



面向 21 世纪 课 程 教 材  
Textbook Series for 21st Century

# 植物生理生化实验 原理和技术

(第 2 版)

王学奎 主编



高等教育出版社  
Higher Education Press



## 内容简介

本书全面地介绍了植物生理生化实验原理及其技术。全书分为两篇。第一篇为实验原理,着重介绍了植物生理生化实验技术的一般原理和离心技术、层析技术、电泳技术、红外线 CO<sub>2</sub> 气体分析技术、光学分析技术、气体测压技术、电化学分析技术、免疫化学技术以及 Southern blotting 和 PCR 反应原理的基本原理。第二篇为实验技术部分,共选编了 60 多个实验项目,内容涉及植物的细胞生理、水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、生长发育、激素生理、抗性生理、糖类、脂质、蛋白质、核酸、酶的分离、制备及检测技术等。附录部分包括各种常用数据表和常用试剂的配制方法等。

本书以高等农林院校植物生产类各专业的本科生为对象,也可供综合性大学、师范院校及其他从事植物生理生化实验技术相关工作的师生、科技人员参考。

## 图书在版编目(CIP)数据

植物生理生化实验原理和技术/王学奎主编.—2版.

北京:高等教育出版社,2006.5

ISBN 7-04-019216-0

I. 植... II. 王... III. ①植物生理学-实验-高等学校-教材 ②植物学:生物化学-实验-高等学校-教材 IV. Q94-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 031906 号

策划编辑 李光跃 责任编辑 薛 玥 封面设计 张 楠 版式设计 范晓红  
责任校对 王 超 责任印制 尤 静

出版发行 高等教育出版社  
社 址 北京市西城区德外大街 4 号  
邮政编码 100011  
总 机 010-58581000

经 销 蓝色畅想图书发行有限公司  
印 刷 化学工业出版社印刷厂

开 本 787×1092 1/16  
印 张 19.5  
字 数 470 000

购书热线 010-58581118  
免费咨询 800-810-0598  
网 址 <http://www.hep.edu.cn>  
<http://www.hep.com.cn>  
网上订购 <http://www.landaco.com>  
<http://www.landaco.com.cn>  
畅想教育 <http://www.widedu.com>

版 次 2000 年 7 月第 1 版  
2006 年 5 月第 2 版  
印 次 2006 年 5 月第 1 次印刷  
定 价 24.50 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

物料号 19216-00

## 本书编审人员

- 主 编** 王学奎(华中农业大学)
- 副主编** 章文华(南京农业大学)  
郝再彬(东北农业大学)  
厉秀茹(北京农学院)  
张玉琼(安徽农业大学)  
王双明(西南科技大学)
- 编 委** 时翠平(河北农业大学)  
张方东(华中农业大学)  
陈翠莲(华中农业大学)  
洪玉枝(华中农业大学)
- 主 审** 李合生(华中农业大学)  
夏 凯(南京农业大学)

## 编写人员及分工(按姓氏笔画排序):

王双明(实验原理:第六章;实验技术:实验 30、31、32、34、35、47)

王学奎(实验原理:第一章;实验技术:实验 1、2、3、8、9、10、14、19、20、36、37、39、45、46、49;附录:1~9)

厉秀茹(实验原理:第五章;实验技术:实验 15、16、17、18、30)

张方东(实验原理:第十章;实验技术:实验 40、43、44)

张玉琼(实验原理:第九章;实验技术:实验 50、52、53、54、55)

时翠平(实验原理:第八章;实验技术:实验 11、12、13、33)

陈翠莲(实验原理:第七章;实验技术:实验 4、5、6、7、20、21、25)

洪玉枝(实验原理:第四章;实验技术:实验 28、29、38、48)

郝再彬(实验原理:第三章;实验技术:实验 23、24、26、27、41、42、62、63)

章文华(实验原理:第二章;实验技术:实验 51、56、57、58、59、60、61)

# 第一版前言

在国家教育部主持的“面向 21 世纪高等农林教育本科生物系列课程教学内容和课程体系改革”的研究与实践中,针对传统的高等教育对学生实验课重视不够的状况,提出了加深学生对实验基本理论的理解、加强学生实验操作技能、培养严谨的科学态度、提高学生分析和解决问题能力的改革设想,把“植物生理学实验”和“生物化学实验”,分别从原来的理论课中单列出来,合并为一门独立的新课程——“植物生理生化实验”,单独记成绩,作为农学、园艺、农业资源等植物生产类各专业的必修专业基础课。

为适应“植物生理生化实验”课程的需要,编写了《植物生理生化实验原理和技术》。其内容分为两篇。第一篇实验理论部分,包括实验技术的一般原理、离心技术、层析技术、电泳技术、红外线 CO<sub>2</sub> 气体分析技术、光学分析技术、气体测压技术、电化学分析技术、免疫化学技术等实验原理;第二篇为实验技术部分,收入了常用实验方法五十余项。

本教材的特点如下:

1. 实验内容除了验证某些生理生化理论之外,重点放在学生以后在教学实习、毕业论文、工作岗位上可能会使用到的分析技术上,一些简单验证性的实验内容。

2. 实验技术是经典的或是经过多年科学实验证明方法是成熟的,结果是可信的,重演性好的。

3. 考虑到高等教育所应有的超前性,且目前高等农林院校内植物生理生化实验室的现有设备条件已逐步更新,因此,删掉一些陈旧的实验方法,增加了一些现代实验技术。

4. 有的实验项目同时列出了几种不同方法,便于不同学校针对不同对象选择使用。本教材也适用于单列的“植物生理学实验”和“生物化学实验”课。

本教材是在编者所在的各院校的许多教师多年的实验教学经验和编写出版了多本植物生理学和生物化学实验教材(如邹琦主编的《植物生理生化实验指导》、文树基主编的《基础生物化学实验指导》等)的基础上,修改、充实、提高的产物。本书由华中农业大学李合生主编,西北农业大学孙群、山东农业大学赵世杰、南京农业大学章文华任副主编,编委有华中农业大学陈翠莲、洪玉枝,南京农业大学夏凯,山东农业大学王玮,西北农业大学巩普遍。初稿完成后,经山东农业大学邹琦教授和西北农业大学文树基教授仔细审阅。随后,又根据审稿意见进行了修改和定稿。在此,我们对所有参与本教材编写、绘图、审阅的同志们,一并表示诚挚的谢意。

欢迎兄弟院校使用本教材。限于水平,谬误之处在所难免,敬请各位读者对本书的缺点和错误给予批评指正。

编者

1999 年 5 月

## 第二版前言

面向 21 世纪课程教材“植物生理生化实验原理和技术”作为“现代植物生理学”的配套教材,自 2000 年 7 月出版以来,已被国内十多所高等学校选定为本科植物生理、生化实验的教科书,华中农业大学植物生理生化教研室依托本教材构建了“植物生理学”教学网站(<http://nhjy.hzau.edu.cn/kech/zwsl/>),于 2004 年被评定为国家精品课程。国内兄弟院校以及读者在使用的过程中,对教材中存在的疏漏之处提出了许多宝贵意见,此外,近几年来国内各高等学校在加强素质教育的教学改革过程中,注重学生实验技能和创新能力的培养,同时加大了实验教学条件的投入,引进了很多新的、先进的仪器设备,为教学改革和整体提高实验教学水平创造了条件。为及时跟上科技快速发展的步伐和满足教学要求,此次重新组建了“植物生理生化实验原理和技术”修订、编写委员会,对原教材的内容进行一次较大的修订和补充。在本教材再版之际,由曾汉来主持申报的国家“十五”高等农林院校规划植物生理学立体教材在招标项目中标,“植物生理生化实验原理和技术”就作为该项目国家规划骨干教材之一。

本次修订的原则基本是保持原有的编写体系,即第一篇实验理论部分,对原来的有关实验技术的一般原理、离心技术、层析技术、电泳技术、红外线气体分析技术、光学分析技术、气体测压技术、电化学分析技术、免疫化学技术等章节内容进行了更新和适当增减,此次新增加了“Southern blotting 和 PCR 反应原理”一章;第二篇为实验技术部分,收录和新编了包括生物化学和植物生理学在内、涉及 60 多项常用的实验技术,同一测定内容的多项实验技术并列列出并进行了适当比较,便于使用者在面对复杂的实验材料时选用合适的实验方法。此外,在此次修订中新增了综合性实验内容,便于实验设施较好的院校在加强学生综合实验技能培养的教学过程中参考使用。

在此次修订过程中,各兄弟院校和读者都提出了宝贵意见和建议,这为本书的修订提供了极大的帮助,在此一并表示衷心的感谢。修订后的教材除能满足高等院校“基础生物化学”和“植物生理学”的实验教学需要外,同时亦可供有关教师和科研工作者参考、使用。

本书由华中农业大学王学奎主编,南京农业大学章文华、东北农业大学郝再彬、北京农学院厉秀茹、安徽农业大学张玉琼、西南科技大学王双明任副主编,河北农业大学时翠平、华中农业大学张方东、陈翠莲、洪玉枝任编委。华中农业大学曾汉来教授对本书进行了校对,修订稿完成后,经华中农业大学李合生教授和南京农业大学夏凯教授仔细审阅。在此,对所有参与本教材修订的人员一并表示诚挚的谢意。

限于编者的水平,书中错、漏之处在所难免,欢迎兄弟院校的师生们以及其他选用本教材的读者们对本书的错误和缺陷及时提出批评指正,以便于今后的修订。

编者

2005 年 11 月

## 郑重声明

高等教育出版社依法对本书享有专有出版权。任何未经许可的复制、销售行为均违反《中华人民共和国著作权法》，其行为人将承担相应的民事责任和行政责任，构成犯罪的，将被依法追究刑事责任。为了维护市场秩序，保护读者的合法权益，避免读者误用盗版书造成不良后果，我社将配合行政执法部门和司法机关对违法犯罪的单位和个人给予严厉打击。社会各界人士如发现上述侵权行为，希望及时举报，本社将奖励举报有功人员。

**反盗版举报电话：**(010) 58581897/58581896/58581879

**传 真：**(010) 82086060

**E - mail：**dd@hep.com.cn

**通信地址：**北京市西城区德外大街4号

高等教育出版社打击盗版办公室

**邮 编：**100011

**购书请拨打电话：**(010)58581118



# 目 录

## 第一篇 植物生理生化实验原理

第一章 植物生理生化实验技术的一般原理 .....	3	第五章 红外线 CO <sub>2</sub> 气体分析技术 .....	48
1.1 植物材料的种类 .....	3	5.1 红外线 CO <sub>2</sub> 气体分析仪的工作原理 .....	48
1.2 植物材料的采取 .....	3	5.2 红外线 CO <sub>2</sub> 气体分析仪的类型 .....	51
1.3 分析样品的前处理和保存 .....	4	5.3 红外线 CO <sub>2</sub> 气体分析技术的应用 .....	56
1.4 待测组分的提取、分离和纯化技术 .....	5	第六章 光学分析技术 .....	59
1.5 样品中待测组分的测定 .....	8	6.1 紫外光-可见光分光光度法 .....	59
1.6 实验结果的数据处理与分析 .....	8	6.2 原子吸收分光光度法 .....	70
第二章 离心技术 .....	11	6.3 火焰分光光度法 .....	74
2.1 基本原理 .....	11	6.4 荧光分光光度法 .....	76
2.2 离心机的类型及主要构造 .....	13	6.5 旋光分析法 .....	80
2.3 常用离心技术 .....	14	第七章 气体测压技术 .....	83
2.4 分析性超速离心技术的应用 .....	16	7.1 气体测压技术的类型及基本原理 .....	83
第三章 层析技术 .....	18	7.2 气体测压技术的应用 .....	85
3.1 层析原理 .....	18	第八章 电化学分析技术 .....	89
3.2 分配层析 .....	20	8.1 电化学分析技术的类型及基本原理 .....	89
3.3 吸附层析 .....	21	8.2 电化学分析技术的应用 .....	91
3.4 凝胶层析 .....	23	8.3 DDS-12A 型数字式电导率仪的基本原理及使用方法 .....	91
3.5 离子交换层析 .....	24	第九章 免疫化学技术——酶联免疫吸附测定(ELISA) .....	93
3.6 亲和层析 .....	25	9.1 ELISA 的原理 .....	93
3.7 气相色谱 .....	26	9.2 设计和合成特定的免疫原 .....	94
3.8 高压液相色谱 .....	28	9.3 抗体的制备 .....	94
3.9 毛细管电泳色谱 .....	29	9.4 标记抗原的制备 .....	95
3.10 层析技术的应用实例 .....	29	9.5 ELISA 测定程序的设计 .....	95
第四章 电泳技术 .....	32		
4.1 电泳基本原理 .....	32		
4.2 影响迁移率的主要因素 .....	33		
4.3 凝胶电泳 .....	34		
4.4 电泳的应用 .....	46		

9.6 总结 .....	96	10.1 Southern 杂交 .....	97
第十章 Southern blotting 和 PCR 反应		10.2 PCR 反应 .....	100
原理与技术 .....	97		

## 第二篇 植物生理生化实验技术

实验 1 植物组织中自由水和束缚水含量的测定 .....	105	实验 16 红外线 CO <sub>2</sub> 气体分析仪法测定植物光合速率与呼吸速率 .....	144
实验 2 植物组织水势的测定 .....	109	I 密闭系统斜率法 .....	144
I 小液流法 .....	109	II 密闭系统落差法 .....	148
II 折光仪法 .....	110	实验 17 TPS-1 便携式光合作用系统测定光合速率、呼吸速率和蒸腾速率 .....	150
III 压力室法 .....	110	实验 18 氧电极法测定光合速率和呼吸速率 .....	153
实验 3 植物细胞渗透势的测定(质壁分离法) .....	113	实验 19 叶绿体光诱导荧光强度的测定 .....	157
实验 4 钾离子对气孔开度的影响 .....	115	实验 20 叶绿体中甘油醛-3-磷酸脱氢酶活性的测定 .....	159
实验 5 植物伤流液中糖和氨基酸的鉴定 .....	116	实验 21 微量定容测压法测定种子的呼吸速率 .....	162
实验 6 根系活力的测定(TTC 法) .....	118	实验 22 小篮子法(广口瓶法)测定植物的呼吸速率 .....	165
实验 7 植物组织中金属元素的测定(原子吸收分光光度法) .....	120	实验 23 愈创木酚法测定过氧化物酶活性 .....	167
实验 8 植物体内硝态氮含量的测定 .....	122	实验 24 过氧化氢酶活性测定 .....	169
实验 9 植物体内硝酸还原酶活力的测定 .....	124	I 紫外吸收法 .....	169
I 离体法 .....	124	II 高锰酸钾滴定法 .....	170
II 活体法 .....	126	实验 25 氮蓝四唑(NBT)法测定超氧化物歧化酶活力 .....	172
实验 10 用真空渗入法测定环境因子对光合作用的影响 .....	128	实验 26 淀粉酶活性的测定 .....	174
实验 11 叶绿体色素的提取、分离和理化性质 .....	130	实验 27 脲酶 K <sub>m</sub> 值的测定 .....	177
I 提取与分离 .....	130	实验 28 植物过氧化物酶同工酶测定(圆盘式凝胶电泳法) .....	180
II 理化性质 .....	131	实验 29 蛋白质相对分子质量的测定(SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法) .....	183
实验 12 叶绿素含量的测定 .....	134	实验 30 植物组织中蛋白质含量的	
实验 13 希尔反应的观察 .....	137		
实验 14 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶活性的测定 .....	138		
I 分光光度法 .....	138		
II 同位素法 .....	140		
实验 15 乙醇酸氧化酶活性的测定 .....	142		

测定 .....	186	实验 40 植物组织中 DNA 的提取与测定 .....	226
I 双缩脲法 .....	186	实验 41 DNA 的琼脂糖凝胶电泳 .....	229
II Folin-酚试剂法 .....	188	实验 42 RNA 的聚丙烯酰胺凝胶电泳 .....	231
III 考马斯亮蓝 G-250 法 (Bradford 法) .....	190	实验 43 PCR 反应 .....	233
IV 紫外吸收法 .....	192	实验 44 Southern blotting .....	235
实验 31 植物组织中总氮含量的测定——微量凯氏定氮法 .....	195	实验 45 植物组织 ATP 酶活性测定 .....	238
实验 32 植物组织中游离氨基酸总量的测定——茚三酮试剂显色法 .....	199	实验 46 种子粗脂肪含量的测定 .....	241
实验 33 植物组织中糖含量的测定 .....	202	实验 47 气相色谱法测定植物样品膜脂中脂肪酸的含量 .....	243
I 蒽酮比色法测定可溶性糖 .....	202	实验 48 植物种子中主要不饱和脂肪酸的分离(反相纸层析法) .....	245
II 3,5-二硝基水杨酸测定还原糖 .....	204	实验 49 油菜籽中硫代葡萄糖苷总量的测定 .....	247
III 苯酚法测定可溶性糖 .....	205	I 内源酶法 .....	247
IV 斐林试剂比色法测定还原糖 .....	207	II 葡萄糖试纸法(硫苷总量的快速测定) .....	248
实验 34 谷物淀粉含量的测定(旋光法) .....	209	实验 50 气相色谱法测定乙烯含量 .....	250
方法 I .....	209	实验 51 酶联免疫吸附检测法(ELISA)测定植物激素含量 .....	252
方法 II .....	211	实验 52 植物体内脱落酸、赤霉素的分离和测定 .....	255
实验 35 谷物种子蛋白质组分的分析 .....	213	实验 53 赤霉素对 $\alpha$ -淀粉酶的诱导形成 .....	258
实验 36 植物种子生命力的快速测定 .....	215	实验 54 植物激素对愈伤组织的形成和分化的影响 .....	260
I TTC 法 .....	215	实验 55 类似生长素对种子萌发的影响 .....	263
II 染料染色法 .....	216	实验 56 植物春化和光周期现象的观察 .....	265
III 碘化钾反应法 .....	216	I 植物春化现象的观察 .....	265
IV 荧光法 .....	217	II 植物光周期现象的观察 .....	266
实验 37 花粉活力的测定 .....	219	实验 57 抗坏血酸(维生素 C)的测定 .....	267
I 碘-碘化钾(I-KI)染色测定法 .....	219	I 滴定法 .....	267
II 过氧化物酶测定法 .....	219	II 比色法 .....	268
III 氯化三苯基四氮唑法(TTC 法) .....	220	实验 58 谷类作物种子中赖氨酸含量的测定 .....	267
实验 38 植物组织中纤维素含量的测定 .....	222		
实验 39 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定 .....	224		

测定 .....	271	实验 61 植物抗逆性的鉴定	
I 茚三酮显色法 .....	271	(电导仪法) .....	282
II 染料结合法(DBL) .....	273	实验 62 综合实验 1-大豆为材料 .....	284
实验 59 脯氨酸含量的测定 .....	278	实验 63 综合实验 2-甜叶菊叶片	
实验 60 植物组织中丙二醛含量的		为材料 .....	285
测定 .....	280		

## 附 录

附录 1 硫酸铵饱和度常用表 .....	286	附录 6 植物组织培养常用培养基 .....	293
附录 2 实验中常用酸碱的相对密度和		附录 7 常用计量单位 .....	294
浓度的关系 .....	288	附录 8 常见的植物生长调节物质及	
附录 3 常用固态酸、碱、盐的摩尔浓度		其主要性质 .....	296
配制参考表 .....	288	附录 9 植物激素与生长调节剂在	
附录 4 常用酸碱指示剂 .....	289	农业生产中的应用 .....	297
附录 5 常用缓冲溶液的配制 .....	289		
主要参考文献 .....	299		

# 第一篇

---

## 植物生理生化实验原理



# 第一章 植物生理生化实验技术的一般原理

## 1.1 植物材料的种类

植物生理生化实验(plant physiological biochemical experiment)使用材料非常广泛,根据来源可划分为天然的植物材料(如植物幼苗、根、茎、叶、花等器官或组织等)和人工培养、选育的植物材料(如杂交种、诱导突变种、植物组织培养突变型细胞、愈伤组织、大肠杆菌及酵母等)两大类;按其水分状况、生理状态可划分为新鲜植物材料(如苹果、梨、桃果肉、蔬菜叶片、绿豆、豌豆芽下胚轴、麦芽、谷芽、鳞茎及花椰菜等)和干材料(小麦面粉、玉米粉、大豆粉、根、茎、叶干粉及干酵母等)两大类,因实验目的和条件不同而加以选择。

## 1.2 植物材料的采取

植物材料生理生化分析的准确性,在很大程度上取决于植物材料的采取是否具有良好的代表性。为了保证植物材料的代表性,必须采用科学方法采取。从大田或实验地、实验器皿中采取的植物材料,称为“原始样品”。再按原始样品的种类(如植物的根、茎、叶、花、果实、种子等)分别选出“平均样品”。再根据分析的目的、要求和样品种类的特征,采用适当的方法,从“平均样品”中选出供分析用的“分析样品”。

### 1.2.1 原始样品的取样法

#### 1. 随机取样

在试验区(或大田)中选择有代表性的取样点,取样点的数目视田块的大小而定。选好点后,随机采取一定数量的样株,或在每一个取样点上按规定的面积从中采取样株。

#### 2. 对角线取样

在试验区(或大田)可按对角线选定5个取样点,然后在每个点上随机取一定数量的样株,或在每个取样点上按规定的面积从中采取样株。

### 1.2.2 平均样品的采取法

#### 1. 混合取样法

一般颗粒状(如种子等)或已碾磨成粉末状的样品可以采取混合取样法进行。具体的做法为:将供采取样品的材料铺在木板(或玻板、牛皮纸)上成为均匀的一层,按照对角线划分为4等份。取对角的两份为进一步取样的材料,而将其余的对角两份淘汰。再把已取中的两份样品充分混合后重复上述方法取样。反复操作,每次均淘汰50%的样品,直至所取样品达到所要求的数量为止。这种取样的方法称为“四分法”。

一般禾谷类、豆类及油料作物的种子均可采用这个方法采取平均样品。但应注意样品中不要混有未成熟的种子及其他杂物。

## 2. 按比例取样法

有些作物、果品等材料,在生长不均等的情况下,应将原始样品按不同类型的比例选取平均样品。例如,对甘薯、甜菜、马铃薯等块根、块茎材料选取平均样品时,应按大、中、小不同类型的样品的比例取样,然后再将每一单个样品纵切剖开,每个切取 1/4、1/8 或 1/16,混在一起组成平均样品。

在采取果实的平均样品时,如桃、梨、苹果、柑橘等果实,即使是从同一株果树上取样,也应考虑到果枝在树冠上的各个不同方位和部位以及果实体积的大、中、小和成熟度上的差异,按各相关的比例取样混合成平均样品。

### 1.2.3 取样注意事项

1. 取样的地点,一般在距田埂或地边一定距离的株进行取样,或在特定的取样区内取样。取样点的四周不应有缺株的现象。

2. 取样后,按分析的目的分成各部分(如根、茎、叶、果等),然后捆齐,并附上标签,装入纸袋。有些多汁果实取样时,应用锋利不锈钢刀子,并注意勿使果汁流失。

3. 对于多汁的瓜、果、蔬菜及幼嫩器官等样品,因含水分较多,容易变质或霉烂,可以在冰箱中冷藏,或进行灭菌处理或烘干以供分析之用。

4. 选取平均样品的数量应当不少于供分析用样品的两倍。

5. 为了动态地了解供试验用的植物在不同生育期的生理状况,常按植物不同的生育期采取样品进行分析。取样方法系在植物的不同生育时期先调查植株的生育状况并区分为若干类型,计算出各种类型株所占的百分比,再按此比例采取相应数目的样株作为平均样品。

## 1.3 分析样品的前处理和保存

### 1.3.1 种子样品的前处理和保存

一般种子(如禾谷类种子)的平均样品清除杂质后要进行磨碎,如条件许可最好用电动磨粉机,在磨碎样品前后都应当使磨粉机(或其他碾磨用具)的内部十分清洁,最初磨出的少量样品可以弃去不要,然后正式磨碎,使样品全部无损地通过 80~100 目筛孔的筛子,混合均匀作为分析样品贮存于具有磨口玻塞的广口瓶中,并随即贴上标签,注明样品的采取地点、试验处理、采样日期和采样人姓名等。长期保存的样品,在其贮存瓶上的标签还需要涂蜡。为了防止样品在贮存期间生虫,可在瓶中放置一点樟脑或对位二氯甲苯。

油料作物种子(如芝麻、亚麻、花生、蓖麻等)如需要测定其含油量时,不应当用磨粉机磨碎,否则样品中所含的油分吸附在磨粉机上将明显地影响分析的准确性。所以,应将少量油料种子样品放在研钵中磨碎或用切片机切成薄片作为分析样品。



### 1.3.2 茎叶样品的前处理和保存

采回新鲜样品(平均样品)后,先要经过净化、杀青、烘干(或风干)等一系列前处理(pretreatment)。

#### 1. 净化

新鲜样品从田间或试验地取回时,常沾有泥土等杂质,应用柔软湿布擦净,不应用水冲洗。

#### 2. 杀青

为了保持样品化学成分不发生转变和损耗,务必及时终止样品中酶的活动,通常将新鲜样品置于 105 °C 的烘箱中杀青 15~20 min。

#### 3. 烘干

样品经过杀青之后,应立即降低烘箱的温度,维持在 70~80 °C,直到样品烘干至恒重为止,一般的样品所需烘干的时间大约为一天。烘干时应注意温度不能过高,否则会把样品烤焦。

烘干(或风干)的茎叶样品,均要进行磨碎,磨茎叶用的粉碎机与磨种子的磨粉机的结构不同,不宜用磨种子的电磨来代替。待粉碎或磨碎的样品一定要充分干燥。磨碎后样品的保存方法均与上相同。

此外,在测定植物材料中酶的活性或某些成分(如维生素 C、DNA、RNA 等)的含量时,需要用新鲜样品。取样时注意保鲜,取样后应立即进行待测组分提取;也可采用液氮冷冻后保存于 -70 °C 冰箱中,或经冰冻真空干燥得到干燥的制品后存放在 0~4 °C 冰箱中。在鲜样已进行了匀浆,尚未完成提取、纯化,不能进行分析测定等特殊情况下,也可加入防腐剂(甲苯、苯甲酸),以液态保存在缓冲液中,置于 0~4 °C 冰箱即可。但保存时间不宜过长。

## 1.4 待测组分的提取、分离和纯化技术

### 1.4.1 待测组分的提取

上述烘干(风干)粉碎的、冰冻的或是新鲜的样品置于一定的溶剂(提取液)中,用电动捣碎机或研钵破碎后,样品混合液内含有各种待测组分。由于待测组分的结构、性质不同,与其他细胞组分的结合强度及在提取液中的溶解程度有差异,因而不同待测组分的提取液性质、成分和操作条件都有很大差别。

对于像色素、植物激素、氨基酸、可溶性糖及有机酸等小分子物质的提取,首要的是选择适当性质的溶剂。一般而言,极性的(亲水的)待测组分易溶于极性溶剂中,非极性的(亲脂的)待测组分易溶于非极性的有机溶剂中。提取液的 pH 影响待测组分的解离状态及其活性、稳定性,不可忽视。例如,叶绿素可以用 95% 乙醇或丙酮溶液提取,脱落酸、赤霉素可用丙酮、甲醇溶液提取,还原糖可用蒸馏水提取,维生素 C 可用 2% 草酸溶液提取。两性物质氨基酸在等电点以外的任何 pH 溶液中都是呈解离态,一般可用 10% 乙酸提取。为了使待测组分能更快,更充分地与其他细胞组分中分离出来,可以采用电炉加热、煮沸、恒温水浴保温、剧烈搅拌或振荡等。这样就可以使待测组分最大限度地存在于提取液中,再经过离心或过滤除去残渣,即可得到较理想的粗提液。