

借

SHENGWUHUAXUE
SHIYANJIAOCHENG

主编 张悦 韩德文 韩银淑

生物化学

实 验 教 程

军事医学科学出版社

生物化学实验教程

SHENGWU HUAXUE SHIYAN JIAOCHENG

主 编 张 悦 韩德文 韩银淑

军事医学科学出版社

• 北 京 •

内 容 提 要

《生物化学实验教程》是《医用生物化学》配套教材,是为配合医用生物化学的教学而设计的。实验指导部分每个实验都紧密联系理论教学与科研实际,从加强基础训练、给学生以生物化学基本的实验方法和技能的目的出发而设计的。学习指导部分密切围绕每章重点及有关临床问题,内容既全面又有针对性,便于学生及时复习和备考。可供医学高等专科学校各专业学生使用,同时也可供医学本科院校学生及有关人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

生物化学实验教程/张悦等编. —北京:军事医学科学出版社,2004

ISBN 7-80121-463-3

I. 生… II. 张… III. 生物化学—实验—高等学校—教材

IV. Q5-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 086334 号

出 版:军事医学科学出版社

地 址:北京市海淀区太平路 27 号

邮 编:100850

联系电话:发行部:(010)66931034

66931048

编辑部:(010)66931127

传 真:(010)68186077

E_MAIL:mmsped@nic.bmi.ac.cn

印 刷:潮河印装厂

装 订:潮河印装厂

发 行:新华书店总店北京发行所

开 本:787mm×1092mm 1/16

印 张:7.75

字 数:184 千字

版 次:2004 年 9 月第 1 版

印 次:2004 年 9 月第 1 次

印 数:1-7000 册

定 价:11.50 元

本社图书凡缺、损、倒、脱页者,本社发行部负责调换。

编著者名单

主 编 张 悦 韩德文 韩银淑

副主编 许一飞 袁丽杰

编著者 (以姓氏笔画为序)

左 全 闫莉研 许一飞 孙守丽

张 悦 郭艳萍 袁丽杰 韩银淑

韩德文

前 言

生物化学既是一门理论性学科,也是一门应用性很强的学科。由于生物化学实验研究技术的发展与应用,使生物化学无论是在基础理论方面还是在实践应用方面,都获得了迅猛发展。作为一名现代医学生,学好生物化学基础理论,了解和掌握生化实验技术和方法,对将来探索医学和生物科学领域内有关问题是大有益处的。

本书是高等医学院校选用教材《医用生物化学》的配套实验指导及习题。实验指导部分根据教材需要给每章都设计了1至2个实验,在选材时,从加强基础训练的观点出发,侧重于给学生以生物化学中基本的实验方法和技能的训练,同时验证生物化学的某些基本理论知识,加深理性认识,培养学生具有初步的科学实验能力及严谨的科学作风。教师在教学过程中可以根据不同专业的特点选用。

习题部分从帮助医学生掌握正确的学习方法,提高综合思考、自学能力入手,每章都提出了学习要求,设计了主观试题和客观试题并给出了参考答案。习题部分对帮助学生及时的复习,更好地掌握教材重点内容以提高应试能力起到很好的作用。

本书的读者对象,主要是医学高等专科学校学生、大专层次的高职教育和成人教育学生。同时,本书对医学本科学生、专升本的学生以及临床医师也有参考价值。

本书是在总结近年来实验工作的基础上,吸取国内其他院校的先进经验而编写的。由于时间仓促,水平所限,实验内容可能存在缺点与不足,希望使用本书的同志提出宝贵意见和建议,以便再版时予以更正。

编 者

2003年9月

目 录

第一篇 生物化学实验常识

第1章 实验室规则	(1)
第2章 实验记录及实验报告	(2)
第一节 实验记录	(2)
第二节 实验报告	(2)
第3章 生物化学实验一般知识	(4)
第一节 实验室安全及防护知识	(4)
第二节 实验室基本操作和实验室常识	(6)
第三节 常用仪器的使用	(9)

第二篇 生物化学实验

第4章 蛋白质化学	(18)
实验一 蛋白质的沉淀反应	(18)
实验二 蛋白质的两性电离和等电点的测定	(21)
实验三 双缩脲法测定蛋白质含量	(23)
实验四 Folin-酚法测定血清蛋白质含量	(24)
本章参考习题	(26)
第5章 核酸化学	(28)
实验五 动物组织核糖核酸及脱氧核糖核酸的制备	(28)
本章参考习题	(30)
第6章 酶学	(32)
实验六 酶的特异性及其影响因素	(32)
实验七 溶菌酶的制备及活力测定	(34)
本章参考习题	(38)
第7章 生物氧化	(41)
实验八 脱氢酶的验证	(41)
实验九 琥珀酸脱氢酶的作用及其抑制	(42)

本章参考习题	(44)
第 8 章 糖代谢	(46)
实验十 血糖的测定	(46)
本章参考习题	(47)
第 9 章 脂类代谢	(50)
实验十一 脂肪酸的 β 氧化	(50)
本章参考习题	(52)
第 10 章 含氮化合物代谢	(54)
实验十二 氨中毒、转氨基作用	(54)
本章参考习题	(56)
第 11 章 无机物代谢	(60)
实验十三 血清钾、钠的测定(火焰光度法)	(60)
实验十四 血钙的测定	(63)
实验十五 血清无机磷的测定	(64)
本章参考习题	(66)
第 12 章 氢离子代谢与酸碱平衡	(67)
实验十六 CO_2 结合力测定	(67)
本章参考习题	(68)
第 13 章 基因信息的存储与表达	(70)
实验十七 质粒 DNA 的提取及酶切鉴定	(70)
本章参考习题	(73)

第三篇 参考答案

第 14 章 蛋白质化学习题参考答案	(79)
第 15 章 核酸化学习题参考答案	(82)
第 16 章 酶学习题参考答案	(85)
第 17 章 生物氧化习题参考答案	(89)
第 18 章 糖代谢习题参考答案	(91)
第 19 章 脂类代谢习题参考答案	(95)
第 20 章 含氮化合物代谢习题参考答案	(98)
第 21 章 无机物代谢习题参考答案	(103)
第 22 章 氢离子代谢与酸碱平衡习题参考答案	(105)
第 23 章 基因信息的存储与表达习题参考答案	(107)

第一篇

生物化学实验常识

第1章 实验室规则

一、自觉地遵守课堂纪律,维护课堂秩序,不迟到,不早退,保持室内安静,不大声喧哗。

二、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。完成实验后经教师检查同意,方可离开。课后写出简要的报告,由课代表收交给教师。

三、环境和仪器的清洁整齐是搞好实验的重要条件。实验台面、试剂药品架上必须保持整洁,仪器药品要井然有序。公用试剂用毕应立即盖严放回原处。勿使试剂药品洒在实验台面和地上。实验完毕,须将药品试剂排列整齐,仪器要洗净倒置放好,将实验台面抹拭干净,经教师验收仪器后,方可离开实验室。

四、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。不要将滤纸和称量纸做其他用途。使用和洗涤仪器时,应小心仔细,防止损坏仪器。使用贵重精密仪器时,应严格遵守操作规程,发现故障立即报告教师,不要自己动手检修。要爱护国家财产,厉行节约。

五、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:火着人在,人走火灭。乙醇、丙酮、乙醚等易燃品不能直接加热,并要远离火源操作和放置。实验完毕,应立即关好煤气开关和水龙头,断开电闸,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,严防事故。

六、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。废纸、火柴头及其他固体废物和带有渣滓沉淀的废液都应倒入废品缸内,不得倒入水槽或到处乱扔。

七、仪器损坏时,应如实向教师报告,认真填写损坏仪器登记表并做相应赔偿,然后补领。

八、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。

九、每次实验课由学委安排同学轮流值日,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。

十、对实验的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,做到生动、活泼、主动地学习。

第2章 实验记录及实验报告

第一节 实验记录

实验课前应认真预习,将实验名称、目的和要求、原理、实验内容、操作方法或步骤等简单地写在记录本中。

实验记录本应标上页码,不要撕去任何一页,更不要擦抹及涂改,写错时可以划去重写。记录时必须使用钢笔或圆珠笔。

实验中观察到的现象、结果和数据,应及时地直接记在记录本上,绝对不可以用纸片做记录或写在草稿纸上。原始记录必须准确、简练、详尽、清楚。从实验课开始就应养成这种良好的习惯。

应做到正确记录实验结果、切忌夹杂主观因素,这是十分重要的。在实验条件下观察到的现象,应如实仔细地记录下来。在定量实验中观测的数据,如称量物的质量、滴定管的读数、分光光度计的读数等,都应设计表格准确记下读数,并根据仪器的精确度准确记录有效数字。例如,光密度值为 0.050 不应写成 0.05。每一项结果最少要重复观测 2 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。实验记录上的每一个数字,都反映 1 次测量结果,所以,重复观测时即使数据完全相同也应如实记录下来。数据的计算也应该写在记录本的另一页上,一般写在正式记录的左侧。总之,实验的每个结果都应正确无遗漏地做好记录。

实验中使用仪器的类型、编号以及试剂的规格、化学式、分子量、准确的浓度等,都应记录清楚,以便总结实验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有可疑、遗漏、丢失等,都必须重做实验。因为,将不可靠的结果当做正确的记录,在实际工作中可能造成难以估计的损失。所以,在学习期间就应一丝不苟,努力培养严谨的科学作风。

第二节 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实验两大类,下面分别列举这两类实验报告的格式,仅供参考。

一、定性实验报告

实验(编号)

(实验名称)

(一)目的和要求

(二)内容

(三)原理

(四)试剂和仪器

(五)操作方法

(六)结果与讨论

一般每次实验课做数个定性实验,实验报告中的实验名称和目的要求应该是针对这次实验课的全部内容所必须达到的目的和要求。在写实验报告时,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)可以采用工艺流程图的方式或自行设计的表格来表示。某些实验的操作方法可以与结果或讨论部分合并,自行设计各种表格综合书写。结果与讨论包括实验结果及观察现象的小结、对实验课遇到的问题和思考题进行探讨以及对实验的改进意见等。

二、定量实验报告

实验(编号) (实验名称)

(一)目的和要求

(二)原理

(三)试剂配制及仪器

(四)操作方法

(五)实验结果

(六)讨论

通常每次实验课只做一个定量实验,在实验报告中,目的和要求、原理以及操作方法部分应简单扼要的叙述,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、标准曲线图以及实验组与对照组实验结果的比较图表等。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。

第3章 生物化学实验一般知识

第一节 实验室安全及防护知识

一、实验室安全知识

在生物化学实验室中,经常与毒性很强、有腐蚀性、易燃烧和具有爆炸性的化学药品直接接触,常使用易碎的玻璃和瓷质的器皿,以及在煤气、电等高温电热设备的环境下进行着紧张而细致的工作。因此,必须十分重视安全工作。

1. 进入实验室开始工作前,应了解煤气总阀门及电闸所在处。离开实验室时,一定要对室内检查一遍,应将水、电、煤气的开关关好,门窗锁好。

2. 使用煤气灯时,应先将火柴点燃,一手执火柴靠近灯口,一手慢开煤气门。不能先开煤气门,后燃火柴。火焰大小和火力强弱,应根据实验的需要来调节。用火时,应做到火着人在,人走火灭。

3. 使用电器设备(如烤箱、恒温水浴、离心机、电炉等)时,严防触电;绝不可用湿手或在眼睛旁视时开关电闸和电器开关。检查电器设备是否漏电应用试电笔或手背触及仪器表面。凡是漏电的仪器,一律不能使用。

4. 使用浓酸、浓碱,必须极为小心地操作,防止溅失。用吸量管量取这些试剂时,必须使用橡皮球,绝对不能用品口吸取。若不慎溅在实验台或地面,必须及时用湿抹布擦洗干净。如果触及皮肤,应立即治疗。

5. 使用可燃物,特别是易燃物(如乙醚、丙酮、乙醇、苯、金属钠等)时,应特别小心。不要大量放在桌上,更不应放在靠近火焰处。只有在远离火源时,或将火焰熄灭后,才可大量倾倒这类液体。低沸点的有机溶剂不准在火焰上直接加热,只能在水浴上利用回流冷凝管加热或蒸馏。

6. 如果不慎倾出了相当量的易燃液体,则应按下列法处理:

(1)立即关闭室内所有的火源和电加热器。

(2)关门,开启小窗及窗户。

(3)用毛巾或抹布擦拭洒出的液体,并将液体拧到大的容器中,然后再倒入带塞的玻璃瓶中。

7. 用油浴操作时,应小心加热,不断用温度计测量,不要使温度超过油的燃烧温度。

8. 易燃和易爆炸物质的残渣(如金属钠、白磷、火柴头)不得倒入污物桶或水槽中,应收集在指定的容器内。

9. 废液,特别是强酸和强碱不能直接倒在水槽中,应先稀释,然后倒入水槽,再用大量自来水冲洗水槽及下水道。



10. 毒物应按实验室的规定办理审批手续后领取,使用时严格操作,用后妥善处理。

二、实验室灭火法

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。然后根据具体情况积极正确地进行抢救和灭火。常用的方法有:

1. 在可燃液体燃着时,应立刻拿开着火区域内的一切可燃物质,关闭通风器,防止扩大燃烧。若着火面积较小,可用石棉布、湿布、铁片或砂土覆盖,隔绝空气使之熄灭。但覆盖时要轻,避免碰坏或打翻盛有易燃溶剂的玻璃器皿,导致更多的溶剂流出而再着火。

2. 乙醇及其他可溶于水的液体着火时,可用水灭火。

3. 汽油、乙醚、甲苯等有机溶剂着火时,应用石棉布或砂土扑灭。绝对不能用水,否则反而会扩大燃烧面积。

4. 金属钠着火时,可把砂子倒在它的上面。

5. 导线着火时不能用水及二氧化碳灭火器,应切断电源或用四氯化碳灭火器。

6. 衣服被烧着时切忌奔走,可用衣服、大衣等包裹身体或躺在地上滚动,以灭火。

7. 发生火灾时应注意保护现场。较大的着火事故应立即报警。

三、实验室急救

在实验过程中不慎发生受伤事故,应立即采取适当的急救措施。

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

2. 烫伤 一般用浓的(90%~95%)乙醇消毒后,涂上苦味酸软膏。如果伤处红痛或红肿(一度灼伤),可擦医用橄榄油或用棉花沾乙醇敷盖伤处;若皮肤起泡(二度灼伤),不要弄破水泡,防止感染;若伤处皮肤呈棕色或黑色(三度灼伤),应用干燥而无菌的消毒纱布包扎好,急送医院治疗。

3. 碱灼伤 强碱(如氢氧化钠、氢氧化钾)、钠、钾等触及皮肤而引起灼伤时,要先用大量自来水冲洗,再用5%硼酸溶液或2%乙酸溶液涂洗。

4. 酸灼伤 强酸、溴等触及皮肤而致灼伤时,应立即用大量自来水冲洗,再以5%碳酸氢钠溶液或5%氢氧化铵溶液洗涤。

5. 酚灼伤 如酚触及皮肤引起灼伤,可用乙醇洗涤。

6. 若煤气中毒 应到室外呼吸新鲜空气;若严重时应立即到医院诊治。

7. 水银中毒 水银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。严重中毒的征象是口中有金属味,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;淋巴结及唾液腺肿大。若不慎中毒时,应进医院急救。急性中毒时,通常用碳粉或催吐药彻底洗胃,或者食入蛋白(如1 L牛奶加3个鸡蛋清)或蓖麻油解毒并使之呕吐。

8. 触电 触电时可按下述方法之一切断电路。

①关闭电源;②用干木棍使导线与被害者分开;③使被害者和土地分离,急救时急救者必须做好防止触电的安全措施,手或脚必须绝缘。



第二节 实验室基本操作和实验室常识

一、玻璃仪器的清洗

实验中所使用的玻璃仪器清洁与否,直接影响实验结果,往往由于仪器的不清洁或被污染而造成较大的实验误差,甚至会出现相反的实验结果。因此,玻璃仪器的洗涤清洁工作是非常重要的。

1. 初用玻璃仪器的清洗 新购买的玻璃仪器表面常附着有游离的碱性物质,可先用肥皂水(或去污粉)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),再用自来水冲洗,最后用蒸馏水冲洗2~3次,在100~1300℃烘箱内烤干备用。

2. 使用过的玻璃仪器的清洗

(1)一般玻璃仪器,如试管、烧杯、锥形瓶等(包括量筒),先用自来水洗刷至无污物,再选用大小合适的毛刷沾取去污粉(掺入肥皂粉)或浸入肥皂水内,将器皿内外(特别是内壁)细心刷洗,用自来水冲洗干净后,蒸馏水冲洗2~3次,烤干或倒置在清洁处,干后备用。凡洗净的玻璃器皿,不应在器壁上带有水珠,否则表示尚未洗干净,应再按上述方法重新洗涤。若发现内壁有难以去掉的污迹,应分别试用下述各种洗涤剂予以清除,重新冲洗。

(2)量器:如吸量管、滴定管、量瓶等,使用后应立即浸泡于凉水中,勿使物质于润。工作完毕后用流水冲洗,以除去附着的试剂、蛋白质等物质,晾干后浸泡在铬酸洗液中4~6 h(或过夜),再用自来水充分冲洗,最后用蒸馏水冲洗2~4次,风干备用。

(3)其他:盛装具有传染性样品的容器,如病毒、传染病患者的血清等沾污过的容器,应先行高压(或其他方法)消毒后再进行清洗。盛过各种毒品,特别是剧毒药品和放射性同位素物质的容器,必须经过专门处理(略),确知没有残余毒物存在方可进行清洗。

3. 洗涤液的种类和配制方法

(1)铬酸洗液(重铬酸钾-硫酸洗液,或简称为洗液)广泛用于玻璃仪器的洗涤。常用的配制方法有下述四种:

①取100 ml工业浓硫酸置于烧杯内,小心加热,然后小心缓慢加入5 g重铬酸钾粉末,边加边搅拌。待全部溶解后冷却,储于具玻璃塞的细口瓶内。

②称取5 g重铬酸钾粉末置于250 ml烧杯中,加水5 ml,尽量使其溶解。慢慢加入浓硫酸100 ml,随加随搅拌。冷却后储藏存备用。

③称取80 g重铬酸钾,溶于1000 ml自来水中,慢慢加入工业硫酸100 ml(边加边用玻璃棒搅动)。

④称取200 g重铬酸钾,溶于500 ml自来水中,慢慢加入工业硫酸500 ml(边加边搅拌)。

(2)浓盐酸(工业用):可洗去水垢或某些无机盐沉淀。

(3)5%草酸溶液:用数滴硫酸酸化,可洗去高锰酸钾的痕迹。

(4)5%~10%磷酸三钠($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)溶液:可洗涤油污物。

(5)30%硝酸溶液:洗涤 CO_2 测定仪器及微量滴管。

(6)5%~10%乙二胺四乙酸二钠($\text{EDTA} - \text{Na}_2$)溶液:加热煮沸可洗脱玻璃仪器内壁的白色沉淀物。

(7) 尿素洗涤液: 为蛋白质的良好溶剂, 适用于洗涤盛蛋白质制剂及血样的容器。

(8) 乙醇与浓硝酸混合液: 最适合于洗净滴定管, 在滴定管中加入 3 ml 乙醇, 然后沿管壁慢慢加入 4 ml 浓硝酸(比重 1.4), 盖住滴定管管口, 利用所产生的氧化氮洗净滴定管。

(9) 有机溶剂: 如丙酮、乙醇、乙醚等可用于洗脱油脂、脂溶性染料等污痕。二甲苯可洗脱油漆的污垢。

(10) 氢氧化钾的乙醇溶液和含有高锰酸钾的氢氧化钠溶液: 是两种强碱性的洗涤液, 对玻璃仪器的侵蚀性很强, 清除容器内壁污垢, 洗涤时间不宜过长。使用时应小心慎重。

上述洗涤液可多次使用, 但是使用前必须将待洗涤之玻璃仪器先用水冲洗多次, 除去肥皂、去污粉或各种废液。若仪器上有凡士林或羊毛脂, 应先用软纸擦去, 然后用乙醇或乙醚擦净后才能使用洗液, 否则会使洗涤液迅速失效。例如: 肥皂水、有机溶剂(乙醇、甲醛等)及少量油污皆可使重铬酸钾-硫酸洗液变绿, 减低洗涤能力。

二、搅拌和振荡

1. 配制溶液时, 必须随时搅拌或振荡混合。配制完了时, 必须充分搅拌或振荡混合。

2. 搅拌使用的玻璃搅棒, 必须两头都烧圆滑。

3. 搅棒的粗细长短, 必须与容器的大小和所配制的溶液的量呈适当比例关系。不能用长而粗的搅棒去搅拌小离心管中的少量溶液。

4. 搅拌时, 尽量使搅棒沿着器壁运动, 不搅入空气, 不使溶液飞溅。

5. 倾入液体时, 必须沿器壁慢慢倾入, 以免大量空气混入。倾倒表面张力低的液体(如蛋白质溶液)时, 更须缓慢仔细。

6. 振荡溶液时, 应沿着圆圈转动容器, 不应上下振荡。

7. 振荡混合小离心管中液体时, 可将离心管提在手中, 以手腕、肘或肩作轴来旋转离心管; 也可由一手持离心管上端用另一手弹动离心管; 也可用一手拇指和食指持管的上端, 用其余 3 个手指弹动离心管。手指持管的松紧要随着振动的幅度变化。还可以把双手掌心相对合拢, 夹住离心管, 来回搓动。

8. 在容量瓶中混合液体时, 应倒持容量瓶摇动, 用食指或手心顶住瓶塞, 并不断翻转容量瓶。

9. 在分液漏斗中振荡液体时, 应用一手在适当斜度下倒持漏斗, 用食指或手心顶住瓶塞, 并用另一手控制漏斗的活塞。一边振荡, 一边开闭活塞, 使气体可以随时由漏斗泄出。

10. 研磨配制胶体溶液时, 要使杵棒沿着研钵的单方向进行, 不要来回研磨。

三、沉淀的过滤和洗涤

1. 过滤沉淀一般使用滤纸。

2. 应根据沉淀的性质选择不同的滤纸。胶状沉淀, 应使用质松孔大的滤纸。一般大小颗粒的结晶形沉淀, 应使用致密孔小的滤纸。而极细的沉淀, 则应使用致密孔最小的滤纸。滤纸越致密, 过滤就越慢。

3. 滤纸的大小要由沉淀量来决定, 并不是由溶液的体积来决定。沉淀量应装到滤纸高度的 $\frac{1}{3}$ 左右。最多不应超过 $\frac{1}{2}$, 通常使用直径为 7~9 cm 的圆形滤纸。

4. 折叠滤纸应先整齐的对折, 错开一点再对折, 打开后形成一边一层, 一边三层的圆锥

体。折叠尖端时不可过于用力,以免容易出洞。放入漏斗中时,滤纸边缘应完全吻合。撕去三层一边的外面两层部分的尖端,使滤纸上缘能更好的贴在漏斗的壁上,不留缝隙。而下面部分则有空隙以利于提高过滤速度。

5. 滤纸上缘一般应低于漏斗口上周 0.5~1 cm。润湿滤纸时,应用指尖轻压滤纸,赶净滤纸和漏斗间的气泡,使滤纸紧贴漏斗壁。同时漏斗颈内必须充满液体,这样,才可借液柱的重量而对于待滤液体产生吸滤作用。

6. 过滤时,为了防止沉淀堵塞滤纸的孔洞,通常采用倾泄法,即先小心地把溶液倾入漏斗而不使沉淀流入,只在过滤的最后一步才把沉淀物转移到漏斗上。

7. 过滤时,将玻璃棒直立在三层滤纸的中间部分,其下端接近但不能触及滤纸,并使盛器紧贴玻棒,使液体顺玻棒缓缓流入漏斗。液体最多加到距滤纸上缘 3~4 mm 处,过多则沉淀会因滤纸的毛细管虹吸作用而爬到漏斗壁上去。

8. 在容器中洗涤沉淀一般采用倾注法。洗涤时,采取少量多次的方法最为有效。通常,容易洗涤的粗粒晶形沉淀洗 2~3 次,难洗涤的黏稠无定形沉淀则须洗 5~6 次。注意,每次都应尽量倾干以增加洗涤效果,并防止沉淀流失。

9. 转移沉淀时,先向沉淀中加入滤纸一次所能容纳量的洗涤液,搅拌成为混悬液,不要等待沉淀下沉,立即按倾注滤液的同样方式倾入漏斗。容器内剩余的沉淀可以用少量洗涤液按上述方法重复数次,直到全部转移到漏斗内。

10. 在漏斗内洗涤沉淀时,先将沉淀轻轻摊开在漏斗下部,再用滴管(或洗瓶)将洗涤液加入到漏斗上缘稍下的地方,同时转动漏斗,并使洗涤液沿着漏斗不断向下移动,直到洗涤液充满滤纸一半时立即停止。待漏斗中洗涤液完全漏出后,再进行第二次洗涤。通常,完全洗去沉淀所吸附的不挥发物质,约需 8~10 次左右。确知沉淀已经洗净,需要进行必要的检验。必须注意,沉淀的过滤和洗涤工作一定要一次完成,不可间断。

四、实验室常识

1. 挪动干净玻璃仪器时,勿使手指接触仪器内部。

2. 量瓶是量器,不要用量瓶作盛器。量瓶等带有磨口玻璃塞的仪器的塞子,不要盖错。带玻璃塞的仪器和玻璃瓶等,如果暂时不使用,要用纸条把瓶塞和瓶口隔开。

3. 洗净的仪器要放在架上或干净纱布上晾干;不能用抹布擦拭,更不能用抹布擦拭仪器内壁。

4. 不要用棉花代替橡皮塞或木塞堵瓶口或试管口。

5. 不要用纸片覆盖烧杯和锥形瓶等。

6. 不要用滤纸称量药品,更不能用滤纸作记录。

7. 不要用石蜡封闭精细药品的瓶口,以免掺混。

8. 标签纸的大小应与容器相称,或用大小相当的白纸,绝对不能用滤纸。标签上要写明物质的名称、规格和浓度、配制的日期及配制人。标签应贴在试剂瓶或烧杯的 2/3 处,试管等细长形容器则贴在上部。

9. 使用铅笔写标记时,要在玻璃仪器的磨砂玻璃处。如用玻璃蜡笔,则写在玻璃容器的光滑面上。

10. 取用试剂和标准溶液后,应立即将瓶塞严,放回原处。取出的试剂和标准溶液,如未

用尽,切勿倒回瓶内,以免掺混。

11. 凡是发生烟雾、有毒气体和有臭味气体的实验,均应在通风橱内进行。橱门应紧闭,非必要时不能打开。

12. 用实验动物进行实验时,不许戏弄动物。进行杀死或解剖等操作,必须按照规定方法进行。绝对不能用动物、手术器械或药物开玩笑。

13. 使用贵重仪器如天平、比色计、离心机等,应十分小心,加倍爱护。使用前,应熟知使用方法。若有问题,随时请指导实验的人员指导。使用时,要严格遵守操作规程。发生故障时,应立即关闭仪器,请示报告,不得擅自拆修。

第三节 常用仪器的使用

一、容量仪器的使用和校正

1. 量筒 量筒为粗量器,不能用来配制标准溶液,仅能用作粗略地度量液体体积。用量筒时,要根据所量溶液多少来选择,不可使用过大量筒量取较小体积,如用 500 ml 量筒量取 5 或 10 ml 溶液,显然误差太大。读数时,视线必须与溶液凹月面成一水平面,不可过高过低,量筒为粗量器,勿须校正。

2. 量瓶

(1)量瓶的使用方法:量瓶用于配制一定体积的溶液,主要用于制备标准溶液。瓶颈上有一刻度,加入液体达此刻度时,就相当于瓶上所表明的温度(通常为 20℃)时的体积。使用量瓶时,不要把溶质直接倒入量瓶然后加水至刻度,而应使溶质首先在小烧杯中加少量水溶解,再把溶液沿玻棒引入量瓶。在量瓶内,可事先加水至其容积的 2/3 或 1/2。磨口的瓶塞,应事先检查是否漏水。盖上塞子后,用食指或手心顶住瓶塞,倒置量瓶,并不时摇动和翻转量瓶,以使溶液充分混匀,然后加水至刻度。

注意:①当添加液体接近量瓶刻度时,要换用滴管小心滴加至刻度;②若在溶解过程中放热,则必须待溶液冷至室温后,再倒入量瓶内;若溶解时吸热,操作也相同;③配制蛋白质溶液时,应将蛋白质溶解后,沿壁缓缓加水至刻度,再混匀,以免出现大量泡沫,影响观察刻度;④量瓶不准加热,若需要加热溶解,则必须事先在烧杯中进行,冷却后再倒入;⑤量瓶用毕要立即洗净,不必烘干;⑥不准用量瓶储存溶液,溶液应倒入试剂瓶中储存;⑦量瓶塞不得任意更换,用毕后必垫以纸条,将塞盖好。⑧有的量瓶颈上有两个刻度,上刻度为倾出液体的体积,称为卸量;下刻度表示容量,称为装量。

(2)量瓶的校正方法:通常采用下述几种方法进行校正。

①洗净容量瓶,自然干燥后称其重量,然后盛入蒸馏水至刻度处,用滤纸吸去附着于瓶颈内壁之水珠,再称其重量,按照水在校正温度下之密度求得容量(称重准确至 0.01 g 即可)。

②洗净容量瓶晾干后称重,加入相当于准确容量的蒸馏水,观察其水面的凹月面是否恰在刻度上。若在刻度外,则用玻璃刀在凹月面切线处刻一条线代替原来的刻度。

③将容量瓶洗净晾干,然后用移液管吸取蒸馏水放入量瓶(例如以 5 ml 移液管校正 50 ml 容量瓶须取 10 次),待量瓶内之液面静止后,再用玻璃刀在液体凹月面处刻一切线,此线即代替原来的刻度。

3. 滴定管 滴定管有带玻璃塞的酸溶液滴定管和带橡皮管的碱溶液滴定管两种。不能用酸溶液滴定管装盛碱性溶液,以免将玻璃塞腐蚀。如必须使用,用完必须立刻用水洗净。

常量滴定管,常用的有 25 ml 及 50 ml 两种。这两种滴定管的最小刻度单位是 0.1 ml,滴定后读数时可以估计到小数点后 2 位数字,即液体体积可量至 0.01 ml。半微量滴定管,常用的是 2 ml 及 5 ml 的滴定管,最小刻度单位是 0.01~0.02 ml,读数可到小数点后第 3 位数字。

(1) 滴定管在使用前的处理

①使用前要冲洗干净,重铬酸钾-硫酸洗液浸泡后,以自来水多次冲洗,再用蒸馏水冲洗 2~3 次。

②将玻璃塞和活塞孔擦干,在活塞上涂一薄层凡士林,然后将活塞轻轻插入活塞套孔,再旋转 2~3 次,使凡士林散开。注意,凡士林不能涂得太多,以免将活塞小孔堵塞;也不能涂得太多,以免活塞不能润滑地转动,甚至遗漏溶液。涂好油的活塞应当是润滑而透明的,然后,用橡皮筋扎好,以防活塞脱落。装好活塞后应装满蒸馏水,检查活塞是否漏水,转动是否灵活。

③用蒸馏水洗涤后,在使用前还必须用操作溶液再洗涤滴定管 2~3 次。

④滴定管必须垂直,滴定台要以白磁板或白纸衬托。

(2) 滴定操作

①首先检查滴定管的出口管及其他部分有无气泡,如果有气泡要全部赶除。用滤纸吸去滴定管出口管尖端外面的液滴。

②滴定时左手控制玻璃塞;右手轻轻摇荡被滴定溶液的容器。

③滴定时溶液必须慢慢地从滴定管滴出。不能太快,更不应成液柱下注。滴定完了时,必须将出口管尖端轻触容器内壁,使悬而不下的一滴溶液也进入容器内。略停,再读数。读数时眼睛必须与溶液凹月面处在同一水平高度。

④滴定完毕后,应将滴定管中溶液放出,用自来水冲洗后,再用少量蒸馏水洗涤 1~2 次,然后装满蒸馏水至刻度以上,并将上口罩好,以便供下次使用。

(3) 滴定管的校正

①首先装满蒸馏水,然后按其刻度滴出一定量之蒸馏水于已预先称好的洁净干燥的称量瓶中,再称其重量,最后根据温度、重量、计算出体积。

②将滴定管以橡皮管与一吸量管相连接,吸量管 a 至 b 的刻度已经用称量法确定,先将滴定管吸量管充满蒸馏水,并使滴定管中水弯月面与零刻度相切,吸量管中水弯月面与 a 线相切,然后打开弹簧夹,使水恰充至 b 线,这时滴定管上之读数应相当于已确定的吸量管的容积,按上述操作反复进行,直到滴定管的最末读数。

若吸量管 a 至 b 的容量经称量法确定为 4.813 真实毫升,而相应滴定管的读数为 4.90 则滴定管每毫升等于 $4.813/4.90 = 0.982$ 真实毫升,假如第二次充满吸量管时降到 9.78,则在这段滴定管每毫升真实毫升数为 $4.813/(9.78 - 4.90) = 0.986$ 。根据这些实验数据作成一个表,以供操作之用。

4. 吸管 吸管为精密卸量容器,生化实验中经常使用。

(1) 移液管(单刻度吸管)

①普通单标吸管:它的中部有一圆柱状空泡,只能量全量。当所量取的液体自行流出后,使吸管尖端在受器内壁上停留 3~5 s,所余少量液体不必吹出。因为其固定倾出容量已经检定。