

普通高等教育教学改革研究成果

SHIYONG SHENGWU HUAXUE
SHIYAN JISHU ZHIDAO

实用生物化学 实验技术指导

主 编 陈庆森 吴子健 庞广昌



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS

浙江大学出版社

普通高等教育教学改革研究成果

实用生物化学实验技术指导

主 编 陈庆森 吴子健 庞广昌



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

实用生物化学实验技术指导 / 陈庆森, 吴子健, 庞广昌
主编. —杭州: 浙江大学出版社, 2013.9

ISBN 978-7-308-12010-4

I. ①实… II. ①陈… ②吴… ③庞… III. ①生物化学—实验—高等学校—教学参考资料 IV. ①Q5-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 184471 号

实用生物化学实验技术指导

主编 陈庆森 吴子健 庞广昌

责任编辑 邹小宁

文字编辑 沈巧华

封面设计 王聪聪

出 版 浙江大学出版社

(杭州市天目山路 148 号 邮政编码 310007)

(网址: <http://www.zjupress.com>)

排 版 杭州教联文化发展有限公司

印 刷 浙江国广彩印有限公司

开 本 787mm×1092mm 1/16

印 张 17.5

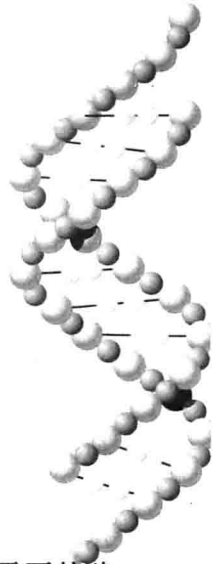
字 数 404 千

版 次 2013 年 9 月第 1 版 2013 年 9 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-308-12010-4

定 价 37.80 元

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换



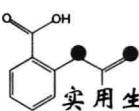
前 言

生物化学实验技术是用于研究生物化学分子(特别是生物大分子物质)所需要的独特分析与制备的实验技术。当代生物化学学科已从原来的细胞水平、亚细胞水平,深入到生物大分子水平,不仅研究生物分子结构与功能的关系,而且能进行分子改造和重建以改变其生物性状,而该学科研究任何一点的突破都与新的生物化学实验技术方法的创立密切相关,因此,生物化学实验技术有着重要的地位和作用。生物化学及其实验技术所包含的基础技能涉及生命科学、生物工程、医药科学、食品科学与工程等专业的各个方面,是生命科学及其相关专业的重点专业基础课,其教学效果直接影响大学本科生专业基础素质,同时也影响其对后续课程,如微生物学、细胞生物学等课程的学习,对训练学生基础实验技能、提高动手能力和创新能力有极其重要的作用。

进入21世纪以来,国内外生命科学与技术研究发展日新月异,特别是基因工程、分子生物学、免疫学、医学以及药理学等研究的发展,生物化学技术有了革命性的改变。其发展趋向呈现多方面特点:分析技术向着日益综合和自动化发展,制备技术向着高效性与微量化发展,结构研究向着精确性与自然化发展。因此,为了适应这种迅猛发展的局面,高等院校也需对生物化学及其实验技术课程有更高的要求,以此适应培养更多了解生命科学基础知识专业人才的需要,并适应不同学习对象、不同专业要求的教育改革的需要。

我们总结多年生物化学理论教学和实践教学所积累的经验,在《实用生物化学实验技术指导》(2006年由天津科技出版社出版)的基础上,同时采纳了近些年对人才培养的要求以及广大师生的反馈意见,改进并编写了本实验教材。本书的出版得到了天津市普通高校“十一五”重点建设学科建设经费的资助。

本书全面系统、深入浅出、注重实用,重点收录了适合生物工程、食品工程、制药工程的生物化学实验内容,还收录了免疫化学中重要的实验内容;同时也注重加强与《生物化学》课堂教材内容的衔接,并保持了该实验教材的相对独立性和完整性。在总共9章68个实验中,为了更加清晰明了、重点突出,第二章至第八章为基本课程实验,第九章为综合性大实验。其中,基本课程实验侧重于帮助学生学习生物化学基本实验方法及其原理,掌握基本技能,学会相关仪器设备的操作,内容包括蛋白质化学、酶学、核酸化学、糖类化学及代谢、脂类化学及代谢、维生素化学和免疫化学;综合性大实验侧重于训练学生对学过的生化知识综合运用能力,提高学生的科学思维能力、创新意识、合作精神和解决问题的能力,从而培养学生从事科研和技术工作的基本素质。



本书可作为高等院校生物相关专业的生物化学实验课教材,主要适用于生物工程、食品工程、制药工程等专业的学生,同时也可作为从事生物工程研究与教学的科技人员和高校教师的实验参考用书。

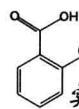
本书是天津商业大学生物技术与食品科学学院全体从事生物化学及其实验技术教学工作的老师们共同努力的结晶。在本书的编写过程中,所有生化课程组的老师们提出了许多宝贵意见。衷心地感谢本院2012级食品科学硕士研究生张晴晴和仇旭同学,他们花费了大量宝贵的时间与精力从事了部分内容的录入工作。

由于作者水平有限,加之时间仓促,书中仍难免有错误和欠妥之处,真诚地希望使用本书的师生和科技工作者批评指正。

编 者
2013年7月

目 录

第一章 绪 论	1
第一节 生物化学实验的准确性	1
第二节 实验记录及报告	2
第三节 实验室规则	4
第四节 实验室安全和防护知识	5
第五节 生化实验室的基本设施与装备	8
第二章 蛋白质化学	13
实验一 蛋白质及氨基酸的显色反应	13
实验二 氨基酸纸层析法分离	19
实验三 双缩脲法测定蛋白质含量	29
实验四 凯氏定氮法测定蛋白质含量	31
实验五 紫外吸收法测定蛋白质含量	36
实验六 Folin-酚法测定血清蛋白质含量	39
实验七 蛋白质浓度测定——考马斯亮兰法 (Bradford 法)	41
实验八 人血清的醋酸纤维薄膜电泳	44
实验九 酪蛋白的制备	48
实验十 分步盐析法制备丙种球蛋白	49
实验十一 从毛发中提取胱氨酸	51
第三章 酶 学	54
实验一 酵母蔗糖酶提取与比活力测定	54
实验二 蔗糖酶进程曲线的制作及不同酶浓度对反应速度的影响	56
实验三 温度对唾液淀粉酶活性的影响	59
实验四 pH 对唾液淀粉酶反应速度的影响	60
实验五 固定化活性干酵母细胞的制备	62
实验六 固定化活性干酵母细胞活力测定和转化糖的生产	63
实验七 改良 Mohun 氏法测定血清谷丙转氨酶活性	65



实验八	脂肪酶的活力测定	68
实验九	枯草杆菌蛋白酶活力测定	70
实验十	垂直平板电泳法测定过氧化物同工酶	73
第四章	核酸化学	77
实验一	地衣酚法测定核酸核糖含量	77
实验二	小牛胸腺 DNA 的制备	79
实验三	小牛胸腺 DNA 溶解温度的测量	82
实验四	酵母核糖核酸的提取与组分鉴定	84
实验五	定磷法测定核酸含量	86
实验六	紫外吸收法测定核酸的含量	88
实验七	动(植)物 DNA 的制备与测定	90
第五章	糖类化学及代谢	94
实验一	总糖与还原糖含量的测定——3,5-二硝基水杨酸比色定糖法	94
实验二	肝糖原的提取和定量	96
实验三	邻甲苯胺法测定血糖	98
实验四	糖的硅胶 G 薄层层析	100
实验五	果胶的提取和测定	104
实验六	肌肉中肌糖原含量测定	105
实验七	胰岛素对血糖含量的调节	109
第六章	脂类化学及代谢	111
实验一	脂肪的组成	111
实验二	卵磷脂的提取和鉴定	113
实验三	粗脂肪的定量测定——索氏(Soxhlet)提取法	114
实验四	碘价的测定	118
实验五	油脂酸价的测定	120
实验六	过氧化价测定	121
实验七	脂肪酸 β -氧化	123
第七章	维生素化学	126
实验一	抗坏血酸(VC)的定量测定——2,6-二氯酚靛酚滴定法	126
实验二	VB ₂ 的定量测定——荧光法	128
实验三	维生素 B ₁ 、B ₂ 的定性鉴别	130

第八章 免疫化学	132
实验一 免疫血清的制备	132
实验二 沉淀反应定量法	136
实验三 双向免疫扩散法	139
实验四 对流免疫电泳	144
实验五 微量免疫电泳	146
实验六 单向定量免疫电泳(火箭电泳)	147
实验七 双向免疫电泳(交叉免疫电泳)	149
第九章 生物化学技术大实验	151
实验一 SDS-PAGE测定蛋白质分子量	151
实验二 蛋白质的免疫转印(Western Blotting)	158
实验三 分子筛凝胶层析法测定蛋白质的分子量	161
实验四 ELISA 测定特异性抗原	170
实验五 离子交换法分离氨基酸	189
实验六 蛋白质电泳的超敏感银染方法	195
实验七 人血清 IgG(丙种球蛋白)和白蛋白的制备和纯化	202
实验八 醇析法分离提取蛋清中卵转铁蛋白及其电泳检测	205
实验九 卵清中核黄素结合蛋白的分离纯化	208
实验十 蛋清溶菌酶的分离纯化及其初步检测	212
实验十一 小量制备质粒 DNA	217
实验十二 DNA 的限制性内切酶图谱	220
实验十三 聚合酶链式反应	225
实验十四 平板凝胶等电聚焦分离蛋白质	228
实验十五 细胞色素 C 的制备与测定	234
实验十六 高效液相色谱技术(HPLC)	238
附 录	249
参考文献	271

第一章 绪 论

第一节 生物化学实验的准确性

生物化学实验是以活的生命体为对象,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。因此分析工作者要根据实验要求对实验结果进行分析和总结,要善于分析和判断结果的准确性,认真查找可能出现误差的原因,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,但在懂得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。

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。

一、系统误差

系统误差是指在测量过程中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。

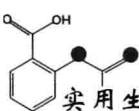
1. 系统误差的来源

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,按烧杯的指示线量取液体往往准确度降低,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;现在电子天平的使用越来越广泛,使用前应该考虑不同电子天平的称量范围和精度差别很大,例如:称量10mg以内的样品则必须使用感量为万分之一克的分析天平或电子天平称取。

③试剂误差:如试剂不纯或蒸馏水不合格,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。特别是在读数据时,目光是否平视,视线与液体弯月面是否相切,都



可成为生化实验中造成较大误差的主要原因,所使用的微量移液器应该定期校准,以免造成不必要的误差。

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,以减少误差。

②空白试验:在任何测量实验中都应包括有对照的空白实验。用同体积的蒸馏水或样品中的缓冲液代替待测溶液,并严格按照待测液和标准液那样的方法处理,即得到所谓的空白溶液。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

由于难以察觉的原因或由于个人一时辨别差异,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。一般生物类实验的影响因素是多方面的。常常由于某些条件,如温度、光照、气流、反应时间、反应体系的微小变化都会引起较大的误差。特别是某些因素的作用机理目前仍不十分清楚,所以有些实验结果重现性较差。

偶然误差初看起来似乎没有规律性,但经过多次实验,便可发现偶然误差的分布有以下规律。一是正误差和负误差出现的几率相等;二是小误差出现的频率高,而大误差出现的频率较低。因此解决偶然误差主要可通过多次平行实验,然后取其平均值来弥补。测试的次数越多,偶然误差的几率就越小。

三、操作错误

除了上述两种误差外,往往还有由于操作不认真,观察不仔细,没有按操作规程操作等引起的操作错误。这对于初做生物化学实验的工作者来说是经常发生的。如加错试剂、在配制标准溶液时固体溶质未被溶解就用容量瓶定容、在称量样品时未关升降钮就加砝码,在做电泳时点样端位置放错、在做抽滤实验时应留滤液却误留滤渣、在作图时坐标轴取反以及记录和计算上的错误等。这些失误会对分析结果产生极大的影响,致使整个实验失败。所以在实验中一定要避免操作错误,培养严谨和一丝不苟的科学实验作风,养成良好的实验习惯,减少失误的发生。

此外,在实际工作中要根据实验目的,设计好切实可行的实验方案,并根据实际需要的准确度来选择测试手段(仪器及方法)。如在做定性实验时,称量及配置试剂可相对粗些,可选择台秤及量筒来称重、量取;而在做定量实验时,则必须使用分析天平及容量瓶来称量,定容,以确保实验数据真实可靠。

第二节 实验记录及报告

如前所述,由于生物化学实验的对象是生命体或是生物活性物质,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,这也是培养学生实验能力和严谨的科学作风的一个重要方面。

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。最好写一个预习提纲,将实验步骤简要写出来。

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今后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。实验中配制溶液的过程、加样的体积、使用仪器的类型以及试剂的规格、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,详细的记录才能成为今后实验的参考数据。

二、实验报告

实验结束后,应及时整理和总结实验数据,写出实验报告。实验报告是实验的总结和汇报,通过实验报告的写作可以分析总结实验的经验和问题,学会处理各种实验数据的方法,加深对有关生物化学实验原理和技术的理解和掌握,同时也是学习撰写科学研究论文的过程。实验报告内容应该包括:

(1)实验题目或标题,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)实验目的。

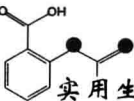
(3)实验原理,应简明扼要地阐述实验的理论指导,使未做过实验的人看后对该实验有一个初步的了解。

(4)仪器和试剂,对实验材料要写清其来源及规格、浓度、配制方法和配制人。对实验仪器要写明其生产厂家、型号、生产序号等常用指标。

(5)实验步骤与方法,要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步步写出,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。

(6)实验结果与数据处理,将实验中的现象、数据进行整理、分析,得出相应的结论。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明了。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。通常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 5min”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。图表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的浓度。作图可以用坐标纸或通过计算机来绘制,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“X”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理解。

(7)结果分析与讨论,是对整个实验过程、实验结果的总结、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的探讨、研究。也可对实验设计、实验方法提出合理的改进性意见,以便教师今后能更好地安排实验。实验结果的讨论要充分,尽可能多查阅一些有关的文献和教科书,充分运用已学过的知识和生物化学原理,进行深入的探讨,勇于提出自己独到的分析和见解,并欢迎对实验提出改进意见。

第三节 实验室规则

(1)实验前必须认真预习实验内容,明确本次实验的目的和要求,掌握实验原理,写好实验预习报告,否则,不能进行实验。

(2)实验时自觉遵守实验室纪律,保持室内安静,不大声说笑和喧哗。

(3)实验过程中要听从教师指导,认真按照实验步骤和操作规程进行实验。若想改进和设计新的实验方法,必须取得教师的同意。实验时认真进行实验记录,实验完毕及时整理数据,按时上交实验报告。

(4)实验台面、称量台、药品架、水池以及各种实验仪器内外都必须保持清洁整齐。药品称完后立即盖好瓶盖放回药品架,严禁瓶盖及药勺混杂,切勿使药品(尤其是NaOH)洒落在天平和实验台面上,毛刷用后必须立即挂好,各种器皿不得丢弃在水池内。

(5)配制试剂和用无离子水要注意节省,按实验实际使用量配制,多余的重要试剂和各种有机试剂要按教师要求进行回收,昂贵的 SepHadex、SepHarose 凝胶和 DEAE 纤维素等,用后必须及时回收,不得丢弃。

(6)配制的试剂和实验过程中的样品,尤其是保存在冰箱和冷室中的样品,必须贴上标签、写上品名、浓度、姓名和日期等,放在冰箱中的易挥发溶液和酸性溶液,必须严密封口。

(7)配制和使用洗液必须极为小心,强酸、强碱必须倒入废液缶或冲稀后排放。电泳后的凝胶和各种废物不得倒入水池,只能倒入废物桶。

(8)使用贵重精密仪器应严格遵守操作规程。使用分光光度计时,不得将溶液洒在

仪器内外和地面上。使用高速冷冻离心机和 HPLC 等大型仪器必须经过考核。仪器发生故障应立即报告教师,未经许可不得自己随意检修。

(9)实验室内严禁吸烟、饮水和进食,严禁用嘴吸移液管和虹吸管。易燃液体不得接近明火和电炉,凡产生烟雾、有害气体和不良气味的实验,均应在通风条件下进行。

(10)实验完毕必须及时洗净并放好各种玻璃仪器,插好自动部分收集器上的试管,保持实验台面和实验柜内的整洁。

(11)每组仪器和玻璃器皿要用油漆编号,严禁抄拿他组仪器,不得将器皿遗弃在分光光度计内和其他实验台面上。打破玻璃仪器要及时向教师报告,并自觉登记,学期结束时按规定进行处理。

(12)每位学生要熟悉实验室内电闸的位置,烘箱和电炉用毕必须立即断电,不得过夜使用,要严格遵守实验室安全用电规则和其他安全规则。

(13)每日实验完毕,值日生要认真做好实验室的卫生值日工作。最后离开实验室的实验人员,必须检查并关好水、电、门、窗。

第四节 实验室安全和防护知识

在生化实验室中可以说是“五毒”俱全,即着火、爆炸、中毒、触电、和割伤的危险均时刻存在。因此,每一位在生化实验室工作的人员都必须有充分的安全意识、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

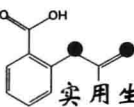
生化实验室经常使用大量的有机溶剂,如甲醇、乙醇、丙酮、氯仿等,而实验室又经常使用电炉、酒精灯等火源,因此极易发生着火事故。常用有机溶剂的易燃性如表 1-1 所示。

表 1-1 常见有机液体的易燃性

名称	沸点/℃	闪点 [*] /℃	自燃点 ^{**} /℃
乙醚	34.5	-40	180
丙酮	56	-17	538
二硫化碳	46	-30	100
苯	80	-11	
乙醇(95%)	78	12	400

*闪点:液体表面的蒸汽和空气的混合物在遇明火或火花时着火的最低温度。

**自燃点:液体蒸汽在空气中自燃时的温度。



由上表可以看出:乙醚、二硫化碳、丙酮和苯的闪点都很低,因此不得存于可能会产生电火花的普通冰箱内。低闪点液体的蒸汽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允许放置开口的有机溶剂或倾倒有机溶剂。

二、灭火方法

实验室中一旦发生火灾切不可惊慌失措,要保持镇静,根据具体情况正确地灭火或立即报火警(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,故改用玻璃纤维布作灭火毯。

(2)乙醇、丙酮等可溶于水的有机溶剂着火时,可以用水灭火。汽油、乙醚、甲苯等有机溶剂着火时不能用水,只能用灭火毯和砂土盖灭。

(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(内装二氟氯溴甲烷)灭火。

(4)个人衣服着火时,切勿慌张奔跑,以免风助火势,应迅速脱衣,用水龙头浇水灭火,火势过大时可就地卧倒打滚压灭火焰。

三、爆炸

生物化学实验室防止爆炸事故是极为重要的,因为一旦爆炸,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汽在空气中的爆炸极限(体积百分数)如表1-2所示。

加热时会发生爆炸的混合物有:有机化合物—氧化铜、浓硫酸—高锰酸钾、三氯甲烷—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易燃易爆气体大量逸入室内。⑤高压气瓶减压伐摔坏或失灵。

表1-2 易燃物质蒸汽在空气中的爆炸极限

名称	爆炸极限(体积百分数)	名称	爆炸极限(体积百分数)
乙醚	1.9~36.5	丙酮	2.6~13
甲醇	6.7~36.5	乙醇	3.3~19
氢气	4.1~74.2	乙炔	3.0~82

四、中毒

生化实验室常见的化学致癌物有:石棉、砷化物、铬酸盐、溴乙锭等。剧毒物有:氰化物、砷化物、乙腈、甲醇、氯化氢、汞及其化合物等。

中毒的原因主要是由于不慎吸入、误食或由皮肤渗入。

中毒的预防:①保护好眼睛最重要,使用有毒或有刺激性气体时,必须配戴防护眼镜,并应在通风橱内进行。②取用毒品时必须配戴橡皮手套。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 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 乳剂,最后饮些牛奶。②吸入了毒气,立即转移室外,解开衣领,休克者应施以人工呼吸,但不要对口对口法。③砷和汞中毒者应立即送医院急救。

五、外伤

1. 化学灼伤

①眼睛灼伤或掉进异物。

眼内若溅入任何化学药品,应立即用大量水冲洗 15min,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。

酸灼伤:先用大量水洗,再用稀 NaHCO_3 或稀氨水浸洗,最后再用水洗。

碱灼伤:先用大量水冲洗,再用 1% 硼酸或 2% 醋酸浸洗,最后再用水洗。

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

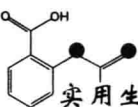
2. 烫伤

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。

3. 割伤

这是生物化学实验室常见的伤害,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% 硼酸溶液或 2% 醋酸溶液、1% 碳酸氢钠溶液、20% 硫代硫酸钠溶液、医用镊子和剪刀、纱布、药棉、棉签、绷带等。



六、触电

生物化学实验室要使用大量的仪器、烘箱和电炉等,因此每位实验人员都必须能熟练地安全用电,避免发生一切用电事故。当50Hz的电流通过人体25mA电流时,会发生呼吸困难,通过了100mA以上电流则会致死。

(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。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仪器使用前要先检查外壳是否带电。⑥如遇有人触电要先切断电源再救人。

(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、接触不良的导线接头要及时处理。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、电线着火不可用泡沫灭火器灭火。

第五节 生化实验室的基本设施与装备

一、温度与环境设施

许多生化实验都要求在一定的温度和湿度下进行操作,因此,一个正规的生化实验室必须能够保持恒温、恒湿的环境。为了保持这些条件,实验室都应装备空调和加湿器等,而仪器分析室则要求保持干燥,一些怕潮湿和易水解的试剂应保存在干燥箱中。由于各种生物材料、制剂和各种生化试剂要求在不同的温度下保存,实验室必须备有4℃、-20℃、-80℃的冰箱,需要在更低温度下保存的样品,则须使用液氮罐。对于需在较高温度下进行的操作,则可使用烘箱和高温电炉等。实验室还应备有干冰,以便使用乙醇-干冰浴进行样品的快速冷冻分装。

二、实验室用纯水

生化实验室使用最多的溶剂是“水”,配制生化实验用试剂不能用自来水,只能使用经过纯化的水。生化实验对所用水的纯度是要求比较高的,通常可以认为,水的质量越高,实验的结果就越真实可靠和准确,为此必须保证实验用水的质量。常用的两种纯水是二次蒸馏水和无离子水。在超纯分析和特殊的生化实验中要求更高的水质,如15~18MΩ·cm高纯无离子水、无热源高纯水、无菌水、亚沸蒸馏水、无二氧化碳蒸馏水等。

实验室制备无离子水,通常使用聚苯乙烯磺酸型强酸性阳离子交换树脂和聚苯乙烯季胺型强碱性阴离子交换树脂填充的阳离子和阴离子交换柱,或是阴、阳离子交换树脂的比例为2:1的混合柱。无离子水的水质用电阻率表示,最高纯度是18MΩ·cm(25℃)。虽然无离子水中阴、阳离子的含量可以很低,但用离子交换法却不能去除水中的有机物杂质,离子交换树脂中的低分子有机化合物亦可能溶于水,因此由无离子水的电阻率不能看出水中有机物的污染程度,有机物的污染有可能干扰生化实验中的某些

反应,也会使水的紫外吸收增加,对于那些对紫外吸收要求十分严格的实验,应选用蒸馏水而不用无离子水。

实验室中制备蒸馏水,多采用石英管加热的硬质玻璃蒸馏水器。蒸馏时不能用自来水,因为会产生水垢,最好用无离子水作为水源。如欲除去有机物,可在蒸馏水器中每L水加1g高锰酸钾和1mL 85%的磷酸,以便通过氧化除去有机物。不含金属离子的水,需用亚沸蒸馏水,即用石英亚沸蒸馏器进行蒸馏,其特点是在液面上方加热,但水并不沸腾,只是液面处于亚沸状态,可将水蒸气带出的杂质减至最低,但制水量较小,每小时约1~4L。

实验工作中不应盲目追求水的纯度,水的价格随水质的提高而成倍地增长,因此要根据实际工作的需要,即所用水中应排除的干扰物质的类型来选用水的种类。如无离子水、普通蒸馏水、二次蒸馏水、亚沸蒸馏水及按特殊要求制备的高纯水等。

所有的各种纯水,在贮存中都会被污染。塑料容器会产生有紫外吸收的有机物;玻璃和金属容器会产生金属离子的污染;长时间放置更会使水长菌,空气中的二氧化碳会溶入水中。所以贮存高纯水一定要隔绝空气,密封盖严,必要时贮存在冰箱的冷藏室中。

三、消毒系统

生化实验要进行生物培养和生物反应的操作,这些操作都必须排除其他生物因素的干扰,因此在做这些实验之前,都必须对实验中用到的、可能造成污染的材料、器械等进行消毒灭菌处理。常用的灭菌方法有:高温高压灭菌、紫外线照射、火焰焚烧、过滤除菌、酒精等试剂浸泡消毒等,因此实验室必须配备各种无菌处理设备。

四、计量系统

生化实验都要求在各种标准的定量条件下进行,因此实验室必须配备各种标准的定量系统。常用的定量系统有:称量系统、液体体积度量系统、pH测定系统、液体溶质定量系统等。

(1)称量系统:最常用的设备是各种千分之一的扭力天平、电子天平和各种万分之一的单、双盘天平和电子天平等,它们分别用于各种缓冲液的配制和标准物质的称量等。

(2)液体体积度量系统:常用的有各种量筒、移液管、容量瓶、微量进样器和各种自动取液器等。

(3)酸碱度pH测量系统:最常用的是pH试纸和pH计。

(4)液体溶质定量系统:此系统主要是根据液体溶质的某些理化特性而设计的,不同的物质在一定的条件下有特定的吸收光谱,其吸收值的大小与其在溶液中的浓度有一定的关系,可以通过测定某物质在溶液中的吸收光谱来计算出该物质的浓度。因而分光光度计就是生化实验室必备的仪器分析手段,主要有可见分光光度计、紫外/可见分光光度计和高档的快速扫描紫外/可见分光光度计等。

五、离心设备

离心方法是分离和制备生物大分子最常用的手段,因而生化实验室必须备有各种