



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105017360 A

(43) 申请公布日 2015. 11. 04

(21) 申请号 201510432980. 7

(22) 申请日 2015. 07. 22

(71) 申请人 河北美邦工程科技股份有限公司

地址 050035 河北省石家庄市长江大道 9 号
筑业高新国际 A-17L

(72) 发明人 刘东 吕志 张玉新 邢建波
张辰杰 闫利军

(74) 专利代理机构 石家庄新世纪专利商标事务
所有限公司 13100

代理人 董金国

(51) Int. Cl.

C07H 23/00(2006. 01)

C07H 1/00(2006. 01)

权利要求书1页 说明书6页

(54) 发明名称

一种维生素 B12 的制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种维生素 B12 的制备方法。将 VB12 发酵液直接加热水解,释放出细胞内的 VB12, 然后进行二级膜过滤、转鼓离心脱蛋白、蛋白吸附等除杂过程, 再进行纳滤浓缩脱水、氰化钠转化得到氰钴胺盐, 经三级树脂吸附柱除杂、结晶分离后得到纯品氰钴胺即 VB12。本发明可得到占蛋白总量 80% 以上的无助滤剂蛋白, 蛋白和菌丝体可用于深加工生产高附加值产品。本发明的方法, 氰化钠用量较传统工艺降低 90% 以上, 降低生产成本, 由于大分子液中蛋白等杂质去除率高, 无有毒含氰菌丝产生, 省去了阳离子交换树脂柱吸附工序, 减少一次性投资, 生产时间缩短, 提高了产能, VB12 总收率达 83%。

1. 一种维生素 B12 的制备方法,其特征在于包括以下步骤:

(1) 水解

向 VB12 发酵液中加入与发酵液相同质量的水,加热至 90 ~ 100℃ 进行水解,释放出细胞内的 VB12,得到水解液;

(2) 一次膜过滤

将步骤 (1) 得到的水解液采用金属膜或陶瓷膜系统进行过滤,滤除蛋白、菌丝体等,当透过液滤出速度明显下降时,向膜系统中加入一定量的水继续过滤,当水解液中 VB12 含量低于 5 μ g/L 时,停止加水,过滤结束,收集一次膜透过液和一次膜浓缩液;

(3) 二次膜过滤

将步骤 (2) 得到的一次膜透过液采用截留分子量为 10000 ~ 80000 的超滤膜系统进行过滤除杂,当透过液滤出速度明显下降时,向膜系统中加入一定量的水继续过滤,当水解液中 VB12 含量低于 5 μ g/L 时,停止加水,过滤结束,收集二次膜透过液和二次膜浓缩液;

(4) 预涂转鼓脱蛋白

将步骤 (3) 得到的二次膜透过液采用立式预涂转鼓离心机脱除蛋白,预涂剂为硅藻土和珍珠岩,当蛋白积累至一定厚度被刮刀刮下,收集刮下的无助滤剂蛋白,当脱蛋白结束时,调节刮刀间距,刮下少量的有助滤剂蛋白并收集,同时收集转鼓滤液;

(5) 蛋白吸附

将步骤 (4) 得到的转鼓滤液采用蛋白吸附树脂柱吸附其中的蛋白杂质,得到精制滤液,采用酸液或碱液或次氯酸钠对蛋白吸附树脂柱进行解吸,并收集蛋白;

(6) 纳滤浓缩

将步骤 (5) 得到的精制滤液采用纳滤膜进行浓缩,得到大分子液和小分子液,其中,一部分小分子液送入步骤 (2) 一次膜过滤工序,剩余小分子液送入步骤 (3) 二次膜过滤工序)

(7) 氰化钠转化

向步骤 (6) 得到的大分子液中加入适量氰化钠得到含氰精制滤液;

(8) 三级吸附柱除杂结晶

将步骤 (7) 得到的含氰精制滤液进行三级吸附树脂柱除杂结晶,最终得到纯品氰钴胺 (VB12);

(9) 将步骤 (2) 一次膜过滤工序收集到的一次膜浓缩液和步骤 (3) 二次膜过滤工序收集到的二次膜浓缩液汇总分离分离出的清液送入步骤 (1) 水解工序,浓渣无助滤剂菌丝体与步骤 (4) 预涂转鼓脱蛋白工序得到的无助滤剂蛋白和步骤 (5) 蛋白吸附工序得到的蛋白一起收集,用于深加工;

(10) 将步骤 (4) 预涂转鼓脱蛋白工序得到的无助滤剂蛋白进行焚烧处理。

2. 根据权利要求 1 所述的制备方法,其特征在于在一次膜过滤工序,膜的过滤精度为 30 ~ 200nm,过滤压力为 0.35 ~ 0.45Mpa,温度为 :30 ~ 70℃。

3. 根据权利要求 1 所述的制备方法,其特征在于在二次膜过滤工序,过滤压力为 0.5 ~ 0.9Mpa,温度为 :30 ~ 70℃。

4. 根据权利要求 1 所述的制备方法,其特征在于在预涂转鼓脱蛋白工序,立式预涂转鼓离心机的滤布过滤精度为 400 ~ 1000 目,预涂剂硅藻土和珍珠岩质量比为 1:(1 ~ 100)。

一种维生素 B12 的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种维生素 B12 的制备方法,特别是一种绿色环境友好型的制备方法,属于维生素生产技术领域。

背景技术

[0002] 维生素 B12,简称 VB12,又称钴胺素,是唯一一种含有金属元素的维生素,其结晶为红色,故又称红色维生素。自然界中的维生素 B12 都是微生物合成的。主要存在于动物性食品,如内脏、肝、肾、猪心中,瘦肉、鱼、牛乳及蛋黄中也存在 VB12,植物中不含有 VB12。维生素 B12 的主要生理功能是参与制造骨髓红细胞,防止恶性贫血,防止大脑神经受到破坏。我国是 VB12 的主要生产国,国内生产企业有华北制药集团、石药集团、河北玉峰集团、宁夏多维药业等。好氧发酵工艺是目前工业化生产 VB12 的主要工艺,全球 80% 以上的产量来自该工艺,好氧发酵工艺以 *p. denitrificans* 为生产菌株,培养基采用甜菜糖蜜或麦芽糖为主要碳源,玉米浆或酵母膏为氮源补加无机盐、钴离子以及 DBI,该工艺的发酵单位超过了厌氧工艺的三倍,在生产氰钴胺素时具有很大的优势,氰钴胺素因其化学性质稳定,而成为 VB12 在饲料等领域的主要应用形式。发酵结束时,*p. denitrificans* 产生的 VB12 存在于细胞和细胞外,将发酵液直接加热水解,释放出胞内的 VB12,液固分离后,滤液 VB12 进行阳离子交换树脂柱吸附、解吸,解吸后进行氰化钠转化得到 VB12 的氰钴胺盐,过滤后滤液进行三级吸附树脂柱去除杂质结晶分离后得到纯品氰钴胺即 VB12。目前好氧发酵工艺的总收率达到 80% 左右。在好氧发酵工艺中,发酵液过滤时需要加入大量的助滤剂聚氯化铝,否则过滤会非常困难,因此过滤后产生的菌丝中因含有助滤剂而无法处理。外,在 VB12 的氰钴胺盐过滤时,因加入了氰化钠,过滤后会产生有毒的含氰菌丝,此有毒菌丝形成有毒废弃物;对于年产量为 2 万 t 的 VB12 生产企业,每天产生的阳离子交换树脂柱解吸滤液 (VB12 含量为 1000 μ g/L) 达 20t,需要加入氰化钠的量很大,每天产生的有毒含氰菌丝超过 3t,由于该工艺存在的污染废水的排放,限制了生产应用。为此,寻求一种绿色环境友好型的 VB12 生产方法迫在眉睫。

发明内容

[0003] 本发明的目的是针对现有 VB12 生产工艺技术的不足,提供一种低助滤剂、低氰化钠用量,无含氰菌丝产生的绿色环境友好型的 VB12 制备方法。

[0004] 本发明解决其技术问题采取的技术方案是这样的。一种维生素 B12 的制备方法,包括以下步骤:

(1) 水解

向 VB12 发酵液中加入与发酵液相同质量的水,加热至 90 ~ 100℃ 进行水解,释放出细胞内的 VB12,得到水解液;

(2) 一次膜过滤

将步骤 (1) 得到的水解液采用金属膜或陶瓷膜系统进行过滤,滤除蛋白、菌丝体等,当

透过液滤出速度明显下降时,向膜系统中加入一定量的水继续过滤,当水解液中 VB12 含量低于 $5 \mu\text{g/L}$ 时,停止加水,过滤结束,收集一次膜透过液和一次膜浓缩液;

(3) 二次膜过滤

将步骤 (2) 得到的一次膜透过液采用截留分子量为 10000 ~ 80000 的超滤膜系统进行过滤除杂,当透过液滤出速度明显下降时,向膜系统中加入一定量的水继续过滤,当水解液中 VB12 含量低于 $5 \mu\text{g/L}$ 时,停止加水,过滤结束,收集二次膜透过液和二次膜浓缩液;

(4) 预涂转鼓脱蛋白

将步骤 (3) 得到的二次膜透过液采用立式预涂转鼓离心机脱除蛋白,预涂剂为硅藻土和珍珠岩,当蛋白积累至一定厚度被刮刀刮下,收集刮下的无助滤剂蛋白,当脱蛋白结束时,调节刮刀间距,刮下少量的有助滤剂蛋白并收集,同时收集转鼓滤液;

(5) 蛋白吸附

将步骤 (4) 得到的转鼓滤液采用蛋白吸附树脂柱吸附其中的蛋白杂质,得到精制滤液,采用酸液或碱液或次氯酸钠对蛋白吸附树脂柱进行解吸,并收集蛋白;

(6) 纳滤浓缩

将步骤 (5) 得到的精制滤液采用纳滤膜进行浓缩,得到大分子液和小分子液,其中,一部分小分子液送入步骤 (2) 一次膜过滤工序,剩余小分子液送入步骤 (3) 二次膜过滤工序)

(7) 氰化钠转化

向步骤 (6) 得到的大分子液中加入适量的氰化钠得到含氰精制滤液;

(8) 三级吸附树脂柱除杂结晶

将步骤 (7) 得到的含氰精制滤液进行三级吸附树脂柱除杂结晶,最终得到纯品氰钴胺 (VB12);

(9) 将步骤 (2) 一次膜过滤工序收集到的一次膜浓缩液和步骤 (3) 二次膜过滤工序收集到的二次膜浓缩液混合后进行分离,分离出的清液送入步骤 (1) 水解工序,浓渣无助滤剂菌丝体与步骤 (4) 预涂转鼓脱蛋白工序得到的无助滤剂蛋白和步骤 (5) 蛋白吸附工序得到的蛋白一起收集,用于深加工;

(10) 将步骤 (4) 预涂转鼓脱蛋白工序得到的无助滤剂蛋白进行焚烧处理。

[0005] 本发明的方法,在一次膜过滤工序,膜的过滤精度为 30 ~ 200nm,过滤压力为 0.35 ~ 0.45Mpa,温度为:30 ~ 70℃。

[0006] 本发明的方法,在二次膜过滤工序,过滤压力为 0.5 ~ 0.9Mpa,温度为 30 ~ 45℃。

[0007] 本发明的方法,在预涂转鼓脱蛋白工序,立式预涂转鼓离心机的滤布过滤精度为 400 ~ 1000 目,预涂剂硅藻土和珍珠岩质量比为 1: (1 ~ 100)。

[0008] 本发明取得如下有益效果:

1、采用本发明,步骤 (4) 预涂转鼓脱蛋白工序得到的无助滤剂蛋白、有助滤剂蛋白和步骤 (5) 蛋白吸附工序得到的蛋白为总蛋白量,其中无助滤剂蛋白占总蛋白量的 90 以上。
2、蛋白吸附工序吸附转鼓滤液中的蛋白,纳滤浓缩脱除小分子液降低大分子液体积,使得氰化钠转化工序氰化钠用量降低 90% 以上,生产成本显著降低,由于大分子液中蛋白等杂质去除率高,无有毒含氰菌丝产生。
3、与传统工艺相比,省去了阳离子交换树脂柱吸附工序,减少一次性投资 30% 以上,且每批次提炼时间缩短 10h 以上。
4、VB12 的总收率可提高 2 ~ 3%,总收率达 83% 左右。

具体实施方式

[0009] 以下实施例用于说明本发明。但是,这些实施例只是对本发明作进一步说明,而不应该解释为对本发明保护范围的限制。

[0010] 实施例 1

(1) 水解

以葡萄糖、玉米浆、糖蜜、甜菜碱为原料发酵得到 VB12 发酵液,向发酵液中加入 1 倍发酵液质量的水,加热至 93℃ 进行水解,释放出细胞内的 VB12,得到水解液;

(2) 一次膜过滤

将步骤 (1) 得到的水解液采用过滤精度为 50nm 的陶瓷膜系统进行过滤去除蛋白、菌丝体等杂质,过滤压力为 0.36 ~ 0.41Mpa,温度为 50℃,当透过液滤出速度明显下降时,向膜系统中加入一定量的水继续过滤,当水解液中 VB12 含量低于 5 μg/L 时,停止加水,过滤结束,收集一次膜透过液,收集一次膜浓缩液;

(3) 二次膜过滤

将步骤 (2) 得到一次膜透过液采用截留分子量为 10000 的超滤膜系统进行过滤除杂,过滤压力为 0.7 ~ 0.8Mpa,温度为 :35℃,当透过液滤出速度明显下降时,向膜系统中加入一定量的水继续过滤,当水解液中 VB12 含量低于 5 μg/L 时,停止加水,过滤结束,收集二次膜透过液,收集二次膜浓缩液;

(4) 预涂转鼓脱蛋白

将步骤 (3) 得到的二次膜透过液采用立式预涂转鼓离心机脱蛋白,滤布过滤精度为 500 目,预涂剂为硅藻土和珍珠岩,硅藻土 :珍珠岩质量比为 1:10,当蛋白积累至一定厚度被刮刀刮下,收集刮下的无助滤剂蛋白,当脱蛋白结束时,调节刮刀间距,刮下少量的有助滤剂蛋白并收集,收集转鼓滤液;

(5) 蛋白吸附

将步骤 (4) 得到的转鼓滤液采用蛋白吸附树脂柱吸附其中的蛋白杂质,得到精制滤液;采用酸液或碱液或次氯酸钠对蛋白吸附树脂柱进行解吸,并收集蛋白;

(6) 纳滤浓缩单

将步骤 (5) 得到的精制滤液采用纳滤膜进行浓缩,得到大分子液和小分子液,其中,一部分小分子液送入步骤 (2) 一次膜过滤工序,剩余小分子液送入步骤 (3) 二次膜过滤工序)

(7) 氰化钠转化

向步骤 (6) 得到的大分子液中加入适量氰化钠得到含氰精制滤液;

(8) 三级吸附柱除杂结晶

将步骤 (7) 得到的含氰精制滤液进行三级吸附树脂柱除杂结晶,最终得到纯品氰钴胺 (VB12);

(9) 将步骤 (2) 一次膜过滤工序收集到的一次膜浓缩液和步骤 (3) 二次膜过滤工序收集到的二次膜浓缩液混合后进行分离,分离出的清液送入步骤 (1) 水解工序,分离出的浓渣无助滤剂菌丝体与步骤 (4) 预涂转鼓脱蛋白工序得到的无助滤剂蛋白和步骤 (5) 蛋白吸附工序得到的蛋白一起收集,用于深加工;

(10) 将步骤 (4) 预涂转鼓脱蛋白工序得到的无助滤剂蛋白进行焚烧处理。

[0011] 本实施例,得到无助滤剂蛋白占总蛋白量的 92%,氰化钠用量比传统工艺降低 91%,VB12 的总收率提高 2%,总收率达 83%。

[0012] 实施例 2

(1) 水解

以葡萄糖、玉米浆、糖蜜、甜菜碱为原料发酵得到 VB12 发酵液,向发酵液中加入 1 倍发酵液质量的水,加热至 100℃进行水解,释放出细胞内的 VB12,得到水解液;

(2) 一次膜过滤

将步骤 (1) 得到的水解液采用过滤精度为 50nm 的陶瓷膜系统进行过滤去除蛋白、菌丝体等杂质,过滤压力为 0.36 ~ 0.41Mpa,温度为 55℃,当透过液滤出速度明显下降时,向膜系统中加入一定量的水继续过滤,当水解液中 VB12 含量低于 5 μg/L 时,停止加水,过滤结束,收集一次膜透过液,收集一次膜浓缩液;

(3) 二次膜过滤

将步骤 (2) 得到一次膜透过液采用截留分子量为 80000 的超滤膜系统进行过滤除杂,过滤压力为 0.7 ~ 0.8Mpa,温度为 40℃,当透过液滤出速度明显下降时,向膜系统中加入一定量的水继续过滤,当水解液中 VB12 含量低于 5 μg/L 时,停止加水,过滤结束,收集二次膜透过液,收集二次膜浓缩液;

(4) 预涂转鼓脱蛋白

将步骤 (3) 得到的二次膜透过液采用立式预涂转鼓离心机脱蛋白,滤布过滤精度为 1000 目,预涂剂为硅藻土和珍珠岩,硅藻土:珍珠岩质量比为 1:90,当蛋白积累至一定厚度被刮刀刮下,收集刮下的无助滤剂蛋白,当脱蛋白结束时,调节刮刀间距,刮下少量的有助滤剂蛋白并收集,收集转鼓滤液;

(5) 蛋白吸附

将步骤 (4) 得到的转鼓滤液采用蛋白吸附树脂柱吸附其中的蛋白杂质,得到精制滤液;采用酸液或碱液或次氯酸钠对蛋白吸附树脂柱进行解吸,并收集蛋白;

(6) 纳滤浓缩

将步骤 (5) 得到的精制滤液采用纳滤膜进行浓缩,得到大分子液和小分子液,其中,一部分小分子液送入步骤 (2) 一次膜过滤工序,剩余小分子液送入步骤 (3) 二次膜过滤工序;

(7) 氰化钠转化

向步骤 (6) 得到的大分子液中加入适量氰化钠得到含氰精制滤液;

(8) 三级吸附柱除杂结晶

将步骤 (7) 得到的含氰精制滤液进行三级吸附树脂柱除杂结晶,最终得到纯品氰钴胺 (VB12);

(9) 将步骤 (2) 一次膜过滤工序收集到的一次膜浓缩液和步骤 (3) 二次膜过滤工序收集到的二次膜浓缩液混合后进行分离,分离出的清液送入步骤 (1) 水解工序,分离出的浓渣无助滤剂菌丝体与步骤 (4) 预涂转鼓脱蛋白工序得到的无助滤剂蛋白和步骤 (5) 蛋白吸附工序得到的蛋白一起收集,用于深加工;

(10) 将步骤 (4) 预涂转鼓脱蛋白工序得到的无助滤剂蛋白进行焚烧处理;

本实施例,得到的无助滤剂蛋白占蛋白总量的 93%,氰化钠用量比传统工艺降低 92%,

VB12 的总收率提高 2.3%，总收率达 83.5%。

[0013] 实施例 3

(1) 水解

以葡萄糖、玉米浆、糖蜜、甜菜碱为原料发酵得到 VB12 发酵液，向发酵液中加入 1 倍发酵液质量的水，加热至 95℃ 进行水解，释放出细胞内的 VB12，得到水解液；

(2) 一次膜过滤

将步骤 (1) 得到的水解液采用过滤精度为 100nm 的金属膜系统进行过滤去除蛋白、菌丝体等杂质，过滤压力为 0.36 ~ 0.41Mpa，温度为 60℃，当透过液滤出速度明显下降时，向膜系统中加入一定量的水继续过滤，当水解液中 VB12 含量低于 5 μg/L 时，停止加水，过滤结束，收集一次膜透过液，收集一次膜浓缩液；

(3) 二次膜过滤

将步骤 (2) 得到一次膜透过液采用截留分子量为 30000 的超滤膜系统进行过滤除杂，过滤压力为 0.7 ~ 0.8Mpa，温度为 45℃，当透过液滤出速度明显下降时，向膜系统中加入一定量的水继续过滤，当水解液中 VB12 含量低于 5 μg/L 时，停止加水，过滤结束，收集二次膜透过液，收集二次膜浓缩液；

(4) 预涂转鼓脱蛋白

将步骤 (3) 得到的二次膜透过液采用立式预涂转鼓离心机脱蛋白，滤布过滤精度为 800 目，预涂剂为硅藻土和珍珠岩，硅藻土：珍珠岩质量比为 1:50，当蛋白积累至一定厚度被刮刀刮下，收集刮下的无助滤剂蛋白，当脱蛋白结束时，调节刮刀间距，刮下少量的有助滤剂蛋白并收集，收集转鼓滤液；

(5) 蛋白吸附

将步骤 (4) 得到的转鼓滤液采用蛋白吸附树脂柱吸附其中的蛋白杂质，得到精制滤液；采用酸液或碱液或次氯酸钠对蛋白吸附树脂柱进行解吸，并收集蛋白；

(6) 纳滤浓缩

将步骤 (5) 得到的精制滤液采用纳滤膜进行浓缩，得到大分子液和小分子液，其中，一部分小分子液送入步骤 (2) 一次膜过滤工序，剩余小分子液送入步骤 (3) 二次膜过滤工序；

(7) 氰化钠转化

向步骤 (6) 得到的大分子液中加入适量氰化钠得到含氰精制滤液；

(8) 三级吸附柱除杂结晶

将步骤 (7) 得到的含氰精制滤液进行三级吸附树脂柱除杂结晶，最终得到纯品氰钴胺 (VB12)；

(9) 将步骤 (2) 一次膜过滤工序收集到的一次膜浓缩液和步骤 (3) 二次膜过滤工序收集到的二次膜浓缩液混合后进行分离，分离出的清液送入步骤 (1) 水解工序，分离出的浓渣无助滤剂菌丝体与步骤 (4) 预涂转鼓脱蛋白工序得到的无助滤剂蛋白和步骤 (5) 蛋白吸附工序得到的蛋白一起收集，用于深加工；

(10) 将步骤 (4) 预涂转鼓脱蛋白工序得到的无助滤剂蛋白进行焚烧处理。

[0014] 本实施例，得到的无助滤剂蛋白占蛋白总量的 91.5%，氰化钠用量比传统工艺降低 90.5%，VB12 的总收率提高 2.7%，总收率达 83.7%。

[0015] 实施例 4

(1) 水解

以葡萄糖、玉米浆、糖蜜、甜菜碱为原料发酵得到 VB12 发酵液，向发酵液中加入 1 倍发酵液质量的水，加热至 97℃ 进行水解，释放出细胞内的 VB12，得到水解液；

(2) 一次膜过滤

将步骤 (1) 得到的水解液采用过滤精度为 200nm 的陶瓷膜系统进行过滤去除蛋白、菌丝体等杂质，过滤压力为 0.36 ~ 0.41Mpa，温度为 65℃，当透过液滤出速度明显下降时，向膜系统中加入一定量的水继续过滤，当水解液中 VB12 含量低于 5 μg/L 时，停止加水，过滤结束，收集一次膜透过液，收集一次膜浓缩液；

(3) 二次膜过滤

将步骤 (2) 得到一次膜透过液采用截留分子量为 60000 的超滤膜系统进行过滤除杂，过滤压力为 0.7 ~ 0.8Mpa，温度为 45℃，当透过液滤出速度明显下降时，向膜系统中加入一定量的水继续过滤，当水解液中 VB12 含量低于 5 μg/L 时，停止加水，过滤结束，收集二次膜透过液，收集二次膜浓缩液；

(4) 预涂转鼓脱蛋白

将步骤 (3) 得到的二次膜透过液采用立式预涂转鼓离心机脱蛋白，滤布过滤精度为 600 目，预涂剂为硅藻土和珍珠岩，硅藻土：珍珠岩质量比为 1:35，当蛋白积累至一定厚度被刮刀刮下，收集刮下的无助滤剂蛋白，当脱蛋白结束时，调节刮刀间距，刮下少量的有助滤剂蛋白并收集，收集转鼓滤液；

(5) 蛋白吸附

将步骤 (4) 得到的转鼓滤液采用蛋白吸附树脂柱吸附其中的蛋白杂质，得到精制滤液；采用酸液或碱液或次氯酸钠对蛋白吸附树脂柱进行解吸，并收集蛋白；

(6) 纳滤浓缩

将步骤 (5) 得到的精制滤液采用纳滤膜进行浓缩，得到大分子液和小分子液，其中，一部分小分子液送入步骤 (2) 一次膜过滤工序，剩余小分子液送入步骤 (3) 二次膜过滤工序；

(7) 氰化钠转化

向步骤 (6) 得到的大分子液中加入适量氰化钠得到含氰精制滤液；

(8) 三级吸附柱除杂结晶

将步骤 (7) 得到的含氰精制滤液进行三级吸附树脂柱除杂结晶，最终得到纯品氰钴胺 (VB12)；

(9) 将步骤 (2) 一次膜过滤工序收集到的一次膜浓缩液和步骤 (3) 二次膜过滤工序收集到的二次膜浓缩液混合后进行分离，分离出的清液送入步骤 (1) 水解工序，分离出的浓渣无助滤剂菌丝体与步骤 (4) 预涂转鼓脱蛋白工序得到的无助滤剂蛋白和步骤 (5) 蛋白吸附工序得到的蛋白一起收集，用于深加工；

(10) 将步骤 (4) 预涂转鼓脱蛋白工序得到的无助滤剂蛋白进行焚烧处理；

本实施例，得到的无助滤剂蛋白占蛋白总量的 91%，氰化钠用量比传统工艺降低 93%，VB12 的总收率提高 3%，总收率达 84%。