

生物化学檢查法



人 民 衛 生 出 版 社

生物化学检查法

——临床检验工作者、生物化学工作者工作指南——

B. C. 阿薩契阿尼 著

四川医学院生物化学教研組 譯

譯 者

徐仲呂 方 丁 劉宗定 劉秉文

孫芝琳 鄭元英 姚鳴春 徐秀明

林希蘊 梁紹智 張明琪 梅 行

彭恕生 盧文錫 薛振南

中国医学科学院生物化学系、張傳麟 校

人 民 衛 生 出 版 社

一九六〇年·北京

內 容 提 要

本书搜集了临床医学檢驗和生物化学檢驗常用的各种实验方法，共分14章，其中包括：檢驗标本的收集及准备技术；无机物質的測定；生物材料中碳氮及氮含量的測定；蛋白質的測定；核酸及核苷酸的測定；含氮物質代謝产物之測定；醣及其代謝产物的測定；脂类及其代謝产物之測定；色素的測定；有机酸的測定；维生素的測定；激素的測定；酶的測定以及呼吸气的分析和基础新陈代谢等章。本书对于各种測定所述的方法比較詳尽而且全面，可供作临床檢驗医师及檢驗工作者日常工作指南，也可供作生物化学工作者在实验研究工作中的参考用书。

МЕТОДЫ БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В. С. АСАТИАНИ

МЕДГИЗ—1956—МОСКВА

生 物 化 学 檢 查 法

開本：787×1092/16 印張：21 1/2 字數：505 千字

四川医学院生物化学教研組 譯

人 民 衛 生 出 版 社 出 版

(北京書刊出版業營業許可證出字第〇四六號)

• 北京城文匯橋子胡同三十六號 •

中国科学院印刷厂印刷

新华书店科技发行所发行 · 各地新华书店經售

統一書號：14048·2206

1960年7月第1版-第1次印刷

定 價：2.00 元

(北京版) 印数：0001—5,000

序 言

1939年出版的“生物化学方法指导”在许多方面与现代日新月异的生物化学方法的发展已不相符。同时，由于我国生物化学的蓬勃发展，在生物化学、临床医学和其他生化实验室中，新的生化检查方法也在不断地增长着。

为了满足这些需要，并且力求篇幅不致过多，我们已将旧版重新改写，而且在新版中加入了不少新的可靠的生物化学分析方法。

希望本书能够促使这些方法应用于临床医学以及其他实验室的实际工作中。对本书的一切批评和指正，作者将怀着感激的心情接受。

作 者

目 录

序言

第一章 檢驗标本的收集及准备技术 1

檢驗用血液的收集..... 1

尿液标本的收集..... 5

汗液标本的收集..... 5

檢驗用消化液的收集..... 7

唾液的收集..... 7

胃液的收集..... 7

粪便标本的收集..... 8

采取分析用組織的技术..... 9

无蛋白濾液及提取液的制备..... 13

无蛋白血濾液的制备..... 13

消化液、尿及其他生物液体的无蛋白濾

液的制备..... 14

器官及組織无蛋白提取液的制备..... 15

干重的測定..... 15

生物液体及組織的灰化..... 15

干灼燒法..... 15

湿消化法..... 16

用高氯酸消化法..... 17

用硝酸和过氧化氢消化法..... 18

用过氧化氢消化法..... 18

第二章 无机物质的測定 19

鉀的測定..... 19

Кометанини 和 Долидзе 二氏法測定鉀..... 19

按 Van Slyke 等氏法改良的 Накитина

氏法測定鉀..... 20

鈉的測定..... 22

Weinbach 氏法測定鈉..... 22

Kramer-Gittlemen 二氏法測定血清

中的鈉..... 23

Albanese-Lein 氏法測定鈉..... 24

鎂的測定..... 25

鎂的測定..... 25

鎂的測定..... 25

Калинникова 氏法測定血清中的鎂..... 25

Orange-Rhein 氏法測定鎂..... 26

鈣的測定..... 27

Guillaumin 氏法測定鈣..... 27

Sobel-Sobel 氏法測定血清中的鈣..... 28

Van Slyke-Sendroy 氏法測定血液中

的鈣..... 29

尿中鈣的測定..... 30

Sendroy 氏法測定鈣..... 30

Hoffman 氏法測定鈣(有某些修改)..... 31

尿中鈣的測定..... 32

食物与糞中鈣的測定..... 33

鋇和鋇的測定..... 34

鋁的測定..... 34

Cholak 等氏法測定鋁..... 34

鎢的測定..... 36

Грушко 氏光譜法測定鎢..... 36

其他方法..... 36

鐵的測定..... 36

Kitzes 氏法測定鐵..... 36

Barkan-Walker 二氏法測定鐵..... 37

Burch 等氏超微量法測定鐵..... 38

Johnston 氏法測定鐵..... 39

錳的測定..... 40

微量錳的測定..... 40

鎳的測定..... 42

鈷的測定..... 42

鋅的測定..... 43

鉛的測定..... 46

銅的測定..... 47

鋇的測定..... 49

Войнар 氏法測定鋇..... 49

砷的測定..... 50

机体及組織中砷的測定..... 50

滴定法測定砷鏡中的砷..... 52

砷的比色分析法..... 52

Кутателадзе 氏重量法測定还原砷..... 53

銻的測定..... 54

Maran 氏法測定銻..... 54

錫的測定..... 54

鉍的測定..... 55

鉍的測定	55
鎘的測定	57
緩沖砷的定量測定	58
總砷的測定	58
Эпштейн 氏法測定血液及組織中緩 沖砷	59
磷的測定	59
血液中磷的測定(按 Браунштейн 氏 改良的 Fiske-Subbarow 法)	60
血液中磷脂磷的測定(按 Рыжов 改 良的 Карсен-Варинг 法)	61
磷的比油測定	63
硅的測定	63
Gohr-Scholl 氏法測定尿中硅酸	63
硫的測定	64
Letenof-Reinhold 氏法測定血清中 的无机硫	64
聯苯胺法測定尿中的硫	64
氧化硫总量的測定	65
无机硫酸鹽的測定	65
Lang 氏法尿中硫的測定	65
血清總硫的測定(Уэйкфилл 法)	65
Черный-Полойникова 氏法測定硫	68
磷的測定	68
尿中磷酸鹽及亞硝酸鹽的測定	71
血中硫氰酸鹽的測定	71
氮的測定	72
按改良的 Лоя 氏法測定氮	72
測氮方法的一般說明	73
Эпштейн 氏法測定氮化物	74
Владимиров-Эпштейн 氏法測定鹵素 氮化物	74
Conway 氏法測定氮化物	75
組織中氮化物的測定	75
Sendroy 氏法測定氮	76
Van Slyke-Hiller 氏法測定氮化物	76
胃液中氮化物的測定	78
碘的測定	79
Riggs-Mann 氏法測定碘	79
少量碘的測定法	81
血液中甲状腺素含碘的測定	83
溴的測定	84
Селиванов 氏法測定溴	85

氟的測定	87
Моисеев 氏法測定齒組織中的氟	87
測定齒組織中氟的聯合法	88
含水量的測定	89
机体含水总量的測定	89
Хорошая 及 Авилов 氏快速測定濕 度法	90
Чаговец 及 Шейтман 氏組織夾質 及水分的快速測定法	90
第三章 生物材料中碳、氮及氨含量 的測定	92
Van Slyke 測壓法測定碳	92
尿中碳的測定	101
次溴酸鹽法測定總氮和非蛋白氮	103
凱氏法測定總氮	104
大量凱氏測氮法	104
半微量凱氏法	105
微量凱氏法	105
非蛋白氮的微量測定	108
微量擴散法測定組織內預先形成微量 的氮	110
簡易微量擴散測氮法	110
Russell 氏法測定氮	111
第四章 蛋白質的分析	112
蛋白質含量的測定	112
用定氮法測定蛋白質的含量	112
血清蛋白含量的測定	112
血液中蛋白質的分類測定	113
比色法測定蛋白質	113
Рубель 氏法測定胃液中蛋白質含量及其 分類的測定法	113
血清中各類蛋白質的提取及其雙縮脲 反應測定法	114
腦脊液中蛋白質的測定	116
尿中 Bence Jones 蛋白質的測定	116
紙上电泳法分離蛋白質	116
用定碳法測定蛋白質	118
蛋白質含量的重量測定法	118
尿中蛋白質的重量測定法	118
多肽含量的測定	119
蛋白質中氨基酸成分的測定	119
組織蛋白的分离	120

总蛋白的水解与测定	121	Орехович 和 Тустановский 氏法测定血	
Van Slyke 氏法测定氨基氮	121	和尿中的尿素	158
Цуверкалов 氏法测定氨基氮	123	Ли-Уидоусон 氏法测定尿素	160
氨基酸及亚氨基酸的测定	125	尿酸的酶滴定法	161
脯氨酸与羟脯氨酸总量的测定	126	Hopkins 氏法测定尿中尿酸的含量	162
甘氨酸的测定	126	Fearon 氏法测定尿酸	163
丙氨酸的测定	127	尿酸的酶促测定法	163
丝氨酸的测定	128	Touster 氏法测定硫组氨酸甲基内盐	164
苏氨酸的测定	129	Melville-Lubschez 氏法测定硫组氨	
蛋氨酸的测定	130	酸甲基内盐	166
胱氨酸的测定	130	尿囊素的测定	166
苯丙氨酸的测定	131	Эвнштейн 和 Фомина 氏法测定肌酸酐、	
二氢苯丙氨酸的测定	131	肌酸和磷酸肌酸	167
Shaw-McFarlane 氏法测定色氨酸	131	肌肉中磷酸肌酸的测定	168
Fürth-Diesche 氏法测定色氨酸	132	血液中医酸酐的测定	168
Грехем 氏法测定色氨酸	132	尿中肌酸的测定	169
酪氨酸的测定	133	三甲基胺的测定	170
Цуверкалов 氏的精氨酸及其他胍基衍		血、尿和組織中胍基乙酸的测定	170
生物的气量测定法	133	第七章 醣及其代謝产物的测定	172
Dubnoff 氏法测定精氨酸	134	Hagedorn-Jensen 氏法测定还原糖	172
瓜氨酸的测定	134	Фу Кита-Иватака 氏法测定血糖	173
组氨酸的测定	135	Somogyi 氏法测定血糖	174
Марлашев 氏酶促法测定天门冬氨酸	135	发酵法测定葡萄糖	175
测压法测定少量的天门冬氨酸	136	Somogyi 氏法测定尿糖	176
血液内组氨酸的测定	137	动物組織中游离戊糖的测定	177
微生物法测定氨基酸	138	McBaym 氏法测定戊糖	177
甘氨酸、缬氨酸、丝氨酸和苏氨酸的微生		Dische 氏法测定脱氧核糖	178
物测定法	140	Dische 氏法测定甲基戊糖	178
酪氨酸和蛋氨酸的微生物测定法	141	Horowitz 氏法测定乳糖	179
色氨酸的微生物测定法	141	Partridge 氏法作糖的层析	180
胱氨酸的微生物测定法	143	紙上层析法测定葡萄糖	183
尿中胱氨酸的微生物测定法	143	血液中果糖的测定	184
微生物法测定氨基酸成分中組織和血液		氨基己糖的测定	185
的准备	144	Seifter 氏法测定糖元	186
微生物法测定氨基酸含量中粪便的准备	145	Good 氏法测定糖元	187
微生物法测定氨基酸含量中尿的准备	145	組織中醣类物质的测定	188
蛋白质分析的层析法	146	1. 組織中总醣量的测定	188
氨基酸的定量层析法	150	2. 組織中糖元总量的测定	188
第五章 核酸和核苷酸的测定	154	3. 組織中結合与游离糖元的测定	189
Davidson-Waymouth 氏法测定核酸	154	4. 組織中游离糖的测定	189
血液和組織中嘌呤核苷酸和核苷的测定	155	5. Эмбден 及 Иост 氏法测定己糖磷	
三磷酸腺苷(ATP)的测定	156	酸酐	190
第六章 含氮物质代謝产物的测定	158	粘蛋白的测定	190

乙醚的測定	192
Van Slyke 氏法測定酮體	193
Thin 及 Robertson 氏法測定酮體	195
Lipmann 氏法測定乙醯磷酸鹽	195
二磷酸果糖的測定	196
層析法測定糖的磷酸酯	196
第八章 脂類及其代謝產物的測定	198
組織中甘油的測定	198
脂酸和非皂化物質的測定	198
正辛酸的測定	201
用層析法測定脂酸	202
組織脂類中含氮成分的測定	202
少量脂酸的測定	203
糞便中脂酸的測定	205
糞甾醇的測定	206
总的、游离的和結合的膽固醇的測定	206
膽固醇蛋白質複合物中膽固醇的測定	209
磷脂的測定	209
乙醯胆礮的測定	212
含氨基乙醇和絲氨酸的磷脂的測定	212
第九章 色素的測定	215
紅血球內游离原卟啉的分光光度測定法	215
糞卟啉的測定	216
尿胆素的測定	216
尿色素與尿色素元的測定	218
Heilmeyer 氏法測定尿中的色素	218
Rimington-Hemings 氏法測定卟啉	219
胆紅素的測定	219
Aldrich-Bledsoe 氏法測定胆酸	221
胆酸的測定	221
第十章 幾種有機酸的測定	224
甲酸的測定	224
草醯乙酸及乙醯乙酸的測定	224
丙酮酸的測定	225
血液中丙酮酸的測定	225
磷酸丙酮酸的測定	227
乳酸的測定	227
Barker-Summerson 氏法測定血液及	
組織中的乳酸含量	229
琥珀酸的測定	230
α - 酮戊二酸的測定	232
苹果酸的測定	233
Кометанов 氏法測定血液中的檸檬酸	234

組織中檸檬酸的測定	236
烏頭酸的測定	236
用層析法測定延胡索酸	237
用測壓法測定延胡索酸	239
苯甲酸及馬尿酸的測定	239
尿中尿黑酸的測定	240
用 Мартинсон-Владими́рова 氏法測定	
血液中有機酸的总量	241
用 Владимиров 及 Энштейн 氏法測定	
有機酸	242
有機酸的層析測定	243
酮酸的層析測定	243
第十一章 維生素的測定	245
按烏克蘭蘇維埃社會主義共和國科學院生	
物化學研究所的方法測定維生素A	245
維生素D的測定	248
Green 氏法測定維生素D	249
用烏克蘭蘇維埃社會主義共和國科學院生	
物化學研究所的方法測定維生素E	251
血液中生育酚的微量測定	252
脂肪及組織提取液中生育酚的測定	253
維生素K的測定	254
Hennessy 和 Cerecedo 二氏法測定	
硫胺素	255
Труфанов 氏法測定動物組織和酵母中	
游离的和結合的核黃素	256
Scott 氏法測定核黃素	257
Najjar 氏法測定尿、血和乳中的核黃	
素	259
尼克酸的測定	260
Носикова 氏法測定尼克酸	261
測定尿中的N-甲基尼克酸	262
血中游离的和結合的对氨基苯甲酸和对	
硝基苯甲酸的測定	263
Андреева 和 Букин 二氏法測定叶酸	264
Allfrey 氏法測定叶酸	265
測定與蛋白質結合的抗坏血酸	266
測定器官中的維生素C	267
抗坏血酸的測定和机体維生素C飽和度	
的測定	269
抗坏血酸、脫氫抗坏血酸和二羧古乐酮	
酸的測定	271
Климов 氏法測定抗坏血酸、脫氫抗坏血	

酸和二酮古乐酮酸	272
血液中維生素C的測定	273
第十二章 激素的測定	275
腎上腺素的測定	275
用層析法分離腎上腺素和正腎上腺素	275
Kobro 氏法測定腎上腺素	276
甲狀腺素的測定	277
尿和血中類固醇的測定	277
尿中雌性激素的測定	278
尿中孕二醇測定	279
Ольшанецкий-Эпельбаум 氏改良法	
測定孕二醇	279
Huber 氏法測定尿中孕二醇	280
尿中雌性激素的比色測定	280
Finkelstein 氏法測定尿中固醇類雌性	
激素	281
尿中脫氧皮質酮的測定	282
第十三章 某些酶的測定	284
血清內胆礆酯酶的測定	284
酯酶的測定	285
葡萄糖糖酸酯的測定	286
肌凝蛋白三磷酸腺苷酶活性的測定	287
水溶性三磷酸腺苷酶的測定	288
天門冬酰胺酶及谷氨酰胺酶的測定	289
胃蛋白酶酶的測定	289

胰蛋白酶酶的測定	289
黃嘌呤氧化酶的測定	290
血液淀粉酶的測定	290
Бах 及 Зубкова 氏法測定過氧化氫酶	291
血液中過氧化物酶的測定	292
碳酸酐酶的測定	292
脂酶的測定	293
組織磷酸解活性的測定	294
腸激酶的測定	295
磷酸酶的測定	297
第十四章 呼吸氣的分析 and 基礎新	
陳代謝	299
總述	299
基礎新陳代謝	302
Сеченов 氏和 Шатерников 氏法	304
Haldane 氏法	305
Гедсваншвили 氏按 Холден 氏儀器	
改良氣體分析法	309
Крог 氏儀器	309
Книппинг 氏法	312
Артынов 氏儀器	318
按 Шатерников 氏法測定氣體代謝	320
測定食物的特殊動力作用	325
附錄	327

第一章 檢驗标本的收集及准备技术

檢驗用血液的收集

关于血液标本的采取没有统一的准绳，采取的方法基本上取决于研究者的目的。通常在人作静脉穿刺，在小动物作心脏穿刺，不过也可以采取动脉血或毛细管血。

通常需用很少量的血液进行操作，其中部分原因系由于微量方法的发展。此时以手指和耳垂穿刺取血最为方便^①。自指头取血时，须用肥皂和热水洗涤手指（如果手冷，可把它放在热水中浸一短时间），仔细晾干，用酒精棉球擦净，再用乙醚擦，然后用棉花或滤纸擦干。在稍低于手指甲的软肉部分穿刺。在耳垂取血时，先用2—3滴甲苯擦耳垂，使其充血，然后穿刺，取血。用酒精擦净伤口后，盖上一块纱布，再用小木夹钳住。在耳垂重复穿刺的疼痛要比在手指轻微得多。

如果在用酒精擦净并揩干了的耳垂上涂一层薄薄的消毒凡士林（可延缓血液凝固），则从耳垂取血可以收集到1毫升的血液。

为了防止血凝，也可先在穿刺部位撒上很细的草酸盐粉末，但通常不用也行。

通常把第一滴血擦掉。每次取血后应将剩余的血拭去。如果还需要血液，则应取重新流出的血液。

用穿刺法取血时须用绝对洁净的微量吸管。吸管先用铬盐混合液洗涤，然后再用蒸馏水、酒精和乙醚洗涤，并用空气流干燥。吸管尖端侧面与血滴接触，并且将吸管放平，以便血液容易流进吸管。最好不用口吸入血液，因为这样常常会吸入空气泡。吸管的直径要在1—1.7毫米，以便血液能靠毛细管作用而自行升入管内。吸管上应预先作出精密的刻度。

取血至吸管刻度后，用滤纸或干净小亚麻巾擦净吸管尖端，立即把血吹入适当的容器中，用蒸馏水或其他适当的液体洗吸管数次，将洗液也注入该容器中。

必须记住，毛细管血的组成与静脉血和动脉血比较起来，与后者更接近些^②。

从指头采血虽有許多优点，但也有缺点。首先，采血时无论怎样预防，仍不免会有少许淋巴混入，致使血液的组成改变。

要不用挤压而又能取得大量血液，就必须穿刺得深些，这样比静脉穿刺疼痛得多。当用通常的微量方法来检验血浆，必须取0.5毫升以上的血液时，对这点应特别注意。

从静脉（或动脉）取血时没有这些困难。唯一的困难是寻找胖人、妇女及小孩的静脉。

在人体取动脉血可作桡动脉或股动脉穿刺。

从桡动脉取血时，将患者手放在桌上，摸出桡动脉行径，以淡墨水画线标明位置，然后用碘酒消毒皮肤并开始穿刺。通常在桡骨小头上二横指高处穿刺。将患者手微向背侧弯

① 在幼儿可自拇指或足趾取血。

② 为了使毛细管血液组成和动脉血更接近，可先将手掌浸入45℃热水中15分钟，然后擦干。在指头上作一浅穿刺，将血液收集在盛于玻璃容器中的一层凡士林下面。器壁上已铺有一层按3页注③方法准备的草酸钠或草酸钾。

曲,使动脉拉紧,以免从针头滑脱;但不应过度弯曲,以容易摸到脉搏为宜。针孔向上,穿刺针头孔与皮肤平行,迅速刺入皮肤,然后再向动脉行徑穿刺。进入针筒血液若有搏动力推动筒心,则表示针头进入了动脉,即可开始慢慢抽血。至收集足量血后迅速拔出针头,立即用消毒纱布紧压穿刺处,然后把伤口盖上一小块纱布或敷料。

在人体从静脉采血时(通常从肘部静脉),先用酒精消毒皮肤,然后用大拇指及食指固定静脉,将针头(针孔朝上)沿着与皮肤表面约成 50° 角度的方向刺入。放开止血带(事先缠在患者肘部以上的扁平带子或橡皮管),把血液收集到针筒或(通过除去针筒的针头)试管内(此时所用针头的针孔应较大。一般而言,以用短而尖的针头为宜)^①。从明显突起的静脉取血最方便,这种静脉有皮下组织作很好的支持物,不致从针头滑脱。通常是从桡静脉或肘外侧正中静脉或肘内侧正中静脉取血(图1)。从后者取血颇为方便,但是需要熟练的技术才不致穿刺到分布在邻近的皮神经及肘动脉,肘动脉与肘内侧正中静脉之间仅隔着一条二头肌韧带。在这种情况下,如有可能,应不用止血带,只须在穿刺时轻轻压住静脉,当血一流出就立即放开。

在小儿及婴儿可自颈浅静脉及颈静脉采血。

在大动物(马、牛)可自耳静脉或颈静脉及颈动脉采血;在狗可自下肢皮下静脉、耳静脉及颈静脉、前肢桡静脉和股动脉采血。

在家兔通常用针头或用外科刀作静脉切口(图2)自耳静脉取血。将切口处的毛剃去,擦上酒精及乙醚。也可自腹壁动脉及颈动脉采血。取大量血液(自肥大的家兔可取15—20毫升)可作心脏穿刺(但每月不可超过2次)。

关于从实验小动物采血技术,较详细的说明可参看 С. И. Сахаров 的著作。

采取被检血液最完善的插管技术是 Е. С. Лондон 拟定的。此法系通过插入静脉或动脉的套管来采取动脉血(入器官血)及静脉血(出器官血)。不过,即使应用此法也会使动物受伤而引起受检血液组成的改变。

Е. Ф. Грушевский 主张用特制的套管装在剥离的动脉上来收集狗的动脉血。И. М. Комаров 曾叙述了从马身上取动脉血的技术。

取血时,应使用绝对无菌和干燥的仪器。血液可收集在按通常方法消毒的干燥器皿中,并须立刻加盖棉花以免蒸发。器皿的大小以能恰好装满血液为宜。应尽可能在收集后立即进行血液的分析。如果检验需用血清,则将血液收集在无菌试管中,塞上棉花。将试管倾斜,并用棉花围绕,然后静置,以便试管在血凝时尽可能的保持住温度。如果将取得的血液立即放入冰箱,则血液在凝结时就会紧贴在试管壁,以致难以毫不夹带红血球地把血清分离出来。

为促进血清的分离,可微微摇动试管或用手指轻叩管壁,也可用白金丝或细玻棒沿

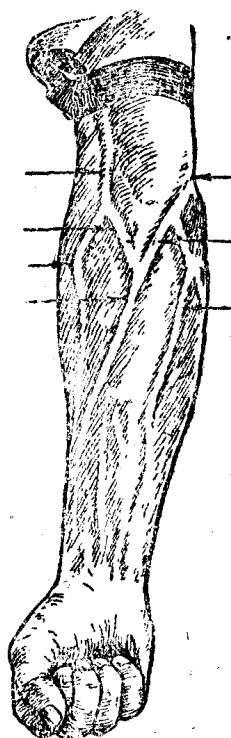


图1 从人体静脉取血的部位(箭头所指处)

^① 通常最好不用止血带,如非用不可,则应将头2—3滴血擦去,以便能稍微减少因使用止血带所引起的瘀血对血液标本组成的影响。有时这个影响可略而不计,但在许多时候(如测定血液中气体成分时),应用止血带会使分析结果完全不正确。

試管內壁繞動。

通常經3小時左右血清即能完全分出。仔細傾出血清，不要帶入紅血球。必要時，可用離心的方法將紅血球自血清中除去。

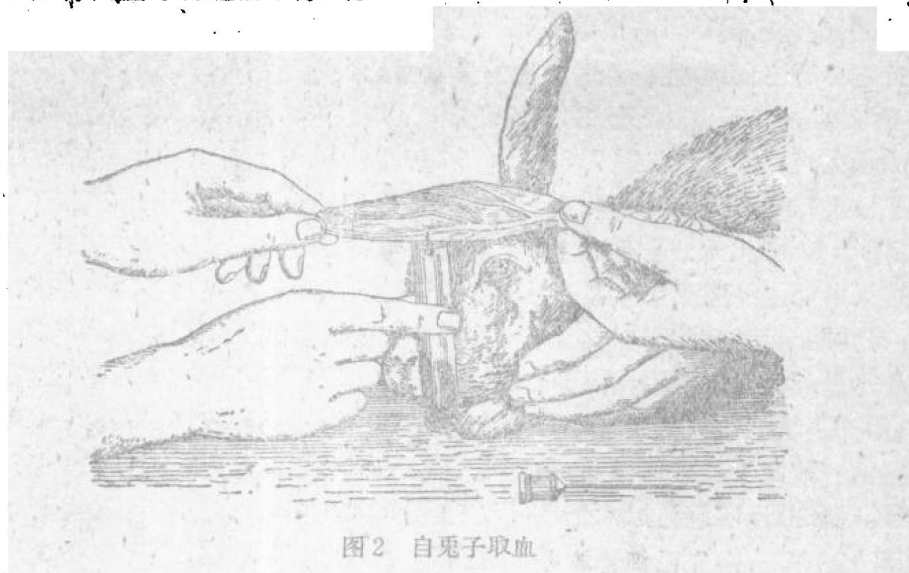


圖2 自兔子取血

如果檢驗需要用血漿或紅血球（或因在取血後不能立即檢驗而需要全血）時，應將血液收集於盛有少量抗凝劑和防溶血藥物的容器中。為此，通常視測定的特點而採用草酸鹽或檸檬酸鹽、氟化鈉、水蛭素及肝素等。應經常注意勿使這些藥物的濃度太高，以致影響以後的測定。通常每10毫升血加0.01—0.02克草酸鹽，0.01—0.02克氟化鈉或3—4滴水蛭素溶液^①。

如果需要血漿作標本，而抗凝劑用草酸鈉或草酸鉀時^②，最好將血液收集於按下述方法準備的試管中：向試管中加入0.5毫升適當濃度的草酸鹽溶液（例如6.3%草酸鈉溶液），使每10毫升血液含0.02克草酸鹽，將試管以幾近水平的位置放於電熱板上蒸干。溶液蒸發後就在管壁上形成草酸鹽的薄膜。也可在小火上不斷轉動試管蒸發至干，冷後即塞上塞子。

使用肝素時必需將它與血液仔細混勻，以免形成小的凝塊。最好是作成肝素水溶液，再按需要量量取這溶液，放入采血的容器內，並在不超过30°C的溫度下攪勻，使其在器壁形成一層水蛭素薄膜。

去纖維蛋白血的準備。收集血液於小玻璃杯中，用玻璃棒小心攪動，但勿碰到杯壁。

檢驗紅血球。將去纖維蛋白血離心，并用生理鹽水洗紅血球。可是應該注意到，不僅是洗滌過程，就是分離操作本身也會大大地改變紅血球的組成。因此紅血球內任何物質濃度的測定通常是用間接的方法，根據對全血和血漿的分析，並在確定了血漿和血球的相對含量之後作出相應的計算。

pH的測定。用特別裝置將血液（避免靜脈充血）收集於液體石蠟下面。在其他一些

① 如果沒有現成的水蛭制劑，可如下配備水蛭溶液：將幾個水蛭頭置酒精中，然後將其干燥，研成粉末。1份粉末用100份1% NaCl溶液煮沸，過濾。

② 草酸鈉較草酸鉀難溶，這正是它的優點，因為溶於血液中的過量的草酸鹽會影響到無蛋白血液的製備過程。此外，草酸鉀的存積，在用比色法測定尿酸的顏色反應中能引起混濁。草酸鈉能引起紅血球體積的輕度縮小和血液氧基分布的改變，然而其影響程度較草酸鉀及檸檬酸鈉小。

檢驗中，也可运用这种不与空气接触的采血法。

最好是在取血后立即进行檢驗。有刻度的注射器不仅可取血，也可量血，用起来很方便。量取微量血液最好使用微量注射器。

最后，采血量应视不同的檢驗而定，不过任何时候所采的血量都应足够作兩次平行測定。此时还必须注意到，能得到的血清的量通常比采血量的一半还略微少些。

以下将叙述在应用超微量法进行分析时，采集血液、血清、血浆及血中有形成分等标本的方法。在这些方法中仅需 0.03—0.05 毫升試样就足够了。

如果需要 25 微升血清，可将自指头或耳垂取出的血液收集于一毛细管中，其直径为 1.5—2 毫米，長 10 厘米，借毛细管引力血液即可充滿其長度的 $\frac{1}{2}$ 。毛细管应傾斜到足以使血液进入中部，并注意保持管子另一端的干燥。管端須按下法封閉：在火上熔化一小块油灰，将其貼于毛细管干的一端，此端亦应在火焰旁烘热。封閉此管端时須将硬油灰及玻璃管端尽量烘热以便融化。但不应使血液受热，否則会引起溶血。毛细管的另一端不必加热，用一小块軟油灰塞住。將毛细管于 3,000 轉/分的速度下，离心 5—10 分钟，此时应使封紧的一端向下。將每根毛细管分別包在作有适当記号的紙片中，一次就可离心大量的样品。离心时，应避免标本受热，否則会引起如抗坏血酸这类物质的损失。

利用上述方法，兩支毛细管即可收集到 50 微升血清。收集 150—300 微升血液时，使用直径 4 毫米、長度 10 厘米的管子更方便。如有必要，压挤手并把它弄温暖，即可迅速而又容易地获得所需要的血液。以抽真空用的封蜡或凡士林涂抹毛细管的干燥一端的外面数毫米長，当充入血液以后，用盛疫苗的玻管作成的小罩盖紧。在离心前，用一小条胶布把罩子貼牢。

如取血后要經過数小时才檢驗，則应于零度左右把血液标本保存起来。这样，經過 24—28 小时后还不致引起抗坏血酸的显著的损失。在野外或者必須轉运时，以用保温瓶为方便，其体积約 4 升，內装粗金属絲作成的架子，下面放置冰块。

离心后，用玻璃刀在血清液面以上的管壁刻划一条痕迹，然后打开。管內的血清可用特制的尖端抽得細長的吸管吸取出来。如欲冷藏血清，則将其置于 6×50 毫米的試管中，用小玻罩盖紧。

对紅血球或血浆的采集，須先在容积較小的微管中盛 1 微升的肝素或其他的抗凝剂，而于容积較大的管內則須盛 6 微升。傾斜管子使肝素溶液浸湿管壁，然后置空气中晾干。

用常规方法取标本后，立即在管子的干燥端套上橡皮头，并反复数次将血液挤到玻片上又再吸入以便充分混匀。然后封閉管口，貼上标签，离心，再启开。按上述取血清的方法取出血球及血浆。

取白血球标本时須用以下的器材：

1. 量取血液的吸管。直径为 5—6 毫米，具有短而狹小的尖端（外徑为 1 毫米），而口徑不小于 0.5 毫米。在体积达 0.1—0.12 毫升水平处极端狹窄，以防万一把血吸到吸管过高的地方。这种沒有刻度的吸管，由于有了狹窄部，用途可与定量吸管相似。吸管内面須涂布石蜡，可先将吸管烘热，然后吸入熔化的石蜡，再将其吹出，并用水冷却。这样在管壁就形成了一层石蜡薄膜，可以防止血凝。

2. 玻璃或不銹鋼攪棒。粗 1—1.5 毫米，長 75 毫米，底端呈直径为 2.5—3 毫米的平

板状。

3. 巴斯德氏吸管。容积 1—1.5 毫升，一端弯曲以便移取白血球的混悬液。

4. 分离白血球上层液体的装置。这是一小玻管，其尖端弯曲细小，外径小于 0.5 毫米，另一端与接在一支体积为 20—50 毫升小瓶上的橡皮管相联，瓶上还接有一根橡皮管以便用口吸取。

5. 1.6% 草酸钾溶液。应保存于 4°。使用前必须离心以除去混悬的草酸钾微粒。

向 6×50 毫米的试管中注入 0.5 毫升 1.6% 草酸钾溶液，并放入一根搅拌用的细玻璃棒。用酒精消毒手指，穿刺，除去多余的酒精并轻轻涂上凡士林，擦去第一滴血。尽快地把血液吸入涂好石蜡的吸管内，马上移入试管中并小心地用玻璃棒仔细混匀。吸管用新鲜草酸盐溶液漱洗。于适当的低速下将试管离心一小时，主要使红血球沉降于管底，而白血球则仍留上层液体中。离心的时间以将大部分红血球沉积于管底所需时间的一倍为最合适。为了防止标本混浊，应使离心机缓缓地停下。

将含有白血球的上层浑浊液用巴斯德氏吸管移取于另一同样大小的试管中。不可取用接近红血球层的混悬液，因其常带有少量的红血球。至迟不得超过二小时，即应将第二试管以每分钟 3,000 转的速度离心 15 分钟。用特别装置^①吸出沉淀上层的透明液体并弃去之。应尽量把液体除尽，但不可使沉淀有损失。如将 90% 的液体除去后，再让剩下的液体在试管内静置 5—10 分钟，则最后这 10% 的液体便能较彻底地除去。这样白血球标本就算准备好了。

尿液标本的收集

机体一昼夜中排出的尿量随食物、饮水及情况的不同而有很大的差异。人的平均尿量为 1,100—1,500 毫升。

采集一昼夜的尿量时，自早上一段时间开始，将尿液收集于一只清洁的大玻璃瓶内（第一次尿不收集），到次晨同一时间停止收集。用大量筒量尿的体积，注入时须缓慢以免形成泡沫。

酸性的尿最好盛于密闭的容器内，置冷处保存。亦可在尿中加入防腐剂后保存之，每 1 升尿中约加 5 毫升 10% 麝香草酚氯仿溶液或 5 毫升甲苯或 2.5 毫升氯仿。

汗液标本的收集

大家都知道，由皮肤汗腺分泌的汗液中，除了水分外，还含有许多的有机化合物及无机盐。测出这些化合物的量有很多困难，因为现有的一切收集汗液，特别是人的汗液的方法都免不了会有误差。此外，这些化合物还有相当量可在所谓“不知不觉性发汗”过程中分泌出来。这个名词并不完全恰当，因为“不知不觉性发汗”可见于一切动物，不管在皮肤上有汗腺或是无汗腺（例如家兔）。

人的“不知不觉性发汗”（即汗液的蒸发）仅见于少有的先天性汗腺缺乏或人工地使汗腺丧失功能（如受甲醛的作用）等情况下。

“不知不觉性发汗”的机制尚未完全阐明。有些学者认为这是由于体液从皮下组织扩散

^① 此装置是一根细玻璃管（外径不超过 0.5 毫米），其尖端弯曲而狭小。这玻璃管再经过一容积为 20—55 毫升的玻璃瓶而与一橡皮管连接着，以便用口吸取。

到皮肤表面的結果。体液在皮肤上蒸发并沉积下来一定量的有机含氮物与无机盐。这些沉淀物中含有鉀、鈉、氯、硫及氮。还没有关于鈣和磷的資料。

很明显,当开始出汗时,“不知觉的发汗”过程即行停止。

可使用能调节空气的小室来收集汗液,在室内可造成一定的温度和湿度。炎热和湿润的状况(温度在 39° ,相对湿度为 65—73%)能保证强烈的发汗;在舒适的条件下(温度为 27° ,相对湿度为 43—45%)出汗最少。如温度降至 $15-20^{\circ}\text{C}$,实际上发汗就会停止。

在开始进行分析前,即被試者进入小室前,須仔細用肥皂进行热水浴,并用蒸馏水冲洗二次,然后用毛巾擦干。

将被試者穿着的所有貼身衣服及毛巾先用一般方法洗濯,然后放入水中蒸煮,再用蒸馏水洗滌五次(蒸馏水須每次更換),然后晾干。使用薄棉紗布作的貼身衣服頗为方便。为了使結果非常准确,宜再檢驗洗过貼身衣服的水中所含的,在汗液中要测定的那些成分的含量。

在整个檢驗过程中,被試者应保持安静状态(如果檢驗条件中没有規定工作的話),因此在小室中应裝备安乐椅或吊床,上面鋪着便于洗濯的、平滑的橡皮或漆布。

以后即按檢查的目的来收集汗液。例如,可收集一昼夜的或每小时的汗液,甚或可收集身体某一部分的汗液。在第一、二种情况下,須用毛巾仔細擦拭全身,然后将毛巾、貼身衣服、安乐椅或吊床——即一切与被試者接触过的物件以及被試者的全身用蒸馏水仔細冲洗。洗滌 5—6 次,每次重新換蒸馏水(約 500 毫升),这样通常可保证收集到汗中要测定成分的 90—95%。

收集所有洗滌用水,离心以除去不溶解的殘渣,用水洗沉淀,将洗液同离心液合并,再将所有液体濃縮,以便按常用方法进行檢驗。

可直接自身体各部分收集未稀釋的汗液于燒杯中,只消將燒杯的邊緣貼于該部,或用薄棉紗布擦拭这部分。将这样收集的汗液移置于盛有少量醋酸的玻璃罐中。玻璃罐須保存于冷藏器內。收集汗液时,必須尽量防止蒸发。汗液分泌量可按被試者在临檢驗前及檢驗剛結束时体重之差来决定。当然,同时也要把被試者在檢驗期中摄入的食物及飲水的重量和排出的糞及尿的重量計算进去。在精确的秤上称重。以檢驗前后体重的“淨”差来表示在这段时间內分泌的汗量会有一些的誤差。发汗愈多,誤差便愈小。

由“不知觉的蒸发”及經過肺部所引起的水分的損失是这誤差的来源。經過肺所損失的水分的重量平均每小时約 10 克。此数字可略而不計,因在剧烈发汗时每小时体重可减少 700 克,而輕微发汗时每小时也有 100 克左右的变动。

对汗液中某一成分的分析,如采用將所求得的該成分的总量以在檢驗期間減輕的体重除之的方法,無論何時皆比收集身体一定部位未稀釋汗液来分析的方法更能得到准确的結果。某些美国作者却宁用后一方法。据他們的未經驗證的資料指出;例如从手上收集的汗液中氯及氮的含量恰和从全身收集的总汗量中的含量^①相当。这里显然沒有考虑到,在自身体个别部位收集汗液时由于蒸发而失去的水分,以及身体各个不同部位的汗液的成分,毫無疑問是有差別的。

“不知觉的蒸发”的定量分析基本上与上述汗液的檢查相同。但必須尽可能在不出汗的条件下收集标本。为达到此目的,被試者应居息在小室中(或温度約 $15-20^{\circ}\text{C}$ 的室內),

^① 此处系指百分含量而非絕對量——譯校注。

而且其贴身衣服应尽量少穿(仅着短褲、单背心及袜套),并且被試者应保持完全安靜状态(卧着)。

檢驗用消化液的收集

唾液的收集

檢驗用的混合唾液可于早上空腹时收集于有毛玻蓋的称瓶中。为增加唾液的量,可于咀嚼无关的刺激物(如石蜡)后收集。这样,唾液的分泌加强了,但应考虑到唾液理化性质改变的可能性。如 И. П. 巴甫洛夫的研究已指出的,引起唾液分泌的刺激的性质会影响到唾液的量与质。

在收集唾液前应用水漱口几次。

收集动物的混合唾液时,使用适当的可固定的唇形收集器颇为方便。也可在适当的导管中或按巴甫洛夫氏方法在造瘻处安上套管来收集唾液。

收集人的唾液腺分泌物的仪器有多种。С. Л. Левин 及 А. И. Клиорин 建議用透明塑料物质(有机玻璃)作成的唾液鼓代替极为有名的克拉斯諾果尔斯基氏唾液鼓,这样才能經常地和直接地檢查其所放的位置是否正确。

胃液的收集

收集动物的純胃液可用巴甫洛夫的經典方法。

其他收集胃液、胃的内容物及作胃功能实验的方法見于 В. Е. Прётченский 等和 К. С. Вирсаладзе 的著作中。

虽然,广泛应用着借粗胃管一次收集胃内容物的方法,但此法并不完善,而且有时还会得到錯誤的資料,因为粗胃管只可能在严密的有机的联系着的整个消化过程中得到某一时刻的情况。用細胃管多次收集胃液的方法,就这方面說来有許多优点,然而仍不免有許多缺点。

К. М. 貝柯夫实验室中所創拟的研究人的胃液的新方法是一个极大的成就。

Быков-Курцин 法收集人的純胃液是以 И. П. 巴甫洛夫的下列原理为根据: (1)对胃腺的刺激物应是生理性刺激; (2)必須获取純淨的胃液; (3)要算出胃液分泌的时间应恰恰在分泌过程的复杂反射相及神經-体液相。

为了使胃腺兴奋,可先用特制的能引起机械性刺激的胃管,然后再向胃中注入任何一种化学刺激物。

操作: 收集胃液用的胃管包括兩根直徑与十二指腸相当的軟橡皮管。一根管端开着口,供抽胃液用;另一根的末端装有一个橡皮囊,在納入胃内后,囊内可吹入 250 毫升空气,这吹胀了的气囊即可作为胃的机械感受器的刺激物。兩根管子可以并行,或一根套在另一根中。不管那种情况,用来抽取胃液的管子应較有气囊的管子長 8—12 厘米。

按照安放普通的細胃管的方法把这胃管放入胃内,然后迅速吸出空腹内容物,再慢慢地于 2—3 分鐘内,借助一定体积的橡皮球吹胀气囊,每隔 5 分鐘将因机械刺激而分泌的胃液抽取一次。

每 15 分鐘記錄一次所收集胃液的量。頻頻抽取胃液的目的是为了为了防止部分胃液流

到腸中去，及除去胃液中的高濃度鹽酸對胃腺功能活動的抑制性影響。

抽胃液一般應持續 1—2 小時，此後自氣囊排出空氣並自胃中拔出胃管。

為了研究液體刺激的作用，自氣囊除去空氣後可不拔出胃管，而經另一根管子向胃中注入任何一種化學刺激物（5% 酒精溶液、甘藍菜汁、肉湯等等）。為了確定這些物質自胃內排出的速度，可於其中加 1—2 滴 1% 甲烯藍溶液。按分段抽取法進行檢查，保持 15 分鐘的時間間隔，持續一小時。收集對機械刺激分泌出來的純胃液及由化學刺激引起的胃內容物某些成分來進行分析。

要同時研究人胃的分泌及運動功能時，可採用下述方法（И. Т. Курцин 氏法）。在被試者空腹時放入帶有氣囊的雙胃管，用注射器在 3—5 分鐘內抽出全部胃內容物，然後慢慢用空氣（250 毫升）打脹氣囊，並將其接連於帶有記數裝置的水柱壓力計上。胃內壓力的大小可自壓力計讀出。每隔 5 分鐘收集一次“機械性”胃液，計算每 15 分鐘內的量。由 1 小時內所收集的胃液量可得到機械性刺激時“分泌強度”（Напряжение секреции）的概念。一小時後拆去調節裝置，排出氣囊內空氣，向胃中注入化學性刺激物（甘藍菜汁、咖啡因、酒精）。15 分鐘後，抽出 10 毫升胃內容物，再經 10 分鐘後抽出其餘全部胃內容物，測定其體積及酸度。

除去試餐後在 1 小時內收集胃液，每 5 分鐘一次，但它的量則按每 15 分鐘計算。在 1 小時內所得胃液總量，可以得出對化學刺激物的“分泌強度”的概念。到 1 小時末，檢查即可結束，並將胃管取出。整個檢查共需 2½ 小時。

比較第一和第二部分檢查的結果，便能判斷胃腺在分泌的複雜反射相和神經-化學相的功能情況。根據在檢查的第一小時中所得胃液分泌曲線，也可同時估計出胃的運動功能。

依預定的目標為轉移，檢查者不僅可按這些基本指標，而且也可進行生物化學的分析來判斷胃的工作情況：（1）空腹時胃的內容物；（2）1 小時內對機械刺激所引起的純胃液；（3）由化學刺激物作用的結果所引起的連續分泌的胃液。

還可以把對刺激胃的溫度感受器而分泌出的胃液的分析同上述檢驗結合起來。為此，在測定了胃腺對機械及化學刺激引起的分泌反應後，可向置於胃內的氣囊中注入 75—150 毫升 50°C 的熱水以代替空氣，然後，在一定時間內抽取胃液來分析。

糞便標本的收集

在作各種物質的平衡試驗時，多半要進行糞便的化學分析。由於 24 小時內糞便的量（尤其是動物的）變動極大，同時隨食物攝入的物質，或食物在體內的消化產物亦來不及在 24 小時內完全排出，故收集在一段時間內（時間不宜少於 5 日）較為合理。試驗期內的糞便可借各種藥物（見下）區分之。試驗前數日，每日收集糞便並稱量，然後拋去。此種預備期是為了訓練病人，使其習慣於新的膳食條件。

預備期結束後，即開始試驗。於早晨空腹時給病人吃區別藥物（0.5 克洋紅、或者 1 克裝在膠囊中的活性炭粉末，或者 50 克黑莓果）。從糞便中出現區別藥物時，開始將糞便收集在瓷的或玻璃皿中，並仔細稱其重量。

通常測定有機成分時，可取新鮮糞便樣品；無機成分則用干糞便來測定。糞便的干燥，可在經常攪拌下，於通風櫥內進行。糞便（或其樣品）可於添加麝香草酚後保存在冰箱