

生物化学实验

(第 二 版)

朱 寿 民 編 譯

上海科学技术出版社

生物化学实验

(第二版)

朱寿民 編譯

上海科学技术出版社

內 容 提 要

本书根据 Kleiner 和 Dotti 两氏合著的《生物化学实验》編譯而成。包括与生命现象有关的物理化学、生物体基本組成物质、新陳代謝、組織化学、生物液体的分析以及毒物学等生物化学方面的实验。叙述簡明，切合实用。可作大专学校生物化学課程的实验参考教材，也可供生物化学检验工作者参考。

生 物 化 学 实 验 (第二版)

朱 寿 民 編 譯

上海科学技术出版社出版 (上海瑞金二路 450 号)

上海市书刊出版业营业許可証出 093 号

郵票印书館上海厂印刷 新华书店上海发行所发行

开本 850×1156 1/32 印張 7 16/32 排版字数 198,000

原中外、科技版共印 2,500 册 1954 年 6 月第 1 版)

1959 年 3 月新 1 版印 3 次共印 6,500 册

1965 年 6 月第 2 版 1965 年 6 月第 1 次印刷

印数 1—2,000

統一书号 13119·96 定价(科六) 1.10 元

再 版 說 明

在这本增訂本里面，編譯者全面校核了原书内容，对于部分叙述不够明确的地方已作了必要的补充說明。同时，又根据实际需要增添了一些基本的和近年来广泛用于生化研究方面的实验。这些补充实验包括酶的系統实验，Warburg 呼吸仪的使用，交换树脂的应用，柱型层析和紙上层析，紙上电泳分析，絡合滴定，血清轉氨酶活力測定等。除了集中地增加一章“酶、維生素、激素”之外，其余均分別安插在各有关章节中，并且在实验題目之前标上*号，以資区别。书末还补充了“試剂和溶液的配法索引”。

由于本人水平的限制，书中难免存在缺点和錯誤，請讀者不吝指正。

編 譯 者

1963 年 7 月

例 言

Kleiner 和 Dotti 两氏合著的《生物化学实验》是一本較好的实验教材。正如原著者所說：本书的内容不仅注意到使学习者能够掌握生物化学的基本知識，而且能够将这些理論和技术，切实地应用到生理、病理以及临床等問題上去。因此，决定把它翻譯过来，推荐给讀者。

在翻譯过程中，譯者做了如下几項工作：

一、删去若干不合我国医学院需要的实验；部分叙述过于繁瑣，已予修改；过簡及不明确之处，亦予增补。

二、英制一律改为公制；容量单位一律以毫升(ml)代替立方厘米(cc)。

三、譯名尽量选用恰当的通用名詞，必要时附加英文原名；除我国学者名字譯为中文外，其余人名一律不譯。

四、附录中的試剂和溶液的配法仍按原书次序排列，各条均附英文名称，以便检索；实验方法有較大改动者，另加附注說明。

編 譯 者

一般提示

每位同学在做实验时必须“自己动手”，这一点是十分重要的。因为只有这样，才能够彻底了解所学习的题目中每个微细的环节。但有时为了节省材料、仪器和时间，若干实验只做示范，在这种情形下，每位同学对于实验的进展和结果便必须加倍留神。

在生物化学工作中，“清洁”是很重要的。凡是定性和定量分析所应注意的事项这里也必须同样注意。往往前一个试验遗留在试管中的些微化学药品的痕迹，会使以后的试验得到错误结果。玻璃仪器每次用过后必须随即洗净。生物材料当取材完毕后应立刻弃去。实验衣和抹布亦应常常换洗。

滤纸、火柴杆、碎玻璃片，以及其他固体或混杂固体的液体，切勿倒入排水沟，以免淤塞。强酸也不可倒入水沟，因为它会腐蚀沟壁。煤气龙头在不燃用时应紧紧关闭。

实验室中应悬示“急救表”，上面书明中毒等意外事件发生时的初步处理方法。同时，实验室中也应准备急救箱，存贮下列各种护理用的器材：

纱布	眼杯
胶布	消毒器
蓖麻油	氨水
硼酸溶液	压舌板
碳酸氢钠	绷带
嗅盐(芳香碳酸铵)	酒精(70%)
苦味酸-氨苯甲酸丁酯油膏	碘酒
阿斯匹灵片	

实验室中也应备一瓶“泛用解毒药”。它的配合成分如下：

细炭末	二份(重量)
-----	--------

氧化鎂

一份(重量)

鞣酸

一份(重量)

使用时以泛用解毒药一满匙和入温水一杯服用。

上列器材将用完时应该立即报告实验指导人员，俾可及时补充。

目 次

再版說明

例 言

一般提示

第 一 章	物理化学	1
第 二 章	碳水化合物	13
第 三 章	脂类	24
第 四 章	蛋白质	29
第 五 章	酶、維生素、激素†	40
第 六 章	組織	49
第 七 章	乳	56
第 八 章	消化	60
第 九 章	血液的定性試驗	75
第 十 章	尿液的定性試驗	83
第十一章	血液和腦脊液的定量分析	94
第十二章	尿液的定量分析	139
第十三章	代謝实验	154
第十四章	毒物学	163
第十五章	血液的气体分析	172
第十六章	营养学实验	183
附 录		191
	試剂和溶液的配法	191
	正常血液的組成	222
	人尿的正常組成	224

† 第五章是增訂时新增的。

度量衡的换算	225
国际原子量表	226
对数表	227
试剂和溶液的配法索引	229

第一章 物理化学

比 重

比重是在 4°C 或其他特定温度时某种物体的质量和同体积水的质量的比值。

在临床尿液分析时，比重是应用特种比重计——尿比重计测定的。计上的刻度是按某一指定温度（一般即为常温）下的比重为准，倘若测量时的温度和这指定温度不同时，求得的比重数值应该按温度加以校正：每当温度高出 3°C ，则在读数的尾数上加 1；反之，每当温度低下 3°C ，则在读数的尾数上减 1。

应用尿比重计作下列各实验：

实验一 溶液比重的比较

测定自来水、5%氯化钠溶液和 10%葡萄糖溶液的比重，且和蒸馏水的比重相比较。

实验二 尿液的比重测定

收集你当时的小便测定比重。将各人所得结果都记录在实验室的黑板上，总结全体同学尿液的比重结果：最高值，最低值，平均值。

实验三 硫酸铜法测定全血液和血浆的比重

（这个实验可以安插在本章进行。实验的原理和方法则见本书第十一章实验二十三，此处从略——译注）

表 面 张 力

表面张力(Surface tension)是保持液体表面膜(Surface film)不致破裂的抗衡力。这个现象常见于液体表面或两液相的交接面。

液体中若有物质溶入，則常可影响它的表面张力，发生增减。

实验四 浮針試驗

取长约 5 厘米，闊约 3 厘米的清洁滤紙一条，依长的方向对折成紋（即折成长 5 厘米，闊 1.5 厘米的狭条）。另取縫衣針一枚放在紙的折縫間。将有縫衣針的紙条輕輕放在蒸餾水表面。待該紙潤湿沉沒水中后，注意縫衣針仍然浮在水面。

重复此实验，应用胆盐溶液代替蒸餾水，縫衣針能够同样浮在液面嗎？如果不能，再以蒸餾水試驗一下。

实验五 計滴試驗

液体有着收縮成最小表面积的趋势。所以当液体自小管口流出，它所受的重力超过表面张力时液体便成滴状下落。因此，假若有多种同体积的液体使它自某一指定管口落下，并且計算滴数，那末，各种液体落下滴数的多寡間接地是和表面张力发生关系的。这个試驗，便是依这样的理由設計的。

取洁淨的容积是 1 毫升的吸管一支，吸取蒸餾水 1 毫升。将吸管持直，緩緩放出其中蒸餾水，数出蒸餾水 1 毫升可得水滴几滴。同法应用原来的吸管計算 20% 氯化鈉溶液可得几滴。将原来的吸管依次应用蒸餾水和酒精淋洗后，吸取酒精 1 毫升計算滴数，将这支吸管再以酒精、乙醚淋洗干净，同法計算矿油 (Mineral oil) 的滴数。俟矿油已从吸管瀝尽后（此时吸管內壁还有一层极薄的矿油膜留存着），按前法再吸取蒸餾水 1 毫升計算滴数。将吸管洗净后再計算肥皂水的滴数。这些液体的滴数都是一样的嗎？盐类、肥皂、油类会影响液体的表面张力嗎？胆盐也会有同样的影响嗎？

实验六 Du Nuoy 张力計試驗 (示范实验)

Du Nuoy 张力計的主要結構是扭力天平和白金环。先将白金环和受試液面恰巧接触，然后校正扭力天平至白金环脫开液面。可在刻度盘上直接讀取这受試液体的表面张力。表面张力的单位是每厘米的达因 (dynes) 数。将所得結果記錄如下：

受 試 液	表面张力(达因/厘米)
水, °C	
水, 加有胆盐	

实验七 滴数計(示范实验)

滴数計(Stalagnometer) 是用于測定胆汁中胆盐含量的一种仪器。它是一支标准吸管, 量出酸化了的受試稀胆汁, 然后使稀胆汁滴下, 以自动計滴器记录一定量(通常是 5 毫升)液体的滴数。由于胆盐能够降低表面张力, 所以胆汁中胆盐含量的多寡和滴数是成正比例的。应用純胆盐溶液的試驗結果預先繪制胆汁浓度和滴数的关系曲綫, 以后便可測定胆汁中胆盐的含量了。

乳 化 作 用

乳化作用就是原先是两种或两种以上互相不能溶合的物质变成乳状体的作用。

实验八 油在水中的分散现象

取棉籽油或菜油或其他食用油 2 毫升注入試管中, 加蒸餾水 2 毫升, 将拇指按住管口用力振搖。注意液体呈乳状嗎? 这样形成的乳状体很稳定嗎? 形成乳状液中的小顆粒的物质是油还是水?

实验九 乳化剂的作用

重复实验八, 但以肥皂水代替蒸餾水。說明結果: 什么是“油-水”乳状体, 什么是“水-油”乳状体。

实验十 胶体的作用

取棉籽油(或其他油类) 5 毫升放在干燥的研鉢中, 加入阿刺伯树胶粉末 1 克, 研和均匀, 再加蒸餾水 3 毫升, 均匀調合使成完好的乳状体。繼續緩緩加入蒸餾水 5 毫升且不断搅动。加水完毕, 可将所得乳状液体傾入試管中, 观察这种均匀的乳状体可維持多久。試問阿刺伯树胶有些什么作用? 将所得乳状体置于显微镜下观察。

实验十一 乳的观察

“乳”是一种完好的乳状体。試取全乳少許放在显微镜下观察乳中脂肪顆粒。

胶 体

胶溶液(Colloidal solution)是介于真溶液和粗悬液之間的分散相,其中分散物质的直径即介于这两者之間。正由于分散物质顆粒直径比真溶液中的为大,所以,胶溶液的性质是有着好些和真溶液可資区别的特点的。

实验十二 胶溶液的制备

(一) 胶乳体(Emulsoid) 借加热之助配制下列各液体: 白明胶(5%)^①, 淀粉^② 和肥皂(2%)各 100 毫升。冷却后即成胶冻(gel)。再将所得胶冻加热,观察它們是不是仍会液化。将所得胶乳体贮存,供以后实验使用。

(二) 胶悬体(Suspensoids)

(1) 胶状普魯士蓝: 应用吸管吸取 0.02 *N* 亚鉄氰化鉀溶液 10 毫升注入烧杯中,继加 0.02 *N* 氯化鉄溶液 10 毫升(准确!),且不絕搅动。取所得混合液一部分加水稀释,注意此时并无沉淀产生。将所得胶状体贮存供以下实验使用。

(2) 胶状氢氧化鉄: 在煮沸的蒸餾水 200 毫升中加入 33% 氯化鉄溶液 1 毫升。注意液体呈美丽的紅棕色澤。保存所得的胶状体。

实验十三 盐类使胶状体的沉淀作用

在胶状普魯士蓝液或其他胶悬体中加入 10% 氯化鈉溶液数毫升。搖匀,放置片刻。观察結果。再以胶乳体,如白明胶或淀粉液等,同法試驗,观察結果,哪一类胶溶液是能够很容易地被电解

① 白明胶 5 克和冷水 25 毫升混合,放置至白明胶充分膨胀,然后緩緩加入沸水 75 毫升,且不断搅拌。

② 淀粉 2 克和冷水 10 毫升,待淀粉浸透搅匀,緩緩加入沸水 90 毫升且不断搅拌。

质所沉淀？再在所得沉淀中加多量的水，胶体可仍被溶化嗎？如果胶乳体沒有生成沉淀，再加結晶硫酸鎂使飽和，則沉淀亦可产生。在这胶乳体生成的沉淀中加入多量蒸餾水，再加热至沸，注意又可成为胶乳体嗎？

实验十四 保护胶体的作用

在浓硝酸 3 滴中加入 0.05 N 硝酸銀溶液 5 毫升，和 0.05 N 氯化鈉溶液 5 毫升。注意粗大的沉淀随着产生。重复这个試驗，但在硝酸銀和氯化鈉溶液混和前預先調入白明胶液各 1 毫升。混和后注意有无沉淀生成。为什么？

实验十五 胶溶液的性质

(一) 胶体的不扩散性 制备賽璐玢(Cellophane)袋一只。以胶状氢氧化鉄液灌入賽璐玢袋中至半滿，袋口用綫扎紧，悬在貯有蒸餾水的烧杯中。靜置一小时或一小时以上。取袋外液体数毫升加入亚鉄氰化鉀溶液，检查有无鉄离子扩散(Diffusion)而出。

重复这个实验，但以 5% 硫酸銅溶液或 10% 氯化鉄溶液代替胶溶液。同法，用亚鉄氰化鉀溶液检查有无銅离子或鉄离子扩散而出(亚鉄氰化鉀加入后若呈紅或淡紅色則是有銅离子存在；若呈蓝色則是有鉄离子存在)。

比較两次所得的結果。

(二) 胶体难于扩散到胶冻內 准备試管 2 支，各加 15% 白明胶热溶液 5 毫升，冷却使成胶冻。其中一管加 5% 硫酸銅溶液数毫升在胶冻层上；另一管則加胶状普魯士蓝液，靜置之。观察 2 管扩散的程度。

此实验也可应用依紅(Eosin，一种非胶体性染料)和胶体性染料作比較。

注意：在进行这个实验时，白明胶常起皺縮，致和管壁分离。于是受試液体便很容易沿管壁下落。观察結果的时候应注意与扩散作用相区别。

实验十六 炭的吸附作用

取食糖少許放在坩堝中加热使它焦化。将焦化物质溶于水

100 毫升中。添加动物炭 5 克,加热煮沸 5 分钟,过滤。注意滤液已无焦色(是无色的了)。

重复此实验,应用刚果红代替焦糖。

取吸附后的动物炭加入丙酮抽提,这些色素可抽提出来吗?

渗透压

实验十七 血液胶体的渗透压^①

在一只赛璐玢或胶棉 (Collodion) 制的袋上配好一只双孔橡皮塞,用线围绕数匝将袋口和橡皮塞扎紧。塞的一孔装配长约 25~30 厘米的玻璃管一根,在另一孔中缓缓加入血液至满,用玻璃棒将孔塞住。将袋和玻璃管的一部分悬在貯有蒸馏水(若改用生理盐水则可使红血球不致裂溶)的大烧杯中。内外液面必须同样高低!静置一旁,观察液体沿玻璃管上升的情形。

酸定量和碱定量

要表明溶液的酸性程度有两种方法,一种是总酸度或滴定酸度;另一种是溶液中的氢离子浓度。这两种表示情况是不同的。例如:1 N 苯甲酸和 1 N 盐酸溶液的总酸度是一样的,不过,前者的氢离子浓度却只合后者的百分之一左右。

pH 值便是最常用的表示溶液中氢离子浓度的方式。所谓 pH 值就是氢离子浓度的倒数的对数值,

$$\text{pH} = \log \frac{1}{[\text{H}^+]} = -\log [\text{H}^+]$$

$[\text{H}^+]$ 表示氢离子浓度(克分子/升)

指示剂通常是复杂的有机酸或有机碱,在离解和不离解的时候显示出不同的色泽,可借此用作滴定终点的指示和 pH 值的测

① 原书是应用肠衣作为半透膜材料,但为了实验方便起见,改用赛璐玢或胶棉袋代替,因此在方法上也已作了改变。

定。例如酚酞乃是一种弱酸,在中性或酸性溶液中呈无色(为不离解型式),而在碱性溶液中则显红色(为离解型式)。它的变色过程是有一定的 pH 范围的。表 1 是多种常用的指示剂和它们的 pH 范围。

表 1 指 示 剂

指 示 剂	pH 范 围	色 变 化
金蓮橙 00 (Tropeolin 00, 即苯胺銀氮对苯磺酸)	1.4 ~ 2.6	紅——黃
Töpfer 氏試剂	2.9 ~ 4.0	紅——黃
剛果紅	3.0 ~ 5.0	藍——紅
甲基橙	3.1 ~ 4.4	橘紅——黃
溴甲酚綠	4.0 ~ 5.6	黃——藍
甲基紅	4.2 ~ 6.3	紅——黃
石蕊	4.5 ~ 8.3	紅——藍
硝嗪(Nitrazine)	4.7 ~ 6.0	黃——草黃
硝嗪(Nitrazine)	6.0 ~ 7.5	草黃——藍
茜紅(Arizarin red)	5.0 ~ 6.8	黃——紅
溴甲酚紫	5.4 ~ 7.0	黃——紫
酚紅	6.6 ~ 8.2	黃——紅
中性紅	6.8 ~ 8.0	紅——黃
甲酚紅	7.2 ~ 8.8	黃——紅
酚酞	8.3 ~ 10.0	无色——紅

酸碱滴定的中和点就是相当量的酸和碱在溶液内达到等当量之点。在应用强碱来滴定强酸时,加入的碱液稍有超出中和点,那末,溶液的 pH 值便会立刻增加很多。用于强酸-强碱滴定的指示剂通常有酚酞、甲基橙和甲基紅等。

而相对地,在应用强碱来滴定弱酸时,中和点是酸碱恰好成盐的时候。例如应用氢氧化鈉滴定醋酸而达中和点时,溶液就是醋酸钠溶液。醋酸钠溶液的 pH 值在 7 以上,所以滴定时若选用了 pH 值是 7 的指示剂,得出来的結果必定要比实际的低得多。由于这个緣故,用于弱酸-强碱滴定的指示剂通常均須偏于碱性 pH 值方面,如酚酞等。

实验十八 指示剂和 pH 值的认识

(一) 指示剂在不同 pH 值的溶液中的色泽反应 准备下列各组溶液的试管, 在受试溶液每 1 毫升中添加指示剂溶液一滴。记录所得色泽于下:

	pH 值	Tropeo- lin 00	Töpfer 氏试剂	刚果 紅	甲基 橙	石蕊	Nitra- zine	酚紅	中性 紅	酚酞
0.4% HCl	1									
0.04% HCl	2									
0.6% CH ₃ COOH	3									
缓冲液甲	4									
缓冲液乙	6									
缓冲液丙	7									
缓冲液丁	8									
缓冲液戊	10									
0.4% NaOH	13									

注: 缓冲液甲是醋酸鈉-醋酸缓冲液。

缓冲液乙、丙和丁是磷酸氢二鈉-磷酸二氢鉀缓冲液。

缓冲液戊是硼酸-氯化鉀-氢氧化鈉缓冲液。

(二) 盐类溶液的 pH 值 应用实验十八(一) 所得指示剂色泽表, 测求下列各盐类溶液的近似 pH 值: (1) 硼酸鈉, (2) 氯化鈉, (3) 醋酸鈉, (4) 氯化鈉。

你如何确定 pH 值的差别? 各种盐类: 强酸弱碱、弱酸强碱、强碱强酸以及弱酸弱碱的盐类的水解作用的通则是怎样的? 这个实验使你能确定以后每个有关滴定的实验中选择合适的指示剂。

定量技术上应注意的问题

对不曾学习过定量分析的学生来说, 下面的说明是对他有帮