



医学院校实验教材

供临床医学、中西医结合、医学检验技术、  
药学、护理、影像技术等专业使用

# 生物化学实验及学习指导

SHENGWU HUAXUE SHIYAN JI XUEXIZHIDAO

◎ 主编 童海燕 曾 萍



第四军医大学出版社



科学出版社

# 生物化学实验及学习指导

（第二版）

主编：陈国强 副主编：李 强



科学出版社

# 生物化学实验及 学习指导

主 编 童海燕 曾 萍

编 委 (按姓氏笔画排序)

王伟才 李成忠 李 杨

徐 伟 曹建国 蒋蔡滨

譙少明

第四军医大学出版社·西安

## 图书在版编目(CIP)数据

生物化学实验及学习指导/童海燕,曾萍主编. —西安:第四军医大学出版社,2009.4  
ISBN 978-7-81086-463-3

I. 生… II. ①童… ②曾… III. 生物化学-实验-专业学校-教学参考资料  
IV. Q5-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 034549 号

## 生物化学实验及学习指导

主 编 童海燕 曾 萍

责任编辑 朱德强

出版发行 第四军医大学出版社

地 址 西安市长乐西路 17 号(邮编:710032)

电 话 029-84776765

传 真 029-84776764

网 址 <http://press.fmmu.sn.cn>

印 刷 西安力顺彩印有限责任公司

版 次 2009 年 4 月第 1 版 2009 年 4 月第 1 次印刷

开 本 787×1092 1/16

印 张 10

字 数 150 千字

书 号 ISBN 978-7-81086-463-3/Q·22

定 价 18.00 元

(版权所有 盗版必究)

# 全国医学高职高专规划实验教材

## 编写委员会名单

主任委员 张大凯 马恒东

副主任委员 夏安琼 徐筱跃

编委 (按姓氏笔画为序)

丁晓蓉 王小红 刘 红

张知贵 杜 斌 周 琦

罗江灵 姜卓玲 祝继英

徐 静 敖以玲 彭怀晴

彭裕红 童海燕

# 前 言

《生物化学实验及学习指导》针对职业技术学院医学类专业学生对生物化学理论与实验技术学习的特点和要求,重点在于生物化学实验技能培训,并通过学习指导,注重把理论与实验相结合,有利于巩固学生生物化学理论基础,提升实验技能。

本书以目前职业技术学院医学类专业学生使用的由高明灿主编的卫生职业技术学院技能紧缺型人才培养培训教材《正常人体机能》(高等教育出版社,2004年12月第一版)涉及生物化学各章、潘文干主编的全国医学高等专科学校临床医学专业用教材《生物化学》(人民卫生出版社,2008年4月第5版)和蔡太生主编的三年制护理专业技能紧缺型人才培养教材《生物化学》(河南科学技术出版社,2005年8月第一版)为学习目标,对各章都以内容提要、学习要求、难点解析、测试题和参考答案五个部分构成理论学习指导,再以实验须知、生物化学实验基本知识与操作和血清蛋白醋酸纤维薄膜电泳等九个生物化学的基本实验形成实验指导。

本书虽由长期从事医学生物化学教学的专业教师编写,但难免有不足之处,敬请各位读者批评指正。

童海燕

2009年2月7日

# 目 录

|             |                                   |         |
|-------------|-----------------------------------|---------|
| <b>第一部分</b> | <b>实验指导</b>                       | ( 1 )   |
| 实验一         | 生物化学实验基本知识与操作                     | ( 1 )   |
| 实验二         | 血清蛋白醋酸纤维薄膜电泳                      | ( 7 )   |
| 实验三         | 酶的特异性                             | ( 10 )  |
| 实验四         | 温度、pH、激活剂与抑制剂对酶促作用的影响             | ( 12 )  |
| 实验五         | 生物大分子的分离纯化与鉴定                     | ( 14 )  |
| 实验六         | 植物组织中 DNA 的提取和纯度鉴定                | ( 20 )  |
| 实验七         | 血糖测定——葡萄糖氧化酶偶联比色法 ( GOD - POD 法 ) | ( 22 )  |
| 实验八         | 琥珀酸脱氢酶的作用及其竞争性抑制                  | ( 25 )  |
| 实验九         | 肝脏中酮体生成作用                         | ( 27 )  |
| 实验十         | 转氨基作用                             | ( 29 )  |
| <b>第二部分</b> | <b>学习指导及习题</b>                    | ( 31 )  |
| 第一章         | 蛋白质的结构与功能                         | ( 31 )  |
| 第二章         | 维生素                               | ( 40 )  |
| 第三章         | 酶                                 | ( 46 )  |
| 第四章         | 生物氧化                              | ( 60 )  |
| 第五章         | 糖代谢                               | ( 66 )  |
| 第六章         | 脂类代谢                              | ( 81 )  |
| 第七章         | 蛋白质分解代谢                           | ( 95 )  |
| 第八章         | 核酸结构、功能与核苷酸代谢                     | ( 107 ) |
| 第九章         | 基因信息的传递                           | ( 118 ) |
| 第十章         | 肝的生物化学                            | ( 136 ) |
| 第十一章        | 钙磷代谢                              | ( 147 ) |

# 第一部分 实验指导

## 实验一 生物化学实验基本知识与操作

### 一、生物化学实验基本知识

#### (一) 生物化学实验目的

1. 使重要的理论和概念得到验证、巩固和充实。
2. 培养学生生物化学实验基本技能及观察和分析思考的能力。
3. 培养学生严格认真的科学态度和良好的工作习惯。

#### (二) 实验中一般注意事项

##### 1. 实验前作好预习

认真预习是做好实验的关键，在每次实验之前应首先复习与实验有关的理论知识，然后认真阅读实验指导，明确实验目的，了解实验原理、操作程序及实验中应注意的事项。

##### 2. 实验中要认真操作、仔细观察

为培养严肃认真的科学态度和良好的习惯，实验时要求学生要严格按照实验指导和教师的要求，一丝不苟地进行操作，仔细观察和分析实验中出现的各种现象，如实地将实验结果、数据填写在记录本内。

##### 3. 正确使用仪器和爱护仪器

实验室内每种仪器都是实验的重要工具，实验时必须严格按照教师要求正确使用。对于公用仪器如 721 型分光光度计、离心沉淀器、电泳仪及火焰光度计等较为贵重的仪器，要严格按操作规程进行操作，未经允许不得随意搬动。如不慎将仪器损坏，应及时报告指导教师。

##### 4. 保持实验室的整洁和秩序

实验室内的安静和整洁，是保证实验顺利进行的必要条件。进行实验时，要严格遵守实验室规则，自觉维持秩序，保持室内安静。实验仪器及用具必须洁净，实验试剂的排列应整齐有序，勿将试剂药品洒于桌面、地面上。废物及强酸、强碱溶液应分别放入污物箱及废液缸中统一处理，不得倒入水槽，以防堵塞和腐蚀水管。



### 5. 认真填写实验报告

实验结束后应及时清洗仪器，整理桌面。认真填写实验报告。整理实验室，断电，断水。

实验报告的要求如下：

- (1) 简要记录实验的原理、方法和实验过程中观察到的现象及结果。
- (2) 对实验结果进行计算和简要的分析。
- (3) 要求文句通畅、简练、字体端正。

## 二、生物化学实验基本操作

### 1. 玻璃仪器的洗涤和干燥

实验室所用的玻璃仪器按其性质和用途可分为：量器类、容器类和专用玻璃器三大类。量器类（量杯、量筒、容量瓶、吸量管、滴定管等）和容器类（烧杯、烧瓶、试剂瓶、滴瓶、试管等）是生物化学实验常用的玻璃仪器，它的清洁和干燥直接影响了实验结果的准确性，因此玻璃仪器的洗涤和干燥是生化实验重要的准备工作，也是一项技术性工作。

(1) 一般容器类玻璃仪器的洗涤：如烧杯、试管等洗涤时可先用蘸有肥皂或合成洗涤剂的毛刷刷洗，再用自来水冲洗，直至容器内壁不挂水珠，最后用少量蒸馏水冲洗3次，倒置晾干。

(2) 定量玻璃仪器的洗涤：对于容量瓶、吸量管等量器类玻璃仪器，使用后先用自来水冲洗干净，再用蒸馏水冲洗3次即可。若冲洗后仍挂水珠，说明容器表面有油污，应将其沥干，然后置于铬酸洗液中或其他洗涤液中浸泡数小时。自洗液中取出时，应先使洗液流尽，再用自来水冲洗干净，最后用蒸馏水冲洗3次备用。

(3) 对于新购置的玻璃仪器，可用2%~4%的稀盐酸浸泡4~6h，以除去表面附有的游离碱。浸泡后用自来水冲洗干净，再用蒸馏水冲洗3次，干燥备用。

(4) 玻璃仪器的干燥。①自然干燥：把洗净的玻璃仪器倒置在干净的仪器架上或专用的仪器橱内使水沥净，在室温中自然干燥，这是一种最简便的干燥方法，适用于不能高温烘烤的仪器，如容量瓶、吸量管、量筒等。②加热干燥：除量器类及厚壁的玻璃器皿（研钵）外，一般都可置于105℃~120℃烘箱内烘干。

### 2. 吸量管的选择和使用

吸量管是生物化学实验中最常用的玻璃仪器，用于准确移取试液。目前出厂的吸量管可分为3种：

(1) 刻度吸管：是生物化学实验中广泛使用的吸量管，其准确度较高，使用灵活（图1-1b）。常见的容量有10ml、5ml、2ml、1ml、0.5ml等数种。通常将管身标明的总容量分刻为100等分，因

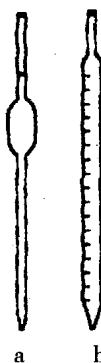


图1-1 移液管和吸量管

a. 移液管      b. 吸量管

此, 10ml 总量的吸管有 0.1ml 的分格, 1ml 的吸管则有 0.01ml 的分格。这种吸管常用作移取非整数量的试液。分刻度吸管的规格因厂家不同而异, 有刻度到尖端和刻度不到尖端的两种。在使用前应先认明以免发生错误, 使用时如系刻度不到管尖的, 应用食指控制液体泄放至最下刻度线, 如刻度到管尖的于液体放出后应将残留管内最后一点液体轻轻吹出, 这种吸管壁上通常标有“吹”字。

(2) 移液管: 移液管是一种准确度较高的吸管。这种吸管中间膨大, 只有一条总量标线, 常用作移取整数量的试液。常见的规格有 50ml、25ml、10ml、5ml、2ml 和 1ml 等容量。移液管的体积以自动流出为准 (图 1-1a)。

刻度吸管与移液管的使用方法如下: 以右手把吸管的尖端插入所要移取的试液中, 一般要求插入液面下 1cm 左右为宜, 吸取溶液时, 左手持吸耳球, 对准吸管上口, 慢慢吸取溶液到刻度线以上, 立即以右手食指按住吸管的上口, 控制试液的泄放, 拇指和中指夹着管身刻度线以上部位, 使吸管下端离开液面, 用滤纸将吸管外壁擦净, 将吸管尖端靠于试剂瓶颈内壁, 然后稍微放松食指, 垂直缓慢地将多余液体放出至液面的弯月面与标线相切时为止, 立即按紧食指, 拿出吸管, 垂直地移入准备好的容器中, 使管尖与容器内壁接触, 让液体自然流出 (图 1-2)。

(3) 微量定量移液管: 此管由塑料制成, 因形如手枪故又称为枪式移液管。它是一种精密的取液仪器。其原理是利用柱塞的定程运动形成负压吸入定量液体到塑料尖头内。具有轻巧、使用方便、取液、加样迅速、不易破损、能吸取多种样品 (只换塑料吸液嘴) 等优点。适用于连续取样和试液分装, 目前在临床生化检验中已广泛使用, 用于血清、标准液等微量液体的取样和加液。微量定量移液管有固定式和可调式 2 种类型。目前出厂的规格有: 1000 $\mu$ l、500 $\mu$ l、250 $\mu$ l、200 $\mu$ l、100 $\mu$ l、50 $\mu$ l 等, 最小可为 5 $\mu$ l。

微量可调移液管一般为五档调节, 其规格可根据需要选择, 生化实验常选用 50 $\mu$ l、100 $\mu$ l、150 $\mu$ l、200 $\mu$ l、250 $\mu$ l 的微量可调移液管。

使用方法: 正式使用之前, 要连续按动多次 (不吸液体), 使管内空气同工作环境空气交换, 保持管内空气工作负压恒定。开始使用时, ①将吸液嘴套在移液管头上, 轻轻转动, 以保证密封。②垂直地握住移液管, 将按钮按到第一停止点, 并把吸液嘴浸入到液面下 2~3mm, 缓慢地放松按钮, 使之复位, 待 1~2s 后从液体中取出, 即完成取样。③将吸液嘴移至准备好的容器壁上, 缓慢地把按钮按到第一停止点, 等待 1~2s, 再把按钮完全按下, 排尽全部液体后, 吸液嘴应沿容器壁向上滑动取出, 再放松按钮, 使之复位, 即完成一次操作过程。使用一种试液, 应更换一支塑料吸液嘴。

微量吸液管属精密量器, 不允许直接接触液体, 必须套上吸液嘴方可使用。不使

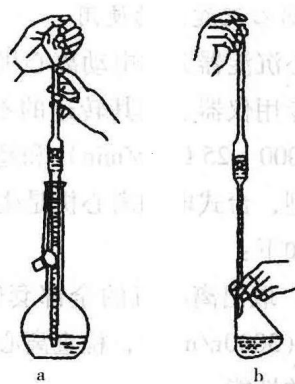


图 1-2 移液管放量和吸量的操作

a. 吸量 b. 放量

## ● 生物化学实验及学习指导

用时也应插上吸嘴,以保持管内清洁。对于可调微量移液管,使用时按钮上的标线必需对准所需容量的刻度线。

### 3. 试管中液体混匀的方法

生物化学实验中大部分的化学反应都是在试管中进行的,欲使反应充分进行,必须使反应体系内各种物质分子充分接触。因此,每加入一种试剂后,必须充分混匀,这是实验成败的关键之一。混匀的方法通常有以下几种:

(1) 少量液体的混匀可将试管轻轻振摇或甩动即可。

(2) 试管内液体较多不易进行振摇时,可采用弹动混匀。以一手持试管,另一手指拨动试管底部,使管内溶液作旋转流动。

(3) 对于具塞试管内盛有多量液体进行混匀时,可采用倒转混匀。操作时,右手中指和拇指捏住试管中部,示指压住玻璃塞,将试管反复倒转振荡(图1-3)。

注意:无论用哪一种方法混匀,都应防止试管内液体溅出或被污染。严禁用拇指直接堵住试管口作颠倒混匀。



图1-3 容量瓶中溶液的混匀

### 4. 离心沉淀器的使用

离心沉淀器又称电动离心机(图1-4),是利用离心力对混合溶液进行分离和沉淀的一种专用仪器。按其转速的不同可分为普通离心机( $1000 \sim 4000\text{r/min}$ )、高速离心机( $20\,000 \sim 25\,000\text{r/min}$ )和超速离心机( $>80\,000\text{r/min}$ )。普通离心机有台式和立式两种类型,台式电动离心机是生化实验常用的仪器,用于分离血清、沉淀蛋白等。使用方法如下:

(1) 取出离心机的全部套管,在无负荷条件下,开动离心机( $3000\text{r/min}$ ),检查离心机的转动是否平稳,以确定离心机的性能。

(2) 检查套管与离心管大小是否相配,套管底是否铺好软垫,套管底部有无碎玻片或漏孔。

(3) 检查合格后,将盛有离心液的离心管2支分别放入离心套管中,然后同置于台式天平托盘两侧,通过往离心管与外套管之间隙加水数滴来调节两边重量,使之平衡。

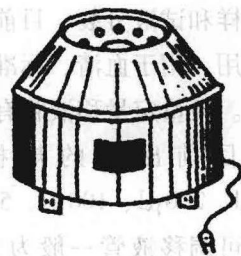


图1-4 电动离心机

(4) 将已平衡的2只内装离心液和离心管的套管,按对称方位放到离心机的插孔中。把不用的套管取出,盖上离心机盖,开动离心机,调节速度旋钮,逐步加挡,使转速达到所需标准。离心一定时间后,将转速旋钮逐步扭回至零,待离心机自动停稳后(不可用手按压),取出离心管和套管。关闭电源,擦干净旋转台,将离心机和台式天平放置适当位置。

### 5. 溶液定量转移操作

容量瓶不得在烘箱内烘烤,也不允许以任何方式加热。热的溶液必须冷却至室温

后才能转移到容量瓶中（图 1-5）。

## 6. 水浴锅的使用（图 1-6, 1-7）

(1) 水浴锅应放在稳定的平台上。

(2) 使用前后将水加至隔板以上 50mm。

(3) 通电后，打开开关，指针式控温仪可调旋钮，数字显示式控温仪可设定数码开关至所需温度，绿灯亮表示加热，红灯亮为恒定状态，此时显示数值为所需温度。

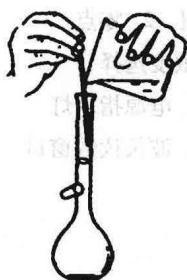


图 1-5 溶液定量转移操作



图 1-6 可调恒温水浴箱

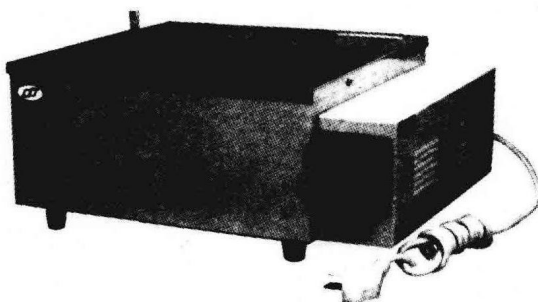
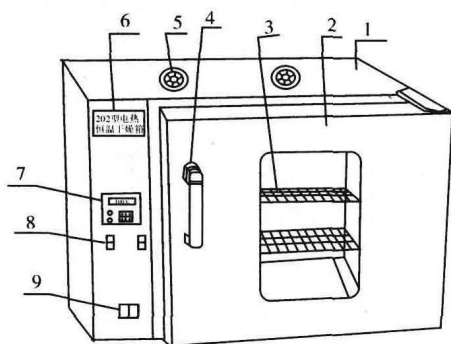


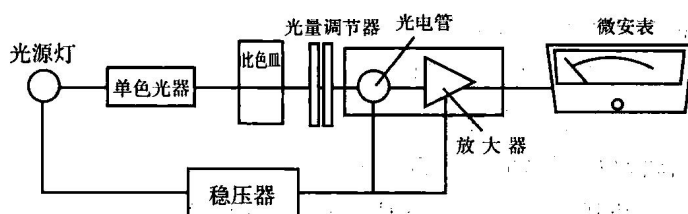
图 1-7 水浴锅

## 7. 分光光度计（图 1-8, 图 1-9）

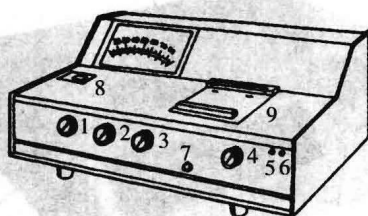


- 1. 箱体 2. 箱门 3. 观察窗
- 4. 门把 5. 风阀 6. 铭牌
- 7. 仪表 8. 加热开关
- 9. 电源开关

图 1-8 722G 可见分光光度计



721 型分光光度计的内部结构示意图



1. 波长调节旋钮 2. 零点
3. 光亮 4. 灵敏度选择
5. 电源开关 6. 电源指示灯
7. 定位器杆 8. 波长读数窗口
9. 暗盒盖

图 1-9 721 型分光光度计结构示意图

## 实验二 血清蛋白醋酸纤维薄膜电泳

### 【目的】

1. 了解电泳法分离血清蛋白质的原理。
2. 掌握醋酸纤维薄膜电泳法的操作方法及临床意义。

### 【原理】

血清蛋白质的等电点大都在 pH 7.0 以下，故在 pH 8.6 的缓冲溶液中都带有负电荷，在电场中向正极泳动。因血清各种蛋白质等电点不同，带负电荷量的多少不同，加之各种蛋白质分子量大小也各有差异，所以在同一电场中泳动速度快慢不等。带电荷多分子量小者，泳动速度快，反之则慢。用醋酸纤维薄膜作支持物进行电泳，可将血清蛋白质分五条主要区带，从正极端起依次为清蛋白、 $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 、 $\beta$  和  $\gamma$ -球蛋白 5 条区带。再经染色、洗脱和比色，即可算出各部分蛋白质的相对百分含量。

### 【试剂】

1. 巴比妥缓冲液 (pH 8.6，离子强度 0.06)：称量巴比妥钠 12.7g，巴比妥 1.66g，加蒸馏水约 500ml，加热水溶解，冷却至室温后，加蒸馏水至 1000ml。
2. 氨基黑染液：称取氨基黑 10B 0.5g，加入冰醋酸 10ml，甲醇 50ml 及蒸馏水 40ml，混匀，在具塞试剂瓶内储存。
3. 漂洗液：取 95% 乙醇 45ml、冰醋酸 5ml 及蒸馏水 50ml，混匀，在具塞试剂瓶内储存。
4. 氢氧化钠溶液 (0.4mol/L)。
5. 透明液：取冰醋酸 20ml 和无水乙醇 80ml，混匀，装入试剂瓶中塞紧备用。

### 【器材】

电泳仪、分光光度计、醋酸纤维薄膜、滤纸、培养皿、剪刀、镊子、加样器或盖玻片、直尺、玻璃板、铅笔、试管试、管架、吸量管等。

### 【操作】

#### 1. 薄膜的准备

将醋酸纤维薄膜切成  $2\text{cm} \times 8\text{cm}$  大小，在无光泽面的一端约 1.5cm 处用铅笔划一直线作为点样位置，并作好编号。将薄膜无光泽面向下，浸入巴比妥缓冲溶液中，待完全浸透 (约 20min)，即薄膜已无白斑后取出，加在滤纸中间，轻轻吸去多余的缓冲液。

## ● 生物化学实验及学习指导

### 2. 点样

取少量血清置于玻璃板上，用加样器取血清  $3 \sim 5 \mu\text{l}$  均匀地加于点样线上。待血清渗入膜内后，移开加样器。应使血清形成具有一定宽度、粗细均匀的直线（图 1-10）。

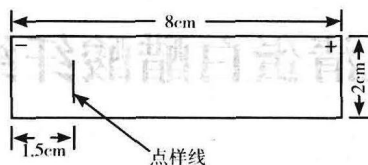


图 1-10 点样法

### 3. 电泳

将薄膜点样的一端靠近阴极，无光泽面向下，平整地贴于电泳槽支架的滤纸桥上，使其平衡约 5min，打开电源开关，调带电压为  $100 \sim 160\text{V}$ ，电流为  $0.4 \sim 0.6\text{mA/cm}$  膜宽，通电  $40 \sim 50\text{min}$ ，使电泳区带展开约 35cm 即可关闭电源（图 1-11）。

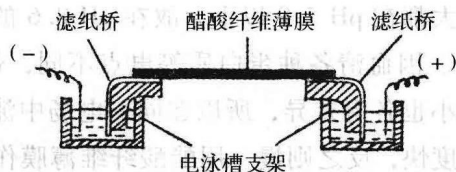


图 1-11 电泳槽示意图

### 4. 染色

用镊子小心取出薄膜，浸入染色液中染色 3min，然后取出，浸入漂洗液中反复漂洗数次，直至背景颜色脱净为止。一般每隔 5min 左右换一次漂洗液，连续漂洗 3 次即可。此时即得 5 条蛋白色带，从正极端起，依次为清蛋白、 $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 、 $\beta$  和  $\gamma$ -球蛋白。

### 5. 定量

(1) 洗脱法：取试管 6 支并编号，按蛋白区带剪开，并于空白部位剪一相当于清蛋白宽度的薄膜作为空白，分别浸于  $0.4\text{mol/L NaOH}$  溶液中，清蛋白管为 4ml，其余各管为 2ml，振摇数次，约经 30min，蓝色即可完全浸出。用分光光度计比色，于  $600 \sim 620\text{nm}$  波长下，以空白管调零，测定各管的吸光度，按下式计算各部分蛋白质所占百分比（相对百分含量）：吸光度总和 (T) = 清蛋白管吸光度  $\times 2 + \alpha_1$ -球蛋白管吸光度 +  $\alpha_2$ -球蛋白管吸光度 +  $\beta$ -球蛋白管吸光度 +  $\gamma$ -球蛋白管吸光度

$$\text{清蛋白}\% = \frac{\text{清蛋白管吸光度} \times 2}{T} \times 100$$

$$\alpha_1\text{-球蛋白}\% = \frac{\alpha_1\text{-球蛋白管吸光度}}{T} \times 100$$

$$\alpha_2\text{-球蛋白}\% = \frac{\alpha_2\text{-球蛋白管吸光度}}{T} \times 100$$

$$\beta\text{-球蛋白}\% = \frac{\beta\text{-球蛋白管吸光度}}{T} \times 100$$

$$\gamma\text{-球蛋白}\% = \frac{\gamma\text{-球蛋白管吸光度}}{T} \times 100$$

(2) 吸光度计法：将干燥的薄膜放入微机控制的自动扫描吸光度计内，通过反射（用已透明的薄膜时，通过透射），对蛋白区带进行扫描，自动绘出电泳图形，并直接打印出各部分蛋白质的相对百分含量。

透明方法是：将完全干燥的薄膜置于透明液中浸泡 3min，然后取出，贴于玻璃板上，注意不要存有气泡，经 2 ~ 3min，薄膜便完全透明。待干后撕下压平，可长期保存。

#### 【正常值】

清蛋白：57% ~ 72%；

$\alpha_1$ -球蛋白：2% ~ 5%；

$\alpha_2$ -球蛋白：4% ~ 9%；

$\beta$ -球蛋白：6.5% ~ 12%；

$\gamma$ -球蛋白：12% ~ 20%。

#### 【临床意义】

1. 慢性肝炎、肝硬化时清蛋白降低， $\gamma$ -球蛋白升高 2 ~ 3 倍。
2. 肾病综合征时，清蛋白降低， $\alpha_1$  及  $\beta$ -球蛋白升高。
3. 结缔组织病（如红斑狼疮，类风湿性关节炎等）时，清蛋白降低， $\gamma$ -球蛋白显著升高。
4. 多发性骨髓瘤时，清蛋白降低， $\gamma$ -球蛋白升高，并于  $\beta$  和  $\gamma$  区带之间出现“M”带。

#### 【思考题】

1. 电泳分离血清蛋白质的原理是什么？
2. 电泳实验时应注意哪几个关键环节？
3. 醋酸纤维薄膜电泳可将血清蛋白依次分为哪几条区带？有何临床意义？



## 实验三 酶的特异性

### 【目的】

验证酶的特异性，即酶对底物的选择性。

### 【原理】

淀粉酶能催化淀粉水解，水解后生成的麦芽糖属于还原性糖，能使班氏试剂中二价铜离子 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) 还原成一价亚铜，生成砖红色的氧化亚铜 ( $\text{Cu}_2\text{O}$ )。淀粉酶不能催化蔗糖降解，所以不能产生具有还原性葡萄糖和果糖，蔗糖本身又无还原性，故不与班氏试剂产生颜色反应。

### 【试剂】

1. 1% 淀粉溶液：取可溶性淀粉 1g，加 5ml 蒸馏水，调成糊状，再加蒸馏水 80ml，加热，使其溶解，最后用蒸馏水稀释至 100ml。

2. pH 6.8 缓冲液：取 0.2mol 磷酸氢二钠溶液 772ml，0.1mol 柠檬酸溶液 228ml，混匀即可。

3. 班氏试剂：溶解结晶硫酸铜 ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 17.3g 于 100ml 热的蒸馏水中冷却后，稀释至 150ml，此为第一液。将柠檬酸钠 173g 和无水碳酸钠 100g 加水 600ml，加热使之溶解，冷后，稀释至 850ml，此为第二液。最后把第一液慢慢倒入第二液中，混匀后用细口瓶贮存储备用。

### 【器材】

10mm × 100mm 试管、试管架、蜡笔、恒温水浴器、沸水浴器。

### 【操作】

1. 稀释唾液的制备：将痰咳尽，用水漱口（除去食物残渣、洗涤口腔）；再含蒸馏水 30ml 作咀嚼运动，2min 后吐入烧杯中，再用滤纸过滤后待用（不同的人，甚至同一个人不同时间所采集的唾液中淀粉酶的活性均不一样，故结果会有差别，若想得到满意结果，应事先确定稀释倍数）。

2. 煮沸唾液的制备：取出一部分稀释唾液，放入沸水浴中煮沸 5min，使唾液淀粉酶变性失活。

3. 取试管 3 支，标号后分别加入下列试剂。