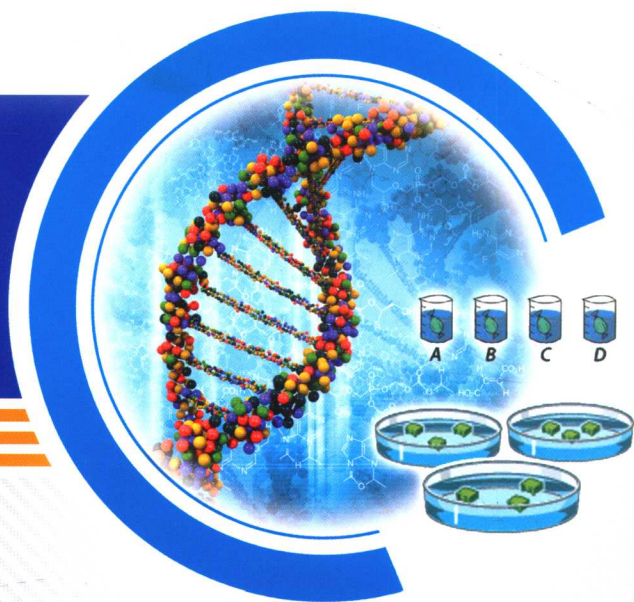




高等学校规划教材 | 畜牧兽医类

动物 生物化学实验



主 编 ● 罗 献 梅 甘 玲

DONGWU SHENGWU

HUAXUE SHIYAN



西南师范大学出版社
国家一级出版社 全国百佳图书出版单位



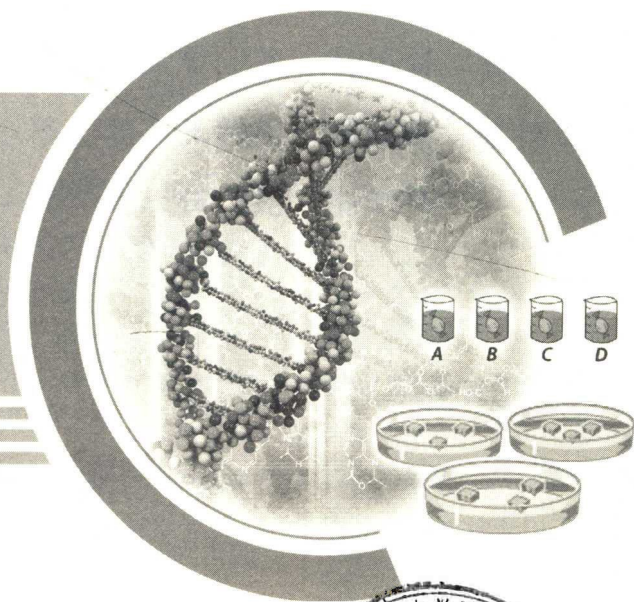
高等学校规划教材 | 畜牧兽医类

动物 生物化学实验

主编 ● 罗献梅 甘玲

DONGWU SHENGWU

HUAXUE SHIYAN



西南师范大学出版社
国家一级出版社 全国百佳图书出版单位

图书在版编目(CIP)数据

动物生物化学实验 / 罗献梅, 甘玲主编. — 重庆:
西南师范大学出版社, 2013.6
ISBN 978-7-5621-6306-0

I. ①动… II. ①罗… ②甘… III. ①动物学-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(2013)第139471号

动物生物化学实验

DONGWU SHENGWU HUAXUE SHIYAN

主 编 罗献梅 甘 玲
副主编 郭建华 张恩平 申 红

责任编辑: 杜珍辉

封面设计: 魏显锋

出版发行: 西南师范大学出版社

地址: 重庆市北碚区天生路1号

邮编: 400715

市场营销部电话: 023-68868624

<http://www.xscbs.com>

经 销: 新华书店

印 刷: 重庆川外印务有限公司

开 本: 787mm×1092mm 1/16

印 张: 17

字 数: 420千字

版 次: 2013年8月 第1版

印 次: 2013年8月 第1次印刷

书 号: ISBN 978-7-5621-6306-0

定 价: 33.00元

衷心感谢被收入本书的图文资料的原作者,由于条件限制,暂时无法和部分原作者取得联系。恳请这些原作者与我们联系,以便付酬并奉送样书。

若有印装质量问题,请联系出版社调换。

版权所有 翻印必究

高等学校规划教材·畜牧兽医类

总编委会 / ZONG BIAN WEI HUI

总主编:王永才 刘娟

编委(排名不分先后):

刘娟	黄庆洲	伍莉	朱兆荣
罗献梅	甘玲	谢和芳	刘安芳
兰云贤	曾兵	杨远新	黄琳凯
陈超	王鲜忠	帅学宏	黎德斌
段彪	伍莲	陈红伟	

《动物生物化学实验》

编委会 / BIAN WEI HUI

主 编:罗献梅 (西南大学)

甘 玲 (西南大学)

副主编:郭建华 (西南大学)

张恩平 (西北农林科技大学)

申 红 (石河子大学)

参 编:(按姓名拼音顺序排列)

李凤鸣 (新疆农业大学)

韩志刚 (重庆医科大学)

徐秀容 (西北农林科技大学)

张永云 (云南农业大学)

钟 凯 (河南农业大学)

前 言

《动物生物化学实验》为西南大学2013年校级规划教材,该教材为动物科学、动物医学和水产养殖等专业的本科教学编写。随着生物技术的迅猛发展,《动物生物化学实验》本着内容适应现今教学、满足课程建设、培养学生的实践动手能力等人才培养需要的宗旨而编写。

动物生物化学实验是动物科学和动物医学等专业学生的专业基础课,是培养相关专业的大学生实验技能的重要课程之一。为使学生对当前常用的动物生化技术有较全面的了解,本教材先介绍动物生物化学实验概论,然后按照各种技术(离心技术、光谱技术、电泳技术、生物大分子的分离制备技术、层析技术、免疫技术、核酸技术等)分章节编排,每章先介绍该种技术的实验原理,然后就该种实验技术选择了一些代表性强、取材于动物的组织器官进行实验。目的在于通过系统实验使学生懂得这些实验技术的基本原理,掌握基本的操作,提高学生动手能力。全书编排的实验较多,各个院校可根据各校的实际情况选择使用。

该教材编写的主要特点:

1. 定位明确,主要针对动物科学、动物医学、水产养殖专业的学生编写。所有实验举例的材料全部来源于动物,实验内容针对性强,内容相对集中。
2. 按实验技术分类编排,易于让学生掌握其原理和操作,加深学生印象。
3. 既有与理论教材紧密配套的验证性实验,也有综合性实验内容。
4. 每个实验后面有相应的注意事项,便于学生自己独立完成,每个实验后面都有思考题帮助学生理解掌握实验原理,锻炼学生的分析能力。

本教材编写组由西南大学、西北农林科技大学、石河子大学、云南农业大学、河南农业大学、新疆农业大学、重庆医科大学等单位富有教学和实践经验并具有高级职称和高学历的人员组成。编写人员以认真负责的态度对编写的内容进行了反复阅读,认真校对,但书中的错误和不当之处在所难免,恳请各位专家和广大读者批评指正。

编 者

2013年5月

目 录

第一章 动物生物化学实验概论

第一节 生物化学实验基础	1
第二节 动物生物化学基础实验举例	19
实验一 常用实验样品的处理及制备	19
实验二 蛋白质的双缩脲反应	27
实验三 微量凯氏定氮法测定牛奶蛋白质含量	29
实验四 蛋白质的两性性质及等电点的测定	32
实验五 唾液淀粉酶活性的观察	34
实验六 脂肪酸的 β -氧化-酮体测定	37
实验七 蛋白质的盐析和透析	40

第二章 离心技术

第一节 离心技术原理	43
第二节 离心技术实验举例	54
实验一 牛乳蛋白质的提取与鉴定	54
实验二 肝糖原的提取与鉴定	56
实验三 琥珀酸脱氢酶的作用及其竞争性抑制的观察	58

第三章 光谱技术

第一节 分光光度技术的原理	61
第二节 光谱技术实验举例	69
实验一 血清总脂测定	69
实验二 血液中葡萄糖的测定(邻甲苯胺法)	71
实验三 血液中葡萄糖浓度的测定(福林—吴宪(Folin-wu)氏法)	73
实验四 血液非蛋白氮(NPN)的测定	76
实验五 考马斯亮蓝染色法(Bradford法)测定蛋白质浓度	79
实验六 血清谷丙转氨酶(GPT、GOT)活性的测定——赖氏法	82
实验七 兔肝转氨酶活力测定	85
实验八 血清游离脂肪酸的测定	89
实验九 Folin-酚试剂法(Lowry法)测定蛋白质浓度	91
实验十 紫外吸收法测定牛血清白蛋白含量	93
实验十一 紫外吸收法测定核酸含量	96

第四章 电泳技术

第一节 电泳的基本原理	99
第二节 电泳技术实验举例	104
实验一 醋酸纤维素薄膜电泳分离血清蛋白	104
实验二 琼脂糖凝胶电泳法分离乳酸脱氢酶同工酶	107
实验三 琼脂糖凝胶电泳法分离核酸	109
实验四 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定超氧化物歧化酶的相对分子质量	113
实验五 等电聚焦电泳法测定鸡卵类黏蛋白的等电点	118

第五章 生物大分子的分离制备技术

第一节 生物大分子分离制备的基本知识	123
--------------------------	-----

第二节 生物大分子分离制备实验举例	139
实验一 血浆IgG的分离纯化	139
实验二 细胞色素C的制备	146
实验三 鸡卵黏蛋白的制备	150
实验四 猪胰蛋白酶的制备	154
实验五 动物组织中DNA的制备	162
实验六 动物组织中总RNA及cDNA的制备	165

第六章 层析技术

第一节 层析技术基本原理	171
第二节 层析技术实验举例	195
实验一 氨基酸的分离鉴定——薄层层析法	195
实验二 纸层析法检测谷丙转氨酶活性	198
实验三 离子交换法纯化血清IgG	201
实验四 亲和层析法纯化胰蛋白酶	203

第七章 免疫化学技术

第一节 免疫化学技术原理	207
第二节 免疫技术实验举例	209
实验一 抗血清的制备	209
实验二 双向免疫扩散法测定抗血清效价	211
实验三 酶联免疫吸附法测定血清中IgG	213
实验四 免疫荧光法观察甲胎蛋白在人胎肝细胞中的分布	215
实验五 Western印迹法鉴定牛血清IgG	217

第八章 核酸技术

第一节 核酸技术原理	221
------------------	-----

第二节 核酸技术实验举例	224
实验一 动物基因组DNA的提取及质量鉴定	224
实验二 PCR技术	229
实验三 RNA的提取及鉴定	232
实验四 质粒DNA的提取、纯化及验证	234

附录

附录a 实验室常用数据表	237
附录b 常用缓冲液的配制方法	242
附录c 常用核酸、蛋白质换算数据	250
附录d 硫酸铵饱和度常用表	251
附录e 层析技术常用数据	253
附录f 动物生物化学相关专业部分网址	258

参考文献

第一章 动物生物化学实验概论

第一节 生物化学实验基础

一、生物化学实验基本知识

(一)生物化学实验技术发展简史

生物科学在20世纪有惊人的发展,其中生物化学与分子生物学的进展尤为迅速,这样一门最具活力和生气的实验科学,在21世纪必将成为带头的学科,这主要有赖于生物化学与分子生物学实验技术的不断发展和完善。这里我们简单回顾一下生物化学实验技术的发展历史。

20世纪20年代:微量分析技术促进了维生素、激素和辅酶等的发现。瑞典著名的化学家T·Svedberg奠基了“超离心技术”,1924年制成了第一台相对离心力为 $5\,000 \times g$ ($5\,000 \sim 8\,000 \text{ r/min}$)的离心机,开创了生物物质离心分离的先河,并准确测定了血红蛋白等复杂蛋白质的分子量,获得了1926年的诺贝尔化学奖。

20世纪30年代:电子显微镜技术打开了微观世界,使我们能够看到细胞内的结构和生物大分子的内部结构。

20世纪40年代:层析技术快速发展,两位英国科学家Martin和Synge发明了分配色谱(层析),他们获得了1952年的诺贝尔化学奖。由此,层析技术成为分离生物物质的关键技术。“电泳技术”是由瑞典著名科学家Tiselius所奠基的,该技术开创了电泳技术的新时代,他因此获得了1948年的诺贝尔化学奖。

20世纪50年代:自1935年Schoenheimer和Rittenberg首次将放射性同位素示踪用于碳水化合物及类脂物质中间代谢的研究以后,“放射性同位素示踪技术”在20世纪50年代有了大的发展,为阐明各种生物化学代谢过程起了决定性的作用。

20世纪60年代:用于生物化学研究的各种仪器、分析方法取得了很大的发展,如高压液相色谱(HPLC)技术,红外、紫外等光谱技术,NMR核磁共振技术等。1958年,Stem, Moore和Spackman设计出氨基酸自动分析仪,该仪器大大加快了蛋白质的分析工作。1967年,Edman和Begg制成了多肽氨基酸序列分析仪,到1973年Moore和Stein设计出氨基酸序列自动测定仪,又大大加快了对多肽一级结构的测定,十多年间氨基酸的自动测定工作得到了很大的发展和完善。



1962年,美国科学家Watson和英国科学家Crick,因为在1953年提出的DNA分子反向平行双螺旋模型而与英国科学家Wilkins分享了当年的诺贝尔生理学奖,Wilkins通过对DNA分子的X-射线衍射研究证实了Watson和Crick的DNA模型,他们的研究成果开创了生物科学的历史新纪元。在X-射线衍射技术方面,英国物理学家Perutz对血红蛋白的结构进行了X-射线结构分析,Kendrew测定了肌红蛋白的结构,两人因此而成为研究生物大分子空间立体结构的先驱,他们同获1962年的诺贝尔化学奖。

此外,在20世纪60年代,层析和电泳技术又有了重大的进展。1968~1972年,Anfinsen创建了亲和层析技术,开辟了层析技术的新领域。1969年,Weber应用SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳技术测定了蛋白质的分子量,使电泳技术取得了重大进展。

20世纪70年代:基因工程技术取得了突破性的进展,Arber,Smith和Nathans三个小组发现并纯化了限制性内切酶。1972年,美国斯坦福大学的Berg等人首次用限制性内切酶切割DNA分子,并实现了DNA分子的重组。1973年,美国斯坦福大学的Cohen等人第一次完成了DNA重组体的转化技术,这一年被定为基因工程的诞生年,Cohen因此而成为基因工程的创始人,从此,生物化学进入了一个新的大发展时期。与此同时,各种仪器、分析手段进一步发展,制成了DNA序列测定仪、DNA合成仪等。

20世纪80至90年代:基因工程技术进入辉煌发展的时期,1980年,英国剑桥大学的生物化学家Sanger和美国哈佛大学的Gilbert分别设计出两种测定DNA分子核苷酸序列的方法,并与Berg共获诺贝尔化学奖,从此,DNA序列分析法成为生物化学与分子生物学最重要的研究手段之一。他们3人在DNA重组和RNA结构研究方面都做出了杰出的贡献。

1981年由Jorgenson和Lukacs首先提出的高效毛细管电泳技术(HPCE),由于其高效、快速、经济的特点,该技术尤其适用于生物大分子的分析,因此受到生命科学、医学和化学等学科的科学工作者的极大重视,其发展极为迅速,是生化实验技术和仪器分析领域的重大突破,意义深远。现今,由于HPCE技术的异军突起,HPLC技术的发展重点已转到制备和下游技术。

1984年德国科学家Kohler、美国科学家Milstein和丹麦科学家Jerne由于发展了单克隆抗体技术,完善了极微量蛋白质的检测技术而共享了诺贝尔生理学奖。

1985年美国加利福尼亚州Cetus公司的Mullis等发明了PCR技术(Polymerase Chain Reaction)即聚合酶链式反应的DNA扩增技术,对于生物化学和分子生物学的研究工作具有划时代的意义,因而与第一个设计基因定点突变的Smith共享1993年的诺贝尔化学奖。除上述历史以外,还可以列出许多生物化学发展史上的重要成就,例如:

美国哈佛大学的Folin教授和中国的吴宪教授对生物化学常用的各种分析方法(血糖分析、蛋白质含量分析、氨基酸测定等)的建立做出了历史性的贡献。

美国化学家Pauling因确认氢键在蛋白质结构中以及生物大分子间相互作用的重要性等,他获得了诺贝尔化学奖。

英籍德裔生物化学家Krebs,在1937年发现了三羧酸循环,对细胞代谢及分子生物学的研究做出了重要贡献,他与美籍德裔生物化学家Lipmann共获1953年诺贝尔生理学奖。



英国生物化学家 Sanger 还于 1953 年确定了牛胰岛素中氨基酸的精确顺序, 而获得 1958 年的诺贝尔化学奖。

1959 年, 美籍西班牙裔科学家 Uchoa 发现了细菌的多核苷酸磷酸化酶, 研究并重建了将基因内的遗传信息通过 RNA 中间体翻译成蛋白质的过程。他和 Kornberg 分享了当年的诺贝尔生理医学奖, 而后者的主要贡献在于实现了 DNA 分子在细菌细胞和试管内的复制。

美国生物化学家 Nirenberg 在破译遗传密码方面做出了重要贡献, Holly 阐明了酵母丙氨酸 tRNA 的核苷酸排列顺序, 后来证明所有 tRNA 的结构均相似。美籍印度裔生物化学家 Khorana 曾合成了结构精确的已知核酸分子, 并首次人工制成酵母基因。他们 3 人共获 1969 年的诺贝尔生理医学奖。

法国生物学家 Lwoff、Jacob 和生物化学家 Monod 由于在病毒 DNA 和 mRNA 等方面出色的大量研究工作而共获 1965 年的诺贝尔生理医学奖。

1988 年, 美国遗传学家 McClintock 由于在 20 世纪 50 年代提出并发现了可移动的遗传因子而获得诺贝尔生理医学奖。

1989 年, 美国科学家 Altman 和 Cech 由于发现某些 RNA 具有酶的功能(称为核酶)而共享诺贝尔化学奖。

1993 年, 美国科学家 Roberts 和 Sharp 由于在断裂基因方面的工作而荣获诺贝尔生理医学奖。

1994 年, 美国科学家 Gilman 和 Rodbell 由于发现了 G 蛋白在细胞内信息传导中的作用而分享诺贝尔生理医学奖。

1995 年, 美国科学家 Lewis、德国科学家 Nusslein-Volhard 和美国科学家 Wieschaus 由于在 20 世纪 40~70 年代先后独立鉴定了控制果蝇体节发育基因而共享诺贝尔生理医学奖。

我国生物化学界的先驱吴宪教授, 20 世纪 20 年代初, 从美国回到中国, 并在协和医科大学生化系与汪猷、张昌颖等人一道完成了蛋白质变性理论、血液生化检测和免疫化学等一系列具有重大影响的研究。1965 年我国化学和生物化学家用化学方法首次人工合成了具有生物活性的结晶牛胰岛素, 1983 年又完成了酵母丙氨酸转移核糖核酸的人工合成。近年来, 在酶学研究、蛋白质结构及生物膜的结构与功能等方面都取得了举世瞩目的研究成果。

由近百年来生物化学及其实验技术的发展史可以看出, 该学科的发展与实验技术的发展密切相关, 每一种新的生化物质的发现与研究都离不开实验技术, 每一次新的实验技术的发明都大大地推动了生物化学研究的进步, 因此对于每一位现代生物科学工作者, 尤其是生物化学工作者, 学习并掌握各种生物化学实验技术就显得极为重要。

(二) 实验的准确性与误差

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、核酸等进行定性或定量的分析测定。定性分析可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, 从而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. 有效数字

做实验每天接触千千万万的数字,那什么是有效数字?是否小数点后数字愈多愈准确?数字1、2、3、4、5、6、7、8、9是有效数字。数字0可以是有效数,也可能不是,如果零只用来表示小数点的位置时,它就不是有效数。例如,0.070 080 kg,这个数字的前两个零都不是有效数字,它们只是用来表示小数点的位置。若改用另一个单位,即可把它们取消,如采用克为单位,就可写成70.080 g。7和8之间的两个零,是有效数字,若去除其中的两个零,数值就完全变了(0.0 708 kg或0.0 780 kg)。最后一位零也是有效数字,它指出在该项称重中,可以测定到0.000 010 kg,只不过数字正好是零。如果将最后的零去除,则意味着重量只能称到0.00 001 kg。有效数字的位数说明测定的准确度,应当符合这个测定(包括这个测定的每一个步骤)总的准确度。在作一项测定(长度、重量、容积、光密度、时间、电流、电压等)时,进行一项计算或报告一项实验结果时,在数值上都可包括一位估计的数字。例如用最小刻度为毫米的尺来量一个长度时,可以估算到刻度的1/10,就是估计到0.1 mm,如623.3 mm,0.3这个数是估计的,真实的数可能是623.1 mm或623.5 mm,最后一个数字是有误差的。计算一个乘数,如将3.625 mg/mL乘以1.26 h,在乘积中的值只能保留三位数字,因为乘积不可能比它原来的数字更为准确。又如将几个数值相加(0.410+0.1263+9.00),其和应是9.58,而不是9.5 763,因为数的和的准确度不会比它的相加各项中准确度最差的一项更好。据以上原因,在一个测定的各个环节中在可能范围内应选择准确度相类似的仪器,否则在某一环节中使用了一次准确度很低的仪器,则整个测定结果的准确度便降低了。同样,在某一个实验环节使用了一次准确度很高的仪器,这种测量也是毫无意义的。例如在滴定管的校正中,由于滴定管只能读到四位数字如32.18,水及称量瓶的重量也只需称到四位有效数字(如49.19 g),虽然分析天平可称至六位有效数字。后两位有效数也是无用的。这时可改用准确数为四位的天平即可。

2. 误差

误差即指一种被测物的测定结果与其真值的不符合性,真值往往是不能确切知道的,通常以多次测定结果的平均数来近似地代表真值。尽管实验的分析方法相当准确,仪器亦很精密,试剂纯度很高,操作者技术很熟练,然而这些都不能使某种物质的测定结果与其真值绝对相符。同一个样本多次重复测定,其结果亦不能完全相同。因此,实验中的误差是绝对的。根据误差的来源和性质,通常可分下述三大类。

(1)系统误差 系统误差是指一系列测定值存在有相同倾向的偏差,或大于真值,或小于真值,一般是恒定的。大多是由于某种确定的原因引起的,在一定条件下可以重复出现,误差的大小一般可以测出。经分析找出原因,可采取一定措施,减少或纠正。



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到刻度线;不同的天平其精度差别很大,如果需要称量 100 g 以上的物体,使用托盘天平即可,但如称量 1 g 的样品,选用扭力天平比较方便,称量 10 mg 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,都可能成为生化实验中造成较大误差的主要原因。

系统误差的校正:

①仪器校正 在实验前应对使用的砝码、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空白实验 在任何测量实验中都应包括空白实验。用同体积的蒸馏水或样品中的缓冲液代替待测溶液,并严格将待测液和标准液同法处理,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。

(2)偶然误差 与系统误差不同,偶然误差的大小,正负是偶然发生的。误差时大时小,时正时负,不固定,一般不可预测。分析的步骤愈多,出现这种误差的机会愈多,所以也不易控制。如遇到这种情况时,应对仪器、试剂、方法做全面的检查。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,便可发现偶然误差分布有以下规律。一是正误差和负误差出现的几率相等;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,偶然误差的机率就越小。

(3)责任误差 这种误差是由于工作人员工作态度不严肃,责任心不强,思想不集中,操作粗枝大叶所引起的,这种误差是可以避免的。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扭就加砝码、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,称量及配制试剂时准确度要求相对不高,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。

3. 误差的表示方法和计算

误差为一统称,严格地说应包括误差和偏差。所谓误差是指测定值与真值之差;而偏差是指测定值与测定均值之差,但通常将这两者混用,统称为误差。

(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偏差。

$$dm = \frac{\sum |di|}{n}, di = (X - \bar{X})$$

dm 为平均误差, X 为测定值, \bar{X} 为均值, di 为离均差, n 为次数。其缺点是取绝对值,无法表示出各次测量间彼此的符合情况。

(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(详见统计方法)。

(3)绝对误差 绝对误差是测定值与真值间的差数,表示准确度的一种方法。

$$\text{绝对误差} = \text{测定值}(X) - \text{真值}(U)$$

绝对误差有正值与负值,正值说明结果偏高,负值说明结果偏低。测定值与测定均值间的差异为绝对误差。所谓真值是未知的,实际上需用多次精确测定的结果(平均值)代替真值来使用,但一定要消除系统误差之后,所以,

$$\text{绝对误差} = \text{测定值}(X) - \text{测定均值}(\bar{X})$$

(4)相对误差 绝对误差表示误差绝对值的大小,在应用上受到一定的限制,无法比较测定中误差相互之间的大小。为了便于误差间的相互比较,常用相对误差。实践中常用的是:

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

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

(三)实验室安全及防护知识

在生化实验室中可以说是“五毒”俱全,即着火、爆炸、中毒、触电和割伤的危险均时刻存在。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。

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等火源,因此极易发生着火事故。常用有机溶剂的易燃性列表如下。

表 1.1 常见有机液体的易燃性

名称	沸点 / °C	闪点 / °C	自燃点 / °C
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

闪点:液体表面的蒸汽和空气的混合物在遇明火或火花时着火的最低温度。

自燃点:液体蒸汽在空气中自燃时的温度。

由上表可以看出:乙醚、二硫化碳、丙酮和苯的闪点都很低,因此不得保存于可能会产生电火花的普通冰箱内。低闪点液体的蒸汽只要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)废弃有机溶剂不得倒入废物桶,只能倒入回收瓶,以后再集中处理。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。

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,故改用玻璃纤维布做灭火毯。

(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,只能用灭火毯或砂土盖灭。

(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. 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汽在空气中的爆炸极限(体积%)见表1.2。

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。