



面向21世纪精品课程教材

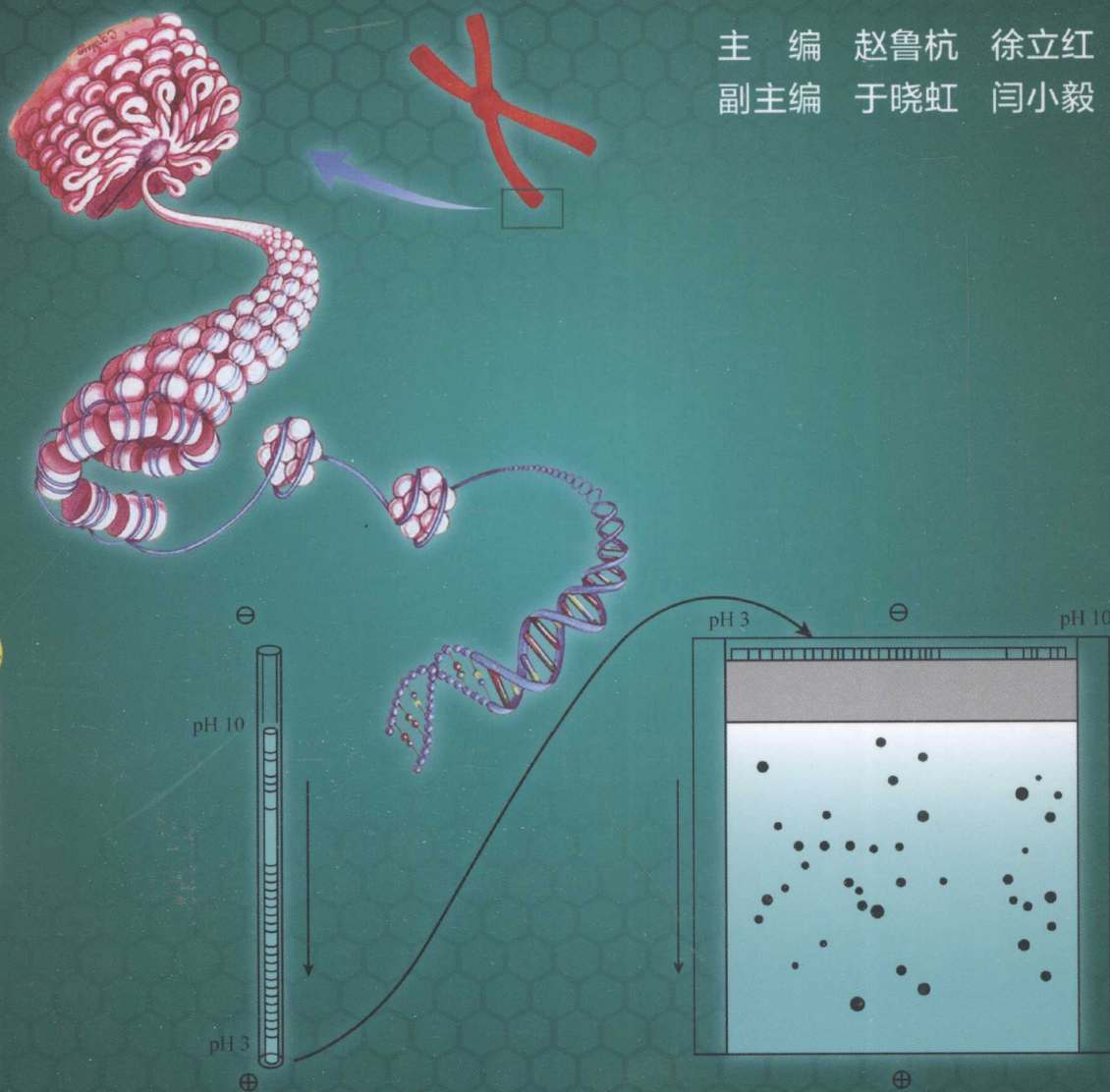
高等院校基础医学实验教学示范中心建设成果

全国高等医药教育规划教材

分子医学实验技术

MOLECULAR MEDICINE EXPERIMENT TECHNOLOGY

主 编 赵鲁杭 徐立红
副主编 于晓虹 闫小毅



014036991

Q7-33
48

面向 21 世纪精品课程教材
高等院校基础医学实验教学示范中心建设成果
全国高等医药教育规划教材

分子医学实验技术

主 编	赵鲁杭	徐立红	
副主编	于晓虹	闫小毅	
编 委	厉朝龙	蒋燕灵	俞 萍
	陈枢青	应李强	丁 倩
	翁登坡	杨月红	沈奇桂



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS

浙江大学出版社



北航

C1725260

Q7-33
48

图书在版编目 (CIP) 数据

分子医学实验技术/赵鲁杭,徐立红主编. —杭州:
浙江大学出版社,2014. 4
ISBN 978-7-308-13025-7

I. ①分… II. ①赵… ②徐… III. ①医学—分子生
物学—实验—医学院校—教材 IV. ①Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 052951 号

分子医学实验技术

赵鲁杭 徐立红 主编

-
- 丛书策划 阮海潮(ruanhc@zju.edu.cn)
责任编辑 阮海潮
封面设计 林智广告
出版发行 浙江大学出版社
(杭州市天目山路 148 号 邮政编码 310007)
(网址:<http://www.zjupress.com>)
排 版 杭州金旭广告有限公司
印 刷 浙江良渚印刷厂
开 本 787mm×1092mm 1/16
印 张 14
字 数 367 千
版 印 次 2014 年 4 月第 1 版 2014 年 4 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978-7-308-13025-7
定 价 35.00 元
-

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换

浙江大学出版社发行部联系方式 (0571)88925591;<http://zjdxcb.tmall.com>

前 言

分子医学是从分子水平上研究医学问题的一个学科领域,其覆盖学科门类比较广泛,主要包括生物化学、分子生物学、遗传学、分子免疫学等。《分子医学实验技术》整合了生物化学、分子生物学、遗传学和部分免疫学实验教学的相关内容,结合分子医学领域的先进实验技术、方法和临床科学问题,通过实验强化所学的基础理论知识,训练学生的基本实验技能,培养学生综合实验设计的能力和开拓性思维,为培养优秀的医学研究人才和临床医生奠定基础。

《分子医学实验技术》以生物化学、分子生物学、遗传学等实验技术为主线,强调分子医学研究所需要的实验技能培养,实验项目设计既相互独立,又相互关联,呈一个系列性实验的构架。实验项目以综合性实验为主,结合先进的实验技术,并尝试开展由学生自主设计、自主创新的实验项目,在教学方式上以学生自主操作实验为主,并结合多媒体教学、课堂教学演示、课堂讨论教学等多种教学形式,在培养学生实验操作能力的同时,多方面地开拓学生的视野。

本实验教材是在浙江大学医学院生物化学与遗传学系的各位前辈和同仁的共同努力与协作下完成的,实验内容凝结了各位前辈和同仁的心血与智慧,同时得到了浙江大学基础医学系领导和夏强教授、徐立红教授、厉朝龙教授、张咸宁教授、刘伟教授的指导、支持和帮助,在此表示衷心的感谢。虽然我们做了很大的努力,但由于水平有限,疏漏和错误之处恳请读者予以批评指正。

赵鲁杭

2014年3月于杭州

目 录

第一篇 分子医学实验技术概论

第一章 分子医学实验基本要求	1
第一节 实验室规章制度与操作规范	1
一、实验室规章制度	1
二、实验注意事项及应急处理	1
三、实验室基本操作技能	3
第二节 实验记录、数据处理和实验报告	5
一、实验记录	5
二、实验数据的处理和实验误差	5
三、实验报告	8
第二章 分子医学实验样品制备的原则、策略和方法	9
第一节 实验样品制备的基本原则和策略	9
一、实验样品制备的基本原则	9
二、实验样品制备的基本策略	9
第二节 常用实验样品的制备	10
一、血液样品	10
二、组织样品	11
三、微生物样品	11
四、植物样品	11
第三节 生物大分子的制备	11
一、生物材料的选择与预处理	11
二、组织细胞的破碎	11
三、抽提	12
四、生物大分子的分离、纯化	13
五、纯度的分析鉴定	14
六、产物的浓缩、干燥	14

第二篇 分子医学实验常用的技术和方法

第三章 离心分离技术	15
第一节 离心的基本原理和基本概念	15
一、离心的基本原理	15
二、离心的基本概念	15
第二节 离心机分类和离心方法	17
一、离心机分类	17
二、离心方法	18
第三节 离心机的使用操作	20
第四章 电泳技术	21
第一节 基本原理	21
一、电泳的基本原理	21
二、影响带电粒子在电场中泳动的因素	22
第二节 电泳技术的分类	23
第三节 电泳装置	23
第四节 电泳结果的检测、分析和回收	25
一、电泳示踪剂	25
二、电泳染色剂	25
三、电泳结果的检测及回收	27
第五节 几种常用的电泳方法	27
一、聚丙烯酰胺凝胶电泳	27
二、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳	28
三、等电聚焦电泳	28
四、聚丙烯酰胺凝胶双向电泳	29
五、蛋白印迹	30
六、DNA 印迹和 RNA 印迹	30
第五章 层析技术	32
第一节 基本原理和概念	32
一、层析的基本原理	32
二、层析技术的基本概念	32
第二节 层析技术的分类	33
一、层析的分类	33
二、层析洗脱与检测方法	34
第三节 吸附层析	34
一、吸附层析的原理	34

二、吸附层析的分类	35
三、固定相和流动相的选择	35
四、薄层层析的制板、点样、展层和显色	37
第四节 分配层析	39
一、分配层析的原理	39
二、纸层析	40
第五节 离子交换层析	44
一、离子交换层析的原理	44
二、离子交换剂的类型	45
三、离子交换剂的选择与应用	48
四、离子交换剂的处理、再生和保存	49
五、离子交换层析的操作	49
第六节 凝胶层析	51
一、凝胶层析的基本原理	51
二、凝胶的种类和性质	51
三、柱层析凝胶的选择	54
四、凝胶的处理、保存和凝胶层析的操作	55
第七节 亲和层析	56
一、亲和层析的基本原理	56
二、亲和层析载体、配体的选择和偶联	56
三、亲和层析的操作	58
第八节 高效液相层析	59
一、高效液相层析的原理	59
二、HPLC 的操作及注意事项	60
第六章 分光光度技术	62
第一节 分光光度技术原理	62
一、基本原理	62
二、Lambert-Beer 定律	63
三、分光光度技术的定量方法	63
第二节 分光光度计的基本结构及使用	64
一、分光光度计的基本结构	64
二、几种常用分光光度计	65
第七章 PCR 技术	67
第一节 PCR 的原理及影响因素	67
一、PCR 的原理	67
二、PCR 的反应体系及主要影响因素	67
第二节 PCR 技术的应用	69

一、逆转录 PCR	69
二、单链构象多态性 PCR	70
三、限制性片段长度多态性 PCR	70
四、等位基因特异扩增法	70

第三篇 实验项目

第八章 蛋白质与酶学实验项目	71
第一节 概 述	71
一、蛋白质的分子组成、结构及理化性质	71
二、蛋白质的分离和纯化	71
三、蛋白质的定量	71
四、蛋白质纯度的鉴定	72
五、蛋白质生物活性的测定	72
第二节 实验项目	72
实验一 生物样本中蛋白质的提取	72
实验 1-1 组织细胞中蛋白质的提取	72
实验 1-2 细菌细胞中蛋白质的提取	74
实验二 蛋白质含量的测定	75
实验 2-1 Kjeldahl 定氮法测定蛋白质的浓度	75
实验 2-2 Folin-酚试剂法(Lowry 法)测定蛋白质的浓度	78
实验 2-3 考马斯亮蓝法测定蛋白质的浓度	79
实验 2-4 紫外吸收法测定蛋白质的浓度	80
实验 2-5 BCA 法测定蛋白质的浓度	80
实验三 蛋白质的电泳分离	82
实验 3-1 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质	82
实验 3-2 SDS-PAGE 测定蛋白质相对分子质量	86
实验四 蛋白质印迹技术	91
实验五 等电聚焦电泳法测定蛋白质等电点	94
实验六 层析技术(凝胶过滤、离子交换、亲和层析、HPLC)	97
实验 6-1 凝胶层析法分离血红蛋白和 DNP-鱼精蛋白	97
实验 6-2 分子筛层析测定蛋白质相对分子质量	100
实验 6-3 离子交换层析分离混合氨基酸	103
实验 6-4 薄层层析分离脂类	105
实验 6-5 纸层析法验证转氨基作用	106
实验 6-6 高效液相层析分离蛋白质	108
实验 6-7 亲和层析纯化植物凝集素及凝集素活性鉴定	113
实验七 底物浓度对酶促反应速度的影响——酸性磷酸酶 K_m 及 V_m 值测定	117

第九章 流式细胞技术	123
第一节 概 述	123
一、流式细胞术的基本原理	123
二、流式细胞术的应用	123
三、流式细胞仪操作规程	125
第二节 实验项目	126
实验八 用质控血检测 T 淋巴细胞亚群	126
实验九 细胞凋亡的流式实验测定	130
第十章 核酸和染色体实验	133
第一节 概 述	133
一、核酸的分子组成与结构	133
二、核酸的理化性质	134
三、核酸的制备和含量测定	135
第二节 实验项目	136
实验十 DNA 的提取	136
实验 10-1 真核生物组织细胞基因组 DNA 的提取	136
实验 10-2 真核生物血液标本中 DNA 的提取	138
实验 10-3 质粒 DNA 的提取	139
实验十一 DNA 含量和纯度的测定	142
实验 11-1 二苯胺显色法测定 DNA 含量	142
实验 11-2 紫外吸收法测定基因组 DNA 的含量及纯度	143
实验十二 RNA 的制备	144
实验 12-1 一步法提取 RNA	144
实验 12-2 Trizol Reagent 一步法提取 RNA	145
实验十三 地衣酚法测定 RNA 含量	147
实验十四 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)	148
实验 14-1 一步法 RT-PCR	149
实验 14-2 两步法 RT-PCR	150
实验十五 电泳法分离 RNA 和 DNA	151
实验 15-1 琼脂糖凝胶电泳分离 DNA	152
实验 15-2 聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)分离 RNA	155
实验十六 人类外周血染色体标本制备	157
实验十七 人类染色体 G 带标本制备及观察	162
实验十八 人类染色体核型分析	164
实验十九 遗传病基因突变检测分析	167
实验 19-1 Duchenne 型肌营养不良症 DMD 基因检测	167
实验 19-2 遗传病基因突变分析	169

实验二十 基因多态性的检测	175
实验 20-1 PCR-RFLP 法测定 CYP2C19ml 等位基因	175
实验 20-2 等位基因特异扩增法分析基因中单碱基突变	177
第十一章 物质代谢与激素调节	180
第一节 概 述	180
一、物质代谢的概念	180
二、物质代谢研究的材料与方法	180
第二节 实验项目	181
实验二十一 胰岛素及肾上腺素对血糖浓度的影响	181
实验二十二 Nelson-Somogyi 法测定血糖浓度	182
实验二十三 饱食、饥饿及激素对肝糖原含量的影响	184
实验二十四 血清谷丙转氨酶活性的测定(赖氏法)	186
第十二章 自主创新性实验	188
第一节 概 述	188
一、自主创新性实验的分类	188
二、自主创新性实验项目设计需要考虑或注意的问题	188
第二节 自主创新性实验设计	189
一、基本程序	189
二、实验设计的基本思路	189
附 录	191
一、常用数据表	191
表 1 调整硫酸铵溶液饱和度计算表(25℃)	191
表 2 蛋白质等电点参考值	192
表 3 常见蛋白质相对分子质量参考值	193
表 4 核酸、蛋白质换算数据	194
表 5 SDS-PAGE 分离胶配方表	195
二、常用试剂的配制	196
三、缓冲溶液及配制	199
四、透析袋的处理与保存	212
参考文献	213

第一篇 分子医学实验技术概论

第一章 分子医学实验基本要求

第一节 实验室规章制度与操作规范

一、实验室规章制度

- (1) 实验前认真预习实验教材中相关的实验内容,了解实验目的、要求和基本的实验过程。
- (2) 进入实验室必须穿好实验服,实验室内保持安静,严禁大声喧哗;无故不得迟到或早退,不得在实验室内吸烟和用餐。
- (3) 上课认真听讲,按照教材和老师的指导进行实验,实验过程中若有疑问或遇见问题,请及时询问教师,切勿自己盲目处理。
- (4) 保持实验台的清洁整齐,实验试剂取用完毕后应及时放回原位,及时盖好试剂瓶盖,避免实验试剂被污染。公用物品用毕应放回原处,不得私自占用。
- (5) 实验仪器的使用应严格按照操作规程进行,要爱护实验室的仪器设备,文明使用,如遇仪器设备出现故障请及时与老师联系。如人为因素引起的实验仪器设备损坏将按照规定进行赔偿。
- (6) 注意用水、用电的安全,强酸、强碱、有毒及腐蚀性试剂的使用要特别注意,要戴手套进行操作。不得将高温、强酸、强碱、有毒及腐蚀性试剂抛洒在实验台上,避免伤害性事故的发生。
- (7) 实验废弃物应分类处理,一般性液体废弃物可倒入水池,并放水冲走;强酸、强碱可在稀释后倒入水槽并放水冲走;有毒或腐蚀性试剂应倒入指定的废液瓶中集中处理;动物尸体应放入指定的容器中集中处理。
- (8) 不准用实验室的容器盛放食物,不能在实验室的冰箱内存放食物,严禁将实验室的任何试剂入口。
- (9) 实验完毕,须将试剂排列整齐,整理好公用物品,清理打扫自己的实验台面,关闭仪器设备的电源,请指导教师检查,允许后方可离开。

二、实验注意事项及应急处理

(一) 实验室安全和注意事项

实验的参与人员必须时刻把实验室安全放在首位,严格遵守实验室的规章制度和实验操作规范。

- (1) 实验操作过程中凡遇有能产生烟雾或有毒性腐蚀性气体时,应放在通风柜内进行。如

果实验室内无此种设施,则必须注意及时打开窗户通气。

(2)以吸管取用试剂应使用橡皮吸球。对于剧毒或有腐蚀性试剂的取用更要注意安全,应使吸管的尖端固定在液面下适当的位置,以防试剂进入吸球。如果不慎已吸入球内,则应随时洗净晾干。

(3)乙醚、乙醇、丙酮、氯仿等易燃试剂不可直接放在火源上蒸煮,以防容器破裂而引起火灾。遇有火险绝不要慌乱,应根据火情妥善处理。如系少量试剂引起的小火,可用湿抹布轻轻盖住即可熄灭;如已酿成大火,则应首先关闭电源(如实验室建筑有自动灭火装置,则不可关闭电源!),用二氧化碳灭火机或粉末灭火机扑灭(千万不可用水或酸碱泡沫灭火机灭火!);如果衣服着火,切勿惊慌,可迅速跑到室外就地打滚即可将身上的火扑灭。

(4)含有强腐蚀性试剂、有毒试剂的实验废液应及时倒入指定的废液瓶中集中处理。

(5)不能用湿手接触电源,若发生触电,应迅速切断电源,必要时进行人工呼吸。

(二)应急处理(实验室意外事故的急救)

(1)皮肤灼伤处理:皮肤不慎被强酸、溴、氯等物质灼伤时,应用大量自来水冲洗,然后再用5%碳酸氢钠溶液洗涤。

(2)强酸溶液进入口内的处理:应立即用清水或0.1mol/L氢氧化钠溶液漱口,再服用氯化镁、镁乳等和牛奶混合剂数次,每次约200mL;或服用万应解毒剂(配法:木炭末2份、氧化镁1份及鞣酸1份混合而成)1茶匙。但不宜服用碳酸钠溶液,以免因和酸作用而产生过量气体反而加剧对胃的刺激。

(3)强碱溶液进入口内的处理:立即用大量清水或5%硼酸溶液漱口,再服用5%醋酸溶液适量,或服用上述万应解毒剂1茶匙。

(4)石炭酸类物质进入口内的处理:立即用30%~40%酒精漱口,然后再服用30%~40%酒精适量,并设法尽可能将胃内容物呕吐出。

(5)氧化物进入口内的处理:应立即用大量清水漱口,再服用3%过氧化氢溶液适量;静脉注入1%美蓝20mL,再吸入亚硝酸异戊酯,并注意呼吸情况,必要时可进行人工呼吸。

(6)汞及汞类化合物进入口内的处理:应立即服用生鸡蛋或牛奶若干,再设法使胃内容物尽量呕吐出来。

(7)碘酒或碘化合物进入口内的处理:应立即服用米汤或淀粉若干,再设法使胃内容物尽量呕吐出来。

(8)酸、碱等化学试剂溅入眼内的处理:先用自来水或蒸馏水冲洗眼部,如溅入酸类物质则可再用5%碳酸氢钠溶液仔细冲洗;如系碱类物质,可以用2%硼酸溶液冲洗,然后滴1~2滴油性物质起滋润保护作用。

(9)被电击的处理:实验室内电器设备众多,如某项设备漏电,使用中则有触电危险。如有人不慎触电,首先应立即切断电源。在没有断开电源时绝不可用手去拉触电者,宜迅速用干木棒、塑料棒等绝缘物把导电物与触电者分开,然后对触电者进行抢救。若发现触电者已失去知觉或已停止呼吸,则应立即施行人工呼吸;待有了呼吸即可移至空气新鲜、温度适中的房间里继续进行抢救。

(10)酸、碱等化学试剂溅洒在衣服鞋袜上的处理:强酸或强碱类物质洒在衣服鞋袜上,应立即脱下用自来水浸泡冲洗;溅洒物如系苯酚类物质,而衣服又是化纤织物,则可先用60%~70%酒精擦洗被溅处,然后再将衣物放清水中浸泡冲洗。

以上仅是一般应急处理方法,重症者应及时送医院急诊室处理。

三、实验室基本操作技能

(一)玻璃仪器的洗涤与清洁

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。

1. 新购置玻璃仪器的清洗

新购置来的玻璃仪器表面附着有游离碱性物质,应先用肥皂水洗刷后再用流水冲洗,浸泡于1%~2%盐酸中过夜,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。

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,勿使残留物质干涸,并及时用流水或洗衣粉水尽量洗涤,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,如不干净时可用盐酸或适当溶剂冲洗(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。

(二)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。

1. 刻度吸量管

刻度吸量管供量取10mL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”字样,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,使用前先要看清容量和刻度。根据需要选择适当的吸量管,刻度吸量管的总容量最好等于或稍大于最大取液量。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。用另一只手捏压橡皮球,将吸量管插入液体中(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1~2cm处,然后迅速用食指按紧管上口,使液体不至于从管下口流出。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。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。放松食指,使液体自然流入受器内。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。冲洗干净的刻度吸量管,最后用蒸馏水冲洗,晾干备用。

2. 量筒

量筒是用来量取精确度要求不高的溶液体积的,使用起来比较方便。它有从5~2000mL十余种规格。用量筒量取液体体积是一种粗略的计量法,所以在使用中必须选用合适规格,不

要用大量筒计量小体积的溶液,也不要用小量筒多次量取大体积的溶液。

3. 移液器

移液器是一种连续可调的精确取液器,其通过旋转上端按钮调节刻度,控制内腔的体积,按动上端的按钮排出内腔的空气,将移液器吸液杆上的枪头或吸头插入液体中,松开按钮,靠内置弹簧的弹力复原,形成的负压可导致液体吸入枪头或吸头内。常规的移液器的规格有:10 μ L、20 μ L、100 μ L、200 μ L、1000 μ L等,可根据所需吸取的量选择合适规格的移液器进行取样。

移液器的基本操作方法如下:

- (1)根据所需吸取液体的量选择合适的移液器。
- (2)调节旋钮至所需吸取液体的刻度,将吸头套紧在吸液杆上。
- (3)用拇指将取液按钮按到第一挡,将吸头插入液体内,慢慢放松按钮使其复位,然后将移液器撤离液面。
- (4)将吸头移至所需加样的容器内,按下按钮至第二档,排尽吸头内的液体,然后移开移液器,再放松按钮(一般液体可沿容器壁加入,移开移液器时拇指暂时不能松开)。

(三)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。溶液稀释时也应混匀。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的溶液的多少呈适当的比例关系。搅拌时必须使搅棒沿着器壁运动,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,搅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

适用于振荡器,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,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. 甩动混匀法

右手持试管上部,轻轻甩动振荡即可混匀。

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。

第二节 实验记录、数据处理和实验报告

实验是在理论知识指导下的科学实践,目的是通过实践掌握科学观察的基本方法和技能,培养学生科学思维、分析判断和解决实际问题的能力。实验也是培养探求真知、尊重科学事实和真理的学风,培养科学态度的重要环节。

一、实验记录

实验记录要求客观、真实、完整地将实验条件(包括气候、实验材料、实验试剂等)以及观察到的现象、结果和数据及时地记录下来。原始数据必须准确、及时、详尽、清楚地进行记录,不能夹杂主观因素。设计表格,将在定量实验中观测的数据,如称量物的重量、滴定管的读数、光密度值等填在表格内,应依据仪器的精确度记录有效数字。

二、实验数据的处理和实验误差

(一)有效数字

有效数字是表明一种测定的准确度,以小数点后的数字位数来表示。在做一项测定和计算时,在结果的表述上可以包括一位估计的数值,如在一般长度的测量中毫米以下的数值往往是估计的,如 326.7mm,这个 0.7 就是一个估计的数值,是有可能有误差的;另外在加减乘除的数学计算中,应该以有效数字最少的那个数值作为计算结果的有效数字位数,如 $0.523+0.46+1.3526$,计算结果应该是 2.34,而不是 2.3356,再如 1.58×2.346 ,结果应该是 3.71,而不是 3.70668。在检测过程中对仪器设备的选择也是如此,应该选择准确度相类似的仪器设备,在某一个实验环节使用了一次准确度较低的仪器,那将会使整个过程的测定结果的准确度降低了;同样在这个测定过程中的另一个环节即使使用精密度再高的仪器也是徒劳的,不会增加测定结果的准确性。

(二)误差

在进行一些测定的实验过程中,很难使得测定的数值与客观存在的真值完全相同,真值与测定值之间的差值称为误差。真值往往是不能确切地知道的,通常以多次测定的结果的平均数来近似地代表真值。在测定的过程中无论使用的仪器设备有多么的精密,试剂纯度有多高,操作者的技术有多么的娴熟和细致,都不能使测定的结果与真值完全相符。同一个样本多次重复测定,其结果也不可能完全相同。所以说实验中的误差是绝对的。根据误差的来源和性质,通常可将其分为三类。

1. 系统误差

系统误差是指一系列的检测结果存在着具有相同倾向性的偏差,或大或小,或正或负,但多是比较恒定的,往往是由于某种确定的系统原因引起的,在一定的条件下重复测定时常重复出现。经分析原因,可采取一定的措施减少误差或对误差进行纠正。系统误差的来源主要有:

- (1)方法误差,由方法本身不够完善造成,如化学反应的特异性不高;
- (2)仪器误差,由仪器本身不够精密所致,如量器、比色杯不符合要求;
- (3)试剂误差,来源于试剂的不纯或变质;
- (4)操作误差,如个人对条件的控制、终点颜色的判断常有差异。

为了纠正系统误差常采取下列措施:

- (1)空白试验:为了消除试剂等因素引起的误差,空白管在测定时不加样品,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测试所得的结果为空白值。将样品分析的结果扣除空白值,可得到比较准确的结果。

(2)回收率测定:取一已知精确含量的标准物质与待测未知样品同时做平行测定,测得的量与所取的量之比的百分率就称为回收率,可以检验表达分析过程的系统误差,也可通过下式对样品测量值进行校正:

被测样品的实际含量=样品的分析结果(含量)/回收率

(3)量具校正。

2. 偶然误差

该类误差时大时小、时正时负,具有偶然性、不可预见性和没有规律性等特点,例如取样不准或由于某些外界因素的影响。分析测定的步骤越多,出现这种误差的机会也就越多。但如进行多次测定便可发现测定次数增加时,由于正误差和负误差出现的概率相等,此种误差可相互抵消。为了减少偶然误差,一般采取的措施是:①平均取样:如动物组织制成匀浆后取样;全血标本取样时要摇匀等。②多次取样:平行测定的次数愈多,其平均偶然误差就愈小。

3. 责任误差

这种误差往往是由于实验操作人员的各种失误所造成的,是可以避免的。如溶液溅出、标本搞错等,在计算算术平均数时此种数值应弃去不用。

(三)误差的表示方法和计算

1. 平均误差

平均误差是指一组测定值中,测定值与测定均值的算术平均差。

$$\text{平均误差} = \sum |\text{测定值} - \text{均值}| / \text{测定次数}$$

该方法的缺点是取的是绝对值,无法准确地表示出每次测定的正负偏离情况。

2. 标准误差(标准差)

标准误差是指一组测定值中,每一个测定值与测定平均值间的偏离程度(详见统计学方法)。

3. 绝对误差

绝对误差是指测定值与真值之间的差数,是表示精确度的一种方法。

$$\text{绝对误差} = \text{测定值} - \text{真值}$$

绝对误差的值可正可负,正值表示测定结果偏高,负值表示测定结果偏低。但是所谓真值往往是未知的,实际上是由多次精确测定的结果的平均值来代替真值的,所以绝对误差=测定值-测定均值。

4. 相对误差

绝对误差表示的是误差绝对值的大小,而不是误差率的概念,实践中用得更多的是相对误差。更多的情况是用相对误差来表示测定结果的准确性。

$$\text{相对误差} = (\text{测定值} - \text{真值}) / \text{真值} \times 100\%$$

$$\text{相对偏差} = (\text{测定值} - \text{测定均值}) / \text{测定均值} \times 100\%$$

(四)表示检测精准程度的几个概念

1. 准确度

准确度是指测定值与真值相接近的程度,通常用误差的大小来表示,误差愈小,准确度愈高。误差又分为绝对误差和相对误差,它们都可以用来表示测定的准确度,大多情况下是用相对误差来表示实验测定结果的准确性。

绝对误差 = 测定值 - 真值

相对误差 = (测定值 - 真值) / 真值 × 100%

例如,用分析天平称得甲、乙两份样本的质量各为 2.1750g 和 0.2175g,假定两者的真值各为 2.1751g 和 0.2176g,则称量的绝对误差分别为:

$$2.1750 - 2.1751 = -0.0001(\text{g})$$

$$0.2175 - 0.2176 = -0.0001(\text{g})$$

它们的相对误差分别为:

$$-0.0001 / 2.1751 \times 100\% = -0.005\%$$

$$-0.0001 / 0.2176 \times 100\% = -0.05\%$$

两份样本称量的绝对误差虽然相等,但当用相对误差表示时,甲的称量的准确度比乙大 10 倍。所以用相对误差来表示更为准确。

但是由于真值是并不知道的,因此在实际工作中无法求出分析的准确度,而只能用精密度来评价分析的结果。

2. 精密度

精密度是指在相同条件下(同样的仪器、同样的方法等),对同一个样本进行多次反复测定后所得数据的相近程度。精密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 - 算术平均值(不计正负号)

相对偏差 / % = (个别测定值 - 算术平均值) / 算术平均值 × 100%

精密度是用来衡量在规定的实验方法和条件下实验结果的稳定性和重复性的一个重要指标,它代表着各测定值的分散和密集程度。各测定值之间彼此愈接近,表示重复性愈好;测定值的偏差愈小,精密度愈高,方法愈稳定。当然和准确度的表示方法一样,用相对偏差来表示实验的精密度,比用绝对偏差更有意义。

精密度和准确度有一定的关系,但两者不是统一的,精密度高不等于准确度高,反之亦然。准确度的高低表示测定结果的好坏,系统误差的大小;而精密度的高低则表明方法的稳定性、重复性的好坏。只有在消除了系统误差以后,使用精密度高的方法,才能做到既精密又准确,可称之为精确的方法。

在实验中,对某一样品同时进行多次平行测定求得算术平均值,作为该样品的分析结果。对于每次测定结果的精密度,常用平均绝对偏差和平均相对偏差来表示。

例如,五次分析某一蛋白质中氮的质量分数的结果,其算术平均数和各测定值的绝对偏差如下:

分析结果	算术平均值	各测定值的绝对偏差(不计正负)
16.1%	16.0%	0.1%
15.8%		0.2%
16.3%		0.3%
16.2%		0.2%
15.6%		0.4%

它们的平均绝对偏差和平均相对偏差分别是:

$$\text{平均绝对偏差} = (0.1\% + 0.2\% + 0.3\% + 0.2\% + 0.4\%) / 5 = 0.2\%$$

$$\text{平均相对偏差} = \text{平均绝对偏差} / \text{算术平均值} \times 100\% = 0.2 / 16.0 \times 100\% = 1.25\%$$