

中央人民政府衛生部推薦

高等醫學院校參考教材

生物化學實習

Б. И. Збарский

И. Б. Збарский 著

А. И. Солнцев

中國醫科大學生化教研組 譯

北京醫學院生化教研組 校

人民衛生出版社

生 物 化 學 實 習

Б. И. Збарский

И. Б. Збарский 著

А. И. Солнцев

中國醫科大學生化教研組 譯

北京醫學院生化教研組 校

一九五四年·北京

生物化學實習

書號 1402 16開 77頁 205千字

譯者 中國醫科大學生物化學教研室
校訂 北京醫學院生物化學教研室
出版 人民衛生出版社
北京南長街馬路3號
發行 新華書店
印刷 人民衛生出版社長春印刷廠

ПРАКТИКУМ ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ
Б. И. ЗВАРСКИЙ, И. Б. ЗВАРСКИЙ, А. И. СОЛНЦЕВ
МЕДГИЗ 1949

(東北版) 1953年12月第1版
1954年3月第2次印刷
定價 11,000元 5,001—10,000

序 言

編輯本書時，著者曾首先盡力選擇實際內容，以適合於教學大綱的需要及醫科大學的教學計劃。

著者也曾注意使實習內容便於在課程表中所分配的3—4小時以內完成，此外曾考慮到用簡易的設備及最小量試劑以完成實驗的可能。

然而某些實驗由於其內容，並不能在3—4小時內完成，這類實驗可使其在間斷的兩次課內做完。

本書是以莫斯科第一醫科大學在А. Д. Булыгинский, В. С. Гулевич 及 В. П. Збарский 教授們領導下多年的生物化學教學經驗為基礎。其中也曾採用某些其他大學的教學經驗。

教材中扼要的理論介紹，列舉器材和試劑以及詳細地記述操作過程，其目的在於使學生盡可能不需教員幫助，即能獨立完成每一個實驗課程。

在實驗課中，最好是每個學生在筆記本上記錄實驗過程中所觀察到的現象。若完成本書所載全部實驗較預定的教學計劃需時更多，此時可進行實驗的選擇。有些實驗雖然重要，但是對掌握本門課程無重大意義而又需要長時間才能完成者，附以星標為記。

在生化實習課時，最好每一個學生都能獨立地進行實驗。若設備不足，或者動物缺乏時，可使學生分組實驗。

對不吝指出本書缺點及提出修改意見的教員、學生及讀者們，著者將非常感謝。

著 者 識

莫 斯 科

列寧勳章莫斯科第一醫科大學

科學院士 В. С. Гулевич 生物化學教研組

目 錄

序 言	1
蛋 白 質 化 學	
蛋白質呈色反應	2
蛋白質沉澱反應	5
蛋白質的透析	10
蛋白質等電點的測定	11
✓蛋白質的加酸水解	13
Sørensen 氏甲醛滴定法	16
✓核蛋白的水解	18
酵 素 (酶)	
澱粉的水解	20
溫度對酶活性的影響	23
✓酶的特異性	24
pH 對酶的作用之影響	26
生物體中某些酶的定性反應	28
肌肉脫氫酶的定量	32
*Metz 氏蛋白酶定量法	33
唾液及尿液中澱粉酶活性的測定	33
*Бах 及 Зубкова 氏血液過氧化氫酶的定量	35
*脂酶的定量	37
*丁酸異戊酯的酶性合成	38
維 生 素	
↓維生素A定性反應	40
*維生素A定量	41
*Рачевский 氏胡蘿蔔素定量法	44
↓維生素C定性反應	46
*維生素C定量	48

脂質及其代謝

脂肪的消化	50
✓ 尿中酮體的反應	52
✓ 腦髓中膽固醇的證明	54
雞卵黃中卵磷脂的證明	55

糖 的 代 謝

胰澱粉酶對澱粉的消化	57
Hegedorn-Jensen 氏血糖定量法	58
*糖耐量測定之血糖定量法	62
✓ 胰島素對於血糖量的影響	62
✓ 腎上腺素對血中糖量的影響	64
酸酵試驗	65
✓ 糖元酵解作用	67

蛋 白 質 代 謝

胃蛋白酶對蛋白的消化	70
胰蛋白酶對蛋白的消化	71
*腸肽酶對陳的作用	73
體液蛋白質的除去與蛋白氮及非蛋白氮的測定	74
✓ Бородин 氏尿中尿素定量法	78
尿中氮的定量	83
肌酐的反應	84
*肌肉組織中肌酸的證明	85
• 肌肉組織中肌肽的證明	85
尿中肌酐和肌酸的定量	86
尿 酸	90

血 液

*血液凝固	92
*凝血速度的測定	93
✓ *滲透壓對紅血球的影響	94
氫化血紅素結晶的製法	95
血液的癒瘍木脂試法	96
血液的聯苯胺試法	96
血液色素的分光分析	97
血斑鑑定	98

*血紅蛋白定量	99
血清鈣的定量	101
血液氯的定量	102

膽 汁

膽汁色素的反應	105
膽汁酸的反應	106

胃 液

游離鹽酸反應	107
乳酸反應	108
總酸度測定	109
游離鹽酸測定	110
用同一樣品測定游離鹽酸及總酸度的方法	110
*結合鹽酸測定	111
*用同一樣品測定總酸度，游離及結合鹽酸的方法	111
胃液中血的反應	112
胃液中膽汁的證明	112

尿 液

尿比重的測定	114
尿色的檢查	114
尿透明度的檢查	115
尿嗅的檢查	115
尿反應的測定	115
✓ 尿糖的定性反應	115
✓ 尿糖定量	117
酮體反應	119
✓ 尿中蛋白質定性	119
✓ 蛋白質的定量	121
尿中血液定性反應	121
尿中膽汁色素反應	122
尿中膽汁酸的反應	123
✓ 尿中尿膽素反應	124
尿中尿藍母反應	125
尿液的臨床檢查	126
✓ *尿沉渣及尿結石的檢查	127

乳

*Умиков 氏鑑別人乳與牛乳的試法.....	130
乳的酸度測定.....	131
乳的比重測定.....	132
*乳中脂肪定量.....	133
*乳中蛋白質定量.....	134
附 錄.....	135
試劑製法.....	135
表.....	140

蛋 白 質 化 學

蛋白質是一切生活細胞和機體中極重要且不可缺少的組成部分。它組成人體和幾乎所有動物組織中固體物質的主要部分。

這種極其複雜的高分子化合物是以膠體狀態存在於機體中。蛋白質在特殊酶的作用下，以及與酸或者與鹼共熱時，都能被水解而產生一系列的中間產物，但當完全水解時則產生各種氨基酸的混合物，而單純蛋白質分子也就是由這些氨基酸組成的。

蛋白質是既有酸性的羧基而又有鹼性的氨基的兩性物質，因而其本身既能是酸，又能是鹼。

各種蛋白質在其特殊的一定 pH 時，其羧基及氨基的解離度最小，此時蛋白質溶液的 pH 稱為等電點。溶液中的蛋白質在等電點時最不穩定。

蛋白分子構造極不安定，甚至在緩和的精製操作中也能引起蛋白質的變性。由於變性的結果遂破壞了蛋白質分子的構造並改變其生物學的和物理化學的性質。

證明蛋白質存在的反應是基於其分子內存在各種化學基團，或者是根據它在一定條件下從溶液中沉澱的作用。

有些反應不僅為蛋白質所固有，同時也為其他含同樣基團的物質所有，譬如蛋白質的一系列呈色反應，本質上就是組成蛋白質的各種氨基酸的反應，因此任何單一反應都不能確證蛋白質的存在。

在醫學診斷的實際工作中，測定尿中的蛋白質是很重要的。

蛋白質可分為兩大類：即不含非蛋白基的單純蛋白及除蛋白質本身以外尚含有非蛋白基的複合蛋白。

在動物性的單純蛋白中，經常遇到清蛋白和球蛋白。

清蛋白能溶於水，在飽和硫酸銨溶液中沉澱，其分子中通常不含甘氨酸。最常見的清蛋白有血清清蛋白，乳清蛋白，及卵清蛋白。

球蛋白不能溶於純水，但能溶解於中性鹽液中，並在半飽和硫酸銨液中發生沉澱。屬於此球蛋白類者有血清球蛋白，乳球蛋白，雞卵球蛋白及其他。

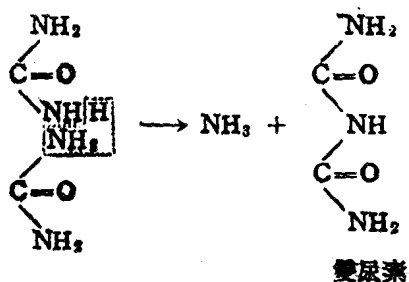
在複合蛋白質中值得吾人重視者為：色素蛋白。即蛋白質與色素的化合物，例如血紅蛋白；核蛋白，即蛋白質與核酸的化合物；磷蛋白，是含磷的蛋白質，例如酪蛋白；粘液蛋白（醣蛋白），是蛋白質和複雜醣類（粘多糖類）的化合物。

蛋白質呈色反應

蛋白質的存在可由一系列的呈色反應驗出。這些反應是蛋白質組成部分的氨基酸或氨基酸的基團所特有的。

某些個別氨基酸（酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、胱氨酸），及其基團，能產生其所特有的呈色反應。此等呈色反應可用於檢出蛋白質。此外多肽類甚至某些三肽類以上者也能產生另外的呈色反應，即所謂雙縮脲反應。

I. **雙縮脲反應**：如將尿素加熱，則兩分子的尿素分出一分子的氨而形成另一種物質，此物質稱為雙縮脲。



雙尿素在鹼性溶液中，能與硫酸銅結合成帶粉紅色的複雜化合物，這一呈色反應，稱為雙縮脲反應。

雙縮脲反應不僅為雙縮脲所有（當然其所呈的顏色是略有不同的），其他凡含有兩個以上—CO—NH—基的物質均現此反應。屬於此類的物質為：蛋白質類及三肽類以上的多肽類。

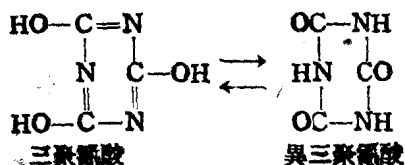
器材：試管架及乾燥試管。

試劑：1. 尿素粉末。

2. 10% 苛性鈉液。

3. 1% 硫酸銅液。

4. 蛋白溶液（製法：見本書第 135 頁第 1 項）。



① 強烈加熱時能生成以平衡狀態存在的三聚氰酸及其異構體即異三聚氰酸。

操作：先將尿素做成雙縮脲，用雙縮脲做出雙縮脲反應，而後再用蛋白質做此反應。

1. 取少許結晶尿素，放在乾燥試管中，並在弱火上加熱，則尿素開始溶解，至溶解的尿素開始硬化時，停止加熱並使試管冷卻。由於加熱的結果尿素形成雙縮脲，而氮揮發（可由其臭氣辨知之）。

2. 向試管中的雙縮脲加苛性鈉液約 1 毫升並振盪之，再加硫酸銅液一滴，振盪時則出現特有的粉紅色。此時必須避免添加過量的硫酸銅，否則能產生藍色的氫氧化銅而遮掩了本來的反應。

3. 然後用蛋白質溶液做雙縮脲反應。向一試管內加蛋白質溶液約 1 毫升，10% 苛性鈉液約 2 毫升，及稀硫酸銅液兩滴。振盪時出現紫玫瑰色，與雙縮脲的雙縮脲反應相似。若用胰及肽做雙縮脲反應時，則出現更粉紅的顏色。

Ⅱ. 蛋白黃色反應 (Ксантопротеиновая реакция)。絕大多數的蛋白質與濃硝酸共熱時產生黃色，按希臘文 [Xanthos] 為黃色之意，故稱此反應為蛋白黃色反應。若濃硝酸落於皮膚，爪甲或毛織品等上亦能見到此種黃色。蛋白黃色反應對環狀氨基酸——苯丙氨酸，酪氨酸及色氨酸的苯核是特異的，而這些氨基酸幾乎是含在一切蛋白質中。當濃硝酸作用於此等氨基酸的苯核時，則苯核的環被硝基化而形成黃色硝基化合物。當添加鹼時黃色則變成橙黃色。

幾乎所有蛋白質都產生蛋白黃色反應。但（魚精蛋白中的）鯢精蛋白及鯢精蛋白例外，因其分子構造中沒有芳香族的氨基酸。

器材：試管及試管架。

試劑：1. 0.5% 石炭酸液。

2. 濃硝酸。

3. 蛋白質溶液（製法：見本書第 135 頁第 1 項）。

4. 氨水或 20% 苛性鈉液。

操作：

1. 先用任何芳香族化合物（如石炭酸）開始做實驗。取石炭酸液約 1 毫升於試管內，並加濃硝酸約 1 毫升，加熱時（謹慎！）出現黃色。

2. 其次用蛋白質溶液做蛋白黃色反應。取蛋白質溶液約 1 毫升於試管內並添加濃硝酸 5—6 滴。此時出現凝固的蛋白沉澱（由於酸的作用），加熱時（謹慎！）沉澱變成黃色。

使試管冷卻並謹慎地添加過剩的氨水或苛性鈉液使成鹼性，則黃色變成橙黃色。

Ⅲ. 米倫 (Millon) 氏反應：的類如石炭酸及其衍生物，能產生紅色的汞化合物，這些化合物是由於酚類與特殊製備的含有亞硝酸的硝酸汞溶液共熱而產生的。因為酪氨酸的構造中有酚核，所以除分子中不含酪氨酸（白明膠，鯢精蛋白及其他）的蛋白質以外其他一切蛋白質，都能產生米倫氏反應。

器材：試管及試管架。

試劑：1. 0.5% 石炭酸溶液。

2. 米倫氏試劑（製法：見本書第135頁第2項）。

3. 蛋白質溶液（製法：見本書第135頁第1項）。

4. 1% 白明膠溶液。

操作：

1. 首先用石炭酸（酚）做出反應。取石炭酸液約1毫升於試管內並加米倫氏試劑約0.5毫升，小心加熱則出現玫瑰色。

2. 其次用蛋白質溶液做米倫氏反應。在試管中加蛋白質溶液約2毫升及米倫氏試劑5—6滴。此時出現凝固蛋白質的沉澱，這是因為米倫氏試劑中含有汞鹽及硝酸的緣故。如果將試管內容小心加熱則沉澱變成紅磚色。

應當避免添加過剩的米倫氏試劑，因試劑中含有硝酸，能使反應產生黃色（蛋白黃色反應）而掩蓋米倫氏反應的進行。

3. 最後用白明膠溶液以同樣方式做米倫氏反應，如白明膠很純則不出反應，這正是因為白明膠的分子中無酪氨酸基的緣故。

✓ **Ⅱ. 乙醛酸反應**（Adamkiewicz 氏反應）當向大多數的蛋白質溶液中加入數滴乙醛酸液（ $\text{H}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{OH}$ ），並用濃硫酸重疊時，則產生紅紫色。此反應與蛋白質分子中存在的色氨酸有關。若用白明膠代替蛋白質時，因其分子中無色氨酸，所以不出反應。

器材：試管及試管架。

試劑：1. 未稀釋的雞卵蛋白。

2. 1% 白明膠溶液。

3. 濃醋酸（其中經常混有乙醛酸）。

4. 濃硫酸。

操作：

1. 向試管中加數滴蛋白質，再加醋酸約1毫升，傾斜試管，謹慎地沿着試管壁加濃硫酸約1毫升使其重疊，勿使兩液相混合，靜置後則兩液的界面出現紅紫色環。

2. 同樣用白明膠溶液做乙醛酸反應。倘白明膠很純，由於白明膠分子中無色氨酸，故不出此反應。

✓ **Ⅲ. 蛋白中硫的反應**（胱氨酸和半胱氨酸）：大多數蛋白質的分子構造中有含硫氨基酸即胱氨酸。胱氨酸及其衍生物——半胱氨酸容易以硫化氫的形式脫去其硫。因此幾乎一切蛋白質都因有不穩定硫而出現陽性反應。

實驗的程序是向蛋白質溶液中加入強鹼及醋酸鉛並加熱煮沸，則溶液變黑。

這說明苛性鹼能破壞蛋白質中的胱氨酸及半胱氨酸以硫化氫形式分離出硫，此硫化

氨與鉛鹽化合物產生硫化鉛的黑色沉澱。

器材：試管及試管架。

試劑： 1. 0.5%醋酸鉛液。

2. 20%苛性鈉液。

3. 未稀釋的雞卵白液。

操作：注入0.5%醋酸鉛液約1毫升於試管內，而後徐徐添加苛性鈉液直到產生的沉澱溶解為止，再加蛋白質數滴混合之，小心加熱則溶液變黑。

蛋白質沉澱反應

蛋白質能容易在其溶液中形成沉澱。

蛋白質的沉澱反應雖然種類很多，但可劃分為兩類。

第一類是可逆的沉澱反應。此類反應中沉澱的蛋白質未遭受重大改變，因此其生成的蛋白質沉澱又能再溶解於原來的溶媒中。此時蛋白質分子，基本上保持其原來的所謂天然性質，並未遭受顯著的變性。

第二類是不可逆的沉澱反應，亦即在此類反應中蛋白質已受到重大的改變，不能再溶解於原來的溶媒中。此時蛋白質發生變性，變性是由於蛋白質分子內部構造的改變。因而蛋白質喪失其天然性而成為低親水性（吸水較少），並失去其溶解的能力。

大多數蛋白質的鹽析反應以及在低溫用乙醇或丙酮短時間作用於蛋白質而使其沉澱的反應，均可以列入可逆的沉澱反應中。

屬於不可逆的蛋白質沉澱反應者有：因重金屬鹽類植物鹼試劑，酸的沉澱，及因加熱的沉澱。

I. 蛋白質的鹽析：蛋白質是親水膠體，其粒子的親水力很大，如向蛋白質溶液中添加各種輕金屬鹽類〔通常利用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ， Na_2SO_4 ， NaCl ， MgSO_4 〕，當其濃度較大時，則蛋白質粒子脫水並開始從溶液中沉澱。當蛋白質這樣沉澱時，也發生電的現象（失去電荷）。蛋白質能呈粗分散系者（例如球蛋白）較其呈細分散系者（例如清蛋白）容易從其溶液中沉澱。

由於大量鹽類的存在而使蛋白質從其溶液中沉澱的方法叫做鹽析。

由鹽析而獲得的蛋白質沉澱，經透析或用水稀釋以減少鹽類濃度時，又能再溶解，因此蛋白質鹽析是可逆的過程。

鹽析不同種類的蛋白質需要不同濃度的同一鹽類。這就是蛋白質之所以能分別鹽析的原因。

濃硫酸銨液能從中性溶液中析出幾乎所有的蛋白質。某些蛋白質，例如球蛋白，在半飽和硫酸銨液中即可析出。其它的蛋白質，例如清蛋白，僅在飽和硫酸銨液中才能析出沉澱。

氯化鈉和硫酸鎂在中性溶液中飽和時可使球蛋白沉澱；在弱酸性環境中，此等鹽類的飽和溶液及低濃度溶液均可使清蛋白沉澱。

器材：1. 試管及試管架。

2. 小漏斗。

試劑：1. 清蛋白及球蛋白的氯化鈉液（製法：見本書第135頁第3項）^①。

2. 硫酸銨飽和溶液。

3. 硫酸銨結晶的粉末。

4. 氯化鈉結晶的粉末。

5. 硫酸鎂結晶的粉末。

6. 1%醋酸溶液。

操作：

1. 加蛋白質溶液約5毫升，於試管內，並加等量的飽和硫酸銨液混合之，則成半飽和硫酸銨液，靜置數分鐘則析出球蛋白的沉澱。

2. 將試管內容物過濾，濾液中殘留另一種蛋白質——清蛋白。

3. 爲了析出清蛋白向濾液中添加硫酸銨粉末使其飽和，直到最後加的粉末不再溶解爲止，此時則析出清蛋白。

4. 濾除清蛋白。

5. 另取清潔試管兩支，各加蛋白質溶液約3毫升。

6. 其一試管添加氯化鈉粉末至飽和爲止。另一試管加硫酸鎂粉末亦至飽和爲止。經數分鐘後兩試管中出現球蛋白質的沉澱。

7. 濾除試管內容物，其濾液中殘留清蛋白，此清蛋白雖在此種鹽類的中性全飽和液中也析出沉澱。

8. 向以上濾液內添加幾滴稀醋酸使成弱酸性，則清蛋白^②亦析出沉澱。

I. 用酒精沉澱蛋白質：蛋白質不溶於中性有機溶媒（乙醇、甲醇、丙酮、醚及其它）。因此如果向蛋白質水溶液中添加有機溶媒，例如乙醇，並使其達到一定濃度（各種蛋白質所需的濃度不同）時，則蛋白質產生沉澱。此時溶液應爲中性或弱酸性。酒精的作用機轉可用合水作用來說明，此合水作用能使蛋白質膠體粒子脫水並降低其在溶液中的穩定性。

此時倘在溶液中有少量鹽類存在（例如氯化鈉），則沉澱的形成更加迅速而完全。

塩離子與蛋白質的膠態粒子結合而脫去其電荷，這種情況更大大地降低了蛋白質溶液的穩定性。

① 添加少量氯化鈉是爲溶解球蛋白所必需的。

② 上述塩析反應只用於大多數的動物性蛋白質，而植物性蛋白質的塩析則另用一些其它反應。

如將所得的沉澱從酒精中迅速分離，則蛋白質又能重新溶解於水，亦即在這種情形下，蛋白質的性質未被改變，其變性尚未完成，因而其沉澱是可逆的。但若長期在酒精中放置，則蛋白變性而不能再溶於水。

器材：試管及試管架。

試劑：1. 蛋白質溶液（製法：見本書第135頁第4項）。

2. 乙醇。

3. 結晶氯化鈉。

操作：

1. 盛蛋白質水溶液約2毫升於試管內，添加一撮乾燥的氯化鈉振盪之。

2. 繼續向試管中徐徐注入乙醇數毫升並強力振盪。放置數分鐘後，則析出蛋白質的微細沉澱。

3. 取試管內容物的一部分（帶有部分沉澱的）放入另一試管中加水。此時酒精被稀釋，而蛋白質又重新溶解。

Ⅱ. 用重金屬鹽類沉澱蛋白質：重金屬鹽類（鉛、銅、銀、汞及其他）易使蛋白質在溶液中沉澱，同時形成鹽類的化合物。與鹼金屬及鹼土金屬鹽類的鹽析作用不同，用重金屬鹽類所需濃度較小。此外由重金屬鹽類所得的沉澱通常雖用透析除掉鹽類或用水稀釋以後，也不能再溶於水，亦即沉澱是不可逆的。臨床上多應用此種蛋白質與重金屬鹽結合的特性，例如因汞鹽（昇汞），鉛鹽（由於鍍錫的質量不良）或銅鹽（由於銅食器的氧化）而中毒時，在此等鹽類尚未吸收之前，可用蛋白質（牛乳、卵）做為解毒劑。

重金屬鹽類沉澱蛋白質的反應，通常是很完全的（特別是在鹼金屬鹽類存在時），重金屬鹽類不僅能用於自溶液中分離蛋白質，而且也可用於除去液體中的蛋白質。但應注意者：在用某些重金屬鹽類沉澱蛋白質時，例如用醋酸鉛及硫酸銅時，切不可添加過剩，因為由於這些鹽類的過剩，能引起既經生成的沉澱再溶解。

器材：1. 試管及試管架

2. 玻璃棒。

試劑：1. 蛋白質溶液（製法：見本書第135頁第4項）。

2. 0.5%醋酸鉛液。

3. 1%硫酸銅液。

4. 3%硝酸銀液。

5. 0.5%昇汞液。

操作：

1. 取試管四支，各加蛋白質溶液2—3毫升。

2. 而後一滴一滴地滴加試劑：第一試管滴加醋酸鉛液，第二試管滴加硫酸銅液，第三試管滴加硝酸銀液，第四試管滴加昇汞液（小心！毒物！）。最後在四支試管中全

能看到沉澱的生成。

3. 在因醋酸鉛或硫酸銅而生沉澱的試管中補加過剩鹽類，觀察沉澱的溶解^①。

✓ 用植物鹼試劑沉澱蛋白質：蛋白質溶液能因加入植物鹼試劑而生成沉澱。屬於植物鹼試劑者有：鞣酸、苦味酸、 $\text{H}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 、 $\text{KI} \cdot \text{HgI}_2$ 鹽、 $\text{KI} \cdot \text{BiI}_3$ 鹽及某些其它物質。植物鹼試劑之所以能沉澱蛋白質，是因為在蛋白質及植物鹼內部有相似的含氮基團的緣故。

植物鹼試劑沉澱蛋白質的作用須在酸性條件下進行，在鹼性時，則沉澱溶解。

器材：試管及試管架。

試劑：1. 蛋白質溶液（製法：見本書第 135 頁第 4 項）。

2. 苦味酸飽和溶液。

3. 鞣酸飽和溶液。

4. 1% 醋酸液。

5. 10% 醋酸液。

X 6. 含碘化鉀的碘化汞溶液（製法：見本書第 135 頁第 5 項）。

7. 10% 鹽酸溶液。

8. 5% 亞鐵氰化鉀溶液。

操作：

1. 取兩支試管，各加 2—3 毫升蛋白質溶液。

2. 再加 1% 醋酸使成酸性。

3. 其一試管添加飽和的鞣酸液，另一試管添加苦味酸液，觀察蛋白質下沉。

4. 另取第三試管，注入 2—3 毫升蛋白質溶液。

5. 用 10% 醋酸液使成酸性。

6. 滴加亞鐵氰化鉀液，在每加一滴之後振盪，最後能看到蛋白質下沉。

7. 再取第四試管加蛋白質溶液 2—3 毫升，用鹽酸使微呈酸性，而後添加數滴碘化鉀的碘化汞溶液，觀察蛋白質沉澱。

✓ 用硝酸沉澱蛋白質：濃硝酸類（除 H_3PO_4 外）能使蛋白質溶液起不可逆的沉澱反應。這種沉澱作用被解釋為由於蛋白質顆粒的脫水現象及某些其他原因（例如蛋白質和酸形成鹽類等）而引起。過剩的硝酸能溶解已經沉澱的蛋白質，但硝酸的過剩量不能發生這種溶解現象。

用硝酸沉澱蛋白質的反應特別重要，在臨床上用以檢查尿中蛋白質的存在及其含量。

① 由於醋酸鉛和硫酸銅的作用所得到的蛋白質沉澱雖然也能溶於過剩的該種鹽液中，但却不能溶於原來的溶媒即水中。因此，重金屬鹽對於蛋白質的沉澱作用當然應該列入與蛋白質變性有關的不可逆蛋白質的沉澱反應之中。

器材：試管及試管架。

試劑： 1. 濃鹽酸。

2. 濃硫酸。

3. 濃硝酸。

4. 蛋白質溶液（製法：見本書第135頁第4項）。

操作：

1. 取試管三支小心地將鹽酸、硫酸及硝酸各約1毫升分注於三支試管內（每一試管內只加一種酸——譯者）。

2. 小心地向三支試管中各注入蛋白質溶液約1毫升，觀察兩種液體界面處有小而白的環狀蛋白沉澱出現。

3. 小心振盪每個試管，此時蛋白之沉澱，在過剩的鹽酸及硫酸中溶解；但在含硝酸的試管中，雖振盪亦不消失，這是因為蛋白質沉澱在過剩的硝酸中已不再溶解的緣故。

✓ **Ⅶ. 用有機酸沉澱蛋白質：**溶液中的蛋白質能因有機酸的存在而沉澱。但各種有機酸對蛋白質的作用各有不同。三氯醋酸和硫代水楊酸對蛋白質是既銳敏而又特異的試劑。因此廣泛地被利用於沉澱蛋白質。

用三氯醋酸沉澱蛋白質的方法，常常用於生物體液蛋白質的完全除去（例如除去血清中的蛋白質），因為三氯醋酸只能使蛋白質沉澱，此時一切蛋白質的分解產物仍留於溶液中。這對分別地測定蛋白氮及其低分子產物（氨基酸、尿素及其他）的氮又稱為「非蛋白氮」的含量是特別重要的。

倘蛋白質沉澱以後需要從濾液中除掉三氯醋酸時，則可煮沸濾液即能達到目的，由於煮沸，三氯醋酸分解成氯仿及二氧化碳而揮發。

器材：試管及試管架。

試劑： 1. 3%三氯醋酸液。

✓ 2. 20%硫代水楊酸液。

3. 蛋白質溶液（製法：見本書第135頁第4項）。

操作：

✓ 1. 取蛋白質溶液2—3毫升於試管中，再加數滴三氯醋酸液，觀察蛋白質的沉澱析出。

× 2. 向另一試管中注入蛋白質溶液2—3毫升，再加數滴硫代水楊酸液，觀察蛋白質的沉澱析出。

✓ **Ⅷ. 加熱沉澱蛋白質：**幾乎一切蛋白質都能因加熱而凝固，凝固的溫度按蛋白質的不同而有區別，並且有一些蛋白質在50°—55°即能凝固，而其中一部分的蛋白質却能經受住暫時的煮沸而不凝固。

在凝固時蛋白質變性，變成不可逆性的不溶狀態。關於熱變性的機轉，與蛋白質分