[AH] = \frac{C[H^+]}{K_a + [H^+]} \quad (6)$$

将(6)代入(1)得：

$$A_a = \frac{\overline{[AH]}(K_a + [H^+])}{C[H^+]}$$

则有机相中游离酸浓度为：

$$\overline{[AH]} = \frac{A_a C[H^+]}{(K_a + [H^+])} = f[H^+]$$

则游离酸的分配系数 m ：

$$m_a = \frac{[\overline{AH}]}{C} = \frac{A_a[H^+]}{(K_a + [H^+])} = f(pH)$$

两边取对数：

$$\log\left[\frac{A_a}{m_a} - 1\right] = pH - pK_a$$

$$pK_a = -\log K_a$$

同理可得有机相中游离碱的浓度为：

$$[\overline{B}] = \frac{A_b CK_b}{(K_b + [H^+])} = f[H^+]$$

则游离碱的分配系数 m_b 为：

$$m_b = A_b \frac{K_b}{K_b + [H^+]} = f(pH)$$



$$\frac{K_b + [H^+]}{K_b} = \frac{A_b}{m_b}$$

$$\log\left(\frac{A_b}{m_b} - 1\right) = pK_b - pH$$

作业：推导公式

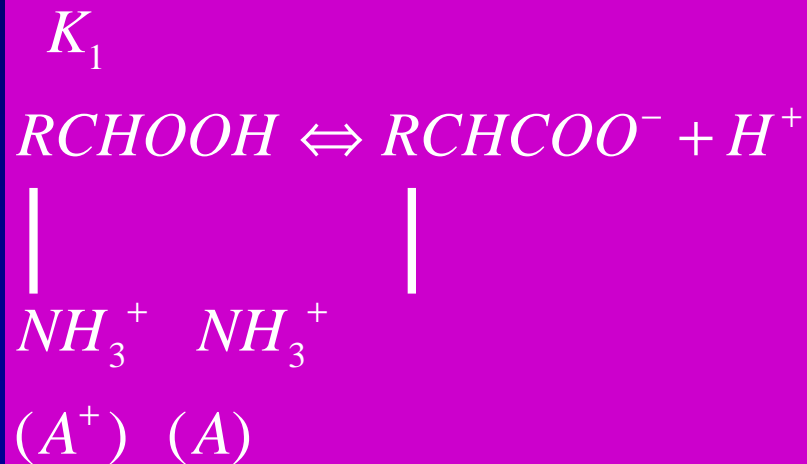


二. 化学萃取平衡

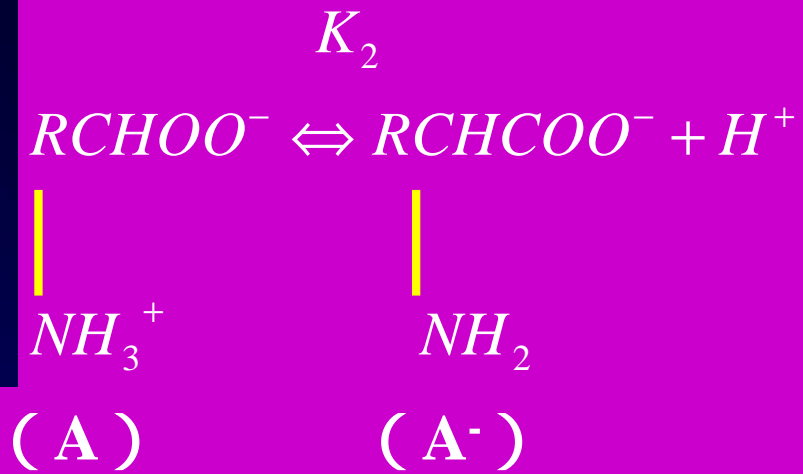
氨基酸等两性电解质

萃取剂：季铵盐类（氯化三辛基甲铵）
磷酸酯类（二(2-乙基己基)磷酸）

氨基酸解离平衡



$$K_1 = \frac{[A][H^+]}{[A^+]} \quad (1)$$



$$K_2 = \frac{[A^-][H^+]}{[A]}$$

(2)

K₁和K₂为解离常数

A, A⁺,和A⁻表示偶极离子, 阳离子和阴离子型氨基酸

1、阴离子交换萃取剂

采用阴离子型萃取剂, 氯化三辛基甲铵 (记作R⁺Cl⁻)
, 萃取阴离子氨基酸



$$K_{ecl} = \frac{[R^+ A^-][Cl^-]}{[A^-][R^+ Cl^-]}$$

(3)

氨基酸表观分配系数

$$m_A = \frac{[R^+ A^-]}{C_A}$$

$$C_A = [A^+] + [A^-] + [A]$$

(4)

Cl⁻ 表观分配系数

$$m_{cl} = \frac{[R^+ Cl^-]}{[Cl^-]}$$

(5)

则可推导出：

$$m_A = K_{ecl} m_{cl} \left(1 + \frac{[H^+]}{K_2} + \frac{[H^+]^2}{K_1 K_2} \right)^{-1} \quad (6)$$

阴离子氨基酸的离子交换反应需高于其等电点的pH范围内进行，故 $[A^+] = 0$
上式简化为：

$$m_A = K_{ecl} m_{cl} \frac{K_2}{K_2 + [H^+]} = f(pH)$$

2. 阳离子交换萃取剂

二(2-乙基己基)磷酸(简称D2EHPA,记作HR),在有机相中通过氢键以2聚体形式存在。



$$K_{eH} = \frac{[\overline{AR(HR)_3}][H^+]}{[A^+][\overline{(HR)_2}]^2}$$

氨基酸表观分配系数

$$m_A = \frac{[\overline{AR(HR)_3}]}{C_A}$$

采用D2EHPA为萃取剂，氨基酸的分配系数：

$$m_A = \frac{K_{eH} \overline{[(HR)_2]}^2}{[H^+]} \left(1 + \frac{K_1}{[H^+]} + \frac{K_1 K_2}{[H^+]^2}\right)^{-1}$$

阳离子氨基酸：pH小于等电点，故[A-] = 0

$$m_A = K_{eH} \frac{\overline{[(HR)_2]}^2}{[H^+] + K_1} \quad (K_2=0)$$

讨论：

$[H^+] \ll K_1$ 则：

$$m_A = K_{eH} \frac{[(HR)_2]^2}{K_1}$$

m_A 与 pH 无关

$[H^+] \gg K_1$

$$m_A = K_{eH} \frac{[(HR)_2]^2}{[H^+]}$$

m_A 与 $[H^+]$ 成反比

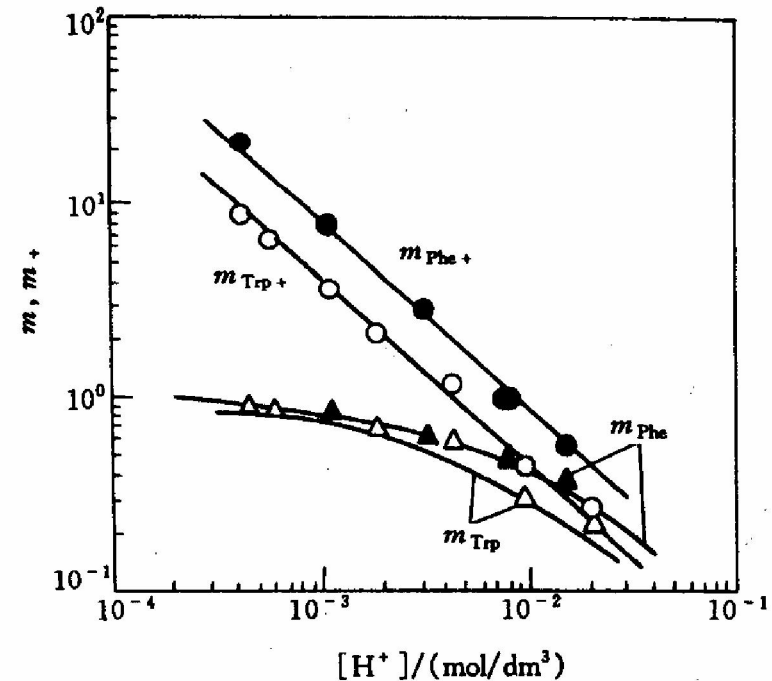


图 4.4 氢离子浓度(pH)对苯丙氨酸(Phe)和色氨酸(Trp)分配平衡的影响^[2]

$$[(HR)_2] = 0.278 \text{ mol/dm}^3$$

除了pH外，影响溶质的分配关系因素？
溶质在两相的分配取决于溶剂的选择和水相的性质。

作业题

- 1、比较Nerst分配常数 A^0 、分配常数 A 、分配系数 m 。
- 2、推导公式

$$\log\left(\frac{A_b}{m_b} - 1\right) = pK_b - pH$$

三. 影响分配系数的因素

1. 溶剂的选择

对目标物有较大溶解度和良好的选择性；
价廉易得；
与水相不互溶；
与水相有较大的密度差，粘度小，表面张力适中，容易相分散和相分离；
易回收和再利用；
毒性低，腐蚀性小，闪点高，使用安全；
不与目标产物发生反应。

化学萃取氨基酸的稀释剂：煤油，己烷，异辛烷，正十二烷等。

2. 水相条件的影响 pH值

a. 影响分配系数，对收率影响很大。

如弱酸性抗生素： $AH\beta \rightleftharpoons A^- + H^+$

$$m_a = A_a \frac{[H^+]}{K_a + [H^+]}$$

pH, $[H^+]$ m_a

弱碱性抗生素则相反：



例：红霉素是碱性物质

$pH = 9.8$ 时 , $m_b = 44.7$

$pH = 5.5$ 时 , $m_b = 14.4$

在 $pH = 9.4$ 的水相中用醋酸戊酯萃取，
反萃取时，则用 $pH = 5.0$ 的水溶液。

b. pH对选择性的影响

如酸性产物酸性条件下萃到有机相，碱性杂质则成盐留在水相，而对酸性杂质，则应选择高pH。

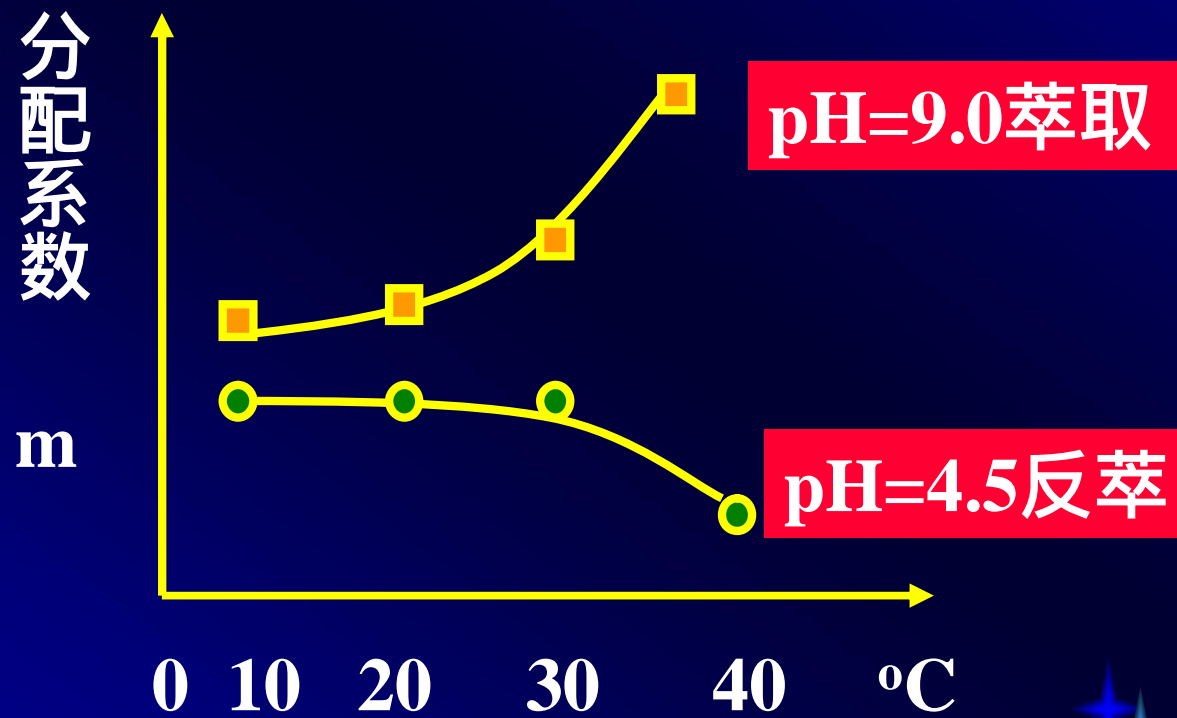
例：青霉素，pH = 2时，醋酸丁酯为萃取剂，萃取液中青霉烯酸可达12.5%。

pH = 3时，青霉烯酸只占青霉素的4%。

c. pH选择在使产物稳定的范围

3. 温度

一般在室温或低温下进行



4. 盐析

无机盐如硫酸铵，NaCl等可降低产物和溶剂在水相中的溶解度

例：

提取 V_B12 时，加入硫酸铵，有利于 V_B12 的萃取；
提取青霉素，加入NaCl，对青霉素萃取有利。

问题：

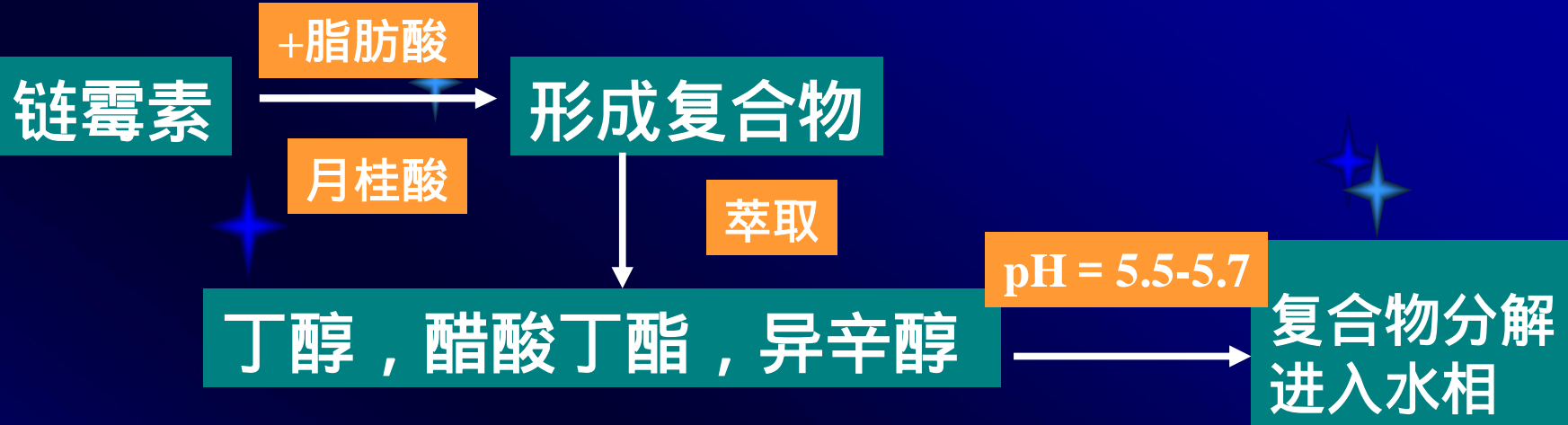
盐析剂应适量，过多会使杂质一起进入溶剂中；
盐析剂用量大时，考虑回收和再利用。

5. 带溶剂

带溶剂：该物质能和欲提取的生物物质形成复合物，而易溶于溶剂中，且此复合物在一定条件下又要容易分解。

两种情况：

产物水溶性较强，通常的有机溶剂中溶解度很小
产物水溶性不强，为了提高其收率和选择性



链霉素 + 二元羧酸的单酯 (如 2-乙基-己基邻苯二甲酸单酯)

复合物
↓
异戊醇

青霉素 (酸) + 脂肪碱 (正十二烷胺, 四丁胺) → 氯仿

带溶剂

上述正负离子结合成对的萃取, 也称为离子对萃取。

柠檬酸+磷氧键类萃取剂（如磷酸三丁酯（TBP））

酸性条件

形成中性络合物

进入

有机相（ $C_6H_8O_7 \cdot 3TBP \cdot 2H_2O$ ）

反应萃取

四．乳化现象

乳化：水或有机溶剂以微小液滴形式分散于有机相或水相中的现象，使有机相和水相分层困难。

两种夹带

- | 发酵液废液中夹带有机溶剂微滴，造成目标产物的损失。
- | 溶剂相中夹带发酵液微滴，给以后的精制造成困难

乳浊液的形式：

- n 油滴分散在水中，称为水包油型或o/w型乳浊液；
- n 水滴分散在油中，成为油包水型或w/o型乳浊液

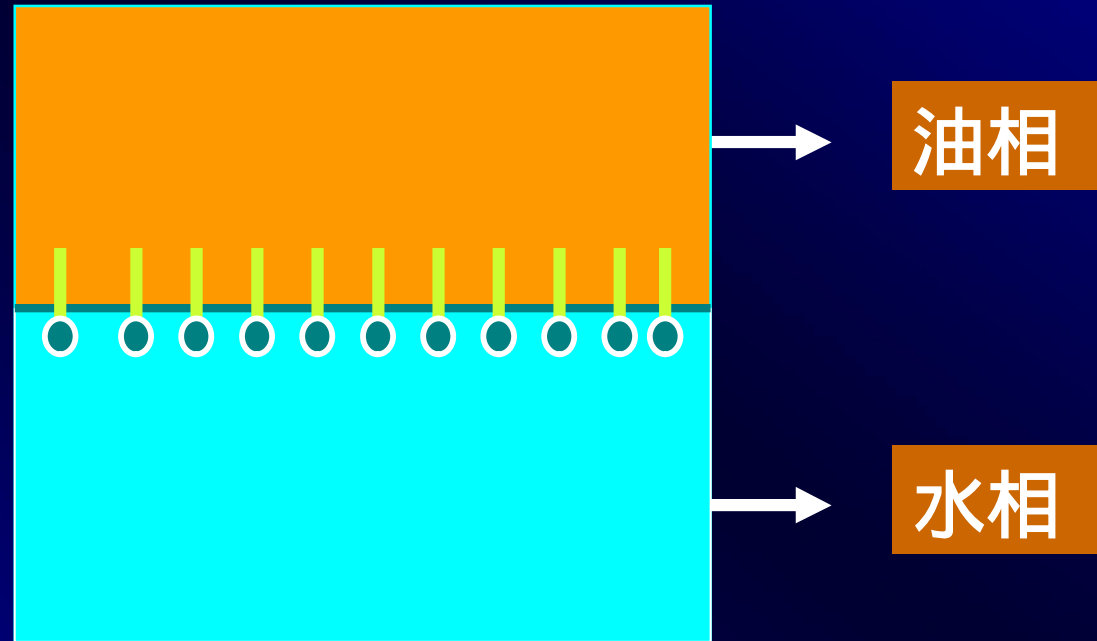
形成的原因：

发酵液中存在的蛋白质和固体颗粒等物质——表面活性剂的存在，这种物质称为乳化剂。

表面活性剂surfactant：

一端具有亲水基团（如 - COONa， - SO₃Na， - N⁺(CH₃)₃Cl-等）；

一端具有亲油基团（烃链）且能降低界面张力的物质。



表面活性剂在界面上的排列

乳浊液的破坏：

1. 过滤和离心分散——打碎乳化液滴

2. 加热， T ， μ ，可促使其破坏；

3. 稀释法：在乳浊液中，加入连续相，使乳化液浓度降低而减轻乳化；

4. 加电解质：离子型乳化剂加入电解质，中和其电性而促使聚沉。

常用电解质：NaCl，NaOH，HCl及高价离子（ Al^{3+} 等）

5. 吸附法：如 $CaCO_3$ 吸附水，不吸附油。

缺点：耗费能量和物质

目标：先除表面活性剂，消除乳化现象

例如：

酸化预处理

有机酸发酵液



pro 0.3969% 0.1810%
其他物性不变

萃取



不产生乳化现象

常用的去乳化剂：

| 阳离子表面活性剂——溴代十五烷基吡啶（PPB）

棕褐色稠厚液体，水中溶解度6%，有机相中溶解度小
适用于破坏w/o型乳浊液。

| 阴离子表面活性剂——十二烷基磺酸钠

淡黄色透明液体，含量为25%，易溶于水，微溶于有
机溶剂,适用于破坏w/o型乳浊液。

注意：

提高破乳能力，但不能破坏发酵单位和污染成品。

第四节 双水相萃取

Aqueous two-phase Extraction
Or Aqueous two-phase Partitioning

1、双水相系统

当两种聚合物或一种聚合物与一种盐溶于同一溶剂时，由于聚合物之间或聚合物与盐之间的不相容性，当聚合物或无机盐浓度达到一定值时，就会分成不互溶的两相。两相中水分均占很大比例，即形成双水相系统。

特点：

生物活性蛋白或细胞器等，在这种环境中不会引起失活，但可以不同的比例分配于两相中。

双水相形成

两种聚合物溶液相互混合时，究竟是否分层或混合成一相，决定于两种因素：

熵的增加



混合过程，自发进行

分子间作用力



- | 分子斥力 \uparrow ，两种聚合物分成两相
- | 分子引力 \uparrow ，两种聚合物结合成一相
- | 分子作用力弱，两者能相互混合

含有聚合物分子的溶液发生分相的现象称为**聚合物的不相容性**

常用双水相：

离子型高聚物 - 非离子型高聚物（分子间斥力）

聚乙二醇——葡聚糖(PEG/dextran)

最常用：上相富含PEG，下相富含D_x

聚丙二醇——聚乙二醇

甲基纤维素——葡聚糖

高聚物 - 相对低分子量化合物（盐析作用）

聚乙二醇——无机盐（如硫酸铵等）

上相富含PEG，下相富含无机盐

特点：

- .操作条件温和、无毒，在常温常压下进行；
- .因是多元醇或多糖的结构，能使生物高分子稳定
- (3).两相的界面张力小，一般在 10^{-4}N/cm 量级，两相易分散，
- (4).两相的相比随操作条件而变化；
- (5).上下两相密度差小，一般在 10 g/L 。因此两相分离较困难，目前这方面研究较多
- (6).易于连续操作，处理量大，适合工业应用。

2、相图

图中的曲线称双节线；
连接双节线上两点的
直线称为系线。

在系线上各点处系统的总浓度不同，但均分成组成相同而体积不同的两相。

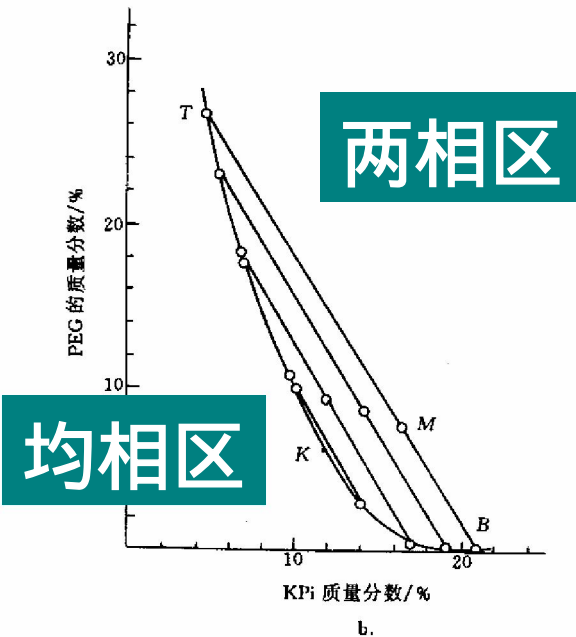
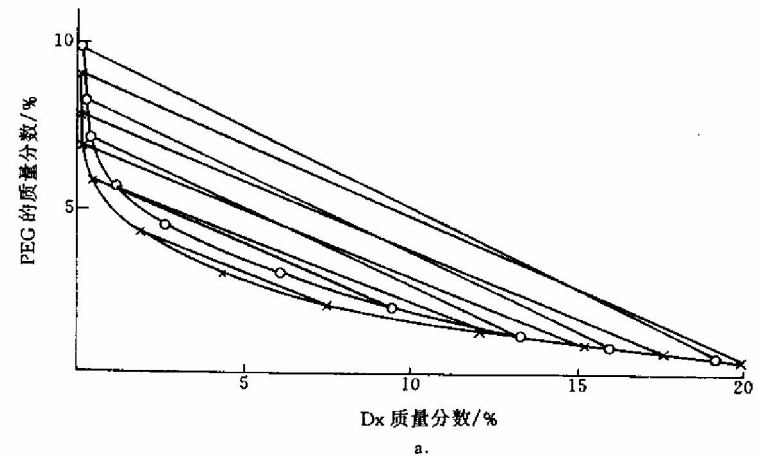


图 4.16 双水相系统相图^[11]

a. PEG6000/Dx 48; (O) 20°C; (X) 0°C; b. PEG6000/KPi, 0°C

双水相的典型相图

两相体积近似服从杠杆规则：

即：
$$\frac{V_T}{V_B} = \frac{\overline{BM}}{\overline{MT}}$$

V_T ：上相PEG的体积，
 V_B ：下相D_x的体积

由物衡可知：

$$\frac{W_T}{W_B} = \frac{\overline{BM}}{\overline{MT}}$$

W_T, W_B, W_M ：上，
下相，系统总重量

ρ_T, ρ_B

$$\frac{V_T \rho_T}{V_B \rho_B} = \frac{\overline{BM}}{\overline{MT}}$$

$Q \rho_T \approx \rho_B \approx \rho_{\text{水}}$

$$\frac{V_T}{V_B} = \frac{\overline{BM}}{\overline{MT}}$$

$$k = \frac{C_2}{C_1} = \frac{\text{上相浓度}}{\text{下相浓度}}$$

特点：

系线的长度是衡量两相间相对差别的尺度，系线越长，两相间的性质差别越大，反之越小。

当系线长度趋于零时，两相差别消失，溶质分配系数 $m=1$

k点称为临界点

3、分配平衡

分配系数

$$m = \frac{C_2}{C_1} = \frac{\text{上相浓度}}{\text{下相浓度}} \quad (\text{mol} / \text{dm}^3)$$

平衡时上下相总浓度

影响因素：

影响分配系数的作用力：

- | 静电作用
- | 疏水作用
- | 生物亲和作用

(1) 静电作用

非电解质型溶质:电中性蛋白质的 m_0 :

$$\ln m_0 = -M\Delta\gamma/RT$$

式中, M : 溶质分子量; $\Delta\gamma$: 溶质在上下两相表面自由能的差, J/mol

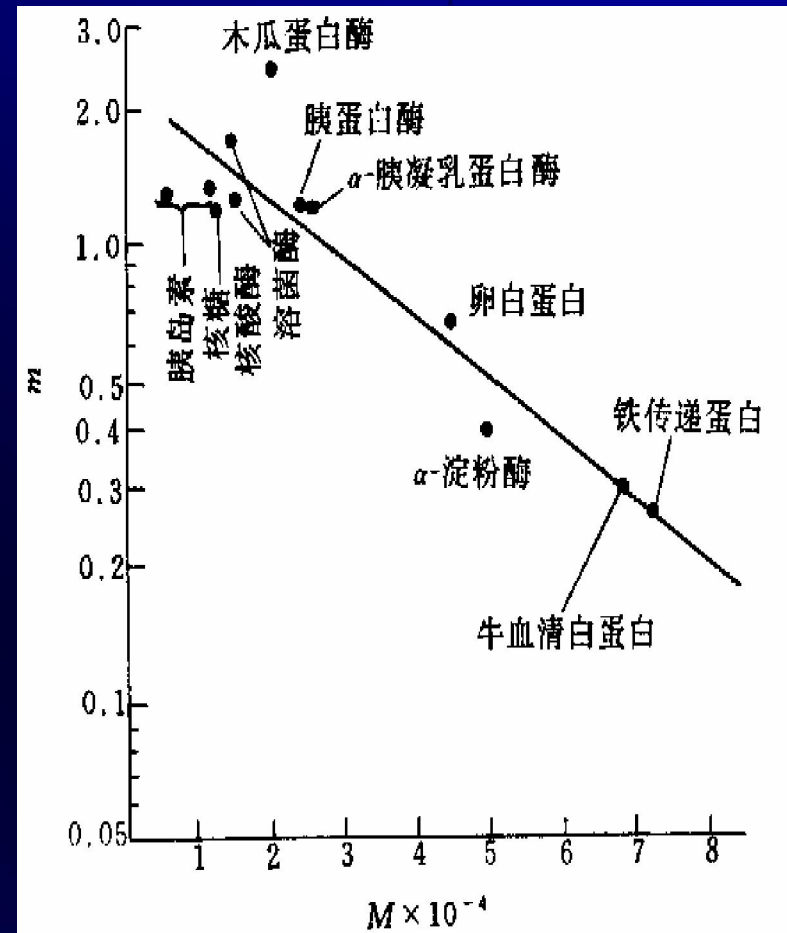
意义:

A 不受静电作用的影响(因不带电);

B 一般 $\Delta\gamma > 0$, 不同溶质 $\ln m$ 随 $M \uparrow$ 而 \downarrow ;

C ATPS不同, 同一溶质的 $\Delta\gamma$ 也就不同, m 随ATPS不同而改变。

图是不同pro在pH为各pro的pI的ATPS中的 m ,



双水相中溶质的分配系数与相对分子质量的关系
4.4% PEG 8000/7% Dx T500, 20°C

道南电位($\Delta\phi$, Donnan potential)

实际ATPS中有电解质, 当这些离子在两相中 $m \neq 1$, 将两相间产生电位差 $\Delta\phi$

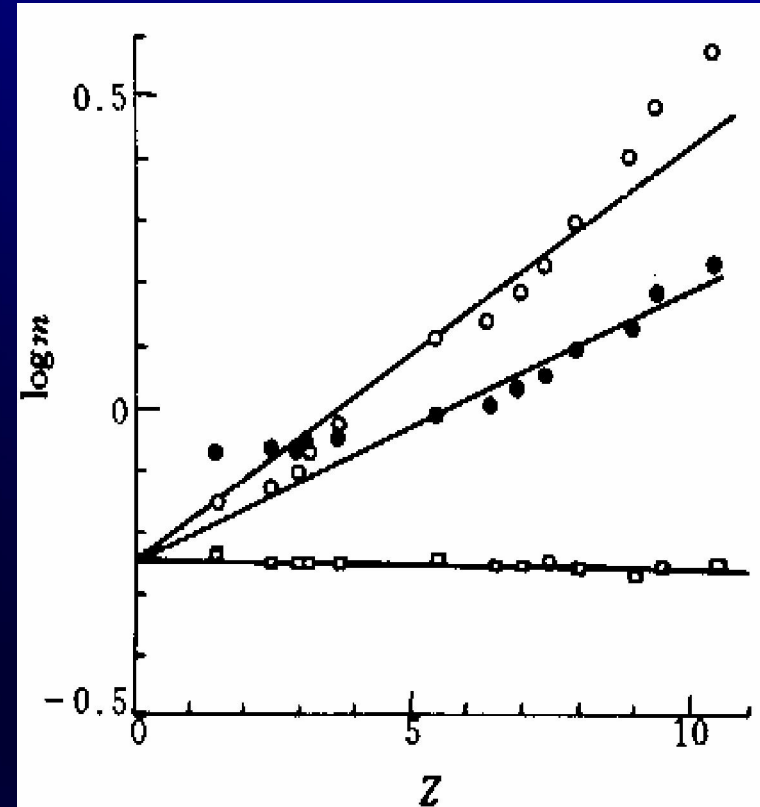
$$\Delta\phi = \frac{RT}{(Z_+ + Z_-)F} \ln \frac{m_{s-}}{m_{s+}}$$

带电pro的 m :

$$\ln m = \ln m_0 + \frac{FZ_{pro}}{RT} \Delta\phi$$

意义:

- A 荷电溶质的分配系数的对数与溶质的净电荷数成正比.
- B 由于同一ATPS中添加不同的盐产生的 $\Delta\phi$ 不同, 故 m 与 Z_{pro} 的关系因盐而异。



核糖核酸酶的 m 与其电荷数的关系
5.8% PEG 6000/8.4% Dx T500, 20°C
(○) 0.1 mol/dm³ KSCN; (□) 0.05 mol/dm³
K₂SO₄; (●) 0.1 mol/dm³ KCl

(2) 疏水作用

相间疏水因子(HF, hydrophobic factor)

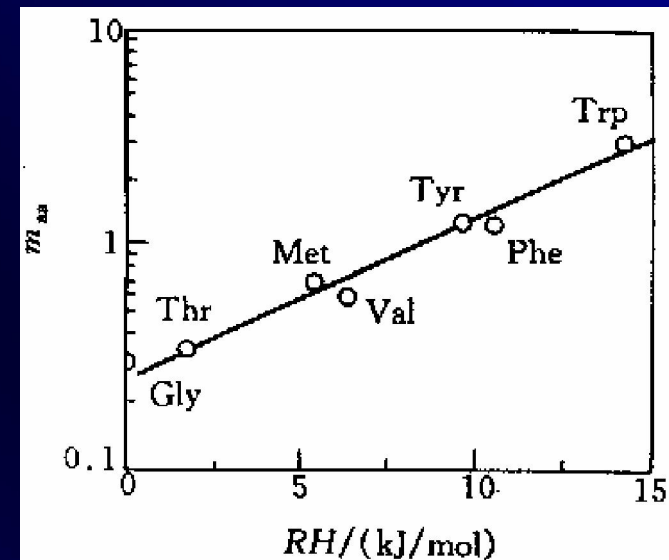
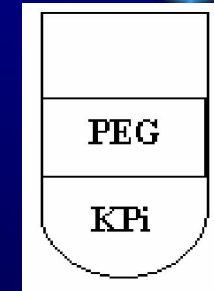
PEG/DX和PEG/KPi等ATPS上相(PEG相)疏水性较大,相间的疏水性差用HF表示. HF可通过测定疏水性已知的aa在其pI处的 m_{aa} 测算:

$$\ln m_{0,aa} = HF(RH + B)$$

RH-aa相对疏水性(relative hydrophobicity).是通过测定aa在水和乙醇中溶解度的差别确定的,并设疏水性最小的Gly的RH=0.所以,上式中的B为:

$$B = \ln m_{0,Gly} / HF$$

m_{Gly} 为Gly分配系数.所以, pH=pI时aa在ATPS中的分配系数与其RH值呈线性关系,直线的斜率就是该双水相系统的HF值.图为测定实例.



双水相系统疏水性的测定:

氨基酸的分配系数与RH的关系

14%PEG4000/14%KPi, pH \approx pI

$$\ln m_{0,aa} = HF(RH + B)$$

Pro表面疏水性(HFS, HF of surface)

利用上式可确定不同ATPS的HF值.如在pH = pI的ATPS中, pro的 m_0 与HF值之间呈线性关系, 则直线的斜率定义为该蛋白质的HFS

$$\ln m_0 = HF \times HFS$$

图为蛋白质的 m_0 与HF的实测关系图。图的结果示：pro的HFS随NaCl浓度的增大而增大。将盐对pro的HF影响上式得：

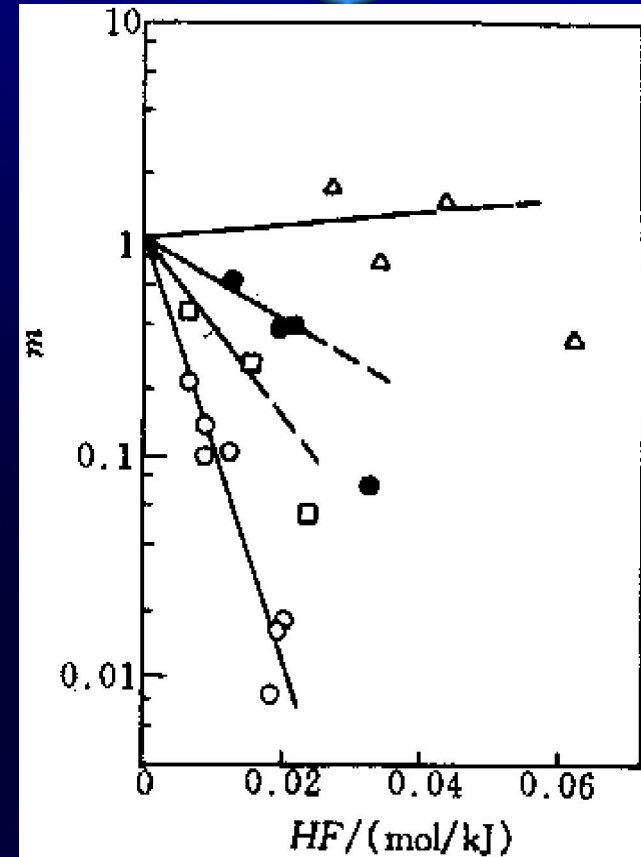
$$\ln m_0 = HF(HFS + \Delta HFS_{salt})$$

其中 ΔHFS_{salt} 为盐增加而引起的HFS值增量。

因此, m 的一般形式

$$\ln m = \ln m_0 + \frac{FZ_{pro}}{RT} \Delta \varphi$$

$$\ln m = HF(HFS + \Delta HFS_{salt}) + \frac{FZ_{pro}}{RT} \Delta \varphi$$



盐对血红蛋白分配系数的影响
PEG/Dx, pH=pI
NaCl (mol/kg): (○) 0;
(□) 0.6; (●) 1; (△) 2

4、影响分配系数的各种因素

(1) 成相聚合物的相对分子量M

聚合物的分子量M：当M 时， α 易分配于富含该聚合物的相。

例：PEG-Dx,
PEG分子量 m_1 ,
Dx分子量 m_2

该规律适用于任何成相聚合物系统和生物大分子溶质，具有普遍意义。

溶质的分子量M

$$\ln m = -\frac{M\Delta\gamma}{RT}$$

: 溶质在上下两相表面自由能的差。

M , m

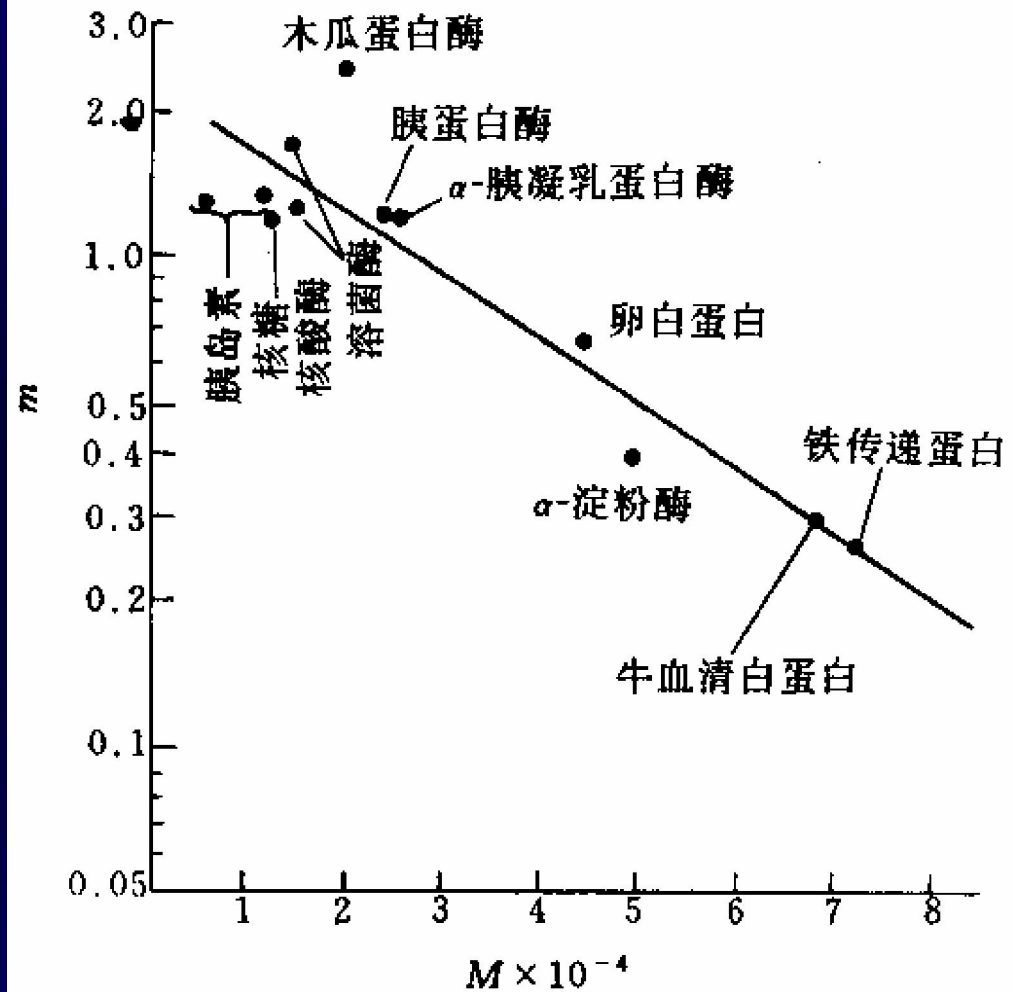


图 4.17 双水相中溶质的分配系数
与相对分子质量的关系^[13]

4.4% PEG 8000/7% Dx T500, 20°C

(2) 聚合物的浓度

成相系统总浓度↑时，系线长度↑，两相性质差别↑；蛋白质向一侧分配，即 $m > 1$ 或 $m < 1$

当接近临界点时，蛋白质均匀分配在两相， $m = 1$ ，

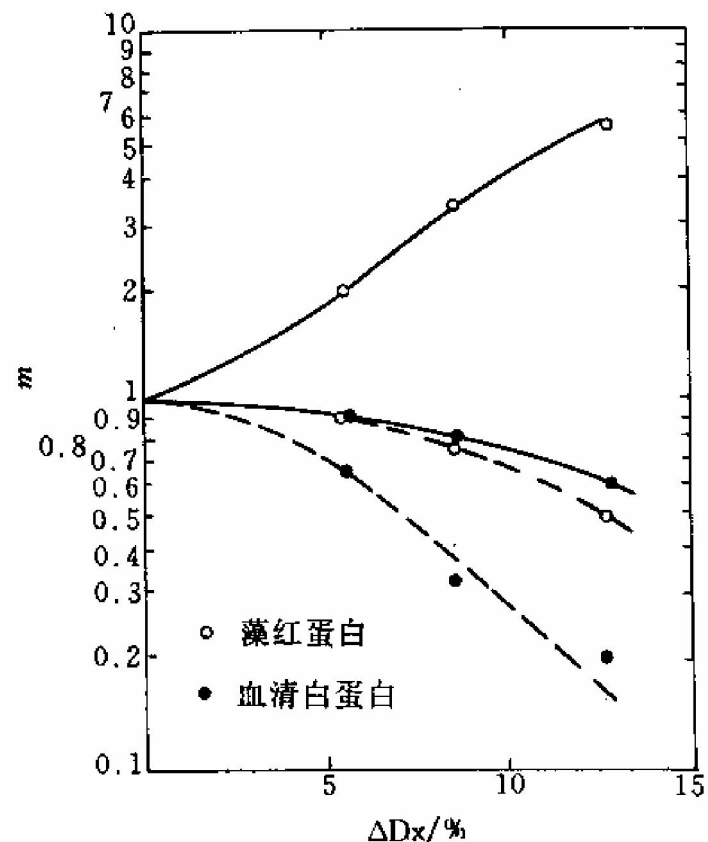


图 4.21 蛋白质在 PEG6000/Dx D-48 系统的分配系数^[1]

—: 0.01 mol/dm³ 磷酸盐, pH6.8;

---: 0.01 mol/dm³ 磷酸盐, 0.1 mol/dm³ NaCl, pH6.8

系线长度用于表征系统的性质。

成相物质的总浓度 \uparrow ，系线 \uparrow ，蛋白质越易分配于其中的某一相。

系线长度 \uparrow ，系统的表面张力 \uparrow ，导致溶质在界面上的吸附。

对细胞等固体颗粒，易集中在界面上，给萃取操作带来困难（原因：处在界面上，使系统能量减少）。

但对蛋白质来说，这种界面吸附现象少见。

盐类的影响

影响带电生物大分子，如蛋白质和核酸等的分配系数

如NaCl对卵蛋白和溶菌酶
pH=6.9时，溶菌酶带正电，卵
蛋白带负电。

NaCl<50mmol/L时，上相电位
低于下相电位。

$m_{\text{溶菌酶}} \uparrow$ ， $m_{\text{卵蛋白}} \downarrow$ 。

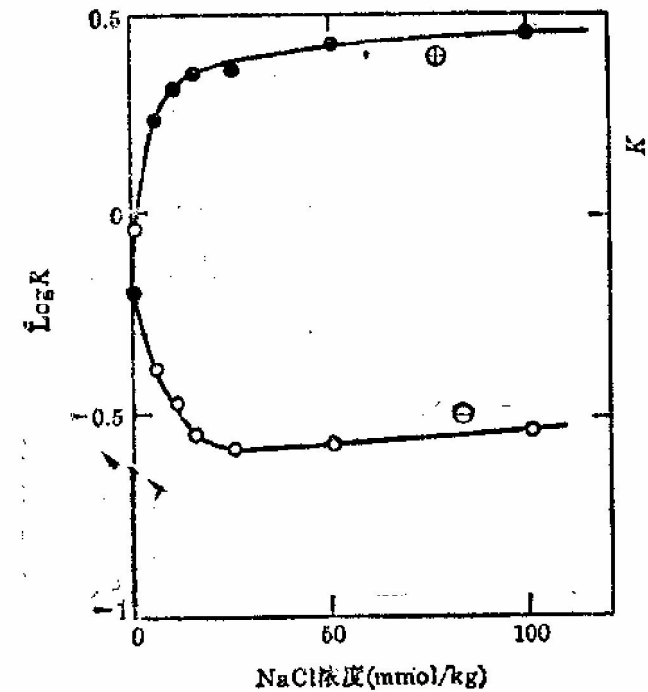


图 19-4 加入NaCl对卵蛋白和溶菌酶分配的影响
相系统: 8% (W/W) Dextran500; 8% (W/W) PEG
4000, 0.5 mmol/L磷酸钠; pH 6.9
●—溶菌酶; ○—卵蛋白

盐类的种类和浓度影响蛋白质的表面疏水性和m
盐类，会促进带相反电荷的两种蛋白质的分离。

盐析作用——盐的浓度很大时(1 ~ 5mol/LNaCl)，
蛋白质易分配在上相，lgm几乎正比于NaCl的浓
度，各蛋白质增大程度不同，可分离蛋白质

由于 HPO_4^{2-} 离子在PEG - 葡聚糖中的分配系数很小，因而加入pH>7的磷酸盐缓冲液能方便改变相间电位差，而使带负电荷的蛋白质移向富乙二醇的相。

(4) pH值

pH影响蛋白质所带的电荷和分配系数。

pH影响磷酸盐的离解程度，若改变 H_2PO_4^- 和 HPO_4^{2-} 的比例，会使相间电位发生变化，而影响分配系数。

pH微小变化会使 $m_{\text{蛋白质}}$ 改变2~3个数量级。

在不同的盐类系统， m 与pH的关系曲线的交点即为等电点。这种测定称为交错分配。

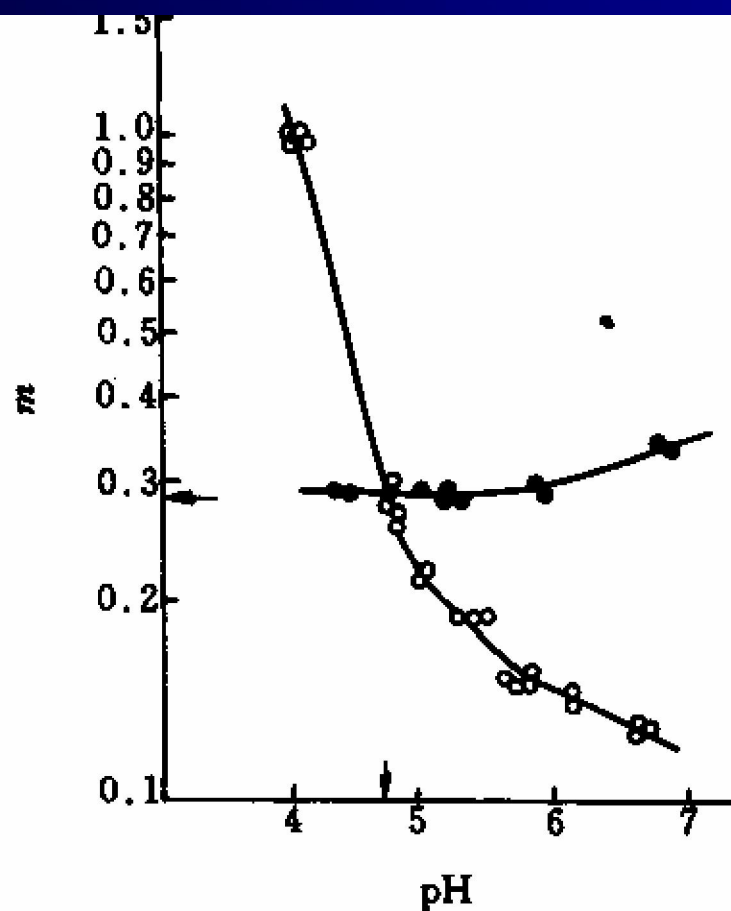


图 4.23 BSA 的交错分配曲线，箭头所指为交点处的 pH 和 m 值^[13]

4.4% PEG 6000/7% Dx T-500, 20 °C

(●) 0.1mol/dm³ NaCl;

(○) 0.05mol/dm³ Na₂SO₄

温度

温度影响相图 \Rightarrow \Rightarrow 分配系数，离临界点越近，影响越大；越远，影响越小。
工业常用常温操作， μ 减小，蛋白质稳定，无需冷冻。

荷电PEG作为成相聚合物

在聚合物上引入电荷，可以增大两相间的电位差。
一般在PEG羟基上引入两个荷电基团。

应用：

A 除细胞碎片； B 可同时分离纯化

胞内产品 产生大量细胞碎片， μ 增大，难分离，微滤，膜堵。超高速离心，成本高，工业难实现。

优点：

可分离纯化同时进行，除去碎片，杂蛋白质，时空产率高：单位时间，单位体积的设备内生产的目标产物量。
易放大，分配系数与规模无关，放大效应小。

缺点：

成本费用高 { 操作费用：随规模略有增加
设备费用：随规模略有增加
原料费用：随规模成比例增加
过滤，离心：设备与规模不成比例

改进方法：

A、降低原料成本：降低浓度；单价；回收

选：EHEC：乙基羟基乙基纤维素

PPT：丙基羟丙基淀粉

B、PEG回收，反萃，循环

C、D_x回收， μ 变小，过滤，除颗粒。

5、进展


亲和双水相

- | 提高双水相效率，纯化倍数大。
- | 亲和配基与一种成相聚合物以共价键结合，该配基与欲提取的蛋白质有很强的亲和力和选择性。
- | 亲和配基可接在上相（下相）或直接加入。

最近，三嗪染料与蛋白质有特殊亲和力，制备染料 - PEG衍生物。

温敏双水相

- | 敏感的成相体系，目标物进不去
- | 均相，混合很好，传质均匀；
条件改变，形成双相
- | 凝胶萃取，pH = 3.0，不吸水；
pH = 8.0，吸水，目标物进不去，浓缩



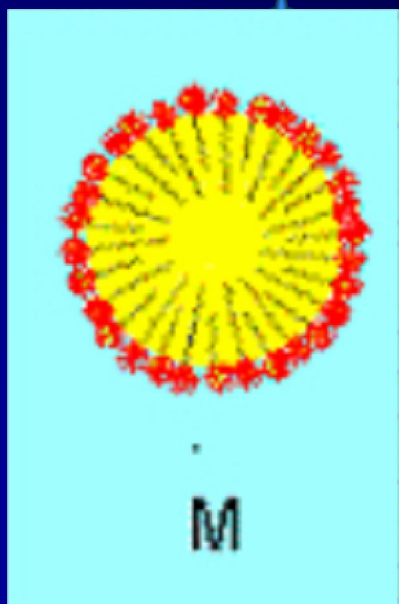
第五节 反胶团萃取
(Reversed micellar
Extraction)

1、反胶团萃取的概念

- 反胶团（束）萃取是利用**表面活性剂**在**有机溶剂**中形成的反胶团，从而在有机相内形成分散的**亲水微环境**，使生物分子在有机相（萃取相）内存在于反胶团的亲水微环境中，消除了生物分子，特别是蛋白质类生物活性物质难溶解在有机相中或在有机相中发生不可逆变性的现象。

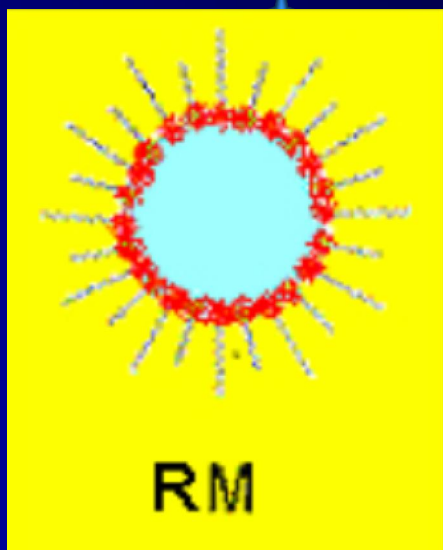
2、胶团与反胶团

- **胶团**：当水溶液中表面活性剂浓度超过一“定值”（称为临界胶团浓度，CMC）时，表面活性剂单体聚集成**胶束**，或称为**胶团**。胶团是表面活性剂在非极性有机溶剂中形成的一种聚集体。



在胶团中，表面活性剂的极性头朝外，疏水的尾部朝内，中间形成非极性的“核”（疏水空腔）。

- 在非极性的有机溶剂中，表面活性剂超过一“定值”时，表面活性单体也会形成多聚体（胶团）。将表面活性剂在有机溶剂中形成的胶团称为反胶团。此时表面活性剂的极性头朝内，疏水的尾部向外，中间形成极性的“核”（亲水空腔），称水池。



胶团或反胶团的形成均是表面活性剂分子自聚集的结果，是热力学稳定体系。

3、反胶团的优点

- 1 . 成本低，溶剂可反复使用
- 2 . 极性“水核”具有较强的溶解能力
- 3 . 生物大分子由于具有较强的极性，可溶解于极性水核中，防止与外界有机溶剂接触，减少变性作用。
- 4 . “水核”可以稳定蛋白质的立体结构，增加其结构的刚性，提高其反应性能。可作为酶固定化体系，用于水不溶性底物的生物催化。

4、构成反胶团的表面活性剂种类

- a. 阴离子表面活性剂

- 研究最多的是AOT-异辛烷体系，【二(2-乙基己基琥珀酸酯磺酸钠)】。

- b. 阳离子表面活性剂

- 常用氯化三辛基甲铵 (TOMAC) (三辛基甲基氯化铵)、溴化十六烷基三甲铵 (CTAB) (十六烷基三甲基溴化铵)
- 研究较多的是CTAB-异己烷体系

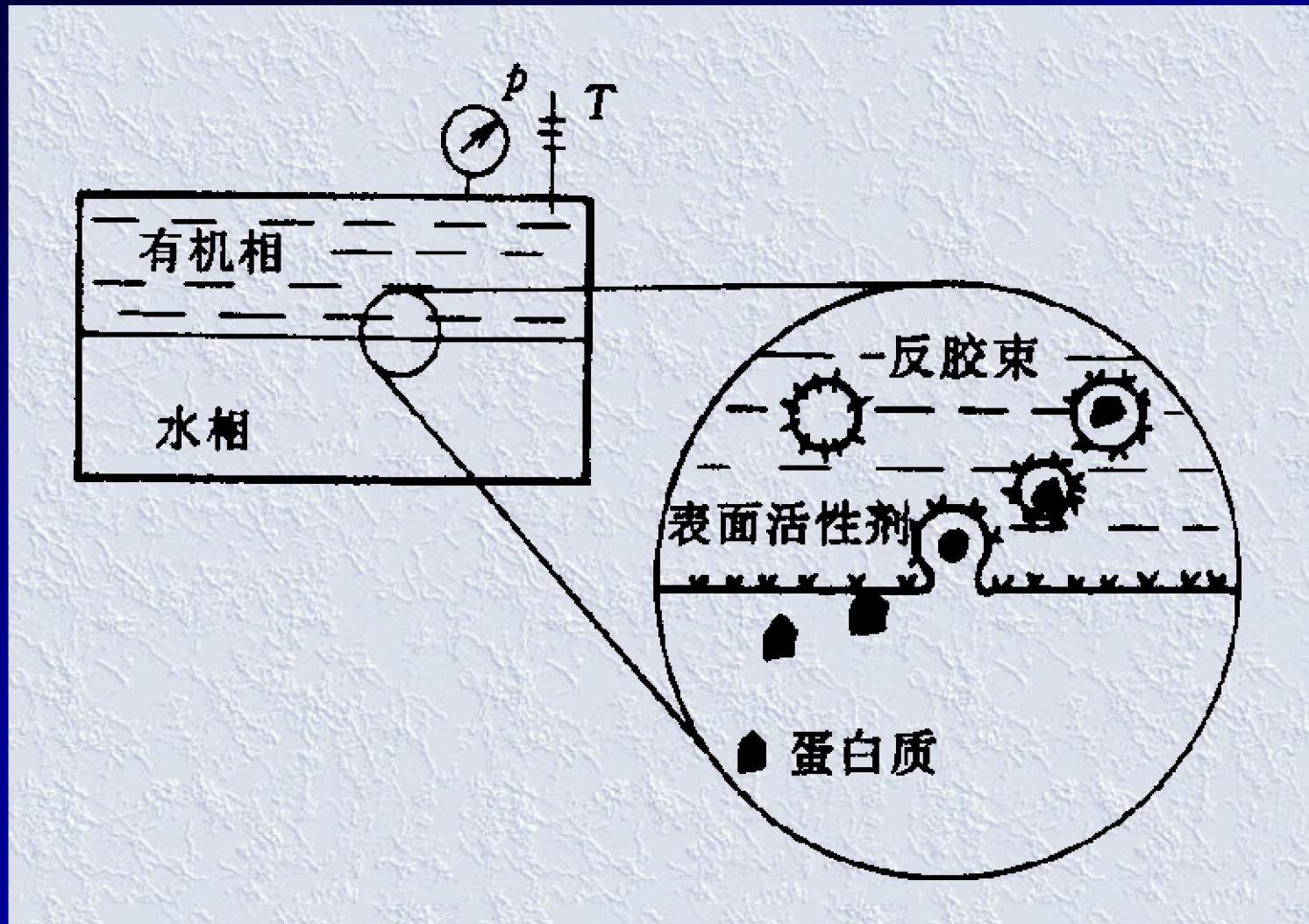
5、反胶团萃取操作

(1) 蛋白质的溶解方式

- 与普通的溶剂萃取一样，料液相与反胶团相接触(或混合)，蛋白质即可通过界向传质进入反胶团相，实现反胶团萃取操作。如果以制备含有蛋白质(如酶)的反胶团相为目的，可以采用**注入法**或**溶解法**。

注入法直接向含有表面活性剂的有机相注入浓缩蛋白质溶液，适用于水溶性蛋白质，多用于利用反胶团的酶反应研究；

溶解法直接将蛋白质粉末加入到反胶团相，适用于非水溶性蛋白质，含水率可保持在初期设定的数值不变，有利于反胶团萃取平衡的研究。



(2) 影响分配平衡的因素


分配平衡取决于蛋白质分子与表面活性剂的**静电相互作用**、**疏水相互作用**和**反胶团的空间排阻作用**

- 任何能够引起静电引力、疏水性相互作用和反胶团尺寸增大的因素均有可能提高蛋白质的萃取率或分配系数。

pH值和离子强度，有机溶剂的种类、表面活性剂的种类和浓度、温度和盐的种类等

(3) 酶的失活

- 表面活性剂与蛋白质在静电引力作用下极易形成复合物，沉淀与相界面，引起酶的失活。



第六节 超临界流体萃取 (Supercritical Fluid Extraction)

1、概述

物质均具有其固有的临界温度和临界压力，在压力-温度相图上称为临界点。在临界点以上物质处于既非液体也非气体的超临界状态。

图为临界点附近的 p - T 相图，在图中斜线所示范围内物质处于超临界状态。不同的物质具有不同的临界点。

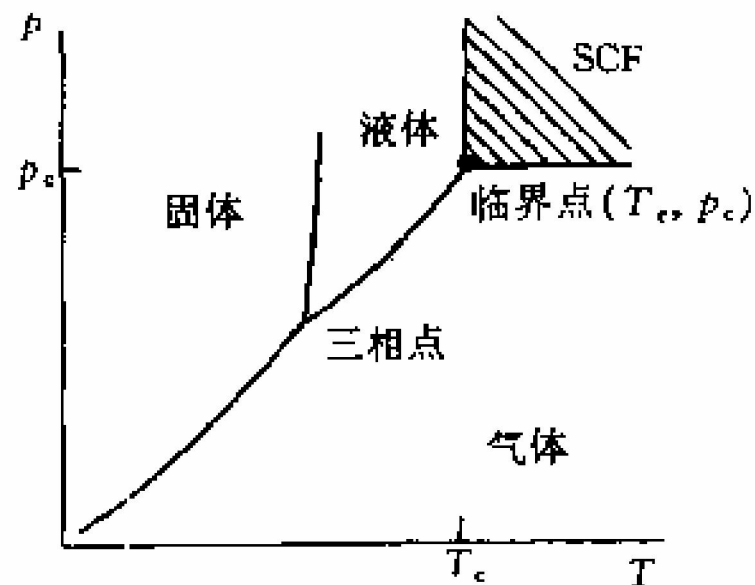


图 4.75 临界点附近的 p - T 相图

- **超临界流体**：当一种流体处于其临界点的温度和压力之上，则称之为超临界流体。
- **特点**：密度接近液体 - - 萃取能力强
粘度接近气体 - - 传质性能好

超临界流体萃取技术

定义：用超临界温度和临界压力状态的气体为溶剂，使之与液体或固体原料接触，萃取溶质，然后通过降压或升温的方法，使萃取物得到分离，再将萃取液分离成溶质和溶剂的操作。

常用萃取剂

极性萃取剂：乙醇、甲醇、水（难）

非极性萃取剂：二氧化碳（易）

超临界流体的应用：已成功用于食品、医药和化妆品等生物产物的分离过程，如脂肪酸、植物碱、醚类、酮类、甘油酯等。

2、超临界CO₂流体萃取技术

(Supercritical Fluid Extraction,SFE-CO₂)

特点

- 临界点：

T : 304.1 P : 73.8 atm

- 优点：

- 临界条件温和
- 产品分离简单
- 无毒、无害
- 不燃
- 无腐蚀性
- 价格便宜

- 缺点：

设备投资大

超临界CO₂流体萃取技术的应用

- (1) 药品、食品和精细化工产品等，**热敏性物料**的萃取。
- (2) **生物活性物质**，**手性药物**。
- (3) 在某些中药和天然药物活性成分萃取技术方面已达到产业化规模，如青蒿素浸膏、蛇床子浸膏、姜黄浸膏、胡椒精油、广藿香精油、肉豆蔻精油、深海鱼油等的精制。

规律如下：

(1) 对低分子、低极性、亲脂性、低沸点的碳氢化合物和类脂有机化合物表现出优异的溶解性能。

(如挥发油、烃、酯、醚等)可在7-10MPa较低压力范围内被萃取出来。

(2) 当化合物或有效成分含有极性基团 (如COOH、OH)时，溶解度变小，萃取困难

(3) 强极性物质很难被萃取

如糖类、氨基酸等

(4) 化合物分子量越高，越难被萃取。

如萜（*terpene*）类化合物是挥发油中的主要成分，随着分子量的增大，溶解度逐渐减小。

低分子量、低极性对超临界CO₂萃取有利

超临界 CO₂流体萃取影响因素

1. 影响因素

1.1 萃取压力

压力是SFE-CO₂萃取过程最重要的参数之一

- (1) 萃取温度一定时， $P \uparrow$ ， $\rho_{\text{流体}} \uparrow$ ；
- (2) 在临界压力附近，压力的微小变化会引起密度的急剧改变， $\rho_{\text{流体}} \uparrow$ ，对溶质的溶解能力 \uparrow ，萃取时间 \downarrow ，萃取越完全。

过高的萃取压力对萃取操作和设备的使用寿命不利。

1.2 萃取温度——另一个重要影响参数

有利的一面：

在一定的压力下，升高温度，蒸气压增大，提取成分的挥发性增加，扩散速度提高，有利于萃取；

不利的一面：

温度升高，密度减小，溶解能力降低

萃取温度常常有一个最佳值。

本章注意要点

双水相萃取的原理和影响因素?常见的双水相构成体系有哪些?

超临界流体萃取的原理、特点和主要影响因素?

比较Nerst分配常数 A_0^0 、分配常数 A 、分配系数 m

乳化现象和主要影响因素?