



全国普通高等院校工科化学规划精品教材



生物化学 实验

✦ 刘志国 主编

SHENGWU HUAXUE
SHIYAN



华中科技大学出版社

<http://www.hustp.com>

生物化学实验

主 编 刘志国

副主编 于建生 陈 雄 李敏康

编写人员(按姓氏笔画排序)

于建生 王金华 车振明 刘 军

刘志国 刘 杰 冯建成 李红芳

李明元 李敏康 吴正奇 宋宏新

陈 雄 金朝霞 阎达中

华中科技大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

生物化学实验/刘志国 主编. —武汉:华中科技大学出版社,2007年4月
ISBN 978-7-5609-4006-9

I. 生… II. 刘… III. 生物化学-实验 IV. Q5-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第045203号

生物化学实验

刘志国 主编

策划编辑:周铁波

责任编辑:刘 飞

责任校对:刘 竣

封面设计:秦 茹

责任监印:张正林

出版发行:华中科技大学出版社

武昌喻家山 邮编:430074 电话:(027)87557437

录 排:华中科技大学惠友文印中心

印 刷:湖北新华印务有限公司

开本:710mm×1000mm 1/16

印张:15.25

字数:301 000

版次:2007年4月第1版

印次:2007年4月第1次印刷

定价:22.80元

ISBN 978-7-5609-4006-9/Q·24

(本书若有印装质量问题,请向出版社发行部调换)

全国普通高等院校工科化学规划精品教材

编 委 会

主任

- 吴元欣 武汉工程大学校长, 化学工程与工艺专业教学指导分委员会委员
孙兆林 辽宁石油化工大学校长, 化学类专业教学指导分委员会委员
郑旭煦 重庆工商大学副校长, 制药工程专业教学指导分委员会委员

副主任

- 程功臻 武汉大学教授, 化学类专业教学指导分委员会委员
代 斌 石河子大学教授, 化学类专业教学指导分委员会委员
刁国旺 扬州大学教授, 化学基础课程教学指导分委员会委员
樊 君 西北大学教授, 制药工程专业教学指导分委员会委员
马万勇 山东轻工业学院教授, 化学基础课程教学指导分委员会委员
杨亚江 华中科技大学教授, 化学工程与工艺专业教学指导分委员会委员
张 珩 武汉工程大学教授, 制药工程专业教学指导分委员会委员

编委(以姓氏拼音为序)

- | | | | |
|-----|---------|-----|----------|
| 蔡定建 | 江西理工大学 | 聂长明 | 南华大学 |
| 车振明 | 西华大学 | 庞素娟 | 海南大学 |
| 丁一刚 | 武汉工程大学 | 邱凤仙 | 江苏大学 |
| 傅 敏 | 重庆工商大学 | 宋欣荣 | 湖南工程学院 |
| 贡长生 | 武汉工程大学 | 王金华 | 湖北工程大学 |
| 胡立新 | 湖北工程大学 | 许培援 | 郑州轻工业学院 |
| 李炳奇 | 石河子大学 | 姚国胜 | 常州工学院 |
| 李东风 | 长春工业大学 | 易 兵 | 湖南工程学院 |
| 李 华 | 郑州大学 | 尹建军 | 兰州理工大学 |
| 李宪臻 | 大连轻工业学院 | 张光华 | 陕西科技大学 |
| 李再峰 | 青岛科技大学 | 张金生 | 辽宁石油化工大学 |
| 李忠铭 | 江汉大学 | 张 龙 | 长春工业大学 |
| 林树坤 | 福州大学 | 郑燕升 | 广西工学院 |
| 刘 彬 | 黄石理工学院 | 钟国清 | 西南科技大学 |
| 刘志国 | 武汉工业学院 | 周梅村 | 昆明理工大学 |
| 陆必泰 | 武汉科技学院 | 周仕学 | 山东科技大学 |

前 言

生命科学在 20 世纪有了惊人的发展,并已经成为当今世界三大发展最快的现代科学之一。生物化学是生命科学领域中的重要组成部分,也是较为活跃的学科之一。作为一门以实验为基础的学科,生物化学实验方法和研究技术成为推动生物化学发展的重要动力。加强与提高生物化学实验技术的研究与教学,对生物化学课程的学习具有重要作用。与传统生物化学实验内容相比,当今生物化学研究更多地涉及生命现象的本质与化学基础,并广泛探讨生物分子结构与功能的关系、信息传递过程及基因表达调控的规律等,这使得现代生物化学实验研究与教学在内容上更加深入,更加广泛。

为了适应学科的发展及“十一五”期间我国高等教育改革的需要,充分体现学科发展状况,体现素质教育、创新教育及个性教育的思想,围绕“培养高素质、宽口径人才”的目标,提高教学水平和教学质量,并结合近年来生物化学实验技术和方法的发展及实验室条件,在华中科技大学出版社的协调与组织下,相关院校共同编写了适合普通工科院校使用的生物化学实验教材,以适应当今生物化学学科发展的需要。

全书分九章共 70 个实验项目,内容包括糖类物质的检测与分析、脂类物质的检测与分析、氨基酸的检测与分析、蛋白质的分离制备与分析、酶的分离制备与分析、维生素的检测分析、核酸的分离与分析、综合性与设计性实验等常用生物化学实验内容。另外还介绍了生物化学实验的有关基础知识和单元操作,并在最后附上生物化学实验中常用的数据资料,供实验中参考。

本教材适合作为普通高等院校各类理工科专业的生物化学实验课教材或参考书。

参加本书编写的单位有武汉工业学院、青岛科技大学、湖北工业大学、陕西科技大学、西华大学、大连轻工业学院、海南大学等。具体分工如下:实验 6、7(I)、10、12(I)、22(V)、23、26、32、53、55、58、59、61、66、67、68 及附录 6、7 由刘志国、刘军、阎达中、冯建成等编写,实验 4、11、13、14、20、27、33、34、35、36、42、43、44、49、50、52、56、57、63、64、65、70 等由于建生、刘杰、李红芳编写,实验 5、7(II)、8、15、21、22(I、II)、30、31、37、54 由陈雄、王金华、吴正奇等编写,实验 1、7(III)、9、12(II)、17、22(III、IV)25、45、46、48、60、62、第一章(第一节)及附录 1、2、3、4、5 由李敏康、宋宏新编写,实验 2、3、16、24、28、29、41、47 及第一章(第二节)由车振明、李明元编写,实验 18、19、38、39、40、51、69 由金朝霞编写。最后由刘志国负责全书的统稿工作,武汉工业学院生物技术教研室的其他老师(刘军、阎达中、丁洪波、曾万勇、吕玲肖等)也参加

了部分校订工作。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,在此表示衷心的感谢。

由于我们的水平和经验有限,本书难免存在缺点和错误,敬请使用本教材的师生和读者批评指正。

编 者

2006 年 12 月

目 录

第一章 实验基本知识与基本操作	(1)
第一节 实验室安全和防护知识	(1)
第二节 基础实验操作技能	(5)
第三节 基本单元操作	(21)
实验 1 微量移液器的使用	(21)
实验 2 单菌落的分离	(23)
实验 3 过夜悬浮培养与对数期培养	(26)
I. 过夜悬浮培养	(26)
II 对数期培养	(28)
第二章 糖类物质的检测与分析	(30)
实验 4 糖的旋光性和变旋现象	(30)
实验 5 还原糖的测定——3,5-二硝基水杨酸比色法	(31)
实验 6 粗淀粉的测定——1%盐酸旋光法	(33)
实验 7 血糖的测定	(35)
I 磷钼酸比色法	(35)
II 蒽酮比色法	(37)
III 葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法(GOD-POD 法)	(39)
第三章 脂类物质的检测与分析	(42)
实验 8 粗脂肪含量的测定——索氏抽提法	(42)
实验 9 脂肪酸值的测定——碱滴定法	(43)
实验 10 油脂皂化与皂化值的测定	(46)
实验 11 碘价的测定(Hanus 法)	(47)
实验 12 血清胆固醇的测定	(49)
I 化学比色法	(49)
II 酶法	(50)
实验 13 脂肪酸的 β -氧化	(52)
实验 14 尿中 17-羟皮质类固醇的测定——Porter-Silber 反应	(54)
第四章 氨基酸的检测与分析	(57)
实验 15 纸层析法分离鉴定氨基酸	(57)
实验 16 甲醛滴定法测定氨基氮含量	(59)
实验 17 赖氨酸含量的测定	(61)

实验 18 瓦氏呼吸计法测定 L-谷氨酸的含量	(63)
第五章 蛋白质的分离制备与分析	(67)
实验 19 蛋白质的两性反应与等电点的测定	(67)
实验 20 蛋白质和氨基酸的呈色反应	(69)
实验 21 蛋白质含量测定(一)——微量凯氏定氮法	(73)
实验 22 蛋白质含量测定(二)	(77)
I 双缩脲法	(77)
II 考马斯(Coomassie)亮蓝 G-250 法(Bradford 法)	(79)
III Folin 试剂法	(81)
IV BCA 法	(83)
V 紫外(UV)吸收测定法	(84)
实验 23 酪蛋白的制备	(87)
实验 24 凝胶层析法分离蛋白质	(88)
实验 25 血红蛋白的凝胶过滤	(91)
实验 26 蛋白质相对分子质量的测定	
——SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳法	(93)
实验 27 蛋白质的聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳	(101)
实验 28 血清蛋白质乙酸纤维薄膜电泳	(104)
实验 29 血浆脂蛋白的分离——琼脂糖凝胶电泳法	(106)
第六章 酶的分离制备与分析	(109)
实验 30 pH 值对酶活性的影响	(109)
实验 31 温度对酶活性的影响	(110)
实验 32 氨基移换反应——血液中转氨酶活性的测定	(112)
实验 33 乳酸脱氢酶及其辅酶的作用	(114)
实验 34 过氧化氢酶的作用	(115)
实验 35 过氧化物酶的作用	(116)
实验 36 细胞色素氧化酶的作用	(117)
实验 37 液化型淀粉酶活性的测定	(119)
实验 38 糖化型淀粉酶活性的测定	(121)
实验 39 大麦萌发前后淀粉酶活性的测定	(123)
实验 40 发色底物测定大曲中的 α -1,4-葡萄糖苷酶活性	(126)
实验 41 枯草杆菌蛋白酶活性测定	(127)
实验 42 溶菌酶结晶的制备及活性测定	(129)
实验 43 脂肪酶活性测定	(133)
实验 44 用正交法测定几种因素对酶活性的影响	(134)

第七章 维生素的检测分析	(138)
实验 45 维生素 B ₁ 的荧光测定	(138)
实验 46 维生素 B ₂ 的测定	(140)
实验 47 植物中抗坏血酸含量的测定	(143)
实验 48 维生素 A 的测定	(144)
第八章 核酸的分离与分析	(148)
实验 49 离子交换层析分离核苷酸	(148)
实验 50 核酸的定量测定(定磷法)	(151)
实验 51 酵母 RNA 的分离与组分鉴定	(152)
实验 52 核苷酸的纸电泳	(155)
实验 53 紫外吸收法测定核酸的含量	(156)
实验 54 RNA 与 DNA 的测定	(158)
实验 55 DNA 的琼脂糖凝胶电泳	(161)
实验 56 质粒 DNA 的微量制备(碱裂解法、煮沸法)	(164)
实验 57 质粒 DNA 的酶切鉴定及琼脂糖凝胶电泳	(169)
实验 58 质粒 DNA 的大量制备与纯化	(171)
实验 59 大肠杆菌感受态细胞的制备与转化	(175)
实验 60 PCR 基因扩增	(179)
实验 61 哺乳动物基因组 DNA 的提取	(181)
实验 62 植物基因组 DNA 的提取	(184)
实验 63 植物总 RNA 的提取与电泳	(186)
实验 64 RNA 的蔗糖密度梯度离心分离	(188)
实验 65 组织和细胞 RNA 的制备	(190)
第九章 综合性、设计性实验	(193)
实验 66 鸡卵类黏蛋白的分离纯化	(193)
实验 67 纤维素酶活性测定及 pH 值对其活性的影响	(198)
实验 68 酪氨酸酶的提取及其催化活性研究	(201)
实验 69 固定化酵母细胞及蔗糖酶的检测	(205)
实验 70 发酵过程中无机磷的利用和 ATP 的生成	(207)
附录 1 生物化学实验室规则	(210)
附录 2 玻璃、塑料器皿的清洗与处理	(211)
附录 3 实验样品的准备	(213)
附录 4 实验常用缓冲液的配制	(215)
附录 5 实验室中常用参数	(224)
附录 6 实验误差与提高实验准确度的方法	(225)
附录 7 实验记录与实验报告	(230)
参考文献	(233)

第一章 实验基本知识与基本操作

第一节 实验室安全和防护知识

在生物化学实验中难免有许多危险存在,因此每一位在生物化学实验室工作的人员都必须有充分的安全意识、严格的防范措施和丰富实用的防护救治知识,以确保发生意外时能正确地进行处置,防止事故进一步扩大。

一、着火

在生物化学实验室里经常使用大量的有机溶剂,如甲醇、乙醇、丙酮、氯仿等,而在实验室中又经常使用电炉等火源,因此极易导致火灾的发生。常见有机溶剂的易燃性如表 1-1 所示。

表 1-1 常见有机溶剂的易燃性

名 称	沸点/℃	闪点 ^① /℃	自燃点 ^② /℃
乙醚	34.5	-40	180
丙酮	56	-17	538
二硫化碳	46	-30	100
苯	80	-11	—
乙醇(95%)	78	12	400

注:① 闪点是液体表面的蒸气和空气的混合物在遇明火或火花时着火的最低温度。

② 自燃点是液体蒸气在空气中自燃时的温度。

由表 1-1 可以看出:乙醚、丙酮、二硫化碳、苯的闪点都很低,因此不得存储在可能会产生电火花的普通冰箱内。低闪点液体的蒸气只需接触红热物体的表面便会着火,其中乙醚、二硫化碳尤其危险。

预防火灾必须严格遵守以下操作规程。

(1) 严禁在开口容器和密闭体系中用明火加热有机溶剂,只能使用加热套或水浴加热。

(2) 废弃有机溶剂不得倒入废物桶,只能倒入回收瓶内,再集中处理;量少时,用水稀释后排入下水道。

本书中的百分数若未作特别说明,均指溶液的质量百分浓度。

(3) 不得在烘箱内存放、干燥、烘焙有机物。

(4) 在有明火的实验台面上不允许放置盛有有机溶剂的开口容器或倾倒有机溶剂。

一旦实验室中发生火灾切不可惊慌失措,要保持镇静,根据具体情况正确地进行灭火或立即报警(火警电话为 119)。具体的灭火方法分述如下。

(1) 容器中的易燃物着火时,应用灭火毯盖灭。因已确证石棉有致癌性,故改用玻璃纤维布作灭火毯。

(2) 乙醇、丙酮等可溶于水的有机溶剂着火时可以用水灭火。汽油、乙醚、甲苯等有机溶剂着火时不能用水,只能用灭火毯或沙土盖灭。

(3) 导线、电器和仪器着火时不能用水和二氧化碳灭火器灭火,应先切断电源,然后用 1211 灭火器(内装二氟-氯-溴甲烷)灭火。

(4) 个人衣物着火时,切勿慌张奔跑,以免风助火势,应迅速脱衣,用水龙头浇水灭火;火势过大时可就地卧倒打滚压灭火焰。

二、爆炸

在生物化学实验室内防止爆炸事故的发生是极为重要的,因为一旦发生爆炸其毁坏力极大,后果将十分严重。生物化学实验室内常用的易燃物蒸气在空气中的爆炸极限(体积百分数)见表 1-2。

表 1-2 易燃物蒸气在空气中的爆炸极限

名 称	爆炸极限(体积百分数)	名 称	爆炸极限(体积百分数)
乙醚	1.9~36.5	丙酮	2.6~13
氢气	4.1~74.2	乙炔	3~82
甲醇	6.7~36.5	乙醇	3.3~19

加热时会发生爆炸的混合物包括有机化合物+氧化铜、浓硫酸+高锰酸钾、三氯甲烷+丙酮等。

常见的引起爆炸事故的原因如下所述。

(1) 随意混合化学药品,并使其受热、受摩擦或撞击。

(2) 在密闭的体系中进行蒸馏、回流等加热操作。

(3) 在加压或减压实验中使用了不耐压的玻璃仪器,或因反应过于激烈而失去控制。

(4) 易燃易爆气体大量逸入室内。

(5) 高压气瓶减压阀摔坏或失灵。

三、中毒

生物化学实验室中常见的化学致癌物有石棉、砷化物、铬酸盐、溴化乙锭等,剧毒物有氰化物、砷化物、乙腈、甲醇、氯化氢、汞及其化合物等。中毒的原因主要是由

于不慎吸入、误食或由皮肤渗入。

中毒的预防措施如下所述。

(1) 保护好眼睛最重要,使用有毒或有刺激性气味的气体时,必须配戴防护眼镜,并应在通风橱内进行。

(2) 取用有毒物品时必须配戴橡皮手套。

(3) 严禁用嘴吸吸量管,严禁在实验室内饮水、进食、吸烟,禁止赤膊和穿拖鞋。

(4) 不要用乙醇等有机溶剂擦洗溅洒在皮肤上的药品。

中毒急救的方法主要有如下几种。

(1) 误食了酸或碱,不要催吐,可先立即大量饮水。误食碱者应再喝些牛奶;误食酸者,饮水后再服 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 乳剂,最后饮些牛奶。

(2) 吸入了毒气者,应立即转移到室外,并解开衣领;对休克者应施以人工呼吸,但不要对口对口法。

(3) 砷和汞中毒者应立即送医院急救。

四、外伤

1. 化学灼伤

(1) 眼睛灼伤。眼内若溅入化学药品,应立即用大量水冲洗 15 min,不可用稀酸或稀碱冲洗。

(2) 皮肤灼伤。皮肤灼伤主要包括如下三种。

① 酸灼伤:先用大量水冲洗,再用稀 NaHCO_3 溶液或稀氨水浸洗,最后再用水冲洗。

② 碱灼伤:先用大量水冲洗,再用 1% 硼酸或 2% 乙酸溶液浸洗,最后再用水冲洗。

③ 溴灼伤:比较危险,伤口不易愈合,一旦被溴水灼伤,应立即用 20% 的硫代硫酸钠溶液冲洗,再用大量水冲洗,然后包上消毒纱布后就医。

2. 烫伤

使用火焰、蒸气、红热的玻璃和金属时易发生烫伤。发生烫伤后应立即用大量水冲洗和浸泡,若皮肤上起了水泡,不可挑破,包上纱布后立即就医。轻度烫伤可涂抹鱼肝油和烫伤膏等进行处理。

3. 割伤

这是生物化学实验室内常见的伤害,要特别注意预防,尤其是在向橡皮塞中插入温度计、玻璃管时应特别注意,一定要用水或甘油对其进行润滑,用布包住轻轻旋入,切不可用力过猛,若发生严重割伤时应立即包扎止血,就医时务必检查受伤部位神经是否被切断。若有玻璃碎片进入眼内,必须十分小心谨慎,不可自取,不可转动眼球,可任其流泪,若碎片不出,则用纱布轻轻包住眼睛急送医院处理。若有木屑、尘粒等异物进入眼内,可由他人翻开眼睑,用消毒棉签轻轻取出或任其流泪,待异物排出后

再滴几滴鱼肝油。

在实验室里应准备一个完备的小药箱,专供急救时使用。药箱内应备有医用酒精、红药水、紫药水、止血粉、创可贴、烫伤油膏(或万花油)、鱼肝油、1%硼酸溶液或2%乙酸溶液、1%碳酸氢钠溶液、20%硫代硫酸钠溶液、医用镊子和剪刀、纱布、药棉、棉签、绷带等。

五、触电

在生物化学实验中要使用大量的电器,因此每位实验人员都必须掌握安全用电的常识,避免发生一切用电事故。一般情况下,当50 Hz、25 mA的电流通过人体时,人的呼吸会发生困难,而50 Hz、100 mA以上的电流通过时则会致人死亡。防止触电事故的发生需注意以下几点。

- (1) 不能用湿手接触电器。
- (2) 电源裸露部分均应绝缘。
- (3) 坏的接头、插头、插座和不良导线应及时更换。
- (4) 先接好线路再插接电源,反之先关电源再拆线路。
- (5) 仪器使用前要先检查外壳是否带电。
- (6) 如遇有人触电,要先切断电源再救人。

六、预防生物危害

(1) 生物材料如微生物或动物的组织、细胞培养液、血液、分泌物都可能存在细菌和病毒感染的潜在性危险,这虽不如上述伤害明显,但也绝不能忽视。如通过血液感染的血清性肝炎(澳大利亚抗原)就是最大的生物危害之一,感染途径除通过血液外,也能通过其他体液传播病毒,因此在处理各种生物材料时必须谨慎、小心,做完实验后必须用肥皂、洗涤剂或消毒液充分洗净双手。

(2) 使用微生物作为实验材料,特别是使用和接触含病原的生物材料时,尤其要注意安全和清洁卫生。被污染的物品必须进行高压消毒或烧成灰烬,被污染的玻璃用具应在清洗和高压灭菌之前立即浸泡在适当的消毒液中。

(3) 在进行遗传重组的实验室中更应根据有关规定加强生物伤害的防范措施。

七、警惕放射性伤害

放射性同位素在生物化学实验中应用得愈来愈普遍,放射性伤害也应引起实验者的高度警惕。放射性同位素的使用必须在指定的具有放射性标志的专用实验室中进行,切忌在普通实验室中操作和存放带有放射性同位素的材料。

八、溴化乙锭溶液的净化处理

溴化乙锭是强诱变剂,具有中度毒性,取用含有这一染料的溶液时务必戴手套。

该溶液经使用后应按下面介绍的方法进行净化处理。

1. 溴化乙锭浓溶液(即浓度大于 0.5 mg/mL 的溴化乙锭溶液)的净化处理

(1) 加入足量的水使溴化乙锭的浓度降低至 0.5 mg/mL 以下。

(2) 加入 1 倍体积的 0.5 mol/L 高锰酸钾溶液,小心混匀后再加 1 倍体积的 2.5 mol/L 盐酸。小心混匀后,于室温放置数小时。

(3) 加入 1 倍体积的 2.5 mol/L 氢氧化钠溶液,小心混匀后可丢弃该溶液。

2. 溴化乙锭稀溶液(如含有 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 溴化乙锭的电泳缓冲液)的净化处理

(1) 每 100 mL 溴化乙锭溶液中加入 100 mg 粉状活性炭。

(2) 于室温放置 1 h,不时摇动,或加入 2.9 g Amberlit XAD-16 吸附剂,于室温放置 12 h,不时摇动。

(3) 用 Whatman 1 号滤纸过滤溶液,丢弃滤液。

(4) 用塑料袋封装滤纸和活性炭,作为有害废物予以丢弃。

第二节 基础实验操作技能

一、玻璃器皿的清洗

清洗玻璃器皿的方法有很多,一般根据实验的要求、污物的性质和污染的程度来选用清洗方法。通常黏附在器皿上的污物,有可溶性物质,也有不溶性物质和尘土,还有油污和有机物质等。针对各种情况,可以分别采用下列洗涤方法。

(一) 能用毛刷刷洗的玻璃器皿的清洗方法

能用毛刷刷洗的玻璃器皿有试管、烧杯、试剂瓶、锥形瓶、量筒等广口玻璃器皿,其清洗方法如下。

(1) 用水刷洗。根据要洗涤的玻璃器皿的形状选择合适的毛刷,如试管刷、烧杯刷、瓶刷、滴定管刷等。用毛刷蘸水刷洗,可使可溶性物质溶去,也可使附着在玻璃器皿上的尘土和不溶物脱落下来,但往往洗不掉油污和有机物质。

(2) 用洗涤剂刷洗。蘸取洗涤剂,仔细刷洗玻璃器皿的内外壁(特别是内壁)。为了提高洗涤效率,可将洗涤剂配成 2%~5% 的水溶液,加温浸泡要洗的玻璃器皿片刻后,再用毛刷反复刷洗。对污物黏附较紧的玻璃器皿,可在上述洗涤液中加入适量去污粉,刷洗后用自来水冲洗干净。若仍有油污,可用铬酸洗液浸泡,使用时应先将要洗涤的玻璃器皿内的水液倒尽,再将铬酸洗液倒入欲洗涤的玻璃器皿中浸泡数分钟至数十分钟,如将洗液预先加至温热,则效果更好。刷洗后的玻璃器皿和经铬酸洗液浸泡后的玻璃器皿用自来水反复冲洗,洗涤剂彻底冲洗干净(如果洗涤剂没有洗净,装水后弯月面变平)后,再用蒸馏水或去离子水清洗 2~3 次。将清洗后的玻璃器皿置于器具架上自然沥干,或置于 100~130℃ 的烤箱中烘干。

(二) 不能用毛刷刷洗的玻璃器皿的清洗方法

(1) 吸量管、容量瓶等小口玻璃量器,使用后应立即浸泡于凉水中,勿使残留物质干涸。工作完毕后应用流水冲洗玻璃量器,初步除去附着的试剂、蛋白质等物质。量器晾干后浸泡于铬酸溶液中 4~6 h 或过夜,然后用自来水充分冲洗干净,再用蒸馏水或去离子水清洗 2~3 次,置于量器架上自然干燥。急用时可置于烤箱中烘干,温度应低于 80 °C,或在量器中加入少量无水乙醇或甲醇、乙醚之类的溶剂,慢慢转动使其布满整个容器内壁,然后倒出,再吹干或加负压抽干,即可达到快速干燥的目的。

(2) 分光光度计用的比色皿,用完后应立即用自来水反复冲洗干净。如洗不净时可采取以下任何一种方法处理。

① 可用 3.5 mol/L 的 HNO_3 溶液或稀盐酸冲洗,再用自来水、蒸馏水冲洗干净。

② 浸泡于溶液 I (0.2 mol/L 的 Na_2CO_3 溶液+少量阴离子表面活性剂)浸泡后水洗,再于溶液 II (体积比为 1:5 的 HNO_3 溶液+少许 H_2O_2) 浸泡后再用自来水、蒸馏水冲洗干净。

③ 当容器被带有颜色的有机物质玷污时,浸泡于盐酸-乙醇溶液(浓盐酸与 95% 乙醇的体积比为 1:2)后,用自来水或蒸馏水冲洗干净。

切忌用毛刷刷洗,或用粗糙的布或纸擦拭,以免损坏比色皿的透光度,亦应避免用较强的碱液或强氧化剂清洗。洗净后倒置晾干备用。

(3) 可调定量的加液器使用完毕后,如长期不使用,必须把加液器放在蒸馏水内连续抽打数次,把管内活塞洗净,以免活塞卡死,特别是使用容易结晶的碱性液体后,除了要在自来水、蒸馏水内清洗外,还要将活塞抽出用手进行清洗,然后自然晾干或置于烤箱内在 80 °C 温度以下烘干,装好保存。

(三) 新玻璃器皿的清洗

新玻璃器皿的表面常附着有游离的碱性物质,可先用热的洗液或肥皂水刷洗,再流水冲洗,再用 0.3~0.6 mol/L HCl (1%~2%) 溶液浸泡 4 h 以上,以除去游离碱,再用流水冲洗干净。对容量较大的容器,洗净后,注入少量浓盐酸,慢慢转动,使浓盐酸布满整个容器内壁,数分钟后倾倒入浓盐酸,用流水冲洗干净,然后用蒸馏水清洗 2~3 次,自然晾干或置于烤箱内烘干备用。

(四) 油污玻璃器皿的清洗

被石蜡、凡士林或其他油脂类玷污的玻璃器皿,要单独洗涤,以防止油脂污染其他玻璃器皿,增加洗涤难度。洗涤时,首先要除去油脂,将油污玻璃器皿倒立于铺有吸水力强的厚纸的铁丝筐内,置于 100 °C 的烤箱中烘烤半小时(小心失火),使油脂熔化并被厚纸吸收,再将其置于碱性洗液中煮沸,趁热洗刷,可除去油脂。然后再按上述(一)或(二)的方法清洗。

生物化学实验中玻璃器皿清洁的要求是以化学清洁的标准来衡量的,即玻璃器皿表面不应黏附有任何杂质。经自来水洗净的玻璃仪器,其表面往往还留有 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cl^- 等离子,所以应用蒸馏水或去离子水清洗 2~3 次,将它们洗去。使用蒸馏水或去离子水的目的,只是洗去附着在仪器表面上的自来水,所以应采用少量多次的原则。清洁的玻璃器皿用蒸馏水清洗后,其内壁应能被水均匀湿润且无条纹及水珠,十分明亮光洁。

二、溶液的混匀

欲使一化学反应充分进行,必须使参与反应的各物质迅速地相互接触,常常需要用机械的方法使参与反应各物质充分混匀,以增加它们接触的机会。将溶液混匀不仅是提高化学反应速度的一个重要环节,也是物质溶解和溶液稀释过程中的必经操作步骤。混匀操作必须根据容器的大小和形状以及所盛溶液的多少和性质的不同而采用不同的方法。

(1) 用玻棒搅拌混匀,适用于烧杯中内容物的混匀,如固体试剂的溶解和混匀。搅拌使用的玻棒,必须两头都很圆滑,其粗细长短必须与容器的大小和所配制溶液量的多少成适当比例关系,不能用长而粗的玻棒去搅拌小离心管中的少量溶液。

(2) 旋转混匀,适用于未盛满溶液的锥形瓶、试管和小口容器等中内容物的混匀。操作方法是手持容器上端,以手腕、肘或肩作轴旋转容器底部,不应上下振动。

(3) 弹打混匀,适用于锥形离心管、小试管和小塑料离心管等中内容物的混匀。操作方法是手持容器上端,用右手手指弹动或拨动容器下部,使溶液在容器内作漩涡状运动。

(4) 倒转混匀,适用于具塞的容器,如容量瓶、具塞量筒和具塞离心管等中内容物的混匀。操作方法是将容器反复倒转。如是容量瓶,由于瓶颈细小,液量太多,不容易混匀,每倒转一次,还要将容量瓶底部旋转摇动数次;如不是具塞试管,并且液量较多,可用聚乙烯等薄膜封口,再用大拇指按住管口反复倒转混匀。

(5) 吸量管混匀,适用于不同浓度样品的混匀。操作方法是先用吸量管吸取溶液,将吸量管嘴提离液面少许,再把吸量管中的液体用劲吹回溶液。反复吸、吹数次,可使溶液充分混匀。

(6) 转动混匀,适用于黏稠性大的溶液的混匀,但液量不可太满,以占容器容积的 $1/3 \sim 2/3$ 为宜。操作方法是手持容器上部,使容器底部在桌面上作快速圆周运动。

(7) 倾倒混匀,适用于液量多、内径小的容器中溶液的混匀。操作方法是用两个洁净的容器,将溶液来回倾倒数次,以达到混匀的目的。

(8) 甩动混匀,右手持试管上部,轻轻甩动振摇,即可混匀。

(9) 振荡器混匀,利用振荡器使容器中的内容物振荡,达到混匀的目的。

(10) 电磁搅拌混匀,适用于酸碱自动滴定、pH 梯度滴定等。操作方法是把装有

待混匀溶液的烧杯放在电磁搅拌器上,在烧杯内放入封闭于玻璃或塑料管中的小铁棒,利用电磁力使小铁棒旋转,以达到混匀烧杯中溶液的目的。

三、过滤

过滤的目的是要使沉淀与液体分离。在试管内生成的沉淀,通常利用离心法将其分离出来,但有大量的沉淀生成时,小型离心机就不能达到分离沉淀的目的。所以,有大量的沉淀产生时多采用过滤分离法。

1. 常压过滤

常压过滤就是不外加任何压力,滤液在自然条件下通过介质进行过滤的一种方法,适用于滤液黏度小、沉淀颗粒粗、过滤速度快的样品,过滤介质可选用孔隙较大的滤纸、脱脂棉和纱布等。

(1) 滤纸的选择。滤纸有定量滤纸和定性滤纸两种。定量滤纸已经盐酸去灰处理,以尽量除去滤纸中的矿物质。当过滤酸性溶液时,很少有灰质从滤纸中流出。由于这种滤纸在制造过程中,曾用氨中和去灰处理的酸,因而滤纸上留有一定的氨盐,所以不适合用于过滤含氮的溶液。定性滤纸灼烧后会留下相当多的灰分,因此不适合用于质量分析。所以,定性滤纸一般用于普通过滤,定量滤纸多用在质量分析中。滤纸大小的选择可根据沉淀的多少来决定,至于漏斗的大小,应以滤纸放入漏斗后,滤纸的边缘低于漏斗边缘 5~10 mm 即可。

(2) 滤纸的折叠。折叠滤纸一般用两次对叠法。先通过滤纸圆心对叠一次后,与第一次成垂直方向再对叠一次,展开上部即成 60° 圆锥形,恰与漏斗壁密合。如果漏斗不成 60° ,则第二次对叠时应适当地改变角度,使滤纸较大或较小的一半展开后刚好与漏斗壁密合。

(3) 混悬液的加入。向漏斗中加入待过滤的混悬液时用玻棒引流,玻棒应倾斜约 20° ,其下端靠近三层滤纸一侧,但不要触及滤纸,且混悬液沿玻棒流入漏斗时的速度不要太快,不得使混悬液超过滤纸上缘。

2. 减压过滤

减压过滤就是在介质下面抽气减压、提高过滤速度的方法,常用于以下几种情况:

- (1) 滤液黏度较大;
- (2) 滤液为胶体溶液;
- (3) 沉淀颗粒很小,不易在常压下过滤;
- (4) 为了取得沉淀需尽量排尽滤液;

(5) 为了加快过滤速度,分离滤液与沉淀(如精制某些试剂需反复结晶与过滤,以便达到迅速精制结晶的目的)。

减压过滤漏斗常用布氏漏斗或玻璃砂芯漏斗,使用时,应将滤纸剪成与漏斗孔径一样大小,平贴在滤板上,用滤液湿润,通过抽气的方式使之紧贴在滤板上,或者将滤纸撕成碎片,在蒸馏水中搅成纸浆,在减压情况下将其倒在滤板上,抽去水分后即成