

模拟移动床技术在生化领域的应用研究进展

蔡 恒, 朱庆平, 陆 彬, 王 涛, 万红贵

(南京工业大学 制药与生命科学学院, 南京 210081)

摘要:模拟移动床技术作为一种新型色谱分离技术, 应用日益广泛。文章介绍了模拟移动床技术的发展情况及其工作原理, 并详细介绍了模拟移动床技术在生化产品分离中的研究进展和应用情况。

关键词:模拟移动床; 生物分离; 应用

中图分类号: Q946

文献标识码: A

文章编号: 1000-7091(2006)专辑-0091-05

The Application of Simulated Moving Bed in Bioseparation

CAI Heng, ZHU Qing-ping, LU Bin, WANG Tao, WAN Hong-gui

(College of Life Science and Pharmacy Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China)

Abstract: Simulated moving bed (SMB) is a new separation technology. The history of its development and principle operation are introduced in this paper. The applications of SMB in bioseparation are reviewed.

Key words: Simulated moving bed; Bioseparation; Application

模拟移动床技术是近几十年发展起来的一种现代化色谱分离技术, 适合于大规模工业化连续生产。该技术通过模拟真实移动床来分离提纯化合物, 具有分离能力强、设备体积小、投资成本低、环境污染少、便于实现自动控制等优点, 特别有利于分离热敏性物质及难分离的物系。模拟移动床这一概念由Broughton等^[1]于20世纪60年代提出, 此后模拟移动床技术在石油化工和制糖工业中取得了长足发展。美国UOP公司的Sorbex工艺是一种大规模的液相吸附分离工艺, 该工艺成功地应用了模拟移动床技术并率先使之商业化^[2]。随后, 又开发了从煤油馏分中分离正构烷烃的Molex工艺、从芳烃混合液中分离对二甲苯的Parex工艺、从玉米糖浆中分离果糖的Sarex工艺。近年来, 模拟移动床技术越来越受到工业界和研究者的关注, 研究不断深入, 应用领域也不断扩大, 已经扩展到精细化工、生物发酵、医药、食品等很多生产领域。尤其在同系化合物、手性异构体药物、糖类、有机酸和氨基酸等混合物的分离中, 模拟移动床技术显示出其独特优势。

1 模拟移动床分离原理

众所周知, 色谱是利用各种组分在色谱柱中的

迁移速率不同来完成不同组分分离的。在此我们仅考虑A、B两组分的分离情况, 并且假定组分A为弱吸附组分, 组分B为强吸附组分。在传统的单柱色谱上, 当脉冲进混合样A、B后, 用适当的溶剂洗脱时, 组分A的迁移速率较组分B的迁移速率大, 当色谱柱足够长时最终能够将两者分开^[3]。

在此基础上, 如果让固定相以介于A、B两种组分迁移速率之间的速度与流动相作相反方向的运动, 这样A、B两种组分就会分别由固定相和流动相携带向相反的方向, 从而完成组分A和B的分离。这就是真实移动床的基本原理。真实移动床示意图如图1(b)所示。移动床被分隔成4个区域, A、B混合物料从2、3区之间连续进入, 固定相和流动相分别向相反的方向循环流动, 适当控制固定相的移动速度, 组分A将向上移动, 组分B将向下移动。当系统运行一段时间后, 系统中组分的浓度分布会达到稳定, 最终从两个出口可以分别得到纯的提取液B和提余液A。图1(a)中显示了两个组分在4个区内的分布情况。由图1(a)可知, 采用移动床技术后, 即使两组分的分离度不是很好也可以获得高纯度的产品, 因为产品的最终纯度决定于其浓度峰形的尾部。而对于传统的色谱来说, 只有两者有较

收稿日期: 2006-12-11

作者简介: 蔡 恒(1970-), 男(满族), 辽宁沈阳人, 讲师, 博士, 主要从事发酵工程科研与教学工作。

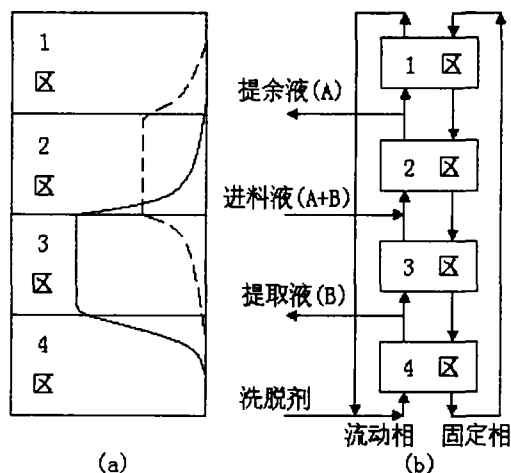


图 1 真实移动床示意图

Fig. 1 Scheme of true moving bed

高的分离度时,才可能得到纯的产品。

真实移动床虽然有可连续操作和分离效果好的特点,但是在实际操作中实现固定相的流动非常困难而且存在许多问题,如固定相流动会产生固定相的磨损、混合等。通过引入模拟移动床技术能够很好地解决固定相实际流动的困难。模拟移动床可以在固定相不动的情况下,通过切换各液体的进出口,模拟出固定相和流动相两相间相对流动的效果。

模拟移动床如图 2 所示。它是将长的色谱柱分成若干根短的色谱柱,各柱之间首尾相连成环型。与真实移动床相似,通常模拟移动床的所有色谱柱也分成 4 个区域。每个区域的功能如下:1 区用于洗脱组分 B,2 区使被吸附的组分 B 反复吸附、解吸而浓缩,3 区用于吸附组分 A,4 区用于吸附多余的没有提出的组分 A,以免组分 A 进入 1 区而污染提取液 B,并且使洗脱液与新鲜的洗脱液一起进入 1 区,达到循环利用的目的。模拟移动床在工作时,要给定的一个切换时间 t ,选择好进料口、两个出料口以及洗脱液输入口,在经过 t 时间后各进出口分别沿着流动相的运动方向向下一个柱子推进,如此循环就形成了固定相朝流动相运动方向的相反方向的模拟流动,这样就实现了与真实移动床色谱相近的分离效果并弥补了后者的不足^[4,5]。

3 研究应用

3.1 糖类分离

模拟移动床技术已成功应用于制糖工业,例如果糖和葡萄糖的分离^[6]。目前,使用模拟移动床技术分离果糖和葡萄糖是最好的分离方法,国外已有年产万吨果糖的成套商品化设备,而我国尚无此能

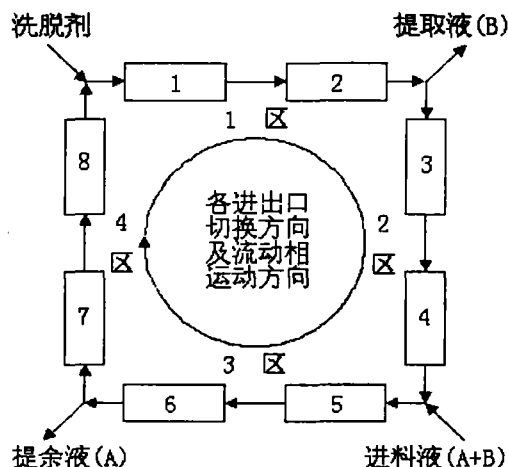


图 2 模拟移动床示意图

Fig. 2 Scheme of simulated moving bed

力。该工艺被称为 Sarex 工艺^[7]。该工艺选择一种 Ca 型的阳离子交换树脂作为固定相,用热水作为洗脱剂。原料糖浆中含有 42% 的果糖,利用模拟移动床分离时,果糖和 Ca²⁺形成的复合体被阻流在柱中,葡萄糖和其他寡糖被洗脱剂带走。分离后,提取液中果糖浓度为 90%~94%,收率在 90% 以上,提余液中葡萄糖的浓度大于 80%。利用模拟移动床技术进行糖类的分离,树脂用量、再生液用量大幅度减少,生产自动化程度提高,而且排污很少,这使得整个过程的费用降低。

在其他单糖的分离中,模拟移动床技术也有应用研究。Wooleye 等^[8]研究了木糖和葡萄糖的分离,设计了一种九区的模拟移动床。Coelho 等^[9]研究了果糖和右旋糖酐的分离。Bubnik 等^[10]研究了蔗糖和甜菜碱的分离。在我国,蔡宇杰等^[11,12]对木糖和木糖醇的分离进行了研究。江波等^[13]利用模拟移动床对低聚果糖提纯进行了中试研究,但还需要进一步优化操作参数。

3.2 氨基酸的分离

基于模拟移动床技术的 ISEP 系统已成功应用于赖氨酸的生产上。Van Walsem^[14]等报道了使用模拟移动床技术生产赖氨酸的工艺过程,最终生产出的赖氨酸纯度可达 98.5%。Robatjazi 等^[15]对赖氨酸纯化也进行了研究,发现使用模拟移动床纯化的赖氨酸纯度高于使用固定床纯化的赖氨酸纯度,洗脱剂用量是使用固定床纯化时的一半不到。我国不少赖氨酸生产厂家采用 ISEP 系统生产赖氨酸^[16]。Wu 等^[17]进行了模拟移动床分离色氨酸和苯丙氨酸的研究。本实验室^[18]对模拟移动床分离缬氨酸和丙氨酸进行研究,取得了较好的效果。

3.3 蛋白质和酶的纯化

模拟移动床用于蛋白质、酶纯化的应用研究近几年才开始。Houwing 等^[19,20]研究了低浓度二组分混合蛋白质的模拟移动床分离,优化了分离条件,在分离过程中使用了盐梯度洗脱并对该洗脱过程作了研究。Jonatan 等^[21]用 20 柱模拟移动床从浓缩乳清蛋白中分离乳过氧化物酶和乳铁传递蛋白,与单柱分离相比,生产能力提高 48%,缓冲液消耗降低 4.5 倍,目标产物浓度提高 6.5 倍,效果较好。Ludmila 等^[22]研究了药用蛋白骨形态发生蛋白-2 的纯化。

3.4 有机酸的分离

乳酸菌发酵产乳酸,所得发酵液的主要杂质组分为醋酸。Lee 等^[23]使用四区模拟移动床把乳酸从醋酸中分离出来。其固定相为聚乙烯吡啶(PVP)树脂,首先通过单柱实验估计有机酸的吸附等温线和传质参数,然后使用模拟移动床分离乳酸,其纯度高达 99.9%,收率为 93%。该研究指出,要得到高的纯度和收率,液体流速必须密切监控。

3.5 抗生素的提取

自青霉素应用于临床以来,现有抗生素的种类已达几千种。张丽华等^[24,25]利用模拟移动床技术对新型糖肽类抗生素药物替考拉宁分离条件进行优化,较好地解决了替考拉宁原料药的纯度和收率问题。吴舜华等^[26]利用一种称为 Sep Tor 系统的改进型模拟移动床进行抗生素中试研究,认为该系统在工业生产规模的抗生素纯化应用中有潜在优势。

3.6 手性物质的分离

对手性物质进行分离,主要用于制药行业。目前,模拟移动床在手性药物拆分领域中得到了广泛的应用^[27-29]。反式 FTC 酯是一种抗 HIV 病毒药物的前体。Xie 等^[30]对 FTC 酯的外消旋混合物进行分离研究,其固定相为 Chiralpak AD,流动相为甲醇,柱的死体积以及不同泵对死体积的影响都在研究中被考虑,并使用了计算机模拟,最终产物纯度达 99%,收率在 98%以上。

3.7 单克隆抗体的纯化

用于纯化单克隆抗体的模拟移动床系统已经被开发出来^[31]。该系统中,产物在不同条件下被吸附和解吸,固定床具亲和性,单克隆抗体可以直接从细胞培养上清液中分离,收率可大于 90%,纯度高于 99%。该系统不仅可用于单克隆抗体的纯化,也可用于多克隆抗体的纯化。

3.8 其他生化产品的分离

寡聚核苷酸在临床治疗中有重要作用,需求量大。Schulte 等^[32]首次使用模拟移动床来纯化 DMT 保护的寡聚核苷酸,它以聚苯乙烯/联乙烯苯共聚物为固定相,碳酸氢铵/甲醇为流动相,产物纯度可高于 99%,收率为 77%。

Temesvári 等^[33]研究了二组分分类固醇混合物的分离。Xie 等^[34-36]通过改进模拟移动床工艺来纯化胰岛素。Paredes 等^[37]将模拟移动床技术与尺寸排阻色谱相结合对质粒 DNA 进行纯化。

在国内,吕裕斌等^[38]研究了用八柱模拟移动床系统从大豆磷脂中分离卵磷脂。林炳昌等^[39-43]利用模拟移动床对紫杉醇、槲皮素、银杏内酯 B、甘草甙等天然药物进行了分离提纯的研究,这对许多天然药物的进一步开发应用有一定意义。

4 结语

模拟移动床技术作为一种现代化色谱分离技术,能够用于许多生化产品的分离,在分离领域已经具有重要地位。现在,模拟移动床技术与其他技术相结合而产生了模拟移动床反应器、超临界模拟移动床等新技术。在我国利用模拟移动床技术进行生化产品分离的研究应用正处于起步阶段,还需要做大量的工作。可以相信,模拟移动床技术在生化产品分离领域应用将越来越广泛。

参考文献:

- [1] Broughton D B, Gerhold C G. Continuous sorption process employing fixed bed of sorbent and moving inlets and outlets [P]. US2985589, 1961.
- [2] Broughton D B. Production-scale adsorptive separations of liquid mixtures by simulated moving-bed technology [J]. Sep Sci Technol, 1984, 19(11-12): 723-736.
- [3] 达世禄. 色谱学导论[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 1999.
- [4] Zang Y, Wankat P C. Variable Flow Rate Operation for Simulated Moving Bed Separation Systems: Simulation and Optimization [J]. Ind Eng Chem Res, 2003, 42 (20): 4840-4848.
- [5] Juza M, Mazzotti M, Morbidelli M. Simulated moving-bed chromatography and its application to chirotechnology [J]. Trends in Biotechnology, 2000, 18(3): 108-118.
- [6] Beste Y A, Lisso M, Wozny G, et al. Optimization of simulated moving bed plants with low efficient stationary phases: separation of fructose and glucose [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 868(2): 169-188.

- [7] Barker P E, Ganetsos G. Chemical and biochemical separation using preparative and large scale batch and continuous chromatography [J]. *Separation and Purification Methods*, 1988, 17(1): 1-65.
- [8] Wooley R, Ma Z, Wang N H L. A Nine-Zone Simulating Moving Bed for the Recovery of Glucose and Xylose from Biomass Hydrolyzate [J]. *Ind Eng Chem Res*, 1998, 37(9): 3699-3709.
- [9] Coelho M S, Azevedo D C S, Teixeira J A. Dextran and fructose separation on an SMB continuous chromatographic unit [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2002, 12(3): 215-221.
- [10] Bubnik Z, Pour V, Gruberova A, et al. Application of continuous chromatographic separation in sugar processing [J]. *Journal of Food Engineering*, 2004, 61(4): 509-513.
- [11] 蔡宇杰, 丁彦蕊, 须文波, 等. 线性条件下木糖醇母液模拟移动床色谱分离 [J]. *无锡轻工大学学报*, 2002, 21(4): 372-375.
- [12] 蔡宇杰, 丁彦蕊, 张大兵, 等. 基于浮点编码的遗传算法优化模拟移动床色谱分离木糖醇母液 [J]. *色谱*, 2003, 21(3): 206-209.
- [13] 江波, 王璋, 杨瑞金, 等. 高纯度低聚果糖的研制 [J]. *中国食品添加剂*, 1999, (3): 1-7.
- [14] Van Walssem H J, Thompson M C. Simulated moving bed in the production of lysine [J]. *Journal of Biotechnology*, 1997, 59(1-2): 127-132.
- [15] Robatjazi S M, Shojaosadati S A, Karbasy S M. Purification of L-Lysine in Simulated Moving Bed and Fix-Bed Chromatography [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2004, 22(4): 431-434.
- [16] 龙万凯. 我国赖氨酸工业技术新进展 [J]. *化学工程*, 2003, 31(5): 74-78.
- [17] Wu D J, Xie Y, Ma Z, et al. Design of Simulated Moving Bed Chromatography for Amino Acid Separations [J]. *Ind Eng Chem Res*, 1998, 37(10): 4023-4035.
- [18] 万红贵, 方煜宇, 叶慧. 模拟移动床技术分离缬氨酸和丙氨酸 [J]. *食品与发酵工业*, 2005, 31(12): 50-53.
- [19] Houwing J, Billiet Hugo A H, van der Wielen Luuk A M. Optimization of azeotropic protein separations in gradient and isocratic ion-exchange simulated moving bed chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 944(1-2): 189-201.
- [20] Houwing J, van Hateren Stef H, Billiet Hugo A H, et al. Effect of salt gradients on the separation of dilute mixtures of proteins by ion-exchange in simulated moving beds [J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 952(1-2): 85-98.
- [21] Jonatan A, Bo M. Simulated moving bed technology with a simplified approach for protein purification: Separation of lactoperoxidase and lactoferrin from whey protein concentrate [J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1107(1-2): 88-95.
- [22] Ludmila Gueorguieva, Luis Felipe Vallejo, Ursula Rinas, et al. Discontinuous and continuous separation of the monomeric and dimeric forms of human bone morphogenetic protein-2 from renaturation batches [J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1135(2): 142-150.
- [23] Lee H J, Xie Y, Koo Y M, et al. Separation of Lactic Acid from Acetic Acid Using a Four-Zone SMB [J]. *Biotechnol Prog*, 2004, 20(1): 179-192.
- [24] 张丽华, 肖国勇, 高丽娟, 等. 模拟移动床色谱分离替考拉宁条件研究 [J]. *化学世界*, 2002, (3): 130-132.
- [25] 高丽娟, 张玄波, 宋峰, 等. 替考拉丁工业色谱条件选择 [J]. *鞍山科技大学学报*, 2004, 27(1): 20-22.
- [26] 吴舜华, 孙洪贵. 连续逆流离子交换技术及其在抗生素生产中的应用 [J]. *福建化工*, 2003, (1): 13-16.
- [27] Schulte M, Ditz R, Devant R M, et al. Comparison of the specific productivity of different chiral stationary phases used for simulated moving-bed chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 1997, 769(1): 93-100.
- [28] Pais L S, Loureiro J M, Rodrigues A E. Modeling simulation and operation of a simulated moving bed for continuous chromatographic separation of 1,1'-bi-2-naphthol enantiomers [J]. *Journal of Chromatography A*, 1997, 769(1): 25-35.
- [29] Michael Schulte, Jochen Strube. Preparative enantioseparation by simulated moving bed chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 2001, 906(1-2): 399-416.
- [30] Xie Y, Hritzko B, Chin C Y. Separation of FTC-Ester Enantiomers Using a Simulated Moving Bed [J]. *Ind Eng Chem Res*, 2003, 42(17): 4055-4067.
- [31] Gottschlich Norbert, Kasche Volker. Purification of monoclonal antibodies by simulated moving-bed chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 1997, 765(2): 201-206.
- [32] Schulte M, Luhring N, Keil A, et al. Purification of DMT-On Oligonucleotide by Simulated Moving-Bed (SMB) Chromatography [J]. *Org Process Res Dev*, 2005, 9(2): 212-215.
- [33] Temesvári K, Aranyi A, Csukás, et al. Simulated Moving Bed Chromatographic Separation of a Two-Component Steroid Mixture [J]. *Chromatographia*, 2004, 60(1): S189-S199.
- [34] Xie Y, Mun S Y, Wang N H L. Startup and Shutdown Strategies of Simulated Moving Bed for Insulin

- Purification [J]. Ind Eng Chem Res, 2003, 42(7):1414-1425.
- [35] Mun S, Xie Y, Wang N H L. Robust Pinched-Wave Design of a Size-Exclusion Simulated Moving-Bed Process for Insulin Purification [J]. Ind Eng Chem Res, 2003, 42(13):3129-3143.
- [36] Mun S, Wang N H L. Insulin Wave Dynamics in Size-Exclusion Simulated Moving Bed with Residence Time Control [J]. Ind Eng Chem Res, 2006, 45(4):1454-1465.
- [37] Galatea Paredes, Marco Mazzotti, Joachim Stadler, et al. SMB Operation for Three-Fraction Separations: Purification of Plasmid DNA [J]. Adsorption, 2005, 11(1): 841-845.
- [38] Lu Yubin, Yang Yiwen, Wu Pingdong. Separation of phosphatidylcholine from soybean phospholipids by simulated moving bed. Journal of Zhejiang University SCIENCE B, 2006, 7(7):559-564.
- [39] 李 勃, 肖国勇, 林炳昌, 等. 模拟移动床分离紫杉醇 [J]. 鞍山钢铁学院学报, 2000, 23(4): 244-248.
- [40] 张丽华, 高丽娟, 林炳昌. 模拟移动床色谱提纯槲皮素 [J]. 鞍山钢铁学院学报, 2002, 25(2): 108-111.
- [41] 高丽娟, 刘望才, 张 伟, 等. 银杏内酯 B 的纯化 [J]. 精细化工, 2004, 21(6): 418-420.
- [42] 丛景香, 林炳昌. 甘草甙的分离纯化及鉴定 [J]. 精细化工, 2005, 22(12): 912-915.
- [43] 高丽娟, 刘望才, 全艳玲, 等. 纯化银杏总内酯的新工艺 [J]. 化学世界, 2005, (12): 711-714.