生物化学实验须知与基本操作

南昌大学生物学实验教学中心 汪艳璐

- 一、生物化学实验须知
- 1、实验室规则
- 2、实验记录
- 3、实验报告
- 4、实验课评分标准
- 二、生物化学实验基本操作
- 1、玻璃仪器洗涤
- 2、移液管的使用
- 3、微量移液器的使用
- 4、溶液混匀
- 5、过滤
- 6、离心
- 7、分光光度计的使用

实验室规则

- 1、提前5min到实验室,不迟到,不早退,自觉遵守课堂纪律,保持室内安静,不大声喧哗、打闹。
- 2、使用仪器、药品、试剂和各种物品必须注意节约,应特别注意保持药品和试剂的纯净,严防混杂污染。
- 3、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。
- 4、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。
- 5、注意安全。实验室内严禁吸烟,易燃易爆品需要时要远离火源操作和放置。实验完毕后立即关闭电源,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。

实验室规则

- 6、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,由课代表收齐交给教师。
- 7、废弃液体(强酸、强碱必须先用水稀释)可倒入水槽内,同时用水冲走。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垃圾桶内,不能倒入水槽或到处乱扔。
- 8、仪器损坏时,应如实向教师报告,认真填写损坏仪器登记表,然后补偿一定金额。
- 9、每次实验课安排同学轮流值日,值日生要负责当天实验的 卫生和安全检查。

实验记录

- 1、实验课前应认真预习实验内容,将实验名称、目的、原理、实验内容、操作方法和步骤等简单扼要地写在记录本上。记录时不得使用铅笔。
- 2、实验中使用的仪器种类、型号以及试剂的名称、浓度、纯度等都应记录清楚,实验中观察到的现象、结果和得出的数据,应及时地直接记在记录本上,原始记录必须准确、简练、详尽、清楚。如对实验结果有怀疑、遗漏或丢失等,都必须重做实验。

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。

- 1、标题,应包括实验名称、实验时间、实验者及同组者姓名等
- 2、实验目的
- 3、实验原理,应简述基本原理,不要完全照抄实验指导书。
- 4、<mark>操作步骤</mark>,操作步骤(或方法)可以采用列举式、流程图的方式或表格来表达。
- 5、实验结果,将实验中的现象、数据进行整理、分析,得出相应的结论。
- 6、讨论,包括对实验结果及观察现象的小结,对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。

实验课评分标准

- 1、按时上实验课,不迟到早退 10%
- 2、认真进行实验操作,按时完成实验内容,能遵守各项规则 40%
- 3、认真书写实验报告,字迹端正,有条理,数据完全,有正确的分析和结果,按时交实验报告 20%
- 4、考试 30%

一、玻璃仪器的洗涤

洁净的玻璃仪器内壁应光洁、明亮、不挂水珠,常用的洗涤方法有:

- 1、一般玻璃仪器,如烧杯、试管等,可用肥皂、合成洗涤剂、去污剂等用毛刷仔细刷洗,再用自来水冲洗干净,最后用少量蒸馏水冲洗2-3次,置于干燥箱中烘干备用。定量的玻璃仪器,如滴定管、量筒等不能加热,应晾干。另用特殊胶水粘合的仪器也不能烘干,如比色皿。
- 2、容量分析仪器,如移液管、容量瓶、滴定管等,不能用毛刷刷洗,可在用毕后,即用自来水冲洗,直至不挂水珠,再用少量蒸馏水冲洗2-3次即可备用。若冲洗后的仪器仍挂水珠,则应将其沥干后,用重铬酸钾洗液浸泡4-6小时,然后用自来水冲洗干净,再用少量蒸馏水冲洗2-3次。
- 3、粘附有血浆的刻度吸量器,可先用45%尿素溶液浸泡,使血浆蛋白溶解,然后用自来水冲洗干净。若仍未清洁,可在重铬酸钾洗液中浸泡4-6小时,用自来水冲洗,最后用蒸馏水冲洗2-3次;或用1%氨水浸泡,使血浆溶解,然后依次用1%盐酸溶液、自来水、蒸馏水冲洗。

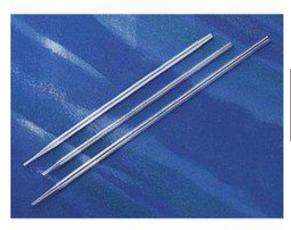
- 4、新购置的玻璃仪器有游离碱存在,须在1%-2%盐酸中浸泡2-6小时,以除去游离碱后,用自来水冲洗,再用蒸馏水冲洗2-3次。
- 5、使用重铬酸钾洗液时应注意的事项:
- (1) 需用重铬酸钾洗液浸泡的容器,在浸泡前应尽量沥干,再用洗液浸泡。 否则,洗液因稀释而降低其氧化力,甚至失效。
- (2)由于Hg²⁺、Ba²⁺、Pb²⁺等离子易与重铬酸钾洗液反应生成沉淀而粘附在容器壁上,因此凡接触过这些离子的容器,先用1%硝酸或5%-10%EDTA润洗除去这些离子,再用水冲洗、沥干后,最后用洗液浸泡。
- (3) 有机化合物、油类、有机溶剂均可使洗液还原失效,因此容器壁上若 粘附有大量油类、有机物等,应先去除,然后再用洗液浸泡。
- (4)由于洗液有很强的酸性和氧化性,所以使用时应注意不能溅溢在皮肤或衣物上,以免被烧伤或烧坏。
- (5) 当洗液颜色由深棕色变成绿色时,是由于重铬酸还原为硫酸铬的原因, 所以不能继续使用。

二、移液管的使用

移液管是用来移取定量体积溶液的量器。

1、生物化学实验中常用的移液管有三种:

刻度移液管、奥氏移液管、大肚移液管







2、使用要领

在吸取液体时,一般用右手的中指和拇指拿住管颈刻度线上方,把管尖插入溶液内大约1cm处,不得过深或过浅。用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标线相切,立即用右手食指压紧管,取出吸管,插入接受容器中,吸管垂直,管尖靠在接受器内壁,接受器约呈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,其他吸管则不必吹出尖端残留液体。

量取液体时,应选用取液量最接近的吸管,在加同种试剂于不同试管中且所取量不同时,应选用一支与最大取液量最接近的刻度吸管。

- 三、微量移液器的使用
- 1、基本原理: 微量移液器(移液枪)是一种取样量连续可调的精密取液仪器。 基本原理是依靠活塞的上下移动,其活塞的移动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、使用方法
 - (1) 装枪头,保证结合严密
 - (2) 转动调节轮, 使读数显示为所要取液体的体积
- (3) 轻轻按下推动按钮到第一停止点,以排除一定容积的空气,此时即可吸液。吸液时把枪头浸入取样液液面下,徐徐松开大拇指,让按钮慢慢自行复原,即完成取样。
- (4) 排液时将枪头置于加样容器壁上,用拇指慢慢将按钮按下到第二停止点, 粘性较高的溶液可在第一停止点出停留5-10s,然后再按到第二停止点,再让枪 头沿着溶液壁向上滑动到与溶液不接触时释放按钮,使其返回到初始位置。

四、溶液的混匀

溶液的混匀方法通常有以下几种:

- 1、离心
- 2、手指敲击,或颠倒使管内溶液作旋转运动从而混匀
- 3、枪头吹打
- 4、涡旋混匀器混匀
- 5、用干燥清洁的玻璃棒搅匀

注意在混匀时需防止容器内的液体溅出或被污染,严禁用手指堵塞管口或瓶口震荡混匀。

五、过滤

过滤有普通过滤、减压过滤、保温过滤等。在生物化学实验中,过滤的作用有:收集滤液、收集沉淀、洗涤沉淀。

注意: 收集滤液时应选用干滤纸,不应将滤纸先用水弄湿,因为是滤纸将影响滤液的稀释比例。收集沉淀时,如需用有机溶液洗涤沉淀时也不能用水将滤纸湿润,较粗的过滤可用脱脂棉或纱布代替滤纸。当沉淀粘稠、沉淀颗粒过小或者与滤纸发生反应而无法过滤时则需选用离心法。

六、离心

1、原理:利用离心机转动的离心力,使比重较重的沉淀物沉积在离心管底部,以达到分离的目的。其上层的液体成为上清液。

2、种类

根据转速分: 常速离心机(≤3500rpm)、(3500-50000rpm)高速离心机、超高速离心机(>50000rpm)

根据温度分:常温离心机、冷冻离心机

注意: (1) 离心机应置于平坦和结实的地面或实验台上

- (2) 离心前必须将样品平衡后方可放入离心机
- (3) 确定盖子盖好,锁上后方可启动离心机。
- (3) 离心机启动后,如有不正常的噪音或振动,应立即切断电源,关机处理
- (4) 离心机完全停止运行后方可打开。

参考资料

- 1、生物化学实验(第四版)科学出版社 陈钧辉等
- 2、生物化学实验 电子科技大学出版社 邓天龙、廖梦霞