

## 离心技术在微生物分离与提纯上的应用

离心技术 (centrifugal technique) 是根据颗粒在作匀速圆周运动时受到一个外向的离心力的行为而发展起来的一种分离技术。这项技术应用很广, 诸如分离出化学反应后的沉淀物, 天然生物大分子、无机物、有机物, 在微生物、生物化学以及其它的生物学领域常用来收集细胞、细胞器及生物大分子物质。本文将对离心技术在微生物分离与提纯上的应用做一简要介绍。

### 一 离心作用的基本原理

1.离心力 (centrifugal force,  $F_c$ ) 离心作用是根据在一定角度速度下作圆周运动的任何物体都受到一个向外的离心力进行的

2.相对离心力 (relative centrifugal force, RCF) 由于各种离心机转子的半径或者离心管至旋转轴中心的距离不同, 离心力而受变化, 因此在文献中常用“相对离心力”或“数字  $\times g$ ”表示离心力, 只要 RCF 值不变, 一个样品可以在不同的离心机上获得相同的结果。

3.沉降系数 (sedimentation coefficient,  $s$ ) 根据 1924 年 Svedberg 对沉降系数下的定义: 颗粒在单位离心力场中粒子移动的速度。

4.沉降速度 (sedimentation velocity) 沉降速度是指在强大离心力作用下, 单位时间内物质运动的距离。

5.沉降时间 (sedimentation time,  $T_s$ ) 在实际工作中, 常常遇到要求在已有的离心机上把某一种溶质从溶液中全部沉降分离出来的问题, 这就必须首先知道用多大转速与多长时间可达到目的。如果转速已知, 则需解决沉降时间来确定分离某粒子所需的时间。

### 二 离心方法的分类

根据离心原理, 按照实际工作的需要, 目前已设计出许多离心方法, 综合起来大致可分三类。

1.平衡离心法根据粒子大小、形状不同进行分离, 包括差速离心法 (differential velocity centrifugation) 和速率区带离心法 (rate zonal centrifugation)。(最常用, 基本上大部分生物样本都是用平衡离心法进行分离。)

2.等密度离心法 (isopycnic centrifugation) 又称等比重离心法, 依粒子密度差进行分离, 等密度离心法和上述速率区带离心法合称为密度梯度离心法 (常用)。

3.经典式沉降平衡离心法用于对生物大分子分子量的测定、纯度估计、构象变化等。

### 三 离心技术在微生物分离与提纯上应用的重要性

从包含动、植物在内的微生物的培养而得到的发酵液或从天然生物体分离、精制目的物质的技术统称为生物分离(bioseparation)。最近象遗传工程学、DNA 技术、细胞融合技术等生物工程技术的发展可以使从微生物等生物体而来的蛋白质大量的生产，从而突出了为取得最终生物工程制品的生物分离技术的重要性。蛋白质等目的生物物质在生物体内存在于很多类似物质及包括污染物质的稀的溶液内，从此溶液里分离出性质不变的蛋白质的过程需要高价的装备（如 KR25i 高速大容量落地式冷冻离心机分离装备）及高度的技术和经验。因此，对于生物工程制品的生产来说，分离精制工程占据产品生产价值的大部分，对于特定的生物体分子和蛋白质来说，能达到生产价值的 90%。特别是根据遗传因子再组合而成的产品或酵素，比起抗生素或一般的低分子量的产品，其回收费用的价值相对大于发酵费用。

根据细胞培养生产的生物物质积存于(intracellular product)细胞内的情况，常用的分离精制工程是利用过滤、离心分离等的技术把所需细胞从培养液分离；利用 homogenizer, ball mill 等来破坏细胞；利用过滤、离心分离等的技术去除细胞残害；沉淀、抽出、离子交换等方法进行基础分离后；利用色层分离法，电气移动等的技术，得到高纯度的目的物质的阶段。与此相同，精制细胞内的生物物质一般经过 6—7 阶段的分离过程，它在生物物质的产品生产价值中占有很大一部分。

如在细菌的离心回收过程中，把细菌离心通常是为了去除培养细菌用的液体，以利进行更进一步的实验或回收利用，离心的速度通常在 3000G 以上到 6.0000G 都行（JOUAN 公司 KR25i 离心机离心力在 120-63400g），以能将细菌离下来而在移除培养液时液体不会漂起来就好。细菌有细胞壁，离心的速度主要是看离心的容器能否承受当时的离心力（G 值）。而因为细胞很脆弱，所以离心细胞时的离心力要低很多。

#### 四 离心注意事项

1. 对称平衡：当离心转速达 1—5 万（转/分）时，如对称管相差 1 克，转头半径 5 厘米，则

离心力公式  $F=m \times RCF$

查表得：1 万（转/分）→ RCF=6000 → 代入公式  $F=1 \times 6000=6$ （公斤）

5 万（转/分）→ RCF=150000 → 代入公式  $F=1 \times 150000=150$ （公斤）

此时引起两边不平衡可达 6—150（公斤），这对离心机的损伤是很大的，至少将缩短离心机的使用寿命。

2. 如离心管盖子密封性差液体就不能加满（针对高速离心且使用角度头），以防外溢。



3. 使用角度头时别忘盖转头盖，如未盖，离心腔内会产生很大的涡流阻力和摩擦升温，这等于给离心机的电机和制冷机增加了额外负担，影响离心机的使用寿命。

（本篇到此结束，共 2 页）