

高等学校教学用书



普通生物物理学 实验指导

第一册

Б. Н. 塔魯索夫 主編

高等教育出版社

本书系根据“苏维埃科学”出版社 (Государственное издательство «Советская наука») 1958 年出版的“普通生物物理学实验指导” (Практикум по общей биофизике) 一书译出。全部实验指导共分八册, 由苏联国立莫斯科大学生物土壤学系生物物理学教研室主任 Б. Н. 塔鲁索夫教授主编, 主要内容包括现代生物物理学各部门的实验室工作。例如: 电学方法在生物学中的应用、光生物学、放射生物学、放射性同位素以及射线剂量学的实验操作训练等。

第一册为“生物学中的物理-化学方法”, 由 Е. В. 布尔拉科娃 О. Р. 科斯 Ю. А. 克里格爾合著。原书经苏联高等教育部审定为国立大学教学参考书。

第一册共分十二章, 内容包括保持恒温的方法、测定生物液体的渗透压、电动势、表面张力以及粘度的方法、电动现象、分子层、超滤组织的膨胀与收缩以及生物现象动力学的研究, 此外还包括偏光显微镜的应用等。本书可作为综合大学生物系生物物理学专业的实验用书, 也可供其他生物科学研究工作者和教师参考。

普通生物物理学实验指导

第一册

生物学中的物理-化学方法

Б. Н. 塔鲁索夫 主编

艺 先 译

高等教育出版社出版 北京宣武门内大街 7 号

(北京市书刊出版业营业登记证出字第 054 号)

京华印书局印装 新华书店发行

统一书号 13010·757 开本 850×1168¹/₃₂ 印张 6
字数 138,000 印数 0001—7,000 定价 (6) 0.60
1960 年 4 月第 1 版 1960 年 4 月北京第 1 次印刷

序 言

研究在活的有机体中进行的基本物理和物理化学过程，是生物物理学的主要任务。不言而喻，要成功地解决所提出的任务，不能不掌握相应的研究方法。

生物物理的研究方法，首先应具有足够的高度灵敏度与准确度。其次，采用这些方法不应带来生命对象物理化学结构及特性的任何失真，并且不应引起对活组织的影响。最后，采用的方法应具有精确的定量性质，以便阐明生命系统物理化学性质与外界环境参数的变化间一系列的机能关系。

由此可见，在生物物理的领域中，不可能机械地搬用在物理和物理化学实验指导中所详细描述的一般方法。通常在个别杂志文献中阐明的专门的生物物理和物理化学方法，常常不能和广大读者见面。

应当强调的是，准确的和高度灵敏的生物物理研究方法并不一定要采用复杂而大型的仪器。在许多场合下，可以借助相当简单的方法得到精确的生物物理结果。

对于初步明了生物物理的对象和问题的学生，重要的是学会用十分简单的实验室设备，安排精确的生物物理实验。这一点之所以重要，是因为首先并不是任何教学实验室都装备有贵重的新式仪器。其次，经验证明，当安排比较简单的实验时，在研究中采用某种方法的意义常常能更好地被学生掌握。当学生对简单方法很熟悉时，将会明确某个任务的实质，从而在转入使用现代的精确而复杂的仪器时不会产生特别的困难。

此外，在考察的条件下进行工作时，尚可采用某些简单的生物

物理研究方法。

作者在实验指导中力求提供精确的、同时也是最容易做到的生物物理研究方法,并且在任何实验室,靠工作人员和学生的力量都能采用这些方法。

实验指导拟分八册出版,其中将叙述现代生物物理学各部门的实验室工作。例如:电学方法在生物学中的应用、光生物学、放射生物学、同位素操作技术、射线剂量学。

编写本实验指导时也有这样的打算,即无需求助于其他实验指导,就可进行上述任何实验室工作。因此,除了置于每章之前的简短引言之外,所有实验部分都写得十分详细。参考文献目录是为了便于读者对某个特别感兴趣的方法进行更深入的研究。

考虑到必须使学生养成计算的习惯,实验指导的编者不仅力求尽可能更准确、更直接地推出必要的公式,而且也尽可能更详细地论述测量单位以及基本的导出单位。

实验指导中强调必须清楚地记录实验结果。关于此点在叙述实验室工作时提供了表格和图解的编制方式。学会清楚地整理实验中所得到的结果,对于学生进行将来的科学实验工作十分重要。

从1954年即在莫斯科大学生物土壤系生物物理教研室正规进行的一部实习课题,成为实验工作的基础。在实验指导中引用了学生报告中的计算和图表作为例子。

在此第一册实验指导中,叙述了用最重要的物理化学方法来研究各种生物学对象的实验室工作。特别注意到采用极有限数量的材料即可进行工作的微量方法。根据上述要求,特别要提醒学生注意的是,代替大家熟悉的冰点下降法采用巴尔德热尔和拉斯特法以测定渗透压,以及广泛应用于生物学研究中的靠撕去固体框架而测定表面张力的方法。

在第一册实验指导中除了叙述专门的生物物理-化学研究方

法的实质以外，还编入万用性质的并具有重要临床和技术意义的方法。属于这种方法的如按 A. E. 斯捷潘诺夫法或超滤法测定溶液的胶体渗透压，这些方法在制备生物样品时曾被广泛地采用。

实验工作的次序和安排与材料的系统化相适应，这些材料的系统化是根据供生物学工作者用的物理化学的理论指导，或根据理化生物学著作。

特别醒目的是，第一章讲述对生物物理学最重要的恒温调节问题，并预先使学生熟悉独立安装恒温器的方法。无需证明，如果缺乏关于这种仪器的作用和结构原理的知识，就不可能从事有关生物动力学的实验工作，也不能研究膨胀和收缩的动力。但是在实验指导中这种实验工作却占有一定地位。

目 次

序 言	viii
第一章 恒温調節	1
中等温度恒温器	1
引 言	1
仪器說明	2
(一)水恒温器	2
(二)空气恒温器	11
万用恒温器	11
引 言	11
仪器說明	12
沃勃澤尔恒温器	12
实驗室工作	15
实驗 1. 安装和調整帶接触溫度計的中等温度恒温器	15
实驗 2. 安装和調整帶甲苯溫度調節器的中等温度恒温器	16
实驗 3. 熟悉工厂制万用恒温器的結構和性能	16
参考文献	17
第二章 生物液体的渗透压	19
引言	18
測定渗透压的方法	20
(一)巴尔德熱尔和拉斯特法	20
工作的进行	20
(二)热電法	21
裝置說明	21
工作的进行	28
实驗室工作	32
实驗 1. 用巴尔德熱尔和拉斯特法測定渗透压	32
实驗 2. 用热電法測定渗透压	32
参考文献	33
第三章 胶体渗透压	34

引言	34
用斯捷潘諾夫法測定胶体渗透压	36
工作的进行	36
实验室工作	39
实验 1. 測定 7% 阿拉伯树胶溶液的胶体渗透压	40
实验 2. 測定兔血清的胶体渗透压	40
参考文献	40
第四章 測量电动势和測定氫离子濃度方法	41
引言	41
仪表和裝置的說明	46
(一) 測量电动势的裝置	46
(二) 标准电池的制备及其电动势的測定	48
(三) 制备甘汞半电池	50
(四) 測定生物液体 pH 的几种專門电极	53
(五) 电位計	59
实验室工作	65
实验 1. 制备标准电池并測定其电动势	66
实验 2. 制备甘汞半电池并測定其电动势	66
实验 3. 用醌氢醌电极測定未知溶液的 pH	66
实验 4. 測定氧化还原电路的电位	67
实验 5. 測定酵母或細菌悬浮体的氧化还原电位	67
实验 6. 測定人血或动物血的 pH	68
实验 7. 測定昆虫的血淋巴	69
实验 8. 測定蛙卵的 pH	69
实验 9. 測定动物血清的 pH	69
参考文献	70
第五章 电动現象	71
引 言	71
电 泳	72
裝置說明	74
工作的进行和計算	76
实验室工作	81
实验 1. 制备小室和安装仪器	81
实验 2. 測定酵母細胞的电泳速度和 ζ -电位	81
实验 3. 測定酵母細胞的等电点	82

实验 4. 研究美洲黑藻细胞内部的电泳	82
电渗透	83
装置说明和工作的进行	85
实验室工作	86
实验 1. 观测水经过火棉胶薄膜的电渗透	87
实验 2. 观测水经过明胶-火棉胶薄膜的电渗透	87
实验 3. 测定经过陶土隔壁的电渗透	87
实验 4. 测定经过植物组织的电渗透速度	88
参考文献	89
第六章 表面张力	91
引 言	91
测量表面张力的方法	94
工作的进行	94
实验室工作	99
实验 1. 测定水的表面张力系数	99
实验 2. 测定白金圈常数	99
实验 3. 测定各种液体的表面张力常数	99
实验 4. 表面活性物质对生理溶液和任氏溶液表面张力的影响	100
实验 5. 血浆表面活性缓冲作用的研究	101
参考文献	101
第七章 单分子层	103
引 言	103
工作的进行	104
实验室工作	109
实验 1. 测定表面活性物质分子的长度和横截面积	109
实验 2. 测量单层的表面压	110
参考文献	110
第八章 粘度	111
引 言	111
测定粘度的方法	113
(一) 用均方水平位移法测定粘度	113
工作的进行	115
(二) 用均方水平位移法测定墨汁质点大小	117
(三) 用双向一次运行平均时间法测定粘度(佩卡列克法)	119

工作的进行	120
(四)用毛细管法测定假粘度	120
工作的进行	121
实验室工作	123
实验 1. 用均方水平位移法测定墨汁质点大小	123
实验 2. 用双向一次运行平均时间法测定墨汁质点大小	124
实验 3. 测定变形虫原生质的粘度	124
实验 4. 测定血浆的假粘度	126
参考文献	126
第九章 超滤	128
引 言	128
工作的进行	129
实验室工作	136
实验 1. 根据水的滤过速度测定超滤器孔隙大小	137
实验 2. 借助已知分散度的溶液的超滤测定超滤器孔隙大小	137
实验 3. 测定染料“刚果红”质点大小	137
实验 4. 血浆和血清的超滤	138
参考文献	138
第十章 组织的膨胀和收缩	139
引言	139
膨胀	139
工作的进行	141
实验室工作	142
实验 1. 用容积法研究纤维蛋白在某些电解质溶液中的膨胀	142
实验 2. 研究蛙各种组织的膨胀	143
实验 3. 溶液 pH 对肌肉组织膨胀值的影响	144
实验 4. 酸和碱对肌肉组织膨胀值的影响	144
实验 5. 钙离子对骨骼肌和皮肤膨胀值的影响	145
实验 6. 胶体渗透压对结缔组织膨胀值的影响	145
实验 7. 胶体渗透压对于保持组织中水条件的意义	145
实验 8. 组织在高渗和低渗溶液中膨胀的研究	146
组织的收缩	146
工作的进行	148
实验室工作	151
实验 1. 测定蛙肌肉和肝脏在生理溶液中的收缩	152

实验 2. 研究介质的 pH 对蛙骨骼肌收缩的影响	152
实验 3. 松节油对蛙骨骼肌收缩的影响	152
实验 4. 钙离子对蛙骨骼肌收缩的影响	154
实验 5. 胶体渗透压值对蛙骨骼肌收缩的影响	154
参考文献	154
第十一章 用偏振光研究生物结构	155
引 言	155
工作的进行	160
实验室工作	162
实验 1. 熟悉偏光显微镜的构造	162
实验 2. 在偏振光下观察单细胞有机体	163
实验 3. 在各种影响下蛙运动神经的双折射作用	164
实验 4. 在各种影响下蛙交感神经于双折射的变化	165
参考文献	165
第十二章 生物现象的动力学	166
引 言	166
工作的进行	169
实验室工作	172
实验 1. 测定蛙离体心脏收缩的温度系数与活化能	172
参考文献	173
附录	174

第一章 恒温調節

中等溫度恆溫器

引言

对許多生物物理和生物化学現象的研究，应在严格恒定的溫度条件下进行。在实验的过程中可以用各种方法保持恒温：采用盐熔体、低熔冰盐合晶、煮沸液体的蒸气等等。在实验室中采用专门的仪器，即由外面供热的自动調節恒温器，来保持恒温。

为了实现供热的自动調節，利用各种原理上不同的調節系統。基本上可将它們分为两个类型：(1)連續动作的双重裝置調節器；(2)間断动作的調節器。連續和間断动作的自动調節器的原理，在专门的文献中有詳細的敘述。

在实验室研究工作中最广泛采用的是間断动作調節器。

恒温器分为空气的和液体的(水的、油的等)，这要看用什么来充填它的工作容积。

恒温器的选择、自动調節方式以及恒温器的結構，决定于实验条件所需要的溫度調節程度和准确度。在设计、安装和調整恒温器时，对于有关恒温器运转的每一部分都应給予同样的注意。例如，在安装水恒温器时，水槽及其保温程度、水的质量、加热絲长度、溫度調節器的接触以及水的攪拌等，都是很重要的。借助特制的继电器調節加热和冷却的溫度調節器是恒温器最重要的部分。

常用的溫度調節器有：液体的溫度調節器(水銀溫度調節器、接触溫度計、甲苯溫度調節器等)，基于液体蒸气压变化的溫度調

节器,金属的温度调节器(双金属片式、特制的热电堆、电阻温度计)。恒温器加热电路的通电与断电借助于各种类型的继电器来实现,继电器的动作原理分为电磁式、电子发射、光电效应、热膨胀以及气体放电等等。在实验室中最常采用的是电磁式液体调节器,最近也广泛地使用带电子继电器的调节器。

仪器说明

(一) 水恒温器

在实验室中安装并调整好的简单的中等温度恒温器可以保持

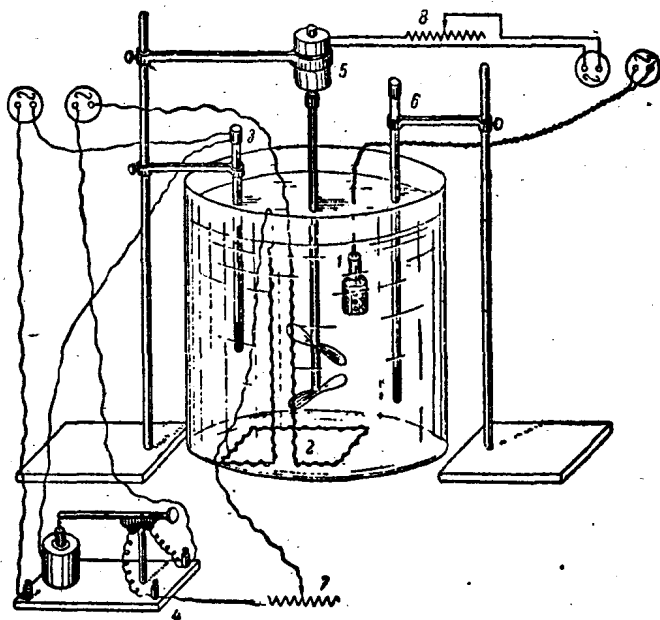


图1. 恒温器全图:

- 1—煮沸器; 2—带恒温加热丝的框架; 3—接触温度计; 4—电磁式继电器;
5—带搅拌器的电动机; 6—别克曼温度计; 7—加热线路中的电阻; 8—电动机线路中的电阻。

准确度达 0.01°C 的恒温。这种恒温器是一个 15—20 升的玻璃水槽，其中装满水（最好是蒸馏水）；水槽上最好盖上有有机玻璃或木制的盖子；恒温器的灵件装在盖子上。水槽内放置预热源（电煮水器）和恒热源，后者为一缠绕尼赫罗姆镍铬合金线的玻璃框架。在绕线时应当注意不使每个线匝彼此发生接触。也可以采用康铜丝作为加热源。要获得 $20-30^{\circ}\text{C}$ 的温度可以利用电灯泡。加热线的末端与导线相连，以便接入电路。在支架上固定带动玻璃或金属搅拌器的电动机、接触温度计、 $50-100^{\circ}\text{C}$ 简单温度计以及别克曼温度计。图 1 为装好的恒温器的全图。

将继电器放在水槽外的桌子上或装在墙上。继电器的安置决定于它的结构。普通的继电器装在木板上并由水银断续器和电磁线圈构成。按照一定的线路图联接电磁铁和断续器。恒温器用的水银断续器的构造种类繁多，常见的有，移动重心的断续器、吸引铁片的断续器以及吸引铁柱的断续器。

为了加热水和调节温度可设计两套线路（图 2）。一套线路由恒热器、调节加热速度的电阻以及水银断续器组成；另一套线路包括接触温度计（或其他温度计，例如甲苯温度计）和

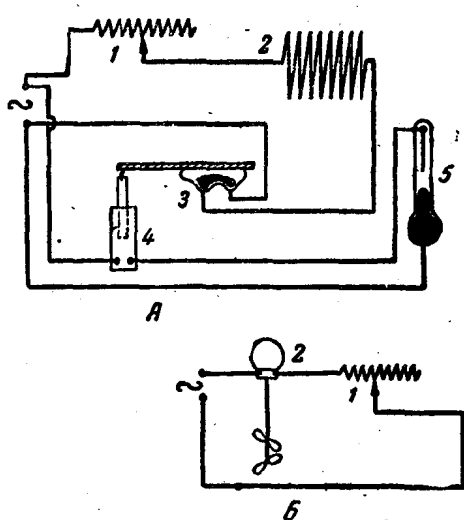


图 2. 水恒温器电路图(A):

1—可变电阻；2—恒温加热丝；3—水银断续器；
4—电磁铁；5—接触温度计。

接通电动机的线路图(B):

1—可变电阻；2—带搅拌器的电动机。

电磁线圈(螺管线圈)。两套线路同时而又彼此独立地联结 127 伏特的交流电源。

闭合电路时, 恒温加热器即进行水的加热。当水的温度达到接触温度计(或其他温度调节器)上所规定的温度时, 接触温度计的电路即接通; 同时电流流过电磁线圈, 电磁铁吸引接触杆, 因此恒温加热电路切断, 电流在此线路中停止流动。恒温器中的水随加热器的断路而冷却, 接触温度计中的水银下降, 因而接触温度计和电磁铁线路切断。由于电磁铁不再吸引接触杆, 接触杆便恢复原位并重新接通恒温加热器。这样, 就可以实现恒温器温度的自动调节。恒温器的准确度取决于加热和冷却的速度, 也取决于水的搅拌强度。借助可变电阻(图 2, A)调节加热的速度, 并根据别克曼温度计观测温度的波动, 以获得所必需的恒温器工作温度。

如果采用高欧姆电磁线圈, 则可不要变压器而将电磁线圈直接接入电源线路。如果工作上要求低欧姆线圈, 则需经低压变压器供电。

近来常采用电子管继电器, 这种继电器具有许多优越性, 特别是可以在恒温器控制电路中采用很小的电流; 同时, 电子管继电器工作也十分准确。

电子管继电器可以有各种构造: 带变压器或不带变压器并由各种电子管构成。图 3 为无变压器交流电继电器, 由 6П3С 或 6П6 电子管构成。四极管 6П3С 经过电阻接入交流电路。

如果不连续搅拌液体, 水恒温器的自动调节是不可能提供足够恒定的温度的。借助于小功率电动机带动的玻璃或金属搅拌器来搅拌液体, 例如, 可以用电唱机的电动机。这种电动机极为合用, 电源为直流电或由 12—20 伏特电池组供电。在电动机电路中联入电阻以调节电动机的转速(图 2, B)。电动机随预热器的接通而同时转动, 并应在恒温器的整个工作期内不停的转动。

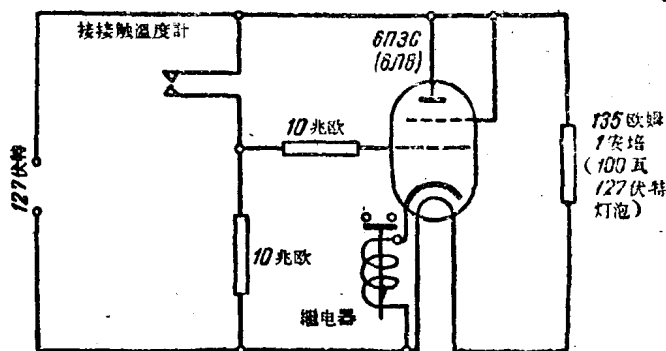


图3. 电子管继电器电路图。

直接由交流电源(127伏或220伏特)供电的预热器在恒温器开始工作时接通。当水温比给定温度低 2°C 时,将预热器断路,而闭合上述两套恒温调节电路。

恒温加热丝不应使温度发生很大的跳跃或过热,而应这样挑选加热丝,即在沒有预热和未接通温度调节器时,恒温器的过热仅比给定温度高 $6-10^{\circ}\text{C}$ 。

接触温度计的构造。接触温度计是具有和外电路相连接的引出接点的水银温度计。另一个接点在温度计内部与水银接触。可以用磁铁使第二个接点移动,并能将它固定在任何刻度上(图4)。例如,要将接触温度计固定在给定温度 $+30^{\circ}\text{C}$ 上,就要旋转磁铁头一直到指针在上部刻度位置与要求的温度相同时为止。在加热时,当温度达到给定值时,水银和金属接点接触,因此,接触温度计的电路即接通。

要求在接触温度计上所确定的必须温度的准确度超过 0.25°C 是十分困难的(在转动的磁铁头上必须采用圆度标)。但是在生物学工作中,与其说要求确定某温度的准确度(例如, $+29.8^{\circ}$ 或 $+30.0^{\circ}\text{C}$),还不如说要求严格保持已确定的温度的恒定性。

甲苯温度调节器。在液体温度调节器中最广泛应用的是具有

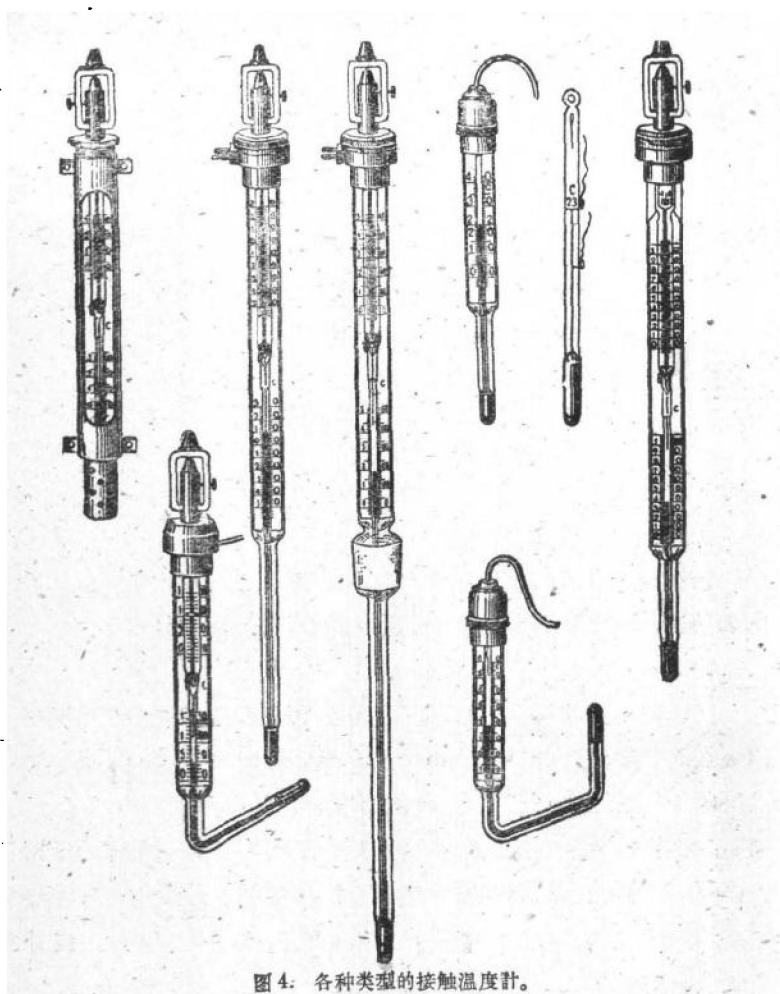


图 4: 各种类型的接触温度计。

很大的甲苯热膨胀系数(0.00109)的甲苯温度调节器。

甲苯温度调节器的样式很多,但是合用的却不多,因为往这些温度调节器中装入甲苯是很困难的。在本实验指导中引用两种型式的甲苯温度调节器。图 5 所示为第一种型式的甲苯温度调节器。由图可见,调节器是带磨口旋塞和装水银用侧部球形膨胀的

容器。水银贮器具有毛细管，其中插入一个固定在喇叭口圆盘上的活动接点。另一个接点焊在装水银的球形膨胀的部分内。接点用白金制成并焊接铜导线以便与外电路联接。经过开口 3 向贮器 1 灌入纯甲苯，经过喇叭口 8 灌注纯的干燥水银，水银装满贮器 5 和贮器 6 的一半。然后倾斜仪器，将管 7 充满甲苯并关闭旋塞（旋塞要干燥）。

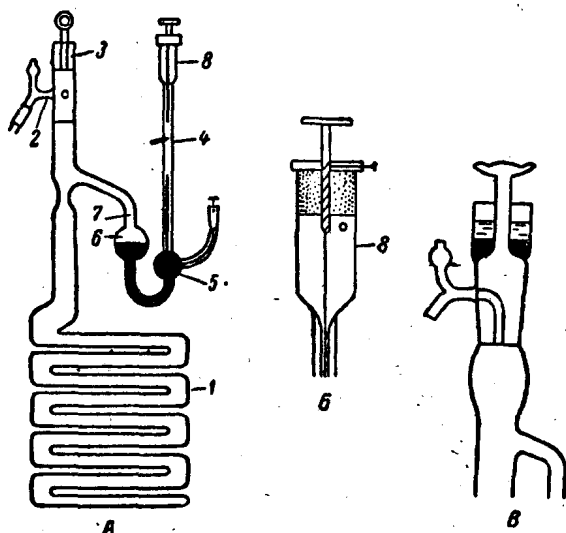


图 5. 水银-甲苯温度调节器：A—全图；B—活动接点；B—旋塞。

装好水银和甲苯之后，将调节器放在盛有水的烧杯中，加热至恒温器的规定温度，当水银在毛细管中上升至喇叭口 8 之后，旋转旋塞打开口 2。随着温度平衡的确定，可以认为，甲苯已经具有和烧杯中水同样的温度，抽出旋塞涂上滑润油并关闭温度调节器（如果甲苯不够再加入一些）。温度调节器中不能进入空气泡。从喇叭口 5 的旋塞上部灌注水银和少量的水。如果将甲苯调节器搬至恒温器中，毛细管 4 中的水银不够时，可再灌注一些；如果水银过剩，就用特制的移液管将水银吸出。