



GAODENG XUEXIAO ZHUANYE JIAOCAI

• 高等学校专业教材 •

生物化学实验技术

LABORATORY METHOD IN BIOCHEMISTRY

李巧枝 主编



中国轻工业出版社

ZHONGGUO QINGGONGYE CHUBANSHE

高等学校专业教材

生物化学实验技术

李巧枝 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/李巧枝主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2007. 2

高等学校专业教材

ISBN 978-7-5019-5853-5

I. 生… II. 李… 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 (2007) 第 018182 号

责任编辑: 白洁 责任终审: 唐是雯 封面设计: 刘鹏

版式设计: 王鹏 责任监印: 胡兵

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: 河北省高碑店市鑫昊印刷有限责任公司

经销: 各地新华书店

版次: 2007 年 2 月第 1 版第 1 次印刷

开本: 787 × 1092 1/16 印张: 12. 75

字数: 319 千字

书号: ISBN 978-7-5019-5853-5/Q·036 定价: 15. 80 元

读者服务部邮购热线电话: 010-65241695 85111729 传真: 85111730

发行电话: 010-851119817 65128898 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读者服务部联系调换

70036J4X101HBW

前 言

21 世纪是生命科学的世纪,生物化学实验技术日新月异。为了提高教学质量,满足教学改革和全国精品示范课程教材建设的需要,适应当前社会对专业人才的需求,特组织编写了《生物化学实验技术》。该教材由郑州牧业工程高等专科学校、河南农业大学、郑州大学、郑州农产品质量检测中心等单位合作完成。全体编委均为多年工作在生化实验技术教学与实践一线的技术专家、骨干教师和学科带头人。

面对不断发展进步的生化实验技术,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。本书的特点是:①理论联系实际,努力把生化实验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 基因扩增技术;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:本书在每章和每个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。

本教材共分九章:第一章为“生物化学实验基本常识和常见仪器的使用”。第二章至第八章分别介绍了分光光度技术、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。第九章按照“生物化学”教学进度顺序,编排了 40 余个实验项目,分别涵盖了蛋白质、核酸、酶、维生素、糖类、脂类和动态代谢等内容,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。

本教材在编写过程中承蒙郑州牧业高等专科学校、河南农业大学、郑州大学、郑州市农产品质量检测中心等单位各位同仁鼎力相助,中国轻工业出版社白洁等编辑在出版过程中付出了艰辛劳动,特此致谢。由于水平所限、时间仓促,书中难免有疏漏之处,诚挚欢迎同行、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
2007 年 2 月

《生物化学实验技术》

主 编 李巧枝

副 主 编 卫 丽 郑文明 符建伟 崔 洁

参编人员 (以姓氏笔画为序)

王永芬 连艳鲜 何金环 李华玮

李 明 李 祥 赵玉丛 索江华

程茂高 梁月丽 彭爱娟

目 录

第一章 生物化学实验基本常识和常见仪器的使用	1
第一节 生物化学实验基本常识	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
第二节 常用仪器的使用方法	6
一、容量玻璃器皿	6
二、移液器	7
三、电子分析天平	8
四、电动离心机	8
五、干燥箱和恒温箱	9
六、电热恒温水浴锅	10
七、722-S 型分光光度计	10
八、pHS-3C 型数字酸度计	11
第二章 分光光度技术	12
第一节 基本原理	12
一、光的基本知识	12
二、吸光度与透光率	13
三、朗伯-比尔(Lambert-Beer)定律	14
第二节 分光光度计结构简介	15
第三节 分光光度技术的应用	16
一、定量分析	16
二、用紫外光谱鉴定化合物	17
第四节 分光光度法的误差	17
第三章 电泳技术	18
第一节 电泳的基本原理及影响因素	18
一、基本原理	18
二、影响迁移率的主要因素	19
三、电泳的分类	21

第二节 几种常见的电泳法	21
一、醋酸纤维素薄膜电泳	21
二、琼脂糖凝胶电泳	22
三、聚丙烯酰胺凝胶电泳	22
四、SDS - 聚丙烯酰胺凝胶电泳	24
五、等电聚焦电泳	24
六、免疫电泳	24
七、双向凝胶电泳	25
八、毛细管电泳	25
第三节 电泳后的染色	26
一、蛋白质染色	26
二、核酸染色	27
第四节 电泳结果处理	27
一、凝胶干燥技术	27
二、凝胶扫描技术	28
三、凝胶成像技术	28
四、凝胶印迹技术	28
第四章 层析技术	29
第一节 吸附层析	30
一、原理	30
二、吸附剂的选择	30
三、吸附能力	30
第二节 分配层析	31
一、原理	31
二、操作要点	31
第三节 离子交换层析	32
一、原理	32
二、离子交换剂的类型	32
三、离子交换层析基本操作	33
第四节 凝胶层析	34
一、原理	34
二、凝胶的种类	35
三、操作方法	36
四、应用	38
第五节 亲和层析	38
一、原理	38
二、操作方法	39
第六节 高效液相色谱法	40

一、原理	40
二、高效液相色谱仪	40
三、色谱方法的选择	42
四、操作及注意事项	42
第五章 离心技术	43
第一节 基本原理	43
一、相对离心力	43
二、沉降系数	44
三、沉降速度	45
四、沉降时间	45
第二节 离心机的性能及用途	45
一、低速离心机	46
二、高速离心机	46
三、超速离心机	46
第三节 离心方法	47
一、差速离心	47
二、速度区带离心	47
三、等密度梯度离心	48
四、离心操作要领	48
第六章 生物大分子制备技术	49
第一节 材料的选择和预处理	50
一、动物材料	50
二、微生物材料	51
三、植物材料	51
第二节 细胞的破碎及细胞器的分离	52
一、细胞的破碎	52
二、细胞器的分离	53
第三节 生物大分子的提取和分离纯化	53
一、蛋白质和酶的提取及分离纯化	53
二、核酸的提取和分离纯化	55
第四节 样品的浓缩、干燥、保存及纯度鉴定	56
一、样品的浓缩	56
二、干燥	57
三、保存	57
四、纯度鉴定	58

第七章 膜分离技术	59
第一节 基本原理	59
一、原理	59
二、膜的性质	59
第二节 常见的几种膜分离技术	60
一、透析	60
二、超滤	60
三、电渗析	61
四、纳米过滤	61
第八章 酶联免疫技术(ELISA)	62
第一节 基本原理	62
一、检测抗体的间接法	62
二、检测抗原的双抗体夹心法	63
三、检测抗原的竞争法	63
第二节 操作要点	64
一、标本的采集与保存	64
二、试剂的准备	64
三、加样	65
四、保温	65
五、洗涤	65
六、显色和比色	66
七、结果判断	67
第九章 生物化学实验	68
氨基酸及蛋白质类实验	
实验一 薄层层析法分离氨基酸	68
实验二 纸层析法分离氨基酸	70
实验三 氨基氮的测定——甲醛滴定法	72
实验四 蛋白质的沉淀反应	74
实验五 蛋白质的两性反应和等电点测定	76
实验六 蛋白质含量的测定	78
实验七 乙酸纤维素薄膜电泳法分离血清蛋白质	87
实验八 蛋白质的脱盐技术	90
实验九 酪蛋白的制备	93
实验十 聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳法分离蛋白质	94
实验十一 SDS-聚丙烯酰胺凝胶(CPAGE)电泳测定蛋白质相对分子质量	98
实验十二 血清免疫球蛋白的分离纯化及鉴定	101

核酸类实验

实验十三	动物组织 DNA 的提取与含量测定	106
实验十四	酵母 RNA 的提取及定性定量鉴定	108
实验十五	质粒 DNA 的提取	111
实验十六	PCR 基因扩增实验	114
实验十七	DNA 琼脂糖凝胶电泳	116

酶学实验

实验十八	温度、pH、激活剂、抑制剂对酶活性的影响	118
实验十九	琥珀酸脱氢酶的作用及其竞争性抑制	120
实验二十	血清乳酸脱氢酶同工酶的分离与测定	122
实验二十一	血清转氨酶活性测定 (Mohun 法)	124
实验二十二	蛋白酶活力测定	127
实验二十三	大麦萌发前后淀粉酶活力的比较	129
实验二十四	酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定克伦特罗	131
实验二十五	酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定食品中磺胺二甲嘧啶残留	135
实验二十六	蔬菜上有机磷和氨基甲酸酯类农药残毒快速检测方法	137

维生素类实验

实验二十七	维生素 B ₂ 的定量测定 (荧光法)	139
实验二十八	维生素 C 的定量测定 (2,6-二氯酚靛酚滴定法)	141
实验二十九	脂溶性维生素的测定 (高效液相色谱法)	143

糖类实验

实验三十	肝糖原的提取与鉴定	147
实验三十一	总糖和还原糖测定 (3,5-二硝基水杨酸比色法)	149
实验三十二	费林试剂热滴定法测定还原糖	151
实验三十三	血糖的定量测定 (福林-吴宪法)	154
实验三十四	果胶的提取	156

脂类实验

实验三十五	粗脂肪的定量测定 (索氏抽提法)	158
实验三十六	卵磷脂的提取及鉴定	160
实验三十七	脂肪碘值的测定	162
实验三十八	脂肪酸价的测定	164

其它实验

实验三十九	水分的测定	165
实验四十	血清无机磷的定量测定	168
实验四十一	畜禽肉中己烯雌酚残留的测定 (高效液相色谱法)	170
实验四十二	叶绿素含量的测定 (分光光度法)	172

附 录	174
-----------	-----

一、常用溶液浓度的单位及计算	174
----------------------	-----

二、标准溶液的配制与标定	175
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	185
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	192
十三、离心机转速与相对离心力的换算图	193
主要参考书	194

第一章 生物化学实验基本常识和 常见仪器的使用

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。

第一节 生物化学实验基本常识

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,必须把仪器洗净,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:

$$\text{绝对误差} = \text{测定值} - \text{真实值}$$

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

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,若准确度好,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 25 mL(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—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 $6.050 \times 10^{-5}\text{g}$ 。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。

(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,然后用乙醇或乙醚洗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。

第二节 常用仪器的使用方法

一、容量玻璃器皿

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) 滴定管

滴定管可以准确量取不固定量的溶液或用于容量分析。常用的常量滴定管有 25 mL 及 50 mL 两种,其最小刻度单位是 0.1 mL,滴定后读数可以估计到小数点后两位数字。在生物化学工作中常使用 2 mL 及 5mL 半微量滴定管。这种滴定管内径狭窄,尖端流出的液滴也小,最小刻度单位是 0.01 mL 至 0.02 mL,读数可到小数点后第三位数字。