

生物化学实验

，〔美〕I. S. 葛雷諾 L. B. 陶蒂 著

上海科学技术出版社

生物化学实验

葛雪諾 L. B. 陶蒂 著

朱

寿

民 編譯

上海科学技术出版社

內 容 提 要

此書系根据Kleiner和Dotti兩氏合著“生物化学实验”譯出,包括与生命現象有关的物理化学、生物体基本組成物質、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,內容相当丰富,且敘述簡明、切合实用,可供大專学校生物化学課程实验之用,也可作实际工作上生物化学檢驗的参考。

生 物 化 学 实 驗 LABORATORY INSTRUCTIONS IN BIOCHEMISTRY

原 著 者 (美) Israel S. Kleiner & Louis B. Dotti
原 出 版 者 The C. V. Mosby Company 1951 第三版
編 譯 者 朱 寿 民

*

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

新华书店上海发行所发行 各地新华书店經售

上海洪兴印刷厂印刷

*

开本 850×1168 1/32 印張 6 32/32 字數 166,000

(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 1961 年 12 月第 3 次印刷

印數 2,501—6,500

統一書号: 13119·96

定 价: (十四)1.20元

譯 者 例 言

Kloiner 和 Dotti 兩氏合著“生物化學實驗”是有着好些獨特的優點的，正如原著者所說：本書的內容不僅要注意到使學習者能夠掌握生物化學的基本知識，並且更要能夠將這些理論和技術切實地應用到生理的、病理的、以及臨床等問題上去。正由於這樣，這本實驗教材確是理論和實踐相結合的，是符合於基礎配合臨床的總的要求的，是有推薦的價值的。

當然，從事於英美技術科學知識的推介是應當十分慎重的，所以在開始譯述這本書之前我們曾經有過數次的共同研究和討論，然後肯定了將它翻譯出來，因為這樣做對祖國的建設事業是可以發揮一定的作用的。同時我們又擬定了下面幾項翻譯的法則：

一、英制一律改為公制 我國採用公制是必然的，公制的優點也是大家所熟知的。英美的科學工作者雖也有提出改制的建議，但是改制之後常會放棄一部分舊機器的使用，就不能為大資本家們所接受。所以在英美書籍上常混雜地並用着公制和英制，這只是說明着英美度量衡制度的混亂，不是我們所採取的，我們已悉予刪改。

二、刪削和修改 原書的內容和材料的配合基本上是優良的、是適合於我國醫學生的生物化學教材的內容，不過其中也有些少部分的敘述是比較得繁一點，應予節削；有少數實驗不合我國醫學生的需要和我國的條件，或者不易獲得滿意結果的，均予修改（極少數的是刪削

了)；也有敘述不夠明確的地方亦酌予增補。

三、翻譯技術上的細則 關於翻譯技術上的細則擬定了下面數點：(一)譯名應儘量選用恰當的通用的名詞，必要時附加英文原名；(二)人名一概不譯，除我國學者名字改為中文外，一律保留英文形式；(三)原書編排章節以及實驗次序一律不予更調；(四)容量單位一律以毫升(Ml.)代替立方糝(c. c.)；(五)附錄中試劑和溶液的配法悉按原書次序排列，各條仍附註英文名稱以便檢索；(六)實驗方法若改動稍大必加附註說明。

依循着上面幾項法則，譯出了這本書。其中難免存在着許多錯誤，尚請我國學者讀者詳加指正，使這本書能夠發揮它更大的效能！

第 三 版 序 言

希望在這一版中已對實驗材料作了必要的修改，使它簡潔和新穎。各計算式也已全部重新設計，使它更易於換算。關於比色法的說明也都編寫了一番，並且增添了有關光電比色法的討論。因之可介紹若干具有代表性的比色分析法。

一章新的章節，營養學實驗，也已編入，因為依據我們的經驗，這一部分的工作是非常有用的。我們將它安插為最後的一章，但很明顯的在給學生們實驗時當然需要提早開始。事實上為適合於各個情況，其他各章節的次序自然也可作必要的更動的。

..... (下略)

I. S. K.

L. B. D.

再 版 序 言

在第二版裏面，我們增添了許多新的實驗方法；特別是血液和尿液的定量分析以及毒物學等幾章。此外，爲使學生計算時節省時間起見，又加進去許多計算公式。第八章裏補充了一節有關腦脊液分析的材料。至於食物分析一章，已經全部刪去，使得本書篇幅不致過多。

許多實驗指示都加以修改和補充。

..... (下略)

I. S. K.

L. B. D.

初 版 序 言

醫學的研究不只是一門單純科學的研究，它必須先精通許多其他科目。正好像一個金字塔，基礎科目便是塔的基石；須要先放好這些基石，才可以進一步建築塔的上層。生物化學——有生命物質的化學——就是一塊基石；它是細菌學、生理學、病理學、內分泌學、內科學、甚至外科學的主要部分。因此在醫科學程上，生物化學必須在前幾個學年裏修讀，它佔着醫學教育中的重要地位。

在着手編寫這本書時，作者充分注意到這些事實，所以在內容的選擇上，不僅要使得學習者能夠掌握生物化學的基本知識，並且更要能夠把這些知識應用到生理的、病理的、以及臨床等問題上去。書內採用的實驗方法適合於大部分學校的設備；在選用的實驗材料方面也是根據多年教學經驗而加以取捨的。

本書取材較多，通常情形下要把所有實驗全部做完是有困難的。指導實驗的人不妨視需要而酌減。

..... (下略)。

I. S. K.

L. B. D.

一 般 提 示

每位同學在做實驗時必須“自己動手”，這一點是十分重要的。因為只有這樣，同學才能夠澈底地瞭解所學習的題目中每個微細枝節。不過有些時候爲了節省材料、儀器、和時間，若干實驗只做示範，在這種情形下，每個學生對於實驗的進展和結果便必須加倍留神。

在生物化學工作中，“清潔”是很要緊的。凡是定性和定量分析所應注意的事項這裏也必須同樣注意。往往前一個試驗遺留在試管中的些微化學藥品痕跡會使以後的試驗得到錯誤結果。玻璃儀器每次用過便須隨即洗淨。生物材料當取材完畢後應該立刻棄去。抹布以及實驗衣應該常常換洗。

濾紙、火柴桿、碎玻璃片、以及別的固體或混雜固体的液体切勿倒入排水溝以免淤塞。強酸也不可倒入水溝，因為它會腐蝕溝壁。煤氣龍頭在不燃用時應緊緊關閉。

實驗室中應懸示說明中毒等意外情事發生時的初步處理方法的“急救表”。同時，實驗室中也應準備急救箱存貯下列各種護理用的器材：

紗布

膠布

蓖麻油

硼酸溶液

眼杯

消毒器

氨水

壓舌板

碳酸氫鈉	綑帶
嗅鹽（芳香碳酸鈹）	酒精（70%）
苦味酸-氨基甲酸丁酯油膏	碘酒
阿斯匹靈片	

實驗室中也須準備一瓶“泛用解毒藥”。它的配合成分如下：

細炭末	二份（重量）
氧化鎂	一份（重量）
單寧酸	一份（重量）

使用時以泛用解毒藥一滿匙和入溫水一杯服用。

上列器材將用完時應該立即報告實驗指導人員，俾可及時補充。

目次

譯者例言

第三版序言

再版序言

初版序言

一般提示

第一章	物理化學	1
第二章	醣類	12
第三章	脂類	24
第四章	蛋白質	29
第五章	組織	38
第六章	乳	46
第七章	消化	50
第八章	血液的定性試驗	65
第九章	尿液的定性試驗	72
第十章	血液和腦脊液的定量分析	83
第十一章	尿液的定量分析	126
第十二章	代謝實驗	137
第十三章	毒物學	142
第十四章	血液的氣體分析	151
第十五章	營養學實驗	163
附錄：	試劑和溶液的配法	173
	正常血液的組成	204
	人尿的正常組成	207
	度量衡的換算	209
	國際原子量表	211
	對數表	212

第一章 物理化學

比重 比重就是在 4°C 或其他特定溫度時某物的質量和同體積水的質量的比值。

在臨床尿液分析時，比重的測定是應用特種比重計——尿比重計的。計上的刻度是按某一指定溫度（一般即為常溫）下的比重為準則的，所以如若測量當時的溫度和這個指定溫度不同的時候，那末，求得的比重數值應該按溫度加以校正：每當溫度高出 3°C ，則讀數的尾數上加1；反之，每當溫度低下 3°C ，則讀數的尾數上減1。

應用尿比重計作下列各實驗：

實驗一： 溶液比重的比較。

測定自來水，5%氯化鈉溶液，和10%葡萄糖溶液的比重，且和蒸餾水的比重相比較。

實驗二： 尿液的比重測定。

收集你當時的小便測定比重。將各人所得結果都記錄在實驗室的黑板上，總結全體同學尿液的比重結果：最高值、最低值，平均值。

實驗三： 硫酸銅法測定全血液和血漿的比重。

（这个实验可以安插在本章进行。实验的原理和方法則見本书第十章实验二十一。此处从略——譯注）

表面張力 表面張力 (Surface Tension) 就是保持液體表面膜 (Surface Film) 不致破裂的抗衡力。這個現象常見於液體表面或二液

相的交接面。液體中若有物質溶入，則常可影響它的表面張力，發生增減。

實驗四：浮針試驗。

取長約 5 厘米 闊約 3 厘米的清潔毛邊紙一小條，依長的方向對摺成紋（即摺成長 5 厘米，闊 1.5 厘米的狹條）。另取縫衣針一枚放在紙的摺縫間。將有縫衣針的紙條輕輕放在蒸餾水面。待該紙潤濕沉沒水中後，注意縫衣針仍然浮在水面。

重覆此實驗，應用胆鹽溶液代替蒸餾水，縫衣針能夠同樣浮在液面嗎？如果不能，再以蒸餾水試驗一下。

實驗五：計滴試驗。

液體有着收縮成最小表面積的趨向。所以當液體自小管口流出，它所受的重力超過表面張力時液體便成滴狀下落。這樣說來，假若有多種同體積的液體使它自某一指定管口落下，並且計算滴數，那末，各種液體落下滴數的多寡間接地是和表面張力發生關係的。這個試驗，便是依這樣的理由設計的。

取潔淨的容積是 1 毫升的吸管一支，吸取蒸餾水 1 毫升。將吸管持正，緩緩放出其中蒸餾水，數出蒸餾水 1 毫升可得水滴幾滴。同法應用原來的吸管計數 20% 氯化鈉溶液可得幾滴。將原來的吸管按次應用蒸餾水和酒精淋洗後，吸取酒精 1 毫升計算滴數，將這支吸管再以酒精、乙醚淋洗乾淨，同法計算礦油 (Mineral Oil) 的滴數。俟礦油已在吸管瀝盡後（此時吸管内壁還有一層極薄的礦油膜留存着的），按前法再吸取蒸餾水 1 毫升計算滴數。將吸管洗淨後再計算肥皂水的滴數。這些液體的滴數都是一樣的嗎？鹽類、肥皂、油類會影響液體的表面張力嗎？胆鹽也會有同樣影響嗎？

實驗六：Du Nuoy 張力計試驗（示範實驗）。

Du Nuoy 張力計的主要結構是扭轉天平和白金環。先將白金環

和受試液面恰巧接觸，然後矯正扭轉天平至白金環脫開液面。可在刻度盤上直接讀取這受試液體的表面張力。表面張力的單位是每厘米的達因(Dynes)數。將所得結果記錄如下：

受試液	表面張力(達因/厘米)
水(°C)	
水,加有胆鹽。	

實驗七：滴數計(示範實驗)。

滴數計(Stalagmeter)是用於測定胆汁中胆鹽含量的一種儀器。它是一支標準吸管，量出酸化了的受試稀胆汁，然後使稀胆汁滴下，以自動計滴器記錄一定量(通常是5毫升)液體的滴數。由於胆鹽能夠降低表面張力，所以胆汁中胆鹽含量的多寡和滴數是成正比例的。應用純胆鹽溶液的試驗結果預先繪製胆汁濃度和滴數的關係曲線，以後便可測定胆汁中胆鹽的含量了。

乳化作用 乳化作用就是原先是兩種或兩種以上互相不能溶合的物質變成乳狀體的作用。

實驗八：油在水中的分散現象。

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。將拇指按住管口用力振搖。注意液體呈乳狀嗎？這樣所成的乳狀體很穩定嗎？形成乳狀液中的小顆粒的物質是油還是水？

實驗九：乳化劑的作用。

重覆實驗八，不過應用肥皂水代替蒸餾水。說明結果：什麼是“油——水”乳狀體，什麼是“水——油”乳狀體。

實驗十：膠體的作用。

取棉籽油(或其他油類)5毫升放在乾燥的研鉢中，加入阿剌伯樹膠粉末1克，研和均勻，再加蒸餾水3毫升，均勻調合使成完好的乳狀體。繼續緩緩加入蒸餾水5毫升且不斷攪動。加水完畢，可將所得

乳狀液體傾入試管中，觀察所成的均勻乳狀體可維持多久。試問阿刺伯樹膠有些什麼作用？將所得乳狀體置於顯微鏡下觀察。

實驗十一： 乳的觀察。

“乳”是一種完好的乳狀體。試取全乳少許放在顯微鏡下觀察乳中脂肪顆粒。

膠體 膠溶液 (Colloidal Solution) 是介於真溶液和粗懸液之間的分散相，其中分散物質的直徑即介於這兩者之間。正由於分散物質顆粒直徑比真溶液中的為大，所以，膠溶液的性質是有些和真溶液可資區別的特點的。

實驗十二： 膠溶液的製備。

(一) 膠乳體 (Emulsoid) 藉加熱之助配製下列各液體：白明膠 (5%) (註1)，澱粉 (註2) 和肥皂 (2%) 各100毫升。冷卻後即成凝膠 (gel)。再將所得凝膠加熱觀察它們是不是仍會液化。將所得膠乳體貯存供以後實驗使用。

(二) 膠懸體 (Suspensoids)：

(1) 膠狀普魯士藍 應用吸管吸取0.02 N亞鐵氰化鉀溶液10毫升注入燒杯中，繼加0.02 N 氯化鐵溶液10毫升（準確！），且不絕攪動。取所得混合液一部份加水稀釋，注意此時並無沉澱產生。將所得膠狀體貯存供以下實驗使用。

(2) 膠狀氫氧化鐵 在正煮沸的蒸餾水200毫升中加入33%氯化鐵溶液1毫升。注意液體呈美麗的紅棕色澤。保存所得的膠狀體。

實驗十三： 鹽類使膠狀體的沉澱作用。

在膠狀普魯士藍液或其他膠懸體中加入10%氯化鈉溶液數毫升。

(註1) 白明膠5克和冷水25毫升混合，放置至白明膠充分膨脹，然後緩緩加入沸水75毫升，且不斷攪拌。

(註2) 澱粉2克和冷水10毫升，待澱粉浸透攪勻，緩緩加入沸水90毫升且不斷攪拌。

搖勻，放置片刻。觀察結果。再以膠乳體，如白明膠或澱粉液等，同法試驗，觀察結果，哪一類膠溶液是能夠很容易地被電解質所沉澱？再在所得沉澱中加多量的水，膠體可仍被溶化嗎？如果膠乳體不曾生成沉澱，再加結晶硫酸鎂使致飽和，則沉澱亦可產生。在這膠乳體生成的沉澱中加入多量蒸餾水，再加熱至沸，注意又可成為膠乳體嗎？

實驗十四：保護膠體的作用。

在濃硝酸三滴中加入0.05 N硝酸銀溶液5毫升，和0.05 N氯化鈉溶液5毫升。注意粗大的沉澱隨着產生。重覆這個試驗，但在硝酸銀和氯化鈉溶液混和前預先調入白明膠液各1毫升。混和後注意有無沉澱生成。為什麼？

實驗十五：膠溶液的性質。

(一) 膠體的不滲濾性 製備賽璐玢 (Cellophane) 袋一隻。以膠狀氫氧化鐵液灌入賽璐玢袋中至半滿，袋口用線紮緊懸在貯有蒸餾水的燒杯中。靜置一小時或一小時以上。取袋外液體數毫升加入亞鐵氰化鉀溶液，檢查有無鐵離子滲濾 (Diffusion) 而出。

重覆這個實驗，不過應用5% 硫酸銅溶液或10% 氯化鐵溶液代替膠溶液。同法，用亞鐵氰化鉀溶液檢查有無銅離子或鐵離子滲濾而出（亞鐵氰化鉀加入後若呈紅或淡紅色則是有銅離子存在；若呈藍色則是有鐵離子存在）。

比較兩次所得的結果。

(二) 膠體難於滲濾到凝膠內 準備試管二支，各加15%白明膠熱溶液5毫升，冷卻使成凝膠。其中一管加5%硫酸銅溶液數毫升在凝膠層上；另一管則加膠狀普魯士藍液，靜置之。觀察二管滲濾的程度。

此實驗也可應用依紅 (Eosin, 一種非膠體性染料) 和膠體性染料作比較。

注意：在進行這個實驗時，白明膠常起皺縮以致和管壁分離。於是

受試液體便很容易沿管壁下落。觀察結果的時候應注意和滲濾作用相區別。

實驗十六： 炭的吸附作用。

取食糖少許放在坩堝中加熱使它焦化。將焦化物質溶入水100毫升中。添加動物炭5克，加熱煮沸五分鐘，過濾。注意濾液已無焦色（是無色的了）。

重覆此實驗，應用剛果紅代替焦糖。

取吸附後的動物炭加入丙酮抽提，這些染料可抽提出來嗎？

滲透壓

實驗十七： 血液膠體的滲透壓(註)

在一隻賽璐玢或膠棉 (Collodion) 製的袋上配好一隻雙孔橡皮塞，用線圍繞數匝使袋口和橡皮塞紮緊。塞的一孔裝配長約25—30厘米的玻璃管一根，在另一孔中緩緩加入全血液至滿，用玻璃棒將孔塞住。將袋和玻璃管的一部份懸在貯有蒸餾水（若改用生理鹽水則可使紅血球不致裂溶）的大燒杯中。內外液面必須同樣高低！靜置一旁，觀察液體自玻璃管上升情形。

酸定量和鹼定量 要表明溶液的酸性程度有兩種方法，一種即是總酸度或滴定酸度；另一種即溶液中的氫離子濃度。這兩種表示情況是不同的，例如：1 N 苯甲酸和 1 N 鹽酸溶液的總酸度是一樣的，不過，前者的氫離子濃度却祇合後者的百分之一光景。

pH 值便是最常用的表示溶液中氫離子濃度的方式。所謂pH 值就是氫離子濃度的倒數的對數值，

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

$[\text{H}^+]$ 表示氫離子濃度 (Mole/升)

(註)原書是應用腸衣作為半透膜材料，但顧到實驗方便起見，我們改用賽璐玢或膠棉袋代替，因此在方法上也已有了改變。

指示劑通常是複雜的有機酸或有機鹼，在離解和不離解的時候顯示不同的色澤，可藉此用作滴定終點的指示和 pH 值的測定。例如酚酞乃是一種弱酸，在中性或酸性溶液中呈無色（為不離解型式），而在鹼性溶液中則顯紅色（為離解型式）。它的變色過程是有一定的 pH 範圍的。第一表是多種常用的指示劑和它們的 pH 範圍。

第一表 指示劑

指 示 劑	pH 範 圍	色 變 化
Tropeolin 00	1.4—2.6	紅——黃
Töpfer 氏試劑	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—5.5	黃——藍
甲基紅	4.2—6.3	紅——黃
石蕊	4.5—8.3	紅——藍
Nitrazine	4.7—5.0	黃——草黃
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
萘酚	8.3—10.0	無色——紅

酸鹼滴定的中和點便是相當量的酸和鹼在溶液內達等當量之點。在應用強鹼來滴定強酸時加入的鹼液稍有超出中和點，那末，溶液的 pH 值便會立刻增加很多。用於強酸—強鹼滴定的指示劑通常有酚酞，甲基橙和甲基紅等。

而相對地，在應用強鹼來滴定弱酸時，中和點是酸鹼恰好成鹽的時候。例如應用氫氧化鈉滴定醋酸而達中和點時，溶液即是醋酸钠溶液。醋酸钠溶液的 pH 值在 7 以上，所以滴定时若選用了 pH 值是 7 的指示劑，得出來的結果必定要比實際的低得多。由於這個緣故，用於弱酸

強碱滴定的指示劑通常均須偏於碱性 pH 值方面,如酚酞等。

實驗十八: 指示劑和 pH 值的認識。

(一) 指示劑在不同 pH 值的溶液中的色澤反應。準備下列各組溶液的試管,在受試溶液每 1 毫升中添加指示劑溶液一滴。記錄所得色澤於下:

	pH 值	Tropaeolin OO	Töpfer 氏試劑	剛果紅	甲基橙	石蕊	Nitrazine	酚紅	中性紅	酚酞
0.4% HCl	1									
0.04% HCl	2									
0.6% CH ₃ COOH	3									
緩衝液甲	4									
緩衝液乙	6									
緩衝液丙	7									
緩衝液丁	8									
緩衝液戊	10									
0.4% NaOH	13									

緩衝液甲是醋酸鈉-醋酸緩衝液。

緩衝液乙、丙和丁是磷酸氫二鈉-磷酸二氫鉀緩衝液。

緩衝液戊是硼酸-氯化鉀-氫氧化鈉緩衝液。

(二) 鹽類溶液的 pH 值。應用實驗十八(一)所得指示劑色澤表,測求下列各鹽類溶液的近似 pH 值:(1)硼酸鈉,(2)氯化鈉,(3)醋酸鈉,(4)氯化鈉。

你如何確定 pH 值的差別?各種鹽類:強酸弱碱、弱酸強碱、強碱強酸以及弱酸弱碱的鹽類的水解作用的通則是怎樣的?這個實驗使你確定以後每個有關滴定的實驗中選擇合適的指示劑。

定量技術上的注意 對不會學習過定量分析的學生來說,下面的說明是對他有幫助的,雖則詳盡的定量分析的指示並不屬於本書的範