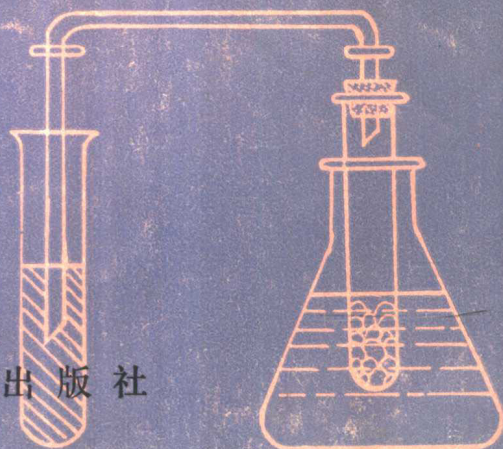
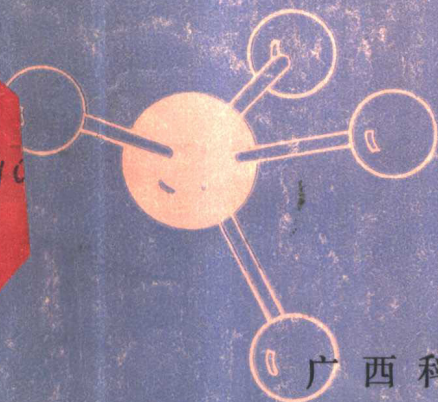
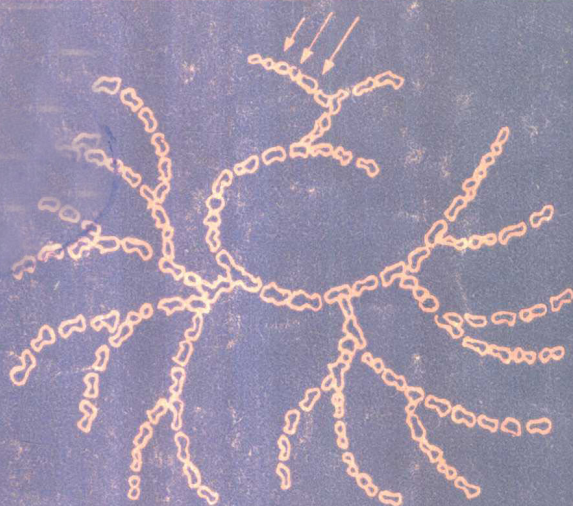
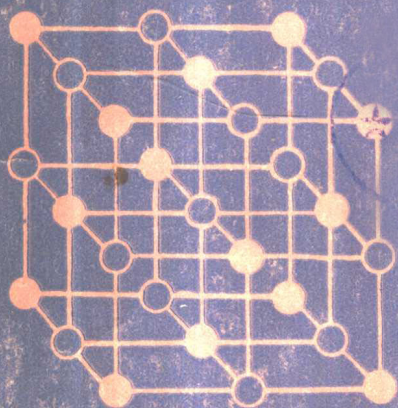


高等医药院校教材

生物化学实验

(供中医、中药、针推专业用)

南京中医学院 主编



广西科学技术出版社

·高等医药院校教材

生物化学实验

(供中医、中药、针推专业用)

编 写 者

(按姓氏笔划为序)

冯群先 (南京中医学院)

陆桂祥 (广西中医学院)

张秋菊 (北京中医学院)

广西科学技术出版社

生物化学实验

南京中医学院 主编

广西科学技术出版社出版

(南宁市河堤路14号)

广西新华书店发行

广西新华印刷厂印刷

*

开本787×1092 1/16 印张7 字数176,000

1989年6月第1版 1989年6月第1次印刷

印数: 1—16,200册

ISBN 7—80565—102—7 定价: 2.60元

Q·1

前 言

生物化学是一门重要的基础医学,近年来发展迅速,而生物化学实验技术的发展则更是突飞猛进。因此,要提高生化教学质量,除必须加强课堂教学外,还应该使同学们了解必要的生化实验技术,以增加感性认识,巩固理论知识。进行一定的基本技能、基本操作训练对培养同学们独立操作、分析问题和解决问题的能力是必不可少的,而且也为其基础医学发展打下必要的基础,为中医药的现代化创造有利条件。

《生物化学实验》一书是编者在中医学院长期进行生化教学实践的经验基础上,共同编写的。有一些是传统的生化基本实验,为验证理论、巩固课堂所学知识,如蛋白质颜色反应、沉淀反应和酶的一般性质等实验。另一些是编者根据中医学院专业特点而设计编写的,如茯苓多糖的定性试验、针刺对血糖含量的影响等。此外,为了适应研究生培养的需要,还选编了如动物组织Na-K-ATP酶的活性测定、四君子汤对控制饲料小鼠胸腺核酸含量的影响等,这些实验虽然需时较多,但能开阔实验思路。以上编写方法尚属一种尝试,有待今后进一步充实和提高。

本书主要供中医学院的中医、中药和针推等专业使用。由于专业性质的不同,其实验内容也相应有所差别。所以我们在编写时,在内容广度上作了扩大,以便实验项目有一定选择余地。为此,各院校在使用时可根据学生对象和知识水平、实验条件、学时数等而有所取舍,有些可作示教。

本书在编写过程中,分别得到上海中医学院赵伟康教授和北京中医学院齐治家教授的大力支持与指导,在此表示感谢。

为了方便,书后增编了附录,以供参考。

由于编写时间仓促和学识水平有限,书中错误之处在所难免,希望提出宝贵意见,以便今后修订。

编 者

1988年12月

目 录

实验室规则	(1)
实验报告的书写	(1)
生化实验仪器领用须知	(1)
实验一 生化基本操作	(2)
实验二 分析天平称量练习及盐酸溶液准确浓度的标定	(7)
实验三 电离平衡与缓冲溶液	(11)
附: pH计的使用	(13)
实验四 功能基反应	(14)
实验五 比色分析原理及光电比色计的使用	(17)
实验六 茯苓多糖、猪苓多糖和淀粉的水解和鉴定	(21)
实验七 肝糖原的提取与鉴定	(23)
实验八 糖的薄层层析	(24)
实验九 左金丸的薄层层析	(26)
实验十 脂质的薄层层析	(27)
实验十一 芦丁的提取与鉴定	(28)
实验十二 中药杏仁中脂质成分的提取	(29)
实验十三 氨基酸的纸层析	(30)
实验十四 凝胶层析法分离血红蛋白与糜蛋白酶	(32)
实验十五 蛋白质的呈色反应, 沉淀反应及等电点的测定	(34)
实验十六 肝组织中核酸的分离与鉴定	(41)
实验十七 酶的专一性	(44)
实验十八 温度、pH、激动剂、抑制剂对酶活性的影响	(45)
实验十九 乳酸脱氢酶及其辅酶的作用	(47)
实验二十 琥珀酸脱氢酶的作用及其竞争性抑制	(48)
实验二十一 福林——吴法测血糖浓度	(50)
实验二十二 邻甲苯胺法测血糖浓度	(51)
实验二十三 葡萄糖氧化酶法测血糖浓度	(52)
实验二十四 激素对血糖浓度的影响	(53)
实验二十五 针刺或激光照射对家兔血糖浓度的影响	(55)
实验二十六 针刺或激光照射对低血糖家兔血糖浓度的动态观察	(56)
实验二十七 尿糖定性试验	(57)
实验二十八 血脂的测定	(57)
实验二十九 肝的生酮作用及酮体的检出	(60)

实验三十	血清脂蛋白琼脂糖凝胶电泳	(62)
实验三十一	血清谷丙转氨酶的测定	(63)
实验三十二	血清蛋白醋酸纤维薄膜电泳	(65)
实验三十三	血清尿素氮测定 (B. U. N)	(66)
实验三十四	血清肌酐测定	(67)
实验三十五	茵陈的利胆作用与胆红素的鉴定	(69)
实验三十六	硫酸锌浊度试验 (ZnTT)	(71)
实验三十七	麝香草酚浊度试验 (TTT)	(72)
实验三十八	血清钙测定	(72)
实验三十九	血清钾测定 (四苯硼钠直接比浊法)	(74)
实验四十	血浆二氧化碳结合力测定 (中和滴定法)	(76)
实验四十一	几种因素对碱性磷酸酶活性的影响	(77)
实验四十二	活血化瘀中药对血清纤维蛋白溶解酶活性的影响	(84)
实验四十三	中药对家兔实验性高脂血症的影响	(85)
实验四十四	动物组织 Na - K - ATP 酶活性的测定	(87)
实验四十五	四君子汤对控制饲料小鼠胸腺核酸含量的影响	(92)

附录

附一	常用抗凝剂	(94)
附二	常用实验动物采血量	(94)
附三	常用动物灌胃的最大耐受量	(95)
附四	常用动物麻醉法	(95)
附五	几种常用实验动物生化指标血清值变动范围参考表	(97)
附六	化学试剂纯度分级表	(98)
附七	实验室常用酸碱的比重和浓度	(98)
附八	缓冲溶液的配制	(99)
附九	元素原子量表	(104)
附十	生化实验进程参考表	(105)

实验室规则

1. 实验前做好预习,了解实验内容、目的、操作步骤及实验意义。
2. 穿好工作服,按时进入实验室,遵守课堂纪律,不得喧哗、哄闹,中途有事经老师同意后,方可离开。
3. 实验时严格要求,仔细观察,积极思考,认真记录,培养自己科学分析的思维方法和有条不紊的工作秩序,注意安全,按实验要求认真操作不得随便改动。
4. 实验使用药品器材等,用后需归还原处,盖好瓶塞,以免试剂污染,影响结果。
5. 爱护器材,节约试剂,凡属精密仪器,不得任意扳弄,如有损坏或污染,应立即向老师报告。
6. 实验后污物、渣屑、死动物等不得乱扔,以免阻塞水道,应倒入污物桶中,统一处理。实验完毕,书写实验报告,洗涤仪器,整理桌面,值日生打扫清洁,关闭水电后始得离开。

实验报告的书写

实验是理论指导下的科学实践,对培养科学思维、分析判断和解决实际问题的能力是很好的训练。为了做到心中有数,实验前要将有关实验内容及理论依据进行预习。

实验中应一丝不苟,培养自己严谨的科学作风。对实验的结果、现象和数据,应毫不虚假的记录之,字迹要清楚、整洁。

实验完毕则应书写实验报告,其内容应包括下列项目:

1. 实验日期及实验名称。
2. 扼要叙述实验原理及目的要求,用自己的语言表达,不能照抄。
3. 操作步骤要简明扼要,或用箭头表示,尽量设计一定的表格填写,使人一目了然。
4. 实验结果、现象、数据进行记录、计算,并分析讨论,如标准曲线等则要绘制成图。

生化实验仪器领用须知

1. 常用仪器两人合领一套,在第一次实验开始时即借给,学期终了时,如数归还。
2. 仪器如有破损、遗失应立即向指导教师报告、登记、补领,并按规定酌情赔偿。
3. 每次实验完毕,请自行清点,放置整齐,凡属实验室公用仪器,用毕后,即归还

原处，临时借用的仪器，应在当天实验完了归还。

4. 希望大家爱护公物，按操作规程使用仪器。

生化实验借用仪器清单

品名	规格	数量	品名	规格	数量
试管架		1	洗耳球		1
三角烧瓶	50ml	1	玻棒		1
烧杯	50ml	1	吸管架		1
漏斗	9 cm	1	酒精灯		1
量杯(筒)	10ml	1	试管夹		1
研钵	9 cm	1	瓷反应板		1
玻璃滴管		2	大试管		10
吸管	10ml	1	小试管		10
吸管	5 ml	2			
吸管	2 ml	2			
吸管	1 ml	2			
吸管	0.5ml	2			
吸管	0.1ml	2			

实验一 生化基本操作

一、玻璃仪器的洗涤

在生化实验中，玻璃仪器清洁与否是获得准确结果的重要一环。清洁的玻璃仪器，内壁应十分明亮光洁，无水珠附着在玻壁上。下面介绍一些常用的洗涤方法：

1. 凡能用毛刷刷洗的器皿,均应用肥皂或合成洗涤剂、去污粉等仔细刷洗,再用自来水冲干净,最后用蒸馏水洗3次,直至完全清洁后,置于器皿架上自然沥干或置烤箱干燥后备用。

2. 凡不能用毛刷刷洗的器皿,如容量瓶、滴定管、刻度吸管等,应先用自来水冲洗,沥干,再用重铬酸钾清洁液浸泡4~6小时或过夜,然后用自来水冲洗干净,再用蒸馏水冲洗至少3次。

3. 粘附有血浆的刻度吸管等,可先用45%尿素浸泡使血浆蛋白溶解,然后用水冲洗干净,如尚不能达到清洁要求,则可浸泡于重铬酸钾清洁液中4~6小时,再用大量自来水冲洗,最后用蒸馏水冲洗3次。也可用1%氨水浸泡使血浆膜溶解,然后再依次用1%稀盐酸和水及蒸馏水冲洗。

4. 凡沾有染料的器皿,先用清水初步洗净,再置重铬酸钾清洁液或稀盐酸中浸泡可以除去;如果使用3%盐酸乙醇洗涤效果更好,一般染料多呈碱性,故不宜用肥皂水或碱性洗液。

5. 使用过的器皿,应当立即洗涤干净,久置干涸后,洗涤更加困难。如不能及时洗涤者,应用流水初步冲洗后,再泡入清水中,以后再按1、2方法洗涤。

6. 新购置的玻璃仪器有游离碱存在,须置1~2%稀盐酸中浸泡2~6小时,除去游离碱质,再用流水冲洗干净,然后用蒸馏水冲洗2~3次。

7. 使用铬酸洗液清洁容器应注意以下几点:

(1) 水可使洗液中的硫酸被稀释,以致铬酸析出同时,洗液的氧化力下降,甚至失效,因此用铬酸洗液时,待洗的容器应尽量沥干。

(2) Hg^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Pb^{2+} 等离子与铬酸洗液作用,可生成不溶的化合物沉积在器壁上,因此凡接触过含有此等化合物的容器,应先除去这些离子(可用稀硝酸或5~10% EDTA钠等先行清除),用水冲洗后再用铬酸洗液洗。

(3) 有机化合物、油类、有机溶剂均可使铬酸洗液还原失效,因此器壁如附有大量油类、有机物等,应先除去然后再用铬酸洗液。

(4) 铬酸洗液有很强的酸性和氧化性,皮肤、衣服接触后即可致损伤毁坏,使用时应注意。

(5) 铬酸洗液还原为硫酸铬时,洗液由原来的深棕色变为绿色,此时洗液不具有氧化性,不能继续使用。

二、吸量管的使用

吸量管(简称吸管)是用来转移一定体积的溶液,由一容器至另一容器的量器,它是一支细长或中部膨大的玻管,下端拉成尖嘴。在管上或在膨大部分标有该吸管的体积和确定该体积时的温度。常用的吸管有直型刻度吸管和胖肚型移液管两种。

刻度吸管有刻度到尖端的和刻度不到尖端的;有读数从上而下的和读数从下而上的。用前须看清楚。刻度不到尖端的吸管,其最低刻线在吸管口之上,刻线至吸管口的体积不包括在内。刻度到尖端的吸管,由于管口不好划线,所以最后刻度没有。如图1中一支刻度自上而下的10ml吸管,自刻线“9”以下到管口有1ml体积,由于管口不好划线,所以“10”的刻度没有,但这1ml体积还是存在的,再如图1中一支刻度自下而上的10ml吸

管,自管口到刻线“1”处为1 ml体积,管口应有“0”刻线。同样由于管口不好刻线故无“0”字。刻度吸管可量取不到整数体积的液体。

胖肚型移液管,一般仅在上端有一刻度线,转移一定容积的液体。有的移液管在下端狭窄处也有一刻度线,则两刻度线间的体积才代表该移液管上所注明的体积。

使用吸量管时要先看一下刻度情况,选择适当的容量(等于或略大于需用的ml数)的吸管,同时全面了解刻度的详细情况。拿吸量管时,刻度的一面要向里边,便于读取刻度。用右手中指和拇指拿住吸量管的上部,把管的尖端插至液体深处(这样可避免液体因混入空气而起泡沫和管内液体吸入口中)。用嘴(或洗耳球)从管的上端小心地将液体吸至高过刻度线后,立即用右手食指将上端堵住,垂直地拿住吸量管,再微微松开食指,使液体逐渐流下,直至溶液弯月面的最低点与吸量管上端刻度线相齐为止(眼睛与刻度线在同一水平上)。然后立即用食指堵紧。管尖不得有悬挂的液滴。取出,用滤纸拭干下端,然后拿到准备盛此溶液的器皿里,让管的尖端与容器内壁靠紧,松开食指,任液体自由流出。液体流完后再等15秒钟。移去吸量管,留在管尖的小量液体一般不能用嘴吹出(如果吸量管上刻有“吹”字者,则必须吹出)。

吸取某些粘滞性大的液体,如吸血液时,用普通吸管会有些误差,宜用奥氏吸管,这种吸管每单位容量占管壁面积比普通吸管小,故溶液粘附于管壁的容量也较少,且膨大部呈卵形便于血液流出。吸量血液时与一般吸管操作相似,把血放入接收容器以前,应拭尽管尖附着的血液,然后注意运用手指压力控制流出速度,使血液慢慢流出,管壁应清晰地看不到血液薄膜附着,当血液流尽后,把管尖最后一滴血轻轻吹入容器内。

使用吸管时应注意:(1)吸溶液时要小心,如管中有液体,当先吹去,避免吸入口中。对浓碱、浓酸及其他腐蚀性或有毒的液体,不可直接用口吸,应使用橡皮球。(2)使用吸量管应干净无水,如急用而又有水时,可用少量欲量取的溶液先洗3次,然后再吸取,否则留在管内的水会把溶液稀释。

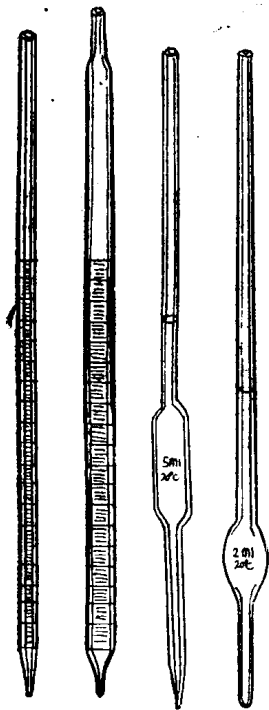


图1 各种吸管

1、2. 刻度吸管

3. 转移吸管

4. 奥氏吸管

三、试管或离心管中液体的混匀

试管、离心管的外形见图2。欲使一化学反应充分进行,必须使与反应的各物质迅速地相互接触,因此,常需要用机械方法使参与反应的各物质充分混匀。常用于混匀试管或离心管内液体的方法有以下几种:

1. 振摇混匀法 少量液体的混匀可简单地将试管轻轻振摇或摔动即可;

2. 指弹混匀法 较多的液体用振摇、摔动不易混匀时,可左手持试管,右手轻轻扣击或拨动试管底使管内液体搅动发生旋涡而达到混合的目的;

3. 转动混匀法 在试管盛有多量液体时,可手持试管作圆周转动,使管内液体作旋涡运动而混合之;

4. 搅拌混匀法 如液体的粘稠性较大时可考虑用玻璃棒搅拌混匀。

5. 倒转混匀法 采用管口衬一清洁塑料薄膜,以手掌按住管口,反复颠倒混匀的方法。

6. 利用旋涡混合器混匀。

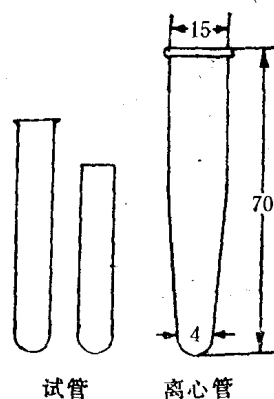


图2 试管、离心管

四、滴定管的使用

滴定管是容量分析中的一种最基本的量器,一般常用的滴定管的容量为25ml、50ml等。

自滴定管流出溶液的体积,可由滴定前后管内液面差值来计算。

具有玻璃活塞的滴定管为酸式滴定管,下端装有橡皮管(管内有一玻璃珠用以调节液体的流出)的滴定管称为碱式滴定管(见图3)。玻璃活塞滴定管不能用来装贮碱液,能侵蚀橡皮的物质(如碘、高锰酸钾和硝酸银等)则不能装入碱式滴定管。

1. 滴定管无论是酸式或碱式,在使用前必须洗净,洗净一般常用铬酸清洁液,也可用热肥皂液或 Na_2CO_3 溶液,洗涤时可从管口注入10ml左右清洁液,将滴定管横过来,慢慢转动,使清洁液流遍全管,然后将清洁液自下面放出,再用自来水冲洗,然后再用蒸馏水淋洗2~3次(每次约用10ml),洗净后的滴定管管壁应被液体均匀润湿,不应附有液滴。

2. 滴定管是否漏水,玻璃转动是否灵活,应事先进行检查,先把滴定管的玻璃活塞拔出,并把活塞和装活塞的槽洗净,并用滤纸擦干,然后在活塞小孔的两旁抹上薄薄一层凡士林。凡士林不要抹得太多,否则容易使活塞中的小孔塞住,抹好凡士林的活塞应该是



图3 酸碱滴定管

透明匀净的，将活塞塞好，再将滴定管注满水，管外用干布擦干，放置2分钟，观察是否有水渗出，同时转动玻璃塞，检查是否灵活。

3. 在装溶液入滴定管之前，需用少量溶液淋洗滴定管内壁2~3次（每次约10ml）。溶液应从试剂瓶直接倒入滴定管，如有气泡，则应予以排除。

4. 在使用滴定管前，应先熟练如何读取滴定管体积的读数，溶液在滴定管内的液面呈弧形（弯月形）。读数时应读取与弯月面相切之点。视线应与弯月面的切点在同一水平线上，否则会引起误差。一般滴定管的读数要准确估计到小数后两位。无色或浅色液应读弯月面下缘，而深色液则读上缘（见图4）。

5. 开始滴定，将滴定管内溶液缓慢滴入三角烧瓶中，并不断转动三角烧瓶，如有溶液溅在三角烧瓶壁上端，可由洗瓶或毛细滴管用少量蒸馏水洗下直至滴定进行到终点。记下所消耗的溶液的体积。其滴定手法见图5。

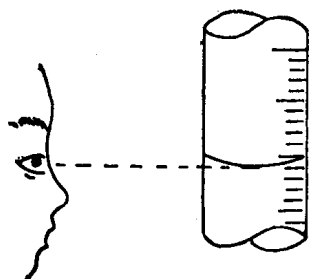


图4 滴定管刻度的读法

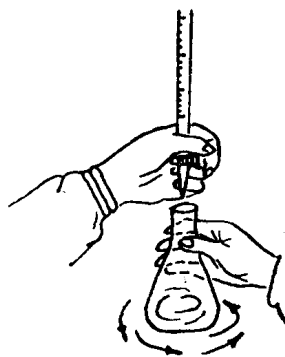


图5 滴定手法

五、电动离心机的使用

（一）使用方法

1. 将待离心的液体置于玻璃离心管或一般小试管中。

2. 让盛有离心液的两离心管分别放入离心管套中，然后各置于天平托盘上的二侧，通过往管套中加水数滴，来调节两边重量使之达到平衡。

3. 将已平衡的两只内装离心液和离心管的套管。分别放入旋转台的相互对应的两插孔内。盖上盖，开启电源，同时调节旋钮逐步加档，提高转速所需标准，达到离心所需的时间后，再调旋钮，进行减档降速。待离心机截断电源，自然停止转动后，开盖取出离心管及其套管。

4. 取出离心试样，清洗离心管和套管，擦拭干净旋转台，关闭电源，将离心机和台式天平放置适当位置。

（二）注意事项

1. 离心机所需电压应与电源电压相一致,方可接通电源。
2. 离心管应尽量等重,离心液占管的一半为宜,离心时管及其套管与对侧的一定要达到平衡,否则离心时会出事故。
3. 平衡的两管要对称放入,若只离心一管,对侧应放一只与其等重的水管,使之对称。
4. 开动离心机时应逐渐加速,关闭时要逐渐减速,自动停止,不可阻止强停。
5. 发现不正常情况,要停机检修,排除故障方可再用。
6. 经常保持离心机的套管、转轴的清洁。

(三) 操作练习

1. 无蛋白血滤液的制备

- (1) 准确吸取抗凝血1.0ml,置于50ml大试管或锥形瓶中,放血时缓慢且要用滤纸碎片擦干吸管外血液。
- (2) 加入蒸馏水7.0ml,混匀。按前述要求操作。
- (3) 继加1/3mol/L H_2SO_4 1.0ml,混匀。
- (4) 慢慢滴加10%钨酸钠溶液1.0ml随加随摇。
- (5) 放置5分钟,按上述离心机使用方法电动离心,滤液应无色透明,此即10倍稀释之无蛋白血滤液,如滤液混浊,要反复操作练习。

2. 练习滴定管的滴定、读数及操作手法。

(四) 试剂

1. 1/3mol/L H_2SO_4
2. 10%钨酸钠

实验二 分析天平称量练习及 盐酸溶液准确浓度的标定

一、分析天平称量练习

【原理】

分析化学是研究物质化学组成的科学。可以分为定性分析和定量分析两部分。定性分析的任务是确定物质由哪些组分(元素、离子、基团或化合物)所组成;定量分析的任务是测定各组分的相对含量。

在定量分析中要准确地测定各组分的相对含量就必须使用一些测量仪器,分析天平就是一种常用的称量仪器。分析天平的载重量为100g或200g,感量0.0001g(也有的是0.0002g)。根据称量的灵敏度和准确度,分析天平可分成不同的等级和型号。

由于分析天平具有较高的准确度和灵敏度,使用分析天平时必须先了解它的构造,并认真仔细操作,才能得到准确的称量数值。

1. 阻尼天平的构造(见图6) 一般普通分析天平的主要部件是铝合金制成的三角

形梁，梁的中间固定着一个玛瑙三棱柱，刀口向下，它架在一块玛瑙平板上。在梁的两端有两个相同的玛瑙三棱柱，刀口向上，两个挂钩分别架在上面，称盘就挂在这个挂钩上。

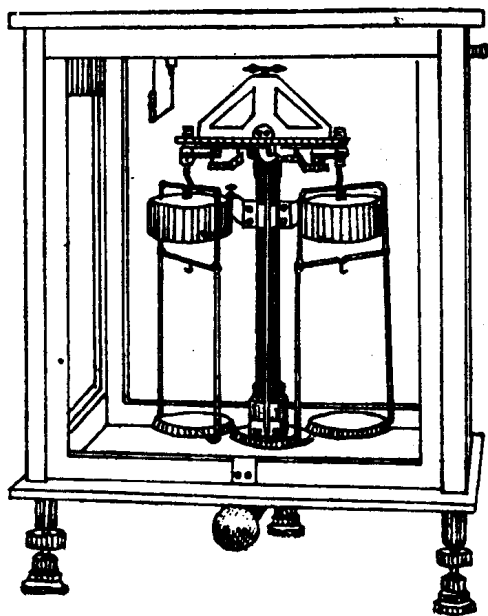


图6 空气阻尼天平

天平的灵敏性是和玛瑙三棱柱刀口的锐利程度以及玛瑙平板的光滑情况有极大的关系。为了保护玛瑙、三棱柱刀口和玛瑙平板，分析天平装有旋钮控制的升降枢，在不使用天平或称物加减砝码时，都要旋好升降枢钮，把天平梁托起，使玛瑙三棱柱和玛瑙平板分开，避免它们的磨损。

在横梁上面的前端装有一个游码标尺，其中间刻度为零，正好处于天平的支点位置上，游码的重量为10mg，游码标尺左右两端刻度各为10，每一大格相当于1mg，每一大格又等分10小格，每一小格相当于0.1mg，当游码放在5上时，相当于加上一个5mg的砝码。

空气阻尼天平具有两个空气制摆装置，称为阻尼器。由于阻尼器的作用使天平的指针

在推动两三次后很快地停止在平衡点上。

阻尼天平一般能称准至0.1~0.2mg，最大称量为100g或200g。每台阻尼天平都有一盒砝码与天平配套使用。

2. 电光天平构造（见图7） 电光天平是在阻尼天平的基础上改进而成的，但增加两个装置，一是机械加砝码装置，二是光学读数装置。砝码由旋转器5操纵。自动加取时，大小砝码全部由旋转器操纵的称为全自动电光分析天平；1g以下的砝码由旋转器操纵的称为半自动电光分析天平。在光幕上能直接读出10mg以下的重量。电光分析天平一般可准确称量至0.1mg，最大称量为100g或200g。

【操作】

1. 零点的测定 每次称量前首先要测定其零点，即天平在不载重情况下处于平衡状态时指针在读数标尺上所指的位置。

阻尼天平零点测定：慢慢地旋动旋钮，开动天平，待天平停止摆动后，观察并记录指针在标尺上所处的格数，读至小数点后一位小数（如9.6等）。然后缓慢地关上天平，再测定1次，其变动应不大。为了便于称量，零点最好恰在10处（有的天平标尺中间为0，则零点最好在0处），如差别太大可以轻轻地旋动天平调节螺丝。

电光天平零点测定：接通电源，慢慢地旋动旋钮，在天平不载重的情况下，检查光幕标尺位置，如零点与光幕上的标线不重合，可拨动微调零，挪动一下光幕的位置使其重合，若相差较大时，则可旋动平衡螺丝以调节空盘零点的位置。

2. 物体的称量

(1) 直接称量：称取称量瓶的重量，方法如下：

从干燥器中取称量瓶（一般需用纸条裹住称量瓶），放在天平左盘中央，若用阻尼天平可在天平的右盘中央放上估计比被称物件稍重的砝码，小心放下升降枢，观察天平梁上指针的移动方向，如果指针向右偏移，这就表示所用砝码太轻，应升起升降枢，架稳天平梁，然后在右盘上增加一个砝码，再放下升降枢。如果这次指针向左偏斜，表示已加砝码重了些，此时再架稳天平梁，取下前面所加的砝码，放回砝码盒中原来的位置内，换上稍轻的砝码，如此依照砝码由大到小的顺序，直至加入砝码已接近物件的重量。当调节到相差10mg砝码而仍造成过重或过轻的情况下，那就要用游码来调节。调节时可把游码在由小到大的刻度标尺位置上顺次移动，直到指针在天平载重时的零点和天平不载重时的零点相一致为止，这样盘中砝码和游码的总重量就是被称物体（称量瓶）的重量。若用全自动电光天平，则大小砝码全部可由旋转器操纵，半自动电光天平1g以下的砝码可由旋转器操纵；10mg以下的尾数可全部从光幕上读出。其他方法同上。

(2) 减重法称量：准确称取纯的无水 Na_2CO_3 1.2~1.6g，方法如下：

先用上法在分析天平上准确称取从干燥器内取出盛有 Na_2CO_3 的称量瓶，然后从天平右边盘上取下砝码1.2g，再取出左边盘上称量瓶，轻轻敲出样品少许于一洁净的小烧杯内，再将称量瓶放回天平盘上。此时若发现指针急剧向右偏斜，就表示称量瓶还重于右边砝码，可再敲出样品少许于小烧杯内。如此反复进行，直至左边称盘比右边稍轻。此时敲出样品已略多于1.2g（不可倒回），然后酌减右盘砝码，称出准确重量。前后二次重量差值，就是烧杯内样品（ Na_2CO_3 ）的重量。每次取出 Na_2CO_3 或加减砝码均需先升起升降枢。若用电光天平，同样可取下右盘上的砝码及旋转器数字，使其减少1.2g，光幕标尺位置大于10表示称量瓶还重于右边砝码；小于零则表示敲出样品已多于1.2g。其他方法同上。

3. 记录结果 若用阻尼天平，应先从砝码盒中的空位置及游码所在的位置，由大

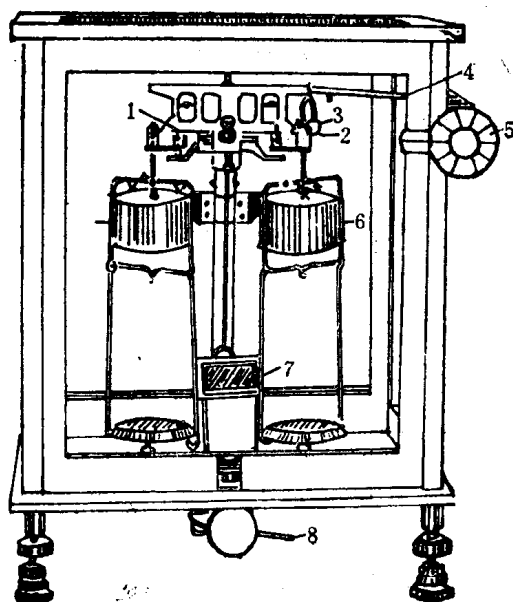


图7 部分机械加码双盘电光天平

1. 天平横梁 2. 骑放环码横杆 3. 环码
4、5. 加放环码的旋转器 6. 空气阻尼器
7. 光幕 8. 微调零

至小依次记录其重量（要核对一遍），然后将砝码依次放回砝码盒的原来位置中，再一次核对所记录的数字。若用电光天平，同样可先从砝码盒中的空位置由大至小依次记录其重量，同时还要记录旋转器所指的数字，然后将砝码依次放回砝码盒的原来位置中，将旋转器回复零点，并再一次核对所记录的数字。

【注意事项】

1. 不得将称量的药物直接放在天平盘上。
2. 过冷过热的物品都不能在天平上称量（会使水汽凝集在物品上，或引起天平箱内空气对流，影响准确称量）。凡经过干燥或烧灼的物品，必须先放在干燥器内在天平室中冷却至室温后方可称量。
3. 称量能吸收或放出水分和其他挥发性物品时，必须放在严密盖好的称量瓶中，以尽快速度进行称量。
4. 无论取放砝码或称量物品时，都必须关好升降枢钮，使天平梁升起固定，否则会使吊耳或横梁掉落或移位，损坏玛瑙刀口。
5. 天平各部尽可能不要用手接触，如必须接触时（旋转调节螺丝等），应将手指擦干净，最好是戴手套或手指套。
6. 砝码只能放在天平盘和砝码盒内，不得任意放在其他地方。
7. 取放物品和砝码时，利用天平两侧的门，读数时，一定要关上天平门。天平正面的门是为了装卸、修理和清扫天平内部时用的，称量时不要开动。

【试剂】

干燥 Na_2CO_3

二、盐酸溶液准确浓度的标定

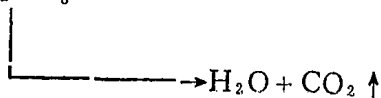
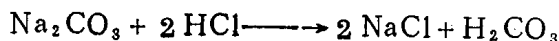
【原理】

用来直接配制标准溶液或校准未知溶液浓度的物质称为基准物质。基准物质应符合下列要求：

1. 纯度较高，杂质含量少到可以忽略。
2. 组成与化学式精确符合。
3. 在一般条件下性质稳定，并在反应时不发生副反应。

本实验以无水 Na_2CO_3 作为标定 HCl 溶液的基准物质。称取一定量的分析纯无水 Na_2CO_3 制成溶液，以甲基橙作指示剂，用 HCl 溶液滴定，到达滴定终点时，根据所用 HCl 溶液的体积，即可算出它的准确浓度。

用 Na_2CO_3 标定 HCl 时的滴定反应如下：



【操作】

1. 标准碳酸钠溶液配制 在小烧杯内准确称取无水分析纯 Na_2CO_3 1.2~1.6g，加入20~30ml的蒸馏水，用玻棒搅动，使 Na_2CO_3 完全溶解，然后将溶液小心倒入250ml容量瓶中，并用毛细吸管以少量蒸馏水淋洗烧杯3次，每次洗液均应全部倒入容量瓶中。

然后加蒸馏水稀释至标线，将溶液充分摇匀，该溶液即为标准 Na_2CO_3 溶液。

2. 盐酸溶液准确浓度的标定 用移液管吸取所配制的 Na_2CO_3 溶液25ml，放入三角烧瓶中（移液管先用 Na_2CO_3 溶液淋洗3次），然后滴入1滴甲基橙溶液作指示剂，此时溶液呈黄色。

在已准备好的50ml酸式滴定管中倒入50ml待标定的HCl溶液，固定在滴定管架上，并精确读其刻度。开始滴定在瓶下衬一白纸，由酸式滴定管将HCl溶液缓缓滴入三角烧瓶中，并不断转动三角烧瓶，如有溶液溅在三角烧瓶壁上端，可由洗瓶或毛细管用少量蒸馏水洗下。滴定进行到溶液由黄色变橙色为止。正确记下所消耗的酸的体积。根据公式，计算出盐酸溶液的准确浓度。

重新吸取 Na_2CO_3 溶液25ml，重复上述滴定过程，并计算出盐酸溶液的准确浓度。求得二次测定的平均值，即得待测盐酸溶液的准确浓度。

3. 计算 根据 Na_2CO_3 的重量和所用HCl标准溶液的体积（ml数），就可计算出HCl标准溶液的准确浓度。

$$\text{mol/L HCl} \times \text{ml HCl} = \frac{\text{Na}_2\text{CO}_3 \text{ 的重量 (g数)} \times \frac{25.00}{250.0}}{\text{Na}_2\text{CO}_3 \text{ mmol 质量}}$$

$$\therefore \text{mol/L HCl} = \frac{\text{Na}_2\text{CO}_3 \text{ 的重量 (g数)} \times \frac{25.00}{250.0}}{\text{ml HCl} \times \frac{\text{Na}_2\text{CO}_3}{1000}} \times 2$$

【试剂】

1. 0.1%甲基橙指示剂
2. 无水分析纯 Na_2CO_3
3. 0.1mol/L左右HCl溶液

实验三 电离平衡与缓冲溶液

附：pH计的使用

【原理】

弱电解质与强电解质电离情况不同，它在水溶液中只是部分电离，且保持着分子与离子之间平衡。如果在弱电解质溶液中，加进含有同名离子的强电解质，则会使平衡向生成分子的方向移动，使原来电解质的电离度明显降低。这种因加入同名离子，引起平衡移动的现象，称为同离子效应。

溶液的酸碱性可用pH值来表示，高于pH7为碱性，低于pH7为酸性。如在溶液中加入酸碱指示剂，就可根据指示剂的颜色变化来判断溶液的酸碱性。例如甲基橙在 $\text{pH} < 3.1$ 的溶液中呈红色，在 $\text{pH} > 4.4$ 的溶液中呈黄色，在 $\text{pH} 3.1 \sim 4.4$ 的溶液中呈橙色；酚酞在 $\text{pH} < 8$ 的溶液中为无色， $\text{pH} > 10$ 的溶液中呈红色，在 $\text{pH} 8 \sim 10$ 的溶液中呈淡红色。有时可用广泛pH试纸的变化来判定溶液的pH值。如果在弱酸溶液中加入同名阴离子的盐类，或在弱碱溶液中加入同名阳离子的盐类，其组成的混合液均为缓冲溶液，具有抗酸和抗碱