

# 酵母细胞固定化实验教学的优化

廖文群 李亚军 贵州师范大学生命科学学院(550001)  
李 静 贵州省贵阳市第六中学(550004)

酵母细胞固定化实验是人教版高中生物选修Ⅰ《生物技术实践》中的实验,对教师和学生来说都是一个全新的实验课题。实验操作并不复杂,但如何在课堂时间内取得实验的成功,却成了困扰教师的一大难题。因此,可对实验做一些改进以确保实验的成功。

## 一、实验中反映出的问题

1. 实验目的与原理模糊不清。在实验教学的过程中,发现有相当一部分学生理论知识掌握不牢,对该实验的目的及原理模糊不清。大部分学生不知道为什么要将酵母细胞进行固定,而是按照教师给出的实验步骤不加思考地操作,对于凝胶珠的形成原理、包埋的作用不清楚,学习能力较弱的学生更是不了解酵母菌利用葡萄糖发酵的产物是什么。

2. 凝胶珠形状各异。学生通过实验制备的凝胶珠形状千奇百怪,如蝌蚪状、线状、扁平状。

3. 实验心态不好。学生在实验过程中的不良心态是导致实验失败的原因之一,如心浮气躁、缺乏耐心。一些学生制备凝胶珠时一开始滴不出球形,很快就失去了信心,心浮气躁地完成后面的步骤,这样就往往导致最终的实验失败。

## 二、酵母细胞固定化实验的教学优化

1. 实验教学内容的完善。实验教学的目的不仅仅是让学生知道实验的操作步骤,而且是要让学生通过实验了解实验原理、目的,具备在实验中发现问题及解决问题的能力。所以,教师必须要做预设实验,在实验过程中预设学生可能出现的问题,并成功完成实验,作示范教学,让理论知识与实验紧密结合,用理论支持实验,用实验证明理论。例如,教师让学生观察放有凝胶珠发酵好的葡萄糖溶液时,可以让学生思考酵母菌利用葡萄糖发酵会产生什么,进而引导学生去闻味道和观察是否有气泡产生,让学生在观察实验现象的基础上总结出发酵产物。

2. 实验时间的合理安排。由于该实验涉及的时间较长,教师建议可与其他实验同时进行,例如,PCR仪(可从当地大学借用一台,做演示实验)的使用。对

于酵母细胞固定化实验,教师应在实验课前将酵母进行活化,并将称量好的海藻酸钠分装至每个小烧杯中,加入蒸馏水,而学生只要将其加热熔化,冷却后与活化酵母液混合即可制作凝胶珠,在浸泡凝胶珠30 min的时间内,教师可以组织学生进行PCR仪的使用实验。这样既可以有效利用时间,又能达到实验的目的。

## 三、酵母细胞固定化实验的优化

1. 材料、试剂及设备的选用。海藻酸钠的浓度是该实验成败的关键因素,因此,在选择海藻酸钠时一定要注意不同厂家海藻酸钠的熔化条件,以保证实验的成功。另外,高活性干酵母的选择也值得注意,因为不同的干酵母制作出来的凝胶珠的颜色也会不一样。如用安琪牌高活性干酵母粉制作出来的凝胶珠呈现乳白色。最后,尽量不要使用放置时间过长的氯化钙,因为放置时间过长的氯化钙容易吸水而变潮而形成块状,从而影响实验效果。教师建议选用放置时间较短的无水氯化钙。

电子天平的选择也会影响实验效果。由于该实验对药品用量要求较精确,因此,应选择0.01的电子天平,这样就可以精确地称量海藻酸钠和氯化钙,以确保实验的成功。

2. 酵母细胞的活化。对于酵母细胞的活化时间,教材上规定是1 h。为了节约时间,也可以将安琪牌高活性干酵母在35~40℃温水中,活化15~30 min。但活化时间不宜超长(超过1 h),因为时间过长不仅会导致酵母细胞的衰老,还会产生大量的气泡,导致制作出的凝胶珠飘在液面上,不易沉底。另外,在活化酵母细胞时要用玻璃棒充分搅拌,使干酵母与水混合充分,避免出现酵母和蒸馏水分层的现象。

3. 海藻酸钠的熔化及冷却。教材上是直接采用酒精灯加热融化海藻酸钠的方法。但使用这样的方法进行熔化,操作起来较麻烦,也容易出现焦糊的现象,融化后易粘到玻璃棒和烧杯壁上,使溶液不容易定容至10 mL,而且溶解时间较长,存在安全隐患。因



此,可采用水浴加热的方法进行融化。即称取0.7 g海藻酸钠放入50 mL烧杯中,先加入10 mL蒸馏水并用玻璃棒充分搅拌,混合均匀,再加入8 mL蒸馏水搅拌,放于80 ℃~90 ℃水浴锅加以熔化3~5 min。这样既可以使海藻酸钠充分熔化,又可以节约时间,安全简便,溶化后不需要再对海藻酸钠定容,浓度也恰到好处,制备出来的凝胶珠效果较好。

融化好的海藻酸钠需要冷却至室温后才能加入酵母活化液。在冷却时很多学生不知道冷却到什么程度,有些学生完全冷却后再加入酵母活化液,这样做的效果并不是很理想。因为海藻酸钠溶液完成冷却后很容易结成块状,使得与酵母活化液混合不均匀,影响实验效果。因此,可准备一支温度计,将海藻酸钠冷却至室温后,加入酵母活化液,这样做既能使两者溶液混合均匀,又能保证不杀死酵母细胞,取得较好的实验效果。

4. 凝胶珠的制作。标准的凝胶珠是球形的,但很多时候做出来的都是成线形或蝌蚪状。其实制备出标准的凝胶珠并非难事,只要注意以下几点即可。

(1) 混合液浓度调配。如果海藻酸钠与酵母活化液的混合液浓度太高,凝胶珠就会形成蝌蚪状;浓度太稀,凝胶珠就会形成平面圆形而飘在液面上,而且包埋的酵母细胞数量也较少。因此,可以采用这样的方法来调配混合液:称取1 g安琪牌高活性酵母,加入10 mL蒸馏水,在35 ℃~40 ℃的温水中用玻璃棒搅拌活化15~30 min,获得酵母活化液。称取0.7 g海藻酸钠,加入10 mL蒸馏水,用玻璃棒搅拌混合均匀,再加入8 mL蒸馏水进行水浴,充分溶解,冷却至室温后与酵母活化液混合均匀。使用这种方案配置的混合液浓度适合,较容易制作出标准的凝胶珠。

(2) 注射孔与氯化钙液面距离的选择。凝胶珠的形状除了受混合液浓度的影响外,滴加的速度和高度也会影响其形状。在混合液滴加至CaCl<sub>2</sub>溶液的过程中,如果注射孔与液面的距离太长,则操作不方便,影响实验效果;如果距离太短,则容易出现蝌蚪状的凝胶珠。因此,适当增加注射孔与氯化钙液面的距离(20 cm左右为宜),凝胶珠就有足够的时间回缩成球形。

(3) 推注射器的速度与力度。滴加的速度会直接影响凝胶珠的形状。如果推注射器的力度过大,速度过快,制备的凝胶珠就会成线状;如果力度不够,速度过慢,则会导致制备凝胶珠的效率降低,制备的凝胶珠数量较少,影响实验进程。因此,要保持相对恒定的速度和力度推注射器,每次尽量保证一滴混合

液从注射器中滴出,当发现液滴马上脱离注射器时,让其自然落下,这样滴出来的凝胶珠就很容易形成球形,并很快会沉入烧杯底部。

(4) 注射器的选择。从制备出凝胶珠的形状及大小考虑,选择10 mL拔掉针头的塑料注射器效果较好。使用10 mL注射器容易操作,推出的凝胶珠大小也较均匀。

5. 发酵。凝胶珠制备好之后需检测,除了在实验室中检测其颜色、形状以及弹性外,最重要的还是要检测其是否成功地包埋了活的酵母细胞,这就需要将凝胶珠放入葡萄糖中进行发酵。发酵的时间一般是24 h,温度为25 ℃左右。由于实验设备和时间的限制,发酵这一环节无法在实验室完成,因此,教师可以选择在将理论课完成后的5月份来做实验,这个时候的室温能满足实验的要求,在无培养箱的条件下,学生在家里完成发酵这一步,并观察现象。教师还可引导学生设置不同温度条件,观察酵母菌发酵的情况,这样,可以更加直观地了解温度会影响酵母菌发酵。

实验室的温度会随着地区和季节的不同而变化,因此,教师要根据当地实际情况来合理安排实验的时间,从而使学生推测出酵母菌发酵的适合温度。有条件的学校最好还是放在恒温箱内,进行发酵。教师可设置几个温度梯度分别发酵,24 h后取出,可将其带入教室让学生观察。

#### ◆ 资讯平台 ◆

### 蚌埠市教育装备中心召开全市装备中心主任会议

本刊讯 2014年2月25日,安徽省蚌埠市教育装备中心召开了全市装备中心主任会议,参加会议的有部分县(区)分管装备的副局长和三县六区装备中心主任。

会议首先对2013年装备工作进行了总结,对一年来取得的成绩进行了通报,对工作优秀县(区)给予了表扬和肯定,同时也对各县(区)存在的不足进行了分析解读。会上传达了安徽省教育装备会议精神,明确了以省装备管理部门的工作要求和学校标准化建设为主线,以装备管理为重点,以教育装备的应用和装备队伍建设为重心,更新理念,开拓创新,锐意进取,完善提高全市教育装备工作的思路。

(安徽教育装备网 2014年3月3日)