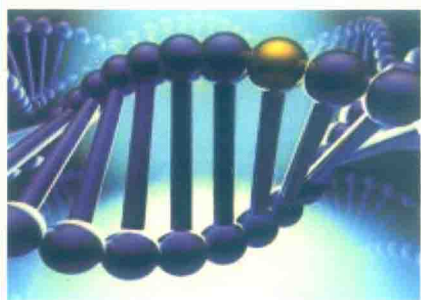


21世纪高等院校实验教学改革与创新系列教材

Biochemistry Experiment

生物化学实验



曾虹燕 冯波 ©主编



湘潭大学出版社

21 世纪高等院校实验教学改革与创新系列教材

生物化学实验

主 编 曾虹燕 冯 波
副主编 李玉芹

湘潭大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

生物化学实验 / 曾虹燕, 冯波主编. — 湘潭: 湘潭大学出版社, 2014.6

ISBN 978-7-81128-592-5

I. ①生… II. ①曾…… ②冯… III. ①生物化学—实验 IV. ①Q5-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 113465 号

责任编辑: 王亚兰

封面设计: 闪电工作室

出版发行: 湘潭大学出版社

社 址: 湖南省湘潭市 湘潭大学出版大楼

电话(传真): 0731-58298966 0731-58298960

邮 编: 411105

网 址: <http://press.xtu.edu.cn/>

印 刷: 湘潭地调彩印厂

经 销: 湖南省新华书店

开 本: 787×1092 1/16

印 张: 8.5

字 数: 207 千字

版 次: 2014 年 6 月第 1 版 2014 年 10 月第 1 次印刷

书 号: ISBN 978-7-81128-592-5

定 价: 18.00 元

(版权所有 严禁翻印)

21 世纪高等院校实验教学改革与创新系列教材

编委会

顾 问:罗和安

主 任:陈小明

副主任:夏智伦 高协平

编委会成员(按姓氏笔画为序):

朱卫国	刘任任	刘跃进	苏旭平	张 平
张海良	郑金华	钟建新	舒 适	谭援强

总 序

为了提高国家的持续发展能力、综合实力和国际竞争力,党中央、国务院提出构建创新型国家体系、增强自主创新能力的战略,鼓励创造,鼓励创新,特别是鼓励原始创新。创新的关键在人才,人才的成长靠教育。推动教育事业特别是高等教育事业的发展,培养和造就一大批基础扎实、具有创新精神和创新能力的高素质拔尖人才,是构建国家创新体系、建设创新型国家的基础。

正是在这样的背景下,湘潭大学出版社经过精心策划,组织实验教学一线的专家和教师编写了这套“21世纪高等院校实验教学改革与创新系列教材”。实验教学是培养学生创新能力的基本途径,是培养高素质创新人才教学体系的重要组成部分。目前,对作为连接理论与实践的纽带和激发学生发现问题、研究问题、独立解决问题能力的重要环节——实践教学的研究,还显得相对不足;对如何进一步深化实验教学改革,创新实验教学方法、途径,以更好地发挥实验教学对培养学生创新思维与创造技能的平台作用方面的研究与探讨,尚待深入;已出版的实验教材还比较零散,不成体系和规模,高质量、高水平的实验教材建设与实验教学之间还存在一定的差距。随着科技的发展,各种实验手段、实验仪器不断更新,传统实验教学中的许多范例、方法,既不能体现与学科发展相适应的前沿性,也不能体现与产业相衔接的应用性,使许多实验教材严重滞后于实验教学的现实需要和教学改革的进程。要实现创新人才培养的重要目标,必须重视实验教学;而要实现教学目标,达到好的教学效果,则必须以实验教材为基础,必须有好实验教材作支撑。因此,湘潭大学出版社出版的这套实验教学改革与创新系列教材就非常有意义。

这套教材最大的特点是融入了许多新的实验教学理念和教学方法,引入了新的实验手段与实验方法,尤其是增加了计算机技术在实验中的应用,有利于激发学生的学习兴趣,增强学生对现代高新技术的了解,具有一定的新颖性和前瞻性。教材范围涵盖了物理、化学、计算机、机械等几大传统学科专业,并注意区分了理科和工科教学过程中各自的侧重,做到

了理工交融,也较好地实现了实践性与理论性、基础性与先进性、基本技能与学术视野、传统教学与开放教学的相互结合。好的实验教材既是实验教学成果的直接反映,也是先进的实验教学理念传播的重要载体。相信湘潭大学社出版的这套系列教材,能够为我们提供有益的借鉴,也相信广大教育理论研究者和教师,在不断推进实验教学改革与创新过程中,一定能够探索出新的经验,推出新的成果,编写出更多的精品教材,进一步推广先进的实验教学理念和教学方法,提升实验教学质量与水平,为培养高素质的创新人才,建设创新型国家作出新的贡献。

是为序。

A stylized handwritten signature in black ink, reading '罗和安' (Luo He'an).

2009年3月

前 言

生物化学是生命科学领域中最活跃的分支学科之一,其实验方法和技术是生物化学发展的重要组成部分,生物化学实验教学的重要性,绝不逊于其理论教学。

随着生物技术的迅猛发展,生物化学已渗透到很多学科领域,特别是许多工科院校的相关专业都开设了生物化学课程。掌握生物化学实验的基本原理和操作技术,对培养学生的科学精神、科研及实际工作能力、分析问题与解决问题的能力等都非常重要。本书着重于学生工程意识和工程能力的培养,在实验项目的选择、实验材料与预处理方法的确定、结果与数据处理等方面,尽可能结合相关工业生产的实际问题,理论联系实际,在培养基本技能的同时,培养学生解决实际工程问题的能力,潜移默化地强化学生的工程意识。

根据工科类学生的特点及现有的基础和条件,特选择了部分实验内容,并结合自身的经验与体会,汇编成生物化学实验指导书,以供参考。该书的知识体系、应用基础和技术等深受广大师生的欢迎,是一本适用性很强的工科生物类基础课教材。在使用过程中,可根据不同的层次适当增减。全书共 8 章:第 1 章为基本实验技术和方法的理论,主要是生化样品制备、生化实验须知和实验技术训练等;第 2 章至第 7 章介绍常用生物化学实验技术(如分光光度法、层析、电泳、离心、透析等),以及基础生物化学和分子生物学实验;第 8 章是在前 6 章的基础上,安排了一些综合实验、设计实验,以进一步培养学生的综合能力、分析与设计能力、逻辑思维能力;最后为附录,可供使用者查阅有关资料与数据。

本书重点介绍了适合高等院校相关工科专业学习的基础生物化学实验,教材内容新颖、实验方法叙述详细、可操作性强,可作为生物工程、食品科学与工程、制药工程、环境工程、化学工程等专业本科生和研究生的生物化学实验指导书,也可作为从事生物技术科学研究或教学的科技人员和教育工作者的参考用书。

本书的出版得益于张继红副教授和曾美霞高级实验师对实验教学改革的多年参与和指导,得益于我院博士研究生刘学英以及硕士研究生张治青、何平、彭登红、黄清军、樊彬和潘阿丹在校稿和绘图方面的帮助。在此,一并表示衷心感谢。由于生物化学技术的快速发展,许多工作还处于不断探索的过程中,本书难免有不妥和疏漏之处,恳切期望读者提出宝贵意见,以利不断修正完善。

编 者

2013 年 10 月

目 录

第 1 章 生物化学实验概述

1.1 实验记录与实验报告	1
1.2 生物化学实验的安全与要求	3
1.2.1 实验室纪律要求	3
1.2.2 实验室常见事故处理	4
1.3 基本实验操作	5
1.3.1 常规玻璃仪器的洗涤、干燥和存放	5
1.3.2 一般操作技术	8
1.3.3 生物样品制备	17
1.4 实验室常见仪器使用方法	19
1.4.1 锥形瓶	19
1.4.2 离心管	19
1.4.3 酒精灯	20
1.4.4 滴定管	21
1.4.5 移液管	23
1.4.6 容量瓶	24
1.4.7 比色管	26
1.4.8 可调式微量移液器	27
1.4.9 电子天平	28
1.4.10 旋转蒸发器	29
1.4.11 凝胶成像仪	30
1.4.12 冷冻离心机	32
1.4.13 冷冻真空干燥机	33
1.4.14 分光光度计	34

第 2 章 糖类定性和定量分析

实验 1 可溶性糖的硅胶 G 薄层层析	36
实验 2 3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖和总糖含量	39
实验 3 斐林试剂比色法测定还原糖	42

第 3 章 脂类

实验 4 粗脂肪的提取和测定——索氏提取法	44
-----------------------------	----

实验 5 脂类染色法——苏丹Ⅲ染色法	47
实验 6 油脂酸价的测定	49
实验 7 脂肪碘值的测定	51
 第 4 章 蛋白质	
实验 8 紫外吸收法测定蛋白质含量	54
实验 9 Folin 酚法(Lowry 法)测定蛋白质的含量	57
实验 10 考马斯亮蓝法(Bradford 法)测定蛋白质的含量	60
实验 11 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定蛋白质的分子量	63
实验 12 牛奶中提取酪蛋白	67
 第 5 章 酶学实验	
实验 13 酶的活力测定及专一性实验	69
实验 14 米氏常数的测定——底物浓度对酶促反应速度的影响	73
实验 15 酶的抑制剂与激活剂对酶活性的影响	77
实验 16 pH 和温度对淀粉酶活性的影响	79
 第 6 章 核酸提取与鉴定	
实验 17 植物基因组 DNA 的提取及含量测定	82
实验 18 动物肝脏 RNA 的提取及含量测定	86
实验 19 聚合酶链反应(PCR)扩增 DNA 及琼脂糖凝胶电泳检测	93
 第 7 章 维生素与辅因子	
实验 20 植物和药品中 VC 的测定	96
实验 21 原子吸收分光光度法测定茶中的铁、锌、铜含量	99
 第 8 章 综合实验	
实验 22 尼龙固定化木瓜蛋白酶	102
实验 23 人乙醛脱氢酶 2(ALDH2)多态性分析	106
 附录 1:生物化学实验常用缓冲液的配制方法	111
附录 2:生物化学实验常用试剂的配制方法	114
附录 3:生物化学实验常用柱料数据及性质	122
 主要参考书目	124

第1章 生物化学实验概述

1.1 实验记录与实验报告

1. 课前预习

实验课前要熟悉实验名称、实验目的和要求、实验原理、实验内容、实验操作方法和步骤等,并简单扼要地写在实验报告记录纸上,做到不盲目实验,心中有数。

2. 实验记录

实验记录是生化实验结果的原始资料,应直接写在实验记录本上,实验记录本标上页码,不要撕去任何一页,严禁用易丢弃零散纸片记录。记录应做到条理分明、文字简练、字迹清楚,不得涂改、擦抹。写错之处可以划去重写。必须用钢笔或圆珠笔(推荐黑色)记录。从实验课开始就要培养严谨的科学作风,养成良好习惯。

实验过程中观察要仔细,记录应如实、客观、详细、准确。

记录内容包括试剂名称、规格、用量,实验方法和具体条件(温度、时间、仪器名称型号、电流、电压等),操作关键及注意事项,现象(正常的和异常的现象)、数据和结果等。记录的形式可根据实验内容和要求,在预习时事先设计好表格或流程图,实验中边观察边记录,应做到条理分明、整洁清楚,便于整理总结。

记录时做到正确记录实验结果,切勿夹杂主观因素,这是十分重要的,在含量实验中观测的数据,如称量物的重量、滴定管的读数、分光光度计的读数等,都应设计一定的表格准确记下正确的读数,并根据仪器的精确度准确记录有效数字。例如,光密度值为0.050,不应写成0.05,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写在记录本上。实验记录上的每一个数字,都是反映每一次测量的结果。所以,重复观测时即使数据完全相同也应如实记录下来,数据的计算也应该写在记录本第一页的右边。总之,应正确无遗漏地记录好实验中的每个实验结果。实验中使用仪器的类型、编号以及试剂的规格、化学式、分子量和浓度等,都应记录清楚,以便实验时进行核对和作为查找失败原因的参考依据。

实验中如发生错误或实验结果有怀疑、遗漏、丢失等,都必须重做实验,不应将不可靠的结果当作正确记录。因为不可靠的结果当做正确的记录,在实验工作中可造成难以估计的损失。所以,在学习期间应养成一丝不苟和严谨的科学作风。

3. 实验报告

实验(编号):

实验名称:

姓名:

学号:

学院及班级:

(1) 实验目的和要求:

(2) 实验内容与原理:

简要地用文字和化学反应说明,如标定和滴定反应的方程式或基准物和指示剂的选择,试剂浓度和分析结果的计算公式等(最好使用简式)。

(3) 主要仪器、材料及试剂配制:

(4) 操作方法与实验步骤:

(5) 实验结果(数据记录及处理):

应用文字、表格、图形,将数据表示出来,根据实验要求计算出分析结果和实验误差大小。

(6) 讨论:

对实验教材上的思考题和实验中观察到的现象,以及产生误差的原因应进行讨论和分析,以提高自己分析问题和解决问题的能力。

定性实验报告中的实验名称和目的要求是针对该次实验课的全部内容而必须达到的目的和要求。在完成实验报告时,可以根据实验内容分别写原理、操作方法、结果与讨论等。原理部分应简述基本原理;操作方法(或步骤)可以流程简图的方式或自行设计的表格来表示;结果与讨论包括实验结果及观察现象的小结、对实验遇到的问题和思考题进行探讨以及对实验的改进意见等。

定量实验报告中,实验目的和要求、实验原理以及操作方法部分应简单扼要的叙述,但是对于实验条件(试剂配制及仪器)和操作的关键环节必须写清楚。对于实验结果部分,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原始数据进行认真记录、整理、归纳、分析和对比,并尽量总结成各种图表,如原始数据及其处理的表格、标准曲线图以及比较实验组与对照组实验结果的图表等。另外,还应针对实验结果进行必要的说明和分析。讨论部分可以包括:关于实验方法(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对思考题进行探讨,对于实验设计的认识、体会和建议,对实验课的改进意见等。

4. 实验课评分标准

实验结束后,应及时整理和总结实验结果,写出实验报告。按照实验内容可分为定性和定量两大类,实验报告的格式可参照下列方式:

- 实验预习情况(10%)
- 实验操作情况(20%)
- 实验报告情况(30%)
- 实验考试成绩(40%)

1.2 生物化学实验的安全与要求

1.2.1 实验室纪律要求

(1) 实验前必须认真预习,熟悉本次实验的目的、原理及操作步骤,懂得每步操作的意义,掌握所用仪器的使用方法,否则不能开始实验。

(2) 自觉遵守实验室纪律,严格按照生物化学实验分组,分批进入实验室,进入实验室须穿实验服。不迟到,不早退,不得大声喧哗和嬉戏,绝对禁止用实验仪器或药物开玩笑。非本实验组的同学不准进入实验室。

(3) 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、安全和一切服务性的工作。

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

(5) 实验台面应随时保持整洁,仪器、药品摆放整齐。不得将高温、强酸强碱、有毒污损品抛洒在实验台上,试剂用完后,应立即盖严放回原处。实验完毕,仪器洗净放好,将实验台面擦拭干净,才能离开实验室。

(6) 使用药品、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,发现故障需立即报告老师,不得擅自手检修。

(7) 废液体可倒入水槽内,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;不能倒入水槽或到处乱扔。

(8) 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,应立即拨去电炉开关和关好水龙头,拉下电闸。离开实验室以前应认真、负责地进行水电检查,严防发生安全事故。

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

(10) 实验室内一切物品,未经本室负责老师批准,严禁带出室外,借物需办理登记手续。

1.2.2 实验室常见事故处理

做化学实验时会偶发一些伤害事故,需进行必要的急救处理,使伤害降低到最小的程度,切不可听其自然、贻误时机。下面介绍一些常见伤害事故的处理方法。

1. 割伤

用消毒棉棍或纱布把伤口清理干净,小心取出伤口中的玻璃或固体物,然后将红药水涂在伤口的创面上。若伤口较脏,可用3%双氧水擦洗或用碘酒涂在伤口的周围。注意,红药水与碘酒不能同时使用。伤口消毒后再用消炎粉敷上,并加以包扎。

若伤口比较严重,出血较多时,可在伤口上部扎上止血带,用消毒纱布盖住伤口,立即拨打120送医院治疗。

2. 烫伤和烧伤

轻度的烫伤或烧伤,可用药棉浸90%~95%的酒精轻涂伤处,也可用3%~5%高锰酸钾溶液擦伤处至皮肤变为棕色,然后涂上烫伤药膏。较严重的烫伤或烧伤,不要弄破水泡,以防感染。要用消毒纱布轻轻包扎伤处,立即拨打120,送医院治疗。

3. 化学灼伤

化学灼伤与一般的烧伤、烫伤不同,其特殊性在于:即使脱离了致伤源,但如果不立即把污染在人体上的腐蚀物除去,这些物质仍会继续腐蚀皮肤和组织,直至被消耗完为止。化学物质与组织接触时间越长、浓度越高,处理不当、清洗不彻底,烧伤也越严重。就同等程度的烧伤而言,碱烧伤要比酸烧伤更重。因为酸作用于身体组织后,一般能很快使组织蛋白凝固,形成保护膜,阻止酸性物质向深层进展。而当碱与身体组织接触后,碱能与组织变成可溶性化合物,尽管烧伤初期可能不严重,但过一段时间后,碱往往继续向深处及广处扩散,使创面不断加深加大。所以对碱烧伤紧急处理尤为重要。

一旦发生化学灼伤事故,都应于最短时间进行冲洗。冲洗时必须立足于现场条件,不必强求用消毒液和药水,凉开水、自来水,甚至河水、井水都可应急。冲洗需要反复而彻底地进行,具体要点如下:

(1) 发现化学灼伤后,要立即脱去被污染的衣帽、鞋袜等,随后用大量清水冲洗创面15~20 min。有条件时边冲洗边用pH试纸不断测定创面的酸碱度,一直冲洗到中性(pH=7)为止。

(2) 干石灰或浓硫酸灼伤时,不得先用水冲洗。因它们遇水反而放出大量的余热,会加重伤势。可先用干布(纱布或棉布)擦拭干净后,再用清水冲洗。

(3) 氢氟酸灼伤时,要引起足够的重视。因为氢氟酸灼伤开始时不明显,病人也无不适的感觉,当稍有疼痛时,说明烧伤已到严重程度。氢氟酸不但能腐蚀皮肤、组织和器官,还可腐蚀至骨骼。经常是麻痹1~2 h后才感到疼痛。万一被氢氟酸(包括氟化物,它们能水解成氢氟酸)烧伤,应立即用水冲洗几分钟,然后在伤口处敷以新配制的20% MgO 甘油悬浮液。

(4) 如完全可以确定是酸碱类化学灼伤。酸性灼伤可用清水或2%的碳酸氢钠(即小苏打)溶液冲洗;碱性灼伤可用2%醋酸溶液或2%的硼酸溶液冲洗,冲洗后涂上油膏,并将伤口扎好。重者拨打120送医院诊治。

(5) 溴灼烧,应立即用酒精洗涤,涂上甘油,用力按摩,将伤处包好。如眼睛受到溴蒸气

刺激,暂时不能睁开时,可对着盛有氯仿或酒精的瓶内注视片刻。

(6) 热沥青(柏油)灼伤时,千万不能用手去揭已沾在皮肤上的沥青,否则可加重创面皮肤的损伤,加重伤情。清除沾在皮肤上的沥青可用棉花或纱布,沾上二甲苯或氯仿(也可用豆油或菜油),轻轻擦拭。擦干净后,再涂上一层抗生素药膏。使用氯仿时要注意不宜过多,以防止引起局部麻醉。

4. 试剂入眼(任何情况下都要先洗涤)

洗涤时可采用以下方法:

(1) 立即睁大眼睛,用流动清水反复冲洗,边冲洗边转动眼球,但冲洗时水流不宜正对角膜方向。冲洗时间一般不得少于 15 min。

(2) 若无冲洗设备或无他人协助冲洗时,可将头浸入脸盆或水桶中。努力睁大眼睛(或用手拉开眼皮),浸泡十几分钟,同样可达到冲洗的目的。注意,若双眼同时受伤,必须同时冲洗,如先冲一只眼,再冲另一只眼,后冲洗的那只势必会遭受更严重的损害。

(3) 若是固体化学物质落入眼内,应及时取出,以免继续发生化学作用;若是碎玻璃,应先用镊子移去碎块,或在盆里用水洗,切勿用手揉动。

5. 中毒

溅入口中尚未咽下者应立即吐出,用大量水冲洗口腔。如已吞下,应根据毒性物质给以解毒剂,并立即送医院治疗。

(1) 腐蚀性毒物,对于强酸,先饮大量水,然后服用氢氧化铝膏、鸡蛋白;对于强碱,也先饮大量水,然后服用醋、酸果汁、鸡蛋白。不论酸或碱中毒,处理后都要再给以牛奶灌注,不要吃呕吐剂。

(2) 刺激性及神经性毒物,先给牛奶或鸡蛋白使之立即冲淡和缓和,再用一大匙硫酸镁(约 30 g)溶于一杯水中催吐。也可用手指伸入喉部促使呕吐,然后立即送医院治疗。

(3) 吸入气体中毒者,将中毒者移至室外,解开衣领及纽扣。吸入少量氯气或溴者,可用碳酸氢钠溶液漱口。

总之,化学实验室一般伤害事故处理必须在现场进行。如遇紧急情况请立即拨打电话:

火警 119;

匪警 110;

急救 120。

1.3 基本实验操作

1.3.1 常规玻璃仪器的洗涤、干燥和存放

1. 玻璃仪器的一般洗涤操作

生化实验中要使用各种玻璃仪器,这些玻璃仪器是否清洁,会直接或间接影响实验结果的准确性,因此,在实验前必须将玻璃仪器清洗干净。

一般的玻璃仪器,如离心管、烧瓶、锥形瓶、试管和量筒等,可直接用毛刷蘸取洗衣粉、肥皂粉或洗涤剂从外到里刷洗,然后用自来水冲洗,直至容器内不挂水珠即可。最后用蒸馏水或去离子水润洗内壁数次。倒置晾干即可。

容量分析仪器：容量瓶、滴定管及吸管等容量仪器，使用完毕后用自来水多次冲洗，如能清洁（容器壁不挂水珠），再用蒸馏水少量冲洗 2~3 次，晾干即可备用。若仍不干净，附有油污等，则需晾干后放入铬酸洗液内浸泡数小时，然后倒净洗液（或捞出），用自来水充分冲洗至水不显黄色后再冲几次，最后用少量蒸馏水冲洗 2~3 次，晾干备用。

砂芯玻璃滤器在使用后须立即清洗，针对滤器砂芯中残留的不同沉淀物，采用适当的洗涤剂先溶解砂芯表面沉淀的固体，然后用减压抽洗法反复用洗涤剂把砂芯中残存的沉淀物全部抽洗掉，再用蒸馏水冲洗干净，于 110 °C 烘干，保存在防尘的柜子中。

在做酶学实验时，对仪器的清洁要求更高，因如有极微量的污物（如 Cu^{2+} 、 Cr^{3+} 等重金属离子）即可导致整个实验失败。因此，必要时仪器经上述方法洗涤后，还需用稀盐酸或稀硝酸洗涤，以除去铬及其他金属离子，然后再用自来水、蒸馏水冲洗。

2. 难洗污物的洗涤

结晶和沉淀物的洗涤：如氢氧化钠或氢氧化钾因吸收空气中的二氧化碳而形成碳酸盐以及存在氢氧化铜或氢氧化铁沉淀时，可用水浸泡数日，然后用稀酸洗涤，使之生成能溶于水的物质，再用水冲洗。如存有有机物沉淀，则可用煮沸的有机溶剂或氢氧化钠溶液进行洗涤。

残留汞齐的洗涤：汞与一些金属形成金属合金（汞齐），附着在玻璃壁上形成深色斑痕，可用体积分数为 10% 的硝酸溶液将汞齐溶解，再用水洗净。

干性油、油脂、油漆的洗涤：可用氨水或氯仿进行洗涤，未变硬的油脂可用有机溶剂洗涤；煤油可用热肥皂水洗涤；黏性油可用热氢氧化钠溶液浸泡洗涤。

污斑的洗涤：玻璃上的白色污斑，是长期贮碱而被碱腐蚀形成的；玻璃上吸附着的黄褐色的铁锈斑点，可用盐酸溶液洗涤；电解乙酸铅时生成的混浊物，可用乙酸洗涤；褐色的二氧化锰斑点可用硫酸亚铁、盐酸或草酸溶液洗涤；玻璃上的墨水污斑可用苏打或氢氧化钠溶液洗涤。

银盐污迹的洗涤：氯化银、溴化银污迹可用硫代硫酸钠溶液，银镜可用热的稀硝酸溶液使之生成易溶于水的硝酸银加以洗除。

3. 常用洗涤剂及使用范围

最常用的洁净剂是肥皂、肥皂液、洗衣粉、去污粉、洗液、有机溶剂等。

肥皂、肥皂液、洗衣粉、去污粉等，用于可以直接用刷子刷洗的仪器，如烧杯、三角瓶、试剂瓶等；洗液多用于不使用刷子洗刷的仪器，如滴定管、移液管、容量瓶、蒸馏器等特殊形状的仪器，也用于洗涤长久不用的杯皿器具或刷子刷不下的结垢。用洗液洗涤仪器，是利用洗液本身与污物起化学反应的作用，将污物去除，因此需要浸泡一定的时间充分作用；有机溶剂是针对污物具有某种类型的油腻性，而借助有机溶剂能溶解油脂的作用洗除之，或借助某些有机溶剂能与水混合而又挥发快的特性，冲洗一下带水的玻璃器皿将其洗去，如甲苯、二甲苯、汽油等可以洗油垢，酒精、丙酮可以冲洗刚洗净还带水的玻璃器皿。常用洗涤液的制备及使用注意事项如下：

（1）强酸氧化剂洗液

强酸氧化剂洗液是由重铬酸钾（ $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ）和浓硫酸（ H_2SO_4 ）配制而成。 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 在酸性溶液中有很强氧化能力，对玻璃仪器又极少有侵蚀作用，所以这种洗液在实验室内使用较广泛。强酸氧化剂洗液配制浓度各有不同，从 5%~12% 的各种浓度都有。配制方法大致相同：

取一定量的 $K_2Cr_2O_7$ (工业品即可), 先用 1~2 倍的水加热溶解, 稍冷后, 将工业品浓 H_2SO_4 所需体积数徐徐加入 $K_2Cr_2O_7$ 溶液中(千万不能将水或溶液加入 H_2SO_4 中), 边倒边用玻璃棒搅拌, 并注意不要溅出, 混合均匀, 待冷却后装入洗液瓶备用。新配制的洗液为红褐色, 氧化能力很强。当洗液用久后变为黑绿色, 即说明洗液已无氧化洗涤力。例如, 配制 12% 的洗液 500 mL: 取 60 g 工业品 $K_2Cr_2O_7$ 置于 100 mL 水中(加水量不是固定不变的, 以能溶解为度), 加热溶解、冷却, 徐徐加入浓 H_2SO_4 340 mL, 边加边搅拌, 冷后装瓶备用。

这种洗液在使用时要切实注意不能溅到身上, 以防“烧”破衣服和损伤皮肤。洗液倒入要洗的仪器中, 应使仪器周壁全浸洗一会儿后再倒回洗液瓶。第一次用少量水冲洗刚浸洗过的仪器后, 废水不要倒在水池和下水道里, 否则会腐蚀水池和下水道, 应倒在废液缸中, 缸满后倒在垃圾里。如果无废液缸, 倒入水池时, 要边倒边用大量的水冲洗。

(2) 碱性洗液

碱性洗液用于洗涤有油污物的仪器, 用此洗液是采用长时间(24 h 以上)浸泡法, 或者浸煮法。从碱洗液中捞取仪器时, 要戴乳胶手套, 以免灼伤皮肤。

常用的碱洗液有: 碳酸钠液(Na_2CO_3 , 即纯碱), 碳酸氢钠液(Na_2HCO_3 , 即小苏打), 磷酸钠液(Na_3PO_4 , 即磷酸三钠), 磷酸氢二钠液(Na_2HPO_4)等。

(3) 碱性高锰酸钾洗液

碱性高锰酸钾洗液是一种高效的能去除玻璃仪器上油污的洗液, 由于它对有机污迹的去除能力强、速度快, 并且与铬酸洗液相比, 它腐蚀性小、毒性小、配制简单安全, 所以在实验室中经常使用这种接近饱和的高锰酸钾碱性溶液清洗仪器。

碱性高锰酸钾洗液的配制: 将 20 g 高锰酸钾溶于 50 mL 水, 再加入 10% 氢氧化钠溶液 300 mL, 用蒸馏水清洗烧杯上残留的高锰酸钾, 然后导入瓶中, 用水稀释至 500 mL, 盖上瓶盖, 贴上标签。

(4) 纯酸纯碱洗液

根据器皿污垢的性质, 直接用浓盐酸(HCl)、浓硫酸(H_2SO_4)或浓硝酸(HNO_3)浸泡或浸煮器皿(温度不宜太高, 否则浓酸挥发对人体产生刺激)。纯碱洗液多采用 10% 以上的浓烧碱液($NaOH$ 、 KOH 或 Na_2CO_3)浸泡或浸煮器皿(可以煮沸)。

(5) 有机溶剂

带有脂肪性污物的器皿, 可以用汽油、甲苯、二甲苯、丙酮、酒精、三氯甲烷等有机溶剂擦洗或浸泡。但用有机溶剂作为洗液浪费较大, 能用刷子洗刷的大件仪器尽量采用碱性洗液。只有无法使用刷子的小件或特殊形状的仪器, 如活塞内孔、移液管尖头、滴定管尖头、滴定管活塞孔、滴管、小瓶等才使用有机溶剂洗涤。

(6) 洗消液

为了防止致癌性化学物质对人体的侵害, 在洗刷之前应使用对这些致癌性物质有破坏分解作用的洗消液进行浸泡, 然后再进行洗涤。

在食品检验中经常使用的洗消液有: 1% 或 5% 次氯酸钠溶液、20% HNO_3 和 $KMnO_4$ 溶液。

1% 或 5% 次氯酸钠溶液对黄曲霉素有破坏作用。用 1% 次氯酸钠溶液对污染的玻璃仪器浸泡半天或用 5 mL 次氯酸钠溶液浸泡片刻后, 即可达到破坏黄曲霉毒素的作用。20% HNO_3 溶液和 2% $KMnO_4$ 溶液对苯并芘有破坏作用, 被苯并芘污染的玻璃仪器可用 20% HNO_3 浸泡 24 h, 取出后用自来水冲去残存酸液, 再进行洗涤。被苯并芘污染的乳胶手套及

微量注射器等可用 2% KMnO_4 溶液浸泡 2 h 后,再进行洗涤。

4. 玻璃仪器的干燥

做实验经常用到的玻璃仪器应在实验完毕后清洗干净备用,根据不同的实验,对玻璃仪器的干燥有不同层次的要求。

一般的玻璃仪器如需迅速干燥,可根据仪器的不同类型按下述不同方法处理:

① 一般的玻璃仪器如试管、离心管、烧杯、烧瓶等洗净后倒置架上,让其水分蒸发自然干燥,或者置烤箱中 $100\sim 105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘烤。

② 少量仪器如需急用也可在电炉上或酒精灯上烘烤。烘烤时应将器皿不时转动,使之受热缓慢且均匀,并将管口(或杯口)倾斜向下,以便水蒸气冷凝成水滴,顺口流出,不要使水滴接触烘热了的器壁而使仪器爆裂。

③ 电吹风干燥一般玻璃仪器也很便利常用。

④ 下列玻璃仪器应避免烘烤:吸管——容易造成器壁变形而致容量不准;比色杯——易在烘烤时发生破裂。

5. 玻璃仪器的存放

玻璃仪器的存放要分门别类,便于取用。移液管洗净后应置于防尘的盒中;滴定管用毕洗去内存的溶液,用纯水刷洗后注满纯水,上盖玻璃短试管或塑料套管,夹于滴定管夹上;比色皿用后洗净,倒置在垫有滤纸的小瓷盘或塑料盘中,晾干后收放于比色皿盒或洁净的器皿中;带磨口塞的玻璃仪器如容量瓶、比色管等最好在清洗前就用线绳或塑料细丝把塞和瓶口拴好,以免打破塞子或弄混。

需长期保存的磨口仪器要在塞子和磨口间垫一纸片,以免日久粘住。长期不用的滴定管应在去除凡士林后,垫上纸并用皮筋拴好活塞保存。磨口塞间有砂粒不要用力转动,也不要用力去污粉擦洗磨口,以免降低其精度;成套仪器如索氏萃取器、气体分析器等用毕要立即洗净,放在专用的盒子里保存。

1.3.2 一般操作技术

1. 混匀技术

样品与试剂的混匀是保证化学反应充分进行的一种有效措施。因此,必须使反应体系内各种物质迅速地相互接触,除特别规定外,一般都需要将反应物彻底混匀。混匀时需防止容器内液体溅出或被污染,严禁用手指直接堵塞试管口或锥形瓶口振摇。混匀方式大致有以下几种(可随使用的器皿的液体容量而选用):

① 旋转混匀法:手持容器作离心旋转,以手腕、肘或肩作轴旋转。适用于未盛满液体的试管或小口器皿,如三角瓶等。

② 弹指混匀法:左手持试管上端,以右手手指轻击试管之下部或用一只手的大拇指和食指持管的上端,用其余 3 个手指弹动离心管,使管内溶液作旋涡运动。适用于离心管或小试管内溶液的混匀。

③ 倒转混匀法:适用于有玻璃塞的量筒、容量瓶、试管内容物的混匀。

④ 弹动混匀法:以右手大拇指、食指、中指握住试管上部,将试管放平,于左手掌中弹动。

⑤ 吸管混匀法:用吸量管将溶液反复吸放数次,使溶液混匀,适用于量少而无沉淀的液体。