

实用生物化学实验技术指导

主 编 陈庆森
副主编 庞广昌 吴子健

天津科学技术出版社

书名：实用生物化学实验技术指导

作者：陈庆森

出版社：天津科学技术出版社

出版日期：2006

ISBN：7-5308-4084-3/Q5-33

定价：24.00

目 录

教学目的、基本内容、基本要求	(1)
实验记录与实验报告	(2)
一 绪论	(4)
二 蛋白质化学	(15)
实验一 蛋白质及氨基酸的显色反应	(15)
实验二 氨基酸纸层析法分离	(20)
实验三 双缩脲法测定蛋白质含量	(29)
实验四 凯氏定氮法测定蛋白质含量	(31)
实验五 紫外吸收法测定蛋白质含量	(35)
实验六 Folin - 酚法测定血清蛋白质含量	(38)
实验七 蛋白质浓度测定——考马斯亮蓝法(Bradford 法)	(40)
实验八 人血清的醋酸纤维薄膜电泳	(42)
实验九 酪蛋白的制备	(46)
实验十 分步盐析法制备丙种球蛋白	(47)
实验十一 从毛发中提取胱氨酸	(49)
三 酶学	(51)
实验十二 酵母蔗糖酶提取与比活力测定	(51)
实验十三 蔗糖酶进程曲线的制作及不同酶浓度对反应速度的影响	(53)
实验十四 温度对唾液淀粉酶活性的影响	(56)
实验十五 pH 对唾液淀粉酶反应速度的影响	(57)
实验十六 固定化活性干酵母细胞的制备	(59)
实验十七 固定化活性干酵母细胞活力测定和转化糖的生产	(61)
实验十八 改良 Mohun 氏法测定血清谷 - 丙转氨酶活性	(63)
实验十九 脂肪酶的活力测定	(65)
实验二十 枯草杆菌蛋白酶活力测定	(67)
实验二十一 垂直平板电泳法测定过氧化物同工酶	(70)
四 核酸化学	(74)
实验二十二 核酸核糖的测定	(74)

实验二十三	小牛胸腺 DNA 的制备	(76)
实验二十四	小牛胸腺 DNA 熔解温度的测量	(79)
实验二十五	酵母核糖核酸的提取与组分鉴定	(81)
实验二十六	定磷法测定核酸含量	(83)
实验二十七	紫外吸收法测定核酸的含量	(86)
实验二十八	动(植)物 DNA 的制备与测定	(88)
五 糖类化学及代谢		(90)
实验二十九	总糖与还原糖含量的测定——3,5 - 二硝基水杨酸比色定糖法	(90)
实验三十	肝糖原的提取和定量	(93)
实验三十一	邻甲苯胺法测定血糖	(95)
实验三十二	糖的硅胶 G 薄层层析	(97)
实验三十三	果胶的提取和测定	(101)
实验三十四	肌肉中肌糖原含量测定	(103)
实验三十五	胰岛素对血糖含量的调节	(106)
六 脂类化学及代谢		(108)
实验三十六	脂肪的组成	(108)
实验三十七	卵磷脂的提取和鉴定	(110)
实验三十八	粗脂肪的定量测定——索氏(Soxhlet) 提取法	(111)
实验三十九	碘价的测定	(114)
实验四十	油脂酸价的测定	(116)
实验四十一	过氧化价测定	(117)
实验四十二	脂肪酸 β - 氧化	(119)
七 维生素化学		(121)
实验四十三	抗坏血酸(V_C) 的定量测定(2,6 - 二氯酚靛酚滴定法)	(121)
实验四十四	V_{B2} 的定量测定(荧光法)	(123)
实验四十五	维生素 B_1 、 B_2 的定性鉴别	(125)
八 免疫化学实验		(127)
实验四十六	免疫血清的制备	(127)
实验四十七	沉淀反应定量法	(130)
实验四十八	双向免疫扩散法	(134)
实验四十九	对流免疫电泳	(137)
实验五十	微量免疫电泳	(139)
实验五十一	单向定量免疫电泳(火箭电泳)	(141)
实验五十二	双向定量免疫电泳(交叉免疫电泳)	(143)

九 生物化学技术大试验 (144)

实验五十三 SDS-PAGE 测定蛋白质摩尔质量 (144)

实验五十四 蛋白质的免疫转印技术 (152)

实验五十五 分子筛凝胶层析法测定蛋白质的摩尔质量 (155)

实验五十六 ELISA 测定特异性抗原 (164)

实验五十七 离子交换法分离氨基酸 (183)

实验五十八 蛋白质电泳的超敏感银染方法 (189)

实验五十九 人血清 IgG(丙种球蛋白) 和白蛋白的制备和纯化 (195)

实验六十 小量制备质粒 DNA (198)

实验六十一 DNA 的限制性内切酶图谱 (201)

实验六十二 聚合酶链式反应 (206)

实验六十三 平板凝胶等电聚焦分离蛋白质 (209)

实验六十四 细胞色素 C 的制备与测定 (215)

附录 (219)

参考文献 (247)

前 言

生物化学是阐明生命活动机理的科学,是生命科学的领先学科和中心支柱。近几十年来,生物化学及分子生物学领域新的理论和技术层出不穷,极大地推动了生命科学的发展,它在国民经济生产中所起的作用越来越重要。作为与生命科学相关专业的重点专业基础课,生物化学及生物化学实验的教学效果直接影响到学生对后续课程,如微生物学、细胞生物学等课程的学习。其中在生物化学教学中,实验教学又占有举足轻重的地位,是学生理解和掌握生物化学基本原理的必需环节。而且,生物化学实验所包含的基础技能涉及生命科学、生物工程、医药科学、食品工程等专业的各个方面,对训练学生基础实验技能、提高动手能力和创新能力有极其重要的作用。近 20 年来,随着中国在生命科学与技术领域研究日新月异的进展,许多高等院校都开设了生物化学课程,以此来适应培养更多的了解生命科学基础知识专业人才的需要,同时,也是适应不同学习对象、不同专业要求的教育改革的需要。因此,我们在总结多年生物化学实验课程所积累的经验以及历年实验讲义的基础上,编写了该实验教材。本书的出版得到了天津市普通高校“十五”重点建设学科建设经费的资助,充分表明了天津市教委对专业基础课的支持力度。

该书重点收入了适合生物工程、食品工程、制药工程以及其他相关专业的生物化学实验内容,还收入了免疫化学中重要的实验内容。全书中我们将生物化学实验分解为课程实验和综合实验两大部分:课程实验侧重于学生实验方法和技能的训练,使学生掌握一定的生化实验知识和操作技能;综合实验侧重于训练学生对学习过的生化知识综合运用能力,注重学生创新能力的培养。其中,课程实验又包含基础型实验和提高型实验两部分:基础型实验的重点是让学生学会基本操作,训练学生生物化学基本实验技能和动手能力;提高型实验的重点是强化学生实验技能,提高实验动手能力。

本书力求全面系统、深入浅出、注重实用,旨在帮助学生学习生物化学基本实验方法的原理,掌握生物化学的基本技能,学会相关仪器设备的操作,在培养学生动手能力的同时,提高学生的科学的思维能力、创新意识、合作精神、解决问题的能力,从而培养学生从事科研和技术工作的基本素质。通过实验教学,拓宽学生的知识领域,提高实践能力。

本书可作为高等院校生物相关专业的生物化学实验课教材,主要适用于生物工程、食品工程、制药工程等相关专业的学生,同时也可作为从事生物工程研究与教学的科技人员 and 高校教师的实验参考用书。

全书共分为 9 章,其中教学目的、基本内容、基本要求,实验记录与实验报告和第一章由陈庆森教授(天津商学院生物工程系)编写,第二、三、四章由吴子健(天津商学院生物工程系)和陈庆森教授编写,第五章由张晓玲(天津商学院生物工程系)和吴子健编写,第六、七、八章由陈庆森教授和庞广昌教授(天津商学院生物工程系)编写,第九章由庞广昌教授和陈庆森教授编写,参与编写个别实验内容的还有韩军丽、赵培、任云霞等,书中的附录由吴子健和张晓玲共同整理,最后全书的统稿工作由陈庆森、吴子健负责完成。

生物化学是目前一门正在蓬勃发展的学科, 由于编者知识和水平的有限, 加之时间较短, 书中错误和不足之处在所难免, 敬请读者给予批评指正。

陈庆森 庞广昌 吴子健
2006 年 2 月于天津商学院

教学目的、基本内容、基本要求

教学目的

通过本课程的学习,使学生进一步了解生物化学实验的基本原理,掌握生物化学实验的基本技能和方法,学会相关仪器设备的操作,培养学生动手能力和科学的思维能力,提高学生的创新意识、合作精神和解决实际问题的能力。

基本内容

本实验课是以蛋白质、核酸、酶等生物大分子物质为材料,主要包括其分离、纯化、性质测定等实验技术。本课程介绍了多种常用的生物化学实验技术。其中既包括现代生物化学实验的重要技术和方法,如各种类型的电泳、层析、分光光度法等,又包括生物化学技术的综合性。设计性实验,也包括经实践证明效果好又适用的经典方法。另外,实验内容还包括了解所使用仪器的特点和使用方法。

基本要求

通过本实验课程的学习,要求学生初步掌握生物化学实验的基本技能和方法,学会正确地观察实验现象、记录实验结果、分析实验数据、撰写实验报告,在提高学生动手能力的同时,培养学生初步解决问题的能力。

实验记录与实验报告

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,会使整个实验失败。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,包括详细的实验操作步骤(可以用流程图表示)和数据记录表格等。

(2) 记录本上要编好页数,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。记录本的左页作计算和草稿用,右页作预习报告和实验记录用。同组的两同学合做同一实验时,两人必须有相同、完整的记录。

(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。记录应条理清楚,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两次以上,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、生产厂等,生物材料的来源、形态特征、健康状况、选用的组织及其质量等,试剂的规格、化学式、摩尔质量、浓度等,都应记录清楚。两人一组的实验,必须每人都做记录。

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和问题,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。实验报告的内容包括:(1) 实验目的;(2) 实验原理;(3) 仪器和试剂;(4) 实验步骤;(5) 数据处理;(6) 结果讨论。

每个实验报告都要按照上述要求写。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。写实验报告要用实验报告专用纸,以便教师批阅,不要用练习本和其他片页纸。

为了使实验结果能够重复,必须详细记录实验现象的所有细节。例如,若实验中生成沉淀,那么沉淀的真实颜色是什么,是白色、淡黄色或是其他?沉淀的量是多还是少,是胶状还是颗粒状?什么时候形成沉淀,立即生成还是缓慢生成,热时生成还是冷却时生成?在科学研究中,仔细地观察,特别是注意那些未曾想到的实验现象是十分重要的,这些观察常常引起意外

的发现。报告并注意分析实验中的真实发现, 对学生将是非常重要的科学研究训练。

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并作图表示, 以便比较, 一目了然。实验作图尤其要严格要求, 必须使用坐标纸, 每个图都要有明显的标题, 坐标轴的名称要清楚完整, 要注明合适的单位, 坐标轴的分度数字要与有效数字相符, 并尽可能简明, 若数字太大, 可以化简, 并在坐标轴的单位上乘以 10 的方次。实验点要使用专门设计的符号, 如: ○、●、□、■、△、▲ 等, 符号的大小要与实验数据的误差相符。不要用“×、+”和“·”(小圆点)。有时也可用两端有小横线的垂直线段来表示实验点, 其线段的长度与实验误差相符。通常横轴是自变量, 往往知道得很准确, 纵轴是应变变量, 是测量的数据。曲线要用曲线板或曲线尺画成光滑连续的曲线, 各实验点均匀分布在曲线上和曲线两边, 且曲线不可超越最后一个实验点。两条以上的曲线和符号应有说明。

实验结果的讨论要充分, 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和生物化学原理, 进行深入的探讨, 勇于提出自己独到的分析和见解, 并对实验提出改进意见。

一 绪 论

1 实验室规则

(1) 实验前必须认真预习实验内容,明确本次实验的目的和要求,掌握实验原理,写好实验预习报告,否则,不能进行实验。

(2) 实验时自觉遵守实验室纪律,保持室内安静,不大声说笑和喧哗。

(3) 实验过程中要听从教师指导,认真按照实验步骤和操作规程进行实验。若想改进和设计新的实验方法,必须取得教师的同意。实验时认真进行实验记录,实验完毕及时整理数据,按时上交实验报告。

(4) 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。药品称完后立即盖好瓶盖放回药品架,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。

(5) 配制试剂和用无离子水要注意节省,按实验实际使用量配制,多余的重要试剂和各种有机试剂要按教师要求进行回收。昂贵的 Sephadex、Sephadex 凝胶和 DEAE 纤维素等,用后必须及时回收,不得丢弃。

(6) 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、姓名和日期等。放在冰箱中的易挥发溶液和酸性溶液,必须严密封口。

(7) 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冲稀后排放。电泳后的凝胶和各种废物不得倒入水池,只能倒入废物桶。

(8) 使用贵重精密仪器应严格遵守操作规程。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教师,未经许可不得自己随意检修。

(9) 实验室内严禁吸烟、饮水和进食,严禁用嘴吸移液管和虹吸管。易燃液体不得接近明火和电炉。凡产生烟雾、有害气体和不良气味的实验,均应在通风条件下进行。

(10) 实验完毕必须及时洗净并放好各种玻璃仪器,插好自动部分收集器上的试管,保持实验台面和实验柜内的整洁。

(11) 每组的仪器和玻璃器皿要用油漆编号,严禁拿取他组仪器,不得将器皿遗弃在分光光度计内和其他实验台面上。打破了玻璃仪器要及时向教师报告,并自觉登记,学期结束时按规定进行处理。

(12) 每位学生要熟悉实验室内电闸的位置,烘箱和电炉用毕必须立即断电,不得过夜使用,要严格遵守实验室安全用电规则和其他安全规则。

(13) 每日实验完毕,值日生要认真做好实验室的卫生值日工作。最后离开实验室的实验人员,必须检查并关好水、电、门、窗。

2 实验室安全及防护知识

生化实验室可以说是“五毒”俱全,即着火、爆炸、中毒、触电和割伤的危险时刻存在。因此,每一位在生化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,一旦发生意外能正确地进行处置,以防事故进一步扩大。

2.1 着火

生化实验室经常使用大量的有机溶剂,如甲醇、乙醇、丙酮、氯仿等,而实验室又经常使用电炉、酒精灯等火源,因此极易发生着火事故。常用有机溶剂的易燃性见表 1。

表 1 常用有机液体的易燃性

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: 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: 液体蒸气在空气中自燃时的温度。

由表 1 可以看出, 乙醚、二硫化碳、丙酮和苯的闪点都很低, 因此不得存于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) 废有机溶剂不得倒入废物桶, 只能倒入回收瓶, 待以后集中处理。量少时用水稀释后排入下水道。
- (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开口的有机溶剂或倾倒有机溶剂。

2.2 灭火方法

实验室中一旦发生火灾, 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火警(火警电话 119) 。

- (1) 容器中的易燃物着火时, 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, 只能用灭火毯和砂土盖灭。
- (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(内装二氟一氯一溴甲烷) 灭火。
- (4) 个人衣服着火时, 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。

2.3 爆炸

生物化学实验室防止爆炸事故是极为重要的, 因为一旦爆炸其毁坏力极大, 后果将十分严重。生物化学实验室常用的易燃物蒸气在空气中的爆炸极限(体积分数) 见表 2。

表 2 易燃物蒸气在空气中的爆炸极限

名称	爆炸极限(体积分数)	名称	爆炸极限(体积分数)
乙醚	1.9 ~36.5	丙酮	2.6 ~13
甲醇	6.7 ~36.5	乙醇	3.3 ~19
氢气	4.1 ~74.2	乙炔	3.0 ~82

加热时会发生爆炸的混合物有: 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有: ①随意混合化学药品, 并使其受热、受摩擦和撞击; 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。

2.4 中毒

生化实验室常见的化学致癌物有石棉、砷化物、铬酸盐、溴乙锭等。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: ①保护好眼睛最重要, 使用有毒或有刺激性气体时, 必须佩戴防护眼镜, 并应在通风橱内进行; ②取用毒品时必须佩戴橡皮手套; ③严禁用嘴吸移液管, 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: ①误食了酸或碱: 不要催吐, 可先立即大量饮水, 误食碱者再喝些牛奶, 误食酸者, 饮水后再服 $Mg(OH)_2$ 乳剂, 最后饮些牛奶; ②吸入了毒气: 立即转移室外, 解开衣领, 休克者应施以人工呼吸, 但不要对口法; ③砷和汞中毒: 立即送医院急救。

2.5 外伤

(1) 化学灼伤

①眼睛灼伤或掉进异物: 眼内若溅入任何化学药品, 应立即用大量水冲洗 15min, 不可用稀酸或稀碱冲洗。若有玻璃碎片进入眼内则十分危险, 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, 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。

②皮肤灼伤

- a. 酸灼伤: 先用大量水洗, 再用稀 $NaHCO_3$ 或稀氨水浸洗, 最后再用水洗。
- b. 碱灼伤: 先用大量水冲洗, 再用 1% 硼酸或 2% 醋酸浸洗, 最后再用水洗。
- c. 溴灼伤: 一旦灼伤(这很危险, 伤口不易愈合), 立即用 20% 硫代硫酸钠冲洗, 再用大量水冲洗, 包上消毒纱布后就医。

(2) 烫伤: 使用火焰、蒸汽、红热的玻璃和金属时易发生烫伤。烫伤后应立即用大量水冲洗和浸泡, 若起水泡不可挑破, 包上纱布后就医; 轻度烫伤可涂抹鱼肝油和烫伤膏等。

(3) 割伤: 这是生物化学实验室常见的伤害, 要特别注意预防, 尤其是在向橡皮塞中插入温度计、玻璃管时一定要用水或甘油润滑, 用布包住玻璃管轻轻旋入, 切不可用力过猛。若发生严重割伤时要立即包扎止血, 就医时务必检查伤部神经是否被切断。

实验室应准备一个完备的小药箱, 专供急救时使用。药箱内备有医用酒精、红药水、紫药

水、止血粉、创口贴、烫伤油膏(或万花油)、鱼肝油、1%硼酸溶液或2%醋酸溶液、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。

2.6 触电

生物化学实验室要使用大量的仪器、烘箱和电炉等。当50 Hz的电流通过人体,电流为25 mA时呼吸会发生困难,电流超过100 mA以上时则会致死。因此,每位实验人员都必须能熟练地安全用电,避免发生一切用电事故。

(1) 防止触电: ①不能用湿手接触电器; ②电源裸露部分都应绝缘; 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。

(2) 防止电器着火: ①保险丝、电源线的截面积及插头和插座都要与使用的额定电流相匹配; ②三条相线要平均用电; ③生锈的电器、接触不良的导线接头要及时处理; ④电炉、烘箱等电热设备不可过夜使用; ⑤仪器长时间不用要拔下插头,并及时拉闸; ⑥电器、电线着火不可用泡沫灭火器灭火。

3 玻璃仪器的洗涤

玻璃仪器的洗涤与清洁直接影响实验结果的准确性,因此玻璃仪器的洗涤工作是很重要的。

3.1 新购置的玻璃仪器的清洗

新购置的玻璃仪器表面附着有游离碱质,应先用肥皂水洗刷后再用流水冲洗,浸泡于1%~2% HCl中过夜,取出后再用流水冲洗,最后用蒸馏水冲洗2~3次,在干燥箱中烤干或自然晾干,备用。

3.2 使用过的玻璃仪器的洗涤

(1) 一般玻璃仪器: 烧杯、三角烧杯、试剂瓶、试管等,可先用洗衣粉或肥皂水刷洗,将器皿内外壁细心地刷洗,使其尽量多地产生泡沫,然后再用自来水洗干净,洗至容器内壁光洁不挂水珠为止,最后用蒸馏水冲洗2~3次,晾干备用。

(2) 容量仪器: 吸量管、容量瓶、滴定管等在使用后立即用清水冲洗,勿使黏污物质干涸,并及时用流水或洗衣粉水尽量洗涤干净,稍干后用铬酸洗液浸泡数小时,然后用自来水反复冲洗,将洗液完全洗去,最后用蒸馏水冲洗2~3次,晾干备用。

(3) 比色杯: 用毕立即用自来水反复冲洗干净,如不干净时可用HCl或适当溶剂冲洗(避免用较强的碱液或强氧化剂清洗),再用自来水冲洗干净。切忌用试管刷或粗糙的布或纸擦洗,以保护比色杯透光性,冲洗后倒置晾干备用。

[附] 铬酸洗液的配制: 称取重铬酸1 g置于50 mL烧杯中,加水1 mL搅拌,加热,使其尽量溶解,加热时烧杯下垫一石棉网以防过热,然后慢慢加入工业用浓硫酸20 mL,随加随搅拌,尽量避免红色铬酐沉淀析出。此时洗液由红黄色转为黑褐色,冷却后贮存于指定容器内,盖紧瓶盖以防吸水,贴上标签(洗液变绿后不宜使用)。

4 量器类的使用法

量器是指对液体体积进行计量的玻璃器皿,如滴定管、移液管、容量瓶、量筒、刻度吸量管、刻度离心管及自动加液管等。

4.1 滴定管

滴定管分常量与微量滴定管。常量滴定管又分为酸式与碱式两种,各有白色、棕色之分。酸式滴定管用于盛装酸性、氧化性以及盐类的稀溶液。碱式滴定管用来盛装碱性溶液。棕色滴定管用于盛装见光易分解的溶液。常量滴定管的容积有 20 mL、25 mL、50 mL、100 mL 四种规格。微量滴定管分为一般微量滴定管和自动微量滴定管,容积为 5 mL、10 mL 等规格,刻度精度因规格不同而异。

滴定管主要用于容量分析。它能准确读取试液用量,操作比较方便。一般是左手握塞,右手持瓶;左手滴液体,右手摇动。在滴定台上衬以白纸或者白瓷板,以便观察锥形瓶内的颜色。滴定速度以 10 mL/min,即每秒 3~4 滴为宜。接近终点时,滴速要慢,甚至每秒半滴或 1/4 滴地进行滴定,以免过量。达到终点后稍停 1~2 min,等待内壁挂有的溶液完全流下时再读取刻度数。正确读取容积刻度是减少容量分析实验误差的重要措施。滴定管的读数方法,可依个人的习惯而不同。但是在同一实验中读取容积刻度时,必须以液面的同一特征标志为准,以保证其系统误差。

一般读数方法:普通滴定管读取数据,双眼与液面同水平读数;有色液读取数据是溶液弯月面两侧最高点连线与刻度线重合点;无色液读取数据是溶液弯月面最低点水平线与刻度线重合点。

4.2 吸量管

吸量管可准确地量取溶液的体积。

(1) 分类 常用的分三类:

①奥氏吸量管:供准确量取 0.5 mL、1 mL、2 mL 液体时用。每根吸量管上只有一个刻度,放液时必须吹出量后残留在吸量管尖端的液体,主要用于量取黏滞系数大的液体。

②移液管:供准确量取 5 mL、10 mL、25 mL 等较多体积液体时用。每根吸量管上只有一个刻度,放出液体流毕后,将吸量管尖在容器内壁上继续停留 15 s,注意不要吹出尖端最后的部分。

③刻度吸量管:供量取 10 mL 以下任意体积的液体时用。分全流出式与不完全流出式。

全流出式:一般包括尖端部分,欲将所量取液体全部放出时,须将残留管尖的液体吹出。此类吸量管的上端常标有“吹”字。

不完全流出式:若吸量管上端未标有“吹”字,则残留管尖的液体不必吹出。其刻度不包括吸量管的最后一部分。

(2) 吸量管的使用

①选择:使用前先根据需求选择适当的吸量管,刻度吸量管的总容量最好等于或稍大于最大取液量。临用前要看清容量和刻度。

②执管:用拇指和中指(辅以无名指),持吸量管上部,用食指堵住上口并控制液体流速,刻度数字要对向自己。

③取液: 用另一只手捏压橡皮球, 将吸量管插入液体内(不得悬空, 以免液体吸入球内), 用橡皮球将液体吸至最高刻度上端 1~2 cm 处, 然后迅速用食指按紧管上口, 使液体不致从管下口流出。

④调准刻度: 将吸量管提出液面, 吸黏性较大的液体(如全血、血清、血浆)时, 先用滤纸擦干管尖外壁, 然后用食指控制液体缓慢下降至所需刻度(此时液体凹面、视线和刻度应在同一水平面上), 并立即按紧吸量管上口。

⑤放液: 放松食指, 使液体自然流入受器内。放液时, 管尖最好接触受器内壁, 但不要插入受器内原有的液体中, 以免污染吸量管和试剂。

⑥洗涤: 吸血液、血清等黏稠液体及标本(尿液)的吸量管, 使用后要及时用自来水冲洗干净。吸一般试剂的吸量管可不必马上冲洗, 待实验完毕后再冲洗干净。最后用蒸馏水冲洗, 晾干备用。

4.3 容量瓶

它用于配制一定浓度的标准溶液或试样溶液。颈上刻有标线, 表示在 20 °C 时溶液装至标线的容积。有 10 mL、25 mL、50 mL、100 mL、250 mL、500 mL、1 000 mL、2 000 mL 几种规格, 并有白色、棕色两种颜色。

使用方法: 使用前应先检查容量瓶的瓶塞是否漏水, 瓶塞应系在瓶颈上, 不得任意更换。瓶内壁不得挂有水珠, 所称量的任何固体物质都必须先在小烧杯中溶解或加热溶解, 冷却至室温后, 才能转移到容量瓶中。

4.4 量筒

量筒用来量取要求不太严格的溶液体积。在配制无须十分精确的溶液浓度时, 使用量筒比较方便。它有 5~2 000 mL 十余种规格。用量筒量取液体体积是一种粗略的计量法, 所以, 在操作中必须选用合适规格, 不要用大量筒计量小体积, 也不要用小量筒多次量取大体积的溶液。读取刻度的方法与容量瓶和滴定管相同。

5 一般操作法

5.1 溶液的混匀

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。为使反应体系内各物质迅速地互相接触, 必须借助于外加的机械作用。混匀时须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。溶液稀释时也须混匀。混匀的方法通常有以下几种。

(1) 搅动混匀法: 适用于烧杯内溶液的混匀, 如固体试剂的溶解和混匀。搅拌使用的玻璃棒必须两头都圆滑, 棒的粗细、长短必须与容器的大小和所配制溶液的多少呈适当的比例关系。搅拌时必须使玻璃棒沿着器壁运动, 以免搅入空气或使溶液溅出。倾入液体时必须沿着器壁慢慢倾入, 以免产生大量气体, 倾倒表面张力低的液体更要缓慢仔细。研磨配制胶体溶液时, 玻璃棒沿着研钵的一个方向进行, 不要来回研磨。

(2) 旋转混匀法: 适用于锥形瓶、大试管内溶液的混匀。手持容器使溶液做离心旋转, 以手腕、肘或肩做轴旋转。

(3) 指弹混匀法: 适用于离心管或小试管内溶液的混匀。左手持试管上端, 用右手指轻轻弹动试管下部, 或用一只手的大拇指和食指持管的上端, 用其余三个手指弹动离心管, 使管内

的液体做旋涡运动。

(4) 振荡混匀法: 使用振荡器使多个试管同时混匀, 或试管置于试管架上, 双手持管架轻轻振荡, 以达到混匀的目的。

(5) 倒转混匀法: 适用于有塞量筒和容量瓶及试管内容物的混匀。

(6) 吸量管混匀法: 用吸量管将溶液反复吸放数次, 使溶液混匀。

(7) 电动混匀法: 右手持试管上部, 轻轻电动振荡即可混匀。

(8) 电磁搅拌混匀法: 在电磁搅拌机上放上烧杯, 在烧杯内放入封闭于玻璃或塑料管中的小铁棒, 利用磁力使小铁棒旋转以达到混匀杯中液体的目的。适用于酸碱自动滴定、pH 梯度滴定等。

5.2 过滤法

过滤法是分离沉淀和滤液的一种方法, 可用于收集滤液, 收集或洗涤沉淀。可用漏斗及滤纸或吸滤法。操作时应注意以下几点。

(1) 制备血滤液等实验时, 要用干滤纸而不能用水把滤纸先弄湿, 因为湿滤纸会影响血液稀释的体积。

(2) 折叠滤纸的角度应与漏斗相合, 使滤纸上缘能与漏斗壁完全吻合, 不留缝隙。一般采用平折法(即对折后再对折) 。

(3) 向漏斗中加溶液时, 使其沿玻璃棒慢慢流下, 玻璃棒不能在漏斗中搅动。倒入速度不要太快, 以防损失, 不得使液面超过滤纸上缘。

(4) 较粗的过滤可用脱脂棉或纱布代替滤纸, 有时也可用离心沉淀法代替过滤法。

5.3 加热法

可直接用火(电炉) 或水浴加热。使用水浴时防止浴中容器倾倒。使用酒精灯时注意: ①禁止头碰头点燃; ②用过后先用盖子盖一下, 灭火后再拿下重盖, 防止内部形成真空而使盖子打不开; ③加热时管口不要对着人; ④加热时用管夹夹住试管的上 1/3 部分, 对全管均匀加热后, 再固定于管底加热。

5.4 烤干法

烤干试管时, 应将管口向下倾斜约呈 45°角, 由上往下, 先烤管底, 最后将管口的水分烤干。烤干时须经常移动火焰以免试管炸裂。试管等普通玻璃器材, 也可在烘箱内烘干。

6 电动离心机的使用方法

欲使沉淀和母液分开, 过滤和离心都可达到目的, 但当沉淀黏稠, 或颗粒过小能通过滤纸, 或总容量太少又需要定量测定时, 使用离心沉淀法比过滤法要好。

使用方法:

(1) 应先将离心机放在稳定的台面上, 放平、放稳, 检查离心机转动状态是否平稳, 以确定离心机的性能。

(2) 检查套管与离心管大小是否相配, 离心管应能在套管内自由转动不至太紧; 套管软垫(用棉花或橡皮) 是否铺好; 套管底部是否有碎玻璃片或漏孔(玻璃片必须取出, 漏孔经修补好后才能使用) 。

(3) 检查合格后, 将一对离心管分别放入一对套管中, 然后连同套管一起分别置于天平两