

西北民族大学“十一五”规划教材

生物化学

实验教程

臧荣鑫 杨具田 主编



兰州大学出版社

学“十一五”规划教材

生物化学

实验教程

主编 臧荣鑫 杨具田

副主编 卢建雄 陈丽华

编者(按姓氏音序排列)

陈丽华 曹忻 蔡勇 李春鸣

刘根娣 刘翊中 卢建雄 潘和平

杨具田 臧荣鑫

(实验本已加封面页,页码,附录等件附)

图书在版编目(CIP)数据

生物化学实验教程/臧荣鑫,杨具田主编. —兰州:
兰州大学出版社,2010.4

ISBN 978-7-311-03553-2

I. ①生… II. ①臧… ②杨… III. ①生物化学—实
验—教材 IV. ①Q5-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 069122 号

策划编辑 梁建萍
责任编辑 龚 静
封面设计 刘 杰

书 名 生物化学实验教程
主 编 臧荣鑫 杨具田
出版发行 兰州大学出版社 (地址:兰州市天水南路 222 号 730000)
电 话 0931-8912613(总编办公室) 0931-8617156(营销中心)
0931-8914298(读者服务部)
网 址 <http://www.onbook.com.cn>
电子信箱 press@onbook.com.cn
印 刷 白银兴银贵印务有限公司
开 本 787×1092 1/16
印 张 20.5
字 数 560 千
版 次 2010 年 4 月第 1 版
印 次 2010 年 4 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978-7-311-03553-2
定 价 35.00 元

(图书若有破损、缺页、掉页可随时与本社联系)

前 言

生物化学是一门实验性很强的学科,生物化学实验是生物化学教学的重要组成部分,与理论教学既相互联系,又相对独立,有其自身的规律、特点和要求。多年的教学经验表明,要使实验内容难易适度,保证实验顺利流畅地进行,就需要一本适用、好用的实验教材。

《生物化学实验教程》是在西北民族大学生命科学与工程学院的《生物化学实验指导》讲义基础上,吸取多年的教学、科研的经验和广大学生的建议编写而成,并补充了许多新的实验内容,便于学生学习。同时整理了有关“常用仪器使用”、“缓冲溶液的配制”、“层析法常用数据”、“常用试剂的配制”、“生物化学与分子生物学专业常用数据库”等内容。本书要求学生学会蛋白类、糖类、脂类、核酸、氨基酸、酶和维生素的分离提取,定量测定或定性鉴定等方法;掌握电泳、层析、离心和光谱法检测等技术,从而培养学生综合性实践创新的能力。

全书共包括四部分内容。第一部分:生物化学实验基础知识和基本技能,通过该内容的学习,要求学生掌握生物化学实验基本技能和常用仪器的操作,为顺利完成生物化学实验教学任务奠定基础。第二部分:生物化学实验技术基本原理,主要介绍光谱法检测、电泳、层析、离心、超滤技术等生物化学实验的基本理论和原理,通过系统学习,使学生正确地理解实验原理,掌握生物化学实验的基本理论,做到在实验过程中使学生的专业理论知识真正得到提高。第三部分:实验部分,分为基础实验、技术实验和综合实验三部分。基础实验精心选取了生物化学实验中成熟的糖类、脂类、氨基酸和蛋白质类、核酸类、酶类、维生素类和代谢类经典的二十八个基础实验,在内容编排上力求做到广泛而全面,可作为本科学生生物化学实验教学的必选内容;技术实验部分,本着提高技能、突出专业、实用性强的目的,编写了十四个技能型实验,涵盖了电泳、层析、物质的提取、酶活性的测定等生物化学技能应用方面的实验项目,属技能提高型实验项目,适用于生物工程、生物技术等专业学生教学使用;综合实验部分编写了六个综合实验,重点在于创新能力的培养,既有前沿性,又有实用性,适用于高年级本科学生和相关专业硕士研究生使用。第四部分:附录,较全面地编排了生物化学实验中常用的数据,可作为生物化学实验手册使用。

本书可作为高等院校动物科学、动物医学、食品科学、生物工程、生物技术、生物制药等

专业的教材,也可供相关专业的学生、教师和科技工作者参考。

本书的编写得到了西北民族大学教务处领导、生命科学与工程学院领导、实验中心领导,以及西北民族大学医学院张晓苏老师,生命科学与工程学院马省强老师,化工学院王喆老师的大力支持和帮助;另外还有2007级研究生徐宏伟、2006级生物工程专业张远兴等同学的积极参与,可以说这本书是全体编写人员集体劳动和智慧的结晶,谨在此对他们表示诚挚的谢意!

由于编者水平有限,书中难免存在纰漏或错误之处,敬请读者不吝指正。

编 者

2010年3月

目 录

第一篇 生物化学实验基本技能和基础知识

第一章 生物化学实验基本技能 / 002

第一节 生物化学实验须知 / 002

第二节 生物化学实验基本操作 / 007

第三节 溶液的配制 / 024

第四节 实验误差与数据处理 / 033

第五节 实验样品的制备 / 038

第二章 主要生物物质分析 / 040

第一节 碳水化合物分析 / 040

第二节 核酸分析 / 043

第三节 蛋白质分析 / 045

第二篇 生物化学实验技术基本原理

第一章 紫外-可见吸收光谱分析 / 051

第一节 光谱分析概述 / 051

第二节 紫外-可见吸收光谱分析 / 056

第二章 层析技术基本原理 / 065

第一节 层析技术分类 / 065

第二节 吸附层析 / 067

第三节 分配层析 / 074

第四节 凝胶层析 / 078

第五节 离子交换层析 / 081

第六节 亲和层析 / 086

第七节 薄层层析 / 087

第三章 电泳技术基本原理 / 090

第一节 电泳技术概述 / 090

第二节 醋酸纤维素薄膜电泳 / 092

- 第三节 琼脂糖凝胶电泳 / 093
- 第四节 聚丙烯酰胺凝胶电泳 / 095
- 第四章 离心技术 / 105
 - 第一节 离心技术基本原理 / 105
 - 第二节 离心机的主要构造和类型 / 106
 - 第三节 制备性超速离心的分离方法 / 109
 - 第四节 离心机操作的注意事项 / 110
- 第五章 膜处理技术基本原理 / 112
 - 第一节 过滤技术 / 112
 - 第二节 膜分离技术 / 113
 - 第三节 超滤技术 / 114
- 第六章 生物大分子的制备 / 119
 - 第一节 生物化学实验常用的生物材料 / 119
 - 第二节 生物大分子的制备 / 120

第三篇 实验部分

- 第一章 基础实验 / 135
 - 实验一 缓冲溶液的配制及 pH 值的测定 / 135
 - 实验二 分光光度计线性分辨范围的测定 / 138
 - 实验三 总糖和还原糖的测定——3,5-二硝基水杨酸法 / 140
 - 实验四 血糖含量的测定——邻甲苯胺法 / 143
 - 实验五 肝糖原的提取与鉴定 / 145
 - 实验六 饱食、饥饿及激素对肝糖原含量的影响 / 147
 - 实验七 直链淀粉和支链淀粉的测定——双波长法 / 149
 - 实验八 粗纤维的测定——酸性洗涤剂法 / 151
 - 实验九 黏多糖-肝素钠效价的测定 / 153
 - 实验十 可溶性糖的硅胶 G 薄层层析 / 154
 - 实验十一 粗脂肪含量的测定——索氏抽提法 / 157
 - 实验十二 血清脂类的快速测定 / 159
 - 实验十三 蛋白质等电点的测定 / 163
 - 实验十四 蛋白质的沉淀及颜色反应 / 164
 - 实验十五 微量凯氏定氮法测定蛋白质含量 / 170
 - 实验十六 双缩脲法测定蛋白质含量 / 173
 - 实验十七 Folin-酚法测定蛋白质含量——Lowry 法 / 175
 - 实验十八 紫外分光光度法测定蛋白质含量 / 177
 - 实验十九 考马斯亮蓝 G-250 法测定蛋白质含量——Bradford 法 / 178
 - 实验二十 BCA 法测定蛋白质含量 / 180
 - 实验二十一 RNA 与 DNA 的测定 / 183

实验二十二	紫外吸收法测定 DNA 的含量 / 185
实验二十三	维生素 A 的提取及含量测定 / 188
实验二十四	维生素 C 含量的定量测定——2,6-二氯酚靛酚滴定法 / 190
实验二十五	酶的特性 / 192
实验二十六	蛋白质的制备——牛奶中提取酪蛋白 / 196
实验二十七	氨基酸的分离鉴定——纸层析法 / 197
实验二十八	氨基氮含量的测定——甲醛滴定法 / 199
第二章 技术性实验 / 202	
实验二十九	蛋白质的盐析及透析 / 202
实验三十	血清白蛋白的分离纯化 / 204
实验三十一	溶菌酶结晶的制备及活力测定 / 207
实验三十二	离子交换层析法分离氨基酸 / 210
实验三十三	醋酸纤维薄膜电泳分离血清蛋白 / 212
实验三十四	聚丙烯酰胺凝胶电泳分离血清蛋白 / 215
实验三十五	SDS-PAGE 电泳测定蛋白质相对分子质量 / 218
实验三十六	测定蛋白质的相对分子质量——葡聚糖凝胶过滤法 / 221
实验三十七	等电聚焦电泳法测定蛋白质的等电点 / 225
实验三十八	脲酶的动力学研究 / 229
实验三十九	酵母蔗糖酶的纯化及性质研究 / 234
实验四十	蛋白质印迹(Western Blotting) / 240
实验四十一	核酸的琼脂糖凝胶电泳 / 246
实验四十二	用正交法测定几种因素对酶活性的影响 / 250
第三章 综合实验 / 254	
实验四十三	纤维素酶活力的测定 / 254
实验四十四	卵磷脂的提取、纯化和鉴定 / 259
实验四十五	胰蛋白酶的提取、纯化及活力测定 / 262
实验四十六	基因组 DNA 的提取 / 267
实验四十七	血液中乳酸脱氢酶聚丙烯酰胺凝胶电泳分析—— 垂直平板不连续电泳法 / 270
实验四十八	蛋白质的表达、分离、纯化和鉴定 / 277

第四篇 附录

附录 A	生物化学实验常用词中英文对照 / 282
附录 B	常用元素的相对原子质量表 / 284
附录 C	洗涤液的种类和配制方法 / 285
附录 D	常用化学试剂 / 286
附录 E	硫酸铵饱和度常用表 / 289
附录 F	计算近似 <i>RCF</i> 的列线图 / 291

附录 G 常用缓冲溶液的配制 / 291

附录 H 一些常见蛋白质相对分子质量参考值 / 299

附录 I 一些常见蛋白质等电点参考值 / 300

附录 J 常用化学物质相对分子质量 / 301

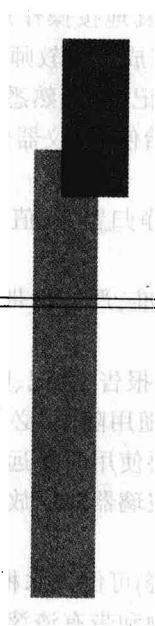
附录 K 层析法常用数据 / 303

附录 L 生物化学与分子生物学专业常用数据库简介 / 317

参考文献 / 319

第一篇

生物化学实验基本 技能和基础知识



第一章 生物化学实验基本技能

第一节 生物化学实验须知

一、生物化学实验的目的

- 1.通过实验让学生掌握基本的生物化学实验操作技能。
- 2.通过实验让学生加深对生物化学基础理论知识的理解。
- 3.培养学生观察、分析问题和解决问题的能力,以及求实创新的工作作风。

二、生物化学实验室的基本要求

- 1.每位同学必须穿工作服进入实验室,严格遵守实验课纪律,维护课堂秩序,不迟到,不早退。
- 2.进入实验室后,要保持室内安静,不得大声谈笑,严禁用器械、动物及危险品开玩笑。
- 3.取用试剂时必须“盖随瓶走”,使用后立即盖好放回原处,切忌“张冠李戴”。
- 4.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。实验完成后经教师检查同意,方可离开。
- 5.严格按操作规程使用仪器,并执行使用登记;凡不熟悉操作方法的仪器,不得随意动用;对贵重仪器必须先熟知其使用方法,才能开始使用;仪器发生故障,应立即关闭电源,不得擅自拆修。
- 6.实验完毕,将使用过的有关仪器和器材洗净归置好,值日生负责整个实验室的清洁和整理,保持实验室整洁。
- 7.实验室内一切物品,未经本室负责教师批准,严禁携带到室外,借物品必须办理登记手续。
- 8.爱护公物,节约水、电、试剂,遵守损坏仪器报告、登记、赔偿制度。
- 9.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:火在人在,人走火灭。不能直接加热乙醇、丙酮、乙醚等易燃品,需要使用时要远离火源操作和放置。实验完毕,应立即关好煤气阀门和水龙头,拉下电闸,各种玻璃器皿应放置稳妥。离开实验室以前,应认真负责地进行检查,严防不安全事故的发生。
- 10.废弃液体(强酸、强碱溶液必须先用水稀释)可倒入水槽内,同时放水冲走或倒入指定废液收集缸内。废纸、火柴梗及其他固体废弃物和带有渣滓沉淀的废弃物都应倒入废品缸内,不能倒入水槽或到处乱扔。
- 11.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

些服务性的工作。

三、生物化学实验课的基本要求

1.课前要充分预习实验课的有关内容,明确实验目的、原理、操作步骤及注意事项等,并写出预习报告。

2.实验过程中不做与实验无关的事情,不妨碍他人实验。

3.加强实验基本技能的训练,如移液、混匀、过滤等步骤。

4.熟悉常用仪器的使用方法,如分光光度计、离心机、电泳仪等。

5.以实事求是的科学态度如实记录实验结果,仔细分析,作出客观结论。实验失败,须认真查找原因,不得任意涂改实验结果。

6.对实验内容和安排不合理的地方可提出改进意见,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,包括实验中遇到的问题和思考题的探讨以及对实验的改进意见等。

7.及时写好实验报告并按时上交。

四、实验室安全

生物化学实验室是进行教学和科研的场所,稍有不慎,电、水、火、毒、伤等事故均可能发生,危及人体健康乃至生命,造成国家财产的重大损失。教师和实验室管理人员应当经常对学生进行实验室安全观念的教育,防患于未然。学生应该熟悉实验室安全及防护知识,万一发生事故,应及时报告老师并采取适当的急救措施。

(一)实验室安全原则

1.安全用电,慎之又慎

(1)实验室管理人员必须经常检查电源线路及插座,发现电线绝缘胶皮老化或插座破裂等隐患要及时维修更换。

(2)不得超负荷使用电器设备。保险丝熔断后应寻找原因,排除故障或确认无危险后用相同保险丝更换,不得用铁丝、铜丝和粗保险丝代替。

(3)使用电学仪器或设备时,要注意电压、电流是否符合设备标牌规定的要求。必要时应使用稳压器或调压器。

(4)严格按照电器使用规程操作,不能随意拆卸、玩弄电器。

(5)严防触电。电闸是控制局部电路、实施维修的必要装置,原则上谁拉闸(维修后)谁关闭。发现闸刀被拉下,在情况不明的情况下不能贸然合闸,以免他人触电。绝不可用湿手或当眼睛旁视时开关电闸和电器开关。检查电器设备是否漏电时应使用试电笔。凡是漏电的仪器一律不能使用。

2.水火无情,注重防范

(1)水是宝贵的资源,应注意节约用水,使用完毕应随手关闭水龙头。工作完毕离开实验室前应检查一下室内所有水龙头是否已经关严并养成习惯。水槽内不可堆积仪器或杂物,以防排水不利时溢出槽外,另外要随时保证地板上地漏畅通。

(2)实验室必须配备一定数量的消防器材,并按消防规定保管、检修和使用。所有在实验室工作的人员,都应接受消防器材使用培训。

(3)实验室发生火灾主要是不安全用电,不正确用火,不合理使用与处置可燃易爆试剂如乙醚、丙酮、乙醇、苯、金属钠、白磷等引起的。实验室内严禁吸烟。冰箱内不许存放可燃液体。实验室内如必须存放少量的即将使用的可燃物,应远离火源和电器开关。倾倒可燃性液体时,室内不得有明火或开启电器。低沸点的有机溶剂不准在火焰上直接加热,只能利用带回流冷凝管的装置在水浴上加热或蒸馏。

(4)如果不慎倒洒出相当数量的可燃液体,应立即切断室内所有的火源和电加热器的电源。关上室门,打开窗户,用毛巾或抹布擦拭洒出的液体,回收带塞的瓶内。

(5)可燃和易爆炸物质的残渣(如金属钠、白磷、火柴头等)不得倒入污物桶或水槽中,应收集在指定的容器内。可燃的有机溶剂废液也不能倒入水槽,须回收在指定带塞的瓶内。

3.严防中毒,注意安全

(1)毒物应按实验室规定办理审批手续后领取,并由专人妥善保管。生物危险品或放射性物质存放及操作的实验室,不同类型的实验化学药品存放处应有国际通用标志。

(2)使用毒性物质和致癌物必须根据试剂瓶上标签说明严格操作,安全称量、转移和保管。操作时应戴手套,必要时戴口罩或防毒面罩,并在通风橱中进行。沾过毒性、致癌物的容器应单独清洗、处理。

(3)水银温度计、气量计等重金属设备破损时,必须立即采取措施回收汞,并在污染处撒上一层硫磺粉以防止中毒。

4.规范操作,避免伤害

使用玻璃、金属器材或动力设备时,注意防止割伤、机械创伤。清除碎玻璃不可用抹布,以免划伤或扎伤手部。量取浓酸、浓碱强腐蚀性液体需格外小心。用吸量管量取液体试剂尤其是有毒物品时,必须用橡皮球,不得用口吸取。

5.预防生物危害

(1)生物材料如微生物、动物的组织、细胞培养液、血液和分泌物都可能存在细菌和病毒感染的潜伏性危险。处理各种生物材料必须谨慎、小心,做完实验后必须用肥皂、洗涤剂或消毒液充分洗净双手。

(2)使用微生物作为实验材料时,尤其要注意安全和清洁卫生。被污染的物品必须进行高压消毒或烧成灰烬。被污染的玻璃用具应在清洗和高压灭菌之前立即浸泡在适当的消毒液中。

(3)进行遗传重组的实验室更应根据有关规定加强制定生物伤害的防范措施。

6.警惕放射性伤害

放射性同位素的使用必须在有放射性标志的专用实验室中进行,切忌在实验室中操作或存放有放射性同位素的材料和器具。实验后科研人员应及时淋浴,定期进行体检。

7.妥善保管和收藏科研资料

科研资料是科研人员艰苦劳动的文字记录、视听记载、实物证据,应妥善保管,防止水淹、火烧、鼠咬、发霉或丢失。

(二)实验室灭火法

1.实验中一旦发生了火灾,切不可惊慌失措,应保持镇静。首先立即切断室内一切火源和电源,然后再根据具体情况积极正确地进行抢救和灭火。

2.较大的火灾事故应立即报警,必须清楚说明发生火灾的实验室的确切地点。

3.导线着火时应切断电源或使用四氯化碳灭火器,不能用水及二氧化碳灭火器,以免人员触电。

4.可燃性液体着火时,应立即转移着火区域内的一切可燃物质。若着火面积较小,可用石棉布、湿布或沙土覆盖,隔绝空气使之熄灭。但覆盖时切忌忙中生乱,不要碰破或打翻盛有可燃液体的器皿,避免火势蔓延。绝对不要用水灭火,否则会扩大燃烧面积。金属钠着火时可用砂子覆盖。

5.衣服着火切忌奔走,应卧地滚动灭火。

(三)实验室急救

实验中不慎受伤,应立即采取适当的急救措施。

1.有人触电时应立即关闭电源或用绝缘的木棍、竹竿等使受害者与电源脱离接触。急救者必须采取防止触电的安全措施,不可用手直接接触受害者。

2.受玻璃割伤及其他机械损伤时,首先检查伤口内有无玻璃或金属碎片,然后用硼酸水洗净,再涂擦碘酒,必要时用纱布包扎。若伤口较大或过深而且大量出血,应迅速在伤口上部和下部扎紧血管止血,立即到医院诊治。

3.烫伤。轻度烫伤一般可涂上苦味酸软膏,如果伤处红痛或红肿(一级灼伤),可擦医用橄榄油;若皮肤起泡(二级灼伤),不要弄破水泡,防止感染;若伤处皮肤呈棕色或黑色(三级灼伤),应用干燥无菌的消毒纱布轻轻包扎好,迅速送医院治疗。

4.化学试剂灼伤。强碱和碱金属引起的灼伤,先用大量自来水冲洗,再用5%硼酸溶液或2%乙酸溶液清洗。强酸、溴等引起的灼伤,立即用大量自来水冲洗,再用5%碳酸氢钠溶液或5%氢氧化铵溶液洗涤,如酚触及皮肤引起灼伤,可用酒精洗涤。

5.汞容易由呼吸道进入人体,也可以经皮肤直接吸收而引起积累性中毒。严重中毒的症状是口中有金属味,呼出气体也有气味;流唾液、打哈欠时疼痛,牙床及嘴唇上有硫化汞的黑色;淋巴腺及唾液腺肿大。若不慎中毒时,应送医院急救。急性中毒时,通常用炭粉或呕吐剂彻底洗胃,或者是食入蛋白(如1升牛奶加3个鸡蛋清),或用蓖麻油解毒并使之呕吐出来。

五、实验记录和实验报告

实验是在理论指导下的科学实践,目的在于经过实践掌握观察科学的基本方法和技能,培养学生科学思维、分析判断和解决实际问题的能力。同时也是培养学生探求真知、尊重科学事实和真理的学风,培养其科学态度的重要环节。

(一)实验记录

在实验课前应认真预习,初步了解实验目的、实验原理,对操作方法及步骤要做到心中有数。完整的实验记录包括实验日期,实验题目、目的、操作和结果。

实验中观察到的现象、结果和数据,及时地记录在记录本上。原始数据必须准确简练、详尽、清楚。记录时不能夹杂主观因素,在定量实验中观测的数据,如称量物的重量、滴定管的读数、光密度值等,都应设计一定的表格,依据仪器的精确度记录有效数字。

实验中使用仪器的类型、编号,试剂的规格,化学式、相对分子质量、准确的浓度等,都应记录清楚,以便在总结实验时进行核对,并作为查找成败原因的参考依据。

实验中配制溶液的过程,加样的体积,使用仪器的类型、编号以及试剂的规格与浓度都应该记录清楚,以便在总结实验时,查找实验失败的原因。

另外,实验时的环境条件(如温度、湿度、光度等)及反应时间也要认真记录,详细的记录才能作为今后实验的参考数据。

在实验中要对观察到的结果及数据及时记录。记录时要准确、客观,切忌夹杂主观因素,例如在做一些颜色反应实验时,要根据实验中出现的真实颜色记录,真实的实验记录才是后期结果分析的可靠依据,因此切勿根据课本中已经了解的可能出现的现象做虚假记录。

(二)实验报告

实验结束后,应及时整理和总结实验结果,写出实验报告。一份完整的实验报告应包括以下内容:

1.实验名称

标题应包括实验时间、实验地点、实验组号、实验者姓名、实验室条件(如温度、湿度)等。

2.实验原理

应简明扼要地阐述实验的原理和基本方法。

3.试剂配制及仪器

写清试剂来源及规格,试剂配制标明的浓度、配制方法、配制时间及配制人。对实验仪器要写明其生产厂家、型号、生产序号等常用指标。

4.操作方法

描述自己的操作过程及方法,不能完全照抄实验指导书,可简明扼要地把实验步骤一一写出,也可用工艺流程图或表格形式按照先后顺序表示。实验步骤一定要写得准确明白,以便他人能够重复验证。

5.实验结果

在生物化学实验中最常用的多以图表法来表示实验结果,这样可使实验结果清楚了。特别在生化实验中通过对标准样品的一系列分析测定,制作图表或绘制标准曲线等,可为以后待测样品的分析提供方便的条件。如通过实验值在图表中直接查出结果。现将常用方法介绍如下:

(1)列表法:通常将实验所得的各种数据列出表格。在表格的第一行和第一列标出数据的名称或单位,其余行列内只填数字。有的表格在中间或末端的一行内还要填上反应条件如“水浴中加热 15 min”等。

(2)作图法:实验所得的一系列数据之间的关系及变化情况,常常可用图线表示,这样可直观地分析实验数据。作图法比较适用于实验数据较多的情况,但不易清楚地表示数据间的情况。如生化实验中用比色法测定未知样品浓度时,常常采用绘制已知标准样品浓度的工作曲线,然后在同样工作条件下测定未知样品,用所得的数据从标准工作曲线中查出未知样品浓度的方法。作图时,首先要在坐标纸上标出坐标轴,标明轴的名称和单位,然后在横轴和纵轴上一一找出实验交叉点,用“*”或“*”标注上,再用直线或平滑线将各点连接起来。图线不一定经过所有实验数据点,但要求平滑线必须尽量通过或靠近大多数数据点。个别偏离过大的点应舍弃,或重复试验进行校正。此外在图上还应标明标题,以防单纯看图的人对此图不明白。

6.分析讨论

讨论部分是对整个实验过程与实验结果的总结和分析,对得到的正常结果和出现的异常现象以及教师提出的思考题进行探讨、研究,也可对实验设计、实验方法提出合理的改进

意见,以便教师今后能更好地安排实验。

因此,在实验报告中,目的和要求、原理以及操作方法部分的叙述应简单扼要,但是对于实验条件(试剂配制及仪器)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,如原始数据及其处理的表格、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。

第二节 生物化学实验基本操作

一、玻璃仪器的洗涤

生物化学实验所用玻璃仪器清洁与否,是实验能否获得准确结果的重要环节。如因为仪器不清洁或污染引起蛋白质变性或抑制酶的活性,从而造成错误的实验结果等。因此,实验之前,将玻璃仪器清洗干净(以倒置时壁上不挂水珠为准),是非常重要的准备工作。在实验的过程中,每个人都要养成保持所用玻璃仪器清洁、放置整齐的良好习惯。其清洁方法如下:

(一)一般玻璃仪器

新购量器表面常附有游离的碱性物质及泥污,可先用洗衣粉洗刷再用自来水洗净,然后浸泡在 1%~2% 盐酸溶液中过夜(不少于 4 h),再进一步洗涤,最后再用蒸馏水刷洗 2~3 次,倒置于仪器架上晾干备用。

凡能用毛刷刷洗的仪器(如试管、烧杯、量筒和锥形瓶等)先用自来水冲去污物,浸于洗衣粉或肥皂水内用毛刷细心刷洗内、外壁(也可用毛刷抹肥皂或洗衣粉刷洗);再用自来水冲洗,察看器壁上是否沾有水珠,沾有小水珠表示未洗干净,应重复洗涤,直至不沾水珠为止。最后用蒸馏水少量冲洗 2~3 次,洗净后倒置干净处晾干或烘箱烘干备用。

(二)量度玻璃仪器

凡不能用毛刷刷洗的量器(如刻度吸管、滴定管和容量瓶等),应先用自来水冲洗、沥干,再用重铬酸钾清洁液浸泡 4~6 h(或过夜);从清洁液中取出并沥干后,用水充分冲洗干净,再用蒸馏水刷洗 2~3 次,倒置于量器架上晾干备用。

(三)比色皿

分光光度法中所用的比色皿是用光学玻璃或石英制成的,不能用毛刷刷洗,通常用盐酸-乙醇混合液、合成洗涤剂洗涤后,用自来水冲洗,再用蒸馏水冲洗 2~3 次。

(四)洗涤液

实验室中除用水、洗衣粉和肥皂外,还会使用一些化合物的溶液洗涤玻璃仪器。这些溶液称为洗涤液,其种类很多。现介绍如下几种:

1. 铬酸洗液(重铬酸钾-硫酸洗液,简称洗液)这是实验室中使用最广泛的一种洗涤液。配方很多,可根据情况选用。现列举两种配方:

(1)称取重铬酸钾 50 g,溶于 100 mL 水中,再慢慢边加边搅动地加入浓硫酸(工业用)400 mL,若中途温度过高,则暂停待稍冷后再加。冷却后即可使用。

(2)称取重铬酸钾 5 g,加水 5 mL,搅拌,使其溶解,慢慢加入浓硫酸(工业用)100 mL,等

冷却后即可使用。

铬酸洗液具有强烈的腐蚀性。皮肤、衣物等要避免与之接触。洗液应保存在密闭容器中,以防吸水。良好的洗液应呈褐红色,若溶液变成黑绿色表示已失效,无氧化能力,应更换。

2.10%~20%尿素溶液是蛋白质的良好溶剂,用以洗涤盛过血液等含蛋白质的器皿。

3.硝酸洗涤液。用水和浓硝酸按体积比 1:1 配成的硝酸溶液,可用以洗涤二氧化碳测定仪等。

二、玻璃仪器的干燥

(一)加热烘干

一般的玻璃仪器洗净后可以放在电热干燥箱(温度控制在 105℃左右)或红外干燥箱中烘干。玻璃仪器在进烘箱前应尽量将水倒干。

(二)吹干

带有刻度计量的玻璃仪器不能用加热烘干的方法干燥,可用电吹风或气流烘干器吹 1~2 min 冷风,待大部分水蒸发后吹入热风至干燥,然后再用冷风吹去残余的蒸汽。

(三)晾干

对于不急用的仪器,洗净后放在通风干燥处自然晾干。

三、溶液的混匀

生物化学实验常需将几种先后加入的试剂混匀,使其充分反应,因此“混匀”是生化实验中常用的基本操作技术。样品和试剂的混匀是保证化学反应充分进行的一种有效措施。

为使反应体系内各物质迅速地互相接触,必须借助于外加的机械作用。混匀时须防止容器内液体溅出或被污染,严禁用手指直接堵塞试管口或锥形瓶口振摇。溶液稀释时也必须混匀。混匀的方法通常有以下几种:

(一)搅动混匀法

使用玻璃棒搅匀,多用于溶解烧杯中的固体,如固体试剂的溶解和混匀。搅拌使用的玻璃棒必须两头都圆滑,棒的粗、细、长、短必须与容器的大小和所配制的溶液的多少呈适当的比例关系。搅拌时搅棒沿着器壁运动,以免搅入空气或使溶液溅出。倾入液体时必须沿着器壁慢慢倾入,以免产生大量气体,倾倒表面张力低的液体更要缓慢仔细。

(二)旋转混匀法

适用于锥形瓶、大试管内溶液的混匀。右手握住试管上端,五指握紧试管,利用腕力使试管向一个方向做圆周运动,使管内液体形成旋涡而混匀。

(三)指弹混匀法

适用于离心管或小试管内溶液的混匀。左手持试管上端,用右手指轻轻弹动试管下部,或用一只手的大拇指和食指持试管的上端,用其余三个手指弹动离心管,使管内的液体作旋涡运动。

(四)振荡混匀法

适用于振荡器内多个试管同时混匀。或者将试管置于试管架上,双手持管架轻轻振荡,达到混匀的目的。