



普通高等教育“十三五”规划教材

生物化学 实验指导

EXPERIMENTAL INSTRUCTION
OF BIOCHEMISTRY



张兴丽 王永敏 主编



中国轻工业出版社

全国百佳图书出版单位

普通高等教育“十三五”规划教材

生物化学实验指导

主 编 张兴丽 王永敏

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物化学实验指导/张兴丽, 王永敏主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2017. 8

普通高等教育“十三五”规划教材

ISBN 978 - 7 - 5184 - 1250 - 1

I. ①生… II. ①张… ②王… III. ①生物化学—化学实验—高等学校—教材 IV. ①Q5 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 075787 号

责任编辑: 马 妍 责任终审: 张乃柬 封面设计: 锋尚设计
版式设计: 锋尚设计 责任校对: 晋 洁 责任监印: 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 北京君升印刷有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2017 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 11.5

字 数: 260 千字

书 号: ISBN 978 - 7 - 5184 - 1250 - 1 定价: 30.00 元

邮购电话: 010 - 65241695 传真: 65128352

发行电话: 010 - 85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

150223J1X101ZBW

本书编委会

主 编 张兴丽 (齐鲁工业大学)

王永敏 (齐鲁工业大学)

参编人员 檀琮萍 (齐鲁工业大学)

姜 华 (齐鲁工业大学)

孙 锐 (齐鲁工业大学)

丁 烽 (齐鲁工业大学)

李方方 (齐鲁工业大学)

曹际云 (德州学院)

生物化学是二十一世纪最活跃和最具生命力的学科之一，它在生命科学中是一门重要的前沿基础学科，同时也是一门实验性、技术性很强的学科，生物化学实验是生物化学教学的重要组成部分，动手能力、综合分析能力和创新能力的培养主要依靠实验教学来完成。

近年来，随着创新人才教育的开展，能力培养已引起国家和学校的普遍重视。教育部下发的《关于加强高等学校本科教学工作提高教学质量的若干意见》中特别强调“进一步加强实践教学，注重学生创新精神和实践能力的培养”，其中指出：“实践教学对于提高学生的综合素质、培养学生的创新精神与实践能力具有特殊作用。高等学校要重视本科教学的实验环节，保证实验课的开出率达到本科教学合格评估标准，并开出一批综合性、设计性实验。”本教材的编写就是顺应这样的要求，对生物化学实验内容进行精选，使实验内容难易适度，可操作性强，与生物化学理论教学内容相匹配。

生物化学实验内容庞杂，涉及实验方法繁多。本实验教材在充分考虑实际教学课时数有限的前提下，合理选择实验内容，既保留传统经典实验以强化和训练学生的基本操作技能；又开设综合性实验来提高学生的综合性、创新性思维和能力。该课程作为高校生物科学、食品科学、酿酒、制药及药剂及其他相关专业学生必修的一门重要专业基础课，在训练学生的基本技能、培养学生动手能力和创新能力等方面发挥着重要的作用。

本书共分五部分：生物化学基本知识、实验技术基本原理、基础实验、综合性实验和附录。第一章主要介绍实验室安全及实验数据的相关问题；第二章介绍离心、光谱、层析等实验技术的基本原理；第三章选编了30个基础实验，基础性实验是最基本的、最代表学科特点的实验方法和技术，包括了糖、脂、蛋白、核酸、维生素等含量的测定和性质实验，强调对基本实验技能的培养，是在几学时内可以完成的精选实验，通过学习使学生掌握相应学科的基本知识与基本技能，为综合性实验奠定基础；第四章选编了10个综合性实验，综合性实验由多种实验手段与技术和多层次的实验内容所组成，主要介绍生物大分子的纯化和鉴定及部分分子生物学实验技术，其过程相对复杂、耗时较长，要求学生独立完成预习报告、试剂配制、仪器安装与调试、实验记录、数据处理和总结报告。综合性实验主要训练学生对所学知识和实验技术的综合运用能力、对实验的独立工作能力、对实验结果的综合分析能力，使学生得到科学研究的初步训练，为以后学生自己设计实验方案，开展科学研究，撰写课程研究论文打下基础；最后附录部分包括常用仪器的使用、常用试剂的配制和常用酸碱的比重和浓度。

长期以来，齐鲁工业大学生物化学教研室老师在教学实践中积极探索，不断改革，在总结多年开设生物化学实验课程实践基础上，将科研团队的成果融入到实验教学当中，参阅大

量资料编写了这本《生物化学实验指导》教材。本教材是在齐鲁工业大学“生物化学（含实验）”精品课程建设的基础上，集群体智慧和一线教师的工作经验编写而成。希望这本教材的出版，能为深化生物化学实验教学改革，为生命科学创新人才培养作出贡献。

本教材由齐鲁工业大学张兴丽、王永敏、檀琮萍、姜华、丁烽、孙锐、李方方及德州学院曹际云等老师参与编写。

尽管各位主编和编委已经尽了最大努力，但是，由于编者水平所限，肯定会有不少的错误，恳请各位同仁不吝赐教。

教材的出版，得到齐鲁工业大学和中国轻工业出版社的领导与老师的大力支持，在此一并表示感谢。

编者
2017.4

第一章	生物化学实验基本知识	1
	一、生物化学实验室规则	1
	二、生物化学实验室安全与防护常识	2
	三、化学药品的安全性及溶液配制	3
	四、实验误差与数据处理	6
	五、实验记录及实验报告	9
第二章	现代生物化学实验技术基本原理	10
	一、离心技术	10
	二、光谱技术	16
	三、层析技术	21
	四、电泳技术	30
	五、免疫化学技术	43
	六、基因工程技术	48
	七、生物大分子的制备	53
第三章	生物化学基础实验	64
	实验 1 3,5 - 二硝基水杨酸比色法测定还原糖	64
	实验 2 蒽酮 - 硫酸比色法测定糖含量	67
	实验 3 硫酸 - 苯酚比色法测定可溶性糖	68
	实验 4 蛋白质的性质实验	70
	实验 5 纸上层析法分离鉴定氨基酸	75
	实验 6 微量凯氏定氮法测定蛋白质含量	77
	实验 7 双缩脲法测蛋白含量	80
	实验 8 福林 - 酚法测定蛋白质含量	81
	实验 9 紫外吸收法测定蛋白质含量	84
	实验 10 考马斯亮蓝染色法测定蛋白质含量	85
	实验 11 BCA 法测定蛋白质浓度	87
	实验 12 醋酸纤维薄膜电泳分离血清蛋白	89

实验 13	凝胶柱层析法分离血红蛋白	92
实验 14	油脂品质指标的测定	94
实验 15	动物肝脏中 DNA 的提取	97
实验 16	二苯胺显色法测定 DNA 含量	98
实验 17	紫外吸收法测定核酸含量	100
实验 18	酵母 RNA 的提取、组分鉴定及含量测定	101
实验 19	维生素 C 的定量测定及其稳定性实验	104
实验 20	酶的特异性	107
实验 21	温度、pH、激活剂和抑制剂对酶活力的影响	109
实验 22	琥珀酸脱氢酶的竞争性抵制	112
实验 23	糖化酶的分离纯化	114
实验 24	糖化酶活力测定	116
实验 25	枯草芽孢杆菌蛋白酶活力测定	118
实验 26	碱性磷酸酶 (AKP) 的分离纯化	121
实验 27	糖酵解中间产物的鉴定	125
实验 28	脂肪酸的 β -氧化	126
实验 29	氨基移换作用的定性鉴定	129
实验 30	饱食、饥饿、肾上腺素、胰岛素对肝糖原含量的影响	131
第四章 生物化学综合实验 134		
实验 1	天然产物中多糖的提取、纯化与鉴定	134
实验 2	鸡卵类黏蛋白的分离与纯化	136
实验 3	凝胶过滤层析法测定蛋白质相对分子质量	140
实验 4	SDS-PAGE 法测定蛋白质相对分子质量	142
实验 5	植物中超氧化物歧化酶 (SOD) 的分离纯化	146
实验 6	亲和层析法纯化麦胚凝集素	152
实验 7	重组蛋白质的表达、分离、纯化和鉴定	156
实验 8	聚合酶链式反应	159
实验 9	血清 γ -球蛋白的分离、纯化与鉴定	161
实验 10	溶菌酶的结晶提取及酶活力测定	165
附录 168		
	一、常用仪器的使用方法	168
	二、常用缓冲液的配制	171
	三、实验室常用酸碱的相对密度和浓度	175

生物化学实验基本知识

一、生物化学实验室规则

(1) 每位同学都应该自觉遵守课堂纪律, 维护教学秩序, 不迟到、不早退; 实验室内要保持安静, 严禁嬉笑打闹。

(2) 实验室里严禁吃东西, 严禁穿拖鞋进实验室。

(3) 实验前要认真预习实验内容, 熟悉本次实验的目的、基本原理、操作步骤和实验技能, 懂得每一操作步骤的意义, 了解所用仪器的使用方法。

(4) 实验中要听从老师的指导, 严格地按操作规程进行实验, 并注意与同组同学的配合。

(5) 实验数据和实验现象应随时、如实记录在实验记录本上, 文字要简练、准确。完成实验后经教师检查同意, 方可离开实验室。

(6) 要精心使用和爱护仪器, 贵重仪器使用前应熟悉使用方法, 严格遵守操作规程, 严禁随意开动, 发现故障后应立即报告指导教师, 不要自己动手检修。

(7) 公用仪器、药品用后放回原处。不要用个人的吸量管取公用药品, 多取的药品不得放入原试剂瓶内。公用试剂瓶的瓶盖要随开随盖, 不得混淆。

(8) 实验过程中要保持台面整洁, 勿使试剂、药品洒在实验台面和地面。实验完毕, 需将药品试剂排列整齐, 仪器要洗净后置于实验柜中并排列整齐, 将实验台面清理干净才能离开实验室。

(9) 实验室内严禁吸烟。使用乙醇、丙酮、乙醚等易燃品时, 不允许在电炉、酒精灯上直接加热, 实验中需远离火源操作和放置。

(10) 固体废物, 如滤纸、棉花、离心沉淀的废弃物等要倒入废品缸内, 不能倒入水槽或到处乱扔; 废液体可倒入水槽内, 同时放水冲走, 但强酸、强碱或有毒废液必须倒入指定废液缸。

(11) 实验室内一切物品未经本室负责教师批准, 严禁携带出室外。出借物品必须办理登记手续。

(12) 实验完成后, 如有仪器损坏须说明原因, 经指导老师同意后方可补领。实验完毕, 应立即关好水龙头, 关掉仪器的电源、拔下插头。离开实验室前应认真、负责地进行检查,

严防发生安全事故。

(13) 每次实验课由班长安排轮流值日。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。经教师验收合格后,方可离开实验室。

二、生物化学实验室安全与防护常识

(一) 实验室安全










在生物化学实验中,经常要与有腐蚀性,易燃、易爆和毒性很强的化学药品及有潜在危害性的生物材料直接接触,经常要用到煤气、水、电。因此,安全操作是一个至关重要的问题。

(1) 熟悉实验室水阀门及电闸所在位置。离开实验室时,一定要将室内检查一遍,应将水阀门和电闸关好。

(2) 熟悉如何处理着火事故。在可燃液体燃烧时,应立即转移着火区内一切可燃物质。酒精及其他可溶于水的液体着火时,应用石棉网或沙土扑灭。

(3) 了解化学物品的警告标志(见表1-1)。

表1-1 危险化学品标识

符号	说明	标志图
T	有毒	
T ⁺	极毒	
O	氧化剂	
Xi	刺激	
Xn	有害	
F	易燃	
F ⁺	很易燃	
F ⁺⁺	极易燃	
C	腐蚀性	

(4) 实验操作过程中凡有烟雾、毒性或腐蚀性气体产生时,应在通风橱内进行,并保持室内空气流通。

(5) 使用毒性物质和致癌物质,必须根据试剂瓶标签上的说明严格操作,安全称量、转移和保管。操作时应戴手套,必要时戴口罩或防毒面罩,并在通风橱中进行。沾污过毒性、致癌物的容器应单独清洗处理。

(6) 进行遗传重组的实验室应根据有关规定加强生物安全的防范措施。

(7) 使用电器设备(如烘箱、恒温水浴、离心机、电炉等)时,严防漏电。应该用试电笔检查电器设备是否漏电,凡是漏电的电器,一律不能使用。

(8) 毒物应按实验室的规定办理审批手续后领取,使用时严格操作,用后妥善处理。

(二) 实验室应急处理

在生物化学实验中,如不慎发生受伤事故,应立即采取适当的急救措施。

(1) 如不慎被玻璃割伤或其他机械损伤,应先检查伤口中是否有玻璃或金属等碎片,然后用硼酸水洗净,再涂擦碘酒消毒,必要时用纱布包扎。如伤口较大或过深,应迅速在伤口上部或下部扎紧血管止血,送医院诊治。

(2) 轻度烫伤时一般可涂上苦味酸软膏。如果伤处红痛(一级烧伤),可擦医用橄榄油;如皮肤起泡(二级烧伤),不要弄破水泡,防止感染;如烫伤皮肤呈现棕色或黑色(三级烧伤),应用干燥无菌的消毒纱布轻轻包扎,急送医院诊治。

(3) 皮肤不慎被强酸、溴、氯气等物质灼伤时,应先用大量自来水冲洗,然后再用5%的碳酸氢钠溶液冲洗。

(4) 当酚试剂触及皮肤引起灼伤时,应先用大量的水冲洗,再用酒精洗涤。

(5) 酸、碱等化学物质溅入眼中,应先用自来水或蒸馏水冲洗眼睛。如溅入酸性物质,则可用5%碳酸钠溶液仔细冲洗;如溅入碱性物质,可用2%的硼酸溶液清洗,然后滴入1~2滴油性护眼液,起滋润保护作用。

(6) 生化实验室内电器设备较多,如有人不慎触电,首先应立刻切断电源,在没有断开电源的情况下,千万不可徒手去拉触电者,应用木棍等绝缘物质使导电物质与触电者分开,然后对触电者实行抢救。

(三) 实验室灭火法

实验中一旦发生火灾,切不可惊慌失措,应保持镇静。首先立即切断室内一切火源与电源,然后根据具体情况进行正确的抢救和灭火。常用的方法有:

(1) 在可燃液体燃烧时,应立即拿开着火区域的一切可燃物质,关闭通风器,防止扩大燃烧。若着火面积较小,可用抹布或湿布覆盖,隔绝空气使其熄灭。但覆盖时动作要轻,避免碰坏或打翻盛有易燃溶剂的玻璃器皿,导致更多的液体流出而再着火。

(2) 酒精及其他可溶于水的液体着火时,可用水灭火。

(3) 汽油、乙醚、甲苯等有机溶剂着火时,应用石棉网或沙土灭火。绝对不能用水,否则反而会扩大燃烧面积。

(4) 导线着火时,不能用水或二氧化碳灭火器,应切断电源或用四氯化碳灭火器。

(5) 衣服烧着时切忌奔走,可用大衣、衣服等包裹身体或躺在地上滚动以灭火。

(6) 发生火灾时应注意保护现场,较大的着火事故应立即报警。

三、化学药品的安全性及溶液配制

(一) 化学药品的安全性

在生物化学实验课上,指导老师要告诉同学使用化学药品时可能存在的危险及有关防护措施。几种有代表性的危险化学药品及使用时的防护措施如表1-2所示。

表 1-2

几种有代表性的危险化学品及使用防护措施

化学药品	潜在危险	防护措施
十二烷基硫酸钠 (SDS)	刺激性、有毒	戴手套
氢氧化钠	高腐蚀性、强刺激性	戴手套
苯酚	剧毒、灼伤、致癌	使用通风橱、戴手套
氯仿	挥发性、有毒、刺激性、腐蚀性、可致癌	使用通风橱、戴手套
巯基乙醇	挥发性、有毒、强刺激性、腐蚀性	使用通风橱、戴手套
甲醇	慢性中毒损害神经系统	使用时保持良好通风
丙烯酰胺	神经毒性	戴手套

(二) 配制溶液

溶液常以物质的量浓度 (如 mol/L 或 mmol/L) 或质量浓度 (g/L 或 mg/L) 配制。

1. 配制溶液的一般步骤

(1) 确定配制药品需要的浓度和要求的纯度。

(2) 确定配置溶液的体积。

(3) 查出所用药品的相对分子质量 (M_r), 即各组成元素的相对原子质量之和, 可在瓶子的标签上查到。如果所用药品含有结晶水, 在计算所需药品时, 应把结晶水计算在内。

(4) 算出要配置的溶液所需药品的质量。

(5) 准确称取所需药品。如因所称的量太少而不够精确, 可加大溶液的体积; 或配制母液, 用时稀释。

(6) 把药品放在烧杯中, 加水溶解后转入容量瓶, 定容。如果有药品附在称量纸上, 要用水冲洗下来。

(7) 必要时可加热、搅拌, 使药品彻底溶解。

(8) 必要时在冷却后测量并调节 pH。

(9) 定容到所需体积。如果要求浓度精确, 用容量瓶定容, 否则用量筒。加水定容时, 使凹液面达到刻度线。精确定容时用水冲洗原烧杯, 并将洗液加在容量瓶中。

(10) 将溶液转移到试剂瓶或锥形瓶中, 贴好标签。

2. 注意事项

(1) 配制试剂所用的玻璃仪器都要清洁干净。接触干净玻璃仪器时, 勿使手指接触仪器内部。

(2) 用蒸馏水或去离子水配制水溶液, 然后搅拌以确保化学药品充分溶解。对难溶的药品可加热促溶, 但确保所用温度不会破坏药品。加热时可用搅拌加热使溶质溶解, 待溶液冷却后才能测量体积或 pH。

(3) 配制溶液时, 应根据实验要求选择不同规格的试剂。

(4) 不要用滤纸称量药品。

(5) 试剂瓶上应贴标签, 写明试剂名称、浓度、配制日期及配制人。

(6) 试剂使用后要用原瓶塞盖紧, 瓶塞不得随便乱放以免沾染其他污物和桌面。

(7) 有些化学试剂极易变质, 需要特殊保存。如试剂需要避光保存, 需用棕色试剂瓶盛

装，必要时裹上遮光纸。变质后的试剂不能继续使用。

(三) 搅拌和振荡

配制溶液时，必须充分搅拌或振荡混匀。常用的溶液混匀方法有以下3种。

1. 搅拌式

搅拌式方法适用于烧杯内溶液的混匀。

(1) 搅拌使用的玻璃棒必须两头都烧圆。

(2) 搅拌棒的粗细长短，必须与容器的大小和所配制的溶液的多少呈适当比例。

(3) 搅拌时，尽量使搅棒沿着器壁运动，不搅入空气，不使溶液飞溅。

(4) 倾入液体时，必须沿器壁慢慢倾入，以免有大量空气混入。倾倒表面张力低的液体（如蛋白质溶液）时，更需缓慢仔细。

(5) 研磨配制胶体溶液时，要使杵棒沿着研钵的一个方向进行，不要来回研磨。

2. 旋转式

旋转式方法适用于锥形瓶、大试管内溶液的混匀。振荡溶液时，手握住容器后以手腕或肩做轴旋转容器，不应上下振荡。

3. 弹打式

弹打式方法适用于离心管、小试管内溶液的混匀。

混合容量瓶中液体时，应用食指或手心顶住瓶塞，倒持容量瓶摇动，并不时翻转容量瓶。搅拌分液漏斗中的液体时，应一手用食指或手心顶住瓶塞，在适当斜度下倒持漏斗，并用另一手控制漏斗的活塞，一边振荡、一边开动活塞，使气体可以随时由漏斗泄出。

(四) 母液

当要配制不同系列浓度的溶液或同一溶液长期使用时，配制母液是非常有用的。母液通常比最终所需溶液的浓度大好几倍，经过适当稀释可配成最终溶液。

(五) 配制一定浓度的稀释溶液

在生化实验中，经常要把母液稀释到一定质量浓度或摩尔浓度。可按下列步骤进行：

(1) 精确量取一定体积的母液到容量瓶中。

(2) 用适当的溶剂定容至标准刻度。

(3) 双手握容量瓶反复颠倒3~5次，充分混匀。

(六) 配制系列浓度的稀释液

在生化实验中绘制标准曲线时，系列浓度的稀释应用非常广泛。常用的方法如下：

1. 线性稀释

线性稀释的系列浓度可在分光光度法测定蛋白质或酶的浓度时用来绘制标准曲线。此时稀释的浓度梯度是相同的，如蛋白质含量为0、0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列稀释液。可用， $c_1V_1 = c_2V_2$ 来计算配制该系列中每一浓度稀释液所需母液的量。

2. 对数稀释

这种稀释法用于需要配制浓度范围较大的系列溶液的情形。常见的有2倍稀释和10倍稀释。以2倍稀释为例（即每一稀释液的浓度是它前一溶液浓度的一半）：首先配制2倍于所需体积的最大浓度的溶液，然后取一半到另外一个装有同样体积稀释液的容器中，充分混匀，如此重复，便得到2倍稀释液的一系列溶液，浓度分别为原浓度的1/2、1/4、1/8、

1/16 等。

3. 调和浓度稀释

系列溶液的浓度为连续排列整数的倒数，如 1、1/2、1/3、1/4、1/5 等。如在依次排列的一组试管中分别加 0、1、2、3、4 和 5 倍体积的稀释液，然后分别在每一管中加入 1 体积的母液，就得到每一浓度的稀释液。这种方法配制的稀释液没有稀释转移带来的误差，但最大的缺点是这样的系列溶液的浓度梯度是非线性的，随着溶液系列增多，浓度梯度会越来越小。

(七) 药品和溶液的储藏

化学危险品应当按照药品的不同种类，实行分类存放，相互之间保持安全距离。

- (1) 化学性质防护和灭火方法相互抵触的化学危险品，不得在同一存储柜存放。
- (2) 腐蚀性液体应放在下层，以免不慎跌下，洒出发生灼伤事故。
- (3) 剧毒和致癌药品应当锁上。
- (4) 不稳定的化学药品必须保存在冰箱或冰柜中。
- (5) 容易吸潮的药品必须保存于放有干燥剂的干燥器中。
- (6) 见光易变色、分解或氧化的药品应避光保存。
- (7) 一般试剂分类存放于阴凉通风，温度低于 30℃ 的橱柜内即可。

对存放的危险化学药品要定期检查，并做好检查记录。炎夏、寒冬等特殊季节要加大检查密度，以防燃烧、爆炸、挥发、泄漏等事故发生，所有储藏的溶液都要标明试剂名称、浓度、配制日期和配制人及有关危险的警告信息。

四、实验误差与数据处理

(一) 实验误差

在进行定量分析实验的测定过程中，由于受分析方法、测量仪器、所用试剂和其他人为因素的影响，不可能使测出的数据与客观存在的真实数据完全相同。真实值（客观存在的准确值）与测量值（包括直接与间接测量值）之间的差别称为误差。通常用准确度和精密度来评价测量误差的大小。

实验误差的特点：

- (1) 实验误差永远不等于零。不管人们主观愿望如何，也不管人们在测量过程中怎样精心细致地控制，误差还是要产生，并且不会消除，误差的存在是绝对的。
- (2) 实验误差具有随机性。在相同的实验条件下，对同一个研究对象进行多次的实验、测试或观察，所得到的不是一个确定的结果，即实验结果具有不确定性。
- (3) 实验误差是未知的，通常情况下，由于真实值是未知的，研究误差时，一般都从偏差入手。
- (4) 准确度是实验分析结果与真实值接近的程度，通常用误差 N 的大小来表示； N 值越小，准确度越高。误差又分为绝对误差和相对误差，其表示式分别如下：

$$\text{绝对误差 } \Delta N = N - N'$$

$$\text{相对误差}(\%) = \frac{\Delta N}{N} \times 100\%$$

式中 N ——测定值；

N' ——真实值。

(5) 从以上两式可以看出,用相对误差来表示分析结果的准确度是比较合理的。因为它反映了误差值在整个结果的真实值中所占的比例。

然而在实际工作中,真实值是不可能知道的,因此分析的准确度就无法求出,只能用精确度来评价分析的结果。精确度是指在相同条件下,进行多次测量后所得数据相近的程度。精确度一般用偏差来表示,偏差也分绝对偏差和相对偏差:

绝对偏差 = 个别测定值 - 算术平均数(不计正负)

$$\text{相对偏差} = \frac{\text{绝对偏差}}{\text{算术平均数}} \times 100\%$$

当然,和误差的表示方法一样,用相对偏差来表示实验的精确度比用绝对偏差更有意义。

在实验中,常对某一物品进行多次平行检测,求得其算术平均数作为该样品的分析结果,而该结果的精确度则用平均绝对偏差和平均相对偏差来表示。

$$\text{平均绝对偏差} = \frac{\text{个体测定值的绝对偏差之和}}{\text{测定次数}}$$

$$\text{平均相对偏差} = \frac{\text{平均绝对偏差}}{\text{算术平均值}}$$

应该指出,误差与偏差具有不同的含义,前者以真实值为标准,偏差是以多次测量结果的平均值为标准。由于物质的真实值是不知道的,在实际工作中得到的结果只能是多次分析后得到的相对正确的平均值,而其精确度只能用偏差来表示。分析结果表示为:

$$\text{算术平均数} \pm \text{平均绝对偏差}$$

还应指出,用精确度来评价分析的结果是有一定的局限性的。分析结果的精确度很高,并不一定说明实验的准确度也很高。如果分析过程中存在系统误差,可能并不能影响数据间的精确度,但此结果却必然偏离真实值,也就是分析的准确度不高。

(二) 产生误差的原因及其校正

产生误差的原因有很多。一般根据性质和来源,可将误差分为系统误差和偶然误差两种。

1. 系统误差

系统误差与分析结果的准确度有关,由分析过程中某些经常发生的原因所造成,对分析结果的影响比较稳定,在重复测定时常常重复出现。这种误差的大小与正负往往可以估计出来,因而可以设法减少或校正。系统误差的来源主要有:

(1) 方法误差 由分析方法本身所造成。如重量分析中沉淀物少量溶解或吸附杂质;滴定分析中等摩尔反应终点与滴定终点不完全符合等。

(2) 仪器误差 因仪器本身不够精密所造成,如天平、量器、比色杯不符合要求。

(3) 试剂误差 来源于试剂或蒸馏水的不纯。

(4) 操作误差 由于每个人掌握的操作规程与控制条件常有出入而造成,如不同的操作者对滴定颜色的判断常有差别等。

为了减少系统误差,常采取下列措施:

(1) 空白实验 为了消除由试剂等原因引起的误差,可在不加样品的情况下,按与样品测定完全相同的操作程序,在完全相同的条件下进行分析,所得的结果为空白值。将样品分

析的结果扣除空白值,可以得到比较准确的结果。

(2) 回收率测定 取一标准物质(其中组分含量都已精确地知道)与待测的未知样品同时做平行测定。测得的物质量与所取量之比的百分率就为回收率,可用来表达某些分析过程的系统误差(系统误差越大,回收率越低)。通过下式可对样品测量值进行校正:

$$\text{被测样品的实际含量} = \frac{\text{样品的分析结果}}{\text{回收率}}$$

(3) 仪器校正 对测量仪器校正以减少误差。

2. 偶然误差

偶然误差与分析结果的精确度有关,来源于难以预料的因素,或是由于取样不均匀,或是由于测定过程中某些不易控制的外界因素的影响。为了减少偶然误差,一般采取的措施有:

(1) 平均取样 将动植物新鲜组织制成匀浆;细菌制成悬液,打散摇匀后量取一定体积菌液;极不均匀的固体样品,则取样前先粉碎、混匀。

(2) 多次测定 根据偶然误差的规律,多次取样平行测定后取其算术平均值,就可以减少偶然误差。

除以上两大类误差外,还有因操作事故引起的“过失误差”,如读错刻度,溶液溅出,加错试剂等,这时可能出现一个较大的“误差值”,在计算算术平均值时,此数值应以弃去。

(三) 有效数字

在生化定量分析中,应在记录数据和进行计算时注意有效数字的取舍。

有效数字应是实际可能测量到的数字,即在一个数值中除最后一位是可疑数外,其他各数都是确定的。数字1~9都可作为有效数字,而“0”特殊,它在数值中间或后面是一般有效数字,但在数字前面时,它只是定位数字,用以表示小数点的位置。

在加减乘除等运算中,要特别注意有效数字的取舍,否则会使计算结果不准确。运算规则如下:

(1) 加减法 几个数值相加之和或相减之差,只保留一位可疑数。在弃去过多的可疑数时,按四舍五入的规则取舍。因此,几个数相加或相减时,有效数字的保留应以小数最少的数字为准。

(2) 乘除法 几个数值相乘除时,其积或商的相对误差接近于这几个数中相对误差最大值。因此积或商保留有效数位数与各运算数字中有效数位数最少的相同。

(四) 数据处理

对实验中所取得的一系列数值,采取适当的处理方法进行整理分析,才能准确地反映出被研究对象的数量关系。在生化实验中通常采用列表法或作图法表示实验结果,可使结果表达得清晰明了,而且还可以减少和弥补某些测定的误差。根据对标准样品的一系列测定,也可以列出表格或绘制标准曲线,然后由测定数值直接查出结果。

(1) 列表法 将实验所得的各数据用适当的表格列出,并表示出它们之间的关系。通常数据的名称与单位写在标题栏中,表内只填写数字。数据应正确反映测定的有效数字,必要时应计算出误差值。

(2) 作图法 实验所得的一系列数据之间的关系及其变化情况,可用图线直观地表现出来。作图时通常先在坐标纸上确定坐标轴,标明轴的名称和单位,然后将各数值点用“+”

或“×”等标记标注在图纸上,再用直线或曲线把各点连接起来。图形必须平滑,可不通过所有的点,但要求线两旁偏离的点分布较均匀。画线时,个别偏离较大的点应当舍去,或重复试验校正。采用作图法时至少要有5个以上的点,否则就没有意义。

五、实验记录及实验报告

每次做实验前认真预习,实验操作中仔细观察,并如实记录实验现象与数据,课后及时完成实验报告。

(一) 课前预习

实验课前应认真预习,写好预习报告。交老师审阅。预习报告内容:

(1) 实验目的;(2) 实验原理;(3) 仪器和试剂;(4) 实验步骤;(5) 预习中的问题。

实验原理要简明扼要;操作方法和步骤要用流程图或表格形式表达;预习中遇到的问题要记录并提出。

(二) 记录

详细、准确地做好实验记录是极为重要的,也是培养学生实验能力和严谨的科学作风的重要方面。

(1) 实验中观测的结果和数据都应及时、如实地记在记录本上,必须公正客观,不可夹杂主观因素。

(2) 实验记录要准确、清楚。每一结果至少要重复两次以上,即使观测的数据相同或偏差很大,也应如实记录,不得涂改。

(3) 实验中使用仪器的类型、编号以及试剂的规格、化学式、相对分子质量、浓度等,都应记录清楚,以便总结实验、完成报告时进行核对和作为查找成败原因的参考依据。

(三) 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,加深对生物化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) 实验步骤;(4) 数据处理及结果分析;(5) 思考题;(6) 讨论及心得。

实验报告的写作水平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,各种实验数据尽可能整理成表格(三线表)并作图表示。

实验结果和讨论是实验报告书写的重点,一定要充分,多查阅有关的文献和教科书,充分运用已学过的知识,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。