

普通高等教育“十一五”国家级规划教材配套用



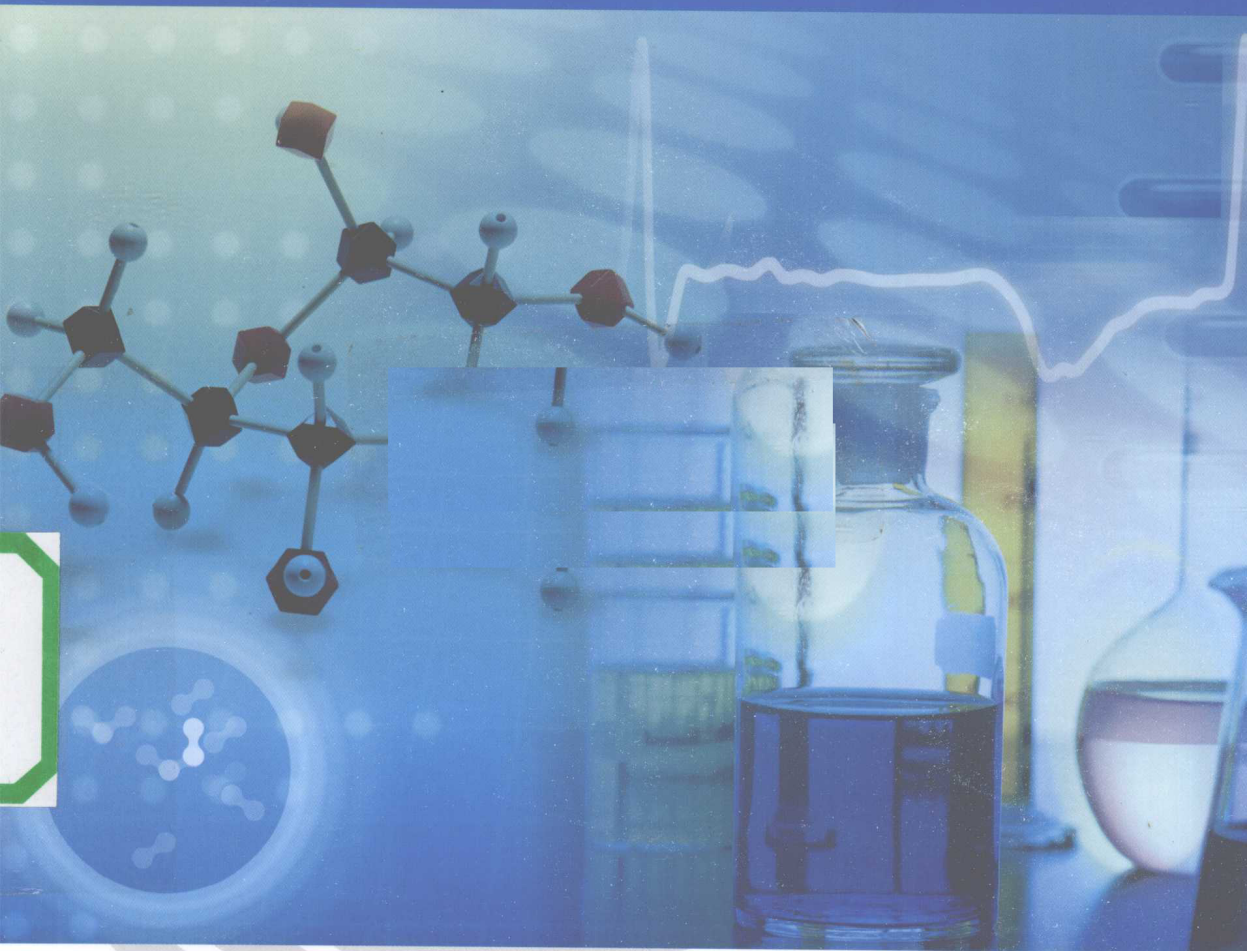
GAODENG ZHIYE JIAOYU JIAOCAI

• 高等职业教育教材 •

生物化学实验技术

SHENGWU HUAXUE SHIYAN JISHU

李巧枝 程绎南 主编



中国轻工业出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材配套用书
高等职业教育教材

生物化学实验技术

李巧枝 程绎南 主编



中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物化学实验技术/李巧枝, 程绎南主编. —北京:
中国轻工业出版社, 2010. 3

普通高等教育“十一五”国家级规划教材配套用书.
高等职业教育教材

ISBN 978 - 7 - 5019 - 7467 - 2

I. ①生… II. ①李…②程… III. ①生物化学 -
实验 - 高等学校: 技术学校 - 教材 IV. ①Q5 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 000824 号

责任编辑: 白 洁

策划编辑: 白 洁 责任终审: 张乃东 封面设计: 锋尚设计

版式设计: 王培燕 责任校对: 晋 洁 责任监印: 马金路

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 三河市世纪兴源印刷有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2010 年 3 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 720 × 1000 1/16 印张: 13

字 数: 262 千字

书 号: ISBN 978 - 7 - 5019 - 7467 - 2 定价: 22.00 元

邮购电话: 010 - 65241695 传真: 65128352

发行电话: 010 - 85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

90683J2X101ZBW

前 言

为了提高教学质量,满足普通高等教育“十一五”国家级规划教材《生物化学》配套建设的需要,适应当前社会对应用型技术人才的需求,特组织编写了《生物化学实验技术》一书。

21 世纪是生命科学的世纪,面对不断发展进步、日新月异的生物化学检测技术,本书的编写宗旨是:既力求体现其基本原理、基础知识、基本技能,又尽力融入具有科学性、先进性、启发性的实用新技术;根据时代发展对专业技术人才的需求,把生化知识和技能作为模块构建教材内容,搭建培养平台。生物化学检测技术,是生化理论与社会实践相结合的桥梁。通过学习,培养学生实验设计、综合运用、宏观思维和辩证分析问题的基本技术素质和工作技能。

本书的特点是:① 理论联系实际,努力把生物化学检测技术和当前的生产实践结合起来,尽量编入已经发展成熟的新技术、新方法,如应用酶抑制原理和酶联免疫理论进行农、兽药残留速测技术,应用分光光度法进行多种酶活性测定技术,应用高效液相色谱法测定维生素、氨基酸和农、兽药残留等技术。② 满足时代需求,根据生命科学发展对高级生化知识的需求,本教材还编入了基因工程研究所需要的 PCR 扩增技术,蛋白质组学研究所需的蛋白质双向电泳、氨基酸层析分离等技术。③ 明确学习目标,本书在每个单元和实验项目前均明确提出了“知识目标”和“技能目标”,以便使学生明确学习目的。

本教材共分 9 个单元,第一单元为生物技术实验要求与基本技能;第二单元至第八单元分别介绍了分光光度计术、电泳技术、层析技术、离心技术、生物大分子制备技术、膜分离技术、酶联免疫技术等的发展现状、基本原理、操作要点以及在生产实践中的应用;第九单元按照生物化学教学进程,编排了 40 余个实验项目,分别涵盖了糖类、蛋白质、酶、核酸、维生素和动态代谢等内容,其中包括许多生物活性物质的提取、分离、净化、制备和分析技术,可供不同学科、专业、研究测试单位选用。本书可作为高等院校生物技术、生物工程、动物医学、动物科学、饲料、环境、食品、卫检、制药、园林、农产品安全等相关专业的教材,也可作为相关专业人员的参考书。

本书编写分工:李巧枝副教授负责编写本书的大纲、前言以及全书的校稿和统稿工作;程绎南副教授负责编写单元二,单元四,单元九的酶学实验、脂类实验;何金环副教授负责编写单元五,单元九的氨基酸及蛋白质类实验、糖类及叶绿素实验;李祥副教授负责编写单元一,单元七,单元九的氨基酸及蛋白质类实验;雷志华老师负责编写单元三,单元六,单元九的维生素及激素类实验;王文

静副教授负责编写单元一，单元七，单元九的核酸类实验，附录；李华玮老师负责编写单元八和单元九的核酸类实验。

本教材在编写过程中承蒙郑州牧业工程高等专科学校、河南农业大学、郑州师范高等专科学校等单位的领导以及各位同仁鼎力相助，编者在此深表感谢。由于水平所限、时间仓促，书中难免有疏漏之处，真诚欢迎同行、专家和师生在使用过程中不吝指正、赐教，编者将不胜感激。

编者

目 录

单元一 生物技术实验要求与基本技能	1
一、实验室规则	1
二、实验记录及实验报告	2
三、实验误差与数据处理	3
四、玻璃仪器的洗涤及各种洗液的配制	5
五、常用仪器的使用方法	6
单元二 分光光度技术	14
一、光的基本知识	14
二、吸光度与透光率	15
三、朗伯 - 比尔 (Lambert - Beer) 定律	16
四、分光光度计结构简介	17
五、分光光度技术的应用	18
六、分光光度法的误差	20
单元三 电泳技术	21
一、电泳的基本原理	21
二、影响迁移率的主要因素	22
三、电泳的分类	24
四、几种常见的电泳法	25
五、电泳后的染色	30
六、电泳结果处理	32
单元四 层析技术	34
一、吸附层析	35
二、分配层析	36
三、离子交换层析	37
四、凝胶层析	40
五、亲和层析	45
六、高效液相色谱	47
单元五 离心技术	51
一、基本原理	51

二、离心机的性能及用途	53
三、离心方法	55
单元六 生物大分子制备技术	58
一、材料的选择和预处理	59
二、细胞的破碎及细胞器的分离	61
三、生物大分子的提取和分离纯化	63
四、样品的浓缩、干燥、保存及纯度鉴定	66
单元七 膜分离技术	70
一、基本原理	70
二、膜的性质	70
三、透析	71
四、超滤	71
五、电渗析	72
六、纳米过滤	72
单元八 酶联免疫技术 (ELISA)	73
一、基本原理	73
二、操作要点	75
单元九 生物化学实验项目	80
氨基酸及蛋白质类实验	80
实验一 薄层层析法分离鉴定氨基酸	80
实验二 纸层析法分离鉴定氨基酸	81
实验三 氨基氮的测定——甲醛滴定法	83
实验四 蛋白质的沉淀反应	85
实验五 蛋白质的两性反应和等电点测定	87
实验六 双缩脲法测定蛋白质含量	89
实验七 Folin - 酚试剂法测定蛋白质含量	91
实验八 考马斯亮蓝染色法测定蛋白质含量	92
实验九 紫外吸收法测定蛋白质含量	93
实验十 微量凯氏定氮法测定粗蛋白含量	95
实验十一 乙酸纤维素薄膜电泳法分离血清蛋白质	99
实验十二 蛋白质的脱盐技术	102
实验十三 酪蛋白的制备	105
实验十四 SDS - 聚丙烯酰胺凝胶 (CPAGE) 电泳测定蛋白质相对分子质量	106
实验十五 血清免疫球蛋白的分离纯化及鉴定	109

核酸类实验	114
实验十六 动物组织 DNA 的提取与含量测定	114
实验十七 酵母 RNA 的提取及定性定量鉴定	116
实验十八 质粒 DNA 的提取	119
实验十九 PCR 基因扩增技术	122
实验二十 DNA 琼脂糖凝胶电泳	124
酶学实验	125
实验二十一 温度、pH、激活剂、抑制剂对酶活性的影响	125
实验二十二 琥珀酸脱氢酶的作用及其竞争性抑制	127
实验二十三 血清乳酸脱氢酶同工酶的分离与测定	129
实验二十四 大蒜超氧化物歧化酶 (SOD) 的分离提取与活性测定	131
实验二十五 蛋白酶活力测定	134
实验二十六 大麦萌发前后淀粉酶活力的比较	136
实验二十七 酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定克伦特罗	138
实验二十八 酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定食品中磺胺二甲嘧啶残留	142
实验二十九 蔬菜上有机磷和氨基甲酸酯类农药残毒快速检测方法	145
维生素及激素类实验	147
实验三十 维生素 B ₂ 的定量测定 (荧光法)	147
实验三十一 维生素 C 的定量测定 (2, 6 - 二氯酚靛酚滴定法)	148
实验三十二 脂溶性维生素的测定 (高效液相色谱法)	151
实验三十三 畜禽肉中己烯雌酚残留的测定 (高效液相色谱法)	154
糖类及叶绿素实验	156
实验三十四 总糖和还原糖测定 (3, 5 - 二硝基水杨酸比色法)	156
实验三十五 费林试剂热滴定法测定还原糖	158
实验三十六 血糖的定量测定 (福林 - 吴宪法)	161
实验三十七 果胶的提取	163
实验三十八 叶绿素含量的测定 (分光光度法)	165
脂类实验	167
实验三十九 粗脂肪的定量测定 (索氏抽提法)	167
实验四十 卵磷脂的提取及鉴定	168
实验四十一 脂肪碘值的测定	169
实验四十二 脂肪酸价的测定	172
附录	173
一、常用溶液浓度的单位及计算	173

二、标准溶液的配制与标定·····	174
三、常用缓冲溶液的配制·····	176
四、一般化学试剂的分级·····	182
五、易变质和需要特殊方法保存的试剂·····	182
六、常用市售酸、碱的浓度·····	183
七、硫酸铵饱和度常用表·····	183
八、指示剂·····	184
九、元素的相对原子质量表·····	187
十、常见蛋白质主要参数·····	188
十一、常用凝胶数据表·····	190
十二、实验室分析用水规格及标准·····	193
十三、离心机转速与相对离心力的换算图·····	193
主要参考书目 ·····	195

单元一 生物技术实验要求与基本技能

知识目标:

1. 了解实验室规则及实验误差与数据处理方法。
2. 学会写实验记录和实验报告。
3. 掌握常用仪器的使用方法, 重点掌握分光光度计、离心机的使用。

一、实验室规则

① 实验前必须认真预习实验指导和有关理论, 明确实验目的、原理、预期的结果, 操作关键步骤及注意事项。

② 实验时要严肃、认真、专心进行操作, 注意观察实验过程中出现的现象和结果, 并如实记录下来, 根据实验结果进行科学分析。

③ 实验中对于贵重仪器要尽力爱护, 严格遵守操作规程, 如有仪器损坏必须登记。

④ 使用试剂应仔细辨认标签, 看清名称及浓度, 取出后, 立即将瓶塞盖好, 并放回原处, 未用完的试剂不得倒回瓶内。取标准溶液时, 应先将标准液倒入干净试管中, 再用清洁吸管吸取, 以免污染。

⑤ 使用有毒试剂及强酸强碱时, 尽可能用量筒量取, 若用吸管时只能用洗耳球吸取, 切勿用嘴吸取, 以免造成意外。

⑥ 低沸点有机溶剂, 如乙醚、石油醚、酒精等均系易燃物品, 使用时应严禁明火, 远离火源, 若需加热要用水浴。

⑦ 凡属发烟或产生有毒气体的实验, 均应在通风柜内进行, 以免对人体造成危害。

⑧ 若发生酸碱灼烧事故, 先用大量自来水冲洗, 酸灼伤者用饱和 NaHCO_3 溶液中和, 碱灼伤者用饱和 H_3BO_3 溶液中和, 氧化剂伤害者用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 处理。

⑨ 若发生起火事件先断电, 根据发生起火性质分别采用砂、水、 CO_2 或 CCl_4 灭火器扑灭。

⑩ 实验室必须经常保持清洁, 不得随地吐痰、乱丢纸屑。用过的滤纸、碎屑沉淀物等, 不得弃于水池内。

⑪ 实验后，必须把清洁仪器按次序放置好，试剂瓶要摆放整齐，清理实验台面、地面。

⑫ 离开实验室时必须关好门窗，切断电源、水源，以确保安全。

二、实验记录及实验报告

(一) 实验记录

① 每位同学准备一个实验记录本，编好页码，不准撕页和涂改，要求用钢笔或圆珠笔作记录，若发现错误的文字或数据，应在其上划两横线，并把正确的填写在上（下）边。

② 实验中观察到的现象、结果和数据及使用仪器的类型、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，以便总结实验时进行核对和作为查找成败原因的参考依据。要求字迹清楚，切不可潦草。

③ 在定量实验中观测的数据，如称量物的质量、滴定管及分光光度计的读数等，都应设计一定的表格准确记录，并根据仪器的精确度准确记录有效数字。

④ 每一个结果最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。实验记录上的每一个数字，反映了每一次的测量结果，所以，重复观测时即使数据完全相同也应如实记录下来。

⑤ 如果发现记录的结果有怀疑、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。

(二) 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。实验报告是实验的总结，通过实验报告的写作可以分析总结实验的经验，学会处理各种实验数据的方法，同时也是培养研究能力和学习撰写科学研究论文的过程。下面列举实验报告的格式及内容，仅供参考。

实验(编号) (实验名称) 班级_____ 姓名_____

1. 目的和要求

写出通过实验要达到的目的。

2. 原理

扼要叙述实验的原理。

3. 试剂配制及所需仪器

对于所用试剂要写清来源、规格、浓度及配制方法和配制人；对实验仪器要写明其生产厂家、型号、常用指标。

4. 操作步骤

扼要叙述自己的操作过程和方法，关键环节必须写清楚，不能完全照抄实验

指导书，可用简明扼要的实验步骤、工艺流程图、表格等形式表示，但一定要准确明白，以便他人能够重复验证或追本溯源。

5. 实验结果

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。另外，还应针对实验结果进行必要的说明和分析。

6. 讨论

对于实验方法（或操作技术）和有关实验的一些问题，如实验的正常结果和异常现象以及思考题进行探讨；也可对实验设计和对实验课的改进提出意见。

三、实验误差与数据处理

（一）误差

在进行定量分析实验测定的过程中，很难使测量出来的数值与客观存在的真实值完全相同。误差是指测量值与真实值之差。根据产生的原因可将误差分为以下三种：

1. 系统误差或恒定误差

系统误差是指在测定中未发觉的因素所引起的误差。它对分析结果的影响比较稳定，重复实验时常重复出现，使测定结果系统偏高或偏低。

系统误差产生的原因有：① 仪器不良，如刻度不准或选用的天平精确度不够等；② 试剂不纯；③ 周围环境的改变，如外界温度、压力、湿度变化；④ 个人的习惯和偏向，如读数偏高或偏低等所引起的误差。为了减少系统误差常采用下列措施：

（1）空白试验 为了消除由试剂等因素引起的误差，可在测定时不加样品的情况下，按照与样品测定完全相同的操作手续进行分析，得到的结果为空白值，将样品分析得到的结果扣除空白值，可以得到比较准确的结果。

（2）回收率测定 取一标准物质与待测的未知样品同时做平行测定，测得的量与所取的量之比的百分率就称回收率。这种由标准样品测得的回收率可以用来检验、表达某些分析过程的系统误差，因为系统误差越大，回收率越低。

（3）仪器校正 对所用仪器，如砝码、容量器等进行校正，以减少误差。

2. 偶然误差

在测量中，当已经消除引起系统误差的一切因素后，所测数据仍在末一位或末二位数字上有差别，这类误差称为偶然误差。偶然误差有时大，有时小，有时正，有时负，方向不一定，似乎没有规律性，但如果测量次数足够多，便可发现：① 正误差与负误差出现的几率相等；② 出现小误差次数多，大误差次数少。减少偶然误差可采取下列措施：

（1）平均取样 动植物新鲜组织可制成匀浆后取样，固体样品可先进行粉

碎、混匀后取样；细菌制成悬液，充分打散摇匀后取样。

(2) 多次取样 根据误差出现的规律，进行多次平行测定，取其算术平均值，可以减少偶然误差。平行测定的次数越多，其偶然误差就越小。

3. 过失误差

过失误差是一种显然与事实不符的误差，它主要是由于粗枝大叶、过度疲劳、操作不正确等引起。例如读错刻度值，反读游标尺，加错试剂，记录错误，计算错误等。此类误差无规则可循，只要细心操作，养成严谨科学的工作作风即可避免。

(二) 精确度与准确度

1. 精确度

精确度是指在测量中所测数值重复性的 大小，常用偏差或变异系数 CV% 来表示：

绝对偏差 = 个别测定值 - 算术平均值 (不算正负号)

$$\text{相对偏差} = \frac{\text{绝对偏差}}{\text{算术平均值}} \times 100\%$$

2. 准确度

准确度是指所测数值与真实值的符合程度，通常用误差来表示。误差越小，准确度越高。误差分绝对误差和相对误差，可用下式表示：

绝对误差 = 测定值 - 真实值

$$\text{相对误差} = \frac{\text{绝对误差}}{\text{真实值}} \times 100\%$$

在实验中，通常真实值并不知道，因此，在实际工作中无法求出分析的准确度，只能用精确度来评价分析结果，在仪器分析中一般使用添加回收率来表示试验方法的准确度。

在一组测量中，尽管精确度很高，但准确度不一定很好；反之，若准确度高，精确度也一定高。因此，用精确度来评价分析的结果具有一定的局限性。

近年来大型实验室要求和国际接轨，对一些测定结果或标准物质要标出其不确定度。

(三) 有效数字

有效数字就是在表示测量的精确度上有意义的数字。应该选取几位有效数字，取决于实验方法与所用仪器的精确程度。认为在一个数值中小数点后的位数越多，或在计算中，保留位数越多准确度就越大都是错误的。

有效数字包括所有准确的数字和第一位可疑数字。例如用量筒量取 25mL 的溶液，应该写成 25mL (两位有效数字)，因为量筒测量体积时可发生 $\pm 1\text{mL}$ 的误差，故 25mL 的最后一位数字“5”是可疑的。应用校正过的移液管取 25mL 的溶液，因为移液管测量体积只发生 $\pm 0.01\text{mL}$ 的误差，故应写成 25.00mL。可见有效数字的位数与所用仪器精密度关系很大。从 0 到 9 的 10 个数字中，0 具

有双重意义。它可以用作有效数字，也可以用来表示单位。例如在 0.06050g 这个数字中，“6”后面两个 0 都是有效数字，而“6”前的两个“0”就不是有效数字，很大或很小的数目用 0 表示单位不方便，可以用幂次表示，例如 0.00006050g 可以写成 6.050×10^{-5} g。用幂次表示很大或很小数目时，习惯上总是在小数点前面留一位整数。

在实际工作中可用下列法则进行计算：

① 当弃去不要的可疑数字时，采取四舍六入五成双的法则，即当取舍数字为 5 时，5 前为偶数将 5 舍去，为奇数将 5 进位。

② 许多数值相加时，所得结果的误差较任何一个数的误差为大，所以结果中的可疑数字应以具有最大可疑位数的某一数值为准。例如在计算 0.0121、25.64 及 1.05782 三数之和时，25.64 的误差最大，应以 25.64 为准，故其和应是 $0.01 + 25.64 + 1.06 = 26.71$ 。

③ 许多数值相乘时，所得结果较任何一数的百分误差为大，所以结果中的有效数字应以各数中含有效数字位数最少的为准。例如求 11.62、0.0112 及 1.672 三个数之积时，其中有效数字位数最少的是 0.0112，故其乘积应是 $11.6 \times 0.0112 \times 1.672 = 0.217$ 。

④ 若一数值的首位数大于 8，则有效数字可多算一位，例如 9.14 虽只有三位有效数字，但首位大于 8，在运算时可看成四位有效数字。

⑤ 在平方与立方时，底数有几位有效数字结果中就只保留几位。

然而，有的数字是绝对的，不能运用上述计算法则。例如计算相对分子质量时，各相对原子质量是绝对量，一点误差也没有。一个氯原子重 35.457，三个氯原子重为 $35.457 \times 3 = 106.371$ ，不能写成 1×10^2 。

四、玻璃仪器的洗涤及各种洗液的配制

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，再用自来水冲洗，最后用蒸馏水冲洗 2 ~ 3 次，自然控干或在 100 ~ 130℃ 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，先用自来水洗刷至无污物，再用去污粉刷洗，用自来水冲洗干净后，再用蒸馏水冲洗 2 ~ 3 次，烤干或倒置在清洁处，干后备用。

(2) 量器 如吸量管、滴定管、量瓶等。使用后应立即用流水冲洗，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 ~ 6h，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) 其它 装过传染性样品的容器，如病毒、传染病患者的血清等沾污过

的容器，应先进行高压消毒后再进行清洗。

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。

3. 常用洗液

(1) 铬酸洗液（重铬酸钾 - 硫酸洗液） 广泛用于玻璃仪器的洗涤。常用的配制方法有下述三种：

① 称取 5g 重铬酸钾粉末置于 250mL 烧杯中，加水 5mL，使其尽量溶解。慢慢加入浓硫酸 100mL，随加随搅拌，冷却后贮存备用。

② 称取 80g 重铬酸钾，溶于 1000mL 水中，慢慢加入工业硫酸 100mL。

③ 称取 200g 重铬酸钾，溶于 500mL 水中，慢慢加入工业硫酸 500mL（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) 酒精与浓硝酸混合液 最适合于洗净滴定管，在滴定管中加入 3mL 酒精，然后沿管壁慢慢加入 4mL 浓硝酸，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，可清除容器内壁污垢，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、去污粉或废液。若仪器上有凡士林或羊毛脂时，应先用软纸擦去，然后用乙醇或乙醚擦净后才能使用洗涤液，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）及少量油污皆会使重铬酸钾 - 硫酸洗涤液变绿，降低洗涤能力。

五、常用仪器的使用方法

容量玻璃器皿有装量和卸量两种，量瓶和单刻度吸管为装量器皿，滴定管、一般吸管和量筒等均为卸量器皿。

（一）吸管

1. 使用方法

① 移取液体时，如吸管不干燥，应预先用所吸取的溶液将吸管润洗 2 ~ 3 次，以确保所吸取的溶液浓度不变。

② 吸取溶液时，一般用右手大拇指和中指拿住管颈刻度线上方，把管尖插入溶液中；左手拿吸耳球，先把球内空气压出，然后把吸耳球的尖端接在吸管口上端中，慢慢松开左手指，将溶液吸入管内。

③ 当液面升高到刻度线以上时，移开吸耳球，立即用右手食指按住管口，大拇指和中指拿住管颈刻度线上方再使吸管离开液面，此时管的末端仍靠在盛溶液器皿的内壁上。

④ 略为放松食指，使液面平稳下降，直到溶液的弯月面与刻度标线相切时，立即用食指压紧管口，取出吸管，插入接收器中，管尖靠在接收器内壁上，此时吸管应垂直，接收器约呈 15° 夹角。

⑤ 松开食指让管内溶液自然地沿器壁流下。遗留在吸管尖端的溶液及停留的时间要根据吸管的种类进行不同处理（使用普通无分度单刻度吸管卸量时，管尖所遗留的少量溶液不要吹出，停留等待 3s，同时转动吸管；多刻度吸管，标有“吹”字的为吹出式，最后应吹出管尖内遗留的液体）。

为便于准确快速地选取所需的吸管，国际标准化组织统一规定，在分度吸管上方印上彩色环，其容积标志见表 1-1。

表 1-1 刻度吸管容积标志

标准容量/mL	0.1	0.2	0.25	0.5	1	2	5	10	25	50
色标	单红	单黑	双白	双红	单黄	单黑	单红	单橘红	单白	单黑

2. 注意事项

① 应根据不同的需要选用大小合适的吸管，如欲量取 1.5mL 的溶液，显然用 2mL 吸管要比选用 1mL 或 5mL 吸管误差小。

② 吸取溶液时要把吸管插入溶液深处，避免吸入空气而使溶液从上端溢出。

③ 吸管从液体中移出后用滤纸将管的外壁擦干，再行放液。

（二）移液器

移液器又称移液枪，是生物化学实验室常用的小件精密设备，能否正确使用移液器直接关系到实验的准确性与重复性，同时关系到其的使用寿命，下面以连续可调的移液器为例说明移液器的使用方法：

移液器由连续可调的机械装置和可替换的吸头组成，不同型号的移液器吸头有所不同，实验室常用的有 2 μ L，10 μ L，20 μ L，100 μ L，200 μ L，1mL，5mL，10mL 等规格。

1. 使用方法

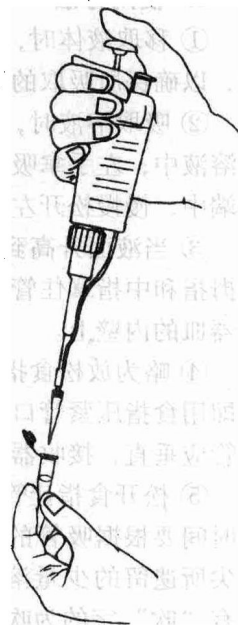
① 根据实验精度选用正确量程的移液器（使用者可根据移液器生产厂家提供的吸量误差表确定）。当取用体积与量程不一致时，可通过稀释液体，增加吸取体积来减少误差。移液器的手持方法如图 1-1。

② 调节移液器的吸量体积时，首先调到取用体积的 $1/3$ 处，然后慢慢调至所需刻度，调整过程动作要轻缓，切勿超过最大或最小量程。

③ 吸液时将吸头套在移液器的吸杆上，必要时可用手辅助套紧，但要防止由此带来的污染，然后将吸量按钮按至第一挡，将吸嘴垂直插入待取液体中，深度以刚浸没吸头尖端为宜，然后慢慢释放吸量按钮以吸取液体。

④ 排出所吸液体时，先将吸头垂直接触在受液容器壁上，慢慢按压吸量按钮至第一挡，停留 $1 \sim 2\text{s}$ 后，按至第二挡以排出所有液体。

⑤ 吸头的更换：性能优良的移液器具有卸载吸头的机械装置，轻按卸载按钮，吸头会自动脱落。



2. 注意事项

① 在移液器吸头中含有液体时禁止移液器水平放置，平时不用时置移液器架上。

② 吸取液体时动作应轻缓，防止液体随气流进入移液器的上部。

③ 在吸取不同的液体时，要更换移液器吸头。

④ 移液器要进行定期校准，一般由专业人员进行。

（三）电子分析天平

电子分析天平种类很多，有十万分之一、万分之一、千分之一等精度之分，其中以万分之一最为常用。万分之一电子分析天平结构紧凑，性能优良，最大载荷 200g ，感量 0.1mg ，自动计量，数字显示，操作简便。清除键可方便归零，适于累计连续称量。

1. 使用方法

① 使用天平前要戴上专用手套，首先清洁称量盘，检查、调整天平的水平。

② 接通电源，显示屏上出现“0.000”。预热 15min ，如果空载时有读数，按“T”键回零。

③ 称量时推开天平右侧门，将干燥的称量瓶或小烧杯轻轻放在称量盘中心，关上天平门，待显示平衡后，按“T”键扣除皮重并显示零点。

④ 推开天平门往容器中缓慢加入待称量物，并观察显示器屏，显示平衡后即可记录称取试样的净重。