离子交换与吸附, 2001, 17(1): 88 ~ 96
ION EXCHANGE AND ADSORPTION
文章编号: 1001-5493(2001)01-0088-09

制备色谱分离技术的现状和发展*

彭奇均　徐 玲　孙培冬　杨 力　钱 永
无锡轻工大学, 无锡 214036

摘要: 本文介绍了近年来生物和化工领域在开发具有高吸脱附、低返混性能，能直接处理含颗粒料液、连续操作、易放大和建造等特性的色谱工艺技术，尤其是柱色谱工艺技术方面的发展情况，以及这些工艺技术在制备和工业规模上的应用，并对各类色谱新工艺技术在使用中的优缺点进行了讨论。

关键词: 制备色谱　工艺技术　模拟移动床　色谱分离
中图分类号: O657.7　**文献标识码**: A

1 引　言

色谱是从混合物中分离组分的重要方法之一。色谱技术甚至能够分离物化性能差别很小的化合物，当混合物各组成部分的化学或物理性质十分接近，而其它分离技术很难或根本无法应用时，色谱技术愈加显示出其实际有效的优越性。如在消旋体处理等许多方面，所要求的产品纯度标准只有使用色谱技术才能达到。因而在医药、生物和精细化工工业中发展色谱技术，进行大规模纯物质分离提取的重要性日益增加。

在生物、化工生产过程中，为迎接产品成本、质量标准方面的商业竞争及环境保护压力的挑战[1]，必须进行色谱生产过程放大和操作最佳化方面的探索。在实验室工艺的放大和色谱技术的改进中，目前很大一部分生物和化工工程研究工作至力于探索特别适合于大规模连续操作的具有高吸脱附、低返混性能、直接处理含颗粒料液、易放大和建造等特性的特殊色谱新技术，并已开发出许多具备以上各类特性的不同色谱新技术，以适合不同的生产工艺需求[2]。

2 不同特性色谱技术的发展

2.1 高吸脱附效能

高分离特性是衡量色谱技术能力的主要标志，它主要由吸附剂的性能所决定。而具有高吸脱附效能的色谱工艺技术，可使吸附剂充分发挥吸脱附分离性能，在提高色谱分离能力上起重要作用。

填充柱色谱具有极好的吸脱附效能，由于其分辨率高、结合容量大、成本低、放大快速简便，成为

* 收稿日期: 2000 年 3 月 9 日
作者简介: 彭奇均, 男(1955-), 江苏省人, 副教授.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

工业分离提纯中最有效的色谱技术，在现有色谱分离工艺中 70%以上应用柱色谱技术[3]。

2.2 处理固体能力

但填充柱色谱不适合于处理含颗粒的料液成分，因为固体料将在床的孔隙内滞留。这将增大液料通过床柱时的压力降，造成滞留固体物在床入口处附近的堵塞，同时导致非刚性吸附剂的变形和压缩。因此而造成压力降的增加将变得无法接受[4]。

然而，在生物工程中处理的大多数发酵液，分解细胞均质液中都含有悬浮固体，传统操作中使用离心和过滤从发酵液和蛋白质均质液中预先除去固体，澄清的料液再进入填充色谱床中[5]。但澄清操作花费时间，增加开支，且每一步操作都有产品损失。由于一般发酵液中产物的浓度都很低 (抗生素: 1~3%; 酵母: 2~5%; 酶: 0.2~0.5%; 氨基酸: 10%; 蛋白: 1%; 有机酸: 4~11%) 过滤操作的损失很大，如浓度最高的柠檬酸 (浓度为 10~13%) 的过滤损失为 7~10%。一些浓度非常低的产品，过滤损失可达 50%以上。

因此，发展可直接处理含固体颗粒液料的色谱工艺是色谱技术在工业领域中应用的一个重要方面。为此而开发出的搅拌釜、流化床、重复循环色谱等各种工艺技术都具有直接处理含固体颗粒液料的能力。

搅拌釜使用间歇操作方式，吸附剂直接加入到搅拌桶里的料液中[6]。流化床主要用于从含细胞的发酵液中回收抗生素[7-8]，它们都可以用于较大规模的提取其它低分子量化合物[9]。

但传统的流化床与填充床相比吸附性能较差，弥补这一缺陷的方法是将液料重复循环通过床柱以获得高吸/脱附率[10,11]。典型的重复循环色谱工艺如图 1 所示。只要收集的组分没有达到标准，洗脱液将连续从出口循环进入柱入口，使制备柱在高浓度下的非线性吸附等温线范围内的超负载区域内工作[12]。Bailly 和 Tondeur[13]提出了不同的重复循环操作方法: 超负荷洗脱模式；中间混合区域重复循环进料；第二段尾端重复循环进料以及后两种方法相结合。重复循环色谱工艺可减少溶剂消耗，获得高浓度产品、增加生产力，因此比通常的洗脱色谱更具经济吸引力[14]。

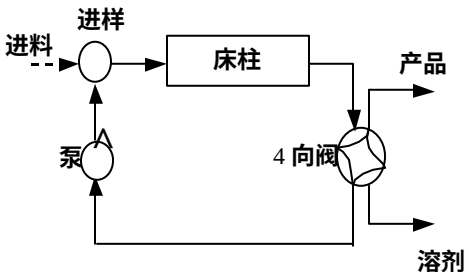

图 1　重复循环色谱

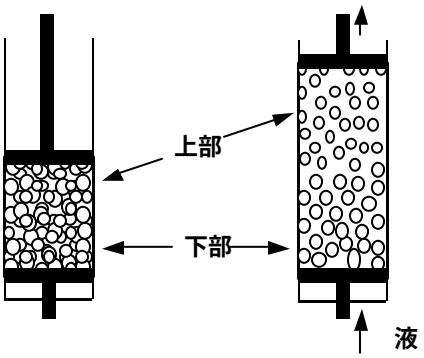

图 2　膨胀床技术

2.3 低返混特性

色谱柱，尤其是大口径工业规模柱内部的流体返混是严重影响柱分离效能的主要因素，也是色谱技术由分析发展到制备及工业应用的一个主要阻碍。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

上述色谱技术都存在柱设备内部的严重返混现象。流化床的一个主要缺点是固体颗粒和流动相两者都存在严重的混杂。因此其行为就如具有较少理论塔板数的柱[15]。在液体和固定相内部和两相之间存在的混合现象使吸附性能变坏，生产力降低。而搅拌釜在分离操作过程中更是只能起一块单元理论塔板作用。而在工业生产柱中更因液体流速，粘度和床空隙度的增大，使轴向扩散稳定性恶化而降低了设备能力和生产率。

有许多方法用于减轻流化床中吸附颗粒的混合现象，以降低柱床中的返混、增加吸附处理效率：其中包括加入档板，将床分成数段的流化板柱[23]，使用在液体和吸附相中都只有少量混合的活塞流动形式，非柱色谱的高效膜吸附工艺技术及吸收膨胀床或磁稳定技术于色谱工艺中。

在流化板柱中加入一些水平孔板以降低吸附剂的返混[16]，这样产生了一串充分混合的间隔，具有多于一个的理论塔板数，总的返混情况比流化床好。该方法最适合于逆流进料，加入脉冲流往下运带吸附剂颗粒的连续错流操作。

近几年报道了许多使用高效膜吸附器提纯蛋白质的制备色谱工艺，分离效能都较高[17]。在这类设备中，使用改性微滤膜作为液相色谱的固定相支架，各类工业上使用的普通树脂和配基 (离子交换，亲和) 都可结合到膜的内表面，使在毛孔墙上吸附目标蛋白质。通过对流，流体可到达微孔结构的所有内表面，因此，原则上膜吸附器可避免扩散 (即返混) 问题。

磁稳定流化床技术是基于将亲和配基固定在预磁化的颗粒表层，并使用由此得到的亲和固定相或使用预磁化的吸附颗粒，在均匀的外磁场中稳定流动紊乱，并由此分离和浓缩大分子、微生物和细胞[18-19]。

如图 2 所示的膨胀床技术，采用了向上流动物料的方式，允许柱中的吸附剂微粒从沉降态上升，增加吸附剂颗粒之间的空隙，使细胞和细胞碎片能够通过而不堵塞床柱[20]。与通常的流化床相比，它的一个重要特点是低返混[21]。这类技术已被应用于离子交换色谱、连续错流蛋白质色谱和带磁场的亲和反应吸附中[22]。

2.4 连续操作性能

填充床柱、搅拌釜、重复循环色谱、膨胀床、高效膜吸附色谱等技术的另一缺点是其本质上的间歇操作。间歇色谱需用大量昂贵的固定相，消耗大量流动相，吸附剂不能有效利用，分离产物浓度很低。而目前极力推广应用的连续性色谱技术是经济型工艺流程，并可实现调节和控制自动化，使其操作强度大大低于同等规模的间歇操作。

最近发展起来的连续性色谱技术主要是环型色谱、错流梯度色谱 (CGC) 和移动床 (MB) 色谱技术。

环形色谱是使填充色谱可以进行连续操作的一种方法。如图 3 所示，在环形色谱系统中，吸附剂颗粒填充在两个同心圆柱间的空隙内。当柱慢慢绕轴转动时，洗脱液和料液混合连续加到环形床上。系统无需再生，因为进料液由洗脱液带着离开微粒床，而不使微粒床产生化学变化。因此系统是一个连续、稳定态生产过程[23]。但环形色谱不能处理含固体颗粒液料，同时它至今仍不能用于较大规模的生产。

被称为错流梯度色谱 (CGC) 的色谱聚焦技术是一种能从多种成分的进料液中分离和浓缩溶质的高效连续操作装置，使用错流接触，根据溶质成分的特定性质 (带电荷数，密度，大小，疏水性等) 来大规模分离和浓缩两性溶质，并很容易放大[24-25]。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

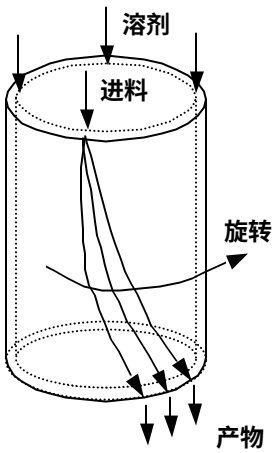

图 3 环型色谱

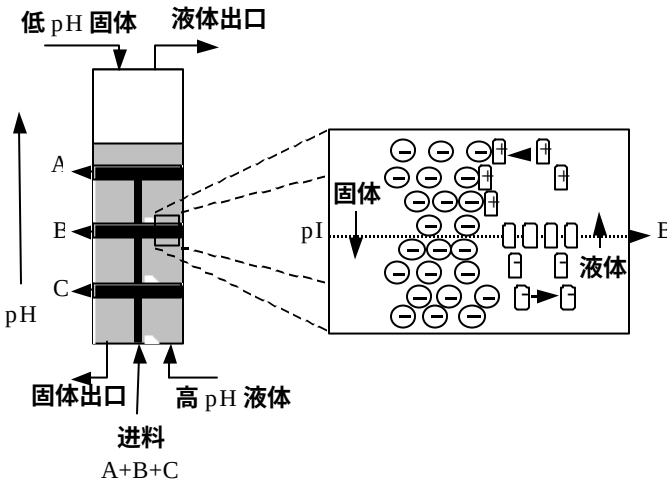

图 4 错流梯度色谱 CGC

在图 4 所示的 CGC 聚焦系统中，各溶质在沿着柱长度的各自等电点处聚集并能作为纯组分排出。聚集机理图：在 pH>pI 的位置溶质带负电荷，在此区间内，溶质不吸附到带负电荷的树脂上，沿柱向上移动。在 pH<pI 的位置溶质带正电荷，在此区间内，溶质吸附到带负电荷的树脂上，沿柱向下移动。在 pH=pI 的位置溶质电中和并聚积在此位置。因此各溶质成分会在分离系统中确定位置的很窄的区间内浓缩[26]。CGC 的主要缺点是必须采用固定相实际移动的操作方式，要求固定相具有很高的物理稳定性。

连续循环移动床 (也称真实错流移动床 TMB) 内吸附剂的“固定”床相对流动液进行机械运动。原料连续送入，分离组分在吸附柱不同位置连续输出，在柱内形成稳定的浓度曲线，具有处理量大、产品纯度和产率高、易于自动控制的特点[27]。

2.5 放大与大规模生产

尽管环型色谱、GGC、TMB 具有连续操作的能力，但都存在设备放大上的困难。而 TMB 真实的连续固体物与流体的错流移动，造成固体物的磨损和流体及固体的返混，因此，很难真正实现大规模生产应用[28]。

最近发展起来的模拟移动床 (SMB) 工艺技术，解决了 TMB 存在的大规模生产应用问题。如图 5 所示，在 SMB 中，固、液两相交错流动是通过顺序开关进出料阀门来模拟实现的，从而在吸附剂的实际固定床上获得了类似交错流动效应，无需真正传送固体物料[29]。SMB 的对流操作原理，使其具有设备结构小，投资成本低，放大快速简便，产率高和生产能力强等特点[30]。

模拟移动床原理早在 30 年前就为环球石油产品公司 (UOP) 工业化，应用于建造每套 10 万吨规模的从 C_8 链烃混合物中分离对二甲苯的装置，并以很大规模成功地应用于一些工业部门 (从支链和环状烃、烯中分离直链烃；从玉米糖浆中分离果糖；有机酸、药品及同分异构化合物的提纯)[31-33]。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

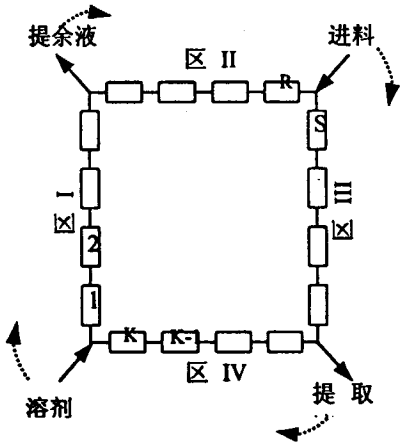

图 5 模拟移动床

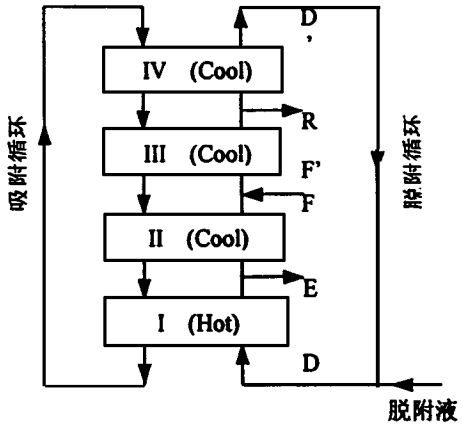

图 6 非等温操作 SMB 模型

2.6 SMB 的发展

但 SMB 的主要缺点是所得到的产品液的浓度低于进料液的浓度，而在生化工业中，几乎所有发酵液中的产品浓度都很低 (0.1%~10%)，这给 SMB 技术在生化领域中的应用带来了困难。Ching 和 Ruthven 曾经开发了如图 6 所示的可获取高浓度产品的非等温操作 SMB 系统。在这个系统中，为了保证移动中的区 I 处于较高的温度而其他区处于低温，必须不断交替地对床柱进行加温、冷却，代价是系统复杂，成本增高[34]。

本文作者为解决这一技术难题研究了一种使用热再生树脂从发酵液中提纯柠檬酸的新工艺。此工艺流程采用如图 7 所示的 SMB 新技术，所得产品液的浓度比通常 SMB 技术高 3~4 倍。与通常的 SMB 色谱分离工艺不同，在环型联接色谱柱系统中区 I (低温吸附区) 和区 II (高温脱附区) 通过控制阀门隔离；吸脱液不是在整个系统中，而仅仅在区 II 中流动，这样可大大降低热消耗。1999 年末，我们以此技术建成的中试装置由 18 根 0.30 m^3 柱组成，具有 400 吨/年的生产能力。该工艺可大幅度缩短生产过程，产品收率提高 10%以上，生产成本降低 10%以上，同时可几乎完全消除生产中的三废污染[35]。

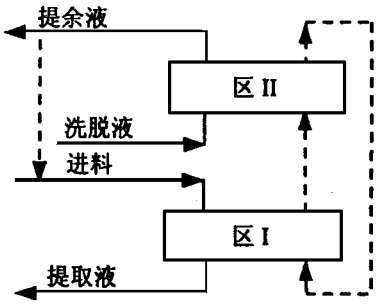

图 7 柠檬酸分离 SMB 提纯系统

我国味精产量已跃居世界首位，但味精工业也是我国的污染大户之一。以 1999 年排放 1260 万吨高浓度有机废母液计算，每年排放到环境中的氨基酸总量为：谷氨酸 14 万吨，丙氨酸 2.4 万吨，半胱氨酸 1.5 万吨，天冬氨酸 1.3 万吨，异亮氨酸 0.7 万吨，蛋氨酸 0.2 万吨，甘氨酸 0.16 万吨，苏氨酸 0.14 万吨，产生了极大的资源浪费和环境污染。如能将这些氨基酸分离提纯回收，将产生每年达十亿元左右的经济

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

效益，同时对减少环境污染具有极大的社会效益。我们使用多树脂联用的模拟移动床排阻色谱分离技术，进行味精母液中杂氨基酸分离提纯研究已取得实验室成功。

目前，SMB 技术在工业中的应用主要仍局限于二组分体系的分离，但 Beste[36]等已开始采用如图 8 (a) 所示的 SMB 新工艺研究药品中不同异构体的三组分分离。作者在最近进行木糖、木糖醇、阿拉伯醇的三组分分离的研究工作中，也发展了如图 8 (b) 和 (c) 所示的 SMB 新技术，可以在 SMB 系统中进行三组分样品的同时分离和提纯。

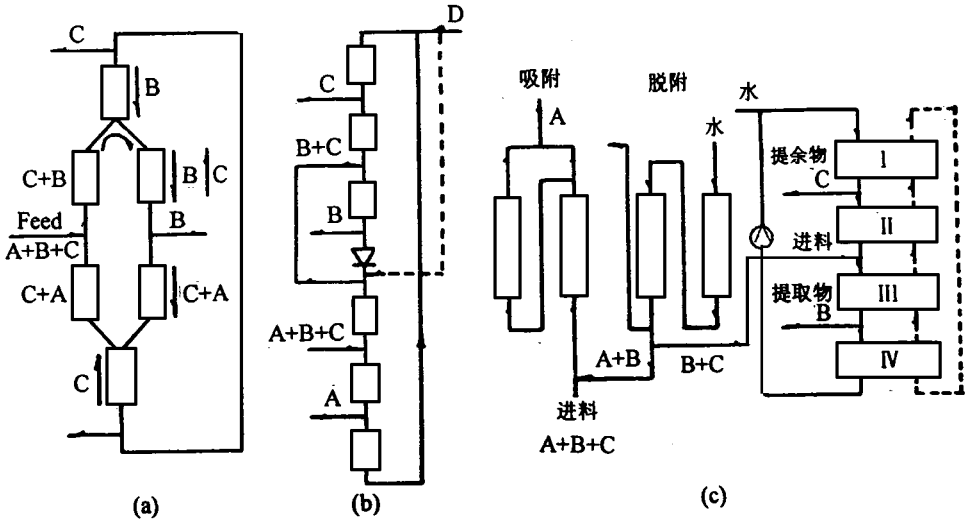

图 8 使用于木糖醇分离的三组分分离 SMB

A：木糖　　B：阿拉伯醇　　C：木糖醇

现在，许多研究工作还集中于 SMB 系统的建模和计算机模拟[37-38]，工作的目的是对某一给出的特定分离任务，使用最少的 SMB 试验时间和次数，快速准确的找出最佳操作条件[39-40]，以指导设备放大和工业化生产[41-43]。

多年来我们与德国同行共同合作探索具有高分离效能，易于放大和制造特性的大规模连续色谱新技术。通过在发酵有机酸、氨基酸、药物和淀粉糖工业中开展的许多工作，开发出各类色谱生产新技术，以适合不同产品的生产需要。

3 小　结

综上所述，各种色谱技术特性可归纳为表 1。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 1 各种色谱技术的特性

种类	处理固体颗粒能力	吸附效能	脱附效能	返混	放大	连续操作	生产规模
填充柱	不能	好	好	轻微	容易	不能	大
搅拌釜	能	差	差	完全	容易	不能	大
环形色谱	不能	好	一般	无	困难	能	小
流化床	能	差	一般	完全	一般	能	一般
重复循环色谱	能	好	好	完全	困难	不能	小
流化板柱	能	一般	好	严重	一般	能	一般
磁稳定	能	一般	好	轻微	困难	不能	小
膨胀床	能	好	好	严重	一般	不能	一般
真实移动床	不能	好	好	轻微	困难	能	一般
模拟移动床	不能	好	好	轻微	容易	能	大
膜吸附色谱	能	一般	差	无	困难	不能	小
梯度错流色谱	能	一般	差	轻微	容易	能	一般

色谱技术在制备和工业规模上的发展仍处于相对早期。从表中可看出每种色谱技术都具有不同的优缺点和特性，因而发展能直接处理含固体物料，吸脱附性能高，能进行大规模生产等综合特性的连续操作色谱技术一直是人们期望的。

各种色谱技术的相互贯通，再加上合适的吸附剂、设备及与其它技术的结合，将使该技术在生化工业中以降低成本、简化操作而产生广泛的吸引力。其中 SMB 技术的发展最引人注目，将成为色谱技术在大规模工业生产上应用的一个主要发展方向。

4 致谢

本文中作者关于 SMB 的研究得到教育部高校骨干教师基金和轻工总会科技基金支持。

参考文献

[1] Evans L. L., and Burns M. A., *Biotechnol. Bioeng.* [J], 1995, 48: 461

[2] Heuer C., et al., *Chemie Ingenieur Technik* [J], 1997, 69: 1535

[3] Chang Y. K. and Chase H.A., *Biotechnol. Bioeng.* [J], 1996, 49: 512

[4] Chase H. A. and Draeger N. M., *J. Chromatogr. [*J], 1992, 597: 129

[5] Berthold W., and Kempkeen R., *Cytotedmology* [J], 15 (1994) 229

[6] Frej A. B. et al., *Biotechnol. Bioeng.* [J], 1994, 44: 922

[7] Chang Y. K. and Chase H.A., B*iotechnol. Bioeng.* [J], 1996, 49: 204

[8] Gailliot F. P., et al. *Biotechnol. Prog.* [J], 1990, 6: 370

[9] Gailliot F. P., *Biotechnol. Prog.* [J], 1990, 6: 370

[10] Charton F. and Bailly M., *J. Chromatogr.* [J], 1994, A. 687: 13

[11] W. Somers, et. al., *Chem. Eng. J.* [J], 1989, 40: B7

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[12] Morton P. H. and Lydiatt A., *In Ion Exchange Advances* (Slater, M. J., ed.) [M] New York: Elsevier Science Publishers, 1992, p237-244,

[13] Bailly M. and Tondeur D., *Chem. Eng. Process.* [J], 1984, 18: 293

[14] Reichhold A. and Hofbauer H., *Chem. Eng. Technik* [J], 1993, 67: 1476

[15] Chang Y. K. et al., *Biotechnol. Bioeng.* [J], 1995, 48: 355

[16] Buigs A., Wesselingh J. A., *J. Chromatogr.* [J], 1980, 201: 319

[17] Gebauer K. H. and Thoemmes J., *Chem. Eng. Sci.* [J], 1997, 52: 405

[18] Mullick A. and Griffith C. M., *Biotechnol. Bioeng.* [J] 1998, 60: 333

[19] Khng H. P. and Cunliffe D., *Biotechnol. Bioeng.* [J], 1998, 60: 419

[20] Chase H. A., *Trends Biotechnol.* [J], 1994, 12: 296

[21] Hjorth R., *Trends. Biotchnol.* [J], 1997, 15: 230

[22] Owen R., Wesselingh J. A., *J. Chromatogr.* [J], 1980, 201: 319

[23] Bart H. J. et al., *Chemie. Ingenieur Technique* [J], 1998, 70: 142

[24] Terranova B. and Burns M. A., *Biotechnol. Bioeng.* [J] 1991, 37: 110

[25] Tyn T. T. and Gusek T. W., *Biotechnol. Bioeng.* [J] 1990, 35: 327

[26] Evans L. L. and Burns M. A., *Biotechnol. Bioeng.* [J], 1995, 48: 461

[27] Pais L. S. et al., *J. Chromatogr.* [J], 1997, 769: 25

[28] Strube J. S. et al., *Chemie. Ingenieur Technique* [J], 1998, 70: 1271

[29] Charton F. and Nicoud R-M., *J. Chromatogr.* [J] 1995, A 702: 97

[30] Deckert P. and Arlt W., *Chemie. Ingenieur Technique* [J], 1997, 69: 115

[31] Guest D.V., *J. Chromatogr.* [J] 1997, A 760: 159

[32] Gottschlich N. and Kasche V., *J. Chromatogr.* [J] 1997, A 765: 201

[33] Schulte M., et al., *J. Chromatogr.* [J] 1997, A 769: 93

[34] Ruthven D. M. and Ching C. B., *Chem. Eng. Sci.* [J], 1984, 44: 1011

[35] **彭奇均等**, **现代化工** [J] 1997, 3: 22

[36] Beste Y.-A, **柏林工业大学博士论文** 1999

[37] Heuer C., et al., *J. Chromatogr.* [J], 1998, A 827: 175

[38] Strube J., et al. *J. Chromatogr.* [J], 1997, A 769: 81

[39] Mazzotti M., et al. *J. Chromatogr.* [J], 1997, A 769: 3

[40] Proell T. and Kuesters E., *J. Chromatogr.* [J], 1998, A 800: 135

[41] Meuer M., et al., *J. Chromatogr.* [J], 1997, A 769: 71

[42] Telinger A., and Guiochon G., *J. Chromatogr.* [J], 1996, A 752: 31

[43] Heuer C., et al., *J. Chromatogr.* [J], 1996, A 752: 19

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

CURRENT DEVELOPMENT OF CHROMATOGRAPHIC TECHNIQUES FOR PREPARATIVE-AND INDUSTRIAL-SCALE

PENG Qijun XU Ling SUN Peidong QIAN Yong YANG Li

Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036, China

Abstract: In this paper the recent developments of chromatographic techniques which focus on characteristics of the ability of continuous operation, high adsorption and desorption efficiency, large product-scale, the probability of operation with particulate, lower back-mixing, easily to scale-up and set-up , and their applications in the pilot- and industry-scale are reviewed. The advantages and problems encountered in the use of these chromatographic techniques for the recovery and purification are also discussed.

Key Words: Preparative chromatography; Technology; Development; Simulated Moving Bed; Chromatographic Separation

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net