

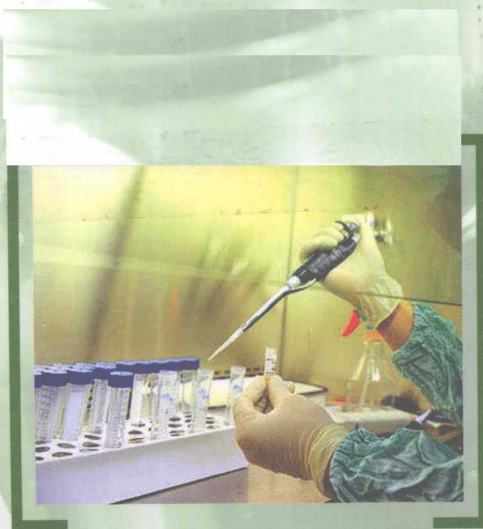


全国应用型本科院校化学课程统编教材

生物化学实验教程

Biological Chemistry Experiments

王金亭 方 俊 主编



华中科技大学出版社

<http://www.hustp.com>

生物化学实验教程

主 编 王金亭 方 俊
副主 编 李 峰 张小菊 夏 婷 周存山
编 委 (按姓氏笔画排序)
 王金亭 方 俊 刘鹏举 吴广庆
 张小菊 杜希华 李 峰 李雪雁

华中科技大学出版社
中国·武汉

内 容 简 介

全书包括两篇共 10 章。第一篇是生物化学实验基础,主要是规范学生实验行为,介绍传统的、现代的生物化学实验技术。第二篇是生物化学实验,按照配套教材《生物化学》的知识体系,根据参编院校实验目录和部分文献,选编了 62 个实验,包括基础性实验、综合性实验和设计性实验。最后是附录,选择了常用的实验数据共 26 个表格供参考。本书可作为全国应用型本科院校各类理工科专业生物化学实验教材或参考书。

图书在版编目(CIP)数据

生物化学实验教程/王金亭 方 俊 主编. —武汉:华中科技大学出版社,2010.8
ISBN 978-7-5609-6431-7

I. 生… II. ①王… ②方… 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(2010)第 142589 号

生物化学实验教程

王金亭 方 俊 主编

策划编辑:王新华

责任编辑:程 芳

封面设计:潘 群

责任校对:朱 玢

责任监印:周治超

出版发行:华中科技大学出版社(中国·武汉)

武昌喻家山 邮编:430074 电话:(027)87557437

录 排:武汉正风图文照排中心

印 刷:武汉首壹印务有限公司

开 本:787mm×1092mm 1/16

印 张:16.25

字 数:422 千字

版 次:2010 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

定 价:26.00 元



本书若有印装质量问题,请向出版社营销中心调换
全国免费服务热线:400-6679-118 竭诚为您服务
版权所有 侵权必究

全国应用型本科院校化学课程统编教材

编 委 会

(排名不分先后)

- | | |
|-----|-----------------|
| 李青山 | 吉林大学珠海学院,教授 |
| 潘祖亭 | 武汉大学东湖分校,教授 |
| 李向荣 | 浙江大学城市学院,教授 |
| 孙延一 | 电子科技大学中山学院,教授 |
| 矫庆泽 | 北京理工大学珠海学院,教授 |
| 卢昌义 | 厦门大学嘉庚学院,教授 |
| 钱晓良 | 华中科技大学文华学院,教授 |
| 熊双贵 | 北京中医药大学东方学院,教授 |
| 李 伟 | 南京中医药大学,教授 |
| 陈昭国 | 武汉理工大学华夏学院,教授 |
| 尹 权 | 中南民族大学工商学院,教授 |
| 张 龙 | 长春工业大学,教授 |
| 曹 枫 | 湖州师范学院,教授 |
| 黄朝表 | 浙江师范大学,教授 |
| 李克华 | 长江大学工程技术学院,教授 |
| 王允祥 | 浙江农林大学,教授 |
| 罗永明 | 江西中医学院,教授 |
| 孙庆杰 | 青岛农业大学,教授 |
| 黄建华 | 河南科技学院,教授 |
| 李 峰 | 湖南文理学院,教授 |
| 高之清 | 聊城大学东昌学院,教授 |
| 刘灿明 | 湖南农业大学,教授 |
| 唐星华 | 南昌航空大学,教授 |
| 王玉田 | 辽宁医学院,教授 |
| 酆文思 | 成都理工大学工程技术学院,教授 |

前 言

生物化学是生命科学、生物技术、生物工程、食品工程、应用化学,以及农、林、医等专业的基础学科。生物化学是以实验为基础的学科,生物化学实验的技术和方法直接推动了生物化学科学的发展。相对于理论教学,生物化学实验的教学具有实践性、综合性和创新性。生物化学实验教学的宗旨是让学生掌握生物化学的基本实验方法和基本技能,培养学生观察问题、分析问题和解决问题的能力,培养学生严谨、务实、创新的科学作风,为日后从事相关工作和研究奠定坚实的知识基础。

独立学院是我国高等教育改革的新成就,独立学院的教材建设是独立学院人才培养的重要组成部分。为适应独立学院“教学应用型”的定位,华中科技大学出版社组织相关院校一线教师,结合多年的实验教学经验,围绕“宽口径、应用型、高素质”的目标,突出实用、适用、够用和创新的“三用一新”特点,共同编写了这本生物化学实验教程。

本教材共分两篇 10 章。第一篇是生物化学实验基础,主要是规范学生实验行为,介绍传统的、现代的生物化学实验技术。第二篇是生物化学实验,根据参编院校实验目录和部分文献,选编了 62 个实验,包括基础性实验、综合性实验和设计性实验。选编这些实验,一是为了充分将生物化学技术应用于实验教学,二是为了配合本系列统编教材《生物化学》的编排体系,三是为了适应应用型本科院校学生的特点、适应各地独立学院发展的不均衡性,方便各校有选择性地开展实验教学。设计性实验均为编者在科研或指导学生课题研究中据实设计的,旨在培养部分学生的科研、创新能力。最后是附录,附以生物化学实验中常用的实验数据。本书可作为全国应用型本科院校各类理工科专业生物化学实验教材或参考书。

参加本书编写的单位有聊城大学东昌学院、湖南农业大学、湖南文理学院、华中科技大学武昌分校、吉林大学珠海学院、浙江农林大学、山东师范大学、沈阳农业大学、电子科技大学中山学院和中南民族大学工商学院。具体编写分工如下:王金亭编写第 1、2 章,方俊、周晓明、胡超编写第 3 章第 4、5 节和实验 4、11、16、17、18、22、25、36、50、53、59,李峰编写第 3 章第 1、2 节和实验 10、20、58,张小菊编写第 3 章第 3、6 节和实验 24、51、52、54、60,夏婷编写实验 3、19、28、41、55、56,周存山编写实验 37、38、39、40、48、49、62,吴广庆编写实验 1、2、6、7、8、15、21、29、30、35、57,李雪雁编写实验 5、9、12、14、26,杜希华编写实验 27、42、43、61,林佳编写实验 23、44、45、46、47,刘鹏举编写实验 13、31、32、33、34。附录部分由王金亭、杜希华和方俊提供。最后由王金亭负责全书的统稿,王金亭和方俊共同定稿,吴广庆也参与了部分校正工作。华中科技大学出版社对本教材的编写给予了大力支持与帮助,在此表示感谢。同时对选用的参考文献及有关材料的作者也表示衷心的感谢。

由于水平和经验有限,本书难免存在不足之处,敬请使用本教材的广大师生和读者批评指正。

编 者

2010 年 5 月

目 录

第一篇 生物化学实验基础

第 1 章 生物化学实验的基本知识	(3)
1.1 实验室规范	(3)
1.2 玻璃仪器	(6)
1.3 生物化学实验常用仪器	(11)
第 2 章 生物化学实验的基本要求	(19)
2.1 实验样品的制备	(19)
2.2 实验的准确性与误差	(24)
2.3 实验记录和实验报告	(26)
第 3 章 生物化学基本实验技术	(28)
3.1 层析技术	(28)
3.2 电泳技术	(36)
3.3 离心技术	(42)
3.4 膜分离技术	(49)
3.5 光谱学技术	(53)
3.6 其他生化实验技术	(63)

第二篇 生物化学实验

第 4 章 蛋白质	(73)
实验 1 氨基酸和蛋白质的呈色反应	(73)
实验 2 蛋白质等电点的测定和沉淀反应	(77)
实验 3 血清蛋白盐析及分子筛层析脱盐	(79)
实验 4 蛋白质含量的测定	(81)
I 双缩脲法测定蛋白质含量	(81)
II 考马斯亮蓝结合法测定蛋白质含量 (Bradford 法)	(83)
III 紫外光吸收法测定蛋白质含量	(85)
IV 微量凯氏定氮法测定总蛋白含量	(86)
实验 5 氨基酸的分离鉴定	(88)
I 纸层析分离鉴定氨基酸	(88)
II 离子交换层析分离混合氨基酸	(89)
实验 6 血清蛋白的醋酸纤维素薄膜电泳	(91)
实验 7 DNS-氨基酸的制备和鉴定	(93)

实验 8	DNP-氨基酸的制备和鉴定	(96)
实验 9	用 DNS 法鉴定蛋白质或多肽的 N-端氨基酸	(98)
实验 10	SDS-聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳分离细菌总蛋白质	(100)
实验 11	SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定蛋白质的相对分子质量	(102)
实验 12	牛乳中蛋白质的提取与鉴定	(106)
实验 13	大豆蛋白的提取与含量测定	(107)
第 5 章	核酸	(110)
实验 14	核酸含量的测定	(110)
I	定磷法定量测定核酸	(110)
II	地衣酚法定量测定 RNA	(112)
III	二苯胺法测定 DNA 含量	(113)
实验 15	过碘酸氧化法定量测定核苷酸	(114)
实验 16	酵母核糖核酸的分离及组分鉴定	(117)
实验 17	菜花(花椰菜)中核酸的分离和鉴定	(119)
实验 18	动物肝脏中 DNA 的提取	(121)
实验 19	碱裂解法小量提取质粒 DNA	(123)
实验 20	DNA 琼脂糖凝胶电泳	(124)
实验 21	AMP、ADP 和 ATP 的分离	(126)
I	薄层层析分离 AMP、ADP 和 ATP	(126)
II	醋酸纤维素薄膜电泳鉴定 AMP、ADP、ATP	(128)
第 6 章	酶学	(130)
实验 22	酶的特性实验	(130)
实验 23	米氏常数测定	(131)
I	脲酶米氏常数的简易测定	(131)
II	过氧化氢酶米氏常数的测定	(133)
III	胰蛋白酶米氏常数的测定	(135)
实验 24	酶活力的测定	(136)
I	液化型淀粉酶活力的测定	(136)
II	薄层层析法鉴定转氨酶活性	(138)
III	分光光度法测定血液中转氨酶的活力	(139)
实验 25	酶的制备	(142)
I	乳酸脱氢酶粗提液的制备及活力测定	(142)
II	枯草杆菌碱性磷酸酶的制备及酶活力的测定	(143)
III	马铃薯多酚氧化酶的制备及性质实验	(146)
实验 26	酶的固定化及对酶活性的影响	(148)
实验 27	琥珀酸脱氢酶竞争性抑制	(150)
实验 28	蔗糖酶纯度和相对分子质量测定(SDS-PAGE 电泳法)	(152)

第 7 章 维生素和辅酶	(155)
实验 29 紫外分光光度法测定鱼肝油中维生素 A 的含量	(155)
实验 30 食物中脂溶性维生素含量分析(高效液相色谱)	(156)
实验 31 维生素 B ₁ 的定性测定	(159)
实验 32 维生素 B ₁ 的含量测定	(160)
实验 33 荧光光度法测定维生素 B ₂ 的含量	(162)
实验 34 测定维生素 C 的含量	(163)
I 2,6-二氯酚靛酚滴定法测定维生素 C 的含量	(163)
II 铜离子氧化法测定维生素 C 的含量	(165)
III 磷钼酸法测定维生素 C 的含量	(166)
实验 35 辅酶 Q ₁₀ 的制备和检测	(168)
实验 36 分离层析仪分离核黄素和血红蛋白	(170)
第 8 章 生物能学和物质代谢	(173)
实验 37 丙酮酸含量的测定(分光光度法)	(173)
实验 38 发酵过程中无机磷的利用	(174)
实验 39 肌糖原酵解作用	(175)
实验 40 糖酵解中间产物的鉴定	(177)
实验 41 脂肪酸的 β -氧化	(178)
实验 42 2,6-二氯酚靛酚显色反应测定电子传递	(180)
实验 43 乳酸脱氢酶的递氢作用	(181)
第 9 章 综合性实验	(184)
实验 44 糖的颜色反应	(184)
I Molisch 反应鉴定醛糖	(184)
II Seliwanoff 反应鉴定酮糖	(185)
III Tollen 反应鉴定戊糖	(186)
实验 45 血糖含量的测定	(187)
I Folin-Wu 法测定血糖含量	(187)
II Folin-Malmors 法测定血糖含量	(188)
III 邻甲苯胺法测定血糖含量	(190)
IV GOD-PAP 法测定血糖含量	(192)
实验 46 总糖和还原糖含量的测定	(193)
I 蒽酮比色法测定糖的含量	(193)
II 斐林试剂比色法测定糖的含量	(195)
实验 47 脂类的测定	(197)
I 索氏抽提法测定粗脂肪含量	(197)
II 脂肪酸的测定	(199)
III 血清甘油三酯简易测定法	(200)

IV 醋酸酐法测定血清中胆固醇含量	(201)
实验 48 天然产物中多糖的分离、纯化与鉴定	(203)
I 多糖的提取、纯化	(203)
II 多糖的鉴定	(204)
实验 49 血清蛋白的分离、纯化与鉴定	(205)
实验 50 凝胶层析法分离纯化脲酶	(209)
实验 51 小麦萌发前后淀粉酶活力的比较	(212)
实验 52 质粒 DNA 的分离、纯化及鉴定	(214)
实验 53 多聚酶链式反应(PCR)技术扩增目的基因片段	(217)
实验 54 重组质粒 DNA 的转化	(219)
实验 55 感受态细胞的制备及转化	(221)
实验 56 DNA 的酶切分析	(223)
实验 57 植物总黄酮的提取与测定	(225)
第 10 章 设计性实验	(227)
实验 58 半定量 RT-PCR 检测基因的表达差异	(227)
实验 59 卵磷脂的提取和鉴定	(229)
实验 60 强酸性阳离子交换树脂在废水处理中的应用	(231)
实验 61 转基因植物的 PCR 鉴定	(233)
实验 62 三聚氰胺含量的测定	(234)
附录	(235)
附录 A 缓冲液的配制	(235)
附录 B 常用实验数据表	(240)
附录 C 硫酸铵饱和度常用表	(245)
附录 D 层析技术实验数据	(246)
参考文献	(249)

第一篇

生物化学实验基础

第1章 生物化学实验的基本知识

1.1 实验室规范

1.1.1 实验室规则

1. 实验室守则

(1) 实验室是实验教学和科学研究的重要基地,要求布局科学合理,设施设备完好,电路、水路、气路规范,通风、照明符合要求,环境整洁、优美、安全。

(2) 进入实验室学习、工作的学生、教师,必须遵守实验室各项规章制度。

(3) 建立健全各种管理制度,明确责任人,明确实验室工作流程。经常开展安全教育活动,安装醒目的安全警示标志,制订应急预案,保持安全通道畅通。

(4) 实验室的仪器设备,由专人管理维护,保证设备的完好率;使用仪器设备必须严格遵守操作规程,违者管理人员有责任停止其使用。

(5) 仪器设备损坏、丢失以及实验耗材的正常耗损,要及时上报,按有关规定处理。

(6) 实验室的物资,应妥善保存、管理,特别对有毒、有害、易燃、易爆物品和贵重金属等,要求专人严格管理,专门存放,严格领用,严防意外事故的发生。

(7) 实验进行中,实验人员不得擅自离开岗位,确需离开时,应交代其他同志照管并讲明注意事项。

(8) 实验室内保持安静、整洁、卫生,严禁喧哗,不得吸烟、饮食。

(9) 保护实验室环境,妥善处理实验室“三废”。

(10) 实验结束后,关闭水、电、气阀门,切断水源、电源、气源。

2. 指导教师守则

(1) 实验指导教师是指承担实验课教学的教师,由课程组负责安排。

(2) 实验指导教师进入实验室,必须遵守实验室管理制度,穿戴统一的实验服装,按照实验室工作流程开展实验教学。

(3) 实验指导教师必须在开学初、实验前主动与实验室管理人员联系,提交实验计划备案,以便实验室人员做好仪器、药品的调配并协助工作。

(4) 实验指导教师必须在正式实验前做完预备实验,并留存记录。

(5) 实验指导教师负责实验计划、实验报告、实验考核和实验运行记录等实验教学环节的实施;指导教师必须现场指导学生开展实验,对学生实验期间的安全负责。

3. 学生实验守则

(1) 学生进入实验室进行实验学习,必须严格遵守实验室各项规章制度,穿戴学校统一的实验服装,服从教师指导和管理,注意安全。

(2) 保持实验室整洁、安静,严禁喧哗、打闹,不得吸烟、饮食、随地吐痰、乱扔纸屑和其他杂物。

(3) 实验前必须认真预习,明确实验目的、原理和操作步骤及注意事项,熟悉仪器设备性能及操作规程,经指导教师允许,方可开始实验。

(4) 实验时必须遵守操作规程,认真观察、准确记录、注意安全,未经教师允许,不得擅自离开岗位,实验中发生异常情况要及时报告指导教师。

(5) 实验过程中不做与实验无关的事情,不妨碍他人实验。

(6) 爱护实验仪器设备,节约水、电和耗材,损坏仪器设备,应按有关规定进行赔偿。

(7) 实验结束后,应及时切断电源、水源、气源,整理好仪器设备和器材,做好清洁工作。实验教师检查仪器设备、工具、材料及实验记录后,经允许方可离开。

4. 实验操作须知

(1) 挪动干净玻璃仪器时,勿使手指接触仪器内部。

(2) 容量瓶不要用作盛器,容量瓶等带有磨口玻璃塞,不要把塞子盖错,如果暂时不用,要用纸条把瓶塞和瓶口隔开。

(3) 洗净的仪器要放在干净的纱布或仪器架子上晾干,切忌用抹布擦拭仪器内壁。

(4) 不要用纸片覆盖烧杯和锥形瓶等,不要用滤纸称量药品,也不能用滤纸记录。

(5) 配制试剂要贴标签,标签纸要与试剂瓶大小相当,标签上注明试剂名称、规格、浓度、日期、时间及配制人,粘贴在细长容器的上部、烧杯、试剂瓶的 2/3 位置处。

(6) 需要在玻璃仪器上作标记时,使用铅笔时要在磨砂玻璃处标记,使用签字笔时要在光滑面上标记。

(7) 取用试剂或标准溶液后,要立即将瓶塞盖严并放回原处;取出的试剂或标准溶液如未用完,切勿倒回试剂瓶。

(8) 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,应紧闭通风橱门,必要时不宜打开。

(9) 进行动物活体实验或解剖动物时,要尊重动物。

(10) 使用贵重仪器、精密仪器前,应熟知使用方法,严格遵守操作规程,出现问题及时报告指导教师,发生仪器故障应立即关闭仪器,停止使用。

1.1.2 实验室安全及一般事故的处理

1. 实验室安全知识

生物化学实验用药品中,很多是易燃、易爆、有毒或有腐蚀性的危险品,必须高度重视安全问题,严格遵守实验安全守则。

(1) 学生实验前必须充分了解实验中的安全注意事项,了解哪些药品是危险品,哪些化学反应是有危险性的,牢记操作的安全注意事项;实验开始前,指导教师必须重申实验中应特别注意的安全事项,明确安全、正确的操作方法。

(2) 使用电器时,要防止人体与电器导电部位直接接触,不能用湿手或手握湿物接触电插头,实验后应立即切断电源。

(3) 使用易燃、易爆药品时要远离明火并避免各种火星产生,须点燃的气体要了解其爆炸极限并检验其纯度,用毕立即按规范封存。

(4) 使用有毒药品时要戴手套,操作后立即洗手,不得将毒品触及五官和伤口,产生有刺激性或有毒气体的实验必须在通风橱内进行。

(5) 取用浓酸、浓碱等强腐蚀性物品时,切勿溅在皮肤或衣服上,特别要注意保护眼睛。

(6) 使用氢气钢瓶、酒精喷灯时,注意随时检查其连接导管,一旦发现异常要立即熄灭火源,开窗通风,并报告教师。

(7) 实验室内严禁饮食、吸烟,严禁任意混合各种化学药品,严禁将剩余药品带出室外,严格遵守药品尤其是危险品的开启、取用、稀释、混合、研磨、存放、交还等各种操作规程。

(8) 水、电、气使用完毕立即关闭,指导教师和实验员在锁门前要再次检查水、电、气等是否关闭。

(9) 实验过程中,如发生安全事故,应立即报告教师,并采取适当急救措施。

2. 化学试剂伤害的处理

实验时稍有不慎,化学试剂可能溅到皮肤上或眼睛内,首先要实施急救,消除化学试剂的伤害,然后送医院,常见的皮肤灼伤处理办法主要有以下几种。

被酸灼伤:先用流水冲洗,再用3%~5%碳酸氢钠溶液或5%氨水擦洗,最后用流水冲洗,严重时消毒,拭干后涂烫伤油膏。

被碱灼伤:先用流水冲洗,再用5%硼酸溶液或2%醋酸溶液擦洗,最后用流水冲洗,严重时处理同上。

被溴灼伤:先用流水冲洗,再用酒精擦至无溴液存在,最后涂上甘油或烫伤油膏。

如果是眼睛受到伤害,由于角膜比较敏感,急救用消除伤害的特殊试剂浓度一定要低,消除酸伤害可用1%碳酸氢钠溶液,消除碱伤害可用1%醋酸溶液,急救后立即送医院进一步救治。

3. 毒物伤害的处理

吸入有毒气体:首先转移至室外,解开衣领及纽扣,吸入煤气者深呼吸换气即可,严重中毒者需进行人工呼吸并送医院;吸入少量氯气或溴者,可用碳酸氢钠溶液漱口。

误食有毒物质:有毒物质误入口中,未咽下的立即吐出,并用水漱口;如不慎吞下,应根据毒物性质给以解毒剂,并立即送医院。对腐蚀性毒物,先饮大量水,如强酸则服用弱碱性药物、鸡蛋白,强碱则服用醋、酸果汁、鸡蛋白,然后不论酸、碱皆给以牛奶灌注,不要服用呕吐剂。对刺激剂及神经性毒物,先用牛奶或鸡蛋白缓和毒性,再用手指伸入喉部或服用硫酸镁(约30 g溶于一杯水中)催吐,然后立即送医院。

4. 机械损伤的处理

刀具、玻璃或其他机械损伤时,首先要去除伤口中的异物,再用蒸馏水冲洗,切勿用手揉动,然后涂上碘酒或红药水并包扎,大伤口则应先按紧主要血管以防止大量出血,然后立即送医院。

5. 其他事故的处理

触电:发生触电事故,首先要切断电源,或用绝缘的木棍、竹竿等使触电者与电源脱离。在没有断开电源时,不可直接接触触电者,以确保施救者自身安全。

失火:起火后要保持镇静,首先果断地采取相应措施,如切断电源、停止通风、移走易燃物品等,防止火势扩展或引发其他事故,同时立即组织实施灭火。灭火的方法要适当,一般的小火可用湿布、石棉布或沙子覆盖燃烧物,火势较大可使用灭火器,但电器设备起火只能使用CO₂或CCl₄灭火器;酒精或其他易溶液体着火时,可用水灭火;汽油、乙醚、甲苯等比水轻的有机溶剂或与水发生剧烈作用的化学药品着火时,不能用水急救,应用石棉布、沙土灭火;衣服着火时,要赶快脱下衣服或就地卧倒打几个滚,或用石棉布覆盖着火处,伤者须送医院治疗。

烫伤:一般可涂抹苦味酸软膏或医用橄榄油,如果出现水泡,不要挑破以免感染,如伤处皮肤变色要急送医院救治。

1.2 玻璃仪器

1.2.1 玻璃仪器的清洗

生物化学实验需要大量的玻璃仪器,实验用仪器不清洁或被污染会产生实验误差,直接影响实验结果,甚至导致实验失败。因此,玻璃仪器的清洗不仅是实验前后的常规工作,也是一项重要的基本技术。下面分三种情况介绍常见玻璃仪器的清洗方法。

1. 新购玻璃仪器的清洗

新购买的玻璃仪器表面常有灰尘,或附有游离的碱性物质,使用前可先用 0.5% 的去污剂刷洗,再用自来水洗净,然后浸泡在 1%~2% 盐酸中过夜(或 2~6 h),再用自来水充分冲洗,最后用蒸馏水冲洗两次,在 100~120 °C 的烘箱内烘干备用。

2. 重复使用玻璃仪器的清洗

(1) 试管、烧杯、锥形瓶、量筒的清洗:先用自来水冲洗,再用毛刷蘸取去污粉或洗涤剂刷洗,将器皿内外壁细心地刷洗,使其尽量多地产生泡沫,然后用自来水洗干净,洗至容器内壁光洁不挂水珠为止,最后用蒸馏水冲洗 2~3 次,晾干备用。

(2) 带有磨口塞的玻璃仪器的清洗:容量瓶等带有磨口塞,塞与瓶是配套的,洗涤时注意不要张冠李戴,应当用橡皮筋联系起来。清洗后如果暂时不用,应在塞与磨砂瓶口处用纸条隔开,以免使用时打不开。

(3) 滴定管、移液管的清洗:这类仪器口小、管细,不适合用试管刷清洗,污物干涸后很难清除,使用后须立即清洗。清洗方法是,用流水冲洗后,在洗涤液中震荡几分钟,再次冲洗并沥干,若仍有污物可用铬酸洗液浸泡过夜,然后用自来水反复冲洗,最后用蒸馏水冲洗 2~3 次,晾干备用。

(4) 比色皿的清洗:石英或玻璃比色皿要求良好的透光性,不能用试管刷或粗糙的纸擦洗,可用棉棒作刷洗工具,用自来水反复冲洗,如不干净可用 1%~2% 的去污剂浸泡,如沾有有机污物,可用盐酸-乙醇混合液浸泡,再用自来水冲洗干净,直至外壁不挂水珠,冲洗后倒置晾干备用。注意:不能用强碱或强氧化剂清洗,也不能用超声波清洗。

3. 其他玻璃仪器的清洗

对于比较脏或不方便刷洗的仪器,先用流水冲洗去除污物,如果沾有凡士林或油污先用软纸擦除,再用有机溶剂(如乙醇、乙醚)擦净,然后冲洗沥干,放入铬酸洗液浸泡过夜,取出后充分冲洗干净。

对于病毒、细菌、血清污染的容器,先高压消毒后再进行清洗;对于盛装有毒药品,特别是剧毒药品或放射性物质的容器,必须经过专门处理后,方可进行清洗。

另外,聚乙烯、聚丙烯等塑料器皿,在生物化学实验中应用得越来越多。首次使用时,可先用 8 mol/L 尿素(用浓盐酸调 pH=1)清洗,接着依次用去离子水、1 mol/L KOH 溶液和蒸馏水清洗,然后用 3~10 mol/L EDTA 溶液去除金属离子的污染,最后用蒸馏水彻底清洗;以后反复使用时,可只用 0.5% 的去污剂清洗,然后用自来水和蒸馏水洗净即可。

4. 常用的玻璃仪器洗涤液

生物化学实验中常用的洗涤液主要有以下几种。

(1) 合成洗涤剂:是最常用的洗涤剂,主要利用其乳化作用来除去污垢,一般玻璃仪器均

可用其洗涤,最好用热的清洗液。

(2) 工业浓盐酸:常用来清洗水垢或无机盐沉淀。

(3) 有机溶剂:乙醇、丙酮、乙醚等常用来洗涤油脂、脂溶性污物;二甲苯可用来清洗油漆。

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

(5) 45%的尿素洗液: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。

(6) 铬酸洗液(重铬酸钾-硫酸洗液,简称铬酸洗液):广泛用于玻璃仪器的洗涤,其清洁效力来自于它的强氧化性(Cr^{6+})和强酸性,铬酸洗液可反复多次使用。铬可致癌,铬酸洗液具有强腐蚀性,使用时应注意安全。使用铬酸洗液时应注意以下几点。①需用洗液浸泡的容器,在浸泡前应尽量沥干,否则会因洗液被稀释而降低洗液的氧化力。② Hg^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Pb^{2+} 等离子可与洗液发生化学反应,生成不溶性化合物,沉积在容器壁上,因此凡接触过上述离子的容器,应先除去上述离子(可用稀硝酸或5%~10%EDTA溶液去除)。③油类、有机溶剂等有机物可使洗液还原失效,故容器壁上附有油类、有机污物时应先除去。④洗液的酸性和氧化性很强,千万不要滴落在皮肤或衣物上,以免灼伤或烧坏。⑤洗液颜色由深棕色变为绿色时,说明重铬酸已变成硫酸铬,不再具有氧化性,洗液已经失效,应停止使用,并更换新液或补加浓硫酸。

铬酸洗液的主要成分是重铬酸钾、水和浓硫酸,配制比例详见表1-1。重铬酸钾需要研碎以促进溶解,研磨时要在通风橱内进行,以免吸入体内;没有水,则洗液不稳定,密闭放置一个月,会析出大量 CrO_3 红色沉淀;浓硫酸具有保持洗液强氧化性的作用,可用工业级或化学纯级,不必用分析纯级。配制时,先用水溶解重铬酸钾,水温 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 比较合适,然后边搅拌边慢慢加入工业级硫酸(98%),加入硫酸时最好少量多次,每次不超过 10 mL 。注意:此时可产生高热,为防止容器破裂,应选用耐高温的玻璃器皿,切忌用量筒及试剂瓶等配制。

表 1-1 铬酸洗液配制比例

重铬酸钾/g	水/mL	浓硫酸/mL
5	5	100
10	100	30
20	40	400
80	1 000	100
200	500	500

(7) 5%~10%乙二胺四乙酸二钠(Na_2EDTA)溶液:利用EDTA和金属离子的强配位效应,加热煮沸可去除玻璃器皿内部钙、镁盐类的白色沉淀和不易溶解的重金属盐类。

(8) 乙醇-浓硝酸混合液:用于清洗一般方法难于洗净的有机物,最适合于洗涤滴定管。使用时,在滴定管中加入乙醇 3 mL ,然后沿管壁加入 4 mL 浓硝酸(相对密度 1.4),盖住滴定管口,利用产生的氧化氮洗净滴定管。

(9) 5%的草酸溶液:取 5.0 g 草酸晶体,溶于 100 mL 水中,加入数滴浓硫酸酸化后,可用来清洗高锰酸钾痕迹。

1.2.2 玻璃仪器的干燥

1. 晾干法

玻璃仪器洗净后,通常倒置在干净的仪器柜、托盘或纱布上,对于口径较小或倒置不稳的

仪器,倒插在试管架、格栅板上,置于通风干燥处自然晾干。

2. 吹干法

洗涤后需要立即使用的仪器,将水沥干后直接用吹风机吹干,也可先加入少量的乙醇后再用吹风机吹干,先吹冷风 1~2 min,再吹热风直至完全干燥。

3. 高温干燥法

烧杯、试管、培养皿、锥形瓶等普通玻璃仪器可置于烘箱内高温烘干,通常是将其清洗干净后沥干水分,置于烘箱隔板上,瓶口向上,箱内温度设置为 105 ℃,或倒插在烘干器上,烘至无水,降温后取出。

4. 低温烘干法

对于有刻度的离心管、滴定管、移液枪、量筒、容量瓶等不宜加热烘干,通常采用自然晾干或低温(60 ℃以下)干燥,置于烘箱内鼓风,烘至无水取出保存备用。分光光度计中的比色皿,四壁是用特殊的胶水黏合而成的,不易受热干燥,所以不能烘干。

1.2.3 玻璃量器的使用

1. 用于粗略量取液体的量筒和量杯

量筒和量杯是实验室常用的计量仪器,适合于量取要求不太严格的溶液的体积,可用于定性分析和粗略的定量分析实验。

量筒和量杯外壁上有刻度,规格以所能量取的最大容量(mL)表示,最大容积值刻于上方,没有“0”刻度,“0”刻度即为其底部。量筒管径上下一致,刻度均匀,规格有 5 mL、10 mL、25 mL、50 mL、100 mL、200 mL、250 mL、500 mL、1 000 mL、2 000 mL 共 10 种;规格越大,直径越大,读数误差越大。量杯管径上大下小,刻度上密下疏,规格有 5 mL、10 mL、20 mL、50 mL、100 mL、250 mL、500 mL、1 000 mL、2 000 mL 共 9 种。

使用量筒和量杯时应注意以下几点。

(1) 观察刻度时,应把仪器放在水平的桌面上,使视线、刻度线和仪器凹液面的最低点在同一水平面上,读取和凹面相切的刻度。

(2) 量取液体体积只是一种粗略的计量法,在使用中必须选用合适的规格,用大规格量取小体积和用小规格量取大体积都会人为增大误差。

(3) 仪器刻度是指室温 20 ℃时的体积数,温度升高可能发生热膨胀,容积会增大,因此绝不能用来加热或量取热的液体,也不宜在其中溶解物质、稀释和混合液体,更不能用作反应容器。

2. 用于配置一定量浓度的容量瓶

容量瓶又称量瓶,是用来配制一定体积、一定物质的量浓度溶液的精密计量仪器。

容量瓶为细颈、梨形、平底容器,带有磨砂玻璃塞或塑料塞,颈部刻有一条环形标线,以示液体定容到此处的体积。容量瓶的规格以容积表示,规格有 1 mL、2 mL、5 mL、10 mL、25 mL、50 mL、100 mL、200 mL、250 mL、500 mL、1 000 mL、2 000 mL 共 12 种,有白色、棕色两种颜色。使用容量瓶时应注意以下几点。

(1) 容量瓶的容积是特定的,刻度不连续,所以一种型号的容量瓶只能配制同一体积的溶液。在配制溶液前,先要弄清楚需要配制的溶液的体积,然后再选用相同规格的容量瓶。

(2) 使用前应检查是否漏水。具体方法是:注入半瓶水,把瓶口和瓶塞擦干,不涂任何油脂,塞紧瓶塞;用右手食指顶住瓶塞,拇指和其余三指抓住瓶颈,另一只手的五指托住容量瓶