

生物化學實習教程

A COURSE OF
PRACTICAL BIOCHEMISTRY

汪 一 江 編

國 立 西 北 醫 學 院 印 行

生物化學實驗教程

A COURSE OF
PRACTICAL BIOCHEMISTRY

第一版

序 言

用化學及物理化學之方法，研究有關生體之成份及其變化，不僅為習化學及生物學者解決實際問題之一種應用技術，尤其對醫藥學生之基礎訓練，更為不可缺少之知識。

指導生化實驗之教本，外國原版固多，然不便於供目前學生之普遍採用；國內專家如吳憲、周啓源、李纘文、張子野、鄭集諸先生，亦有不少名著，但以採購不便，同時實驗室設備頗難符合諸專家所擬之標準，故不得不就實際情況，另謀解決辦法，此本編之所由作也。

編者僻處西北，從教數年來，深感實驗教材之困難，及其與理論聯繫之重要，為求使初學本課程之學生得受必要之訓練，於一九四二年起，即根據實驗室設備情況，開始選輯適用之試法，以配合教學進度；迄今迭加刪改，節錄為十六章，同時不揣譎陋，於每章之首，略加敘說，每試前，註以理論，一章之內各試法之排列，力求適應目前教學之體系，故名之曰「教程」。惟是編者學識淺陋，謬誤之處，自知難免，讀者諒而教之，幸甚幸甚。

汪 一 江

1950.8.28.

實驗室規約

(一) 整齊清潔，爲工作時之必要習慣，應注意養成之：

入實驗室開始工作時，應穿着工作衣；實驗檯上及櫥內，務須常保清潔，不得任試劑藥品濾紙等亂棄於桌面或地面上；各種用具，於用畢後須立即洗淨，並放置有序。

(二) 謹慎細心，爲研究者之必要態度，應盡力表現之：

在實驗進行中，一點藥液之濺失，可以影響分析結果；一根火柴之疏忽，可能招致火警；一滴廢酸之亂傾，可致濫壞衣物；一件玻璃器之重碰，可促成什物之破損，微細處往往可以表現個人之作事能力。

(三) 愛護公物，爲科學家之必要美德，應互相監督之：

實驗室中任何公物，非經主管人特許者，概不准攜出室外。工作時應極力避免器械之損壞，萬一有損壞情事，應立即向管理員處簽字負責，以免誣賴他人。藥品之耗用須避免浪費。貴重儀器如天秤、比色計、旋光計、離心機等，應共同保護之，必須先究明其使用法，然後動用，俾免發生意外損傷。

(四) 融會理解，爲思想上之必要訓練，應隨時運用之：

動手操作前，須詳究本日實驗之有關文件，揣摩各實驗目的之所在及應注意之事項，預先計劃如進行，以節省時間。實驗完畢後，就所得結果，練習聯想與推論，遇有疑難時在未向他人請教前，應自己盡力尋求解答及查閱參考書籍，俾能由實驗中，得了悟許多問題及增進無數心得。

(五) 虛心受教，爲求進步之必要準備，應自我檢討之：

當多人同作實驗時，應共守一般秩序，並嚴禁有妨害他人工作之行爲。對教師之指示，須嚴格遵守，對同學間之批評，應盡量接受。在實驗室中不得作課程以外之辯論，遇有爭辯時，萬勿忘自我檢討之重要性。

(六) 誠實力行，爲治學上之必要精神，應充分發揚之：

實驗報告，應力求其『真善美』，所有記錄及得數，決不許有一字之偽造，亦不得抱敷衍塞責之態度。吾人在學習期間，對眼耳手之訓練，俱須努力實踐，不僅聽一課有一課之意義，尤其遇有實驗機會，更應把握時間，多習一法有一法之用途，多作一次有一次之經驗。志於學者，其共勉之。

生物化學實習教程目次

序 言

實驗室規約

第一章	理論生化.....	1
第二章	醣類.....	14
第三章	脂類.....	23
第四章	蛋白質.....	32
第五章	食物分析.....	46
第六章	酶與消化.....	55
第七章	糞便.....	67
第八章	生理氧化.....	74
第九章	血之定性試驗.....	81
第十章	血中無機成份之定量.....	89
第十一章	血中有機成份之定量.....	97
第十二章	尿之定性及其無機成份之定量.....	116
第十三章	尿中有機成份之定量.....	127
第十四章	維生素.....	140
第十五章	內分泌素.....	148
第十六章	組織.....	155

生物化學實習教程

第一章 理論生化

Rhysical Biochemistry

生物組織由細胞所構成，細胞內主要成份爲蛋白質，脂類及醣類等，此類化合物恆呈膠性狀態 Colloidal state。細胞膜有半透作用，膠質粒子有表面性狀，等等關係，較之普通溶液，遠爲複雜。學者欲求於實驗上樹立研習生命化學現象之基礎，對於此等理論之詮證，首須精究。

(一) 勃朗運動 Brownian Movement

理論： 膠性液由分散相 Dispersed phase 分散於分散媒 Dispersion 中而成。分散相之粒子 Particles 受分散媒之分子所撞擊，而成折線式之顫動；於有暗視裝置之超顯微鏡 Ultra-microscope 下，可以觀明。若粒子特粗者，即普通高倍顯微鏡，亦可察見之。

試法： 將載玻片用洗液煮過，以水沖淨，浸於乙醇中備用。用時取一片於火焰上烘乾，放冷，於其上加極淡之中國墨汁一滴，於顯微鏡下察其粒子運動之情況。注意其速度與粒子大小之

關係。

(二) 丁鐸爾現象 Tyudall Effect

理論：在暗室中，以一極強之光線，成直角射經一膠性液時，光線所經之處，呈一明顯之光帶。此現象為法拉第試驗金膠液時所發現，其後丁鐸爾詳加研究，故以其名為名。此乃光線射經膠液中時，遇粒子表面，所生之散光現象。如粒子大小相等，則光帶之強弱度，與該液中粒子之多寡，適成正比。比濁計 Nephelometer 之能用於膠性物質定量，即本此理。

試法：取二試管，一盛1%澱粉，一盛1%氯化鈉至近滿，置暗室中。將手電筒之電光穿過一硬板之小孔，使成一細強光線，射經兩管之液中，而自側面觀察其現象。

(三) 彌散速率 Rate of Diffusion

理論：液體與氣體藉分子運動而有彌散作用。膠性液中之粒子因有勃朗運動，亦有彌散現象。惟其粒子之質量甚大，運動速度甚弱，據格累謨 Graham 定律謂：粒子之彌散速度，與其質量之平方根成反比例。

試法：將新製之8%動物膠液，趁熱分貯入五個同樣大小之試管中，使液柱同高（約 cm）。俟其冷却變成膠凍後，分別加下列各溶液：

- (1) 5%硫酸銅液 3 cc
- () 飽和苦味酸液 3 cc
- (3) 0.5%茶紅液 3 cc
- (4) 2%硫化亞砷膠性液 3 cc
- (5) 1%氫氧化鐵膠性液 3 cc

靜置二日後，由各管中有色粒子滲入膠凍之深淺，比較其彌散速度之大小。

(四) 使懸濁膠質自液中沉出

理論：膠性物質有懸濁膠質（膠懸體Suspensoids）及類乳膠質（膠乳體Emulsoids）兩類：其所成之膠液，分別稱為懸濁膠液 Suspension 及類乳膠液 Emulsoid Sols。懸濁膠液中之粒子，不論為固體或液體，均不能與分散媒相化合或相溶解，常藉其所帶之電荷互相排斥，而成穩定之膠液。若此電荷之平衡被異性電荷之離子或粒子所擾亂時，分散相即失其穩定性而被沉出。電解質能使懸濁膠質自液中沉出，即因其有異性電荷之離子之故「Hardy Law」。其沉出之速度與該離子之價數有關「Sohultz Law」。

試法：下列三節，可同時操作。

(A) 以電解質使帶陰電荷之粒子沉出——取三試管，各貯水 9 cc，再分別加入下列試液：

(1) 1 M 氯化鈉液 1 cc

(2) 1 M 氯化鈣液 1 cc

(3) 1 M 氯化鋁液 1 cc

然後，於每管中加 2% 硫化亞砷膠性液 1 cc，各搖勻靜置之，記錄其沉澱發生之先後與粗細。

(B) 以電解質使荷陽電之粒子沉出——取三試管，各貯水 9 cc 再分加下列試液：仿上段之操作。但不加硫化亞砷，而改加 1% 氫氧化鐵膠性液 1 cc。

(4) 1 M 氯化鈉液 1 cc

(5) 1 M 硫酸鈉液 1 cc

(6) 1 M 鐵氰化鉀液 1 cc

(C) 以相異電荷之粒子使互相沉澱——將三試管，簽貼為 (7)，(8)，(9)。各貯水 6 cc。取 1% 氫氧化鐵膠性液於 (7) 中加 1 cc，(8) 2 cc，(9) 3 cc。再取 2% 硫化亞砷性液於 (7) 中加 3 cc，(8) 2 cc，(9) 1 cc。各搖勻靜置之，觀察

其沉澱發生之情形。

(五) 使類乳膠質自液中沉出

理論：類乳膠液中之粒子，或荷電或不荷電，其穩定之主因，為分散相有親液性Lyophilic properties。蓋類乳膠質在分散媒中分散時，每個粒子中均固結有若干媒質。若加以奪液劑或電解質，因其與媒質之親和力較大，能將粒子中固結之液體分子奪去，故膠質可被沉出。

試法：數試管各貯1%動物膠液5cc，分加以：

- (1) 1 M氯化鋁液 5 cc
- (2) 1 M鐵氰化鉀液 5 cc
- (3) 飽和硫酸銨液 5 cc
- (4) 95%乙醇 5 cc

各搖勻靜置，記錄其結果。

(六) 類乳膠質對懸濁膠質之庇護作用

理論：於懸濁膠液中，加以適量之電解質，可使其有沉澱之發生或顏色之改變，若先加少許類乳膠質，再加此同量之電解質，則沉澱現象或顏色變化可被防止。類乳膠質之此種性能，稱為膠質作用 Protective action。齊格孟第 Zsigmondy 研究金膠液時，始發現之。於 0.0053 —— 0.0058 % 之金膠液中，加以10% 氯化鈉 1 cc，可使其由紅色變紫色；若先加以某種類乳膠質，則可庇護其色不變。如將此膠質之劑量逐次減少，至恰不敷庇護為止，此時所須之 mg數，稱為金數 Gold number，乃庇護作用之單位。庇護作用愈大之膠質，其金數愈小。

試法：

(A) 庇護現象 取大試管二支，分貯以：

- (1) 0.1 N 硝酸銀 5 cc 及水 1 cc 搖勻
- (2) 0.1 N 硝酸銀 5 cc 及 2% 動物膠 1 cc 搖勻

於每管中加 0.01 N 溴化鉀 10cc 混合後，靜觀其結果。再搖再觀，尤為清楚。

(B) 金數之測定 取試管六支，各貯金膠液 9cc，於第一試管中加 0.1% 動物膠 1cc，混勻後，用吸管吸取其 1cc 注入第二管混勻，由第二管吸取 1cc 注入第三管混勻。依此作法，直至由第六管吸出 1cc 為止。然後於每管中加 10% 氯化鈉 1cc 混合之。記錄並解釋其結果。

(七) 膠狀物質狀態之變化

理論：類乳膠質因嗜水性而能勻散於水中，形成可流動之液體狀態者，曰膠水（膠溶體 Sols）。若其濃度增加或溫度降低，致分散相粒子間之微管吸力加強，或分散媒之分子活動減弱，而形成固體或半固體狀態者，曰膠凍（膠凝體 Gels）。膠凍有彈性與剛性兩類。有數種彈性膠凍，當靜置時，能自行收縮而擠出一部份液質者，曰擠液現象 Syneresis；反之，有許多類乳膠質，能吸取相當容量之水，逐漸脹大，而不失其固體形態，則稱之為滲潤現象 Imbibition。

試法：

(A) 膠凍與膠水之互變 取動物膠 0.5 克，以水 5cc 加熱煮沸之，冷卻後狀態為何？再加熱及再冷卻，記其狀態之改變。

(B) 擠液現象 以曾經消毒之注射器，自靜脈吸取血液 5—10 cc，即刻注入乾淨之試管內，數分鐘後，即凝結成膠凍。靜置至次日再觀察之，即可見被擠出之血清。

(C) 滲潤現象 置動物膠一塊於錶皿上，描記其大小；加水少許，蓋置數小時後，察其脹大否。

(八) 乳劑 Emulsion

理論：一種液體之微粒分散於另一種液體中，所成之膠性液，稱為乳劑，或乳狀液。兩種互不相溶之液體，藉攪拌即可使

成乳劑，但放置不久，即彼此分離，成爲二層，故稱爲暫時乳劑。若欲使兩種互不相溶之液體——如油與水——相分散而成永久乳劑，必須加乳化劑Emulsifying Agent 以使其穩定。乳化劑爲同時具有親油及親水兩種原子團之有機化合物或類乳膠質，能減低兩液接觸面間之界面張力。一般乳化劑之親油力與親水力之大小不一，因而形成之乳劑亦異。阿拉伯膠或肥皂之親水性大於親油性，其對水之界面張力減低較著，故能使水成爲分散媒（即外相 External phase 或連續相 Continuous phase），而油成爲分散相（內相 Internal phase 或不連續相）。印度橡皮樹膠及脂酸鈣之作用，則與此相反。蘇丹紅爲能溶於油之顏料，常用爲辨別內外相之指示劑。

試法：

(A) 乳劑之製備

(1) O—W，油在水（僞乳 Artificial milk）置阿拉伯膠粉 1.5 克於研鉢中，先加水 3cc 研和後，取菜子油或花生油 2cc 分次滴入，細加研磨，加畢後續研至發沙沙狀之爆聲，表明油已近完全乳化。再加水，每次 5cc，隨加隨研，至總容積成 50cc 爲止。

(2) W—O，水在油 置印度橡皮樹膠 Gum Dammar 0.25 克於研鉢中，加菜子油或花生油 10cc 研和後，取水 20cc 分數次加入研勻即得。

(B) 乳劑之鑑別

(1) 粘性比較 觀察兩種乳劑，在試管壁上及在玻片上之流速與粘稠狀態，有何差別？

(2) 稀釋法 傾乳劑數滴入水槽中，能迅速瀰散者即爲 O—W，反之則爲 W—O 布立格 Brigg 滴點稀釋法，係將乳劑及水各一滴，於玻片上拌和後，置顯微鏡下檢條該乳劑在水中能否散開，或用氯劑加油作同樣試驗。

(3) 用指示劑 羅伯特生 Robertson 法，取乳劑一滴置玻片上，加極少之蘇丹紅 Sudan III 攪和之，於顯微鏡下觀察珠狀之粒子是否被染，抑或分散媒被染。

(4) 導電性比較 將連於安培計之二電極，插入乳劑中，通以一定電流；外相為水之乳劑，其導電性應較大，可由安培計上觀察之。

(C) 內外相之互變 將含有蘇丹紅 0.5% 之橄欖油 2 cc 及 0.1% 肥皂液 2 cc 混於一管中。塞妥。極力搖盪百餘次後。均分為兩份，於其一份中加 1% 氯化鈣液二滴，重搖百餘次。比較二者之顏色滯性等有何不同，並辨其內外相各為何？

(九) 吸附與釋出 Adsorption and Elution

理論： 膠性液兩相之接觸面，總面積甚為鉅大。若液中含有能減低界面張力之溶質，在其接觸面之濃度必較大；故在液中心之濃度，因接觸面之增多而愈減少。尤其界面張力較大之液體（如水），能將此種溶質之大部份排擠至接觸面，而使其附着於分散相之粒子上。反之，界面張力極小之媒質（如醇），其溶解力大於排斥力，故能將粒子上已附着之溶質洗出。利用分散相之粒子，以提取或奪出溶液中之溶質，稱曰吸附。改變溶液之 PH 或改換溶媒，使已吸附之溶質重入液中，是為釋出。

試法： 於 0.01% 甲烯藍 (Methylene blue) 10 cc 中，加獸炭粉約 1 cc，極力搖盪後，過濾，比較濾液與原液之顏色。以水 10 cc 自濾紙上淋洗一次，再用酒精 10 cc 淋洗一次，比較此兩種淋出液顏色之深淺，並釋其理。

(十) 界面張力 Surface tension

理論： 一種液體與不能相容之固體，液體，或氣體之粒子接觸時，其接觸之境界，稱曰界面。液體因分子之自相凝聚，恆欲使其暴露之表面面積縮至最小，此種能力即為界面張力。一般

膠質多能減低水之界面張力，其溶液之濃度愈大或溫度愈高時，減低愈甚。液體自小孔滴出時，皆呈球形，因圓球為同體積中表面面積之最小者也。界面張力愈低之溶液，能成之球形愈小，其一定體積所成之滴數亦愈多。故由比較滴數，可求得比較的界面張力，其計算式如下：

$$r = \frac{N_w \cdot S}{N}$$

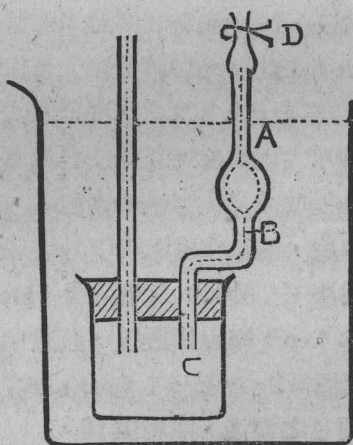
r 為被測液之比較界面張力，

S 為被測液之比重，

N_w 為一定容量水之滴數，

N 為同容量被測液之滴數。

試法 如右圖之裝置，在滴數計 Stalagmometer 上有 A 及 B 兩大刻度及其鄰近諸小刻度，每次裝好被測液後，將整個儀器浸入貯有 25°C 溫水之玻璃筒內，輕鬆 D 夾，計數 C 口流下之滴數。迨液面由 A 降至 B 時，復將 D 夾夾住。



先吸液至 A 刻度以上，任其流下。計其每滴等於若干刻度；以後自 A 開始及到 B 停止時，縱不正對刻度線，亦可由相差之小刻度而計算其應加減一滴之十分之幾。

依法先測蒸餾水，繼測 0.1% 肥皂液之滴數。

(十一) 表面膜 Surface film

理論：許多有機化合物或類乳膠質，分子構造中含有兩類原子團：一類為極化簇 Polar group，如 $-\text{COOH}$ ， $-\text{OH}$ ……，能與水之分子或其氫及氫氧離子相吸引，而有溶解之趨勢；他類為非極化簇 Nonpolar group，如 $-\text{CH}_3$ ， $-\text{C}_6\text{H}_5$ ， $\text{C}_{11}\text{H}_{20+1}$ ……則與水相排斥。若一化合物中此二簇之比為 1:1，如脂肪酸，取其少量分散於水時，能浮佈於水面，成功單層分子之膜狀排列，每分子之極化簇溶向於水，而非極化簇被排出水面。設分子數目為已知，則由膜之最小面積，可計算每分子之橫徑及厚度。

試法：預備一潔淨之搪磁方盆，貯水至滿過盆邊而不溢出為止。注 0.1% 油酸之苯液 0.1 cc 於水面，待數分鐘苯揮發後，油酸分子即貼於水面成薄膜狀。用光滑之細長竹籤，自盆之一邊沿水面推移；在兩竹籤間，因距離之增減，可由側面看清膜之中縮，以象徵細胞膜等網眼之變化。兩竹籤間距離減至最小而未起皺時，可感得膜之彈性。

(十二) 透析與滲透 Dialysis and Osmosis

理論：膠性液與晶性液之混合物，貯於有半透性之器內，晶體物質可以透出，利用此法以分離膠質與晶質，稱為透析。水為最易透過半透膜之中性分子，其對於溶質或有極化性之膠質。具有相吸引之力。液中離子數目愈多，則吸引水份之力愈大。故在膜之一方，溶質之濃度較大時，能將膜彼方之水份吸來，而昇高此方之液面，是為滲透。滲透力較大之一方，液面須升高至的相當壓力時，始能維持平衡；此高出對方之液柱壓力，若以 mm 水銀柱計之，即為滲透壓。

試法：取預製之火棉膠袋 Colloidion tube，以線先將其口紮緊於備有長玻璃管之單孔膠塞上。自管頂注入澱粉食鹽混合液，至使袋恰滿為度。將玻璃管直立架妥，使所懸之袋浸於一杯蒸餾

水中，並令內外之液面恰平，靜置之，俟液面變動達平衡後，記錄下列各點；

(1) 管中水面，較袋外液面高若干，以水銀柱計之為若干。

(2) 取袋外之水，加硝酸銀液一滴，解釋其結果。

(3) 取袋內及袋外液體各少許，分別加以碘液一滴，結果如何。

(十三) 多南平衡 Donnan's Equilibrium

理論：各種透膜性離子，分溶於半透膜兩側之水中，如無他種力量之影響，應漸自各在膜之兩側成均勻之分佈。若在膜之一側有不透膜性離子R存在，則各透膜性離子因電荷之異同，受其吸引或排斥，而漸成分佈不勻之平衡。當平衡時，透膜性離子之電性與R相異者，其在R側之濃度必大於對側，電性相同者必少於對側；但各側兩性透膜性離子之乘積必相等，且R側之滲透壓必較高，是為多南平衡現象。生體一切活膜，概為半透性，而膜內外膠質含量不一，故在吸收，代謝，分泌，排泄等等生理作用中，莫不有此種平衡之關係。

試法：如試驗十二之裝置，其袋內外之液體配合如次(A)袋外液體：於一燒杯中，加0.5%溴酚藍液1cc，再滴加0.02%鹽酸使色成黃色，再滴加極稀之氫氧化鈉至恰成微紫藍色。(B)袋外液體：於2%動物膠100cc中，加0.5%溴酚藍1cc，如上法加氫氧化鈉至微紫藍色。裝妥後，靜置至次日觀察之。

(十四) 溶液之PH

理論：溶液中酸鹼之程度，視其所含之H離子之多寡而定。通常生體各種溶液中，H離子成爲極小之分數，不便於記認與應用。H離子濃度之倒數之對數。稱爲PH，乃用極簡單數字表示酸鹼程度之符號。測定溶液PH之方法甚多，最簡捷者爲比色

法，只能施用於無色之溶液。其法須先配製成套之緩衝劑，各有一定之 PH，以作標準。此類標準液。只在數日內可用，經久則不準確。配法如下：

PH	配 製 原 料	加 水 成
1.6	(a) 14.95cc (c) 35.05 cc	200 cc
1.8	9.43 40.57	,,
2.0	5.95 44.05	,,
2.2	3.76 46.24	,,
2.4	(a) 39.60 cc (d) 50.00 cc	200 cc
2.6	33.00 ,,	,,
2.8	25.50 ,,	,,
3.0	20.40 ,,	,,
3.2	14.80 ,,	,,
3.4	9.95 ,,	,,
3.6	6.00 ,,	,,
3.8	2.61 ,,	,,
4.0	(b) 0.40 cc (d) 50.00 cc	200 cc
4.2	3.65 ,,	,,
4.4	7.35 ,,	,,
4.6	12.00 ,,	,,
4.8	(b) 29.00 cc (e) 50.00 cc	200 cc
5.0	34.50 ,,	,,
5.2	38.50 ,,	,,
5.4	42.50 ,,	,,
5.6	45.50 ,,	,,
5.8	(b) 3.7 cc (f) 50.00 cc	200.6c
6.0	5.7 ,,	,,
6.2	8.6 ,,	,,

6.4	12.6	''	''
6.6	17.8	''	''
6.8	23.6	''	''
7.0	29.6	''	''
7.2	35.0	''	''
7.4	39.5	''	''
7.6	42.8	''	''
7.8	45.2	''	''
8.0	(b) 46.8 cc	(f) 50.00 cc	200 cc
8.2	(b) 5.9 cc	(g) 50.00 cc	200 cc
8.4	8.5	''	''
8.6	12.0	''	''
8.8	16.3	''	''
9.0	21.3	''	''

- (a) 0.2M鹽酸， (b) 0.2M氫氧化鈉，
 (c) 0.2M氯化鉀， (d) 0.2M苯二酸氫鉀，
 (e) 0.2M醋酸， (f) 0.2M酸式磷酸鉀，
 (g) 0.2M硼酸及氯化鉀混合液。

依上表可配成0.05M濃度之緩衝劑，作為標準；更準備各種必要之指示劑之0.04%溶液，其配法係取原料0.1克，置瑪瑙研鉢中，加和必需之鹼量(以0.01N氫氧化鈉之cc數表之)，細研後加水成250cc即得。

有效 p_H 界	指示劑名稱	需加鹼液cc	酸色—鹼色
1.2—2.8	麝香草藍	21.5	紅—黃
3.9—4.6	溴酚藍	14.9	黃—藍
3.8—5.4	溴甲酚綠	14.3	黃—藍
4.2—6.3	甲紅	—	紅—黃