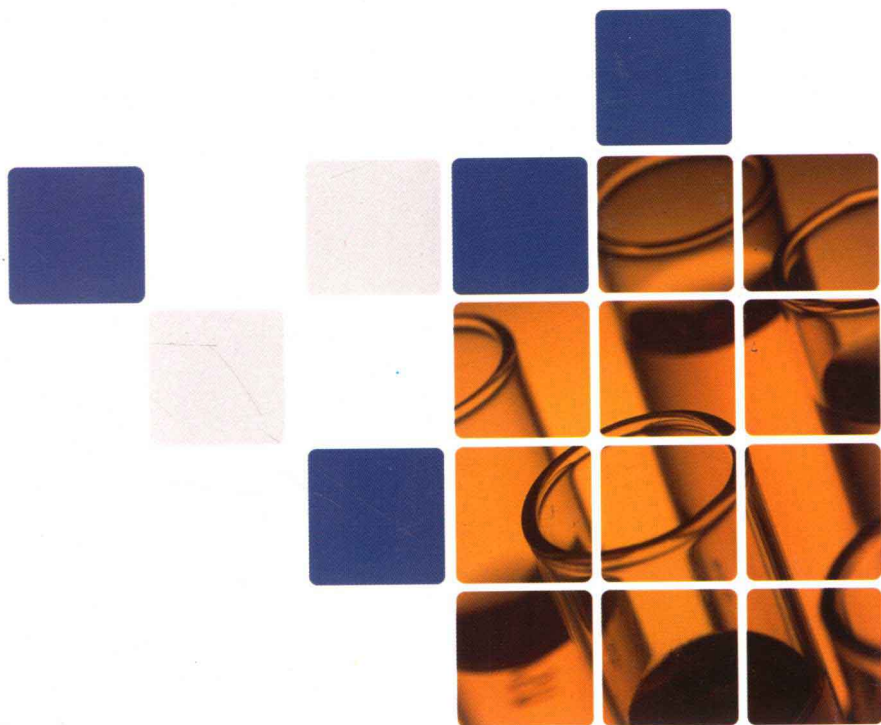




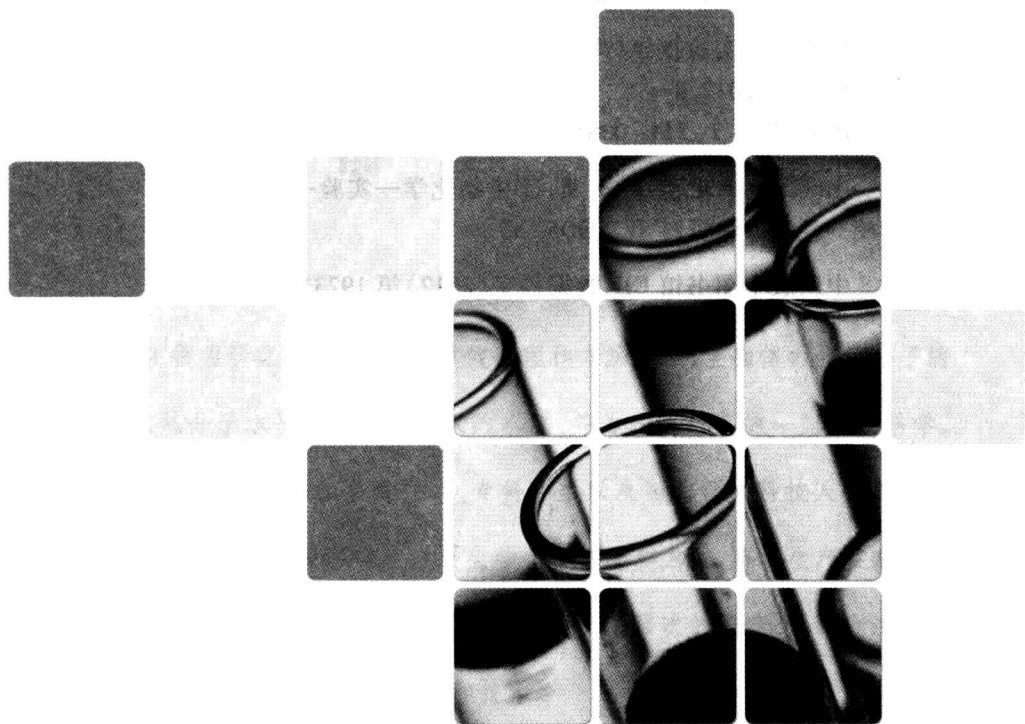
生物化学实验指导

SHENGWU HUAXUE SHIYAN ZHIDAO

黄双盛◎主编



兰州大学出版社



生物化学实验指导

SHENGWU HUAXUE SHIYAN ZHIDAO

主 编 黄双盛

编 者 黄双盛 李永泉 李彩丽

张晓苏 黄 涛 高 静



兰州大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

生物化学实验指导/黄双盛主编. —兰州:兰州
大学出版社, 2012. 8

ISBN 978-7-311-03859-5

I. ①生… II. ①黄… III. ①生物化学—实验—高等
学校—教学参考资料 IV. ①Q5-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 192315 号

策划编辑 王曦莹
责任编辑 张 萍
封面设计 刘 杰

书 名	生物化学实验指导
主 编	黄双盛
出版发行	兰州大学出版社 (地址:兰州市天水南路 222 号 730000)
电 话	0931-8912613(总编办公室) 0931-8617156(营销中心) 0931-8914298(读者服务部)
网 址	http://www.onbook.com.cn
电子信箱	press@lzu.edu.cn
印 刷	甘肃北辰印务有限公司
开 本	787 mm × 1092 mm 1/16
印 张	10.75
字 数	275 千
版 次	2012 年 8 月第 1 版
印 次	2012 年 8 月第 1 次印刷
书 号	ISBN 978-7-311-03859-5
定 价	16.00 元

(图书若有破损、缺页、掉页可随时与本社联系)

前 言

生物化学实验是以生物为研究对象,利用化学的原理和方法,阐明生物体内化学分子的结构与化学反应的机理,从分子水平探讨生命现象的本质,并为人类服务的一门实验科学。它是医学、动物科学、农学等生命学科相关专业本、专科学生以及相关领域科技人员必须掌握的专业基础技术。生物化学实验以提高学生应用生物化学原理和方法,解决生产实践中的实际问题为目标,侧重于学生基本技能、综合能力、创新能力三个层次的培养,同时也注意增加一些新近发展起来的重要的生物化学研究方法和技术。

本实验指导根据西北民族大学医学院生物化学实验室多年的实验教学经验,特别是结合近年来实验教学改革实践,经反复修改、充实编撰而成,其内容取舍、顺序安排颇有特色。全书共四篇。第一篇为生物化学领域中基本操作、基本实验技术及原理,主要内容为:实验室基本操作、实验样品的制备、分光光度法及比色分析法、电泳法、层析法、离心技术等;第二篇为生物化学基本实验,每个实验需3~6学时,所遴选的内容均与离心、电泳、层析、比色分析等这些基本技术的应用相关,适合于本科和大专生选用;第三篇为系列性综合性实验,即一个实验中包含多种实验技术,其综合、强化训练功能较强,难度较高,每个实验5~8学时,适合于本科生选用。第四篇为附录部分,内容丰富实用,参考性较大。

本书计量单位和表达方式一律采用法定计量单位。由于部分量值采用法定计量单位后变动较大,给工作带来不便,本书仍将旧单位括注在法定量值之后,以供参考。

本书是西北民族大学医学院生物化学与分子生物学教研室几代老师和学生从教学和科研中总结经验、不断完善、提取的精华。第一篇由黄双盛、李永泉、李彩丽老师编写,第二篇由黄双盛、李永泉、李彩丽、张晓苏、黄涛、高静老师编写,第三篇由黄双盛、李永泉、李彩丽、黄

生物化学实验指导

涛、高静老师编写。本书的实验方法严谨可靠,可操作性强,实用性强,具有部分工具书的属性。本书适用于高等医药院校基础生物化学实验教学,可供临床医学、药学、影像医学、医学检验、口腔、预防、护理等专业根据各专业特点选择使用。

尽管我们用最大努力来编写本教材,由于能力有限,难免有不足与疏漏之处,谨望广大师生在使用当中多提宝贵中肯的意见,以便更好地完善教材。

编 者

2012 年 2 月

目 录

总论 001

第一篇 生物化学实验基本操作、基本技术及原理 002

 第一章 实验室基本要求 002

 第二章 实验室基本操作 005

 第三章 实验样品的制备 011

 第四章 分光光度法及比色分析法 014

 第五章 电泳技术 019

 第六章 层析技术 023

 第七章 离心分离技术 027

第二篇 生物化学基本实验 030

 实验一 微量凯氏定氮法测定蛋白质的含量 030

 实验二 双缩脲法测定蛋白质的含量 032

 实验三 Folin-酚试剂法测定蛋白质的含量 034

 实验四 紫外分光光度法测定蛋白质的含量 036

 实验五 蛋白质及氨基酸的呈色反应 037

 实验六 蛋白质的两性解离和等电点的测定 039

 实验七 蛋白质的沉淀和变性实验 041

 实验八 血清蛋白质醋酸纤维素薄膜电泳 043

 实验九 pH、温度、激动剂和抑制剂对酶活性的影响 045

 实验十 米氏常数的测定 048

 实验十一 乳酸脱氢酶及辅酶 I 052

 实验十二 碱性磷酸酶的提取、比活性测定 054

 实验十三 血清淀粉酶的测定 056

实验十四	琥珀酸脱氢酶的竞争性抑制	058
实验十五	维生素 C 的提取及定量测定	060
实验十六	邻甲苯胺法测定血糖	061
实验十七	葡萄糖氧化酶法测定血糖浓度	064
实验十八	Folin-吴宪法测定血糖浓度	065
实验十九	饱食和饥饿对肝糖原含量的影响	067
实验二十	糖酵解中间产物的鉴定	069
实验二十一	肝糖原的提取与鉴定	070
实验二十二	细胞色素 C 的分离制备和测定	072
实验二十三	琼脂糖凝胶电泳分离血浆脂蛋白	075
实验二十四	肝脏中酮体生成作用	076
实验二十五	血清甘油三酯的测定	077
实验二十六	血清总胆固醇的测定(高铁—硫酸显色法)	079
实验二十七	脂肪酸的 β -氧化—酮体测定法	082
实验二十八	血清无机磷的测定	084
实验二十九	血清钙的测定	086
实验三十	尿中的肌酐、尿酸含量测定	087
实验三十一	改良 J-G 法测定血清总胆红素和结合胆红素	090
实验三十二	金氏法测定血清谷丙转氨酶活性	092

第三篇 综合性实验

实验三十三	垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)分离血清蛋白	095
实验三十四	SDS-PAGE 测定蛋白质的相对分子质量	099
实验三十五	异常血红蛋白的筛查	104
实验三十六	血清白蛋白的分离、纯化与鉴定	106
实验三十七	DEAE—离子交换剂纯化血清 IgG	106
实验三十八	鸡卵类黏蛋白的分离纯化、活性及相对分子质量的测定	110
实验三十九	应用 PCR 技术扩增 Hb 基因	114
实验四十	DNA 琼脂糖凝胶电泳	116
实验四十一	紫外吸收法测定 DNA 含量	117
实验四十二	质粒 DNA 的提取与定量	118
实验四十三	DNA 的限制性酶切反应	120

实验四十四	目的 DNA 片段的回收	121
实验四十五	大肠杆菌感受态细胞的制备	123
实验四十六	DNA 体外重组、转化及阳性克隆的筛选	124
实验四十七	总 RNA 的提取及 RT-PCR 扩增目的基因	126
实验四十八	蛋白质印迹(western blotting)	130
实验四十九	southern 印迹杂交	133

附 录

附录一	铬酸洗液的配制方法	141
附录二	常用酸碱体积分数、相对密度和物质的量浓度的关系	143
附录三	常用单位及转换	144
附录四	常用酸碱溶液的密度和浓度	147
附录五	常用缓冲溶液的配制方法	148
附录六	危险试剂及其保存	155
附录七	生物化学实验常用柱料数据及性质	159

总 论

生命科学在 20 世纪具有惊人的发展,其中生物化学与分子生物学技术的进展尤为迅速,它极大地推动了生命科学的发展,并将成为 21 世纪的带头学科。该学科的发展与实验技术息息相关,每一种新的生化物质的发现与研究都离不开实验技术,实验技术每一次新的发明均大大推动了生物化学研究的进展。因此,实验在生物化学这门学科学习中占有重要的地位。它也是医药院校学生必修的一门基础实验课程,对于每一位学习生命科学的学生来说,学习并掌握各种生物化学实验技术是极为重要的,它在生命科学基础研究领域具有广泛的应用价值。

20 世纪 20 年代,微量分析技术的发展和超离心技术的建立,开创了生化物质离心分离的先河,同时,准确测定了如血红蛋白等复杂蛋白质的相对分子质量。30 年代,电子显微镜技术打开了微观世界,使我们能够看到细胞内以及生物大分子的内部结构。40—70 年代,层析技术和电泳技术兴起,以及同位素示踪技术和各种光谱技术的应用,尤其是 Watson 和 Crick 利用上述技术提出并证实了 DNA 双螺旋结构模型,这些研究成果开创了生命科学的历史新纪元。20 世纪 70 年代,基因工程技术取得了突破性的进展,Arber、Smith 和 Nathans 3 个小组发现并纯化了限制性内切酶。1972 年,美国斯坦福大学的 Berg 等首次使用限制性内切酶切割了 DNA 分子,并实现了 DNA 分子的重组。1973 年,Cohen 等第一次成功进行了 DNA 重组体的转化技术,与此同时,各种仪器分析手段进一步发展,研制成功了 DNA 测序仪、DNA 合成仪等。从此,生物化学进入了蓬勃发展的时期,即进入了分子生物学时代。1985 年,PCR(polymerase chain reaction)即聚合酶链式反应的 DNA 扩增技术,以及近年来发展起来的 RNAi(RNA interfere)技术、基因芯片技术和染色质免疫共沉淀技术(CHIP)等,均推动了生命科学研究的发展,对生物化学和分子生物学研究工作具有跨时代的意义。

本书的编写宗旨是简明、实用,内容主要侧重于对学生基本的实验方法和技能的训练,让学生了解并掌握生物化学的四大基本实验方法,即分光光度法、离心法、层析法和电泳法。同时也注意引进一些新近发展起来的、重要的生物化学及分子生物学研究技术,作为学生学习其他专业课程和进入科学研究领域的准备。

第一篇 生物化学实验基本操作、 基本技术及原理

第一章 实验室基本要求

一、实验目的

- 1.加深理解:加深对生物化学基本理论的理解。
- 2.掌握技术:掌握生物化学的基本实验方法和实验技术(四大基本技术:离心、电泳、层析和比色)及分子生物学的一些基本技术和方法。
- 3.培养能力:培养学生的思维能力、动手能力和表达能力。
- 4.掌握精髓:科学的精髓是实事求是,敢于探索,善于创新的精神,要对实验中出现的一切反常现象进行讨论,并大胆提出自己的看法。

二、实验要求

- 1.实验前必须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,结果不良时必须重做。
- 3.实验中,应及时将实验结果如实记录下来,并请老师当场审核。根据实验结果进行科学分析,按时将实验报告交老师评阅。

三、实验时注意事项

- 1.进实验室要穿好实验服,以免酸碱腐蚀衣服。
- 2.进实验室前准备好实验指导、课本、笔记、实验记录本、报告本、文具等。
- 3.要保持实验台整洁,试剂、仪器应整齐,按次序放置。实验完毕要按各类仪器的清洗方法和要求将仪器清洗干净。
- 4.实验室是培养学生独立思考、独立工作能力及良好科学作风的重要场所,操作务必认真不得敷衍,室内应保持肃静,不得吸烟、玩闹,不得随地吐痰、乱丢纸屑。实验后要清扫实验台面、地面,试剂瓶要码放整齐。

5.要爱护仪器、节约药品。第一次实验时要按仪器清单清点仪器,负责保管。用后如数交还,在使用时如有破损,及时报告,经指导老师检查后填写破损单,按学校规定赔偿。

6.使用贵重精密仪器应先熟悉使用方法,严格遵守操作规程。使用分光光度计时不得将溶液洒在仪器内外和地面上。使用高速冷冻离心机和 HPLC 等大型仪器必须经过考核。仪器发生故障应立即报告老师,未经许可不得自己随意检修。

7.要节约水电,随手关闭水门、电门。

四、值日生任务

1.领发本次所用仪器和物品,清点、交还临时用仪器和物品,若有损坏负责追查赔偿。

2.管理操作公用仪器,打蒸馏水。

3.搞好实验室卫生,做到仪器、桌面、地面、水池……全干净。

4.确保安全:管好仪器、门窗、水电。

5.请任课及技术室老师检查工作,认可后方能离开实验室。

五、试剂使用规则

1.使用试剂前应仔细辨认标签,看清名称及浓度,是否为本实验所需要。

2.取出试剂后,立即将瓶塞盖好,切勿盖错,放回原处。试剂瓶塞、专用吸量管、滴管,不得与试剂瓶分家,以免错用而污染试剂,造成自己或他人实验的失败。未用完的试剂不得倒回瓶内。

3.取标准溶液时,应先将标准溶液倒入干净试管中,再用清洁吸管吸取标准溶液,以免污染瓶中的标准溶液。

4.使用滴管时,滴管尖端朝下,切勿倒置,勿使试剂流入橡皮帽内。

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

6.实验中,将移液枪、吸量管、药品等用完后放回原处,实验台面、称量台、药品架、水池以及各种实验仪器内外都必须保持清洁整齐,严禁瓶盖及药勺混杂,切勿使药品(尤其是 NaOH)洒落在天平和实验台面上,毛刷用后必须立即挂好,各种器皿不得丢弃在水池内。

7.多余的重要试剂和各种有污染的液体和凝胶,要按老师要求进行回收,如昂贵的 Sephadex、Sepharose 凝胶,经溴化乙啶(EB)污染的琼脂糖凝胶及其电泳缓冲液等,用后必须及时回收,不得丢弃。

8.配制的试剂和实验过程中的样品,尤其是保存在冰箱和冷室中的样品,必须贴上标签,写上品名、浓度、姓名和日期。放在冰箱中的易挥发溶液和酸性溶液必须严密封口。

9.配制和使用洗液必须极为小心,强酸强碱必须倒入废液缸或稀释后排放。

六、安全注意事项

1.低沸点有机溶剂如乙醚、石油醚、酒精等,均系易燃物品,使用时应禁明火,远离火源,若需加热要用水浴加热,不可直接在火上加热。

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

3.若发生酸碱灼伤事故,先用大量自来水清洗,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。

4.若发生起火事件,根据发生起火性质分别采用沙、水、 CO_2 或 CCl_4 灭火器扑灭。

5.离开实验室必须关好窗户,切断电源、水源,以确保安全。

七、废弃物处理

1.所有固体废弃物如用过的滤纸、棉花、碎屑沉淀物等,必须倾弃于垃圾筒中。

2.浓酸必须弃于小钵中,用水稀释后倒入水池中。

3.实验完成后的沉淀或混合物含有可提取的贵重药品不可随意舍弃,应交老师保存。

八、实验记录及实验报告

1.实验记录

详细、准确、如实地做好实验记录是极为重要的,记录如果有误,会导致整个实验失败,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)每位同学必须准备一个实验记录本,实验前认真预习实验,看懂实验原理和操作方法,在记录本上写好实验预习报告,包括简要的实验流程图和数据记录表格等。

(2)记录本上要编好页码,不得撕缺和涂改,写错时可以划去重写。不得用铅笔记录,只能用钢笔和圆珠笔。

(3)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。

(4)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。

(5)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2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。

(6)实验中要详细记录实验条件,如使用的仪器型号、编号、生产厂家等,生物材料的来源、形态特征、健康状况、选用的组织及其重量等,试剂的规格、化学式、相对分子质量、试剂的浓度等,都应记录清楚。

(7)如果怀疑观测结果或记录不完整,必须重做实验。

2.实验报告

实验报告是实验的总结和汇报,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,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。实验结束后,应及时整理和总结实验数据,写出实验报告。一份好的实验报告应包括以下内容。

(1)标题。标题应包括实验时间、实验地点、实验组号、实验者姓名、实验时条件(如温度、湿度等)。

(2)实验目的。

(3)实验原理。应简明扼要地阐述实验的理论指导,使未做过实验的人看后对该实验有一个初步的了解。

(4)仪器与试剂。对实验材料要写清其来源及规格、浓度、配制方法和配制人。对实验仪器要写明其生产厂家、型号、生产序号等常用指标。

(5)操作方法。要描述自己的操作过程及方法,不能完全照抄实验指导书,可简明扼要地把实验步骤一步步写出,也可用工艺流程图或表格形式按照先后顺序表示。实验步骤一定要写得准确明白,以便他人能够重复验证。

(6)实验结果。将实验中的现象、数据进行整理、分析,得出相应的结论。在生物化学实验中最常用的多以图表来表示实验结果,这样可使实验结果清楚明了。特别在生化实验中通过对标准样品的一系列分析测定,制作图表或绘制标准曲线等,可为以后待测样品的分析提供方便的条件,如通过实验值在图表中直接查出结果。现将常用方法介绍如下。

①列表法:通常将实验所得的各种数据列出表格。通常在表格的第一行和第一列标出数据的名称或单位,其余行列内只填数字。有的表格在中间或末端的一行内还要添上反应条件,如“水浴中加热 5 min”等。

②作图法:实验所得的一系列数据之间的关系及变化情况,常常可用图线表示,这样可直观地分析实验数据。图表法比较适用于实验数据较多的情况,但不宜清楚地表示数据间的情况。如生化实验中用比色法测定未知样品浓度时,常常采用绘制标准样品浓度的工作曲线,然后在同样工作条件下测定未知样品,用所得的数据从标准工作曲线中查出未知样品的浓度。作图时,首先要在坐标纸上标出坐标轴,表明轴的名称和单位,然后在横轴和纵轴上一一找出实验交叉点,用“×”或“·”标注,再用直线或平滑线将各点连接起来。图线不一定经过所有实验数据点,但要求线必须尽量通过或靠近大多数数据点。个别偏离过大的点应舍弃,或重复实验校正。此外在图上还应标明标题,便于单纯看图的人对此图的理解。

(7)讨论。讨论部分是对整个实验过程、实验结果的总结、分析。是对得到的正常结果和出现的异常现象以及老师提出的思考题的探讨和研究,也可对实验设计、实验方法提出合理的改进性意见,以便老师今后能更好地安排实验。

每个实验报告都要按照上述要求来写,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。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(三线表)并作图表示,以便比较,一目了然。

实验结果和讨论是实验报告书写的重中之重,一定要论证充分,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,对实验的正常结果和异常现象以及思考题进行深入的探讨,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。

第二章 实验室基本操作

生物化学实验中需要多种基本技术操作,如各种玻璃仪器和测量仪器的正确使用,技术操作中的样品混匀、保温、加热、沉淀、过滤、离心等。如果这些操作不规范,将直接影响实验结果的准确性;因此,熟悉和掌握生物化学实验的一些基本操作是非常重要的。为此,首先介绍一些常用仪器使用和操作过程中的几项基本技术,并要求同学们反复练习以达到熟练的

程度。

一、玻璃仪器的清洗与保养

生物化学实验常用各种玻璃仪器,其清洁程度将直接影响实验结果的可靠性。因此,玻璃仪器的清洁不仅是实验前后的常规工作,而且是一项重要的基本技术。

玻璃仪器的清洗方法很多,需要根据实验的要求以及污物性质选用不同的清洁方法。

(一)意义

去除干扰物,提高实验结果的准确性。

(二)常用洗涤剂

1.洗衣粉、肥皂、洗洁精、去污粉——用于一般去污。

2.强酸、强碱、尿素——去除蛋白质、核酸。

3.铬酸洗液。

4.水(自来水,蒸馏水)——用来冲洗容器。

(三)洗涤方法

洗涤程序:泡—洗(一泡)—冲—漱。

1.新仪器的洗涤

新购买的玻璃器皿表面常附着游离的碱性物质,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(不少于4 h),再用自来水冲洗,最后用蒸馏水冲洗2~3次,在100~130℃烘箱内烘干备用。

2.使用过的玻璃器皿的清洗

(1)一般玻璃器皿

如试管、烧杯、锥形瓶等(包括量筒),先用自来水洗刷至无污物,再选用大小合适的毛刷蘸取去污粉(掺入肥皂粉)刷洗或浸入肥皂水内。将器皿内外特别是内壁,细心刷洗,用自来水冲洗干净后再用蒸馏水洗2~3次。热的肥皂水去污能力更强,可有效地洗去器皿上的油污。洗衣粉与去污粉较难冲洗干净,常在器壁上附有一层微小粒子,故要用水多次甚至10次以上充分冲洗。凡洗净的玻璃器皿,在器壁上不应带有水珠,否则表示尚未洗干净,应再按上述方法重新洗涤。若发现内壁有难以去掉的污迹,应分别使用下述的各种洗涤剂予以清除,再重新冲洗。用过的载玻片与盖玻片如滴有香柏油,要先用皱纹纸擦去或浸在二甲苯内摇晃几次,使油垢溶解;再在肥皂水中煮5~10 min,用软布或脱脂棉擦拭,立即用自来水冲洗;然后在稀释洗涤液中浸泡0.5~2 h,自来水冲去洗涤液,最后用蒸馏水换洗数次;待干后,浸于95%乙醇中保存备用,使用时在火焰上烧去乙醇。

(2)量器

如吸量管、滴定管、量瓶等,工作完毕后用流水冲洗,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4~6 h(或过夜),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)石英和玻璃比色杯的洗涤

使用后立即用自来水反复冲洗,如有污物黏附于杯壁,宜用盐酸或适当溶剂清洗,然后用自来水、蒸馏水冲洗干净。切忌用强碱清洗,因为强碱会腐蚀抛光的比色皿,也不可用刷

子、粗糙的布或滤纸等擦拭。洗净后,倒置晾干备用。

(四)判断洗净的标准

洗净的玻璃仪器管壁光洁、清亮,无污渍;被水湿润后,管壁呈现均匀水膜,无挂水珠。

(五)干燥方法

生物化学实验往往都要使用干燥的玻璃仪器,故要养成在每次实验后马上把玻璃仪器洗净和倒置使之干燥的习惯。干燥玻璃仪器的方法有下列几种:

1.自然风干

自然风干是指把已洗净的仪器(洗净的标志是:玻璃仪器的器壁上,不应附着不溶物或油污,装着水把它倒转过来,水顺着器壁流下,器壁上只留下一层既薄又均匀的水膜,不挂水珠)放在干燥架上自然风干,这是常用和简单的方法。但必须注意,如玻璃仪器洗得不够干净,水珠不易流下,干燥较为缓慢。

2.烘干

把玻璃仪器放入烘箱内烘干。仪器口向上,带有磨砂口玻璃塞的仪器,必须取出活塞拿开才可烘干,烘箱内的温度保持 $100\sim 105\text{ }^{\circ}\text{C}$,片刻即可。当把已烘干的玻璃仪器拿出来时,最好先在烘箱内降至室温后才取出。切不可让很热的玻璃仪器沾上水,以免破裂。

3.吹干

用压缩空气或吹风机把仪器吹干。

二、塑料器皿的清洗

聚乙烯、聚丙烯等制成的塑料器皿,已经越来越多地被使用。第一次使用塑料器皿时,可先用 8 mol/L 尿素(用浓盐酸调 pH 值为 1)清洗,接着依次用自来水、 1 mol/L KOH 和蒸馏水清洗,然后用 10^{-3} mol/L 的 EDTA 除去金属离子的污染,最后用蒸馏水彻底清洗。以后每次使用时,可直接用洗涤剂清洗,然后用自来水和蒸馏水洗净即可。

三、吸量管的种类和使用

吸量管是生化实验最常用的仪器之一,测定的准确度与吸量管的正确选择和使用有密切关系。

(一)吸量管的分类

常用的吸量管可以分为三类(图 1-2-1)。

1.奥氏吸量管

供准确量取 0.5 、 1.0 、 2.0 、 3.0 mL 液体所用。此种吸量管只有一个刻度,当放出所量取的液体时,管尖余留的液体必须吹入容器内。

2.移液管

常用来量取 50 、 25 、 10 、 5 、 2 、 1 mL 的液体,这种吸量管只有一个刻度,放液时,量取的液体自然流出后,管尖需在盛器内壁停留 15 s ,注意管尖残留液体不要吹出。

3.刻度吸量管

供量取 10 mL 以下任意体积的溶液。一般刻度包括尖端部分。将所量液体全部放出后,还需要吹出残留于管尖的溶液。此类吸量管为“吹出式”,吸量管上端标有“吹”字。未标“吹”

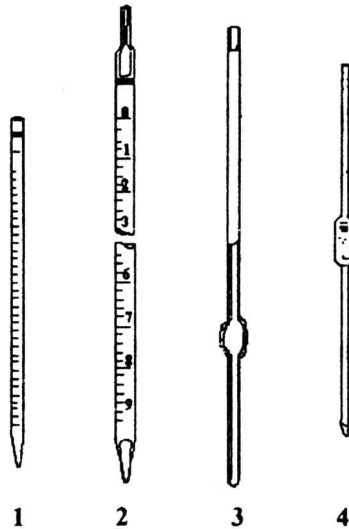


图 1-2-1 三类吸量管简图

1、2—刻度吸量管;3—奥氏吸量管;4—移液管

字的吸量管,则不必吹出管尖的残留液体。

(二)吸量管的使用

1.选用原则

准确量取整数量液体,应选用奥氏吸量管。量取大体积时要用移液管。量取任意体积的液体时,应选用取液量最接近的吸量管。如欲取 0.15 mL 液体,应选用 0.2 mL 的刻度吸量管。同一定量试验中,如欲加同种试剂于不同管中,并且取量不同时,应选择一支与最大取液量接近的刻度吸量管。如各试管应加的试剂量为 0.30、0.50、0.70、0.90 mL 时,应选用一支 1.0 mL 刻度吸量管。

2.刻度吸量管的使用方法

执管:拇指执吸量管上部,使吸量管保持垂直,食指按在管口上调节流速,刻度朝向操作者。

取液:把吸量管插入液体,用洗耳球吸取液体至所需刻度上方,移开洗耳球,迅速用食指压紧管口,然后抽离液面。

调准刻度:用食指控制液体至所需刻度(此时液体凹面、视线和刻度应在同一水平线上)。

放液:移开食指,让液体自然流入容器内。此时,管尖应接触容器内壁,但不应插入容器的原有液体中(否则管尖会沾上容器内试剂,再移液时致使试剂交叉污染)。待液体流尽,将最后液滴吹出或转动吸量管使其沿容器内壁流出(见图 1-2-2)。

洗涤:吸取血浆、尿及黏稠试剂的吸量管,用后应及时用自来水冲洗干净。如果吸取一般试剂的吸量管,可待实验完毕后再洗。

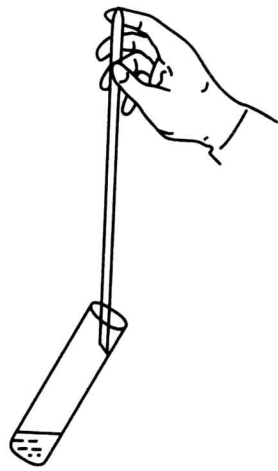


图 1-2-2 放液体时的姿势

注意:①刻度由上至下的吸量管应尽量使用上端刻度。②管尖残液是否需要吹,视具体情况而定。一般来说,1 mL 及 1 mL 以下的均需吹出; >1 mL 的视标记而行。如吸量管上方标有“吹”或“◇”形符号,则残液需吹出;标有“快”字,应使残液自然流下。

3. 移液管的使用方法

移液管也称容量吸量管或胖肚吸量管,是单一刻度的吸量管,中间呈圆柱状膨大,为定量移出整量液体之用,有 5、10、15、20、25、50、100 mL 等规格。其溶液是根据液体自内流出量来计算,卸放液体时,将管尖紧靠容器内壁,使液体自行流出,流完后将管尖在容器壁上停留 15~30 s 即可,管尖残余液体不要吹出,如果管壁刻有“吹”字则应吹出。

4. 奥氏吸管的使用方法

奥氏吸管也称欧氏吸管,亦为单一刻度的吸量管,中下部呈球形膨大,所以液体与吸管表面接触面积较小,用于吸取血液等黏度较大的液体。流放标本时,应让其自然缓慢流出,以减少内壁黏附。

(三) 可调式移液器的使用

1. 可调式移液器的结构如图 1-2-3 所示。

注意:推动按钮内部的活塞分 2 段行程,第一档为吸液,第二档为放液,手感十分清楚。

2. 可调式移液器的操作如图 1-2-4 所示。

(1) 调调节轮至所需体积值;

(2) 套上吸头,旋紧;

(3) 垂直持握可调式移液器,用大拇指按至第一档;

(4) 将吸头插入溶液,徐徐松开大拇指,使其复原;

(5) 将可调式移液器移出液面,必要时可用纱布或滤纸拭去附于吸头表面的液体(注意:不要接触吸头孔口);

(6) 排放时,重新将大拇指按下,至第一档后,继续按至第二档以排空液体。

注意:移取另一样品时,按卸吸头按钮弃掉吸头,并更换新吸头。



图 1-2-3 可调式移液器的结构



图 1-2-4 持移液器的姿势

四、滴定操作

滴定管是供定量分析滴定之用,按其容量大小可分为常量滴定管和微量滴定管两种。