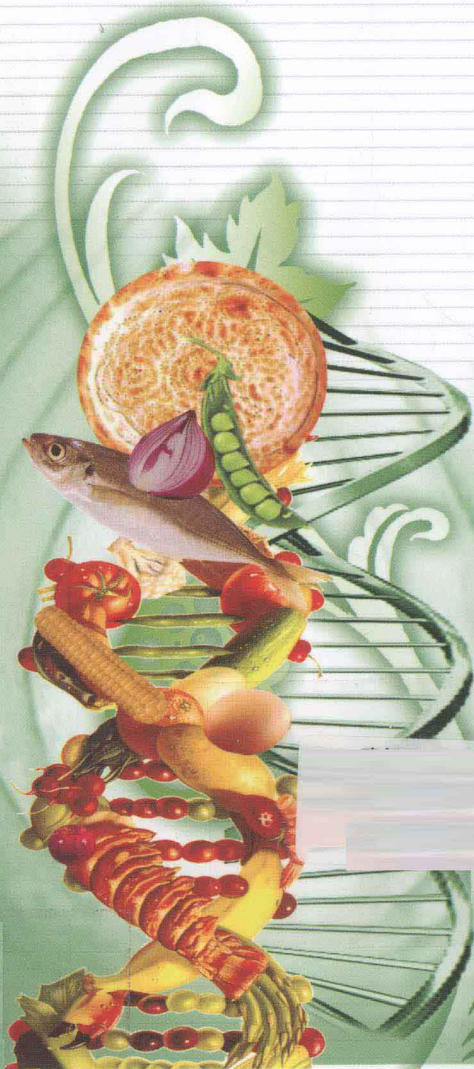


新疆维吾尔自治区高等教育地方特色和民文教材建设项目
西安交通大学对口支援新疆大学系列教材项目

食品科学实验技术

主 编 敬思群
副主编 吴 旭 白 岚



西安交通大学出版社
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY PRESS

新疆维吾尔自治区高等教育地方特色和民文教材建设项目
西安交通大学对口支援新疆大学系列教材项目

食品科学实验技术

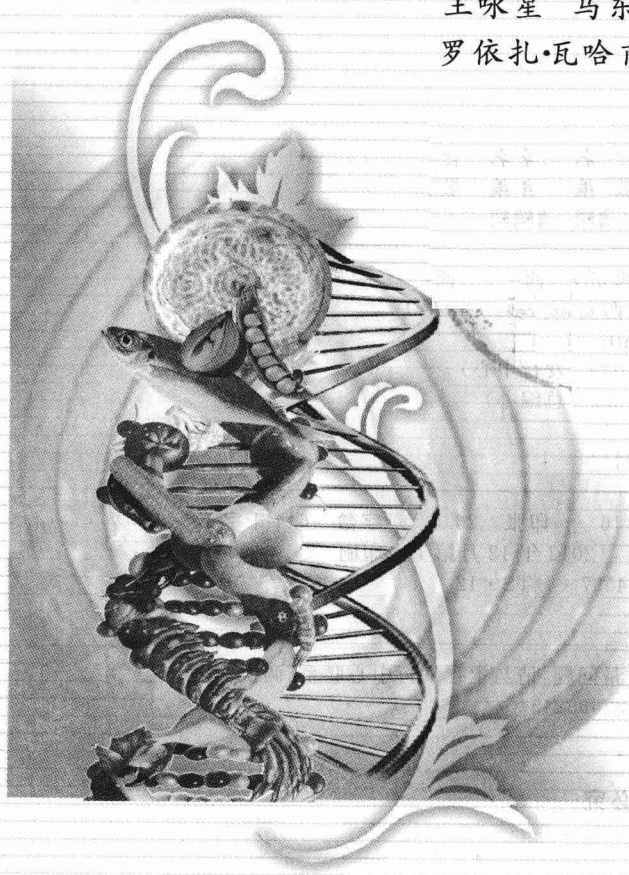
主 编 敬思群

副主编 吴 旭 白 岚

编 者 (以姓氏笔画为序)

王咏星 马东健 邢 军 陈红征 郑 力 杨 洁

罗依扎·瓦哈甫 茹先古丽·买买提依明 傅樱花



西安交通大学出版社
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY PRESS

图书在版编目(CIP)数据

食品科学实验技术/敬思群主编. —西安:西安
交通大学出版社, 2012. 12
ISBN 978-7-5605-4597-4

I. ①食… II. ①敬… III. ①食品工业-实验
IV. ①TS2-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 241351 号

书 名 食品科学实验技术
主 编 敬思群
责任编辑 王 欣

出版发行 西安交通大学出版社
(西安市兴庆南路 10 号 邮政编码 710049)
网 址 <http://www.xjupress.com>
电 话 (029)82668357 82667871(发行中心)
(029)82668315 82669096(总编办)
传 真 (029)82668280
印 刷 西安明瑞印务有限公司

开 本 787mm×1092mm 1/16 印 张 26.5 字 数 644 千字
版次印次 2012 年 12 月第 1 版 2012 年 12 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978-7-5605-4597-4/TS·12
定 价 48.00 元

读者购书、书店添货如发现印装质量问题,请与本社发行中心联系、调换。
订购热线:(029)82665248 (029)82665249
投稿热线:(029)82664954
读者信箱:jdlgy@yahoo.cn

版权所有 侵权必究

序 言

高等教育的目标是培养德智体全面发展的高级技术人才。实验教学作为高校教学不可缺少的环节,在培养学生动手能力和创新能力方面有着课堂理论教学无法替代的作用。尤其是应用型很强的食品科学与工程专业,实验教学的地位更为重要。

为了培养“厚基础、宽口径、高素质、强能力”的创新型人才,优化实验教学内容,食品科学与工程系自 2005 年相继编写了《食品分析实验指导书》、《食品技术原理实验指导书》、《食品工艺学实验指导书》等教学讲义,至今经历了 6 年多的使用,得到了学生的认可、专家们的肯定和好评。

建立独立的专业实验教学体系,目的在于探索实验教学方法和实验内容的改革与创新。新的实验教学体系淡化了专业知识间的界限,注重“系统科学与工程知识学习相结合”的思路。食品科学与工程系教师以食品科学与工程专业实验技术和方法为主线,根据专业理论体系,按模块方式组织教学内容,将原来按理论课程设置实验内容转为按专业毕业生规格要求的技能来确定实验内容。将微生物学、生物化学、食品分析、食品化学、食品技术原理、食品工艺学的分段实验教学内容有机地结合起来,避免了实验内容的重复设置,将实验内容整合为食品生物技术基础类、食品技术原理类、食品加工类和食品分析类四个部分。每个部分都包含“验证性”实验、“综合性”实验和“设计研究性”实验 3 个层次,独立构建了实验教学的新体系。新体系采用“独立设课”模式,使食品科学与工程专业的学生在学习阶段都能够从实验新体系中得到扎实的实践动手能力训练。专业实验教学模式的转变,为学生科研能力和创新素质的培养提供了良好的条件。

《食品科学实验技术》设计性实验内容突出区域经济发展特色。在内容编排上特色明显,很多实验后面附有“知识拓展”,如国质检监[2004]557 号颁布的各类食品生产许可证审查细则,使专业实验教学与社会职业岗位技能以及有关食品法律法规的应用性实现零距离,提高学生就业竞争力。该实验教材编写条理清晰,内容丰富,无论对从事食品科学教学的高校教师和科研工作者,还是对食品科学学科专业的学生来说,都是一本具有较高参考价值的教材。

新疆大学

张富春

2011 年 3 月于乌鲁木齐

前言

《食品科学实验技术》和大家见面了。为实现由学科为中心到以系统性教学为中心的教学模式的转变,淡化学科界限,注重“系统性知识的学习”是思路,整合和优化实验教学内容是改革的出发点。教材以食品科学与工程专业实验技术和方法为主线,模拟科研过程,按模块方式组织教学内容,把原来按理论课程设置实验内容转为按该专业毕业生规格要求的专业技能来确定实验内容。将微生物学、生物化学、食品化学、食品分析、食品技术原理、食品工艺学等专业基础和专业实验整合为:食品生物技术基础类——食品科学系列实验技术(1),食品技术原理类——食品科学系列实验技术(2),食品加工类——食品科学系列实验技术(3)和食品分析类——食品科学系列实验技术(4)四个部分。每个部分都是包含“验证性”、“综合性”、“设计研究性”3个层次的金字塔式的独立的实验教学新体系。新体系采用“独立设课”模式,从第3学期开始开设至第7学期结束。使学生从二年级开始到做毕业论文(设计),都受益于实验新体系的建设和改革。为了实现专业实验教学与社会职业岗位技能以及有关食品法律法规的应用性的零距离,学以致用,提高学生就业竞争力,在本书的编写过程中,设计性实验内容突出了区域经济发展特色,将国质检监[2004]557号颁布的各类食品生产许可证审查细则附在实验内容后面作为知识拓展。

本书绪论由敬思群编写,第一篇由白岚、马东健、陈红征、傅樱花、王咏星编写,第二篇由敬思群、邢军、茹先古丽·买买提依明编写,第三篇由吴旭、敬思群、傅樱花、邢军、茹先古丽·买买提依明编写,第四篇由郑力、罗依扎·瓦哈甫、敬思群编写,附录由杨洁、敬思群编写。全书由白岚、吴旭、敬思群统稿、整理、审定。

在本书的编写过程中,参考了欧仕益等编写的《食品化学实验手册》,以及其他许多文献、资料(包括网上的资料),在此一并感谢。

本书在编写过程中,得到了新疆维吾尔自治区教育厅自治区高等学校地方特色和民文教材建设指导委员会、新疆大学教务处、西安交通大学出版社、新疆大学生命科学与技术学院领导以及工作人员的大力支持,在此表示衷心感谢。

由于时间仓促且编写者水平有限,不妥之处在所难免,恳请读者批评指正。

编者

2012.6

目 录

绪 论

实验基本要求

第一篇 食品生物技术基础类实验 食品科学系列实验(1)

模块一 通用技术概论	(6)
技术一 生物大分子的制备	(6)
技术二 光学显微镜技术	(23)
技术三 离心技术	(34)
技术四 光谱分析技术	(39)
技术五 层析技术	(42)
技术六 高效液相色谱技术	(48)
技术七 PCR 技术	(59)
技术八 消毒、灭菌与无菌操作技术	(64)
技术九 培养技术	(67)
模块二 验证性实验	(69)
实验一 蛋白质的提取与含量的测定	(69)
实验二 蛋白质的性质——等电点、沉淀和变性	(75)
实验三 酵母蔗糖酶的提取、分离纯化及性质鉴定	(81)
实验四 DNS—Cl 法测定 N-末端氨基酸	(87)
实验五 凝胶过滤层析测定蛋白质的相对分子质量(M_r)	(92)
实验六 氨基移换反应的定性实验	(96)
实验七 培养基的制备与灭菌(1)、实验环境和人体表面的微生物检查、微生物标本观察	(99)
实验八 培养基的制备与灭菌(2)、细菌形态学观察(1)(革兰氏染色)	(106)
实验九 菌落制片、细菌形态学观察(2)(荚膜染色、芽孢染色)	(108)
实验十 放线菌、霉菌形态学观察 酵母菌死活细胞鉴定 直接显微计数	(111)
实验十一 菌种保藏	(115)
模块三 综合性实验	(121)
实验十二 酵母 RNA 的提取及组分鉴定	(121)
实验十三 维生素 C 的提取、含量的测定及在食品加工中保存率的影响因素	(125)

实验十四 食品中细菌总数及大肠菌群的测定	(130)
----------------------	-------

模块四 设计研究性实验	(139)
-------------	-------

实验十五 外界因素对酶活力的影响——用正交法测定几种因素对酶活力的影响	(139)
-------------------------------------	-------

实验十六 牛乳中细菌的检查	(143)
---------------	-------

实验十七 牛乳在自然发酵与酸败过程中的菌相变化	(148)
-------------------------	-------

实验十八 化学因素对微生物的影响	(151)
------------------	-------

第二篇 食品技术原理类实验 食品科学系列实验(2)

模块一 验证性实验	(156)
-----------	-------

实验一 非酶褐变	(156)
----------	-------

实验二 烫漂作用	(160)
----------	-------

实验三 pH 和磷酸盐对肉类蛋白水合作用的影响	(163)
-------------------------	-------

实验四 豆奶蛋白中—SH 和—S—S—基团的测定	(166)
--------------------------	-------

实验五 淀粉 α 化度的测定	(169)
-----------------------	-------

实验六 脂肪过氧化值及酸价的测定与油脂安全性评价	(171)
--------------------------	-------

实验七 美拉德反应速度的影响因素	(174)
------------------	-------

实验八 冻结实验——豆角、辣椒的低温处理和保藏	(176)
-------------------------	-------

实验九 感官实验(一)——差别检验	(179)
-------------------	-------

实验十 感官实验(二)——标度和类别检验方法	(185)
------------------------	-------

实验十一 感官实验(三)——分析或描述性检验方法	(187)
--------------------------	-------

实验十二 石榴果酱的制作	(191)
--------------	-------

模块二 综合性实验	(194)
-----------	-------

实验十三 食品胶体	(194)
-----------	-------

实验十四 酶促褐变的影响因素及反应控制方法	(198)
-----------------------	-------

实验十五 脱水洋葱片的加工	(201)
---------------	-------

实验十六 熏马肠的制作	(206)
-------------	-------

实验十七 葡萄皮中花青素的测定及稳定性的研究	(217)
------------------------	-------

模块三 设计研究性实验	(220)
-------------	-------

实验十八 蔬菜腌渍实验	(220)
-------------	-------

实验十九 石榴皮中多酚的测定及提取技术的研究	(225)
------------------------	-------

实验二十 特色果脯制作	(229)
-------------	-------

第三篇 食品加工类实验 食品科学系列实验(3)

模块一 验证性实验	(240)
-----------	-------

实验一 罐头食品的实罐与空罐检验	(240)
------------------	-------

实验二	杏仁露的制作工艺	(248)
实验三	面包的制作工艺	(253)
实验四	曲奇饼干的制作工艺	(258)
实验五	蛋糕制作工艺	(261)
实验六	糖水水果罐头制作	(263)
实验七	原汁去皮整番茄罐头的制作	(266)
模块二	综合性实验	(269)
实验八	特色冰淇淋制作	(269)
实验九	乳的检验与酸马奶制作	(275)
模块三	设计研究性实验	(288)
实验十	果蔬汁饮料的配方设计与制作	(288)
实验十一	植物蛋白饮料制作	(295)
实验十二	番茄沙司的配方设计与制作	(300)

第四篇 食品分析类实验 食品科学系列实验(4)

模块一	验证性实验	(304)
实验一	相对密度的测定	(304)
实验二	水分的测定	(308)
实验三	粗灰分的测定(干式灰化法)	(313)
实验四	总酸的测定	(316)
实验五	食品中锡的测定	(321)
实验六	食品中铅的测定——双硫脲比色法	(325)
实验七	食品中总汞的测定	(329)
实验八	铜元素的测定	(334)
实验九	食品中钙的测定	(338)
实验十	食品中锌的测定	(343)
实验十一	饮料中合成色素的测定(薄层层析法)	(347)
实验十二	山梨酸、苯甲酸的测定	(350)
模块二	综合性实验	(354)
实验十三	番茄制品中番茄红素的测定	(354)
实验十四	还原糖的测定	(357)
实验十五	甜炼乳中总糖含量的测定	(362)
实验十六	粗脂肪的测定——索氏抽提法	(366)
实验十七	食品中二氧化硫(SO ₂)的测定——盐酸副玫瑰苯胺比色法	(369)
实验十八	食品中淀粉的测定	(372)
实验十九	肉制品中亚硝酸盐的测定	(376)

模块三 设计研究性实验.....	(378)
实验二十 罐头食品的理化分析.....	(378)
实验二十一 烤肉中 3,4-苯并芘的测定及影响其含量的因素分析	(382)

附 录

附录一 研究报告的写作.....	(385)
附录二 常用标准溶液的配制、标定和贮藏	(388)
附录三 指示剂与指示液的配制.....	(395)
附录四 正交实验设计.....	(398)
附录五 微生物实验采样.....	(401)
附录六 食品检测基本知识.....	(403)

绪 论

实验基本要求

一、实验室规则

①每位同学都应该自觉地遵守课堂纪律,维护课堂秩序。不迟到,不早退,保持室内安静,不大声谈笑。

②在实验过程中要听从教师的指导,严肃认真地按操作规程进行实验,并简要准确地将实验结果和数据记录在实验记录本上。

③环境和仪器的清洁整齐是做好实验的重要条件。实验台面、试剂柜必须保持整洁,仪器、试剂要井然有序;勿将试剂药品洒在台面和地板上;公用试剂用毕应立即放回原处;实验完毕,需将试剂排列整齐,仪器洗净放好,实验台面擦拭干净,经教师认可后,方可离去。

④爱护仪器,节约试剂。保持试剂的纯净,严防混杂;不要将滤纸和称量纸做其他用途;使用和清洗仪器时,应小心仔细,防止仪器损坏;使用贵重精密仪器时,应严格遵守操作规程;发现故障立即报告教师,不要自己动手检修;要爱护国家财产,厉行节约。

⑤实验中充分注意安全。实验室内严禁吸烟;煤气灯应随用随关,必须严格做到:火着人在,人走火灭;有机溶剂等易燃品不能直接加热,且要远离火源操作和放置;实验完毕,应立即关好煤气阀和水龙头,拉下电闸;离开实验室前应认真负责地进行检查,严防事故发生。

⑥废弃液体(强酸强碱液必须先用水稀释)可倒入水槽内,同时放水冲洗;废纸、火柴头及其他固体废弃物和带有渣滓沉淀的废物都应倒入废品缸内,不能倒入水槽或到处乱扔。

⑦仪器损坏时,应如实向教师报告,认真填写损坏仪器登记表。

⑧实验室一切物品,未经本实验室教师批准严禁携出室外,借物必须办理登记手续。

⑨鼓励同学对实验的内容和安排不合理的地方提出改进意见,对实验中出现的一切反常现象应进行讨论,并大胆提出自己的看法。

⑩每次实验课由班长安排同学轮流值日,值日生要负责当天实验室的卫生、安全和一切服务性的工作。

二、数据处理

对实验所得到的一系列数值,采取适当的处理方法进行整理、分析,才能准确地反映出被研究对象的数量关系。实验中通常采用列表法或作图法显示实验结果,既可使结果表达得清楚、明了,还可以减少和弥补某些测定误差。根据对标准样品的一系列测定,也可以列出表格或绘制标准曲线,由测定数据直接查出结果。

①列表法:将实验所得各数值用适当的表格列出,并表示出它们之间的关系。通常数据的名称和单位写在标题栏中,表内只填写数字。数据应该正确保留有效数字,必要时应计算出误

差值。

②作图法:实验所得到的一系列数据之间关系及其变化情况,可以用图形直观地表现出来。作图时通常先在坐标纸上确定坐标轴,表明轴的名称和单位,然后将各数值点用“+”或“×”符号标注在图纸上,再用直线或曲线把各点连接起来。图形必须是很平滑的,可以不通过所有的点,但要求线两旁偏离的点分布较均匀。在画线时,个别偏离过大的点应当舍去,或重复实验校正之。采用作图法时至少要有五个以上的点,否则没有意义。

三、实验记录及实验报告

实验课前应认真预习,将实验名称、目的和要求、原理、实验内容、操作方法和步骤简单地写在记录本中。

实验中观察到的现象、结果和数据,应该及时地直接记在记录本上,绝对不可以用单张纸作记录或草稿,原始记录必须准确、简练、详细、清楚。实验记录本应标上页数,不要撕去任何一页,更不要擦抹和涂改,写错时可以划去重写,记录时必须使用钢笔和圆珠笔。从实验课开始就应养成这种良好的习惯。

记录时,应做到正确记录实验结果,切忌夹杂主观因素,这是十分重要的。在实验条件下观察到的现象,应如实仔细地记录下来。在定量实验中观测到的数据,如称量物的质量、滴定管的读数、测温计的读数等,都应设计一定的表格准确记录,并根据仪器的精确度准确记录有效数字(例如,pH 值为 5.0 不应写成 5)。每一个结果最少要重复观测两次,当符合实验要求并确知仪器工作正常后再写在记录本上。实验记录上的每一个数字,都反映了每一次的测量结果,所以,重复观测时即使数据完全相同也应如实记录下来。数据的计算也应该写在记录本的另一页上,一般写在正式记录左边的一页。总之,对实验的每个结果都应正确无遗漏地做好记录。

实验中所用仪器的型号以及试剂的规格、化学式、相对分子质量、浓度等都应准确记录,以便于撰写实验报告并作为查找实验成败原因的参考依据。

如果发现记录的结果有疑问、遗漏和丢失等,都必须重做实验。因为将不可靠的结果当作正确结果,在实际工作中可能造成难以估量的损失。所以,在学习期间就应一丝不苟,努力培养科学严谨的工作作风。

实验结束后,应及时整理和总结实验结果,写出实验报告。在实验报告中,目的和要求、原理以及操作方法部分应简单扼要,但是实验条件(试剂配制及使用仪器)和操作的关键环节必须写清楚。对于实验结果部分,应根据实验课的要求将一定实验条件下获得的实验结果和数据进行整理、归纳、分析和对比,并尽量总结成各种图表,如由原始数据生成的表格、标准曲线图以及比较实验组与对照组实验结果的图表等。另外,还应针对实验结果进行必要的说明和分析。讨论部分可以包括:关于实验方法(或操作技术)和有关实验的一些问题,如实验的正常结果和异常现象及思考题,对于实验设计的认识、体会和建议,对实验课的改进意见等。

下面列举了验证性、综合性、设计性实验报告的格式,供参考。

1. 验证性实验 实验报告格式

一、目的要求

二、内容

三、原理

四、实验原料及使用仪器

五、操作方法

六、实验(数据)记录与数据处理

七、实验结果(包括成品率和成本费用计算)

八、问题与讨论(或思考题)

2. 综合性、设计性研究实验

实验报告可以按实验小组整体来写。方式是:(a)共同讨论实验结果的可信性;(b)讨论实验设计实施的成败得失,经验教训,交流心得体会;(c)进一步完善综合性设计性实验的方案步骤。

实验后的总结非常重要,是认识的升华,是学生分析问题、归纳问题,从而解决问题、提高科学实验兴趣的重要手段和过程。其中实验总结对实验本身来讲是非常重要的,同时也是专家认定综合性、设计性实验的重要依据之一。已完成的设计要由指导教师对其各项指标进行鉴定评议,指出不足之处,并将其作为新的课题留给学生继续思考与探索,从而使学生通过设计性实验得到知识和能力的综合训练。

实验报告一般应包含的内容是:实验题目,实验目的、任务和要求,实验原理,实验仪器(药品),测量条件,实验步骤,数据记录,数据处理,分析评价和总结。

综合性、设计性实验的总结也可以写成一篇小学术论文、一篇小科普文章的形式,这一方面是对学生的科学研究能力的初步训练,同时也可为学生在毕业前撰写毕业论文打下良好基础。论文可以由以下几部分组成:实验题目、摘要、引言、正文、结论和参考文献等。实验题目要准确、鲜明、简练。摘要就是对文章内容准确扼要的表述,一般在 250 字左右。引言是向读者揭示论文主题的总纲,可对实验研究的历史和现状进行简要叙述,并提出研究所用的新方法和得到的结果等。正文为小论文的主体部分,可根据课题的性质选用不同的书写格式。对于基础理论研究性质的论文,一般包括基本理论和推证、结果分析与讨论等;对于实验性质的论文,一般分三个部分:(a)实验材料与设备的说明;(b)实验过程的说明;(c)实验结果和分析讨论。结论是根据实验结果,经过判断和推理形成自己的总观点。参考文献是将文中引用他人的定理和论述,在参考文献中列出。

四、成绩评定

教师根据学生文献查阅,综述撰写,实验方案设计,实际操作,实验答辩,实验记录等几个方面的表现综合评定,给出成绩。

第一篇

食品生物技术基础类实验 ——食品科学系列实验(1)

模块一 通用技术概论

技术一 生物大分子的制备

一、概述

生物大分子主要指蛋白质、核酸和碳氢化合物,这三类物质是生命活动的物质基础。生物大分子结构与功能的研究是探求生命奥秘的中心课题,要研究生物大分子的结构与功能,首先必须解决生物大分子的制备问题。生物大分子的分离纯化与制备是十分细致而困难的工作,要制备一种高纯度的生物大分子,需要付出长期、艰苦的努力。

与化学产品的分离制备相比,生物大分子的制备有以下主要特点。

①生物材料的组成非常复杂,常常包含数百种甚至数千种化合物。其中的许多化合物至今尚未被了解,有待于人们的研究与开发。在分离过程中,有的生物大分子还在不断地代谢,所以,生物大分子的分离纯化方法差别极大,不可能找到一种适用于各种生物大分子分离制备的标准方法。

②许多生物大分子在生物材料中的含量很少,仅占生物材料的万分之一、几十万分之一,甚至几百万分之一。分离纯化的步骤多,流程长,有的目的产物要经过十几步、几十步的分离纯化操作才能达到所需的纯度要求。例如从脑垂体中纯化某些激素的释放因子,要用几吨至几十吨的材料,才能提取出几毫克的产品。

③许多生物大分子离开了生物体内的环境后容易失活,分离纯化过程中如何防止其失活,是生物大分子制备的难点。因为过酸、过碱、高温、剧烈搅拌、强辐射等都会使生物大分子变性失活,所以分离纯化时一定要选择最合适的环境条件。

④生物大分子的制备几乎都是在溶液中进行的,温度、pH 值、离子强度等各种参数对溶液中各种成分的综合影响,很难准确估计和判断,实验结果常有很大的经验成分,实验的重复性较差,个人的实验技术水平和经验对实验结果会有较大的影响。

通常可按以下步骤进行生物大分子的制备:(a)确定目的和要求(是进行科研、开发还是要发现新物质)。(b)建立可靠的分析测定方法,是制备生物大分子的关键,因为它是整个分离纯化过程中的“眼睛”。(c)通过查阅文献和预备实验,掌握生物大分子产物的理化性质。(d)材料的破碎和预处理。(e)分离纯化方案的选择和探索(这是最困难的)。(f)生物大分子制备物的纯度鉴定,要求达到“一维电泳一条带,二维电泳一个点,高效液相色谱(HPLC)和毛细管电泳(CE)一个峰”。(g)产物的浓缩、干燥和保存。

因为生物大分子的分离、制备是复杂和困难的,所以提取方法和流程的设计就必须尽可能多查文献,多参照前人的工作,吸取经验,从失败中总结教训,只有具有百折不挠的钻研精神才能达到预期的目的。

对均一性分析测定的方法主要分生物学和物理化学的测定方法。生物学的测定法主要有

蛋白质含量的各种测定方法、酶活力的各种测定方法、免疫化学方法、放射性同位素示踪法等；物理化学方法主要有比色法、气相色谱和液相色谱法、光谱法、电泳法和核磁共振等。实际操作中尽可能多用仪器分析的方法，以使分析测定更加快速、简便。

通常，对于生物大分子制备物的均一性的鉴定，只用一种鉴定方法是不够的，必须同时采用 2~3 种不同的鉴定法才能确定。最常用的蛋白质和酶纯度鉴定的方法是 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)和等电聚焦电泳(IFE)，如能再用 HPLC 和 CE 进行联合鉴定则更理想，必要时再做 N-末端氨基酸残基的分析鉴定。溶解度法和高速离心沉降法现在已经很少使用。核酸的纯度鉴定通常采用琼脂糖凝胶电泳和聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)，但最方便的还是紫外吸收法，即测定核酸样品在 pH 值为 7.0 时，260 nm 与 280 nm 的吸光度(A_{260} 和 A_{280})，通过 A_{260} 与 A_{280} 的比值判断核酸样品的纯度。

需要了解的生物大分子的理化性质主要有：(a)在水和各种有机溶剂中的溶解性。(b)在不同温度、pH 值和缓冲液中的稳定性。(c)固态时在不同温度、含水量和冻干条件下的稳定性。(d)各种物理性质：分子大小、穿膜能力、带电情况、在电场中的行为、离心沉降的表现、在各种填料(凝胶、树脂等)中的分配系数等。(e)其他化学性质：如对各种蛋白酶、水解酶的稳定性和对化学试剂的稳定性。(f)对其他生物分子的特殊亲和力等。

生物大分子的分离纯化方法很多，主要是利用它们之间性质的差异，如分子的大小、形状、酸碱性、溶解性、溶解度、极性、电荷和与其他分子的亲和性等。各种方法的基本原理可以归纳为两个方面：一是利用混合物中几个组分分配系数的差异，将各组分分配到两个或几个相中，如盐析、有机溶剂沉淀、层析和结晶等；二是将混合物置于某一物相中，通过物理力场作用，使各组分分配于不同的区域，达到分离目的，如电泳、离心、超滤等。纯化生物大分子的关键技术是电泳、层析和离心。生物大分子不能加热熔化和气化，能分配的物相仅限于固相和液相，所以只能在这两相之间交替进行分离纯化。在实际工作中往往要综合运用多种方法，才能制备出高纯度的生物大分子。

分离纯化生物大分子时，总是希望纯化出的生物大分子纯度和产率都要高。如纯化某种酶，理想的结果是总回收率高，酶的比活力高，但实际上两者不能兼得。在科研工作中通常希望比活力尽可能高，而牺牲一些回收率，在工业生产上则相反。

二、生物大分子制备的前处理

1. 生物材料的选择

制备生物大分子，首先要选择适当的生物材料。材料的来源可以是动物、植物和微生物及其代谢产物。从工业生产角度选择材料，应选择含量高、来源丰富、制备工艺简单、成本低的原料，但往往这几方面的要求不能同时具备。含量丰富但来源困难，或含量、来源较理想但材料的分离纯化方法繁琐、流程很长，反倒不如含量较低但易于获得纯品的材料。必须根据具体情况，抓住主要矛盾决定取舍。从科研工作的角度选材，则只要考虑材料的选择是否符合实验预定的目标要求就可以。除此之外，植物选材应该注意季节性、地理位置和生长环境等；选择动物材料时要注意年龄、性别、营养状况、遗传素质和生理状态等，如动物在饥饿时，脂类和糖类含量相对减少，有利于生物大分子的提取分离；选择微生物材料时要注意菌种的代数 and 培养基成分等之间的差异，如在微生物的对数期，酶和核酸的含量较高，可获得较高的产量。

材料选定后要尽可能保持新鲜，尽快加工处理。动物组织要先去除结缔组织、脂肪等部

分,绞碎后,在适当的溶剂中提取,如果所要成分在细胞内,就要先破碎细胞;植物要先去壳、除脂;微生物材料要及时将菌体与发酵液分开。应冰冻保存暂时不提取的生物材料,深度冷冻保存动物材料。

2. 细胞的破碎

对于细胞内或多细胞生物组织中的各种生物大分子的分离纯化,都需要事先将细胞和组织破碎,使生物大分子充分释放到溶液中,且不丧失生物活性。不同的生物体或同一生物体的不同部位的组织,其细胞破碎的难易不一,使用的方法也不相同。如动物脏器的细胞膜较脆弱,容易破碎;植物和微生物由于具有较坚固的细胞壁,要采取专门的细胞破碎方法。

(1) 机械法

①研磨:将剪碎的动物组织置于研钵或匀浆器中,加入少量石英砂研磨或匀浆,即可将动物细胞破碎。这种方法比较温和,适合实验室使用,工业生产中可用电磨研磨。细菌和植物组织细胞的破碎也可用此法。

②组织捣碎器:这是一种较剧烈的破碎细胞的方法,通常可用 $10\,000\sim 20\,000\text{ r/min}$ 的内刀式组织捣碎机(即高速分散器)将组织的细胞打碎,为了防止发热和升温过高,通常是转 $10\sim 20\text{ s}$,停 $10\sim 20\text{ s}$,可反复多次。

(2) 物理法

①反复冻融法:将待破碎的细胞冷至 $-20\sim -15^{\circ}\text{C}$,然后置于室温(或 40°C)迅速融化,如此反复冻融多次,由于细胞内形成冰粒使剩余胞液的盐浓度增高而引起细胞溶胀破碎。

②超声波处理法:此法是借助超声波的振动力破碎细胞壁和细胞器。破碎细菌和酵母菌的时间要长一些,处理的效果与样品浓度和使用频率有关。使用时注意降温,防止过热。

③压榨法:这是一种温和的破碎细胞的方法。在 $1\,000\times 10^5\sim 2\,000\times 10^5\text{ Pa}$ 的高压下使几十毫升的细胞悬液通过一个小孔突然释放至常压,细胞将彻底破碎。这种方法使用的仪器价格较高。

④冷热交替法:从细菌或病毒中提取蛋白质和核酸时可用此法。在 90°C 左右维持数分钟,立即放入冰浴中冷却,如此反复多次,绝大部分细胞可以被破碎。

(3) 化学与生物化学方法

①自溶法:将新鲜的生物材料置于一定的 pH 值和适当的温度下,细胞结构在自身所具有的各种水解酶(如蛋白酶和酯酶等)的作用下发生溶解,使细胞内含物释放出来,此法称为自溶法。使用时要注意,水解酶不仅可以使细胞壁和膜破坏,同时也可能会把某些要提取的有效成分分解了。

②溶胀法:细胞膜为天然的半透膜,在低渗溶液和低浓度的稀盐溶液中,由于渗透压差,溶剂分子大量进入细胞,将细胞膜胀破释放出细胞内含物。

③酶解法:利用各种水解酶,如溶菌酶、纤维素酶、蜗牛酶和酯酶等,于 37°C , $\text{pH}=8.0$ 条件下,处理 15 分钟,可以唯一地将细胞壁分解,释放出细胞内含物。此法适用于多种微生物,如从某些细菌细胞提取质粒 DNA 时,可采用溶菌酶破细胞壁,而在破酵母细胞时,常采用蜗牛酶。将酵母细胞悬于 0.1 mmol/L 柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液($\text{pH}=5.4$)中,加 1% 蜗牛酶,在 30°C 处理 30 分钟,即可使大部分细胞壁破裂,如同时加入 0.2% 巯基乙醇效果会更好。此法可以与研磨法联合使用。

④有机溶剂处理法:利用氯仿、甲苯、丙酮等脂溶性溶剂或 SDS(十二烷基硫酸钠)等表面