

生物大分子的分离与提取

主讲人：韩庆典

临沂大学生命科学学院

课程主要讲述内容

- ❖ 第一章 绪论
- ❖ 第二章 发酵液预处理与固液分离
- ❖ 第三章 细胞破碎与分离
- ❖ 第四章 细胞碎片与包括体的分离
- ❖ 第五章 沉淀分离
- ❖ 第六章 膜分离技术及应用
- ❖ 第七章 萃取
- ❖ 第八章 吸附和离子交换
- ❖ 第九章 色层分离法
- ❖ 第十章 电泳
- ❖ 第十一章 结晶

教材及
参照
资料

- ❖ 欧阳平凯、胡永红. 生物分离原理与技术, 化学工业出版社, 1999
- ❖ 孙彦. 生物分离工程. 化学工业出版社, 2023(第二版)
- ❖ 严希康. 生化分离工程. 化学工业出版社, 2023
- ❖ 刘国诠. 生物工程下游技术 (第二版). 化学工业出版社, 2023
- ❖ 毛忠贵. 生物工业下游技术. 中国轻工业出版社, 1999
- ❖ 刘茉娥. 膜分离技术. 化学工业出版社, 2023
- ❖ 张镜澄. 超临界流体萃取. 化学工业出版社, 2023

国内杂志

- ❖ 膜科学与技术
- ❖ 化工进展
- ❖ 生物工程学报
- ❖ 当代化工
- ❖ 化工学报
- ❖ 高校化学工程学报
- ❖ 化学工程
- ❖ CHIN J CHEM ENG
- ❖ 离子交换与吸附
- ❖ 化学工业与工程
- ❖ **Science in China B; Science in China A; Chinese Science Bulletin; Prog Nat Sci.**

刊源:

- ❖ 1) 分离分析期刊: **Bioassay; Anal. Chem.; Separ. Purif Method; Electrophoresis; Adv. Chromatogr; J Chromatogr A; LC GC-Mag Sep Sci; J Chromatogr B.**
- ❖ 2) 综合性期刊: **Nature; Science; Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**
- ❖ 3) 生物工程类期刊: **Cancer Gene Ther; Bio-Technol; Appl Environ Microb; Yeast; Curr Opin Biotech; Biotechnol Bioeng.**

何为生物大分子？

- ❖ **概念：**指的是作为生物体内主要活性成份的多种分子量到达上万或更多的有机分子。主要指蛋白质、核酸以及高相对分子量的碳氢化合物。
- ❖ **氨基酸、脂肪酸等都叫做生物单分子，是构成大分子的基本物质。**

1.1 生物技术与生物分离

- ❖ 生物技术(Biotechnology)应用生命科学研究成果，以人们意志设计，对生物或生物成份进行改造和利用以改善人类生存环境的技术。
- ❖ 当代生物技术综合分子生物学、生物化学、遗传学、细胞生物学、胚胎学、免疫学、化学、物理学、信息学、计算机等多学科技术，可用于揭示生命活动的规律和提供产品为社会服务等。

生物分离技术

- ❖ 概念：从动植物与微生物的有机体或器官、生物工程产物（发酵液、培养液）及生物化学产品中提取、分离、纯化有用物质的技术过程。也常称为生物分离工程技术、生物工程下游技术。

生物分离工程：为提取生物产品时所需的原理、措施、技术及有关硬件设备的总称，指从发酵液、动植物细胞培养液、酶反应液和动植物组织细胞与体液等中提取、分离纯化、富集生物产品的过程 (Downstream Processing)。

生物技术下游加工过程

目的产物的分离纯化过程

生物加工过程：

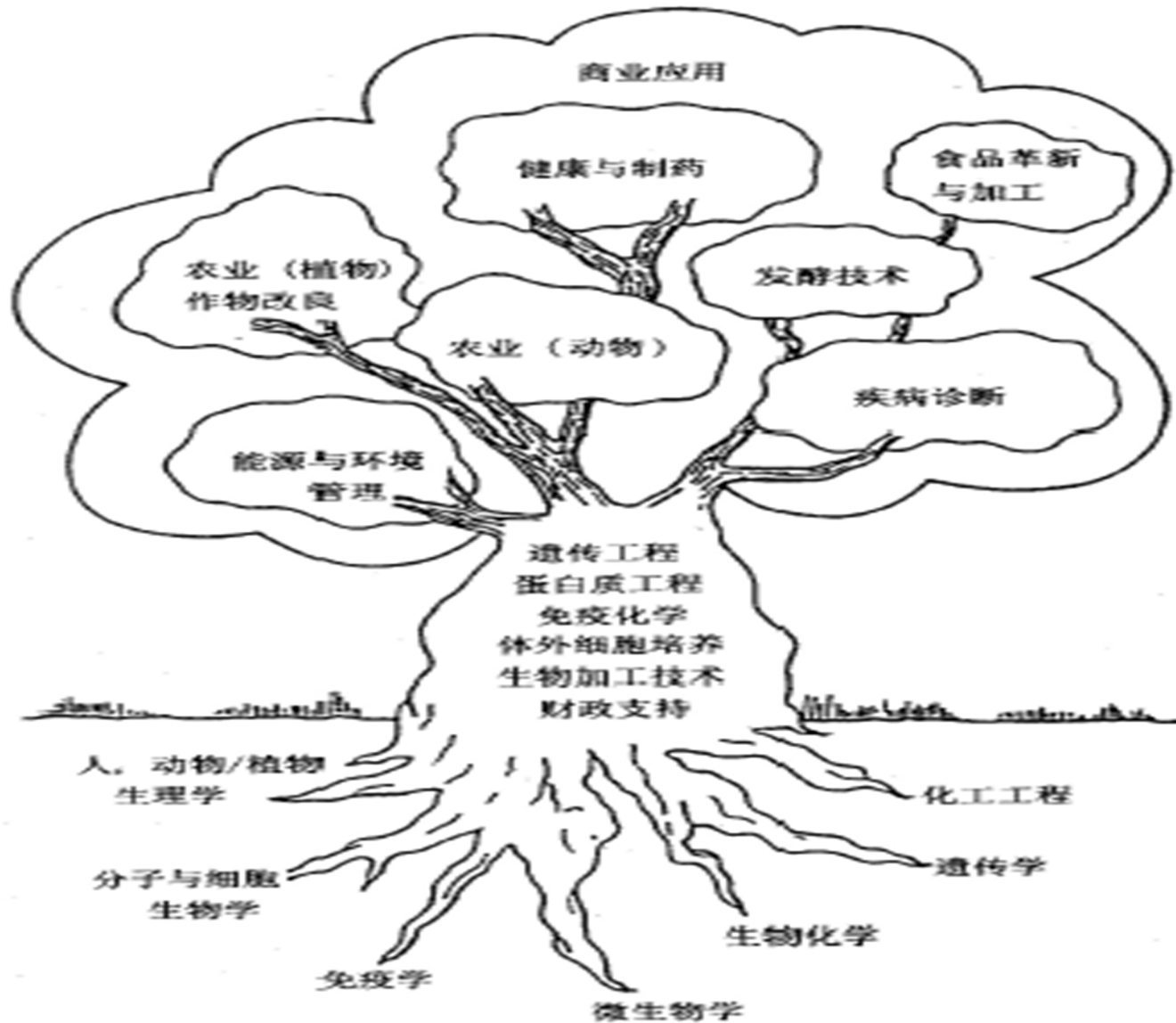
生物技术上游加工过程：优良生物物种的选育、基因工程、细胞工程、生物反应过程（酶反应、微生物发酵、动植物细胞培养等）。

单元操作：

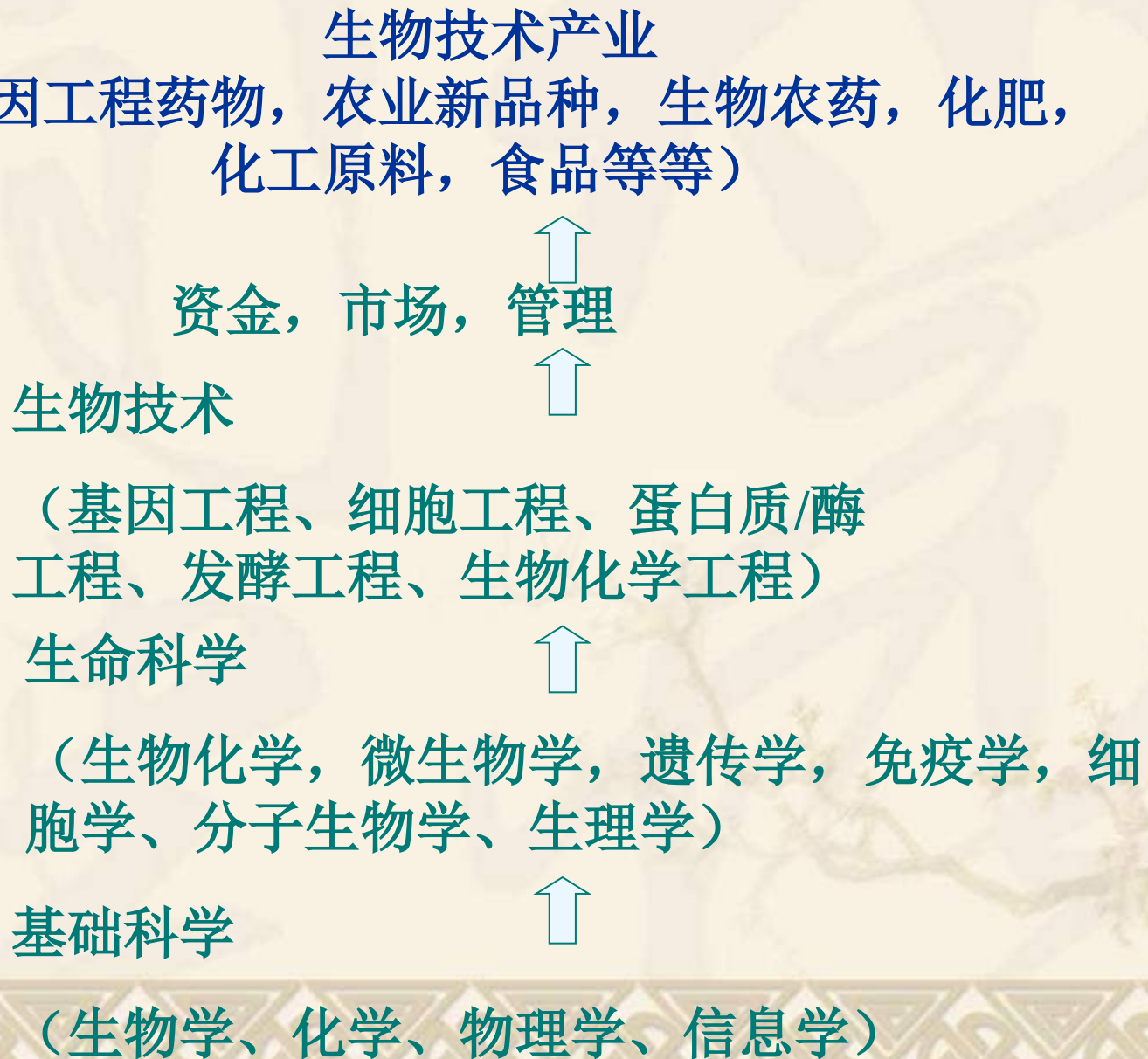
完毕一道工序所需的一种措施和手段。

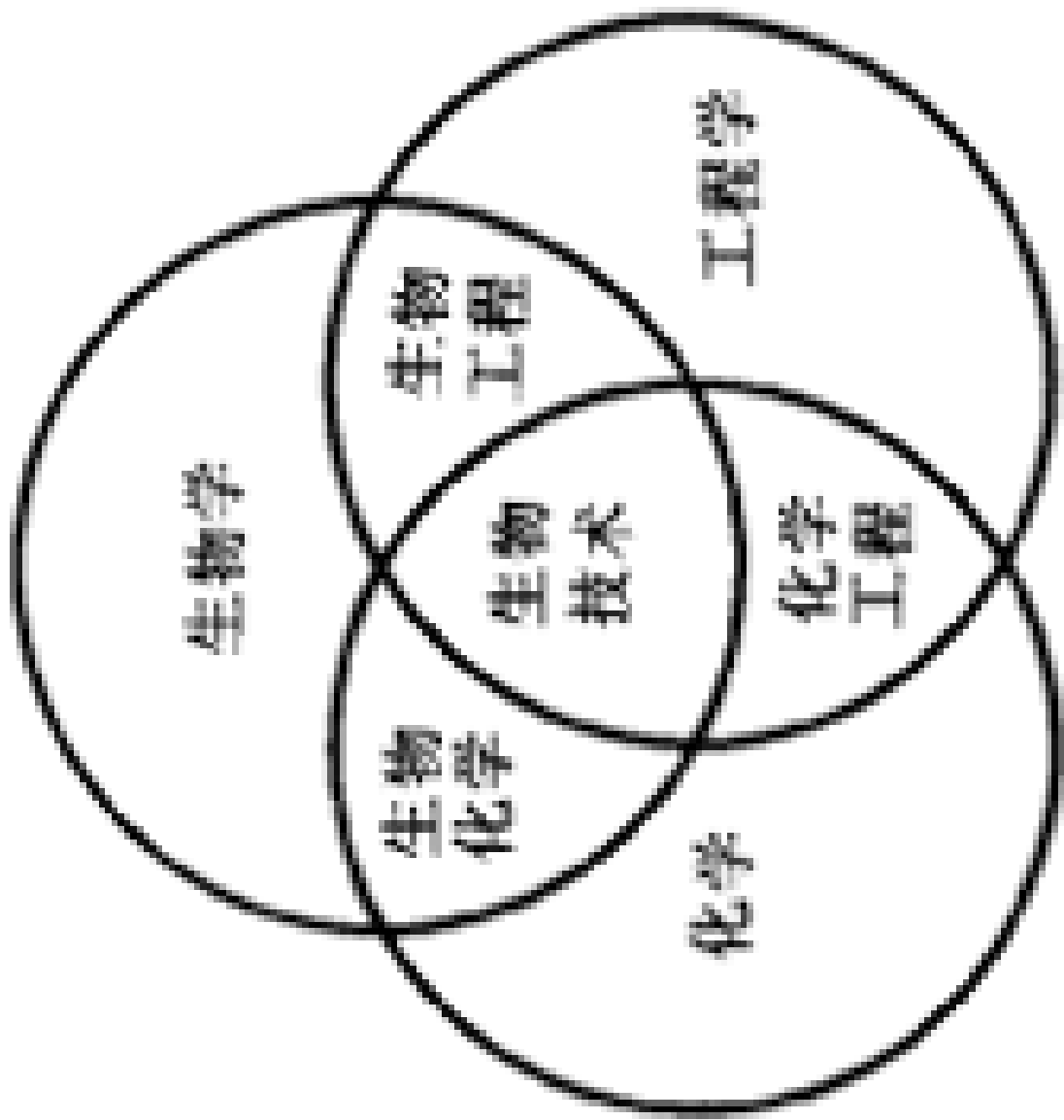
❖ 生物技术的目的就是**指利用培养微生物、动物细胞、植物细胞**来生产对人有用的产品。

生物技术树



生物科学与生物技术及其产业的关系





生物技术多学科性

生物技术分类

1. **Genic Engineering**
2. **Cell Engineering**
3. **Enzyme Engineering**
4. **Fermentation Engineering**
5. **Protein Engineering**
6. **Biochemical Engineering**

生物技术的发展阶段

阶段	时期	名称	特征	典型产品
一	第一次世界大战前	传统生物技术	酿造技术	酒类、醛、酱类、酸奶等
二	一战以后 - 20世纪七十年代	近代生物技术	微生物发酵技术	青霉素、丙酮、甘油、谷氨酸、柠檬酸、淀粉酶啤酒等
三	20世纪七十年代以后	现代生物技术	DNA重组及转基因技术 细胞和原生质体融合技术 酶和细胞固定化技术 植物脱毒和快繁技术 动植物细胞大规模培养技术 动物胚胎工程技术 现代微生物发酵技术 现代生物反应工程 现代生物分离工程技术 蛋白质工程技术	新物种、转基因动植物、克隆动物、新型酶制剂、基因工程药物、新型发酵产品、新型生物反应器等

主要的当代生物技术仪器与设备

名 称	用 途
1. DNA 自动测序仪	自动测定核酸的核苷酸序列
2. 蛋白/多肽自动测序仪	测定蛋白质、多肽的氨基酸序列
3. 半自动 DNA 测序仪	测定核酸的核苷酸序列
4. DNA 自动合成仪	合成已知寡核苷酸序列
5. 蛋白/多肽自动合成仪	合成已知氨基酸序列的蛋白质或多肽
6. 生物反应器	细胞的连续培养
7. 发酵罐	微生物细胞培养
8. 热循环仪(聚合酶链式反应仪、PCR 仪)	DNA 快速扩增
9. 序列分析软件	核酸/蛋白质序列分析
10. 基因转移设备	将外源 DNA 引进靶细胞
11. 色谱软件	控制色谱仪、收集和处理数据
12. 高效液相色谱仪	物质的分离与纯化及纯度鉴定
13. 电泳设备	物质的分离与纯化及纯度鉴定
14. 凝胶电泳系统	蛋白质和核酸的分离与分析
15. 毛细管电泳仪	质量控制、组分分析
16. 超速、高速离心机	分离生物大分子物质
17. 电子显微镜	观察细胞及组织的超微结构

生物技术的最新进展

(1) 基因工程方面

试管婴儿、细胞融合、蛋白质序列分析、转基因、克隆

(2) 生物反应器

连续式，柱式、固定化酶、固定化细胞反应器

(3) 发酵技术

如：固定化酶、固定化细胞技术

取得产品的有效途径

- ❖ **Raw materials** 原材料
- ❖ **Pretreatments** 预处理
- ❖ **Bioreactions** 生物反应
- ❖ **Bioseparations** 生物分离
- ❖ **Products** 产物

生物下游加工在生物技术中的地位及特点

- 1) 生化产品的必经的过程。
- 2) 回收率不高。抗生素(80%左右), 蛋白质(60-90%)。
- 3) 分离纯化昂贵。下游研究费用占整个费用的50%以上; 产品的成本构成中分离纯化的成本占全部成本的40-80%; 精细和药用产品的成本比率更高; 大多数酶70%。
- 4) 基因工程的费用。下游占50-80%。基因工程体现产品成本占85-90%; 劳动力和物力成本占整个劳动力的70-90%。
- 5) 中药当代化的主要技术平台。农学、分离科学、生化分析、药学等。
- 6) 提供产品竞争力的关键技术之一。WTO, 降低生产成本、提升产品原则。
- 7) 环境污染的治理 (慢性铅中毒)。

1 按用途分类

食品类

保健品类

医用类产品

农业用产品

生物试剂类、抗生素等

1.2 生物物质与生物分离

2 按分子量大小分类

Mass < 1000D: 抗生素、有机酸、aa、多肽类等

Mass > 1000D: 酶、抗原、抗体、多肽、蛋白质类

3 按发酵时目的产物所在的位置分类

cell内: 胰岛素、白细胞介素、干扰素、重组蛋白质

cell外: 抗生素（青霉素、红霉素）、胞外酶（ α -淀粉酶）等

生化产品的特点

- 1) **应用面广**。医药卫生、环境保护、动植物生长调整、食品和试剂等
- 2) **种类繁多**。分子量 $\times 0 - \times 000000$ ，构造功能复杂，生物活性各异。
- 3) **目的产物在初始物料中的含量低**。青霉素(4.2%)、庆大霉素(0.2%)、干扰素($< 50 \mu\text{g/ml}$)。
- 4) **初始物料成份复杂**。除少许产物外，还有大量的细胞及碎片、其他代谢物(几百上千种)、培养基成份、无机盐等。
- 5) **生物活性物质的稳定性低**。易变质、易失活、易变性，对温度、pH值、重金属离子、有机溶剂、剪切力、表面张力等非常敏感。
- 6) **产品的质量要求高，尤其是药物等**。成品青霉素对其强致敏原--青霉噻唑蛋白必须控制RIA值(放射免疫测定)不大于100(1.5×10^{-6})，蛋白类药物(杂质 $< 2\%$)、重组胰岛素(Humulin)中杂蛋白不大于0.01%。

生物分离的流程与单元操作

- ❖ ① **细胞回收技术**: 絮凝, 离心, 过滤, 微过滤。
- ❖ ② **细胞破碎技术**: 球磨, 高压匀浆, 化学破碎技术
- ❖ ③ **初步纯化技术**: 吸附, 离子交换, 沉淀 (盐析法, 有机溶剂沉淀, 等电点, 沉淀剂), 溶剂萃取, 两水相萃取, 超临界萃取, 逆胶束萃取, 膜分离技术
- ❖ ④ **高度纯化技术**: 各类层析, 亲和, 聚焦, 离子交换, 结晶
- ❖ ⑤ **成品加工**: 浓缩, 除菌与热原, 喷雾干燥, 气流干燥, 沸腾干燥, 冷冻干燥

1.3 生物分离过程的特点

- ❖ A. 生物工程的主要特点是生物制品多种多样，产品的多样性造成分离措施的多样性

Types of molecules manufactured by fermentation

Molecular type	Number of species
Antibiotics	85
Amino acids	18
Enzymes	15
Organic acids and solvents	11
Vitamins, yeast, growth factors, nucleotides	6
Miscellaneous-dextrans, steroid biooxidations	8
Total	143

还能够增长胰岛素、生长激素、干扰素等基因工程产品

**B. 绝大多数生物分离措施起源于化学品的分离措施
大约80%的化工分离措施可应用于生物分离技术中**

用于生物技术的分离措施类型

分离方法类型	用于传统化学工业中的方法数	用于生物分离中的方法数
物理分离方法	7	7
平衡控制的分离方法	22	18
速率控制的分离方法	13	10
合 计	42	35

C. 生物分离一般比化工分离难度大

1. 成份复杂:

固体成份涉及完整有机体、培养基及底物中的不溶物

液体成份涉及底物可溶物、代谢中产物及目的产物。

2. 悬液中的目的产物浓度低:

取得高纯度的干燥产品，需要几步；
分离过程精细，成本高；

D. 生物产品要求高质量:

- ❖ ***purity** (纯度)
- ❖ ***sanitation** (卫生)
- ❖ ***biological activity** (生物活性)
- ❖ 分离过程的成本占产品总投资的大部分，所以必须仔细考虑和设计产品的回收和纯化过程

生物分离的流程与单元操作

- ❖ 生物分离具有许多相同的单元操作
生物分离一般分四步

A. Removal of insolubles(3 unit operations)

(不溶物的清除)

- ❖ *filtration (过滤)
- ❖ *centrifugation (离心)
- ❖ *cell disruption (细胞破碎)

(产物浓度和质量得到了提升)

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/185244013012011330>