

链霉菌发酵液提取多抗菌素虚拟仿真实验

预习资料

实验目的：

生物分离工程是生物炼制的下游工程技术，是生物工程专业教学的重要内容，也可应用于制药工程、食品工程等专业的培养。生物分离工程包括预处理、产物粗分离、产物的纯化及产品精制四大类型，涵盖 20 余类典型分离单元技术。生化产品的分离提取一般是将多种分离技术集成后形成完整的分离路线，各单元分离环环相扣。因此，通过开展基于实际产品分离体系的虚拟仿真实验教学，逐步掌握生物分离工艺路线的设计原理与方法，满足复合型专业人才的培养需求。

多抗菌素又称为多抗霉素，属于肽嘧啶核苷类抗生素，是金色链霉菌在发酵过程中形成的次级代谢产物，对多种类型的植物病害具有出色的防治效果，是一种广谱的绿色生物农药。该产品的分离过程涉及菌丝体、杂蛋白、色素、无机盐及溶剂的脱除，属于典型的生化产品分离过程。

根据多抗菌素发酵液的特征与组成，结合多抗菌素自身的物化性质与稳定性，选择相应的分离手段、设计合理的工艺条件，将多抗菌素从发酵液中分离提取。通过本仿真虚拟实验的实施，实现以下教学任务：

(1) 通过探究实验和设备模拟操作，掌握相关分离技术的原理及影响相关分离过程的主要因素，熟悉典型分离装置的选型、操作与过程控制方法；

(2) 通过综合性实验领会基于目标产品的生物分离路线设计思路，激发学习的主观能动性与创新意识，培养解决实际问题的能力。

实验原理：

多抗菌素是分泌在细胞外的次级代谢产物，分子量 507.41，pKa 2.67。多抗菌素发酵液中还含有菌丝体、杂蛋白、无机盐、色素及未消耗的底物（糖）及大量的水（占总质量的 97% 以上）。同时，多抗菌素易溶于水，在乙酸乙酯中具有较高的溶解度。多抗菌素在酸性和中性溶液中稳定，在碱性溶液中不稳定，对高温具有一定的耐受性，熔点 150-153℃，但在 160℃ 会发生分解反应。

因此，多抗菌素的分离提取首先要将菌丝体、蛋白等胶体杂质与发酵液分离；随后将多抗菌素与水溶性杂质及大部分水分离，并将多抗菌素富集；接着通过脱除色素实现对多抗菌素的精制；最后通过蒸发浓缩和干燥脱水获得多抗菌素固体作为生物农药的原料。

根据以上特性，多抗菌素的分离提取方法主要由四部分组成：预处理、产物的粗分离、产物的纯化、产品的精制。其中：

预处理：微滤去除菌丝体、不溶物，超滤去除杂蛋白、胶体；

产物的粗分离：萃取粗提多抗菌素、去除水溶性的无机盐、色素、糖，蒸馏回收溶剂并浓缩产物；

产物的纯化：通过吸附法去除色素，纯化多抗菌素；

产品的精制：通过蒸馏浓缩产物，喷雾干燥去除残留的溶剂获得多抗菌素固体产品。

在此过程中，先通过单元实验探究多种因素对不同分离技术的影响规律，随后通过综合实验考核学生对分离路线、参数及相关设备的选择、分离设备的操作及分离过程的控制能力。

实验内容及操作步骤:

一、单元实验

以微滤分离多抗菌素发酵液为例,采用单因素实验模式分别考察膜组件、发酵液 pH、进料流速、操作压力及膜污染的处置方式对微滤分离的影响。评价微滤分离效果的参数包括:菌体去除率(%)、杂蛋白去除率(%)、产品分离收率(%)及平均膜分离通量(L/m²·h)。

实验步骤:点击实验主界面中某个影响因素的按钮(其它影响因素的参数会固定并显示),随后选择输入相应的参数,点击“√”确定,本单元实验允许多次选择不同的参数,进行比较实验。点击“开始实验”按钮,系统将自动开始实验,同时相关仪表会显示过程参数的变化(如压力、微滤流速等),并同步绘出相应参数下的微滤流速曲线。当实验完成时,点击“实验结果”按钮,系统将展现相应条件下获得的实验结果并进行评价。

二、综合实验

(1)本综合实验将多抗菌素的分离提取过程分为四个相对独立的分离单元:发酵液的预处理、产物粗分离、产物纯化及产品精制。发酵液的预处理是选择合适的分离技术、设备与工艺条件,除去发酵液中的菌丝体和杂蛋白;产物粗分离是选择合适的分离技术、设备与工艺条件,将多抗菌素与水及绝大部分水溶性杂质分离;产物纯化是利用活性炭吸附法将多抗菌素浓缩液中的色素除去,需要选择合适的设备与合适的工艺条件;而产物精制是利用真空浓缩和喷雾干燥法将多抗菌素浓缩液直接制备为多抗菌素干粉产品,需要选择合适的工艺条件。

(2)在每个分离单元开始时,首先需要选择合理的分离方法。在分离运行过程中,要通过操作虚拟的设备控制面板,设置分离参数,并根据虚拟的仪表示数变化及实时的分离曲线了解分离进程,在分离过程中可能会出现异常工况,需要通过选择合适的手段或控制分离参数加以排除,以保证分离效果,避免有生产周期延迟和产物损失;要正确启动和关闭分离设备,并控制操作条件,防止出现安全事故。在实验过程中,可以通过点击“知识回顾”按钮获得相关分离技术原理与方法的重要提示。在部分实验过程中,如果系统提示实验失败,可以点击“重新实验”按钮,回到错误发生前,重新开展实验。

(3)当每个分离单元完成时,系统会列表显示该单元的主要分离结果与数据,随后才可以进入下一个分离单元开展实验。每个分离单元以前一个分离单元的获得的体系数据作为初始条件(如 pH, 浓度, 体积等)。当最后一个分离单元完成后,系统会给出最终分离结果,详细实验报告需要点击页面上的“实验报告”,可获得综合实验报告,包括评分与结果分析。

实验步骤:

1、发酵液的预处理

- (1) 选择合适的去除菌丝体与杂蛋白的分离技术,
- (2) 选择合适的防护装具,
- (3) 调整发酵液的 pH,
- (4) 选择合适的分离设备,
- (5) 正确启动分离设备并设置分离参数,
- (6) 开始实验,
- (7) 在实验过程中, 选择合适的手段解决分离速率下降并提高多抗菌素的分离

收率，

(8) 实验完成，查看分离结果数据，进入下一分离单元。

2、产物粗分离

(1) 选择除去水和主要水溶性杂质的分离技术

(2) 调整提取液的 pH，

(4) 通过测算，选择合适的分离工艺，

(5) 正确启动分离设备并设置分离参数，

(6) 开始粗分离实验，

(7) 正确关闭设备，显示该环节的分离结果，随后进入溶剂分离与浓缩环节，

(8) 通过测算，选择合适的浓缩设备，

(9) 正确启动分离设备，开始溶剂分离与浓缩，

(10) 在实验过程中，针对异常的温度开展工艺控制，保证正常运行，

(11) 实验完成后，正确关闭设备，

(12) 查看分离结果数据，进入下一分离单元。

3、产物纯化

(1) 选择去除色素的分离技术，

(2) 调整提取液的 pH，

(3) 设置合理的脱色分离参数，

(4) 正确启动脱色吸附设备，开始实验

(5) 通过测算，选择合适的过滤设备，

(6) 正确操作过滤设备，开始实验，

(7) 实验完成，查看分离结果数据，进入下一分离单元。

4、产物精制

(1) 选择适合多抗菌素精制的分离技术

(2) 调整脱色液的 pH，

(3) 通过测算，选择合适的浓缩设备

(4) 设置合理的浓缩分离参数，

(5) 正确启动浓缩设备，

(6) 完成浓缩实验，

(7) 正确关闭设备，显示该环节的分离结果，随后进入干燥环节，

(8) 设置合理的干燥参数，

(9) 正确启动干燥设备，

(10) 完成干燥实验，查看最终分离结果数据。

5、实验报告

完成综合实验后，页面会显示相应的实验报告，其中会显示系统所记录的操作参数和分离结果，并提供评分标准和考核成绩，学生可在报告中输入自己的实验心得。