

生物化学实验

罗先群 曹献英 ◎ 主编

SHENGWU HUAXUE SHIYAN



化学工业出版社

卓越
工程师教育



大学化学化工基础实验系列教材

生物化学实验

罗先群 曹献英 主编



化学工业出版社

全书分为生物化学实验技术基础和生物化学实验两部分,共8章。第一部分生物化学实验技术基础介绍生物化学实验须知和分光光度技术、离心技术、色谱技术、电泳技术四种常用的生物化学实验技术基本原理;第二部分生物化学实验包括基础实验、综合应用型实验和设计性实验共49个实验,保留了一些对加强学生基本实验方法和技能训练行之有效的传统实验,又紧跟生物化学发展的需要开设了综合应用型实验和设计性实验,使学生有一个完整的实验锻炼过程,培养学生科研思维和独立开展研究工作的能力。

本书可供全国高等院校生物、食品、环境、农学、林学、医学、药学等相关专业的学生和科技人员使用。

图书在版编目(CIP)数据

生物化学实验/罗先群,曹献英主编. —北京:化学工业出版社,2015.8

卓越工程师教育培养计划系列教材

ISBN 978-7-122-24049-1

I. ①生… II. ①罗…②曹… III. ①生物化学-实验-高等学校-教材 IV. ①Q5-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第106300号

责任编辑:徐雅妮 杜进祥

文字编辑:刘志茹

责任校对:宋 玮

装帧设计:关 飞

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印 装:三河市延风印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张14 字数336千字 2015年10月北京第1版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:30.00元

版权所有 违者必究

大学化学化工基础实验系列教材

编委会

主 任 张玉苍

副 主 任 (按姓氏笔画排序)

尹学琼 朱 文 孙中亮
罗先群 罗盛旭 庞素娟

编 委 (按姓氏笔画排序)

王 江	王 博	王 敦	王小兵	王华明
牛 成	甘长银	卢凌彬	冯建成	朱文婧
朱 莉	刘 江	刘 坚	劳邦盛	李小丽
李嘉诚	杨先会	肖开恩	肖厚贞	吴起惠
张 苹	张才灵	张永明	张军锋	张绍芬
张莉娜	张德拉	林 常	陈红军	陈尚文
陈俊华	苗树青	范春蕾	林尤全	罗明武
胡广林	胥 涛	贾春满	曹献英	梁志群
梁振益	赖桂春	黎吉辉	潘勤鹤	

《生物化学实验》

编写人员

主 编 罗先群 曹献英
副 主 编 杨先会 张莉娜 王小兵
参编人员 李小丽 张 苹

序

实验教学是培养学生实践动手能力和创新能力的重要手段。重视实验教学环节、创新实验教学模式、优化实验教学内容、统筹规划和顶层设计实验课程的教学与管理,是大学强化实践育人环节、推动人才培养模式改革的重要组成部分,是现代高等教育经受社会满意度检验、大学毕业生接受技术人才市场考验的有力保障。

化学化工基础实验是理、工、农、医等化学化工及相关专业实验教学的重要内容。大学化学化工相关专业实验课程较多,一般院校均同时开设无机化学实验、分析化学实验、有机化学实验、物理化学实验、生物化学实验及化学工程与工艺专业实验等课程,这些课程内容相互关联,知识点交叉重叠。而目前的化学化工基础实验类教材大多为单独编写,导致各实验课程教材内容重复,同一知识点多处讲授,甚至同一知识在不同课程教材里存在表述偏差等问题,容易使学生产生困扰,也使有限的学时得不到有效利用。因此,统筹编写一套组织结构合理、内容精炼、系统全面、学科针对性强、专业特色鲜明、易教易学的化学化工基础实验系列教材,将有助于化学化工及相近学科专业的人才培养。

海南大学是海南省唯一的一所“211工程”综合性大学,在理、工、农等学科领域具有丰富的化学化工实践教学经验。海南大学依托“海南省化学工程与技术省级重点学科”、“海南省化学化工实验教学示范中心”和“化学工程与工艺海南省特色优势专业”,凭借在化学化工领域五十余年的教学经验,组织数十名长期从事一线教学的教师,编写了本套化学化工基础实验系列教材,包括《无机化学实验》、《分析化学实验》、《有机化学实验》、《物理化学实验》、《生物化学实验》及《化学工程与工艺专业实验》。教材力求在内容选择及结构编排上呈现科学性、系统性、适用性、合理性和新颖性,兼备内容的深度与广度,循序渐进,帮助学生系统全面地掌握化学化工基础实验知识及操作技能。本系列教材适用面广,可作为普通高校化学化工类、生物类、农学类、海洋类、食品类、环境类专业本科生实验课教材。

本套教材由教育部高等学校化工类专业教学指导委员会委员、“海南省化学工程与技术省级重点学科”责任教授张玉苍组织编写,《无机化学实验》由尹学琼教授、《分析化学实验》由罗盛旭教授、《有机化学实验》由朱文教授、《物理化学实验》由庞素娟教授、《生物化学实验》由罗先群副教授、《化学工程与工艺专业实验》由孙中亮副教授具体负责编写。

希望通过本套教材的出版与推广使用,能够促进化学化工实验教学环节的改革与创新,提高学生的动手能力与创新能力,为“卓越工程师教育培养计划”背景下的理工科创新型人才培养提供教学支持。

大学化学化工基础实验系列教材编委会

2015年5月

前言

近 20 年来,随着现代生物技术的发展,生物化学作为一门基础实验性学科,其研究方法和实验技术在不断向前发展进步。《生物化学实验》是海南大学生物工程系生物化学教学团队十多年实践和理论教学经验的结晶。

全书分为生物化学实验技术基础和生物化学实验两部分。第一部分生物化学实验技术基础介绍了生物化学实验须知和分光光度技术、离心技术、色谱技术、电泳技术四种常用的生物化学实验技术的基本原理;第二部分生物化学实验共选编了 49 个实验,保留了一些对加强学生基本实验方法和技能训练行之有效的传统实验,又紧跟生物科学发展的需要开设了综合应用型实验和设计性实验,使学生有一个完整的实验锻炼过程,培养学生科研思维和独立开展研究工作的能力。本书附录部分包括各种常用数据表和有关参考资料,可供教师和学生查阅。

全书由罗先群、曹献英组织编写并统稿。第 1~5 章由罗先群、曹献英、张莉娜编写,第 6 章由张莉娜(实验 1~实验 10)、杨先会(实验 11~实验 33)、王小兵(实验 34~实验 36)编写,第 7 章由王小兵(实验 37~实验 46)编写,第 8 章由王小兵(实验 47~实验 49)编写。附录由罗先群和李小丽共同整理。本书编写过程中,李小丽、张苹、蔡雯雯、曾玲、普永权、张春媛、周方方、李唐元、刘雪冰做了大量细致的工作。本书的出版得到了海南大学化学化工学院领导的大力支持和帮助,在此对他们一并表示衷心感谢。

生物化学是蓬勃发展的学科,由于编者知识和经验有限,书中不足之处在所难免,敬请读者批评指正。

编 者

2015 年 5 月

目 录

第一部分 生物化学实验技术基础

第 1 章 生物化学实验须知	1
1.1 生物化学实验的目的	1
1.2 生化实验室实验规则	1
1.3 生化实验室安全及防护知识	2
1.3.1 实验室安全知识	2
1.3.2 实验室急救	3
1.4 实验误差与数据处理	4
1.4.1 系统误差	4
1.4.2 偶然误差	4
1.4.3 操作错误	5
1.4.4 数据处理	5
1.5 实验报告	6
第 2 章 分光光度技术	7
2.1 分光光度技术原理	7
2.1.1 光谱	7
2.1.2 光吸收定律	8
2.2 分光光度计的构造	10
2.2.1 光源	10
2.2.2 单色光器	10
2.2.3 比色皿	12
2.2.4 检测器	12
2.3 7220 型分光光度计	13
2.3.1 仪器外部结构及各部分名称和功能	13
2.3.2 仪器使用方法	15
2.3.3 注意事项	15

2.4 分光光度技术在生化试验技术中的应用	16
-----------------------------	----

第3章 离心技术	17
-----------------------	-----------

3.1 离心技术的基本原理	17
3.2 离心机的类型和主要构造	18
3.2.1 离心机的类型	18
3.2.2 离心机的主要构造	19
3.3 离心方法的选择	21
3.3.1 差速离心	21
3.3.2 密度梯度离心	21
3.4 离心条件的确定	22
3.4.1 离心力	22
3.4.2 离心时间	22
3.4.3 温度	23
3.4.4 pH 值	23

第4章 色谱技术	24
-----------------------	-----------

4.1 色谱技术原理	24
4.2 色谱的基本概念	24
4.2.1 固定相与流动相	24
4.2.2 分配系数与迁移率	24
4.2.3 分离度(分辨率)	25
4.2.4 交换容量(或操作容量)	26
4.2.5 正相色谱与反相色谱	26
4.3 色谱技术的分类	26
4.3.1 按流动相-固定相分类	26
4.3.2 按实验方法分类	27
4.3.3 按分离的机制分类	27
4.4 常用的几种色谱技术	28
4.4.1 纸色谱	28
4.4.2 薄层色谱	30
4.4.3 离子交换色谱	32
4.4.4 凝胶色谱	35
4.4.5 高效液相色谱	41
4.4.6 气相色谱	49
4.4.7 亲和色谱	51

第 5 章 电泳技术	60
5.1 电泳的基本原理	60
5.1.1 电荷的来源	60
5.1.2 泳动度	60
5.1.3 影响电泳的主要因素	61
5.2 电泳的分类	62
5.2.1 按分离原理分类	62
5.2.2 按分离目的分类	63
5.2.3 按用途分类	63
5.3 常用的电泳技术	63
5.3.1 纸电泳	63
5.3.2 醋酸纤维薄膜电泳	65
5.3.3 琼脂糖凝胶电泳	66
5.3.4 聚丙烯酰胺凝胶电泳	67
5.3.5 毛细管电泳	72
5.3.6 免疫电泳技术	73
5.3.7 等电聚焦电泳	74
5.3.8 双向凝胶电泳	77

第二部分 生物化学实验

第 6 章 生物化学基础实验	79
实验 1 糖的颜色反应和还原性鉴定	79
I. 莫氏 (Molisch) 反应鉴定糖	79
II. 塞氏 (Seliwanoff) 反应鉴定酮糖	81
III. 杜氏 (Tollen) 反应鉴定戊糖	82
IV. 糖的还原性鉴定	82
实验 2 植物组织中可溶性糖含量测定——蒽酮比色法	84
实验 3 还原糖和总糖的测定——3,5-二硝基水杨酸法	87
实验 4 血糖的定量测定	90
I. 邻甲苯胺法测定血糖含量	90
II. 葡萄糖氧化酶法测定血糖含量 (GOD-PAP 法)	92
实验 5 淀粉的提取、性质和含量测定	93
实验 6 肝糖原的提取和鉴定	96
实验 7 粗脂肪的含量测定——索氏抽提法	97
实验 8 油脂的化学性质	99
I. 油脂皂化值的测定	99
II. 油脂酸值的测定	101
III. 油脂碘值的测定	101

实验 9 卵磷脂的提取及鉴定	104
实验 10 血清总胆固醇的定量测定	105
I. 磷硫铁法测定血清胆固醇	106
II. Abell 法测定血清胆固醇	107
III. 胆固醇氧化酶法测定血清胆固醇	108
实验 11 蛋白质的颜色反应和沉淀作用	110
I. 蛋白质的颜色反应	110
II. 蛋白质的沉淀反应	113
实验 12 蛋白质浓度测定 (微量凯氏定氮法)	115
实验 13 蛋白质含量测定——紫外吸收法	117
实验 14 蛋白质的含量测定(二)——双缩脲法、考马斯亮蓝结合法、BCA 法	119
I. 双缩脲法测定蛋白质浓度	119
II. 考马斯亮蓝结合法测定蛋白质浓度	121
III. BCA 法测定蛋白质含量	122
实验 15 非蛋白氮 (NPN) 的测定	124
实验 16 DNP、DNS-氨基酸的制备和鉴定	126
实验 17 肽的序列分析——PTH 法	130
实验 18 醋酸纤维薄膜电泳分离血清蛋白	132
实验 19 SDS-聚丙烯酰胺电泳法测定蛋白质的相对分子质量	134
实验 20 血清白蛋白的分离与纯化	138
实验 21 葡聚糖凝胶柱色谱分离纯化蛋白质	140
实验 22 火箭免疫电泳	143
实验 23 核酸的含量测定	144
实验 24 DNA 琼脂糖凝胶电泳	147
实验 25 动物肝脏中 DNA 的提取与紫外检测	148
实验 26 CTAB 法提取植物基因组 DNA	150
实验 27 酵母 RNA 的提取与鉴定	152
实验 28 质粒 DNA 的提取	153
实验 29 肝脏中谷丙转氨酶的活力测定	155
实验 30 过氧化氢酶米氏常数的测定	157
实验 31 测定多种因素对唾液淀粉酶活力的影响	159
实验 32 猪血中超氧化物歧化酶 (SOD) 的提取及活力测定	161
实验 33 多酚氧化酶的制备和化学性质	163
实验 34 维生素 A 的定性测定	164
实验 35 维生素 B ₁ 的定性测定	165
实验 36 维生素 C 的定量测定 (磷钼酸法)	167

第 7 章 综合应用型实验

实验 37 溶菌酶的提纯和活力测定	170
-------------------------	-----

实验 38	芦荟多糖的制备和含量测定	172
实验 39	发酵过程中的无机磷和 ATP 检测	174
实验 40	胰岛素和肾上腺素对血糖浓度的影响	176
实验 41	叶绿体色素的提取、分离和含量测定	178
实验 42	用正交法测定几种因素对牛胰蛋白水解酶活力的影响	180
实验 43	DNA 聚合酶链式反应及产物鉴定 (PCR)	184
实验 44	气相色谱法检测果蔬中有机氯类和拟除虫菊酯类农药	186
实验 45	质粒 DNA 的提取、酶切及鉴定	189
实验 46	汉防己中生物碱的提取、分离和鉴定	192
第 8 章	设计性实验	195
实验 47	果皮废弃物中果胶的制备	195
实验 48	茶叶中茶多酚物质的提取与含量测定	196
实验 49	蛋白质的表达、分离、纯化和鉴定	197
附录		198
附录 1	常用缓冲液的配制	198
附录 2	硫酸铵饱和度常用表	203
附录 3	常见蛋白质相对分子质量参考值 (单位: Da)	204
附录 4	色谱法常用数据及性质	205
附录 5	各类物质常用的薄层显色剂	208
附录 6	凝胶染料种类及特点	209
参考文献		210

第一部分

生物化学实验技术基础

第1章

生物化学实验须知

1.1 生物化学实验的目的

生物化学实验课是一门实践性很强的生命科学基础课程，是整个生物化学教学活动中一个重要的环节。实验课教学的目的是通过实验验证生物化学的基本理论，加深对生物化学基本理论的理解和掌握，掌握生物化学实验的原理、基本操作技能和一般仪器的正确使用方法，培养严谨的科学态度和思维能力以及独立分析问题和解决问题的能力，养成严肃、认真、实事求是的科学作风和爱护国家财物、勤俭朴实的工作作风。

1.2 生化实验室实验规则

- (1) 学生在实验课前要认真预习实验内容，明确实验目的和要求，了解实验的步骤、方法和基本原理，写好预习报告。
- (2) 学生进入实验室时应穿戴整齐，不得穿拖鞋及短裤、背心等使身体大面积裸露的服装出入实验室，以免实验药品腐蚀肌肤。
- (3) 自觉遵守实验室纪律，保持室内安静，禁止喧哗。
- (4) 爱护仪器设备，严格遵守仪器操作规程。仪器发生故障时应及时报告教师，未经许可不得随意拆卸、检修。因违反操作规程造成仪器损坏者需按规定赔偿。

(5) 配制试剂要节约,按实验实际使用量配制。多余的贵重试剂、材料和各种有机试剂要按照教师要求回收和处理,不得随意丢弃。

(6) 所用试剂和样品,必须贴上标签,标签写上试剂名称、浓度、班级、姓名和日期。易挥发溶液和酸性溶液必须严密封口。

(7) 各实验组的仪器和玻璃器皿需妥善保管,实验完毕及时清理洗净,放回各组的实验柜内。不得将实验器皿丢弃在实验台面上或水池内,保持实验台面整洁。

(8) 实验室内的一切物品,未经实验室负责人批准,不得私自带出实验室。

(9) 实验完毕,值日生负责做好实验室的卫生清理工作,并检查水、电,关好门、窗,经教师检查合格后,方可离开实验室。

1.3 生化实验室安全及防护知识

生物化学实验室是进行教学和科研的场所,人员多、设备多、线路多、化学试剂多,稍有不慎,水、电、火、毒、伤等事故均有可能发生,会危及人体健康乃至生命。学生初次进入实验室,教师及实验室管理人员应首先对学生进行实验室安全观念的教育,要求学生重视实验中的安全工作,防患于未然。学生应该熟悉实验室安全防护知识。一旦发生事故,应及时采取正确的急救措施,以防事故进一步扩大。

1.3.1 实验室安全知识

1. 安全用电

(1) 实验室管理人员必须经常检查电源线路及插座,发现电线绝缘胶皮老化或插座破裂等隐患要及时维修更换。

(2) 不得超负荷使用电器设备。

(3) 严格按照仪器使用规程操作。

(4) 使用仪器设备时,要注意电压、电流是否符合仪器的规定要求,必要时应使用稳压器或调压器。

(5) 仪器长时间不用,要拔下插头,并及时拉闸。

(6) 电器、电线着火时,不可用泡沫灭火器灭火。

2. 节约用水, 安全防火

(1) 节约用水。用水完毕应随手关闭水龙头。水槽内不可堆积仪器或杂物,以防排水不畅时溢出水槽。

(2) 生物化学实验过程中经常使用一些易燃易爆试剂,如乙醚、丙酮、乙醇、苯等,因此,实验室内严禁吸烟,冰箱内不许存放可燃液体。实验室内使用的可燃物,应远离火源和电器开关。

(3) 易燃易爆物质的残渣不得倒入污物桶或水槽中,应收集在指定的容器内。

3. 严防中毒, 注意安全

(1) 领用剧毒试剂应按规定办理审批手续后领取,并由专人妥善保管。

(2) 使用毒性物质和致癌物质必须根据试剂瓶上标签说明严格操作,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,使用后的容器应单

独清洗、处理。

4. 小心处理生物化学实验废弃物

生物材料,如微生物、动物的组织、细胞培养液、血液、分泌物,以及实验动物等都可能存在细菌和病毒感染的潜在性危险。实验完成后,被污染的物品必须进行高压消毒灭菌或烧成灰烬,被污染的玻璃器皿需高压灭菌之后再清洗。

1.3.2 实验室急救

1. 实验中不慎受伤,应立即采取适当的急救措施

(1) 受玻璃割伤或其他机械损伤。首先检查伤口内是否有玻璃或金属碎片,然后用硼酸水洗净,再涂擦碘酒或红药水,必要时用纱布包扎。如伤口较大或过深而大量出血,应迅速在伤口上部和下部扎紧血管止血,立即送往医院诊治。

(2) 烫伤。轻度烫伤一般可涂上苦味酸软膏。如果伤口红痛或红肿(一级灼伤),可擦医用橄榄油;若皮肤起泡(二级灼伤),不要弄破水泡,防止感染;若伤处皮肤呈棕色或黑色(三级灼伤),应用干燥而无菌的消毒纱布轻轻包扎好,紧急送医院治疗。

(3) 化学试剂灼伤。强碱和碱金属引起的灼伤,先用大量的自来水冲洗,再用5%硼酸溶液或2%醋酸溶液涂洗。强酸、溴等引起的灼伤,立即用大量的自来水冲洗,再用5%碳酸氢钠溶液或5%氨水溶液洗涤。酚触及皮肤引起灼伤可用乙醇洗涤。

(4) 被实验动物咬伤。被咬后立即挤压伤口排去带毒液的污血,然后用20%肥皂水或0.1%新洁尔灭彻底清洗,再用清水洗净,继用2%~3%碘酒或75%乙醇局部消毒。为确保安全,必须及时去防疫部门接种疫苗。

2. 实验室常备急救药品

为了对实验室意外事故进行紧急处理,实验室应配备急救药箱,常备药品清单如下。

(1) 红药水。将20g红汞加入800mL去离子水中,搅拌使之溶解后定容至1000mL。配制时勿将红汞一次完全倒入水中,以免结块。红药水有止血、消毒的功能。

(2) 碘酒。碘25g,碘化钾10g,乙醇500mL,水加至1000mL。配制时应先将碘化钾溶解于10mL水中,配成饱和溶液,再将碘加入碘化钾溶液中,最后加入乙醇搅拌溶解,再定容至1000mL。

(3) 烫伤膏。

(4) 饱和碳酸氢钠溶液。

(5) 5%硼酸溶液。

(6) 2%醋酸溶液。

(7) 5%氨水。

(8) 5%硫酸铜溶液。

(9) 高锰酸钾晶体(需要时再制成溶液)。

(10) 甘油。

(11) 消炎粉。

(12) 泻药(如硫酸镁等)。

(13) 催吐剂。

1.4 实验误差与数据处理

生物化学实验是以活的生命体为对象,对生物体内存在的主要大分子物质,如糖、脂肪、蛋白质、核酸、酶等进行定性或定量的分析测定。定性分析是确定存在物质的种类,或粗略计算物质所占的比例;而定量分析则需要确定物质的精确含量。因此分析工作者要根据实验要求对实验结果进行分析和总结,要善于分析和判断结果的准确性,认真查找可能出现误差的原因,并进一步研究减少误差的办法,以不断提高所得结果的准确度。

一般在实验测量过程中都会有误差产生,但在懂得这些误差的可能来源的前提下,多数的误差是可以通过适当的处理来校正的。

产生误差的原因很多,一般根据误差的性质和来源可把误差分为两类,即系统误差和偶然误差。

1.4.1 系统误差

系统误差是指在测量过程中某些经常发生的原因所造成的误差。它对分析结果的影响比较稳定,常在重复实验时重复出现,使测定结果系统偏高或偏低。

1. 系统误差的来源

(1) 方法误差:如用滤纸称量易潮解的药品;做生物实验特别是酶的实验时没有考虑温度的影响等。

(2) 仪器误差:如量取液体时,按烧杯的指示线量取液体往往准确度降低,需要用量筒量取;在配制标准溶液时量筒同样不够精确,要选用等体积的容量瓶定容至刻度线;不同的天平其精度差别很大,如果需要称量 100g 以上的物体,使用托盘天平即可,但如称量 1g 的样品,选用扭力天平比较方便,称量 10mg 以内的样品则必须使用感量为万分之一克的分析天平或电子天平称取。

(3) 试剂误差:如试剂不纯或蒸馏水不合格,引入微量元素或对测定有干扰的杂质,就会造成一定的误差。

(4) 操作误差:如在使用移液管量取液体时,由于每人的操作手法不同,可能会存在一定的操作误差。特别是在读数据时,目光是否平视,视线与液体弯月面是否相切,都可成为生化实验中造成较大误差的主要原因。

2. 系统误差的校正

(1) 仪器校正:在实验前对使用的砝码、容量皿或其他仪器进行校正,对 pH 计、电接点温度计等测量仪器进行标定,以减少误差。

(2) 空白试验:在任何测量实验中都应包括有对照的空白实验。用同体积的蒸馏水或样品中的缓冲液代替待测溶液,并严格按照待测液和标准液同样的方法处理,即得到所谓的空白溶液。在最后计算时,应从实验测得的结果中扣除从空白溶液中得到的数值,即可得到比较准确的结果。

1.4.2 偶然误差

由于难以察觉的原因或由于个人一时辨别差异,或是某些不易控制的外界因素而引起的

误差称为偶然误差。一般生物类实验的影响因素是多方面的。常常由于某些条件,如温度、光照、气流、反应时间、反应体系的微小变化都会引起较大的误差。特别是某些因素的作用机理目前仍不十分清楚,所以有些实验结果重现性较差。

偶然误差初看起来似乎没有规律性,但经过多次实验,便可发现偶然误差的分布有以下规律:一是正误差和负误差出现的概率相等;二是小误差出现的频率高,而大误差出现的频率较低。因此解决偶然误差主要可通过进行多次平行实验,然后取其平均值来弥补。测试的次数越多,偶然误差的概率就越小。

1.4.3 操作错误

除了上述两种误差外,往往还有由于操作不认真,观察不仔细,没有按操作规程去操作等引起的操作错误。这对于初做生物化学实验的工作者来说是经常发生的。如加错试剂、在配制标准溶液时固体溶质未被溶解就用容量瓶定容、在称量样品时未关升降钮就加减砝码、在做电泳时点样端位置放错、在做抽滤实验时应留滤液却误留滤渣、在作图时坐标轴取反以及记录和计算上的错误等。这些失误会对分析结果产生极大的影响,致使整个实验失败。所以,在实验中一定要避免操作错误,培养严谨和一丝不苟的科学实验作风,养成良好的实验习惯,减少失误的发生。

此外,在实际工作中要根据实验目的,设计好切实可行的实验方案,并根据实际需要的准确度来选择测试手段(仪器及方法)。如在做定性实验时,称量及配制试剂可相对粗些,可选择台秤及量筒来称重、量取,而在做定量实验时,则必须使用分析天平及容量瓶来称量、定容,以确保实验数据真实可靠。

1.4.4 数据处理

将实验中的现象、数据进行整理、分析,得出相应的结论。在生物化学实验中多以图表法来表示实验结果,这样可使实验结果清楚明了。特别在生化实验中通过对标准样品的一系列分析测定,制作图表或绘制标准曲线等,可为以后待测样品的分析提供方便的条件。如通过实验值在图表中直接查出结果。现将常用方法介绍如下。

(1) 列表法:通常将实验所得的各种数据列出表格。通常在表格的第一行和第一列标出数据的名称或单位,其余行列内只填数字。有的表格在中间或末端的一行内还要填上反应条件如“水浴中加热 5min”等。

(2) 作图法:实验所得的一系列数据之间的关系及变化情况,常常可用图线表示,这样可直观地分析实验数据。图表法比较适用于实验数据较多的情况,但不易清楚地表示数据间的情况。如生化实验中用比色法测定未知样品浓度时,常常采用绘制已知标准样品浓度的工作曲线,然后在同样工作条件下测定未知样品,用所得的数据从标准工作曲线中查出未知样品的浓度。作图时,首先要在坐标纸上标出坐标轴,标明轴的名称和单位,然后在横轴和纵轴上一一找出实验交叉点,用“×”或“.”标注上,再用直线或平滑线将各点连接起来。图线不一定经过所有实验数据点,但要求线必须尽量通过或靠近大多数数据点。个别偏离过大的点应舍弃,或重复试验进行校正。此外,在图上还应标明标题,以防单纯看图的人对此图不知所云。