

植物生物化學研究法

A. И. 耶爾馬科夫等著

科學出版社

植物生物化學研究法

A. И. 耶爾馬科夫等著

吳 相 鈺 譯

科 學 出 版 社

1956年6月

СССР
Методы биохимического
исследования растений
А. И. Ермаков и др.
Сельхозгиз
1952

植物生物化學研究法

原著者	А. И. 耶爾馬科夫等
翻譯者	吳相鉦
出版者	科學出版社
	北京朝陽門大街117號
	北京市書刊出版業營業許可證出字第061號
印刷者	上海中科藝文聯合印刷廠
總經售	新華書店

1956年6月第一版 書號: 0443 字數: 422,000
1957年2月第二次印刷 開本: 850×1168 1/32
(滬) 2,291-6,322 印張: 15 15/16 插頁: 3
定價: (10) 3.00 元

前 言

農業生產的工人們，執行着黨和政府的指示，在與先進的米丘林科學緊密聯繫之下，一年年提高着社會主義農業的產量。生產中的先進分子們創造性地掌握了科學的成果，正在力求達到極高額の產量。

除去農作物的產物在量上的提高外，栽培植物的產品品質的提高也具有最重大的意義。生物化學是研究外界環境對於植物貯藏有利於人類的物質的數量所發生的影響，也研究物質成分的性質，生物化學並可指出正確地處理作物以獲得最大量品質最高的產物的途徑。所以生物化學對產品質量的提高有很大幫助。在培育農作物的新品種和改進舊品種時，生物化學的研究給予選種學家以重大的幫助。

生物化學的研究在實質上是不同於普通的化學研究的。生物化學家所研究的是活的、非常活動的對象。他永遠應該顧及到，他的研究的對象是環境與植物有機體的複雜的相互作用的結果。因此，方法、操作手續就應該不只是準確的，而且還是靈活的。

本書作者曾力圖使研究的方法與各種作物生化變異的特性——這是與栽培條件及其生物學特性相聯繫的——緊密地相協調。

在進行研究時根據研究的目的，正確地選取和製備分析樣本是非常重要的。本書的第一章就是講述這個問題，在該章內對於自田間選擇植物材料的樣品給予了很大的注意。

本書每章的開始，在敘述研究方法之前，先要簡短地介紹本章所研究的物質的特性和變異性的方向，也指出了當考慮到作物的變異性時，這些物質的研究方法的特點。為幫助研究者了解分析的可能結果，列有植物中某種物質含量的變異性的表格。

所有的方法，盡可能地都是以統一的計劃敘述的。在方法的敘述中也給予了具體的指示，例如，在農業實踐中，特別是在植物的選種

中進行大批分析時，應該如何運用那些方法。全部列入本書內的基本方法，都是經過檢定的，而某些方法是在全蘇植物栽培研究所生化實驗室中所制定的。在必要的情况下對於微量法也予以應有的注意。

作者預定本書是供生物化學家，試驗站和選種站的工作者和農業科學研究機關用的，作者抱定目的要盡其力之所及來幫助這些工作者精通生化分析的方法以解決具體的任務。作者不企圖提供一個目前生物化學中全部方法的系統敘述。從所提出的目的出發，他們選擇並敘述了他們認為是最合理和生產率最高的方法，為達到這個目的，貢獻出了自己親身的經驗和這方面最新的文獻。

如果這本書幫助讀者改進了其工作的質量並提高了勞動生產率，那麼，作者將滿意地認為，他們所提出來的任務是完成了。

同時，作者絕不認為本書是完美的。他們將以感謝的心情接受讀者對於本書及所提出的方法可能有的缺點的全部批評性的意見和指示。如果進行再版時，這就幫助作者提高了本書的質量。

最後，作者認為有義務指出伊萬諾夫(Н. Н. Иванов)在作物及其品種的多樣性的研究方面的巨大工作。他培養了現在正在我們祖國的各個角落工作着、並繼續地改進着植物生物化學研究法的生物化學幹部，他認為這是有重大意義的。作為在多年之中為他所領導的實驗室中的工作者，作者們以感謝的心情紀念他。

批評和願望請逕寄下列地址：列寧格勒，聶夫大街 28 號，國家農業書籍出版社。

內 容 提 要

本書共分十五章，並列有附錄。除第一章及第十五章分別敘述取樣及收回試劑的方法外，餘十三章中分別敘述醣、蛋白質、油脂、有機酸、維生素、酶、糖甙、植物碱、鞣質、芳香油、橡膠及灰分的測定方法。簡明扼要地敘述了各種原理，而對操作方法則敘述得詳盡具體，並對各項注意事項作了明確的指示。

目 錄

前言	i
第一章 平均取樣和分析前樣品的準備 (A. И. 耶爾馬科夫, B. B. 阿拉西莫維奇, М. И. 斯米爾諾娃-伊孔尼科娃, H. Б. 科亞羅維契).....	1
平均樣品的意義	1
穀類作物種子的平均樣品	2
豆類作物種子的平均樣品	4
油料作物種子的平均樣品	5
分析前對於種子的準備	6
爲了某些定量測定的種子的準備	7
蔬菜的平均樣品	8
果實和漿果的平均樣品	12
分析前對於蔬菜和果實的準備	13
飼料作物的平均樣品	19
分析前對於飼料作物樣品的準備	20
橡膠植物的平均樣品及分析前的準備	21
鞣料植物材料的平均樣品	24
第二章 含水量的測定 (A. И. 耶爾馬科夫和 B. B. 阿拉西莫維奇) 26	
含水量在生物化學鑑定中的意義	26
種子中水分的測定	28
蔬菜、馬鈴薯及果實中水分的測定	31
牧草及植物的營養部分中水分的測定	32
塊根、果實和漿果的汁液中乾物質的折光測定法	33
束縛水的測定	36
第三章 酸鹼度的測定 (A. И. 耶爾馬科夫)	38

酸鹼度的生物學意義	38
酸鹼度的概念	39
緩衝性的概念	41
氫離子濃度的測定	42
第四章 酶的測定 (A. И. 耶爾馬科夫, И. К. 穆利, B. B. 阿拉西莫維奇, М. И. 斯米爾諾娃-伊孔尼科娃)	51
酶的特性及其測定法	51
過氧化氫酶活動度的氣量測定	58
過氧化物酶活動度的測定	57
多元酚氧化酶和過氧化物酶活動度的微量測定法	61
去氫酶活動度的測定	62
脂肪酶活動度的測定	63
β -葡萄糖甙酶活動度的測定	64
磷酸化酶活動度的測定	66
測定磷酸酶的原理	68
蔗糖酶(轉化酶)活動度的測定	68
澱粉酶活動度的測定	72
蛋白酶活動度的測定	74
第五章 維生素的測定 (И. К. 穆利)	79
維生素的特性及其測定法	79
抗壞血酸(維生素 C)的測定	84
去氫抗壞血酸的測定	92
硫胺素(維生素 B ₁)的測定	94
核黃素(維生素 B ₂)的測定	102
尼克酸的測定	107
葉酸的測定	113
維生素E的測定	116
胡蘿蔔素(維生素 A原)的測定	121
葉子和種子中色素的測定	132
第六章 糖的測定 (B. B. 阿拉西莫維奇)	141
糖的特性及其測定法	141

提取液的製備與糖的提取	145
糖的定量測定法	148
水提取液中各種糖的含量的分析	153
有可溶性多醣存在時糖的測定	155
測定糖的碘量法	155
果糖的測定	158
用滴定法測定糖	160
測定糖的微量法	161
用比重測定糖	162
測定糖的光學方法	165
在大批分析時工作的組織	168
第七章 多醣的測定 (B. B. 阿拉西莫維奇和 A. И. 耶爾馬科夫)	170
多醣的特性及其測定法	170
澱粉的分離	173
用澱粉酶法測定澱粉	175
用旋光法測定澱粉	180
新鮮馬鈴薯中澱粉的測定	182
澱粉糖化速度的測定	183
澱粉的結構黏度的測定	184
澱粉膠凝溫度的測定	186
澱粉粒外膜的定量測定	187
菊糖的測定	189
半纖維素的測定	190
果膠質的測定	194
纖維素的測定 (M. И. 斯米爾諾娃-伊孔尼科娃)	198
純纖維素的測定	201
木質素的測定	204
碳水化合物系統測定的方案	206
第八章 有機酸的測定 (A. И. 耶爾馬科夫)	213
有機酸的特性及其測定法	213
可滴定酸度的測定	214

穀類及油料作物麵粉水提取液的酸度的測定	216
檸檬酸的測定	217
草酸的測定	219
蘋果酸的測定 (E. Д. 列維那)	221
酒石酸的測定 (E. Д. 列維那)	229
琥珀酸的測定	233
乳酸的測定	234
丙酮酸的測定	236
乙醇的測定 (B. B. 阿拉西莫維奇)	237
第九章 油脂的測定 (A. И. 耶爾馬科夫)	241
油脂的特性及其測定法	241
油脂的一般定性反應	245
應用索氏儀器的油的定量測定	246
用浸泡法測定種子中的油	251
用折光法測定種子中的油	252
測定油的微量法	257
油的物理-化學指標的測定	258
不可皂化物質的測定	281
臘的測定	282
飽和的高分子酸的測定	283
甘油含量的測定	285
第十章 蛋白質及其它含氮物質的測定 (M. И. 斯米爾諾娃-伊孔尼科娃)	288
蛋白質及其它含氮物質的特性和測定法	288
蛋白質的定性反應	294
總氮量的測定	296
測定氮的半微量法	303
測定氮的微量法	305
利用雙縮脲反應的蛋白質的定量測定	307
蛋白質氮的測定	309
氨、醯胺、碱性的和氨基酸的氮的測定	312

水-酒精溶液中巰基的測定	324
植物材料中蛋白質製品的獲得及其水解	328
某些氨基酸的定量測定	336
蛋白質各部分的分離和定量測定	351
豆科植物各器官中的蛋白質部分組成的測定	358
穀類的麵粉中麵筋的測定	361
植物材料中含氮物質的系統測定 (A. И. 耶爾馬科夫)	363
第十一章 植物碱和糖甙的測定 (M. И. 斯米爾諾娃-伊孔 尼科娃及 A. И. 耶爾馬科夫)	369
植物碱和糖甙的特性及其測定法	369
植物碱的定性反應	372
植物碱的定性測定和近似的定量測定	373
植物碱的定量測定	374
植物的穀粒和營養部分中植物碱定量測定的比濁法	376
茄科植物中植物碱總量的測定	379
羽扇豆中植物碱的定性測定	380
生氰糖甙和氰氫酸的測定	384
棉子核仁中棉子素的測定	390
測定棉子中棉子素含量的解剖學法	392
植物碱糖甙的測定	394
環戊烷菲類糖甙 (有強心作用的) 的測定	396
香豆素的定量測定	401
草木樨中香豆素的定性-定量測定法	404
十字花科種子中丙烯基芥子油的測定	406
蔥中芳香油的定量測定 (B. B. 阿拉西莫維奇)	407
鞣質的測定 (H. B. 科亞羅維契)	410
第十二章 芳香油的測定 (A. И. 耶爾馬科夫)	421
芳香油的特性及其測定法	421
芳香油的量的測定	422
少量樣品中芳香油的測定	424
芳香油的物理指標和化學指標的測定	425

醛和酮的測定.....	434
第十三章 植物中橡膠的測定 (H. Б. 科亞羅維契).....	436
橡膠的特性及其測定法.....	436
分析根用橡膠植物的鹼法.....	437
橡膠分散的橡膠植物和根用橡膠植物的葉的分析.....	440
少量根用橡膠植物中橡膠的測定.....	443
衛茅屬中硬橡膠的測定.....	446
橡膠的定性鑑定.....	449
第十四章 灰分及某些灰分元素的測定 (A. И. 耶爾馬科夫).....	454
種子和麵粉中灰分的測定.....	454
葉、莖和草類材料中灰分的測定.....	456
灰分的鹼度的測定.....	456
個別的礦質元素的順序測定.....	457
鈣的測定.....	464
磷的測定.....	468
測定鐵的微量比色法.....	472
測定銅的微量法.....	473
植物中氯的測定.....	473
第十五章 某些試劑的製備和再製.....	475
一般指示.....	475
有機溶劑的再製.....	477
無機物質的再製.....	483
某些試劑的製備.....	486
附 錄.....	491
參考文獻.....	501

第一章 平均取樣和分析前樣品的準備

平均樣品的意義

栽培植物在其各個品種的生物學特性方面是多種多樣而不一致的。同一作物範圍內的各個品種其化學成分是有很大的變異的。栽培條件會不均勻地改變着不同品種的化學成分，甚至同一品種範圍內的各個植株在其化學指標方面也不是一樣的，根據化學成分來選種時是以化學指標作為基礎的。同一植株上的營養器官（葉、塊莖、根）以及果實和種子，其生物化學的指標也因其位置與發育階段而有不同。

這樣，已往使作物形成和鞏固其生物化學特徵的那些環境條件和栽培條件，在農作物的不同品種的化學成分上打下了一定的烙印。因此，進行不同的作物和品種的化學成分的比較時必需考慮到上述的變異性。

在進行植物材料的生物化學研究時不能不注意到在化學分析本身的過程中所發生的變化。利用生物化學的方法要照顧到所研究對象的生物學特性和在其中所進行的化學變化。因此，特別重要的就是選擇、組成和處理化學分析樣品的方法。樣品的選擇和組成不只與對象有關，而且與每個具體的分析所要解決的問題有關（例如，物質形成和聚積過程的研究，農作物品種的品質鑑定，區域栽培時樣品品質的比較鑑定，在集體選擇和個別選擇時選種材料的鑑定等）。

在鑑定種子或營養器官的品質時，選取樣品和組成樣品的方法是不同的。在分析農作物時所取樣品的數量和在個別分析時是有區別的。在鑑定用無性法繁殖的品種和作物時，和在鑑定用種子繁殖的品種和作物時，方法應該是不一樣的。在選擇進行田間試驗的條件時

必須保證能將生物化學分析的結果加以比較。

在回答關於應該用多少種子或果實來測定某種物質的問題時，必須以所提出的問題和作物的生物化學變化的規律為依據。一般而論，組成足夠的平均樣品所需材料的重量，是隨採集的方法和樣品所代表植株的數量而有不同的，不過樣品的絕對數量的差別是很大的。例如，在5克亞麻種子中有400—1200粒種子，而5克核桃中只有半個堅果，分析它當然不可能判斷整株樹的收穫物的成分。

由此可見，從上述各點所得到的結論是：組成平均樣品時應該不以數目多的規則為依據，而以植物的生物學和生物化學的知識為依據。組成平均樣品的簡單而正確的方法之一，其基礎就是考慮到栽培條件，從植株上直接選取樣品。這個方法不需要轉運像塊莖或其它果實大的那些作物的收穫物。

小量的穀粒、種子、果實、葉等等的正確化學鑑定的必需條件是正確地選取平均樣品並在分析前將它準備好。對這個問題應該特別注意，因為平均樣品是依賴於試驗的條件、對象的特性和標本的多少而組成的。

穀類作物種子的平均樣品

在試驗和選種制度的實踐中所進行的主要事項就是從各個植株，小選種試驗區以及“小的”和“大的”品種試驗區的穀粒貨樣中選取樣品。在從一株植物所得到的穀粒中選擇樣品時（植株種子的個別的變異性），必須注意栽培條件。植株應該栽培在完全相同的條件之下，以便保證所獲得的各個植株之間的差異不是各種小區的環境影響的結果。

從個別的植株上選取樣品 把從植株上打落下來的穀粒（不要已簸出去的輕的穀粒），去掉泥沙，均勻地平鋪在紙上成四方形，從四個角上劃對角綫分成四份。選取在相對的兩個三角形中的穀粒以作分析。

一棵植株上所收穫穀粒的一半或三分之一就差不多代表了這一

植株的全部收穫物。從各株玉蜀黍植株的穗上選取平均樣品時則先將穀粒混合。選取所收穫穀粒的 $1/5$ 或 $1/10$ 就足夠作這一植株的有代表性的平均樣品了，但不得少於 25 克。

從面積為 1—2 平方米的試驗區中選取樣品 爲了進行選種小區中穀類作物的生物化學鑑定，必須有標準標本的分析數據以作比較¹⁾，標準標本或在試驗小區內播種（在土壤的地勢、肥力及其它條件不均勻時），或用其它辦法播種，但不得在小於諸如 10 米的試驗區中播種。把從試驗區和對照（標準）區收穫來的穀粒放在紙上，均勻鋪開成一四方形，再依對角綫分爲四部分。將兩個相對的三角形中的穀粒收集起來，再均勻鋪開成四方形，並像第一次一樣分成四份。這樣就得到了重量約爲 50 克但不少於 25 克的穀粒樣品。種子磨碎後，再作進一步的劃分。

爲了樣品的生物化學鑑定必須具有數據，根據這個數據——穀粒分析的化學指標，來與播種對照品種的最鄰近的試驗區相比較。由此可見，只是有了相當的標準時，才能正確地進行小選種試驗區中各個試驗樣品的品質鑑定。

如果穀粒的播種是用其它方式（寬條法）進行的，而一個品種所佔據的總面積又小又無重複試驗，則取樣的原則就和在小試驗區制度下播種時一樣（玉蜀黍、高粱、小米）。

從較大的試驗區中選取穀粒樣品 因爲選種用品種的品種試驗是在較大的試驗區內以多次重複試驗進行的，所以所得到的各試驗品種的生化分析的數據就可以根據其物質含量的百分數相互比較，而不必分別與標準相比較。平均取樣可以用兩種方式進行。

1. 將所有重複試驗的穀粒都從植株上打落並小心剝起來後，即將成堆的穀粒鋪在帆布上成均勻的一層，然後沿着兩條對角綫，在距離相等的 12—15 個地點各取一把作爲樣品，收集到一個口袋裏面。這樣所選取的樣品在某些情況之下常爲幾公斤。在選取了原始樣品

1) 對於區別顯著的各組樣品（例如，對於早熟品種和晚熟品種，對於能抵抗和不能抵抗各種因素的品種），必須有其本身的標準。

之後，可以用古塞夫分離器 (делитель Гусева) 將樣品進行分份。或是從原始樣品中，再取出較少的樣品，重量為 750—1000 克，而由這一份樣品中再取出 200—250 克的樣品，這一份樣品即不再分份，而全部作為粗磨之用。

2. 把從各個重複試驗的植株上打下來的穀粒分別裝在袋子裏。

從每個重複試驗選 500—700 克穀粒。將樣品鋪平，分份，像上面所說的一樣，直到 200—250 克為止。

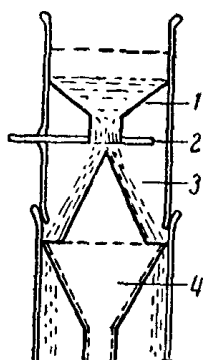


圖 1 古塞夫分離器(略圖)

1—外部漏斗，2—隔板，3—分離錐體，4—內部漏斗，被垂直的隔板分成數隔

分離器的作用，基本上就是穀粒的自由墜落。先將穀粒倒在上面的漏斗 1 中，然後打開隔板 2。穀粒落在分離錐體 3 上，並均等地分佈到漏斗 4 的 16 個分隔裏去。單數分隔中的穀粒落到下面的漏斗裏去，而雙數分隔中的穀粒則落到一個內部傾斜的圓筒裏面去。穀粒沿着支管流到兩個承受器裏。因此，最初的穀粒的數量首先就分成兩份了。然後將一個承受器裏的穀粒再倒入上面的漏斗裏去，繼續分離到所需要的數量為止。古塞夫儀器的構造同時是混合器，又是分離器。

豆類作物種子的平均樣品

在栽培和收穫豆科植物時，為了正確地評定所收穫種子的化學成分，基本上應該遵循上面所講關於穀類作物的那些條款。但在選取豆類的平均樣品時必須做到使樣品中沒有完全不成熟的豆莢的種子，因為這些種子的化學成分與成熟的種子有明顯的區別。為此，在從一株植物上收集種子時不要摘綠色的豆莢（豌豆、菜豆上梢的豆莢，羽扇豆的側枝上的豆莢等）。因為大多數的豆類作物都是種子很大的植物，所以在小區播種時，從收穫物中選取種子的樣品應為 100 克，並不得少於 50 克。在較大的面積內以及品種試驗中，則先用通常的農業上的分類法分類，之後從各類種子中取樣。把由幾個重複的田

間試驗得來的原始樣品，從古塞夫分離器中選出重 250 克（不少於 150 克）的種子樣品來。將所選取的樣品磨成粉末以作分析。

油料作物種子的平均樣品

從個別植株上取樣 取樣法就像以上所述穀類作物的取樣法一樣。將個別植株的種子與混雜物分開。不要將簸出去了的種子加到平均樣品中去¹⁾。自然，植物的栽培條件應該是完全相同的（在播種方面，在栽培技術的條件方面等等）。

一棵植物上所收穫種子的一半或三分之一，如上面所指出的那樣，就足以完全代表其餘的種子的特性。

從面積為 1—2 平方米的試驗區中取樣 選取這種樣品的方法，和前面所講在同樣大的面積上栽培的穀類作物的取樣法相同。一定要與最近的標準相比較。種子大的作物，樣品重量一般應不少於 50 克。在選種或收集種子的田間，應該從不少於 25—30 株的植物上收集所栽培的作物的種子的平均樣品。

從較大的試驗區中取樣 從小規模或大規模的品種試驗區中進行平均取樣時，方法就像上面所寫關於穀類作物的一樣。種子大的作物（向日葵、蓖麻、花生、棉花、大豆等）其種子樣品的重量應不少於 500 克，因為這些種子的重量中約有 25—40% 是種皮。

很難將棉花的種子混合，因此最好在田間從不同的植株上選取平均樣品，或是將種子均勻地鋪在帆布上，從不同的地方各取一把。

含油的堅果的平均取樣 將每一株樹〔核桃、榛子、油桐樹、苦杏仁、阿月渾子（фисташка）〕的收穫物混合，然後鋪成四方形，依對角綫分成四個三角形；選取兩個相對的三角形中的核桃作為平均樣品。就這樣分出 500—1000 克的樣品來。堅果的數目應不少於 50 個。小的幼齡的樹，所取的堅果可以是 25 個，但不得少於 10 個。

必須注意到從背陽面和向陽面所採果實差別極大。因此在平

1) 最後收穫的棉花的種子〔古薩克（Кысак）〕不應加入平均樣品中，應該另行分析，像簸出去的種子一樣。