



生物化学实验

生物大分子制备技术

2.6 生物大分子样品的浓缩

北京大学 王青松 胡晓倩

生物大分子样品的浓缩

- 浓缩是从低浓度的溶液除去水或溶剂，变为高浓度溶液的过程。
- 生物大分子在制备过程中由于过柱纯化等操作使样品变得很稀，为了保存和鉴定等目的，往往需要进行浓缩。

浓缩的主要方法



透析浓缩法

- 透析的原理

利用小分子经过**半透膜扩散到水（或缓冲液）的原理**，将**小分子与生物大分子分开**的一种分离纯化技术，是生物化学实验室最简便最常用的分离纯化技术之一。

- 透析的主要应用

1. 透析脱盐：生物大分子制备过程中，透析法广泛用于除去样品中的盐离子、生物小分子杂质。
2. 透析浓缩：可用于生物大分子样品的浓缩。

透析法的实验操作

- **透析浓缩的操作**

将待浓缩的样品溶液放入透析袋，聚乙二醇或干的葡聚糖凝胶G-25覆盖在透析袋外周，袋内的水分很快被袋外的聚乙二醇或干的葡聚糖凝胶G-25所吸收，可浓缩样品几十倍到上百倍。

- **透析脱盐的操作**

将半透膜制成袋状，将生物大分子样品溶液放入透析袋里，然后将透析袋扎紧放入装有水或低渗缓冲液的烧杯中，样品溶液中的大分子保留在透析袋内，而盐和小分子物质会不断扩散到透析袋外，直到透析袋和烧杯中的缓冲液等渗。

超滤浓缩法

- **原理** 超滤是一种加压膜分离技术，即在一定的压力下，使小分子溶质和溶剂穿过一定孔径的特制薄膜，而使大分子溶质不能透过，留在膜的一边，从而使大分子物质得到浓缩。
- **优点** 超滤浓缩的优点是操作简便、成本低，不需添加任何化学试剂，尤其是超滤技术的实验条件温和，与蒸发、冰冻干燥相比没有相的变化，而且不引起温度、pH的变化，因而可以防止生物大分子的变性、失活和自溶。
- **应用** 在生物大分子的制备技术中，超滤主要用于生物大分子的脱盐、脱水和浓缩等。

冷冻干燥法

- 多数生物大分子分离纯化后的终产品是水溶液，由于生物大分子对热敏感、易吸湿、易氧化而引起变性失活，将生物大分子干燥为固体样品低温保存更稳定，保存时间更长。
- 冷冻干燥是先将生物大分子的水溶液冷冻，然后在低温和高真空条件下使冰升华，最后得到生物大分子的固体干粉的过程。
- 冷冻干燥是从水溶液得到固体样品的最好办法。
 - 1) 冰冻状态直接升华为气态，样品不气泡，不暴沸；
 - 2) 得到的冻干粉不粘壁，易取出；
 - 3) 冻干得到的粉末疏松，易溶解。