



21世纪高等教育规划教材
生物学系列

生物化学实验

(第二版)

SHENGWU HUAXUE SHIYAN

■ 主编 何幼鸾 汤文浩

SHENGWUXUE



教育部直属师范大学
华中师范大学出版社

生物化学实验

(第二版)

主 编：何幼鸾 汤文浩
副主编：谢 芳 曾青兰 陈 莉
廖贵芹 彭 玲

编 者：(以姓氏笔画为序)

方中明	汤文浩	何幼鸾
张 婷	张军林	陈 莉
陈志强	高广斌	唐兴国
彭 玲	曾青兰	谢 芳
廖贵芹		

华中师范大学出版社

内 容 提 要

本书的编写以强化实验动手能力为目的,力求原理阐述简明扼要,方法叙述具体详尽,操作设计重复性好,灵敏度高。内容既涉及传统的滴定分析,也包括分光光度法、层析法和电泳分析等现代生物化学技术的应用。

本书可供生物工程、生物技术和制药工程以及相关专业的本、专科学生使用,也可供从事与生物科学有关的工作人员阅读与参考。

新出图证(鄂)字 10 号

图书在版编目(CIP)数据

生物化学实验(第二版)/何幼鸾 汤文浩 主编.

—武汉:华中师范大学出版社,2013.6

ISBN 978-7-5622-6131-5

I. ①生… II. ①何… ②汤… III. ①生物化学—实验—高等学校—教材
IV. ①Q5-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 121239 号

书 名:生物化学实验(第二版)

主 编:何幼鸾 汤文浩◎

选题策划:华中师范大学出版社第二编辑室 电话:027—67867362

出版发行:华中师范大学出版社

地 址:武汉市珞喻路 152 号 邮编:430079

销售电话:027—67863426 67863280

邮购电话:027—67861321 传真:027—67863291

网址:<http://www.ccnpublish.com> 电子信箱:hscbs@public.wh.hb.cn

责任编辑:张晶晶 责任校对:易 雯 封面设计:罗明波 封面制作:胡 灿

印 刷 者:武汉市新华印刷有限责任公司 督 印:章光琼

开本/规格:787mm×1092mm 1/16 印 张:10.75 字 数:248 千字

版次/印次:2013 年 6 月第 2 版 2013 年 6 月第 1 次印刷

印 数:1—3 000

定 价:20.00 元

敬告读者:欢迎举报盗版,请打举报电话 027—67861321。

本书如有印装质量问题,可向承印厂调换。



第二版前言

进入新世纪以来,生物化学作为生命科学最重要的基础学科之一,其研究领域发展迅速,生物化学的理论与方法也为研究生命科学以及其他分支学科所必不可少,工业、农业、医药、食品、能源、环境科学等越来越多的研究领域都以生物化学理论为依据,以其实验技术为手段,该课程的教学也越来越重视生物化学实验课的教学效果。为了培养基础扎实、知识面宽、适应性强、有创新意识和能力的高素质人才,我们集合了多所高校的资源,由长期从事生物化学实验教学的教师共同编写了本书。

此次修订再版,是基于多年的教学和探索经验的积累,为适应相关学科领域的发展形势,我们在生物化学实验教学中进行了大量的改革,因此在修订版中既体现生化基本原理、基础知识和基本技能的训练,同时在体现先进教学理念的前提下,融入科学性、启发性和先进性的新技术,顺应学科发展的需要。

本书主要分为四个部分,第一部分为生物化学实验的基本要求,包括实验记录及报告的规范、实验的准确性以及实验样品的准备。第二部分为生物化学基本实验技术,其中包括分光光度技术、层析技术、电泳技术、离心技术。每种技术下面精选了部分实验以作参考,使学生了解并初步掌握生物化学基本实验技术和实验技能。第三部分是生物化学实验,所选实验有定性、定量以及综合实验,通过系统的训练,进一步培养学生的逻辑思维、综合应用以及动手操作等能力,为专业课的学习打下基础。第四部分是附录,包括实验室安全知识、常用仪器的使用说明、常用生化试剂的配制方法、常用生化材料的性能参数等。最后为本书的参考文献。

本书由武汉生物工程学院、湖北生物科技职业学院、咸宁职业技术学院、江汉大学、武汉职业技术学院的教师主持编写,参加编写的有何幼鸾、谢芳、彭玲、廖贵芹、张军林、方中明、张婷、唐兴国、陈志强、高广斌、汤文浩、曾青兰、陈莉。另外,全书由何幼鸾统稿,廖贵芹组织协调编写工作并处理相关事宜,汤文浩审定书稿内容。

本实验指导主要是配合基础生物化学教材,供生物工程、生物技术和制药工程以及相关专业的学生使用。实验多以动物和植物材料为主要研究对象;以生物大分子——碳水化合物、核酸、蛋白质和酶等为主要研究内容。在实验内容编排上,既有定性的又有定量的;每一实验均含有实验目的、实验原理、实验试剂及配制、实验器材、实验操作、注意事项、思考题。

此次修订,删改、增加的内容比较多,涉及很多新知识、新方法,我们真诚希望广大读者在使用参考中指正错漏,提供宝贵的批评和建议,以臻完善。

编 者

2013年6月



第一版前言

21 世纪是生命科学的世纪,这已经成为全世界的共识。生物化学是生命科学中最重要的专业基础学科之一,作为一门研究生命活动基本规律的基础实验学科,经过几十年的发展,已经成为研究生命科学以及其他分支学科必不可少的方法与手段。其理论与方法,在工业、农业、医药、食品、能源、环境科学等越来越多的研究领域都得到广泛应用。具体到生物化学实验课的教学,它直接关系到学生的其他专业课程的学习,毕业后能否很快地适应岗位工作,或深造学习期间能否顺利地承担科学研究任务。如何提高学生的生物化学实验技能和素质,是摆在我们面前的重要任务。本教材就是为满足这一要求,组织多年从事生物化学实验教学的教师共同编写的。

全书分四个部分,第一部分为生物化学实验的基本要求,包括实验记录及报告的要求,实验的准确性以及实验样品的准备。

第二部分为生物化学基本实验技术,其中包括分光光度技术、层析技术、电泳技术、离心技术。每种技术下面都精选了部分实验用于说明这些技术的具体应用,使学生了解并初步掌握生物化学基本实验技术和实验技能。

第三部分是生物化学实验,所选实验有定性、定量以及综合实验,通过系统的训练,进一步培养学生的逻辑思维、综合应用以及动手操作等能力,为专业课的学习打下基础。

第四部分是附录,包括实验室安全知识、常用仪器的使用说明、常用生化试剂的配制方法、常用生化材料的性能参数等。

本书由武汉生物工程学院、湖北生物科技职业学院、咸宁职业技术学院、武汉职业技术学院等院校的教师主持编写。参加编写的有何幼鸾、谢芳、张婷、唐兴国、陈志强、高广斌、汤文浩、曾青兰、陈莉。另外,全书由何幼鸾统稿,谢芳组织协调编写工作并处理相关事宜,汤文浩审定了书稿内容。

本实验指导主要是配合基础生物化学教材,供生物工程、生物技术和制药工程以及相关专业的学生使用。实验多以动物和植物组织以及微生物为主要实验材料;以生物大分子——糖、核酸、蛋白质、酶和脂类等为主要研究对象。在实验内容编排上,既有定性实验,也有定量分析;每一实验均含有实验目的、实验原理、实验器材、实验试剂及配制、实验操作、注意事项、思考题。

由于我们的经验和水平有限,书中难免出现不妥甚至错漏之处,我们真诚希望广大读者在参考使用过程中不断向我们提供宝贵的批评和建议,以臻完善。

编 者

2006 年 8 月



目 录	
第一部分 生物化学实验的基本要求	1
一、实验的准确性	1
二、实验记录及报告	2
三、实验样品的制备	3
四、实验室规则	3
五、实验室安全及防护知识	4
六、常用仪器使用方法	6
第二部分 生物化学基本实验技术	13
第一节 分光光度技术	13
一、基本原理	13
二、测量方法	13
三、仪器介绍	14
实验一 3,5-二硝基水杨酸(DNS)法测定还原糖	19
实验二 双缩脲法测定蛋白质浓度	21
实验三 Folin-酚试剂法测定蛋白质浓度	23
实验四 考马斯亮蓝染色法测定蛋白质浓度	25
实验五 紫外分光光度法测定蛋白质浓度	27
第二节 层析技术	28
一、基本原理	28
二、操作方法	31
实验一 凝胶层析测定蛋白质的相对分子质量	34
实验二 氨基酸的分离鉴定——纸层析	36
实验三 离子交换层析分离混合氨基酸	38
实验四 糖的薄层层析	40
第三节 电泳技术	42
一、基本原理	42
二、几种常见的电泳方法	44
实验一 血清蛋白的醋酸纤维薄膜电泳	49
实验二 血清脂蛋白琼脂糖凝胶电泳	52
实验三 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定蛋白质的相对分子质量	54
实验四 等电聚焦电泳测定蛋白质等电点	57
第四节 离心技术	60
一、基本原理	60
二、离心机的主要构造和类型	62
三、制备性超速离心的分离方法	63
四、离心操作的注意事项	65



实验一 离心机的使用	67
实验二 植物基因组 DNA 的提取	68
第三部分 生物化学实验	70
实验一 柑橘皮果胶的提取及果冻的制备	70
实验二 糖的颜色反应	72
实验三 酸价的测定	74
实验四 碘值的测定	76
实验五 皂化价的测定	78
实验六 粗脂肪含量的测定——索氏抽提法	79
实验七 蛋白质及氨基酸的呈色反应	81
实验八 蛋白质的等电点测定和沉淀反应	88
实验九 总氮量的测定——凯氏(Kjeldahl)定氮法	92
实验十 从牛奶中提取酪蛋白	97
实验十一 血糖浓度的测定	99
实验十二 酵母 RNA 的分离及组分鉴定	102
实验十三 地衣酚显色法测定 RNA 含量	104
实验十四 质粒 DNA 的提取、酶切与鉴定	106
实验十五 二苯胺显色法测定 DNA 含量	110
实验十六 菜花(花椰菜)中核酸的分离	112
实验十七 核酸浓度测定——紫外线(UV)吸收法	113
实验十八 酶的特性	114
实验十九 根据底物浓度和酶反应速度之间的关系求米氏常数 K_m	118
实验二十 尿液淀粉酶活力测定(Winslow 法)	122
实验二十一 血清谷丙转氨酶(ALT)活性测定(改良 Mohun 法)	123
实验二十二 过氧化物酶的作用	126
实验二十三 脯氨酸含量的测定	127
实验二十四 大蒜细胞 SOD 的提取与分离	129
实验二十五 维生素 C 含量测定	131
实验二十六 甲醛滴定法测定氨基氮	135
实验二十七 卵磷脂的提取与鉴定	137
实验二十八 脂肪酸的 β -氧化	139
实验二十九 肌糖原的酵解作用	141
实验三十 PCR 扩增目的基因	144
第四部分 附录	149
附录一 试剂的分级、保存与配制	149
附录二 常用蛋白质等电点参考值	152
附录三 常用缓冲液的配制方法	153
附录四 硫酸铵饱和度的常用表	158
附录五 氨基酸的一些理化常数	160
附录六 常用酸碱和固态化合物的一些数据	162
主要参考文献	163



第一部分 生物化学实验的基本要求

一、实验的准确性

生物化学实验是以动、植物组织、细胞及微生物为对象,对生物体内存在的主要大分子物质,如糖、脂肪、蛋白质、核酸、酶等进行定性或定量的分析测定。定性分析是确定存在物质的种类,或粗略计算物质所占的比例;而定量分析则需要确定物质的精确含量。因此分析人员要根据实验要求对结果进行分析和总结,判断结果的准确性,认真查找出现误差的原因,并进一步研究减少误差的办法,以不断提高所得结果的准确度。

一般在实验测量过程中都会有误差产生,产生误差的原因很多,一般根据误差的性质和来源可把误差分为两类,即系统误差和偶然误差。但在掌握这些误差的可能来源的前提下,多数的误差是可以通过适当的处理来校正的。

(一) 系统误差

系统误差是指在测量过程中由某些经常发生的原因所造成的误差。它对分析结果的影响比较稳定,常在重复实验时重复出现,使测定结果系统偏高或偏低。

1. 系统误差的来源

(1) 方法误差:如用滤纸称量易潮解的药品;做生物实验特别是酶的实验时没有考虑温度的影响等。

(2) 仪器误差:如量取液体时,按烧杯的指示刻度取液体往往会使准确度降低,需要用量筒量取;在配制标准溶液时量筒同样不够精确,要选用等体积的容量瓶定容至刻度线;不同的天平其精度差别很大,如果需要称量 100 g 以上的样品,使用托盘天平即可,但如果需要称量 1 g 样品,则选用扭力天平比较方便,称量 10 mg 以内的样品则必须使用感量为万分之一的分析天平或电子天平。

(3) 试剂误差:如试剂不纯或蒸馏水不合格时,会引入微量元素或对测定有干扰的杂质,就会造成一定的误差。

(4) 操作误差:如在使用移液管量取液体时,由于每人的操作手法不同,可能会存在一定的操作误差。

2. 系统误差的校正

(1) 仪器校正:在实验前对使用的砝码、容量器皿或其他仪器进行校正,对 pH 计、电接点温度计等测量仪器进行标定,以减小误差。

(2) 空白试验:在任何测量实验中都应包括有对照的空白试验。用同体积的蒸馏水或样品中的缓冲液代替待测液体,并严格按照待测液和标准液那样的方法处理,即得空白溶液。在最后计算时,应从实验测得的结果中扣除从空白溶液中得到的数值,即可得到比较准确的结果。

(二) 偶然误差

由于难以觉察的原因或由于个人一时辨认差异,或是某些不易控制的外界因素而引



起的误差称为偶然误差。偶然误差看起来似乎没有规律性,但经过多次实验发现,正误差和负误差出现的几率相等;小误差出现的频率较高,大误差出现的频率较低。因此可以通过进行多次平行试验取其平均值来弥补偶然误差。

(三) 操作误差

操作不认真,观察不仔细,没有按操作规程操作,往往会引起操作错误。所以在实验中要培养严谨的科学实验作风,养成良好的实验习惯,减少失误的发生。

二、实验记录及报告

每次实验要做到课前认真预习,实验操作中仔细观察并如实记录实验现象与数据,课后及时完成实验报告。

(一) 课前预习

实验课前要将实验名称、目的和要求、实验内容与原理、操作方法和步骤等简明扼要地写在记录本上,做到心中有数。

(二) 实验记录

在实验过程中要培养严谨的科学作风,养成良好习惯。实验条件下观察到的现象应仔细地记录下来,实验中观测到的每个结果和数据都应及时如实地直接记在记录本上。记录时必须使用钢笔或圆珠笔,并做到原始记录准确、简练、详尽、清楚。如称量实验样品的重量、滴定管的读数、分光光度计的读数等,都应设计一定的表格以准确记下正确的读数,并根据仪器的精确度和实验要求准确记录有效数字。例如,吸光度的值为 0.050,不应写成 0.05。每一个结果至少要重复观测两次以上,当符合实验要求并确知仪器工作正常后再写在记录本上。另外,实验中使用仪器的类型、编号以及试剂的规格、化学式、相对分子质量、准确的浓度等都应记录清楚,以便总结实验完成报告时进行核对和作为查找成败原因的参考依据。如果发现记录的结果丢失或有可疑之处等,都必须重做实验。

(三) 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。按照实验内容可分为定性和定量两大类,规范的实验报告的内容包括:

实验序号 实验名称

1. 目的和要求
2. 内容与原理
3. 主要仪器及试剂配制
4. 操作方法与实验步骤
5. 结果与讨论

定性实验报告中的实验名称和目的要求必须高度概括针对该次实验课的全部内容和必须达到的目的要求。在完成实验报告时,可以按照实验内容分别写原理、操作方法、结果与讨论等。原理部分应简述基本原理。操作方法(或步骤)可用流程简图的方式或自行设计的表格来表示。结果与讨论包括实验结果及对观察现象的小结、对实验课中遇到的问题和思考题进行探讨以及对实验的改进意见等。

定量实验报告中,目的和要求、原理以及操作方法部分应简单扼要地叙述,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。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,如对实验的正常结果和异常现象以及思考题进行探讨,对于实验设计的认识、体会和建议,对实验课的改进意见等。

由于生物化学实验的对象是生命体或生物活性物质,在实验中很容易受外界环境条件的影响,而引起实验结果的差异。因此,在实验记录和书写实验报告时,需要实验者做到仔细、认真、实事求是,只有这样才能获得真实可靠的实验结果。

三、实验样品的制备

生物化学实验所用的材料通常由动物、植物和微生物提供,其中包括蛋白质、酶、核酸等高分子化合物。但由于得到的样品往往是多种物质的混合物,因此首先要对其进行处理。

(一) 动物肝脏

1. 冷冻

刚处死的动物的脏器要剥去脂肪和筋皮等结缔组织,若不马上进行抽提处理,应放置在一10℃冰箱短期保存或-70℃低温冰箱储存。

2. 脱脂

脱脂的方法有:人工剥去脂肪组织;浸泡在脂溶性溶剂中;采用快速加热快速冷却,使融化的油滴冷却凝成油块而被除去;还可利用索氏提取器使油脂和水溶液分离。

(二) 微生物

用培养一段时间后的微生物菌种,离心收集上清液,浓缩后即可制备胞外有效成分。将菌体破碎后亦可提取胞内有效成分。如培养液不立即使用,可放至4℃低温保存一周。

(三) 细胞

细胞是生物体的基本结构单位。通常人们提取的物质主要分布在细胞内,因此首先必须破碎细胞。破碎细胞的方法主要包括研磨法、组织捣碎机法、超声波法、冻融法、化学处理法、酶法等。

四、实验室规则

1. 实验课必须提前5分钟到实验室,不迟到,不早退。

2. 应自觉遵守课堂纪律,维护课堂秩序,保持室内安静,不得大声谈笑,不允许随便打电话。

3. 使用仪器、药品、试剂和各种物品必须注意节约,不要使用过量的药品和试剂。应特别注意保持药品和试剂的纯净,严防混杂污染。试剂用完后应及时归放到试剂架上,便于别人使用,试剂瓶塞不得混用。

4. 实验台、试剂药品架必须保持整洁,仪器药品摆放井然有序。实验完毕,需将药品、试剂排列整齐,仪器洗净倒置放好,实验台面抹拭干净,经教师验收仪器后,方可离开实验室。



5. 使用和洗涤仪器时,应小心谨慎,防止损坏仪器。使用精密仪器时,应严格遵守操作规程,发现故障应立即报告教师,不要自己动手检修。

6. 使用洗液时不得滴到桌面和地面上,将要洗涤的仪器放在搪瓷盆内进行洗涤。

7. 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。离开实验室以前,应认真负责地进行检查,严防安全事故的发生。

8. 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,课后写出实验报告。

9. 废弃液体(强酸、强碱溶液必须先用水稀释)可倒入废液桶内。废纸、火柴头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。

10. 仪器损坏时,应如实向教师报告,认真填写损坏仪器登记表。

11. 实验室内一切物品,未经本室负责教师批准,严禁携出室外,借物必须办理登记手续。

12. 每次实验课安排学生轮流值日。

五、实验室安全及防护知识

在生物化学实验室里,着火、爆炸、中毒、触电和割伤的危险时刻存在。因此每一位在生物化学实验室工作的人员都必须有高度的安全意识、严格的防范措施和丰富实用的防护救治知识,一旦发生意外能正确地进行处置,以防事故进一步扩大。

(一) 着火

生物化学实验室中经常使用大量的有机溶剂,如甲醇、乙醇、丙酮、氯仿等,而实验室又经常使用电炉等火源,因此极易发生着火事故,常用有机溶剂的易燃性见表 1-1。

表 1-1 常用有机溶剂的易燃性

名称	沸点/℃	闪点 ^① /℃	自燃点 ^② /℃
乙醚	34.5	-40	180
丙酮	56	-17	538
二硫化碳	46	-30	100
苯	80	-11	
乙醇(体积分数,95%)	78	12	400

① 闪点:液体表面的蒸气和空气的混合物在遇明火或火花时着火的最低温度;

② 自燃点:液体蒸气在空气中自燃时的温度。

由表 1-1 可以看出:乙醚、二硫化碳和苯的闪点都很低,因此不得存放于可能会产生电火花的普通冰箱内。低闪点液体的蒸气只需接触红热物体的表面便会着火,其中二硫化碳尤其危险。预防火灾必须严格遵守以下操作规程:

1. 严禁在开口容器和密闭体系中用明火加热有机溶剂,只能使用加热套或水浴加热。

2. 废有机溶剂不得倒入废物桶,只能倒入回收瓶,以后再集中处理。量少时用水稀



释后排入下水道。

3. 不得在烘箱内存放、干燥、烘焙有机物。

4. 在有明火的实验台面上不容许放置开口的有机溶剂或倾倒有机溶剂。

实验室中一旦发生火灾切不可惊慌失措,要保持镇静,根据具体情况正确进行灭火或立即报火警(火警电话 119):

1. 容器中的易燃物着火时,用灭火毯盖灭。因已确证石棉有致癌性,故改用玻璃纤维作灭火毯。

2. 乙醇、丙酮等可溶于水的有机溶剂着火时可以用水浇灭,汽油、乙醚、甲苯等有机溶剂着火时不能用水,只能用灭火毯和沙土盖灭。

3. 导线、电器和仪器着火时不能用水和二氧化碳灭火器灭火,应先切断电源,然后用 1211 灭火器(内装二氟一氯一溴甲烷)灭火。

4. 个人衣服着火时,切勿慌张奔跑,以免风助火势,应迅速脱掉着火衣物,用水龙头浇水灭火,若火势过大可就地卧倒打滚以压灭火焰。

(二) 爆炸

生物化学实验室防止爆炸事故是极其重要的,因为一旦发生爆炸,其毁坏力极大,后果将十分严重。生物化学实验室常用的易燃物蒸气在空气中的爆炸极限(体积分数,%)见表 1-2。

表 1-2 易燃物蒸气在空气中的爆炸极限

名称	爆炸极限/%	名称	爆炸极限/%
乙醇	1.9~36.5	丙酮	2.6~13
甲醇	6.7~36.5	乙醚	3.3~19
氢气	4.1~74.2	乙炔	3.0~82

加热时会发生爆炸的混合物有:有机化合物和氧化铜、浓硫酸和高锰酸钾、三氯甲烷和丙酮等。

常见的引起爆炸事故的原因有:① 随意混合化学药品,并使其受热、受摩擦和撞击;② 在密闭的体系中进行蒸馏、回流等加热操作;③ 在加压或减压实验中使用了不耐压的玻璃仪器,或反应过于激烈而失去控制;④ 易燃易爆气体大量溢入室内;⑤ 高压气瓶减压阀摔坏或失灵。

(三) 中毒

生物化学实验室中常见的有毒物有:氰化物、砷化物、乙腈、甲醇、氯化氢、汞及其化合物等。中毒的原因主要是不慎吸入、误食或由皮肤渗入。

中毒的预防措施有:① 保护好眼睛最重要,使用有毒或有刺激性气体时,必须戴防护眼镜,并应在通风橱内进行;② 取用毒品时必须戴橡皮手套;③ 严禁用嘴吸移液管,严禁在实验室内饮水、进食、吸烟,禁止赤膊和穿拖鞋;④ 不要用乙醇等有机溶剂擦洗溅洒在皮肤上的药品。

中毒急救的方法主要有:① 误食了酸和碱,不要催吐,可先立即大量饮水,误食碱者再喝些牛奶,误食酸者,饮水后再服 $Mg(OH)_2$ 乳剂,最后喝些牛奶;② 吸入了毒气,立即转移到室外,解开衣领,休克者应施以人工呼吸,但不要对口对法;③ 砷和汞中毒者应立即送医院急救。



(四) 外伤

1. 眼部外伤

眼内若溅入任何化学药品,应立即用大量水冲洗15 min,不可用稀酸或稀碱冲洗。若有玻璃碎片进入眼内则十分危险,必须十分小心谨慎,不可自取,不可转动眼球,可任其流泪,若碎片不出,则用纱布轻轻包住眼睛,急送医院处理。若有木屑、尘粒等异物进入,可由他人翻开眼睑,用消毒棉签轻轻取出或任其流泪,待异物排出后再滴几滴鱼肝油。

2. 皮肤灼伤

(1) 酸灼伤:先用大量水冲洗,再用稀 NaHCO_3 或稀氨水浸洗,最后再用水洗。

(2) 碱灼伤:先用大量水冲洗,再用1%(质量分数)硼酸或2%(体积分数)醋酸浸洗,最后再用水洗。

(3) 溴灼伤:这很危险,伤口不易愈合,一旦灼伤,立即用20%(质量分数)硫代硫酸钠冲洗,再用大量水冲洗,包上消毒纱布后就医。

3. 烫伤

使用火焰、蒸汽、红热的玻璃和金属时易发生烫伤,应立即用大量水冲洗和浸泡。若起水泡则不可挑破,包上纱布后就医。轻度烫伤可涂抹鱼肝油和烫伤膏等。

4. 割伤

这是生物化学实验室中常见的伤害,要特别注意预防,尤其是在向橡皮塞中插入温度计、玻璃管时一定要用水或甘油润滑,用布包住玻璃管轻轻旋入,切不可用力过猛,若发生严重割伤时要立即包扎止血,就医时务必检查伤部神经是否被切断。

实验室应准备一个完备的小药箱,专供急救时使用。药箱内应备有:医用酒精、红药水、紫药水、止血粉、创可贴、烫伤油膏(或万花油)、鱼肝油、1%(质量分数)硼酸溶液或2%(体积分数)醋酸溶液、1%(质量分数)碳酸氢钠溶液、20%(质量分数)硫代硫酸钠溶液、医用镊子和剪刀、纱布、药棉、棉签、绷带等。

(五) 触电

生物化学实验室中要使用大量的仪器、烘箱和电炉等,因此每位实验人员都必须熟练地安全用电,避免发生一切用电事故。当50 Hz的电流通过人体,电流强度为25 mA时呼吸会发生困难,电流强度达100 mA以上时会致死。

1. 防止触电:① 不能用湿手接触电器;② 电源裸露部分都应绝缘处理;③ 坏的接头、插头、插座和不良导线应及时更换;④ 先接好线路再插接电源,反之先关电源再拆线路;⑤ 仪器使用前先要检查外壳是否带电;⑥ 如有人触电先要切断电源再救人。

2. 防止电器着火:① 保险丝、电源线的截面积、插头和插座都要与使用的额定电流相匹配;② 三条相线要平均用电;③ 生锈的电器、接触不良的导线头要及时处理;④ 电炉、烘箱等电热设备不可过夜使用;⑤ 仪器长时间不用要拔下插头并及时拉闸;⑥ 电器电线着火时不可用泡沫灭火器灭火。

六、常用仪器使用方法

(一) 移液器的使用

1. 基本原理

移液器(又称移液枪、取液器)是一种取样量连续可调的精密取液仪器,其基本原理



是:活塞上下移动,移动的距离是由调节轮控制螺杆机构来实现的,推动按钮带动推杆使活塞向下移动,排出了活塞腔内的气体;松手后,活塞在复位弹簧的作用下恢复其原位,从而完成一次吸液过程。

2. 操作方法(参见图 1-1)

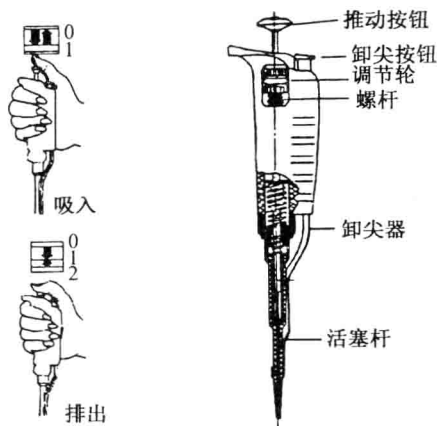


图 1-1 移液器的使用方法

- (1) 将一个吸液尖装在吸液杆上,推到套紧位置以保证气密性。
- (2) 转动调节轮,使读数显示为所要吸取液体的体积。
- (3) 轻轻按下推动按钮,将推动按钮由位置“0”推到位置“1”。
- (4) 手握移液管,将吸液尖垂直浸入待取液体中,浸入深度为 2 mm~4 mm。
- (5) 经 2 s~3 s 后缓慢松开推动按钮,即从推动按钮位置“1”复位到“0”位,完成吸液过程,停留 1 s~2 s 后将移液器移出液面。

(6) 用纱布或滤纸将粘在尖头外表面的液体擦掉。注意不要接触到吸液尖头部的孔表面。

(7) 将吸液尖头部放入被分配的容器中,使尖贴着容器的内壁,然后慢慢按下推动按钮至位置“1”,继续按至位置“2”,此时液体应全部排净。

(8) 将吸液尖口部沿着容器内壁滑动几次,然后移走移液器,松开推动按钮,按卸尖按钮推掉吸液尖,即完成一个完全的操作过程(5 000 μL 移液器不带卸尖器)。

3. 使用注意事项

- (1) 移液器属于精密仪器,取液前应先调好调节轮。
- (2) 排液时要按到二挡,即至图示位置“2”,以便排净液体。
- (3) 为获得较好的精度,在取液时应先用吸液的方法浸渍吸液尖,以消除误差。因为当所吸液体是血浆类、石油类及其他有机类液体时,吸液尖的内表面会留下一层薄膜。而这个值对同一个吸液尖是一个常数。如果将这个吸液尖再浸一次,则精度是可以保证的。

(4) 浓度大的液体消除误差的补偿量由实验确定,其取液量可通过增加或减少轮的读数加以补偿。

(5) 当移液管中有溶剂时,移液管不准放倒,防止残留液体倒流。

(6) 吸取少量液体时最好不要用大体积的移液器。



(7) 使用移液器之前应看清楚其刻度,不要调节超过其最大刻度。

(二) 吸管的使用

吸管是生物化学实验中最常用的取量容器。用吸管移取溶液时,一般用右手的中指和拇指拿住管颈刻度线上方,将管尖插入溶液内大约 1 cm 处,不得过深或过浅。左手拿洗耳球吸液体至所需刻度上,立即用右手食指按住管口,提升吸管离开液面,使吸管末端靠在盛溶液器皿的内壁上,略为放松食指,使液面平稳下降,直至溶液的弯月面与刻度线相切(注意,此时液面弯月面、刻度和视线应在一个水平面上),立即用右手食指压紧管口,取出吸管,插入接入容器中,吸管垂直,管尖靠在接收器内壁,与其约呈 15° 夹角,松开食指,使液体自然流出。标有“吹”字的刻度吸管以及奥氏吸管应吹出尖端残留液体,其他吸管则不吹出尖端残留液体。

量取液体时,应选取液量最接近的吸管。如欲取 1.5 mL 液体,应选用 2.0 mL 的刻度吸管,另外,在加同种试剂于不同试管中、且所取量不同时,应选择一支与最大取液量最接近的刻度吸管。例如,各试管中应加试剂量为 0.3 mL, 0.5 mL, 0.7 mL, 0.9 mL, 则应选用一支量程为 1.0 mL 的吸管。

(三) 过滤和离心

在生物化学实验中,过滤的作用有三方面:收集滤液、收集沉淀、洗涤沉淀。在生物化学实验中如收集滤液应选用干滤纸,不应先用水弄湿滤纸,因为湿滤纸会影响滤液的稀释比例。另外,收集沉淀时,如须用有机溶液洗涤沉淀(如用乙醇或乙醚洗涤 RNA 粗品),也不能先用水润湿滤纸,较粗的过滤可用脱脂棉或纱布代替滤纸。

欲使沉淀与母液分开,当沉淀有黏性,沉淀颗粒小,容易透过滤纸,沉淀量过多而疏松,或沉淀量很少,需要定量测定,过滤和离心都可以达到目的;母液黏稠,母液量很少,分离时应减少损失,沉淀和母液必须迅速分开,或为一般胶体溶液,则需选用离心法。离心机是利用离心力分离母液和沉淀的一种仪器,现以 TDL-50B 型为例介绍操作步骤,其结构简图如图 1-2a 所示。

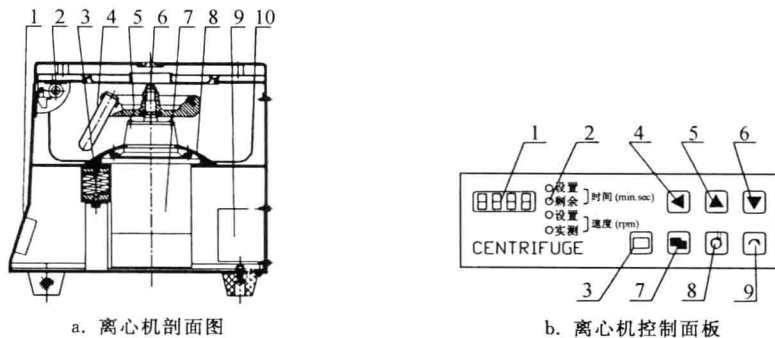


图 1-2 TDL-50B 型离心机

1. 控制面板 2. 机架 3. 减震装置 4. 离心管 5. 转子 6. 转轴螺母
7. 电机 8. 密封圈 9. 电器控制系统 10. 离心腔

操作程序:

1. 仪器控制面板如图 1-2b 所示

控制面板上相应各部分的功能见表 1-3。



表 1-3 离心机控制面板上各部分的功能

序号	名称	功 能
1	数码管	用以显示仪器的转速、时间等参数。
2	指示灯	数码管显示参数值时,该参数对应的指示灯点亮。
3	功能键 	按该键可使 4 只指示灯切换点亮,同时数码管显示相应的参数值。
4		数字选择换位键,按此键可使数码管闪烁位左移。
5		增键,按此键可使数码管闪烁位由 0~9 变化。
6		减键,按此键可使数码管闪烁位由 9~0 变化。
7	记忆键 	按此键,贮存所修改的参数值。
8	开机键 	启动离心机。
9	关机键 	停止离心机。

2. 操作步骤

(1) 将样品等量放置在离心管内,并将其对称放入转头。

(2) 拧紧盖型螺母,盖好盖门,将仪器接上电源,此时数码管显示“闪烁”的“0000”,表示仪器已接通电源。

(3) 如需调整仪器的运行参数(运转时间和运转速度),可以按功能键,使相应的指示灯点亮,数码管即显示该参数值,此时可用“◀”和“▲”及“▼”键相结合调整该参数至需要的值,并按记忆键确认贮存。

(4) 按开机键启动仪器。仪器运行过程中数码管显示转速,当需要检查其他参数时,可按功能键,使该参数对应的指示灯点亮,数码管即显示该参数值。当仪器运行完所设定的时间后或中途停机,停机过程中数码管闪烁显示转速,属正常现象。

3. 注意事项

(1) 安全、正确使用离心机,关键在于做好离心前的平衡。

(2) 为确保安全和离心效果,仪器必须放置在固定的水平台面上,工程塑料盖门上不得放置任何物品;样品必须对称放置,并在开机前确保已拧紧螺母。

(3) 应经常检查转头及试验用的离心管是否有裂纹、老化等现象,如有应及时更换。

(4) 试验完毕后,需将仪器擦拭干净,以防腐蝕。

(四) 电热恒温鼓风干燥箱的使用

干燥箱(如图 1-3、图 1-4 所示)用于物品干燥、烘焙、熔蜡、灭菌等。

1. 使用方法

(1) 将需干燥处理的物品放入干燥箱内,关好门。

(2) 电源开关拨至“1”处,此时电源指示灯亮,控温仪上有数字显示。

(3) 温度设定

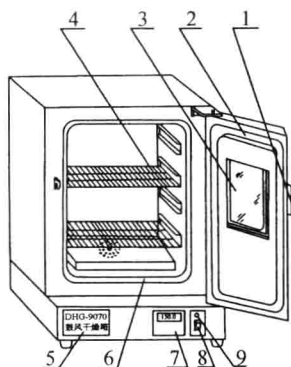


图 1-3 立式 DHG-9000/9006 型示意图

1. 门拉手 2. 箱门 3. 观察窗 4. 隔板
5. 铭牌 6. 硅橡胶密封圈 7. 控温仪 8. 电源开关 9. 电源指示灯

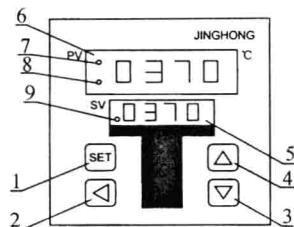


图 1-4 智能控温仪面板

1. 功能键 SET 2. 移位键< 3. 减键▽
4. 加键△ 5. 设定温度显示 SV 6. 箱内温度显示 PV 7. 加热指示灯 8. 上限报警指示灯 9. 自整定指示灯

当所需加热温度与设定温度相同时不需重新设定,反之则需重新设定。先按控温仪的功能键“SET”进入温度设定状态,此时 SV 设定显示闪动,再按移位键“<”,配合加键“△”或减键“▽”操作,设定结束后按功能键“SET”确认。如需设定温度 150℃,原设定温度 86.5℃,先按下功能键“SET”,再按移位键“<”,将光标移至显示器百位数上,后按加键“△”,使百位数字从“0”升至“1”,百位数设定后,移动光标依次设定十位、个位和分位数字,使设定温度显示为 150.0℃,按功能键“SET”确认,温度设定结束。

2. 特殊操作

(1) 跟踪报警温度设定

产品出厂前已设定高 10℃ 报警,一般不需要重新设定。需重新设定时,按功能键“SET”数秒,仪表进入上限跟踪报警设定状态“AL1”,再按移位键“<”,配合加键“△”或减键“▽”操作,最后按功能键“SET”确认,跟踪报警设定结束。

(2) ID 自整定使用

如果对控温精度和波动度有较高的要求,可采用自整定控制。当箱内温度第一次将达到设定温度时,先按功能键“SET”5 秒,仪表进入设定循环状态“AL1”,继续按“SET”键,使 PV 显示“ATU”,SV 显示“0000”,然后按加键“△”使 SV 显示“0001”,最后按功能键“SET”确认,此时自整定指示灯亮,控温仪进入自整定控制。

(3) 温度显示值修正

由于产品出厂前都经过严格的检测,一般不需要进行修正。如产品使用时的环境不佳,外界温度过高或过低,会引起温度显示值与箱内实际温度产生误差,如超出技术指标范围的,可以修正。具体步骤:先按功能键“SET”5 秒,仪表进入参数设定循环状态“AL1”,继续按“SET”键,使 PV 显示“SC”,然后按移位键“<”配合加键“△”或减键“▽”操作,可以进行温度修正,最后按功能键“SET”确认,温度显示值修正结束。

3. 注意事项

- (1) 干燥箱壳必须有效接地,以保证使用安全。
- (2) 干燥箱应放置在具有良好通风条件的室内,在其周围不放置易燃易爆物品。
- (3) 干燥箱无防爆装置,不得放入易燃易爆物品干燥。