

高等学校教材

生物化学实验

黄建华 袁道强 陈世锋 主编

SHENGWU
HUAXUE
SHIYAN



化学工业出版社

普通高等院校教材

生物化学实验

主编 李 强 副主编 陈世英 王 强

SHENGWU
HUAXUE
SHIYAN

© 2008

高等学校教材

生物化学实验

黄建华 袁道强 陈世锋 主编

SHENGWU
HUAXUE
SHIYAN



化学工业出版社

· 北京 ·

定价：18.00 元

本书共分三篇, 分别是生物化学实验室规则及基本操作、基本生化实验技术、实验部分。在第二篇中, 特别对基本生化实验技术理论进行了较详实的介绍, 以期使用者能够掌握生化实验的背景和原理, 在做实验的同时使自己的专业理论水平真正得到提高。在第三篇中, 特别注意编排的实验内容的全面性, 广泛选取了生化实验中较为成熟的糖类、脂类、氨基酸和蛋白质类、核酸类、酶类、维生素类和代谢类实验, 以及免疫学实验, 因此本书可以作为一本实用的生化实验手册使用。

本书可作为高等院校动物科学、动物医学、食品科学、发酵工程、卫生检验、生物技术、化工、环保等专业的实验教材, 也可供相关专业的学生、教师和科技工作者参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

生物化学实验/黄建华, 袁道强, 陈世锋主编. —北京: 化学工业出版社, 2009.2
高等学校教材
ISBN 978-7-122-04311-5

I. 生… II. ①黄…②袁…③陈… 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 (2009) 第 002454 号

责任编辑: 宋林青
责任校对: 顾淑云

文字编辑: 李姿娇
装帧设计: 史利平

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 装: 化学工业出版社印刷厂

787mm×1092mm 1/16 印张 15 $\frac{3}{4}$ 字数 403 千字 2009 年 3 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 28.00 元

版权所有 违者必究

《生物化学实验》编委会

主 编

黄建华 (河南科技学院)
袁道强 (郑州轻工业学院)
陈世锋 (信阳师范学院)

副主编

郭海明 (河南师范大学)
杨继远 (商丘职业技术学院)
许光日 (河南科技学院)
孟志芬 (河南科技学院)
李淑梅 (河南科技学院)

编 委

黄建华 (河南科技学院)
陈世锋 (信阳师范学院)
杨继远 (商丘职业技术学院)
孟志芬 (河南科技学院)
李晓波 (河南科技学院)
许明录 (河南科技学院)
秦忠民 (新乡学院)
徐心诚 (商丘师范学院)

袁道强 (郑州轻工业学院)
郭海明 (河南师范大学)
许光日 (河南科技学院)
李淑梅 (河南科技学院)
牛红英 (河南科技学院)
陈书阳 (南阳师范学院)
姜小莹 (河南科技学院)
王好转 (三门峡职业技术学院)

前 言

生物化学是生物工程与技术、食品、医药和农业等专业的基础课，不仅具有较强的理论性，而且具有一定的实践性。只有扎实地掌握系统的生物化学基础知识、熟练的实验操作技能，才能在相应的专业技术领域真正地有所造诣和建树。目前已出版的生物化学实验教材种类繁多，但大多都是针对各自专业范围而进行编排的，实验内容不够全面、丰富。正是基于以上考虑，我们才有了出版本书的意愿。

本书共分三篇，分别是生物化学实验室规则及基本操作、基本生化实验技术、实验部分，内容涉及生物化学实验的方方面面，包括基本实验理论、实际操作、具体实验内容以及常用生化实验数据等。每一篇章力求内容系统全面、数据准确无误，同时脉络清晰、语言规范。在第二篇中，特别对基本生化实验技术理论进行了较详实的介绍，以期使用者能够掌握生化实验的背景和原理，在做实验的同时使自己的专业理论水平真正得到提高。在第三篇中，特别注意所编排实验内容的全面性，广泛选取了生化实验中较为成熟的糖类、脂类、氨基酸和蛋白质类、核酸类、酶类、维生素类和代谢类实验，以及免疫学实验，因此本书可以作为一本实用的生化实验手册进行使用。

本书可作为高等院校动物科学、动物医学、食品科学、发酵工程、卫生检验、生物技术、化工、环保等专业的教材，也可供相关专业的学生、教师和科技工作者参考。

本书在编写过程中得到了河南省部分兄弟院校的大力支持和帮助，在此特致谢意。

由于时间仓促，书中难免有疏漏和不当之处，编者希望在使用过程中能得到批评和建议的反馈信息，以使本书日趋完善。

编者

2008 年 11 月

目 录

第一篇 生物化学实验室规则及基本操作	1
1 实验室规则	1
2 预习报告要求	1
3 实验记录要求	1
4 实验报告书写要求及参考格式	2
4.1 实验报告的格式	2
4.2 实验报告的内容	2
4.3 实验结果	3
5 仪器的清洗与清洁	3
5.1 初用玻璃仪器的清洗	3
5.2 使用过的玻璃仪器的清洗	3
5.3 石英和玻璃比色皿的清洗	3
5.4 塑料器皿的清洗	3
5.5 玻璃和塑料器皿的干燥	4
6 清洗液的配制及使用	4
6.1 铬酸洗液的配制	4
6.2 其他洗涤液	4
7 移液器的种类和使用	4
7.1 滴管	4
7.2 移液管（吸管）	5
7.3 微量进样器	5
7.4 自动取液器	5
8 定量容器的种类和使用	6
8.1 量筒、量杯	6
8.2 容量瓶	7
9 溶液的混匀	7
9.1 搅拌	7
9.2 旋转	7
9.3 弹打	7
10 实验室意外情况及处理措施	8
10.1 着火	8
10.2 爆炸	8
10.3 中毒	9
10.4 外伤	9
10.5 触电	10

第二篇 基本生化实验技术	11
1 分光光度技术	11
1.1 紫外和可见光光谱	11
1.2 荧光光度分析	17
1.3 原子吸收光谱	18
2 电泳技术	19
2.1 电泳技术总论	19
2.2 纸电泳和醋酸纤维薄膜电泳	23
2.3 聚丙烯酰胺凝胶电泳	23
2.4 琼脂糖凝胶电泳	28
2.5 免疫电泳	29
2.6 等电聚焦电泳	30
2.7 毛细管电泳	31
2.8 电泳结果处理	34
3 色谱技术	36
3.1 色谱技术概述	36
3.2 凝胶色谱	42
3.3 离子交换色谱	50
3.4 亲和色谱	56
3.5 具体的一些色谱方法	62
3.6 高效液相色谱	66
4 PCR 技术	70
4.1 PCR 基本原理	70
4.2 PCR 的基本过程	70
4.3 PCR 实验技术要点	71
4.4 提高 PCR 扩增特异性	73
5 膜分离技术	74
5.1 透析	74
5.2 超滤	75
6 免疫技术——酶联免疫吸附测定法 (ELISA)	76
6.1 原理	76
6.2 操作要点	76
7 生物大分子制备技术	81
7.1 概述	81
7.2 生物大分子制备的前处理	82
7.3 生物大分子的分离纯化	84
7.4 样品的保存	85
第三篇 实验部分	87
第一部分 糖类实验	87
实验一 还原糖和总糖的测定 (3,5-二硝基水杨酸法)	87
实验二 可溶性总糖的蒽酮比色法测定	88

实验三	费林试剂法测定总糖	89
实验四	磷钼酸比色法测定血糖	91
实验五	黏多糖——肝素钠效价的测定	93
实验六	淀粉的提取及性质实验	94
实验七	淀粉与纤维素的测定	95
实验八	肝糖原的提取及鉴定	97
实验九	果胶的提取与胶冻的制备	98
实验十	可溶性糖的硅胶 G 薄层色谱	99
实验十一	糖的聚酰胺薄层色谱	101
实验十二	细菌细胞壁糖的薄层色谱	102
实验十三	葡萄糖-1-磷酸的制备及其纯度的测定	104
第二部分	脂类实验	107
实验十四	脂肪的碱水解及组分鉴定	107
实验十五	粗脂肪的定量测定——索氏抽提法	108
实验十六	皂化值的测定	109
实验十七	酸值的测定	110
实验十八	碘值的测定	111
实验十九	卵磷脂的提取及鉴定	113
实验二十	磷硫铁法测定血清胆固醇	114
实验二十一	分光光度法测定胆红素（改良 J-G 法）	115
实验二十二	红细胞膜的制备及其成分分析（磷脂、胆固醇）	116
第三部分	氨基酸和蛋白质类实验	120
实验二十三	氨基酸的纸色谱	120
实验二十四	薄层色谱法分离氨基酸	122
实验二十五	甲醛滴定法测定氨基酸	123
实验二十六	华勃氏呼吸计法测定 L-谷氨酸	124
实验二十七	旋光法测定谷氨酸	127
实验二十八	蛋白质的沉淀反应、颜色反应、两性反应、电荷及等电点的测定	128
实验二十九	粗蛋白的定量测定——微量凯氏定氮法	132
实验三十	紫外光吸收法测定蛋白质含量	135
实验三十一	双缩脲法测定蛋白质含量	137
实验三十二	考马斯亮蓝 G-250 法（Bradford 法）测定蛋白质含量	138
实验三十三	Folin-酚试剂法（Lowry 法）测定蛋白质	139
实验三十四	尿素对蛋白质的变性作用	141
实验三十五	蛋白质 DNS 分析法（DNS—Cl 膜色谱技术）	142
实验三十六	乙酸纤维薄膜电泳分离血清蛋白质	144
实验三十七	垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质	146
实验三十八	等电聚焦电泳测定蛋白质等电点	147
实验三十九	SDS-PAGE 电泳测定蛋白质相对分子质量	149
实验四十	凝胶色谱法测定蛋白质相对分子质量	151
实验四十一	酪蛋白的提取	152
实验四十二	植物叶蛋白的提取	153
实验四十三	细胞色素 C 的制备及其测定	155

第四部分 核酸类实验	158
实验四十四 质粒 DNA 的碱裂解法提取与纯化	158
实验四十五 植物组织中核酸的提取和测定	160
实验四十六 酵母 RNA 的分离与组分鉴定	162
实验四十七 DNA 的琼脂糖凝胶电泳	163
实验四十八 RNA 的聚丙烯酰胺凝胶电泳	165
实验四十九 DNA 重组	167
实验五十 PCR 聚合酶扩增 DNA	168
实验五十一 逆转录聚合酶 (PCR) 链反应	169
第五部分 酶类实验	170
实验五十二 过氧化氢酶和过氧化物酶的作用	170
实验五十三 温度、pH、激活剂和抑制剂对唾液淀粉酶活性的影响	172
实验五十四 大麦萌发前后淀粉酶活力的比较	174
实验五十五 枯草杆菌蛋白酶活力的测定	175
实验五十六 转氨酶 GPT、GOT 活性的测定	177
实验五十七 脲酶的动力学研究	178
实验五十八 糖化型淀粉酶活力的测定	183
实验五十九 蛋清溶菌酶的制备及活力测定	184
实验六十 正交法测定对酶活力影响的几种因素	185
实验六十一 碱性磷酸酶的分离与纯化	188
实验六十二 结晶乳酸脱氢酶 (LDH) 的制备	190
实验六十三 琥珀酸脱氢酶的活性测定及丙二酸的抑制作用	191
实验六十四 辣根过氧化物酶的制备及酶比活力的测定	192
实验六十五 发色底物测定大曲中 α -葡萄糖苷酶活力	195
实验六十六 酵母蔗糖酶的纯化及性质研究	197
实验六十七 固定化酵母细胞及蔗糖酶的检测	201
实验六十八 亲和色谱法纯化胰蛋白酶	202
第六部分 维生素类实验	205
实验六十九 维生素 A 的测定 (三氯化锑比色法)	205
实验七十 还原型维生素 C 的测定	206
实验七十一 总维生素 C 的测定——2,4-二硝基苯肼比色法	207
实验七十二 荧光法测定维生素 B ₂ (核黄素)	209
实验七十三 高效液相色谱法测定脂溶性维生素	210
第七部分 代谢类实验	212
实验七十四 肌糖原的酵解作用	212
实验七十五 发酵过程中无机磷的利用	214
实验七十六 糖酵解中间产物的鉴定	215
实验七十七 氨基转移反应的定性鉴定	216
实验七十八 脂肪酸的 β -氧化	218
第八部分 其他实验	220
实验七十九 辛酸-硫酸铵法从人血清中纯化免疫球蛋白 (IgG)	220
实验八十 免疫电泳技术	221
实验八十一 ELISA 法测定单克隆抗体的效价	222

实验八十二 分光光度法测定叶绿素含量	224
附录	226
附录 1 一些常用化合物的溶解度 (20℃)	226
附录 2 酸、碱溶液的配制	226
附录 3 常用酸碱体积分数、相对密度和物质的量浓度的关系	226
附录 4 某些有机溶剂的主要物理常数	228
附录 5 一些常用酸碱指示剂	228
附录 6 混合指示剂	229
附录 7 氧化还原染料	229
附录 8 染料和荧光标准试剂	229
附录 9 生物发色团	230
附录 10 某些重要生化物质的摩尔消光系数	230
附录 11 氨基酸的一些物理常数	231
附录 12 元素的相对原子质量表	232
附录 13 调整硫酸铵溶液饱和度计算表 (25℃)	233
附录 14 调整硫酸铵溶液饱和度计算表 (0℃)	233
附录 15 气体干燥剂	234
附录 16 液体干燥剂	234
附录 17 易变质及需要特殊方法保存的试剂	234
附录 18 冷却剂	234
附录 19 常用缓冲溶液的配制	235
参考书目	240

第一篇 生物化学实验室规则及基本操作

1 实验室规则

(1) 每位同学应自觉遵守课堂纪律，维护课堂秩序，不迟到，不早退，不大声谈笑。

(2) 实验前须认真预习，熟悉实验目的、原理、操作步骤，懂得每一操作步骤的意义，并了解所用仪器的使用方法，否则不能开始实验。

(3) 实验过程中要听从教师的指导，严肃认真地按照操作规程进行实验，并把实验结果和数据及时、如实记录在实验记录本上，文字要简练、准确。完成实验后经教师检查同意，方可离开实验室。

(4) 实验台面应随时保持整洁，仪器、药品摆放整齐。公用试剂用完后，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，仪器洗净放好，将实验台面抹拭干净，才能离开实验室。

(5) 使用仪器、药品、试剂和各物品必须注意节约；洗涤和使用仪器时，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，发现故障须立即报告教师，不得擅自动手检修。

(6) 实验室内严禁吸烟！加热用的电炉应随用随关，严格做到：人在炉火在，人走炉火关。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。实验完毕后应立即拔去电炉开关，关好水龙头并拉下电闸。离开实验室以前应认真、负责地检查水电，严防发生安全事故。

(7) 废液可倒入水槽内，同时放水冲走。强酸、强碱溶液必须先用水稀释。废纸屑及其他固体废物和带渣滓的废物倒入废品缸内，不可倒入水槽或到处乱扔。

(8) 要精心使用和爱护仪器，如使用分光光度计时，不能将比色皿直接置于分光光度计上，并注意拿放比色皿时，不要打碎。仪器损坏时，应如实向教师报告，并填写损坏仪器登记表，然后补领。

(9) 实验室内一切物品，未经本室负责教师批准，严禁带出室外，借物必须办理登记手续。

(10) 每次实验课由班长或课代表负责安排值日生。值日生的职责是负责当天实验室的卫生、安全、组织同学填写实验室登记本等一切服务性的工作。

2 预习报告要求

做好预习报告，有助于学生实验前对实验的内容、目的要求、基本原理、具体操作方法、数据记录格式及实验要点等有一定了解，减少盲目性，增强教学效果。实验指导教师应检查学生的预习情况，进行必要的提问，解答疑难。

预习报告应包括实验原理、详细的实验操作步骤及做好实验的注意事项，并拟定好实验数据表格等。

3 实验记录要求

详细、准确、如实地作好实验记录是极为重要的，记录如果有误，会使整个实验失败，

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。

(1) 每位同学需准备一个实验记录本，记录本上要编好页数，不得撕页和涂改，写错时可以划去重写。不能用铅笔记录，只能用钢笔或圆珠笔记录。记录本的左页作计算和草稿用，右页用作实验记录。同组的两位同学合做同一实验时，两人必须都有相同、完整的记录。

(2) 实验中应及时准确地记录所观察到的现象和测量的数据，条理清楚，字迹端正，切不可潦草，以致日后无法辨认。实验记录必须公正客观，不可夹杂主观因素。

(3) 实验中要记录的各种数据，都应事先在记录本上设计好各种记录格式和表格，以免实验中由于忙乱而遗漏测量和记录，造成不可挽回的损失。

(4) 实验记录要注意有效数字，如吸光度值应为“0.050”，而不能记成“0.05”。每个结果都要尽可能重复观测两次以上，即使观测的数据相同或偏差很大，也都应如实记录，不得涂改。

(5) 实验中要详细记录实验条件，如实验仪器的型号、编号、生产厂，生物材料的来源、形态特征、健康状况、选用的组织及其质量，试剂的规格、化学式、相对分子质量、浓度等都应记录清楚。二人一组的实验，必须每人都作记录。

4 实验报告书写要求及参考格式

实验报告是实验的总结和汇报，通过实验报告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与分子生物学原理和实验技术的理解和掌握，同时也是学习撰写科学研究论文的过程。

4.1 实验报告的格式

实验编号	名称	实验者姓名	年	月	日
一、	实验目的				
二、	实验原理				
三、	仪器、实验材料和试剂				
四、	操作步骤				
五、	结果处理				

一份满意的实验报告必须具备准确、客观、简洁、明了四个特点。实验报告的写作水平也是衡量学生实验成绩的一个重要方面。实验报告必须独立完成，严禁抄袭。写实验报告要用实验报告专用纸，以便教师批阅，不要用练习本和其他纸张。

为了使实验结果能够重复，必须详细记录实验现象的所有细节。例如，若实验中生成沉淀，那么沉淀的真实颜色是白色、淡黄色或是其他？沉淀的量是多还是少，是胶状还是颗粒状？什么时候形成沉淀，立即生成还是缓慢生成，热时生成还是冷却时生成？在科学研究中，仔细地观察，特别注意那些未料想到的实验现象是十分重要的，这些观察常常引起意外的发现，报告并注意分析实验中的真实发现，对学生将是非常重要的科学研究训练。

4.2 实验报告的内容

实验报告使用的语言要简明清楚，抓住关键，各种实验数据都要尽可能整理成表格并作图表示，以便比较，一目了然。实验作图尤其要严格要求，必须使用坐标纸，每个图都要有明显的标题，坐标轴的名称要清楚完整，要注明合适的单位，坐标轴的分度数字要与有效数字相符，并尽可能简明，若数字太大，可以化简，并在坐标轴的单位上乘以 10 的方次。实

验点要使用专门设计的符号，如○、□、■、△、▲等，符号的大小要与实验数据的误差相符。不要用“×”、“+”等。有时也可用两端有小横线的垂直线段来表示实验点，其线段的长度应与实验误差相符。通常横轴是自变量，纵轴是应变变量，是测量的数据。曲线要用曲线板或曲线尺画成光滑连续的曲线，各实验点均匀分布在曲线上和曲线两边，且曲线不可超越最后一个实验点。两条以上的曲线和符号应有说明。

4.3 实验结果

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。

5 仪器的清洗与清洁

实验中所用的玻璃仪器等清洁与否直接影响实验的结果，往往由于仪器的不清洁或被污染而造成较大的实验误差，有时甚至会导致实验的失败。做生物化学实验对玻璃仪器清洁程度的要求，比一般化学实验的要求更高，这是因为：①生物化学实验中蛋白质、酶、核酸等往往都是以“mg（毫克）”和“ μg （微克）”计的，稍有杂质，影响就很大；②生物化学实验对许多常见的污染杂质十分敏感，如金属离子（钙、镁离子等）、去污剂和有机物残基等，因此玻璃仪器（包括离心管等塑料器皿）是否彻底清洗净是非常重要的。

5.1 初用玻璃仪器的清洗

新购买的玻璃器皿表面常附有游离的碱性物质，可先用0.5%的去污剂洗刷，再用自来水洗净，然后浸泡在1%~2%盐酸溶液中过夜（不可少于4h），再用自来水冲洗，最后用去离子水冲洗两次，在100~120℃烘箱内烘干备用。

5.2 使用过的玻璃仪器的清洗

做完实验，应立即把用过的玻璃仪器洗刷干净。这是由于此时污物比较容易清洗，同时由于了解污物的性质，有利于选用适当的洗涤方法。

使用过的玻璃仪器的清洗，可先用自来水洗刷至无污物，再用合适的毛刷沾去污剂（粉）洗刷，或浸泡在0.5%的清洗剂中超声清洗（比色皿绝不可用超声），然后用自来水彻底洗净去污剂，再用去离子水洗两次。

玻璃仪器洗净的标志是水倾出后，器壁上没有水滴，否则重洗。若重洗后仍挂有水珠，则需用洗液浸泡数小时或用去污粉擦洗，重新清洗。

5.3 石英和玻璃比色皿的清洗

绝不可用强碱清洗，因为强碱会侵蚀抛光的比色皿。只能用洗液或1%~2%的去污剂浸泡，然后用自来水冲洗，若使用一支绸布包裹的小棒或棉花球棒刷洗，效果会更好。清洗干净的比色皿内外壁应不挂水珠。

5.4 塑料器皿的清洗

聚乙烯、聚丙烯等制成的塑料器皿，在生物化学实验中用得越来越多。第一次使用塑料器皿时，可先用8mol/L尿素（用浓盐酸调 $\text{pH}=1$ ）清洗，接着依次用去离子水、1mol/L KOH和去离子水清洗，然后用1~3mol/L EDTA除去金属离子的污染，最后用去离子水彻

底清洗。以后每次使用时，可只用 0.5% 的去污剂清洗，然后用自来水和去离子水洗净即可。

5.5 玻璃和塑料器皿的干燥

生化实验中用到的玻璃和塑料器皿经常需要干燥，通常都是用烘箱或烘干机在 110~120℃ 进行干燥，而不用丙酮荡洗后再吹干的方法来干燥，因为那样会有残留的有机物覆盖在器皿的内表面，从而干扰生物化学反应。

定量的玻璃仪器不能加热，一般采取控干或依次用少量酒精、乙醚刷洗后用温热的气流吹干。

硝酸纤维素的塑料离心管加热时会发生爆炸，所以绝不能放在烘箱中干燥，只能用冷风吹干。

6 清洗液的配制及使用

6.1 铬酸洗液的配制

铬有致癌作用，因此配制和使用洗液时要极为小心，常用的两种配制方法如下：

(1) 取 100mL 工业浓硫酸置于烧杯内，小心加热，然后慢慢加入 5g 重铬酸钾粉末，边加边搅拌，待全部溶解并缓慢冷却后，贮存在磨口玻璃塞的细口瓶内。

(2) 称取 5g 重铬酸钾粉末，置于 250mL 烧杯中，加 5mL 水使其溶解，然后慢慢加入 100mL 浓硫酸，溶液温度将达 80℃，待其冷却后贮存于磨口玻璃瓶内。

6.2 其他洗涤液

(1) 工业浓盐酸：可洗去水垢或使某些无机盐沉淀。

(2) 5% 草酸溶液：用数滴硫酸酸化，可洗去高锰酸钾的痕迹。

(3) 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。

(4) 30% 硝酸溶液：洗涤二氧化碳测定仪及微量滴管。

(5) 5%~10% 乙二胺四乙酸二钠 (EDTA-Na_2) 溶液：加热煮沸可洗脱玻璃仪器内壁的白色沉淀物。

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

(7) 有机溶剂：如丙酮、乙醚、乙醇等可用于洗脱油脂、脂溶性染料污痕等，二甲苯可洗脱油漆的污垢。

(8) 氢氧化钾的乙醇溶液和含有高锰酸钾的氢氧化钠溶液：这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，使用时应小心谨慎。

7 移液器的种类和使用

准确的分析方法对于生物化学实验是极为重要的，在各种生物化学分析技术中，首先要熟练掌握的就是准确的移液技术。为此要用到各种形式的移液管，其中有一些是学生们在化学实验中未用过而在生化实验中常用的。

7.1 滴管

使用方便，可用于半定量移液，其移液量为 1~5mL，常用 2mL，可换不同大小的滴头。滴管有长、短两种，新出的一种带刻度和缓冲泡的滴管，可以比普通滴管更准确地移

液，并防止液体吸入滴头。

7.2 移液管（吸管）

移液管使用前应洗至内壁不挂水珠，1mL 以上的移液管用移液管专用刷刷洗，0.1mL、0.2mL 和 0.5mL 的移液管可用洗涤剂浸泡，必要时可以用超声清洗器清洗。由于铬酸洗液致癌，应尽量避免使用。若有大量成批的移液管洗后冲洗，可使用冲洗桶，将移液管尖端向上置于桶内，用自来水多次冲洗后再用蒸馏水或去离子水冲洗。

移液管分为两种，一种是无分度的，称为胖肚移液管，精确度较高，其相对误差 A 级为 0.7%~0.8%，B 级为 1.50%~0.16%，液体自标线流至口端（留有残液），A 级等待 15s，B 级等待 3s。另一种吸管为分度移液管，管身为粗细均匀的玻璃管，上面均匀刻有表示容积的分度线，其准确度低于胖肚移液管，相对误差 A 级为 0.8%~0.2%，B 级为 1.6%~0.4%，A 级、B 级在吸管身上有 A、B 字样，有“快”字则为快流式，有“吹”字则为吹出式，无“吹”字的移液管不可将管尖的残留液吹出。吸、放溶液前要用吸水纸擦拭管尖。

7.3 微量进样器

微量进样器常用作气相和液相色谱仪的进样器，在生化实验中主要是用作电泳实验的进样器，通常可分为无存液和有存液两种。

(1) 10 μ L 以下的极微量无存液液体进样器：进样器的不锈钢芯子直接通到针尖端处，不会出现存液。

(2) 10~100 μ L 有存液微量进样器：不锈钢的针尖管部分是空管，进样器的柱塞不能到达，因而管内会存有空气或液体。其使用注意事项是：①不可吸取浓碱溶液，以免腐蚀玻璃和不锈钢零件；②因为有存液，所以吸液时要来回多拉几次，将针尖管内的气泡全部排尽；③针尖管内孔极小，使用后尤其是吸取过蛋白质溶液后，必须立即清洗针尖管，防止堵塞，若遇针尖管堵塞，不可用火烧，只能用 ϕ 0.1mm 的不锈钢丝耐心串通；④进样器未润湿时不可来回干拉芯子，以免磨损而漏气；⑤若进样器内发黑，有不锈钢氧化物，可用芯子蘸少量肥皂水，来回拉几次即可除之。

7.4 自动取液器

自动取液器在生化实验中大量使用，它们主要用于多次重复地快速定量移液，可以只用一只手操作，十分方便。移液的准确度（即容量误差）为 $\pm(0.5\%\sim1.5\%)$ ，移液的精密度（即重复性误差）更小些， $\leq 0.5\%$ 。

自动取液器可分为两种。一种是固定容量的，常用的有 100 μ L 等多种规格。每种取液器都有其专用的聚丙烯塑料吸头，吸头通常是一次性使用，当然也可以超声清洗后重复使用，这种吸头还可以进行 120 $^{\circ}$ C 高压灭菌。另一种是可调容量的取液器，常用的有 200 μ L、500 μ L 和 1000 μ L 等几种。

可调式自动取液器的操作方法：用拇指和食指旋转取液器上部的旋钮，使数字窗口出现所需容量体积的数字。在取液器下端插上一个塑料吸头，并旋紧以保证气密，然后四指并拢握住取液器上部，用拇指按住柱塞杆顶端的按钮，向下按到第一停点。将取液器的吸头插入待取的溶液中，缓慢松开按钮，吸上液体，并停留 1~2s（黏性大的溶液可加长停留时间），将吸头沿器壁滑出容器，用吸水纸擦去吸头表面可能附着的液体，排液时吸头接触倾斜的器壁，先将按钮按到第一停点，停留 1s（黏性大的液体要加长停留时间）。再按压到第二停

点，吹出吸头尖部的剩余溶液，如果不便于用手取下吸头，可按下吸头推杆，将吸头推入废物缸，如图 1-1~图 1-4 所示。

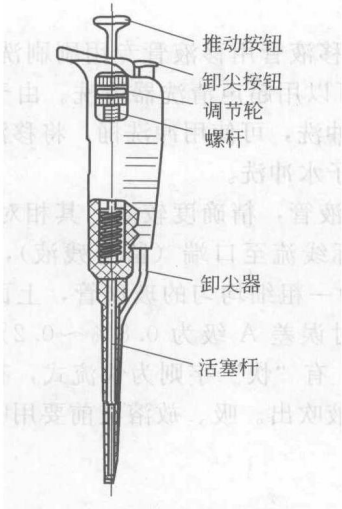


图 1-1 自动取液器的构造



图 1-2 自动取液器的使用

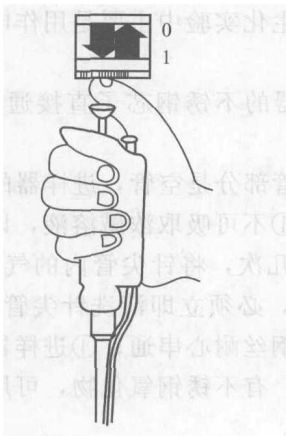


图 1-3 吸入溶液



图 1-4 排出溶液

使用自动取液器应注意以下事项：

- ① 吸取液体时一定要缓慢平稳地松开拇指，绝不允许突然松开，以防将溶液吸入过快而冲入取液器内腐蚀柱塞，造成漏气。
- ② 为获得较高的精度，吸头需预先吸取一次样品溶液，然后再正式移液，因为吸取蛋白质溶液或有机溶剂时，吸头内壁会残留一层“液膜”，造成排液量偏小而产生误差。
- ③ 浓度和黏度大的液体会产生误差，为消除其误差的补偿量，可由实验确定，补偿量可用调节旋钮改变读数窗的读数来进行设定。
- ④ 可用分析天平称量所取纯水的质量并进行计算的方法，来校正取液器。1mL 蒸馏水 20℃时的质量为 0.9982g。

8 定量容器的种类和使用

8.1 量筒、量杯

量筒呈圆柱形，分有嘴和无嘴具塞两种类型。量杯呈圆锥形，带倾液嘴。量筒和量杯常