

生物化学与分子生物学

实验教程

侯新东 主编

葛台明 鲁小璐 彭兆丰 副主编

SHENGWU HUAXUE YU FENZI SHENGWUXUE SHIYAN JIAOCHENG



中国地质大学出版社
ZHONGGUO DIZHI DAXUE CHUBANSHE

生物化学与分子生物学实验教程

SHENGWU HUAXUE YU FENZI SHENGWUXUE SHIYAN JIAOCHENG

主 编 侯新东

副主编 葛台明 鲁小璐 彭兆丰

编 委 (按姓氏笔画排序)

李继红 侯新东 葛台明

彭兆丰 鲁小璐



中国地质大学出版社

ZHONGGUO DIZHI DAXUE CHUBANSHE

内容提要

本书由三部分内容组成,第一部分为生物化学与分子生物学实验基本知识,共三章,包括实验室规则及安全防护、实验基本操作及常用仪器、实验的基本要求。第二部分为生物化学和分子生物学实验原理与技术,共八章,分别对离心技术、分光光度技术、层析技术、膜分离技术、电泳技术、分子克隆技术、聚合酶链式反应(PCR)和核酸分子杂交进行了较为详实的介绍。第三部分为生物化学与分子生物学实验,共三章,分别为生物化学实验,包括 26 个实验;分子生物学实验,包括 10 个实验;设计性实验,包括 7 个实验。本书在阐明各类实验原理与方法的同时,注重实验的具体操作和合理安排,有助于读者熟悉基本实验技能,提高实践动手能力。

本书可供生物科学、生物技术等生命科学类的本科生和研究生使用,同时也可作为相关专业的教学、科研和技术人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

生物化学与分子生物学实验教程/侯新东主编. —武汉:中国地质大学出版社,2016.12
ISBN 978-7-5625-3996-4

I. ①生…

II. ①侯…

III. ①生物化学-实验-高等学校-教材②分子生物学-实验-高等学校-教材

IV. ①Q5-33②Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 308280 号

生物化学与分子生物学实验教程

侯新东 主 编

葛台明 鲁小璐 彭兆丰 副主编

责任编辑:张燕霞 张琰

责任校对:代 莹

出版发行:中国地质大学出版社(武汉市洪山区鲁磨路 388 号)

邮政编码:430074

电 话:(027)67883511

传真:67883580

E-mail:cbb@cug.edu.cn

经 销:全国新华书店

<http://www.cugp.cug.edu.cn>

开本:787mm×1092mm 1/16

字数:372 千字 印张:14.5

版次:2016 年 12 月第 1 版

印次:2016 年 12 月第 1 次印刷

印刷:武汉市籍缘印刷厂

印数:1—1500 册

ISBN 978-7-5625-3996-4

定价:35.00 元

如有印装质量问题请与印刷厂联系调换

前言

20 世纪,生命科学取得了快速的发展,进入 21 世纪,随着人类基因组计划的完成,生命科学将会有更大的突破,也将会对人类社会和经济的发展做出更大的贡献。生物化学与分子生物学是一门实验性学科,其涵盖的各种研究技术与方法是这门学科创立并发展的基础,已成为生物学、医学等专业必修的实验课程。近年来,生物化学与分子生物学技术日益更新,新技术、新方法不断涌现,并对其他生物相关学科的发展起着关键性的作用。

根据实验教学的需要,中国地质大学(武汉)环境学院生物系在自编《生物化学实验指导书》和《分子生物学实验讲义》的基础上,结合新的教学改革理念与技术方法,进行内容整合、补充和修改后,完成了《生物化学与分子生物学实验教程》的编写。本书涵盖了生物化学与分子生物学的基本实验方法和技术,是学习生物化学与分子生物学实验技术的一本实用教材。全书内容分为 3 个部分。第一部分是实验基础知识,可以让学生预先了解实验室基本操作方法与规则要求。第二部分是生物化学与分子生物学实验常用技术和原理,为学生后续实验操作奠定基础。第三部分是具体的生物化学与分子生物学实验,可以促进学生实验操作技能的锻炼,培养他们的科研思维以及分析问题、解决问题的能力。

本教材前言、第二章、第三章、第四章、第七章、第八章、第十二章实验一、实验二、实验四~实验七、实验九~实验二十二、实验二十四~实验二十六、第十三章实验二十七、实验二十八、实验三十三、实验三十六、第十四章、附录 A 由侯新东编写;第一章由李继红编写;第五章、第六章、第十二章实验三、实验八、实验二十三由彭兆丰编写;第十章、第十三章实验二十九~实验三十二由葛台明编写;第九章由侯新东、葛台明编写;第十一章、第十三章实验三十四、实验三十五由鲁小璐编写;最后由侯新东负责统稿。

为完成这本教材,全体参编老师付出了辛勤的劳动。在本教材编写过程中顾延生教授等多位老师提出了宝贵的意见和建议,同时也得到了学校教务处、学院的领导、生物系同事们的支持和帮助,在此表示衷心的感谢!本教材出版得到了中国地质大学(武汉)“生物科学专业综合改革试点”项目的资助,特此感谢!

由于编者水平有限,时间仓促,教材中难免出现不周全以及不妥之处,殷切希望广大读者提出宝贵意见和建议,以便再版时进一步修正完善。

编 者

2016 年 10 月于南望山下

目录

第一篇 生物化学与分子生物学实验基本知识

第一章 实验室规则及安全防护	(3)
第二章 实验基本操作及常用仪器	(7)
第三章 实验的基本要求	(20)

第二篇 生物化学与分子生物学实验原理及技术

第四章 离心技术	(29)
第五章 分光光度技术	(34)
第六章 层析技术	(37)
第七章 膜分离技术	(49)
第八章 电泳技术	(52)
第九章 分子克隆技术	(58)
第十章 聚合酶链式反应(PCR)	(69)
第十一章 核酸分子杂交	(79)

第三篇 生物化学与分子生物学实验

第十二章 生物化学实验	(89)
实验一 氨基酸的分离与鉴定	(89)
实验二 氨基酸和蛋白质的呈色反应	(92)
实验三 紫外光吸收法测定蛋白质含量	(96)

实验四	蛋白质的沉淀和等电点的测定	(98)
实验五	牛乳中蛋白质的提取与鉴定	(102)
实验六	聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质	(104)
实验七	醋酸纤维素薄膜电泳分离血清蛋白质	(107)
实验八	血红蛋白的凝胶过滤	(109)
实验九	SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定蛋白质的相对分子质量	(111)
实验十	影响酶活性的因素	(115)
实验十一	胰蛋白酶米氏常数的测定	(120)
实验十二	聚丙烯酰胺凝胶分离过氧化物同工酶	(122)
实验十三	凝胶层析法分离纯化脲酶	(125)
实验十四	亲和层析法从鸡蛋清中分离溶菌酶	(128)
实验十五	水果或蔬菜中抗坏血酸的测定(2,6-二氯酚靛酚法)	(132)
实验十六	碱性 SDS 法提取大肠杆菌质粒	(134)
实验十七	植物 DNA 的提取与测定	(137)
实验十八	植物总 RNA 的提取与分析	(139)
实验十九	酵母核糖核酸的分离及组分鉴定	(142)
实验二十	动物肝脏 DNA 的提取	(145)
实验二十一	动物肝脏 RNA 的制备	(149)
实验二十二	mRNA 的分离纯化	(151)
实验二十三	分光光度法测定丙酮酸的含量	(153)
实验二十四	糖酵解中间产物的鉴定	(155)
实验二十五	脂肪酸的 β -氧化作用	(157)
实验二十六	植物体内的转氨基作用	(159)
第十三章	分子生物学实验	(161)
实验二十七	PCR(聚合酶链式反应)技术扩增目的基因片段	(161)
实验二十八	DNA 琼脂糖凝胶电泳	(163)
实验二十九	大肠杆菌感受态细胞的制备	(165)
实验三十	PCR 产物的纯化	(168)
实验三十一	重组 DNA 分子连接及转化	(171)
实验三十二	转化菌落 PCR 检测	(175)

实验三十三	质粒 DNA 的酶切与琼脂糖电泳鉴定	(178)
实验三十四	Southern 印迹杂交	(182)
实验三十五	Northern 印迹杂交	(189)
实验三十六	逆转录 PCR(RT-PCR)	(195)
第十四章	设计性实验	(198)
实验三十七	重要蛋白质的分离纯化	(198)
实验三十八	青豌豆素的分离纯化及其鉴定	(199)
实验三十九	卵磷脂的提取和鉴定	(200)
实验四十	转基因植物的 PCR 鉴定	(201)
实验四十一	mRNA 的差异显示技术	(202)
实验四十二	土壤酶活性鉴定与分析	(203)
实验四十三	外源基因在大肠杆菌中的诱导表达	(204)
主要参考文献		(205)
附录 A		(206)

第一篇

生物化学与分子生物学实验基本知识

第一章 实验室规则及安全防护

第二章 实验基本操作及常用仪器

第三章 实验的基本要求

第一章 实验室规则及安全防护

生物化学与分子生物学实验室中摆放了很多电子仪器、玻璃仪器和化学药品等。此外,实验室属于公共场所,来往的人员较多,稍有不慎就会发生事故,对人体或仪器造成伤害或损坏。因此,实验室人员要严格遵守下列规则,以保证实验安全、有序、有效地进行。

一、实验室规则

(1)实验室是实验教学和科学研究的重要基地,要求布局科学合理,设施设备完好,电路、水路、气路规范,通风、照明符合要求,环境整洁、优美、安全。

(2)进入实验室学习、工作的学生、教师,必须遵守实验室各项规章制度。

(3)建立、健全各种管理制度,明确责任人,明确实验室工作流程。经常开展安全教育活动,安装醒目的安全警示标志,制订应急预案,保持安全通道畅通。

(4)实验室的仪器设备由专人管理维护,保证设备的完好率;使用仪器设备必须严格遵守操作规程,违者管理人员有责任停止其使用。

(5)保持实验室整洁、安静,严禁喧哗、打闹,不得吸烟,饮食,随地吐痰,乱扔纸屑和其他杂物。

(6)实验室内要穿实验服或长衣、长裤,禁止赤膊或穿短袖上衣以及短裤、拖鞋等。长发的同学要将头发扎起或盘起,衣服上的飘带等装饰品也要系好。

(7)实验前必须认真预习,明确实验目的、原理和操作步骤及注意事项,熟悉仪器设备性能及操作规程,不得擅自修改实验方案,设计性实验的实验方案要提交老师审查,经过允许后方可开始实验。

(8)实验时必须遵守操作规程,认真观察,准确记录,注意安全。未经教师允许,不得擅自离开岗位,如果必须离开,须委托他人照看,实验中发生异常情况要及时报告指导教师;实验过程中不做与实验无关的事情,不妨碍他人实验。

(9)保持实验台的清洁,仪器、药品摆放整齐;打碎玻璃器皿,仪器设备损坏、丢失以及实验耗材的正常损耗,要及时上报,按有关规定处理;仪器出现故障要立刻报告教师。

(10)实验时严格按照实验方案取用药品,杜绝浪费;公用试剂用毕,应立即盖严放回原处。勿将试剂、药品洒在实验台面和地上;用过的滤纸、棉花、动植物组织等固体废物切勿倒入水池中,以免堵塞下水道。

(11)容量瓶是量器,不能用来存放试剂。带磨口玻璃塞的器皿,如暂时不用,要用纸条把瓶塞和瓶口隔开。

(12)不要用滤纸称量药品,更不能用滤纸做记录。配制好的试剂应做好明确的标示,标签上要写明试剂的名称、浓度、配制的日期及配制人姓名。

(13)取出试剂后,立即将试剂瓶塞好盖严,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,以防污染试剂,造成自己或他人实验的失败,未用完的试剂不得倒回瓶内。

(14)使用贵重仪器如分析天平、分光光度计、冷冻离心机及层析设备前,应熟知使用方法。

(15)实验结束后,应及时切断电源、水源、气源,整理好仪器设备和器材,做好清洁工作;实验教师检查仪器设备、工具、材料及实验记录后,经允许方可离开;值日生认真打扫实验室,检查煤气、水、电和门窗关好后方可离开实验室。

二、实验室安全防护

在生物化学与分子生物学实验室中,经常与毒性很强、有腐蚀性、易燃烧和具有爆炸性的化学药品直接接触,常常使用易碎的玻璃和瓷质器皿以及在煤气、水、电等高温电热设备的环境下进行实验研究与科学探索工作,因此,必须十分重视安全工作。

(一)实验室安全知识

(1)穿白大褂进入实验室,不许穿拖鞋进入实验室,以免酸、碱等试剂腐蚀衣服、灼伤皮肤。

(2)进入实验室开始工作前应了解煤气总阀门、水阀门及电闸所在处。离开时,一定要将室内检查一遍,应关闭水、电和煤气的开关,关好门窗。

(3)使用浓酸、浓碱,必须小心操作,防止飞溅。用移液管量取这些试剂时,必须使用橡皮吸耳球,绝对不能用口吸取。若不慎溅在实验台或地面,必须及时用湿抹布擦洗干净,如果触及皮肤应立即治疗。

(4)易燃和易爆炸物质的残渣(如金属钠、白磷等)不得倒入污染桶或水槽中,应收集在指定的容器内。

(5)废液,特别是强酸和强碱不能直接倒入水槽中,必须倒入专门的废液桶;实验完成后的沉淀物或其他混合物如含有有毒、有害或贵重药品者不可随意丢弃,必须放入专门的容器,最后由实验主管部门统一回收处理。

(6)实验操作中需要用到有毒、有害或腐蚀性药品以及产生有害气体的,要在通风橱内进行,并戴好橡胶手套或防护眼镜,必要时戴口罩或面罩,实验后要及时洗手。

(7)毒性物质应按实验室的规定办理审批手续后领取,使用时必须根据试剂瓶上标签说明严格操作,安全称量、妥善处理 and 保存。沾过毒性物质的容器应该单独清洗和处理。

(8)使用煤气灯时,灯焰大小和火力强弱,应根据实验的需要来调节。用煤气加热水浴锅时,切勿踩踏软管熄灭煤气,同时注意勿烧干水浴锅。用火时,应做到火着人在,人走火灭。

(9)使用电器设备(如烘箱、恒温水浴、离心机等)时,严防触电;绝不可用湿手开、关电闸和电器开关;应该用试电笔检查电器设备是否漏电,凡是漏电的仪器,一律不能使用。

(10)使用可燃物,特别是易燃物(如乙醚、丙酮、乙醇等)时,应特别小心。不要大量放在桌上,更不要在靠近火焰处。只有在远离火源时,或将火焰熄灭后,才可大量倾倒易燃液体。低沸点的有机溶剂不准在火上直接加热,只能在水浴上利用回流冷凝管加热或蒸馏。

(11)生物材料如微生物、动物组织和血液样品都可能存在细菌和病毒感染的潜在危险,因此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、洗手液或消毒液洗净双手。

(12)实验过程中,如发生安全事故,应立即报告教师,并采取适当急救措施。

(二) 实验室意外事故的紧急处理

在实验操作时,当伤害发生后,正确的急救方法可以减少伤害扩大。下面介绍实验室的一些应急处理方法。

1. 化学试剂伤害的处理

(1)被酸灼伤:先用流水冲洗,再用低浓度的弱碱溶液,如 3%~5% NaHCO_3 溶液或 5% 氨水擦洗,最后用大量的水冲洗,严重时要消毒,拭干后涂烫伤药膏。

(2)被碱灼伤:先用流水冲洗,再用 1% 硼酸或 2% 醋酸溶液擦洗,最后用大量的水冲洗,严重时处理同上。

(3)被溴灼伤:先用流水冲洗,再用乙醇擦至无溴液存在,最后涂上甘油或烫伤药膏。

(4)被氢氟酸灼伤:氢氟酸(包括氟化物)具有强烈腐蚀性,它不仅腐蚀皮肤和组织,甚至能腐蚀骨骼,形成难以治愈的烧伤,所以使用时要非常注意。一旦灼伤,应立即用大量清水冲洗 20min 以上,再敷上新配制的 20% MgO 甘油悬浮液。

(5)眼睛灼伤:灼伤后要用大量的清水冲洗眼睛,时间不少于 15min,如有必要应立即送往医院。

2. 毒物伤害的处理

(1)吸入有毒气体:应立即转移到通风处或室外,解开衣领及纽扣,吸入煤气者深呼吸换气即可,严重中毒者需进行人工呼吸并送医院;吸入少量氯气或溴者,可用碳酸氢钠溶液漱口。

(2)误食有毒物质:有毒物质误入口中,未咽下时要立即吐出,并用大量水漱口;如不慎吞下,应根据毒物性质给以解毒剂,并立即送医院。刺激性或神经性毒物入口要服用牛奶或鸡蛋清缓和,之后用 5~10mL 稀硫酸铜溶液加一杯温开水送服,再经过催吐后送往医院;误食酸或碱的,先喝大量的水,再饮牛奶或鸡蛋清,不能催吐;重金属中毒,服用一些硫酸镁稀溶液,立即就医。

3. 机械损伤的处理

(1)玻璃割伤:首先用消毒棉签或纱布将伤口清理干净,并用镊子小心取出伤口中的玻璃碎片,涂上红药水或碘酒,必要时可包上创可贴或用纱布包扎。

(2)刀具或其他机械损伤:首先要去除伤口中的异物,再用蒸馏水冲洗,切勿用手揉动,然后涂上碘酒或红药水并包扎。如果伤口较深,血流不止,可在伤口上部 10cm 处扎上止血带,用纱布包扎伤口,送往医院治疗。

4. 其他事故的处理

(1)烫伤:使用火焰、蒸气、加热的玻璃仪器和金属时易发生烫伤。轻度烫伤时一般可涂上苦味酸软膏或医用橄榄油;如果皮肤出现水泡,不要挑破以免引起感染;若烫伤皮肤呈棕色或黑色,应用干燥无菌的消毒纱布轻轻包扎好,急送医院治疗。

(2)触电:当发生触电事故时,首先要切断电源,或用绝缘的木棍、竹竿等使触电者与电源脱离。在没有断开电源时,不可直接接触触电者,以确保施救者自身安全。

(3)失火:起火后要保持镇静,首先果断地采取相应措施,如切断电源、停止通风、移走易燃物品等,防止火势扩展或引发其他事故,同时立即组织实施灭火。灭火的方法要适当,一般的

小火可用湿布、石棉布或沙子覆盖燃烧物,火势较大可使用灭火器,但电器设备起火只能使用 CO_2 或 CCl_4 灭火器;酒精或其他易溶液体着火时,可用水灭火;汽油、乙醚、甲苯等比水轻的有机溶剂或与水发生剧烈作用的化学药品着火时,不能用水急救,应用石棉布、沙土灭火;衣服着火时,要立即脱下衣服或就地卧倒打几个滚,或用石棉布覆盖着火处,伤者须送医院治疗。如果火势过大无法扑灭,立即拨打 119 火警,并警示周围人员逃离火场。

三、实验室废弃物的处理

生物化学与分子生物学使用的试剂为易燃易爆、有毒有害的物品。如果这些物品不经过处理就直接排放,将会对环境和人体健康造成极大危害。因此,实验室人员要节约使用试剂,尽量循环使用,养成废弃物集中处理的习惯,并且能够正确地处理每种废弃物。

实验室产生的有害废弃物要集中收集,单独存放。严格禁止将有害废液、废渣直接倒入下水道或弃于垃圾桶内,不能将收集的废弃物放置在楼道和阳台等公共场所。

1. 固体废弃物的收集、存放

固体废弃物要保存在原有的空试剂瓶中,注明废弃试剂,暂时存放在试剂柜中。

(1)碱金属及其衍生物。对于这一类的废弃物,处理的一般原则是在不反应的中性溶剂中缓慢加入醇类,使其反应放出氢气后,再以稀酸中和,并冲入下水道。

(2)酰氯、酸酐、五氧化二磷、氧化亚砷等酸性化合物。用大量水溶解后,加碱中和至中性冲走。

(3)含镍、铜、铁等重金属的固体。1g 以下可用大量水冲走。量多时应该密封于容器内,贴好标签,集中深埋。

(4)氯气、二氧化硫等酸性气体。用 NaOH 溶液吸收,中和至中性后冲走。

2. 液体废弃物的收集、存放

实验室的废弃物大部分呈现液体状态,所以各种废液的收集方法也不相同。

(1)一般废液。实验室阴凉处一般应该准备 3 个带盖的废液桶,分别标明无机废液、有机废液和卤素有机废液。每个废液桶都要建立“废液成分记录单”,倒入的废液要记录主要成分的全称或分子式,不能只写简称或缩写。

(2)有毒、有害、含爆炸性物质或高浓度的废液。不能将有毒、有害、含爆炸性物质或高浓度的废液倒入普通的废液桶内,要单独收集,尽快处理。

3. 气体废弃物的收集、存放

一般产生有害废气的实验都是在通风橱内进行。在搭设实验装置时就要加装废气吸收装置,用特定的溶液或有机溶剂吸收废气,并尽快处理。

此外,在生物化学实验中,常常会用到纤维素、淀粉、蛋白质、动植物油脂等原料。实验完成后会产生大量的天然有机化合物残渣。这些残渣在自然界很容易被微生物分解,因此可以将其用大量水稀释后直接冲走。

第二章 实验基本操作及常用仪器

一、玻璃器皿的清洗与使用

(一)玻璃仪器洗涤

实验中所使用的玻璃器皿清洁与否直接影响实验结果。由于器皿的不清洁或被污染,往往造成较大的实验误差,甚至会出现相反的实验结果。因此,玻璃器皿的洗涤清洁工作是非常重要的。

玻璃器皿在使用前必须洗刷干净。将锥形瓶、试管、培养皿、量筒等浸入含有洗涤剂的水中,用毛刷刷洗,然后用自来水及蒸馏水冲洗。移液管先用含有洗涤剂的水浸泡,再用自来水及蒸馏水冲洗。洗刷干净的玻璃器皿置于烘箱中烘干备用。

生物化学与分子生物学实验中要用洁净的仪器,如果有残余的污物和杂质,会影响对实验现象的观察,影响实验的准确度和精密度,从而导致实验失败。一般来说,玻璃仪器上的污物可分为尘土、可溶性杂质、不溶性杂质和有机物等。清洗时要根据这些污物的性质和污染程度来选择使用何种方法洗涤。

1. 用水刷洗

根据玻璃仪器的形状选择合适的毛刷进行刷洗。常用的毛刷有试管刷、烧杯刷和滴定管刷等。刷洗时,用毛刷蘸水刷洗玻璃仪器,再用自来水反复冲洗。此种方法可洗掉水溶性杂质和尘土等污物,但洗不掉有机物和油污等。毛刷要经常更换,用脏、用旧、秃头的毛刷不仅不能达到洗净的效果,甚至还有可能划伤、戳破玻璃仪器。

2. 用去污粉、洗衣粉或洗涤剂洗

去污粉中含有碳酸钠、白土和细沙,通过毛刷刷洗,可有效地除去一般油污和黏附较牢的不溶物。洗衣粉和洗涤剂中的主要成分是表面活性剂,对于油污和有机物有很强的洗涤能力。

3. 用碱洗

特别难以洗去的油污,用 30%~40% 的热 NaOH 溶液清洗,有很好的效果。有的实验也可用 NaOH-乙醇溶液洗去油污。配制方法:将 120g NaOH 溶解于 120mL 水中,再用 95% 乙醇稀释至 1L。注意,碱对玻璃仪器有腐蚀作用,此种洗液不能长期与玻璃仪器接触。

4. 用酸洗

实验室中常用盐酸来洗涤一些难溶的碳酸盐和氧化物。与其他的溶液混合,对一些特定的物质有特别好的洗去能力。例如,盐酸/过氧化氢特别容易洗去容器上残存的 MnO_2 ,有时也用 5%~10% 草酸溶液加入少量浓盐酸来除去 MnO_2 。而体积比为 1:2 的盐酸/酒精溶液适用于洗涤被有机染料染色的仪器。

5. 用铬酸洗

铬酸是一种具有强酸性和强氧化性的洗涤液,实验室中常简称为“洗液”。它对有机物和油污有非常好的除净能力,特别适用于洁净程度要求较高又不能高温加热的定量器皿(如滴定管、容量瓶、移液管等),或者形状复杂、毛刷不易刷洗的器具。配制铬酸洗液的方法为:称 5g 重铬酸钾,研细后加入 5mL 水中,加热溶解,之后边搅拌边缓慢加入 100mL 浓硫酸,冷却后倒入磨口瓶中备用。

6. 用有机溶剂洗

对于大量脂肪性油污,可用一些有机溶剂浸泡清洗。常用的有机溶剂有汽油、甲苯、二甲苯、丙酮、乙醇、三氯甲烷、乙醚等。由于有机溶剂价格较高,所以一般用它来清洗难以使用毛刷的小件物品或形状复杂的仪器,如移液管、滴定管的尖头和滴管等。

7. 超声波清洗

将待洗仪器浸入适当的洗涤液中,放入超声波清洗器中,接通电源,超声数分钟。

玻璃仪器的漂洗与仪器洁净的标志:用上述方法洗涤后的仪器,要用自来水充分漂洗以清除残留的洗涤液。对于要求较高的实验,还需要用去离子水或蒸馏水润洗 3 次仪器。清洗后的仪器不应附着肉眼可见的不溶物和油污。仪器倒置时,水即顺着器壁流下,器壁上只留下一层薄而均匀的水膜,不挂水珠,这样的仪器才算洗净。

(二)一些常用的洗涤剂

1. 肥皂水或洗衣粉溶液

这是最常用的洗涤剂,主要是利用其乳化作用以除去污垢,一般玻璃仪器均可用它刷洗。

2. 铬酸洗液(重铬酸钾-硫酸洗液)

铬酸洗液广泛用于玻璃仪器的洗涤,其清洁效力来自于它的强氧化性(6 价铬)和强酸性。铬酸洗液具有强腐蚀性,使用时应注意安全。铬酸洗液可反复使用多次,如洗液由红棕色变为绿色或过于稀释则不宜再用。常用的配制方法有以下 4 种。

(1)取 100mL 工业浓硫酸置于烧杯内,小心加热,然后小心慢慢加入 5g 重铬酸钾粉末,边加边搅拌,待全部溶解后冷却,贮于具玻璃塞的细口瓶内。

(2)称取 5g 重铬酸钾粉末置于 250mL 烧杯中,加水 5mL,尽量使它溶解。慢慢加入浓硫酸 100mL,边加边搅拌。冷却后贮存备用。

(3)称取 80g 重铬酸钾,溶于 1000mL 自来水中,慢慢加入工业硫酸 100mL(边加边用玻璃棒搅拌)。

(4)称取 200g 重铬酸钾,溶于 500mL 自来水中,慢慢加入工业硫酸 500mL(边加边搅拌)。

3. 5%~10%乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)溶液

加热煮沸,利用 EDTA 和金属离子的强配位效应,可去除玻璃器皿内部钙镁盐类的白色沉淀和不易溶解的重金属盐类。

4. 45%的尿素洗液

尿素洗液是蛋白质的良好溶剂,适用于洗涤盛蛋白质制剂血样的容器。

5. 乙醇-硝酸混合液

用于清洗一般方法难以洗净的有机物,最适合于洗涤滴定管。在滴定管中加入 3mL 酒精,然后沿管壁慢慢加入 4mL 浓硝酸(相对密度 1.4),盖住滴定管管口,利用所产生的氧化氮洗净滴定管。

6. 有机溶剂

如丙酮、乙醇、乙醚等可用于洗去油脂、脂溶性染料等污痕。二甲苯可洗脱油漆的污垢。

7. 氢氧化钾的乙醇溶液和含有高锰酸钾的氢氧化钠溶液

这是两种强碱性的洗涤液,对玻璃仪器的侵蚀性很强,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的玻璃仪器先用水冲洗多次,除去肥皂、去污粉或各种废液。若仪器上有凡士林或羊毛脂时,应先用纸擦去,然后用乙醇或乙醚擦净后才能使用洗液,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)及少量油污都会使重铬酸钾-硫酸洗液变成绿色,降低洗涤能力。

(三)玻璃仪器的干燥

1. 晾干法

玻璃仪器洗净后,通常倒置在干净的仪器柜、托盘或纱布上,对于口径较小或倒置不稳的仪器,倒插在试管架、格栅板上,置于通风干燥处自然晾干。

2. 吹干法

洗涤后需要立即使用的仪器,将水沥干后直接用吹风机吹干,也可先加入少量的乙醇后再用吹风机吹干,先吹冷风 1~2min,再吹热风直至完全干燥。

3. 高温干燥法

烧杯、试管、培养皿、锥形瓶等普通玻璃仪器可置于烘箱内高温烘干,通常是将其清洗干净后沥干水分,置于烘箱隔板上,瓶口向上,箱内温度设置为 105℃,或倒插在烘干器上,烘至无水,降温后取出。

4. 低温烘干法

对于有刻度的离心管、滴定管、移液枪、量筒、容量瓶等不宜加热烘干,通常采用自然晾干或低温(60℃以下)干燥,置于烘箱内鼓风,烘至无水取出保存备用。分光光度计中的比色皿,四壁是用特殊的胶水黏合而成的,不易受热干燥,所以不能烘干。

(四)玻璃仪器的存放

洁净干燥的玻璃仪器要小心放置,以免再次污染。实验室中将干净的玻璃仪器倒置于专用的柜子中,隔板垫上干净的滤纸或在仪器上覆盖干净的纱布,关闭柜门,以防止落上灰尘。

存放玻璃仪器时要分门别类地放置,以方便取用。一些特殊仪器的保管方法如下: