

运动生物化学实验



"十二五"普通高等教育本科国家级规划教材
普通高等学校体育教育专业主干课配套教材

运动生物化学实验

(第二版)

主编 张蕴琨 丁树哲

高等教育出版社

“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材
普通高等学校体育教育专业主干课配套教材

运动生物化学实验

Yundong Shengwu Huaxue Shiyan

(第二版)

主编 张蕴琨 丁树哲

高等教育出版社·北京

内容提要

本教材是教育部首批“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材，也是《运动生物化学（第二版）》的配套教材。为深化运动生物化学实验教学改革，满足高等学校体育专业实验教学的需求，本书在第一版实验教材的基础上进行了修订。同时，在实验教学体系、实验内容等方面力求有所突破和创新。

本教材共分6个部分，各部分衔接得当，力求反映体育专业运动生物化学实验的特色，进一步体现科学性、实用性、可操作性和拓展性。各院校可根据自身的条件和课程安排，有选择地开设相关实验。

本教材是普通高等学校体育教育专业主干课配套教材，可供体育院校本、专科学生学习、备考使用。

图书在版编目（CIP）数据

运动生物化学实验/张蕴琨，丁树哲主编. --2 版

--北京：高等教育出版社，2016.7

ISBN 978-7-04-045772-8

I. ①运… II. ①张… ②丁… III. ①运动生物化学
-实验-高等学校-教材 IV. ①G804.7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 147063 号

策划编辑 赵文良

责任编辑 赵文良

封面设计 姜 磊

版式设计 马 云

责任校对 胡美萍

责任印制 毛斯璐

出版发行 高等教育出版社
社址 北京市西城区德外大街 4 号
邮政编码 100120
印 刷 北京北苑印刷有限责任公司
开 本 787mm×960mm 1/16
印 张 12.5
字 数 220 千字
购书热线 010-58581118
咨询电话 400-810-0598

网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.hepmall.com.cn>
<http://www.hepmall.com>
<http://www.hepmall.cn>
版 次 2006 年 7 月第 1 版
2016 年 7 月第 2 版
印 次 2016 年 7 月第 1 次印刷
定 价 18.80 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题，请到所购图书销售部门联系调换

版权所有 侵权必究

物 料 号 45772-00

本书编委会

主 编 张蕴琨（南京体育学院）
丁树哲（华东师范大学）

副主编 张林（苏州大学）
徐晓阳（华南师范大学）
林文弢（广州体育学院）

编写成员（以姓氏笔画为序）

王斌（南京体育学院）
刘丽萍（河北体育学院）
张缨（北京体育大学）
金其贯（扬州大学）
徐明（成都体育学院）
徐国琴（广州体育学院）
阎守扶（首都体育学院）
常波（沈阳体育学院）
蒋晓玲（南京体育学院）
熊正英（陕西师范大学）

前 言

运动生物化学是高等学校体育专业一门重要的专业基础课程。实验教学是运动生物化学教学的重要组成部分，它既与理论教学有联系，又是一个相对独立的部分，有其自身的体系和规律。运动生物化学实验的原理、方法和技术是运动人体科学重要的研究手段，并已在运动实践中得到广泛的应用，在推进竞技体育和大众健身的科学化进程中有着不可替代的作用。

本教材是教育部首批“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材，也是《运动生物化学（第二版）》的配套教材。为深化运动生物化学实验教学改革，满足高等学校体育专业实验教学的需求，我们对第一版实验教材进行了修订。修订主要在以下方面有所突破和创新：

1. 优化整合了实验教学体系，教材的框架由四个部分拓展为六个部分，层次性系统性更强。
2. 改革更新了部分实验内容，增加了一些先进的实验技术和方法，如骨比重、骨密度的测试、组织谷胱甘肽的测试等，体现时代性和需求性。
3. 将综合性设计性实验分为独立的两部分，分别增加内容和比重，强调实用性和可操作性，以更好地引导学生创新，强化能力培养。
4. 基础性实验在介绍方法与操作后增加了思考题，启发学生思维，深刻理解实验原理，将运动生物化学理论与实验有机结合，提高学生在运动实践中分析问题解决问题的能力。

本教材共分六个部分。第一部分为运动生物化学实验的基本操作和基本技术，简要介绍实验室的基本要求，以及常用玻璃仪器的清洁与使用、实验样品的采集与制备方法等，为后续实验的顺利完成奠定了基础。第二部分为运动生物化学基础性实验，介绍了一些实用的经典实验，使学生对基本实验方法有比较完整的认识和了解，有利于基本技能的训练。第三部分为运动生物化学综合性实验，着重强调将运动生物化学常用的指标与方法融会贯通，应用到体育运动的实践中，体现了实验教学的改革与创新。第四部分为运动生物化学设计性实验，主要介绍实验的设计过程，让学生在完成基础性实验和综合性实验的基础上，结合所学知识自行设计实验方案，进行研究的初步训练，促进学生科学思维的形成，也为毕业论文研究工作打下基础。第五部分为运动生物化学拓展性实验，围绕当前运动人体科学研究的重点、热点，系统介绍了相关专题的指标应用和测试方法，有利于学生扩大知识面、开阔视野，又给教师和学生一定的选择空间。第六部分为运动生物化学常用仪器及技术，与前几个部分实验紧

密配套，前呼后应，也可促进各院校实验室的建设。

本教材力求反映体育专业运动生物化学实验的特色，进一步体现科学性、实用性、可操作性和拓展性。各院校可根据自身的条件和课程安排，有选择地开设相关实验。由于编者水平有限，疏漏或错误之处在所难免，希望在使用过程中不断得到各方面的反馈信息，以便进一步完善。

张蕴琨

2016年5月

目 录

第一部分 运动生物化学实验的基本操作和基本技术	1
一、实验室的基本要求	2
二、生化实验的基本操作	6
三、实验样品的采集与制备方法	17
实验一 基本技能操作	22
实验二 高锰酸钾浓度的测定	23
第二部分 运动生物化学基础性实验	26
实验一 血糖的测定(葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法)	27
实验二 血乳酸的测定(杨氏改良法)	29
实验三 血红蛋白的测定(氰化高铁血红蛋白法)	31
实验四 血尿素的测定(二乙酰-肟法)	33
实验五 血氨的测定(谷氨酸脱氢酶比色法)	35
实验六 血清甘油三酯(三酰甘油)的测定(甘油磷酸氧化酶法)	37
实验七 血清总胆固醇的测定(胆固醇氧化酶法)	39
实验八 血酮体(β -羟丁酸)的测定(酶比色法)	41
实验九 尿蛋白的测定	43
实验十 尿肌酐的测定(碱性苦味酸法——Jaffe 反应法)	46
第三部分 运动生物化学综合性实验	49
一、综合性实验的定义和意义	50
二、综合性实验的实践过程	50
实验一 肝(肌)糖原的提取、鉴定及定量测定	51
实验二 乳酸阈和个体乳酸阈强度的测定	54
实验三 运动负荷强度的生化评定	56
实验四 运动负荷量的生化评定	58
实验五 有氧耐力运动锻炼效果的综合评定	60
实验六 力量锻炼效果的综合评定	62
第四部分 运动生物化学设计性实验	64
一、设计性实验的概念和特点	65
二、开设设计性实验的目的	65
三、设计性实验的实践过程	65

拓展空间 ······	70
四、运动生物化学综合性、设计性实验教学模式 ······	70
示例一 不同强度运动对机体糖代谢的影响 ······	71
示例二 运动生化指标的综合应用 ······	73
第五部分 运动生物化学拓展性实验 ······	75
一、骨代谢生化指标测试 ······	76
实验一 骨比重与骨密度的化学法测定 ······	76
实验二 血清碱性磷酸酶的测定(金氏比色法) ······	77
实验三 血清碱性磷酸酶同工酶的测定(醋酸纤维薄膜电泳法) ······	79
实验四 抗酒石酸盐酸性磷酸酶的测定 ······	81
实验五 软骨与尿羟脯氨酸的测定 ······	83
二、肌损伤生化指标测试 ······	85
实验一 血清肌酸激酶活性的测定 ······	86
实验二 血清肌酸激酶同工酶 CK-MM 与 CK-MB 亚型的测定 (琼脂糖凝胶电泳法) ······	91
实验三 血清乳酸脱氢酶同工酶的测定(琼脂糖凝胶电泳法) ······	92
三、肝肾功能生化指标的测试 ······	94
实验一 血清丙氨酸转氨酶活性的测定(卡门氏法) ······	95
实验二 尿中微量蛋白浓度的测定(考马斯亮蓝法) ······	97
实验三 血清肌酐浓度的测定(除蛋白碱性苦味酸法) ······	99
实验四 血尿酸及尿液尿酸浓度的测定 ······	101
四、内分泌指标的测试与应用 ······	102
实验一 血清睾酮和皮质醇的测定 ······	104
实验二 尿儿茶酚胺的测定(荧光测定法) ······	108
五、自由基代谢生化指标的测试 ······	111
实验一 血清过氧化脂质的测定(硫代巴比妥酸比色法) ······	112
实验二 血清超氧化物歧化酶活力的测定 ······	113
实验三 组织谷胱甘肽含量的测定 ······	115
六、铁代谢生化指标测试 ······	118
实验一 全血铁含量的测定 ······	121
实验二 血清铁的测定 ······	123
实验三 血清总铁结合力和转铁结合力的测定 ······	124
实验四 转铁蛋白的测定(免疫光散射比浊法) ······	126
实验五 血清铁蛋白的测定(放射免疫法) ······	127

实验六 血清转铁蛋白受体(sTfR) 的测定	128
第六部分 运动生物化学常用仪器及技术	131
一、721、722、752 分光光度计	132
二、荧光分光光度计	139
三、酶标仪	144
四、自动生化分析仪	147
五、尿液分析仪	153
六、血乳酸自动分析仪	157
七、电泳技术	159
八、离心技术	166
九、放射免疫分析技术	176
主要参考文献	185

第一部分 运动生物化学实验 的基本操作和基本技术

1



一、实验室的基本要求

(一) 实验目的

- (1) 加深理解：加深对运动生物化学基本理论的理解。
- (2) 掌握技术：掌握运动生物化学的基本实验方法和实验技术。
- (3) 培养能力：培养学生的思维能力、动手能力和表达能力。
- (4) 掌握精髓：科学的精髓是实事求是、敢于探索、善于创新的精神，要对实验中出现的现象进行讨论，并大胆地提出自己的看法。

(二) 实验要求

- (1) 实验前必须预习实验指导和相关理论，明确实验目的、原理、预期的实验结果、操作步骤及注意事项。
- (2) 实验时要严肃、认真，注意观察实验过程中出现的现象和结果。
- (3) 实验中，应及时把实验数据和实验现象如实地记录在实验记录本上。根据实验结果进行科学分析，按时将实验报告交老师评阅。

(三) 实验时注意事项

- (1) 进实验室要穿好实验服，以免酸碱腐蚀衣服。
- (2) 进实验室前准备好实验指导、课本、笔记、实验记录本、报告本和文具等。
- (3) 进入实验室后，每位同学应自觉遵守课堂纪律，维护课堂秩序，不得在实验室内大声喧哗。按实验分组指定座位就坐，不得随意调换。
- (4) 要保持实验台面、地面、水槽及试剂架整洁，试剂、仪器应整齐，按次序放置。实验完毕，需将试剂摆放整齐，玻璃器皿洗净后放置稳妥。
- (5) 实验室内要保持安静，不得喧哗、玩闹、不得吸烟、随地吐痰和乱丢纸屑。
- (6) 要爱护仪器，节约药品。实验时要按照清单清点仪器和实验药品，用后如数交还。在使用时，仪器如有破损应及时报告，经指导老师检查后填写破损单，按学校规定赔偿。
- (7) 使用贵重、精密仪器应先熟悉使用方法，严格遵守操作规程。仪器发生故障时应立即报告老师，未经许可不得自己随意检修。
- (8) 要节约水电，实验完毕，应及时关闭水龙头并关闭电源。

(四) 试剂使用规则

- (1) 使用试剂前应仔细辨认标签、看清名称和浓度，确认是否为本实验所需要。
- (2) 取出试剂后，应立即将瓶塞盖好，放回原处。试剂瓶塞、专用吸量

管、滴管，不得与试剂瓶分离，以免错用而污染试剂，造成自己或他人实验的失败。未用完的试剂不得倒回瓶内。

(3) 使用滴管时，滴管尖端朝下，切勿倒置，勿使试剂流入橡皮帽内。

(4) 使用有毒试剂或强酸、强碱溶液时，尽可能用量筒量取；若用吸管时只能用吸耳球吸取，勿用嘴吸，以免造成意外。

(5) 多余的重要试剂和各种有污染的液体或凝胶，要按照要求进行回收，不得丢弃。

(6) 配制的试剂和实验过程中的样品，尤其是保存在冰箱中和冷冻室中的样品，必须贴上标签，写上品名、浓度和日期。放在冰箱中的易挥发溶液或酸性溶液必须严密封口。

(五) 废弃物的处理

(1) 所有固体废弃物，如用过的滤纸、棉花等，必须倾弃于垃圾桶内。

(2) 浓酸必须弃于小钵中，用水稀释后倒入水池中。

(3) 实验完成后的沉淀或混合物中有可提取的贵重药品不可随意丢弃，应注意回收。

(六) 实验报告

书写实验报告不仅是对每次实验的总结，同时是培养学生逻辑归纳能力、综合分析能力和文字表达能力，为以后撰写科研论文奠定基础的一项重要技能训练。所以，参加实验的每位学生，应当根据实验过程中记录和观察到的现象和实验数据及时、认真地分析总结并写出实验报告。努力做到内容实事求是，分析全面具体，文字简练通顺，誊写清楚整洁。一般好的实验报告应包括以下内容。

(1) 实验名称。实验名称不仅用简练语句反映实验内容，而且包括实验时间、实验地点、实验组号、实验者姓名、实验室条件（温度、湿度等）和实验类型（验证型实验、综合型实验和设计型实验等）。

(2) 实验目的。目的要明确，在理论上验证书本中所述现象，并使实验者获得比较深刻和系统的理解；在实践中，掌握使用实验设备的技能、技巧。

(3) 实验原理。简明扼要地阐述实验的理论指导，使未做过实验的人看后对该实验有一个初步的了解。

(4) 试剂和仪器。包括该实验使用的仪器设备（生产厂家和型号）和试剂（包括名称、浓度、配制方法等）。

(5) 实验步骤。写明主要操作步骤，不要照抄实习指导，要简明扼要地把实验步骤一步步写出。可用实验流程图或表格形式按照先后顺序表示。实验步骤一定要写得准确明白，以便他人能够重复实验。

(6) 实验结果。主要包括实验现象的描述、原始数据的记录、实验数据的处理和实验结论等。实验结果的表述，一般有两种方法：一种是文字叙述，即根据实验目的将原始资料系统化、条理化，用准确的专业术语客观地描述实验现象和结果，要有时间顺序以及各项指标在时间上的关系；另一种是利用图表来表示，即用表格或坐标图的方式使实验结果突出、清晰，便于相互比较，尤其适合于分组较多，且各组观察指标一致的实验，使组间的异同一目了然。每一图表应有表目和计量单位，并说明一定的中心问题。此外，有些时候还可以应用仪器记录仪描记出的曲线图，这些图可以使指标的变化趋势生动形象和直观明了。在实验报告中，可任选其中一种或几种方法并用，以获得最佳效果。

(7) 讨论。根据相关的理论知识对所得到的实验结果进行解释和分析。如果所得到的实验结果和预期的结果一致，应阐述该实验证明了什么理论，实验结果有什么意义，说明了什么问题。但是，不能用已知的理论或生活经验硬套在实验结果上，更不能由于所得到的实验结果与预期的结果或理论不符而随意取舍甚至修改实验结果，而是应该分析其异常结果的产生原因。如果本次实验失败了，应找出失败的原因及应注意的事项。另外，要对本次实验在运动实践中的意义及应用提出一些问题及自己的观点。实验结果和讨论是实验报告书写的重中之重，一定要论证充分，尽可能多地查阅一些文献资料，充分运用已学过的知识，对实验的正常结果和异常现象以及思考题进行深入的探讨，勇于提出自己独到的分析和见解，并尝试对实验过程提出改进意见。

附：实验报告格式

运动生物化学实验报告

_____ 学年 第 _____ 学期

实验名称：

姓名		学号		组别	
实验地点		实验条件		实验日期	

一、实验目的

续表

二、实验原理

三、实验试剂和仪器设备

四、实验步骤

五、实验结果

续表

六、讨论和分析

教师评阅意见

6

二、生化实验的基本操作

生物化学实验中需要掌握多种基本技术操作，如各种玻璃仪器和测量仪器的正确使用，技术操作中样品混匀、保温、加热、沉淀、过滤、离心等。如果这些操作不规范，将直接影响实验结果的准确性。因此，熟练和掌握生物化学实验的一些基本操作是非常必要的。为此，首先介绍一些常用仪器使用和操作过程中的几项基本技术，并要求学生反复练习以达到熟练程度。

(一) 玻璃仪器的洗涤与清洁

玻璃仪器的洗涤与清洁直接影响实验结果的准确性，因此玻璃仪器的洗涤工作是很重要的。

1. 新购置玻璃仪器的清洗

新购置来的玻璃仪器表面附着有游离的碱性物质，应先用肥皂水洗刷后再用流水冲洗，浸泡于1%~2%HCl中过夜，取出后再用流水冲洗，最后用蒸馏水冲洗2~3次，在100℃~130℃干燥箱中烤干或自然晾干后备用。

2. 使用过的玻璃仪器的洗涤

(1) 一般玻璃仪器。烧杯、三角烧杯、试剂瓶、试管等，可先用洗衣粉或肥皂水刷洗，将器皿内外壁细心地刷洗，使其尽量多地产生泡沫，然后再用自来水洗干净，洗至容器内壁光洁不挂水珠为止，最后用蒸馏水冲洗2~3次，晾干备用。

(2) 容量仪器。吸量管、容量瓶、滴定管等在使用后立即用清水冲洗，勿使黏污物质干固，并及时用流水或洗衣粉水尽量洗涤，稍干后用铬酸洗液浸泡数小时，然后用自来水反复冲洗，将洗液完全洗去，最后用蒸馏水冲洗2~3次，晾干备用。

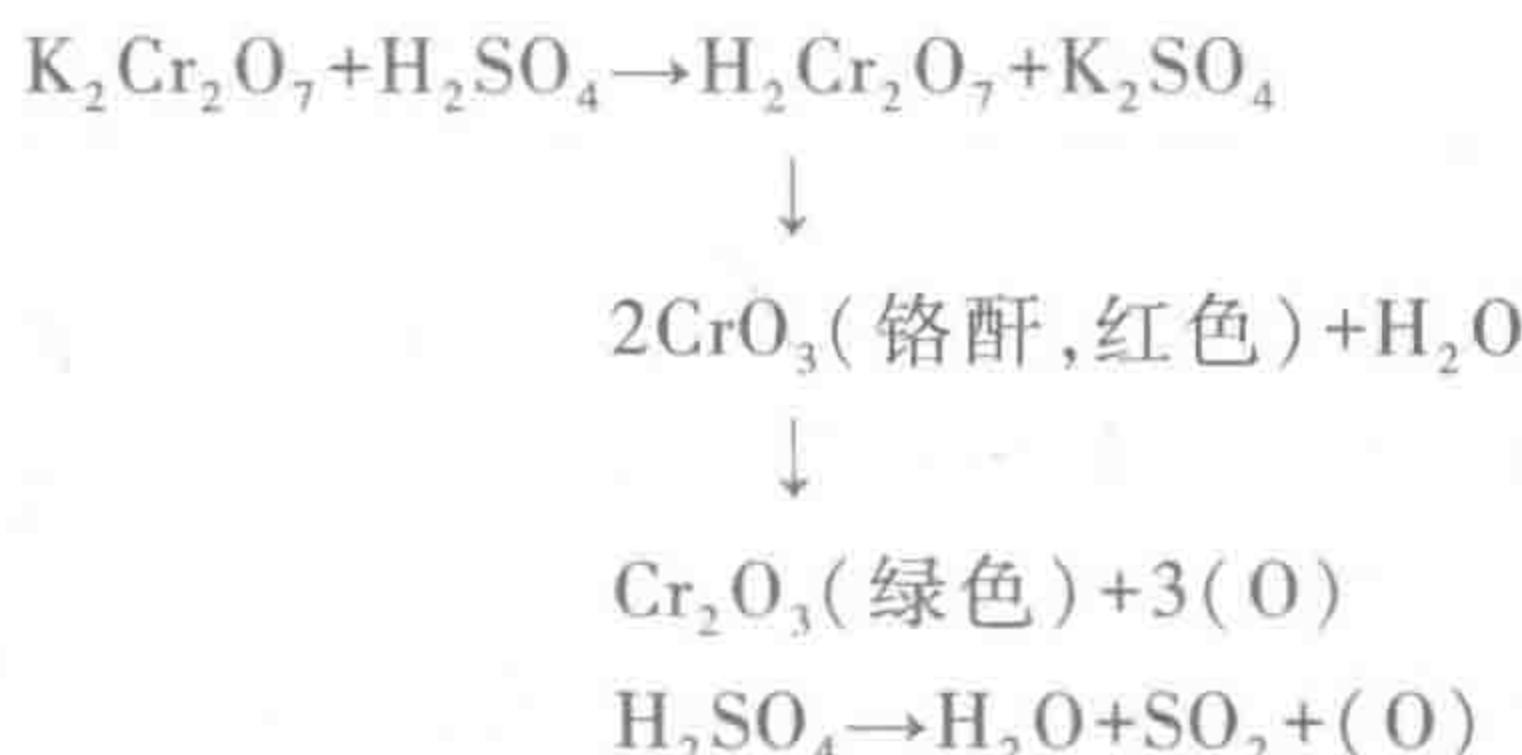
(3) 比色杯。用毕立即用自来水反复冲洗干净，如不干净，可用HCl或适当溶剂冲洗（避免用较强的碱液或强氧化剂清洗），再用自来水冲洗干净。切忌用试管刷或粗糙的布或纸擦洗，以保护比色杯透光性，冲洗后倒置晾干备用。

3. 清洗液的原理与配制

(1) 肥皂水、洗衣粉溶液和去污粉是常用的洗涤剂，有乳化作用，可除去污垢，能使脂肪、蛋白质及其他黏着性物质溶解或松弛，一般玻璃仪器可直接用肥皂水浸泡或刷洗。

(2) 铬酸洗液。

① 原理：铬酸洗液由重铬酸钾（或重铬酸钠）和浓硫酸配制而成，其清洁效力主要来自其强氧化性和强酸性。



铬酐越多硫酸越浓，其清洁效力也就越强，当洗液变绿色后则不宜应用。

② 洗液的配制：称取重铬酸钾5 g放于250 mL烧杯中，加热水5 mL搅拌，使其尽量溶解，烧杯下垫一石棉网以防过热，然后慢慢加入工业用浓硫酸100 mL，随加随搅拌，尽量避免红色铬酐沉淀析出。此时洗液由红黄色转为黑褐色，冷却后储存于指定容器内，盖紧以防吸水并贴上标签。

4. 清洗液的使用

使用洗液前需将玻璃仪器用自来水冲洗数次，并将仪器上的水分尽量除去，再放洗液中浸泡。数小时后取出仪器，用自来水充分清洗，冲洗时注意勿

将洗液溅出水槽，再用少量蒸馏水冲洗数次，晾干备用。

上述两种洗液是常用的，实验中遇到特殊污染物，可能需用针对性强的洗涤液。

(二) 容器的使用

1. 烧杯

烧杯是用硬质玻璃或特硬玻璃制成的，主要用于溶解较多量的物质或加热较多量的液体。常用烧杯的类型和规格有以下几种(图1-1、表1-1)。

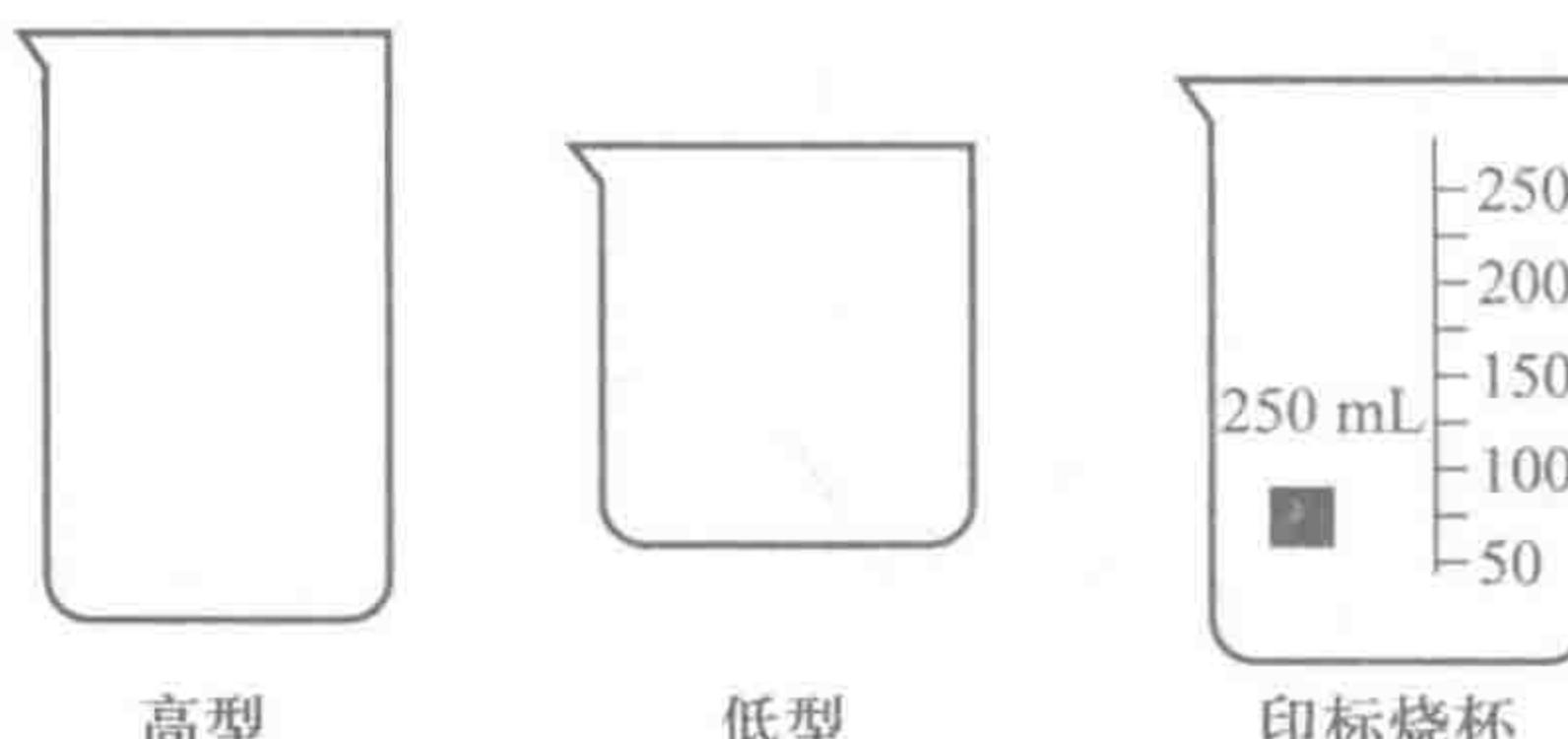


图 1-1 烧杯的类型

表 1-1 烧杯的规格

类型	规格 (mL)
低型	50、100、150、200、250、300、400、500、600、800、1 000、2 000、3 000、5 000
高型	50、100、150、200、250、300、400、500、600、800、1 000
印标烧杯	与低型类似

为了便于在操作过程中定量地保持溶液的体积，有一些烧杯印有容积标线，这就是印标烧杯。其容积标记是近似容积。

使用烧杯应注意下列规则：

(1) 不能用火焰直接加热。烧杯底面较大，若用火焰直接加热，由于加热的部位与远离火焰部位温差过大，会使玻璃膨胀不均而破裂。所以，用烧杯加热液体时必须垫上石棉网。加热前还需把烧杯外壁擦干。

(2) 用烧杯加热液体时，液体量以不超过烧杯容量的1/3为宜，如用烧杯蒸发溶液时，最好在烧杯上放一个用玻璃棒制成的三角架，上边再正放一个表面皿，以免液体溅失或落入尘埃。不能用烧杯加热易燃液体，以防发生火灾，也不能用烧杯加热蒸发挥发性强酸，以免污染环境。

(3) 不能用烧杯代替茶杯使用，以保证安全。

(4) 不可在烧杯中长期存放化学药剂。