

Na 2000-7

生物化学实验指导

北京大学生物系生物化学教研室编



65899

高等学校试用教材

生物化学实验指导

北京大学生物系生物化学教研室编

人民教育出版社

内 容 提 要

本实验指导是在1964年陈同度教授主编的《生物化学实验指导》和北京大学生物系生化教研室历年编写的实验教材的基础上,根据1977年教育部在成都召开的高等学校生物学教材会议拟订的生物化学教材编写大纲编写而成。全书分九章,共81个实验。包括滴定、比色、纸层析、聚酰胺薄膜层析、薄层层析、纸电泳及醋酸薄膜电泳、聚丙烯酰胺及琼脂糖电泳、离子交换及分子筛柱层析、瓦氏测压法、生化制备等基本实验技术。

本书可供综合大学、师范院校及其他高等学校有关专业作实验课教材之用,也可供科技人员参考。

高等学校试用教材

生物化学实验指导

北京大学生物系生物化学教研室编

*

人民教育出版社出版

新华书店北京发行所发行

人民教育出版社印刷厂印装

开本 787×1092 1/16 印张 19.5 字数 440,000

1979年7月第1版 1982年3月第2次印刷

印数 20,001—28,200

书号 14012·014 定价 1.45 元

前 言

本实验指导是在1964年陈同度教授主编的《生物化学实验指导》和北京大学生物系生物化学教研室历年编写的实验教材的基础上,根据1977年教育部在成都召开全国高等学校生物学教材会议拟订的生物化学教材的编写大纲,由生化教研室重新编写而成,大部分编写工作由俞梅敏、马树义两同志承担。在编写过程中,我们着眼于学生学习和掌握生物化学课程的基本理论、基本知识以及基本实验技能,培养学生具有初步分析问题和解决问题的能力。在编写中,还注意吸取了兄弟院校的一些教学经验。于1978年编写出初稿后,在南京全国生物化学教材会议上,经与会代表审阅指正,提出了宝贵的意见。据此,我们除了对每个实验进行了修改之外,还增添了一些内容,使这本实验教材更加充实、完善。

本实验指导通过学习滴定、比色、纸层析、聚酰胺薄膜层析、薄层层析、纸电泳、醋酸薄膜电泳、聚丙烯酰胺及琼脂糖电泳、离子交换及分子筛柱层析、瓦氏测压法、生化制备等基本实验技术(包括实验方法、操作技术和一些基本仪器的使用等),分析研究糖、脂、蛋白质、核酸、酶等生化物质及某些代谢过程,培养学生具有初步的科学实验能力及严格的科学作风,同时验证生物化学的某些基本理论知识,加深感性认识。

本书是与普通生物化学教材配合使用的。全书分九章,共计81个实验,其中59个实验约需200学时左右(目录中不带*号者),包括40—50学时的验证性实验。由于考虑到高等学校当前的实际情况和各校的专业特点,还编写了若干选择实验(在目录上注以*号者),供采用本教材的学校自行选用。

限于编者的理论水平和实践经验,编写时间仓促,书中错误和不足之处在所难免,敬盼读者批评指正。

北京大学生物系生物化学教研室

1979年7月

目 录

前言	1
实验室规则	2
实验误差与数据处理	3
实验记录及实验报告	9
第一章 糖的化学	11
实验一 糖的颜色反应	11
实验二 糖的还原性检验	13
实验三 寡糖和多糖的水解	16
实验四 糖脎的形成	17
* 实验五 糖的旋光性及变旋现象	20
实验六 3,5-二硝基水杨酸比色定糖法	22
* 实验七 费林试剂热滴定定糖法	24
* 实验八 血糖的测定	27
实验九 蒽酮比色定糖法	30
实验十 SHS 铜试剂法滴定还原糖	31
* 实验十一 Somogyi 比色法测定还原糖	36
第二章 脂类的化学	40
实验十二 中性脂肪的组成	40
实验十三 脂肪的不饱和脂肪酸	42
实验十四 粗脂肪的定量测定——索氏(Soxxhlet)提取法	43
实验十五 碘值的测定	45
实验十六 酸价的测定	48
七 血清总胆固醇的测定(邻苯二甲醛法)	49
附 血清胆固醇含量的测定(磷钼铁法)	51
卵黄中卵磷脂的提取和鉴定	52
七 糖组	53

第三章 蛋白质的化学	59
实验二十一 蛋白质及氨基酸的呈色反应	59
实验二十二 蛋白质的沉淀反应	66
实验二十三 蛋白质的两性反应和等电点的测定	69
实验二十四 双缩脲法测定蛋白质含量	71
* 实验二十五 Folin-酚法测定血清蛋白质含量	73
实验二十六 氨基酸的纸上层析法与血清氨基酸组成成分的研究	75
* 实验二十七 Dansyl-氨基酸的聚酰胺薄膜层析法	82
实验二十八 总氮量的测定——微量凯氏(Micro-Kjeldahl)定氮法	87
实验二十九 甲醛滴定氨基氮法	93
实验三十 紫外吸收法测定蛋白质含量	94
* 实验三十一 血清蛋白的纸上电泳	96
实验三十二 血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳	103
✓ 实验三十三 盘状聚丙烯酰胺凝胶电泳分离血清蛋白质	107
实验三十四 酪蛋白的制备	114
* 实验三十五 细胞色素C的制备及测定	115
实验三十六 对流免疫电泳	117
第四章 核酸的化学	121
实验三十七 酵母核糖核酸的水解及其组成成分的鉴定	121
实验三十八 核酸的碱基组成	122
实验三十九 DEAE-纤维素薄层	

	析法分离鉴定核苷酸	125
实验四十	动物组织核糖核酸及 脱氧核糖核酸的制备 及测定	127
实验四十一	紫外吸收法测定核酸 的含量	133
* 实验四十二	醋酸纤维素薄膜电泳 分离核苷酸	135
* 实验四十三	聚丙烯酰胺凝胶电泳 分离核糖核酸及琼脂 糖凝胶电泳分离脱氧 核糖核酸	137
第五章 酶		142
实验四十四	酶的特异性(专一性)	142
实验四十五	酶的激活剂及抑制剂	144
实验四十六	温度对酶活性的影响	145
实验四十七	pH 对酶活性的影响	147
实验四十八	小麦萌发前后淀粉酶 活性的比较	148
实验四十九	脂肪酶分解脂肪的作用	150
实验五十	细菌蛋白酶的活力及比 活力的测定	151
* 实验五十一	脲酶的动力学研究	154
附	康维(Conway)微量等温 蒸馏定氮法	160
实验五十二	溶菌酶的制备及活力 测定	163
* 实验五十三	酰化酶 I 的制备及活力 测定	167
附 1	茚三酮溶液显色法	171
附 2	微量甲醛滴定法	173
* 实验五十四	猪胰蛋白酶的制备及 活力测定	173
* 实验五十五	酵母异柠檬酸脱氢酶 ——一种别构酶的动力 学特征	177
第六章 生物氧化		180
实验五十六	脱氢酶的显现	180
实验五十七	黄素蛋白酶的定性实	

	氧化酶的定性反应	182
实验五十九	末端氧化酶的显现	184
实验六十	过氧化物酶的定性 反应	185
实验六十一	过氧化氢酶的定性 反应	186
* 实验六十二	琥珀酸脱氢酶及丙二 酸的抑制作用	187
第七章 维生素及激素		190
实验六十三	维生素 A 的定性试验	190
实验六十四	维生素 B ₁ 的定性试验	191
实验六十五	维生素 B ₂ 的定性试验	193
实验六十六	维生素 C 的定量测定	194
实验六十七	尼克酸的定性反应	197
实验六十八	肾上腺素的提取及 鉴定	198
第八章 组织代谢		200
实验六十九	肌糖元的酵解作用	200
实验七十	发酵过程中无机磷的 利用	203
实验七十一	脂肪转化为糖的定性 实验	205
实验七十二	脂肪酸的 β -氧化	206
* 实验七十三	氨基酸的生酮作用	208
实验七十四	氨基移换反应的定性 鉴定	209
* 实验七十五	大肠杆菌 β -半乳糖 苷酶的诱导合成	213
附	瓦氏呼吸计(Warburg 氏仪器) 测压法	217
* 实验七十六	胰岛素对血糖含量的调节	
第九章 柱层析法的基本训练		
实验七十七	离子交换树脂交换容 量的测定及无离子水 的制备	
实验七十八	离子交换柱	
* 实验七十九		

* 实验八十一 离子交换纤维素柱层析分离酶——多核苷酸磷酸化酶.....	240	(五) 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液(0.1M)	
附 录	245	(六) 醋酸-醋酸钠缓冲液(0.2M)	
一、实验室安全及防护知识.....	245	(七) 磷酸盐缓冲液	
(一) 实验室安全知识		(八) 磷酸二氢钾-氢氧化钠缓冲液(0.05M)	
(二) 实验室灭火法		(九) 巴比妥钠-盐酸缓冲液(18°C)	
(三) 实验室急救		(十) Tris-盐酸缓冲液(25°C)	
二、实验室基本操作和实验室常识.....	247	(十一) 硼酸-硼砂缓冲液	
(一) 玻璃仪器的清洗		(十二) 甘氨酸-氢氧化钠缓冲液(0.05M)	
(二) 搅拌和振荡		(十三) 硼砂-氢氧化钠缓冲液(0.05M 硼酸根)	
(三) 沉淀的过滤和洗涤		(十四) 碳酸钠-碳酸氢钠缓冲液(0.1M)	
(四) 实验室常识		六、指示剂.....	282
三、常用仪器的使用.....	251	七、冷却剂.....	283
(一) 容量仪器的使用和校正		八、层析法常用数据表.....	284
(二) 台称		(一) 离子交换纤维素	
(三) 分析天平		(二) 常用离子交换树脂某些物理化学性质表	
(四) 烘箱和恒温箱		(三) 各类离子交换树脂型号对照表	
(五) 电热恒温水浴		(四) 葡聚糖凝胶技术数据	
(六) 电冰箱		(五) 聚丙烯酰胺凝胶的技术数据	
(七) 电动离心机		(六) 琼脂糖凝胶的技术数据	
(八) 酸度计		九、一些常用数据表.....	290
(九) 光电比色计		(一) 元素的原子量表	
(十) 分光光度计		(二) 常用酸碱的百分浓度、比重和当量浓度关系	
四、试剂的配制.....	268	(三) 一些化合物的溶解度(20°C)	
(一) 一般注意事项		(四) 硫酸铵饱和度常用表	
(二) 一些常用术语		(五) 氨基酸的一些物理常数	
(三) 溶液浓度的表示及配制		(六) 核苷酸及其衍生物的一些物理常数	
(四) 溶液浓度的调整		(七) 离心机转速(RPM)与离心力(G)的换算	
五、常用缓冲溶液的配制.....	276	十、一些常用单位.....	303
(一) 甘氨酸-盐酸缓冲液(0.05M)		(一) 长度单位	
(二) 邻苯二甲酸-盐酸缓冲液(0.05M)		(二) 体积单位	
(三) 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液		(三) 重量单位	
(四) 柠檬酸-氢氧化钠-盐酸缓冲液		(四) 十进位数量词头及符号	
		(五) 一些常用名称的缩写或代号	

前 言

本实验指导是在1964年陈同度教授主编的《生物化学实验指导》和北京大学生物系生物化学教研室历年编写的实验教材的基础上,根据1977年教育部在成都召开全国高等学校生物学教材会议拟订的生物化学教材的编写大纲,由生化教研室重新编写而成,大部分编写工作由俞梅敏、马树义两同志承担。在编写过程中,我们着眼于学生学习和掌握生物化学课程的基本理论、基本知识以及基本实验技能,培养学生具有初步分析问题和解决问题的能力。在编写中,还注意吸取了兄弟院校的一些教学经验。于1978年编写出初稿后,在南京全国生物化学教材会议上,经与会代表审阅指正,提出了宝贵的意见。据此,我们除了对每个实验进行了修改之外,还增添了一些内容,使这本实验教材更加充实、完善。

本实验指导通过学习滴定、比色、纸层析、聚酰胺薄膜层析、薄层层析、纸电泳、醋酸薄膜电泳、聚丙烯酰胺及琼脂糖电泳、离子交换及分子筛柱层析、瓦氏测压法、生化制备等基本实验技术(包括实验方法、操作技术和一些基本仪器的使用等),分析研究糖、脂、蛋白质、核酸、酶等生化物质及某些代谢过程,培养学生具有初步的科学实验能力及严格的科学作风,同时验证生物化学的某些基本理论知识,加深感性认识。

本书是与普通生物化学教材配合使用的。全书分九章,共计81个实验,其中59个实验约需200学时左右(目录中不带*号者),包括40—50学时的验证性实验。由于考虑到高等学校当前的实际情况和各校的专业特点,还编写了若干选择实验(在目录上注以*号者),供采用本教材的学校自行选用。

限于编者的理论水平和实践经验,编写时间仓促,书中错误和不足之处在所难免,敬盼读者批评指正。

北京大学生物系生物化学教研室

1979年7月

实验室规则

(一) 每个同学都应该自觉地遵守课堂纪律, 维护课堂秩序, 不迟到, 不早退, 保持室内安静, 不大声谈笑。

(二) 在实验过程中要听从教师的指导, 严肃认真地按操作规程进行实验, 并简要、准确地将实验结果和数据记录在实验记录本上。完成实验后经教师检查同意, 方可离开。课后写出简要的报告, 由课代表收交给教师。

(三) 环境和仪器的清洁整齐是搞好实验的重要条件。实验台面、试剂药品架上必须保持整洁, 仪器药品要井然有序。公用试剂用毕应立即盖严放回原处。勿使试剂药品洒在实验台面和地上。实验完毕, 需将药品试剂排列整齐, 仪器要洗净倒置放好, 将实验台面抹拭干净, 经教师验收仪器后, 方可离开实验室。

(四) 使用仪器、药品、试剂和各种物品必须注意节约, 不要使用过量的药品和试剂。应特别注意保持药品和试剂的纯净, 严防混杂。不要将滤纸和称量纸做其他用途。使用和洗涤仪器时, 应小心仔细, 防止损坏仪器。使用贵重精密仪器时, 应严格遵守操作规程, 发现故障立即报告教员, 不要自己动手检修。要爱护国家财产。厉行节约。

(五) 注意安全。实验室内严禁吸烟! 煤气灯应随用随关, 必须严格做到: 火着人在, 人走火灭。乙醇、丙酮、乙醚等易燃品不能直接加热, 并要远离火源操作和放置。实验完毕, 应立即关好煤气门和水龙头, 拉下电闸, 各种玻璃器皿应放置稳妥。离开实验室以前应认真负责地进行检查, 严防不安全事故。

(六) 废弃液体(强酸强碱溶液必须先用水稀释)可倒入水槽内, 同时放水冲走。废纸、火柴头及其他固体废物和带有渣滓沉淀的废液都应倒入废品缸内, 不能倒入水槽或到处乱扔。

(七) 仪器损坏时, 应如实向教员报告, 认真填写损坏仪器登记表, 然后补领。

(八) 实验室内一切物品, 未经本室负责教员批准严禁携出室外, 借物必须办理登记手续。

(九) 每次实验课由班长安排同学轮流值日, 值日生要负责当天实验室的卫生、安全和一些服务性的工作。

(十) 对实验的内容和安排不合理的地方可提出改进意见。对实验中出现的一切反常现象应进行讨论, 并大胆提出自己的看法, 做到生动、活泼、主动地学习。

实验误差与数据处理

生化分析是对组成生物机体的几类主要化学物质,如糖、脂肪、蛋白质、核酸、维生素、酶等进行的分析和测定。定性分析只能确定存在哪些物质,或粗略知道这些物质所占的比例。要精确知道这些物质的含量必须进行定量分析。

一、误差

在进行定量分析实验测定的过程中,很难使测量出来的数值与客观存在的真实值完全相同。真实值与测量值之间的差别就叫做误差。通常用准确度和精密度来评价测量误差的大小。

准确度是实验分析结果与真实值相接近的程度,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。其表示式分别如下:

$$\Delta N = N - N'$$

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

式中: ΔN 为绝对误差, N 为测定值, N' 为真实值。

例如,用分析天平称得两种蛋白质物质的重量各为 2.1750 克和 0.2175 克,假定两者的真实质各为 2.1751 克和 0.2176 克,则称量的绝对误差应分别为:

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

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

它们的相对误差应分别为:

$$\frac{-0.0001}{2.1751} \times 100\% = -0.005\%$$

$$\frac{-0.0001}{0.2176} \times 100\% = -0.05\%$$

由此可见,两种蛋白质称量的绝对误差虽然相等,但当用相对误差表示时,就可看出第一份称量的准确度比第二份的准确度大 10 倍。显然,当被称量物体的重量较大时,称量的准确度就较高。所以应该用相对误差来表示分析结果的准确度。但因真实值是并不知道的。因此在实际工作中无法求出分析的准确度,只得用精密度来评价分析的结果。

精密度是指在相同条件下,进行多次测定后所得数据相近的程度。精密度一般用偏差来表示。偏差也分绝对偏差和相对偏差:

$$\text{绝对偏差} = \text{个别测定值} - \text{算术平均值}(\text{不计正负号})$$

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

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

在实验中,对某一样品通常进行多次平行测定,求得其算术平均值,作为该样品的分析结果。对于该结果的精密度常用平均绝对偏差和平均相对偏差来表示。平均绝对偏差是个别测定值的绝对偏差的算术平均值。

例如,分析某一蛋白质制剂含氮量的百分数,共测五次,其结果分别为: 16.1%, 15.8%, 16.3%, 16.2%, 15.6%, 用来表示精密度的偏差可计算如下:

分析结果	算术平均值	个别测定值的绝对偏差(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%

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

$$\text{平均相对偏差} = \frac{0.2}{16.0} \times 100\% = 1.25\%$$

在分析实验中,有时只做两次平行测定,这时就应用下式表达结果的精密度:

$$\frac{\text{二次分析结果的差值}}{\text{平均值}} \times 100\%$$

应该指出,误差和偏差具有不同的含义,误差以真实值为标准,而偏差以平均值为标准。由于物质的真实值一般是无法知道的,我们平时所说的真实值其实只是采用各种方法进行多次平行分析所得到相对正确的平均值。用这一平均值代替真实值来计算误差,得到的结果仍然只是偏差。例如上述蛋白质制剂含氮量的测定结果可用数字 $16.0 \pm 0.2\%$ 表示。

还应指出,用精密度来评价分析的结果是有一定的局限性的。分析结果的精密度很高(即平均相对偏差很小),并不一定说明实验的准确度也很高。因为如果分析过程中存在有系统误差,可能并不影响每次测得数值之间的重合程度,即不影响精密度,但此分析结果却必然偏离真实值,也就是分析的准确度并不一定很高。当然,如果精密度也不高,则无准确度可言。

二、产生误差的原因和校正

产生误差的原因很多,一般根据误差的性质和来源,将误差分为系统误差和偶然误差两类。

系统误差与分析结果的准确度有关,它是由分析过程中某些经常发生的原因所造成的,它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: 由于分析方法本身所造成的,如重量分析中沉淀物少量溶解或吸附杂质,容量分析中等当点和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的,如天平、砝码、量器等不够准确。

(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

滴定终点颜色变化的判断会有差别等。

为了减少系统误差常采取下列措施:

(1) 空白试验: 为了消除由试剂等因素引起的分析误差, 可在测定时不加样品的情况下, 按照与样品测定完全相同的操作手续, 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: 作这种测定时, 取一标准物质(其中的组分含量是已经精确知道的)与待测的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。这种由标准样品测得的回收率可以用来检验、表达某些分析过程的系统误差, 因为系统误差愈大, 回收率愈低。

还可以通过下式对样品测量值进行校正, 如:

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

(3) 仪器校正: 对测量仪器(如砝码、容量仪器等)进行校正, 以减少误差。

工作中, 应当合理安排实验系统, 以使系统误差在测定中不起主要作用。

偶然误差与分析结果的精密度有关, 它来源于难以预料的因素, 或是由于取样不均匀, 或是因为测定过程中某些不易控制的外界因素的影响。在生物测定法中, 由于影响生物的因素是多方面的, 往往造成较大的误差。例如, 用微生物法测定维生素含量时, 由于培养基的条件和菌种的差异, 每次测定的结果相差都比较大, 维生素对分析结果的影响也不固定。似乎没有规律性, 但如果进行多次测定, 便可发现有如下两条规律: 一是正误差和负误差出现的几率相等, 二是小误差出现的次数多, 大误差出现的次数少。

为减少偶然误差, 一般采取的措施是:

(1) 平均取样: 动、植物新鲜组织可制成匀浆后取样; 细菌通常制成悬液, 经玻璃珠打散摇匀后, 再量取一定体积的菌体样品进行分析; 固体样品极不均匀, 应于取样前先进行粉碎、混匀。

(2) 多次取样: 根据偶然误差出现的规律, 如果进行多次平行测定, 然后取其算术平均值, 就可减少偶然误差。平行测定的次数愈多, 其平均偶然误差就愈小。

除去以上两类误差之外, 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。这时可能出现一个很大的“误差值”, 在计算算术平均值时, 此种数值应弃去不用。

实际工作中, 应根据需要的准确度选择测量手段(仪器及方法), 例如分析样品时, 要求准确到 0.1 克, 只需使用台秤, 不必使用分析天平。如果需要较高的准确度, 又无适宜的仪器设备, 则可用提高样品用量的方法来达到。

三、有效数字

在生化定量分析中除去要选择准确度和精密度符合要求的实验方法、测定数值力求准确、计算应当无误以外, 还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, 应该选取几位有效数字, 取决于实验方法与所用的仪

器的精确程度。

例如，用分析天平称得某物质重为 1.1415 克，是五位有效数字；而用台秤称得该物质重为 1.14 克，则只有三位有效数字。

又如，读取某滴定管液面刻度为 16.25 毫升，是四位有效数字。上面各数字的最后一位数字是不可靠的，称为可疑数，也叫估计值，其他的数字均是准确的。因此，所谓有效数字，即在一个数值中，除最后一位是可疑数外，其它各数都是确定的。

数字 1、2、3、……9 都可作为有效数字，只有“0”特殊，它在数字中间或数字后面时，一般地说是有有效数字，但在数字前面时，它只是定位数字，用来表明小数点的位置，而不是有效数字。例如：

1.26014	六位有效数字
12.001	五位有效数字
21.00	四位有效数字
0.0212	三位有效数字
0.0010	二位有效数字
200	有效数字不明确

在 200 中，后面的 0 可能是有效数字，也可能是定位数字。为了避免混乱，一般写成标准式：如 65000 ± 1000 可写成 $(6.5 \pm 0.1) \times 10^4$ 或 $(6.50 \pm 0.10) \times 10^4$ 或 $(6.500 \pm 0.100) \times 10^4$ ，它们的有效数字依次为二、三、四位。

在加减乘除等的运算过程中，要特别注意有效数字的取舍，否则会使计算结果不准确。有效数字运算规则大致可归纳如下：

(1) 加减法：几个数值相加之和或相减之差，只能保留一位可疑数。在弃去过多的可疑数时，按四舍五入的规则取舍。例如将 38.2060 克，1.32 克，161.2 克三数相加，则它们的和为(可疑数下划一横线以示区别)：

$$\begin{array}{r} 38.2060 \\ 1.32 \\ +) 161.2 \\ \hline 200.7260 \end{array}$$

因 200.7260(克)后面四位均是可疑数，但只要保留一位：200.7(克)。因此，几个数相加或相减时，有效数字的保留应以小数点后位数最少的数字为准，上式可简化为：

$$\begin{array}{r} 38.2 \\ 1.3 \\ +) 161.2 \\ \hline 200.7 \end{array}$$

(2) 乘除法：几个数值相乘或相除时，其乘积或商的相对误差接近于所有数值中相对误差最大的。因此，其积或商所保留有效数字位数与各运算数字中有效数字位数最少的相同。例如：

$$\frac{0.1545 \times 3.1}{0.112} = 4.3$$

也可简化成:

$$\frac{0.15 \times 3.1}{0.11} = 4.3$$

只保留两位有效数字: 4.3。4.3 的相对误差和三个运算数字中 3.1 的相对误差最为接近。因为 0.1545、3.1 和 0.112 三个数的相对误差各为:

$$\frac{\pm 0.0001}{0.1545} \times 100\% = \pm 0.06\%$$

$$\frac{\pm 0.1}{3.1} \times 100\% = \pm 3\%$$

$$\frac{\pm 0.001}{0.112} \times 100\% = \pm 0.9\%$$

4.3 的相对误差为:

$$\frac{\pm 0.1}{4.3} \times 100\% = \pm 2\%$$

还应指出,有效数字是最后一位为“可疑数”,若一个数值没有可疑数,便可视为无限有效。例如将 7.12 克样品二等分,每份重是:

$$\frac{7.12}{2} = 3.56(\text{克})$$

式中除数 2 不是测量所得,不是可疑数,可把它视为无限多位有效数字。其他如 π 、 e 常数及 $\sqrt{2}$ 等有效数字的位数也可认为是无限的。

四、数据处理

对实验中所得到的一系列数值,采取适当的处理方法进行整理、分析,才能准确的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,可使结果表达得清楚、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,可由测定数据直接查出结果。

(1) 列表法: 将实验所得各数值用适当的表格列出,并表示出它们之间的关系。通常数据的名称和单位写在标题栏中,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。例如,测定某发酵液中菌体生长繁殖与糖、氮、磷含量的关系,结果列于下表:

菌的生长与糖、氮、磷含量的关系

培养时间 (小时)	菌体变化	总糖(%)	氨基氮 (毫克/毫升)	可溶性磷 (毫克/毫升)	pH	培养结果 (菌量亿/毫升)	备 注
接种前		5.60	2.77	0.276			用 4 吨发酵缸 培养,每四小时 取样一次。
4	孢子萌发	3.60	2.02	0.102	6.00	0.725	
12	菌丝大量生长	3.08	1.85	0.020	5.60	2.10	
20	孢子成熟	0.880	0.868	0	4.92	5.35	
24	菌体开始自溶	—	—	—	—	7.55	

(2) 作图法: 实验所得到的一系列数据之间关系及其变化情况,可以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“+”字或“×”字标注在图纸上，再用直线或曲线把各点连接起来。图形必须是很平滑的，可以不通过所有的点，而要求线两旁偏离的点分布较均匀。在画线时，个别偏离过大的点应当舍去，或重复实验校正之。采用作图法时至少要有五个以上的点，否则便没有意义。现以酸碱度对酶反应的影响为例，测定不同 pH 环境下酶的活性，可以得到如下的曲线：

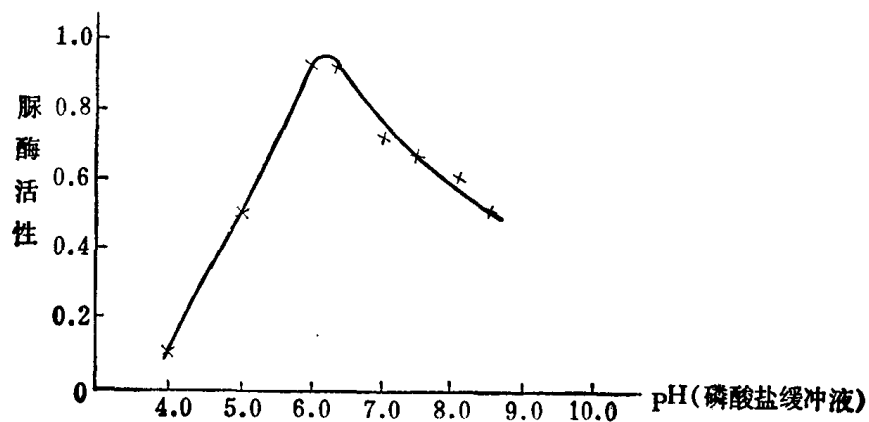


图 0-1 pH 对于酶反应的影响

实验记录及实验报告

一、实验记录

实验课前应认真预习,将实验名称、目的和要求、原理、实验内容、操作方法和步骤等简单地写在记录本中。

实验记录本应标上页数,不要撕去任何一页,更不要擦抹及涂改,写错时可以准确地划去重写。记录时必须使用钢笔或圆珠笔。

实验中观察到的现象、结果和数据,应该及时地直接记在记录本上,绝对不可以用单片纸做记录或草稿。原始记录必须准确、简练、详尽、清楚。从实验课开始就应养成这种良好的习惯。

记录时,应做到正确记录实验结果、切忌夹杂主观因素,这是十分重要的。在实验条件下观察到的现象,应如实仔细地记录下来。在定量实验中观测的数据,如称量物的重量、滴定管的读数、光电比色计或分光光度计的读数等,都应设计一定的表格准确记下正确的读数,并根据仪器的精确度准确记录有效数字。例如,光密度值为 0.050 不应写成 0.05。每一个结果最少要重复观测两次以上,当符合实验要求并确知仪器工作正常后再写在记录本上。实验记录上的每一个数字,都是反映每一次的测量结果,所以,重复观测时即使数据完全相同也应如实记录下来。数据的计算也应该写在记录本的另一页上,一般写在正式记录左边的一页。总之,实验的每个结果都应正确无遗漏地做好记录。

实验中使用仪器的类型、编号以及试剂的规格、化学式、分子量、准确的浓度等,都应记录清楚,以便总结实验时进行核对和作为查找成败原因的参考依据。

如果发现记录的结果有怀疑、遗漏、丢失等,都必须重做实验。因为,将不可靠的结果当做正确的记录,在实际工作中可能造成难于估计的损失。所以,在学习期间就应一丝不苟,努力培养严谨的科学作风。

二、实验报告

实验结束后,应及时整理和总结实验结果,写出实验报告。按照实验内容可分为定性和定量实验两大类,下面分别列举这两类实验报告的格式,仅供参考。

1. 关于定性实验报告

实验(编号) (实验名称)

- 一、目的和要求
- 二、内容
- 三、原理
- 四、操作方法
- 五、结果与讨论

六、试剂和仪器

一般每次实验课做数个定性实验,实验报告中的实验名称和目的要求应该是针对这次实验课的全部内容而必须达到的目的和要求。在写实验报告时,可以按照实验内容分别写原理、操作方法、结果与讨论等。原理部分应简述基本原理。操作方法(或步骤)可以采用工艺流程图的方式或自行设计的表格来表示。某些实验的操作方法可以和结果与讨论部分合并,自行设计各种表格综合书写。结果与讨论包括实验结果及观察现象的小结、对实验课遇到的问题和思考题进行探讨以及对实验的改进意见等。

2. 关于定量实验报告

实验(编号) (实验名称)

一、目的和要求

二、原理

三、试剂配制及仪器

四、操作方法

五、实验结果

六、讨论

通常每次实验课只做一个定量实验,在实验报告中,目的和要求、原理以及操作方法部分应简单扼要的叙述,但是对于实验条件(试剂配制及仪器)和操作的关键环节必须写清楚。对于实验结果部分,应根据实验课的要求将一定实验条件下获得的实验结果和数据进行整理、归纳、分析和对比,并尽量总结成各种图表,如原始数据及其处理的表格、标准曲线图以及比较实验组与对照组实验结果的图表等。另外,还应针对实验结果进行必要的说明和分析。讨论部分可以包括:关于实验方法(或操作技术)和有关实验的一些问题,如实验的正常结果和异常现象以及思考题,进行探讨;对于实验设计的认识、体会和建议;对实验课的改进意见等。