

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

16開 77頁 205,000字 定價11,000元

譯者	中國醫科大學生物化學教研組
校訂者	北京醫學院生物化學教研組
出版者	人民衛生出版社 北京南兵馬司3號
總經售	新華書店
印刷者	人民衛生出版社長春印刷廠
原書名	ПРАКТИКУМ ПО БИОЛО- ГИЧЕСКОЙ ХИМИИ
原著者	Б. И. Збарский, И. Б. Збар- ский А. И. Солнцев
原出版者	МЕДГИЗ
原出版日	1949

(東北版)

1953年12月第1版

1—5,000

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. И. Збарский教授門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	3
-----	---

蛋 白 質 化 學

蛋白質呈色反應	10
蛋白質沉澱反應	13
蛋白質的透析	18
蛋白質等電點的測定	19
蛋白質的加酸水解	21
Sørensen 氏甲醛滴定法	24
核蛋白的水解	26

酵 素 (酶)

澱粉的水解	28
溫度對酶活性的影響	31
酶的特異性	32
pH 對酶的作用之影響	34
生物體中某些酶的定性反應	36
肌肉脫氫酶的定量	40
*Мери 氏蛋白酶定量法	41
唾液及尿液中澱粉酶活性的測定	41
*Бах 及 Зубкова 氏血液過氧化氫酶的定量	43
*脂酶的定量	45
*丁酸異戊酯的酶性合成	46

維 生 素

維生素 A 定性反應	48
*維生素 A 定量	49
*Раҷевский 氏胡蘿蔔素定量法	52
維生素 C 定性反應	54
*維生素 C 定量	56

脂質及其代謝

脂肪的消化	58
尿中酮體的反應	60
腦髓中膽固醇的證明	62
雞卵黃中卵磷脂的證明	63

糖的代謝

胰澱粉酶對澱粉的消化	65
Hegedorn-Jensen 氏血糖定量法	66
*糖耐量測定之血糖定量法	70
胰島素對於血糖量的影響	70
腎上腺素對血中糖量的影響	72
發酵試驗	73
糖元酵解作用	75

蛋白質代謝

胃蛋白酶對蛋白的消化	78
胰蛋白酶對蛋白的消化	79
*腸肽酶對胰的作用	81
體液蛋白質的除去與蛋白氮及非蛋白氮的測定	82
Бородин 氏尿中尿素定量法	86
尿中氮的定量	91
肌酐的反應	92
*肌肉組織中肌酸的證明	93
肌肉組織中肌肽的證明	93
尿中肌酐和肌酸的定量	94
尿酸	98

血 液

*血液凝固	100
*凝血速度的測定	101
*滲透壓對紅血球的影響	102
氯化血紅素結晶的製法	103
血液的癒瘡木脂試法	104
血液的聯苯胺試法	104
血液色素的分光分析	105
血斑鑑定	106

*血紅蛋白定量	107
血清鈣的定量	109
血液氫的定量	110

膽 汁

膽汁色素的反應	113
膽汁酸的反應	114

胃 液

游離鹽酸反應	115
乳酸反應	116
總酸度測定	117
游離鹽酸測定	118
用同一樣品測定游離鹽酸及總酸度的方法	118
*結合鹽酸測定	119
*用同一樣品測定總酸度，游離及結合鹽酸的方法	119
胃液中血的反應	120
胃液中膽汁的證明	120

尿 液

尿比重的測定	122
尿色的檢查	122
尿透明度的檢查	123
尿嗅的檢查	123
尿反應的測定	123
尿糖的定性反應	123
尿糖定量	125
酮體反應	127
尿中蛋白質定性	127
蛋白質的定量	129
尿中血液定性反應	129
尿中膽汁色素反應	130
尿中膽汁酸的反應	131
尿中尿膽素反應	132
尿中尿藍母反應	133
尿液的臨床檢查	134
*尿沉渣及尿結石的檢查	135

乳

*VМРКОВ 氏鑑別人乳與牛乳的試法.....	138
乳的酸度測定.....	139
乳的比重測定.....	140
*乳中脂肪定量.....	141
*乳中蛋白質定量.....	142
附 錄.....	143
試劑製法.....	143
表.....	148

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。

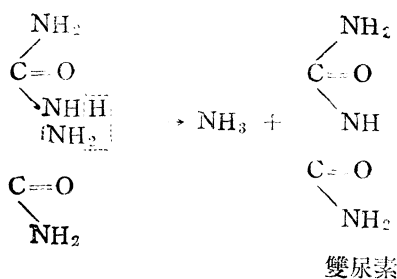
在複合蛋白質中值得吾人重視者為：色素蛋白。即蛋白質與色素的化合物，例如血紅蛋白；核蛋白，即蛋白質與核酸的化合物；磷蛋白，是含磷的蛋白質，例如酪蛋白；粘液蛋白（糖蛋白），是蛋白質和複雜糖類（粘多糖類）的化合物。

蛋白質呈色反應

蛋白質的存在可由於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^①。



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。

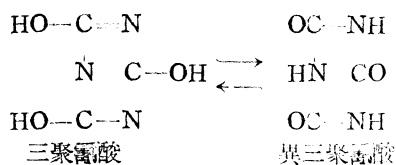
器材：試管架及乾燥試管。

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 143 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，則尿素開始熔解，至熔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，而氨揮發（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。若用脛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）鯉精蛋白及鮭精蛋白例外，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 143 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，鯉精蛋白及其他）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 143 頁第 2 項）。
 3. 蛋白質溶液（製法：見本書第 143 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。

Ⅲ. 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。

V. 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

氫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爲低親水性（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 〕，當其濃度够大時，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 143 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。

II. 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，其變性尙未完成，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 143 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。

Ⅲ. 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，在此等鹽類尙未吸收之前，可用蛋白質（牛乳、卵）做爲解毒劑。

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 143 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。

Ⅲ. 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、 $H_4Fe(CN)_6$ 、 $KI \cdot HgI_2$ 鹽、 $KI \cdot BiI_3$ 鹽及某些其他物質。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 143 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。

6. 含碘化鉀的碘化汞溶液（製法：見本書第 143 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。

V. 用礦酸沉澱蛋白質：濃礦酸類（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。過剩的礦酸能溶解已經沉澱的蛋白質，但硝酸的過剩却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 143 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。

VI. 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 143 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。

VII. 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

子構造的改組有關，由此蛋白質失去其天然性質及其溶解性，變性反應是與時間並進，且隨溫度的升高而加速；因此極短時間的加熱也可能不引起凝固。

當加熱時，鹽類之存在及氫離子的濃度，對蛋白質凝固起重要作用。

在蛋白質的等電點，即在蛋白質膠態顆粒最不穩定的 pH 時，會發生最完全而迅速的蛋白質凝固。大多數蛋白質的等電點相當於弱酸性反應（大約 $\text{pH}=5.0$ ）。

在強酸性溶液中，蛋白質膠體粒子荷電改變而帶有陽電荷。因之增加其穩定性。同理在鹼性溶液中，蛋白質膠體粒子又由於帶陰電而穩定。因此蛋白質在強酸和強鹼溶液中加熱時，通常不凝固。在強酸溶液中，只有當添加足夠量的任何中性鹽類時，蛋白質才能因加熱而凝固。

器材：試管及試管架。

試劑：1. 蛋白質溶液（製法：見本書第 143 頁第 4 項）。

2. 1% 醋酸液。

3. 10% 醋酸液。

4. 飽和氯化鈉液。

5. 10% 苛性鈉液。

操作：

1. 取五個試管記上號碼，各加入蛋白質溶液約 2 毫升。

2. 將第一試管加熱，則產生蛋白質沉澱。

3. 於第二試管中加入一滴 1% 醋酸，然後加熱。由於蛋白質達到等電點，則蛋白質的沉澱較快而完全。

4. 第三試管添加 10% 醋酸約 0.5 毫升，並加熱，此時蛋白質溶液甚至煮沸也不生成沉澱。

5. 第四試管中添加 10% 醋酸約 0.5 毫升及少許飽和氯化鈉液，加熱則生成蛋白質沉澱。

6. 於第五試管中添加苛性鈉液約 0.5 毫升，並加熱，即使煮沸也不生成蛋白質沉澱。

蛋白質的透析

透析是利用無機質及有機質能透過而膠體所不能透過的薄膜，以分離膠體和有機質與無機質的夾雜物。

蛋白質在溶液中因其膠體顆粒較大，故不能透過透析膜。蛋白質的此種性質可用以清除其溶液中的低分子夾雜物。

器材：1. 透析器（最簡單的透析器可用火棉膠囊放入有蒸餾水的玻璃杯中如圖一）。

2. 試管及試管架。

- 試劑：
1. 含清蛋白、球蛋白及氯化鈉的蛋白質溶液。（見本書第143頁第3項）。
 2. 1%硝酸銀液。
 3. 10%硝酸液。
 4. 10%苛性鈉液。
 5. 1%硫酸銅液。

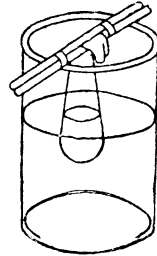


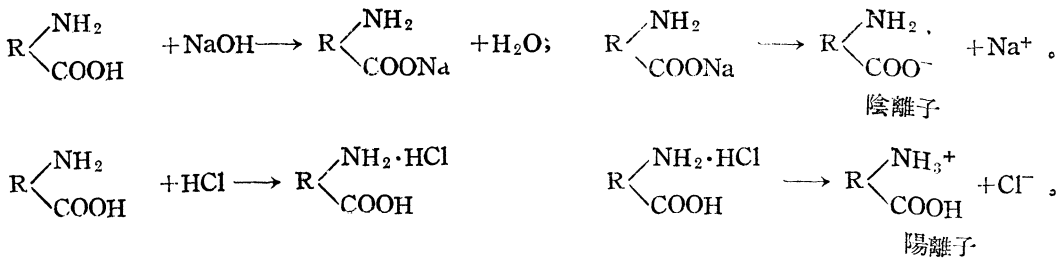
圖 1

操作：

1. 用蛋白質溶液做雙縮脲反應。
2. 注入10—15毫升蛋白質溶液於火棉膠囊中，並將膠囊的開口端夾在木鉗上，放入盛有蒸餾水的玻璃杯中，且使其開口端位於水面之上。
3. 約經過一小時，自玻璃杯中取水1—2毫升確證有氯離子的存在（在硝酸酸性條件下作硝酸銀反應）而無蛋白質的存在（雙縮脲反應陰性）^①。

蛋白質等電點的測定

蛋白質可以視為是含有大量的酸基和鹼基的物質，它在鹼性溶液中解離的主要是酸基。例如在苛性鈉液中形成「蛋白酸鈉」。其一部解離成鈉的陽離子；而另一部則成蛋白質陰離子，在酸性溶液中恰恰相反主要是蛋白質的鹼基解離，例如在鹽酸溶液中可得到「蛋白氯化物」並一部分解離成蛋白質的陽離子和氯的陰離子。上述反應可簡記如下式：



這樣一來，蛋白質既有呈陽離子的作用而又有呈陰離子的作用。此時決定蛋白質行為的因素是氫離子濃度，當氫離子濃度達到一定值時（隨蛋白質而異），則蛋白質的電荷實際上等於零。

① 如果杯中用自來水並不時更換時，則經過少時就能觀察到火棉膠囊內出現輕微的混濁，即球蛋白的沉澱。此乃由於火棉膠囊中的氯化鈉濃度減低的緣故，因為於鹽類不足之溶液中球蛋白沉出。

蛋白質在此種條件下處於等電狀態，並在電場內發現蛋白質既不向陽極也不向陰極移動。蛋白質處於等電狀態時的氫離子濃度稱為該蛋白質的等電點。

蛋白質在等電點時幾乎完全成中性的分子或帶等量的陽電荷及陰電荷的「兩性離子」，但在其他氫離子濃度時則主要變成蛋白質的陽離子或陰離子。蛋白質溶液在等電點時最不穩定。在這種情況下起穩定因素作用的只有蛋白質的水合作用（水膜）。在任何其他氫離子濃度時，顆粒的電荷都能影響蛋白質膠體溶液的穩定性。

大多數蛋白質的等電點是接近於中性的，但不完全是中性，實際在大多數情形下傾向於酸性組織蛋白，精子蛋白及某些其他蛋白質，却在弱鹼性時有等電點。

以白明膠為例來測定蛋白質的等電點是很方便的。

- 器材： 1. 試管架及大試管。
2. 微量刻度吸量管。
3. 刻度為 1 毫升的 10 毫升普通吸量管。

- 試劑： 1. 0.1N 醋酸鈉液。
2. 0.1N 醋酸液。
3. 1N 醋酸液。
4. 1% 白明膠液。
5. 90% 乙醇。

操作：

1. 取試管六支附以號碼並排成一列，按以下所示添加試劑：

添 加	試 管 號 碼					
	1	2	3	4	5	6
0.1NCH ₃ COONa (毫升)	2	2	2	2	2	2
0.1NCH ₃ COOH (毫升)	0.25	0.5	1	2	4	—
1NCH ₃ COOH (毫升) …	—	—	—	—	—	0.8
蒸餾水 (毫升) ……………	3.75	3.5	3	2	—	3.2
1%白明膠液 (毫升) ……	2	2	2	2	2	2

2. 振盪試管的內容物。
3. 用吸量管徐徐添加乙醇於第四號試管，邊添加邊振盪，少頃後至出現輕微的混濁為止。通常約需乙醇 8 毫升。
4. 其他各管按照第四號試管的量，在振盪同時，準確的添加乙醇。
5. 經三十分鐘後按下表觀察其混濁程度：

	試 管 號 碼					
	1	2	3	4	5	6
pH	5.6	5.3	5.0	4.7	4.4	4.1
混濁程度	—	—	+	++	+++	—

附註：表中的+號表示混濁度。

這樣一來，白明膠的等電點相當於pH = 4.7（混濁最強點——譯者註）。

蛋白質的加酸水解

蛋白質能被水解，與水結合時其分子分解成更簡單的成分。

蛋白質單純與水加熱能引起部分的、輕微的水解。只有與酸、鹼加熱或受酶的作用方能促進這一過程達到完全水解。

蛋白質在機體內不斷地在特殊酶的作用下而水解，水解在消化及蛋白質代謝的過程中起着重大的作用。

水解在實驗室中是檢查蛋白質最重要的方法，而一般常用酸或鹼以檢查蛋白質。

在水解過程中蛋白質分子開始分解成高分子產物即腓類，其次形成多肽類，以後成更簡單肽類最終生成氨基酸類^①。

為使蛋白質完全水解，常常將蛋白質加硫酸或鹽酸^②，採取逆流冷卻進行長時間的煮沸。

若水解產物的雙縮脲反應呈陰性時，一般是蛋白質完全水解的標誌。但應牢記這個標誌與其說是指蛋白質的完全水解，不如說是指接近於水解的終點，因某些簡單的肽類對雙縮脲反應也呈陰性，故在確定雙縮脲反應陰性以後，尚需繼續水解1—2小時，只有如此才能認為是完全水解。

① 常用酸水解蛋白質時，除產生氨基酸外，一般尚有氨、氨基葡萄糖、硫化氫、腐植質類物質（Humin）及某些其他化合物。

② 水解物長時間的加熱，自然不能在學生上課一個單元的時間內做完（一般三小時）。因此血清蛋白質的酸水解以及能析出酪氨酸（見下）的絲的酸水解的實驗最好不在一個單元而在兩個單元內進行，以使水解在兩次單元中間完成。最好用事先準備好的水解產物，就能在一個單元課內完成此操作。

I 血清蛋白質的水解

器材：1. 帶有逆流冷却器^①的小燒瓶。

2. 試管及試管架。

試劑：1. 血清。

2. 25% 硫酸液。

3. 10% 苛性鈉液。

4. 1% 硫酸銅液。

操作：

1. 加血清2—3毫升於帶有逆流冷却的小燒瓶中，然後添加硫酸液15—20毫升。

2. 連接燒瓶和冷却器使其發生作用，再行燒瓶內容物的加熱。時時取出水解物的一部分中和後作雙縮脲反應。

3. 繼續煮沸燒瓶內容物直到雙縮脲反應陰性為止。

II 絲的酸水解及酪氨酸的分離

絲幾乎完全由蛋白質的物質所組成，其成分一半以上（約53%）是絲蛋白（fibroin）。後者的分子中約含11%酪氨酸的剩餘；也就是很富有這種氨基酸，因此絲可為酪氨酸的良好來源。

分離蛋白水解物中酪氨酸的方法：可將水解產物中和並冷却之，使游離酪氨酸沉澱而分離之。

器材：1. 附有逆流冷却器的圓底燒瓶。

2. 500毫升的燒杯。

3. 500毫升錐形瓶。

4. 玻璃漏斗。

5. 水浴。

6. 顯微鏡。

7. 試管及試管架。

試劑：1. 25% 硫酸液。

2. 10% 苛性鈉液。

3. 1% 硫酸銅液。

4. 獸碳末。

① 垂直的裝在燒瓶塞上的長玻璃管可做為逆流冷却器之用。

5. 石灰乳。
6. 10% 醋酸液。
7. 米倫 (Millon) 氏試劑 (製法見本書第 143 頁第 2 項)。
8. 絲 (一般生產上的廢品——絲屑)。

操作：

1. 取絲25克盛入圓底燒瓶內並加25% 硫酸100毫升。
2. 先按上冷却器，然後將燒瓶連同其內容物放在沸騰的水浴上加熱1—2小時，燒瓶的內容物必須隨時攪拌之。
3. 移燒瓶及其內容物在直火上 (可用石綿網) 繼續水解14—15小時至雙縮脲反應現陰性為止。
4. 在確定雙縮脲反應呈陰性後水解尚須繼續加熱 1 小時然後停止，並將燒瓶冷却之。
5. 將所得的水解物注入於500毫升的燒杯中，並用獸碳末脫色，即向水解物內加獸碳末後煮沸5—10分鐘，通過多摺濾紙濾於錐形瓶中。
6. 更將濾液移到另一玻璃杯中加石灰乳中和至對石蕊試紙呈弱鹼性反應為止。此時除中和之外並能使大部分的硫酸變成難溶於水的硫酸鈣而被消除。
7. 向所得到的物質添加少量的熱水並濾過於錐形瓶中。
8. 用少量熱水洗滌濾紙上的沉澱，洗液一并加入濾液中。
9. 將所得濾液再移到玻璃杯中並以石蕊試紙為指示劑加10% 醋酸液正確中和之。
10. 將玻璃杯內容物放在水浴上蒸發濃縮至液體表面出現結晶膜為止。
11. 將液體冷却濾出結晶，再蒸發濾液，冷却後濾過分離，所得到的結晶具有特殊的絲樣外觀即酪氨酸的結晶，如染有黃色時可將其溶於熱水中加獸碳末煮沸，並將溶液趁熱濾過之。由於冷却濾液則析出更純的酪氨酸結晶。
12. 置1—2個酪氨酸結晶於試管中，加水溶解用其溶液作米倫 (Millon) 氏反應則出現紅色。
13. 用顯微鏡觀察所得到的酪氨酸結晶，在顯微鏡下呈針狀及束狀或薔薇花狀的結晶 (圖2)。

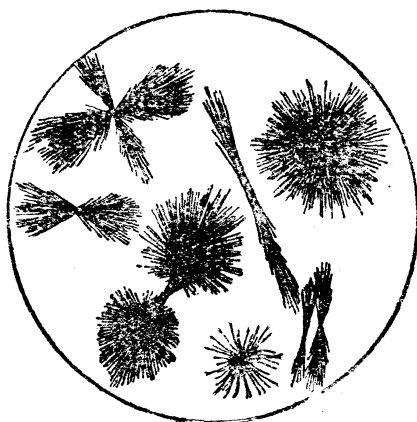
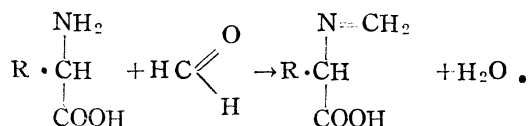


圖 2

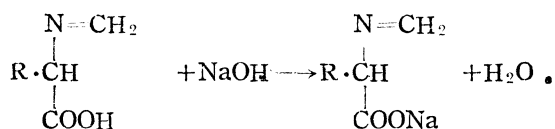
Sørensen 氏甲醛滴定法

氨基酸因含鹼性的氨基同時又含酸性的羧基故在水溶液中呈中性反應^①。根據此種事實認為氨基酸的氨基和羧基可以互相中和。

因此氨基酸的水溶液具有分子內鹽的性質。從而直接用鹼滴定氨基酸的羧基是不可能的。當甲醛與氨基酸互相作用時，氨基和甲醛反應形成 Schiff 氏鹽基即氨基酸亞甲基衍生物，此時氨基則失去其鹼性：



而亞甲基氨基酸的羧基則保持不變在此種情況下能用鹼滴定。



此時羧基的可滴定量相當於和甲醛結合的氨基量。如此滴定的結果即可表明氨基的含量。根據氨基酸和甲醛有此種互相作用的性質並用鹼滴定其羧基。這便是 Sørensen 氏游離氨基定量的原理。

按此法滴定亞甲基氨基酸時，其當量點在 pH=9.0—9.5。因此在滴定時指示劑最好利用麝香草酚酞，其變色點正在此 pH 範圍內。假如此時用酚酞為指示劑時則必須滴定到鮮紅色 (pH=9.1)。

測定游離氨基可以檢驗蛋白質的水解程度，因為假令蛋白質水解在開始時游離氨基的量並不多，則可隨同蛋白質分解的進展而氨基將因肽鏈水解而陸續游離 (增生)。直至水解產物中的氨基與羧基不再增加時即為該蛋白質水解的終點。

甲醛滴定法固屬相當簡單，但應注意用此法所得之值却不能完全正確地代表氨基氮的含量，因脯氨酸與甲醛作用時產生不穩定的化合物，因此測定的結果略低。相反，酪氨酸由於其含有酚基又能使其結果升高。

為了掌握這一方法最好是使用事先製備好的接近於 0.1N 的氨基酸液 (例如 0.75% 甘氨酸液)。

器材：1. 小錐形瓶。

① 在氨基酸的氨基佔優勢時，則反應將呈弱鹼性 (如賴氨酸)，但當羧基佔優勢時，則呈弱酸性 (如穀氨酸)。

2. 吸量管。

- 試劑： 1. 含氨基氮約 0.1N 的氨基酸液。溶液應對石蕊試紙呈中性。
 2. 0.2N 苛性鈉液或 0.2N 氫氧化鋇液（均不應含有碳酸鹽）。
 3. 0.2N 鹽酸液。
 4. 甲醛混合液（製法：見本書第 143 頁第 6 項）。

操作^①：

1. 在小燒瓶內加入先煮沸而後冷卻的蒸餾水 20 毫升及含有指示劑的甲醛混合液 10 毫升，此燒瓶的內容物為對照液即為與檢液比較之用。

2. 在另一個同樣燒瓶內加入準備好的約含氨基 0.1N 的氨基酸溶液 20 毫升，再加甲醛混合液 10 毫升。

3. 用 0.2N 鹼液滴定內容物到鮮紅色。

4. 向裝有對照液燒瓶內添加約半量滴定檢液用的 0.2N 鹼液。

5. 向對照液內加 0.2N 鹽酸到淺紅色 (pH=8.3)，以後滴加 0.2N 鹼液至呈明顯的紅色 (pH=8.8)；最後向對照液內再加兩滴鹼液至呈鮮紅色 (pH=9.1) 為止。其次向檢液內滴加 0.2N 鹽酸至弱淺紅色。再加 0.2N 鹼液到與對照液^② 呈一致的鮮紅色為止。

6. 計算氨基氮的含量。為此，從滴定檢液所消耗的鹼液毫升數（減去添加的鹽酸容量）中減出滴定對照液所消耗的鹼液毫升數（同樣減去添加的鹽酸容量）而 0.2N 的鹼液 1 毫升又相當於 2.8 毫克的氮，所以用 2.8 乘上所消耗的鹼液的毫升數即求出檢液中氨基氮含量的毫克數。

茲用具體實例說明上述過程如下：

檢 液	
添加量：	0.2N—NaOH 液 4.00 毫升
—	0.2N—HCl 液 0.75 毫升
	3.25 毫升 0.2N—NaOH 液
對 照 液	
添加量：	0.2N—NaOH 液 1.55 毫升
—	0.2N—HCl 液 1.35 毫升
	0.20 毫升 0.2N NaOH 液

① 在此實驗以及許多其它實驗，只有當並行實驗成績一致時才能得到正確的結果。因此進行定量常常用 2—3 個並行實驗，然後取其平均值。

② 有對照實驗才能獲得更正確的滴定結果。為了使檢液的容量與其對照液接近一致，因此在對照液中補加過剩的鹼液，並用酸液作逆滴定。向檢液內添加少量鹽酸並用鹼液作第二次滴定时，則可能更正確地滴定檢品至其與對照液呈同樣的顏色（一致的 pH）。

檢品消耗量	3.25毫升0.2N—NaOH 液
對照液消耗量—	0.20毫升0.2N—NaOH 液
實際消耗量：	3.05毫升0.2N—NaOH 液
	$3.05 \times 2.8 = 8.54$ 毫克氮

核 蛋 白 的 水 解

核蛋白是很重要的一種複合蛋白質。它組成細胞核的必要部分，但也含在細胞的胞漿中。凡富於細胞核的器官及組織均含有多量的核蛋白。特別富於核蛋白的有甲狀腺、胰腺、淋巴腺、脾及酵母等。

核蛋白是由單純蛋白質及核酸所組成。核蛋白成份中的蛋白質常是精蛋白和組蛋白以及某些在性質上尙未充分究明的其它蛋白質。核酸是由醣（戊醣或其衍生物）、磷酸及嘌呤塩基和嘧啶塩基所組成的。

若用5%硫酸煮沸核蛋白1—1 $\frac{1}{2}$ 小時，則起部分的分解，生成磷酸、單醣（核酸醣或去氧核酸醣）、嘌呤塩基，嘧啶塩基及蛋白質。

此時一部分蛋白質的分子也受到部分的水解。

器材：1. 燒瓶，及軟木塞，此塞裝有長玻璃管做逆流冷却用。

2. 試管及試管架。

3. 漏斗。

試劑：1. 酵母。

2. 5%硫酸液。

3. 10%苛性鈉液。

4. 1%硫酸銅液。

5. 15%氨液。

6. 10%硝酸液。

7. 鉬酸鉍液（製法：見本書第143頁第7項）。

8. 5%硝酸銀液。

操作：

1. 置5克酵母於燒瓶內並注入5%硫酸30—40毫升。

2. 燒瓶塞以有逆流冷凝器的軟木塞並注意煮沸燒瓶內容物1—1 $\frac{1}{2}$ 小時。

由核蛋白分離出單醣、磷酸、嘌呤塩基和嘧啶塩基。

3. 濾過的水解產物分置於三個試管（各2—3毫升）內。

4. 取盛有水解產物的試管之一用 Trommer 氏反應檢醣。

此反應乃基於醣的游離羰基有還原氫氧化銅的能力，爲此向試管內注入10% NaOH 液以中和水解產物，使成鹼性反應。而後滴加1% CuSO₄液至振盪時混濁不消失程度爲

止。更在試管內容物上層加熱到開始沸騰時，觀察其產生的黃色 CuOH 或紅色 Cu_2O 的沉澱。

5. 用盛有水解產物的第二個試管作磷酸檢出反應。

爲此向試管內加氨水至呈弱鹼性反應，其次加硝酸到弱酸性反應。最後加鉍酸鉍液約 1 毫升。加熱時如有磷酸存在則形成黃色的磷鉍酸鉍沉澱。

6. 在第三個試管中證明嘌呤鹽基。

向水解物中加濃氨水至呈鹼性反應，濾過並加 5 % 硝酸銀液約 1 毫升。少頃則生成褐色的嘌呤鹽基銀化物的沉澱。

酵 素 (酶)

酵素或酶是在生活細胞中所形成的生物接觸劑，在組織和體液中絕大多數的化學變化（如消化、組織呼吸）是在酵素的作用下進行的。

生活機能在某種程度內，可以說是由於機體內酶類的含量及其活動性來決定的。因此酶類的研究是生物化學的最重要問題。

很多酶類應用於工業各部門中（製造麵包、造酒、乾酪製造業等）^①。

酵素是屬於蛋白性質的物質，其多數含有非蛋白質的成分而形成複雜的蛋白質（脫氫酶、氧化酶及其它）。目前許多酶類已製成結晶狀態（胃蛋白酶、胰蛋白酶、尿素酶、過氧化氫酶、澱粉酶及其它）。

因為酶是蛋白質，所以在膠態下表現其高度的接觸作用。

酶的最重要特性：加熱時失去其活性（不活性化），依賴氫離子濃度而表現其活性，及其對作用物作用的特異性。

酶對其共存物質，如激動物（促進其作用）或抑制物（減低其作用）的關係是很重要的，並且常具有特異性。

關於酶的構造目前缺乏系統而合理的化學知識，因此酶類只可按其作用而分類。

酶的命名通常是在其作用的作用物或從其所促進的化學反應名稱之後綴以酶字（aza）。例如促進蛋白質分解的酶稱為蛋白酶，凡促進水解任何複雜物質的酶皆稱為水解酶。

澱 粉 的 水 解

作為酶類作用的實例及其某些特性的研究，通常採用唾液澱粉酶對澱粉的水解作用，因此應首先詳細討論澱粉的水解。

澱粉是最重要的醣類之一，並且大量的含在麵粉的製品，糧穀及馬鈴薯等食品中。

澱粉在消化道中被分解成葡萄糖，從小腸吸收到血液中。

在澱粉酶的作用下澱粉被水解成貳醣即麥芽糖。澱粉的分子水解時經過糊精階段漸分解。

① A. H. 歐帕林氏及其同事者詳細地研究了工業生物化學的問題。

澱粉，可溶性澱粉及接近於澱粉的糊精遇碘呈藍色；澱粉進一步的分解產物即糊精遇碘呈紅褐色；澱粉分解產物近於麥芽糖者及麥芽糖對碘不呈色。

爲了證明澱粉因酶而水解的作用，最好採用含有澱粉酶的唾液。唾液中除澱粉酶外尚含有少量的麥芽糖酶（分解麥芽糖成葡萄糖）。

如添加少量唾液於澱粉溶液中，則澱粉開始變成所謂可溶性澱粉，而後成糊精最後成麥芽糖。麥芽糖的一部分在麥芽糖酶的作用下按下列反應式分解爲葡萄糖：



下列事實可用以證明澱粉的水解：

1. 澱粉溶液因有膠態性質而呈乳樣光澤，但澱粉水解產物的溶液則無此乳樣光澤。
2. 澱粉溶液（不加熱的）遇碘（Lugol 氏試劑）成藍色，近於麥芽糖的分解產物溶液及麥芽糖和葡萄糖的溶液則不呈色。
3. 澱粉溶液由於其缺乏遊離的醛基而不現陽性的（Trommer 氏）反應。但近於麥芽糖的澱粉分解產物溶液或麥芽糖與葡萄糖的溶液，因有遊離的醛基而顯陽性的反應^①。
4. 澱粉溶液由於缺乏遊離的醛基對 Fehling 氏液不現陽性反應。但近於麥芽糖的分解產物溶液，麥芽糖和葡萄糖的溶液對 Fehling 氏液顯陽性反應^②。

這樣一來，可用碘化鉀碘溶液，Trommer 氏反應，Fehling 氏液來檢查澱粉是否完全水解。

加硫酸（無機的接觸劑）煮沸時，可使澱粉水解，其最終也使澱粉變成葡萄糖。

現將澱粉水解的兩種方法——用酶水解和硫酸水解方法比較一下，則可見到他們的特徵。

1. 在不太高的溫度（約40°），酶的反應進行地最好，但在極高的溫度（如下述）時，甚至能使酶的反應停止。
2. 無機的接觸劑的反應與此相反，通常都是隨着溫度之昇高而使反應加速。

① Trommer 氏反應的化學機理是基於具有遊離羰基的糖有還元氫氧化銅成氧化亞銅的能力，從氫氧化銅形成黃色 CuOH 的沉澱或紅色 Cu₂O 的沉澱是陽性的 Trommer 氏反應。

② Fehling 氏液反應的化學機理與 Trommer 氏反應相似，Fehling 氏液是由新沉澱的Cu(OH)₂和 (Seignette) 氏鹽（酒石酸鉀鈉）相互作用而得，當檢品與 Fehling 氏液加熱時不會形成妨礙反應的黑色 CuO。Fehling 氏液和葡萄糖（及許多其它糖）的反應，其經過極其複雜，但結局是葡萄糖的氧化及紅色 Cu₂O 沉澱的生成，糖對 Fehling 氏液顯陽性者對 Trommer 氏反應亦現陽性。

- 器材：
1. 試管及試管架。
 2. 玻璃漏斗。
 3. 玻璃棒。
 4. 玻璃板。
 5. 水浴。
 6. 溫度計。
 7. 玻璃杯。

- 試劑：
1. 稀釋的唾液：用蒸餾水漱口以清除食物殘渣，再喝一口蒸餾水並含1—2分鐘使其和唾液混合，令液體流入玻璃杯並濾入於試管中。
 2. 碘化鉀·碘溶液（Lugol 氏試劑）（製法見本書第143頁第8項）。
 3. 新製備的1%澱粉水溶液（以3% NaCl^①為溶媒）。
 4. 10%苛性鈉液。
 5. 10%硫酸液。
 6. 1%硫酸銅液。
 7. Fehling 氏液（製法見本書第143頁第9項）。

操作：

I. 澱粉的因酶水解：

1. 在下面敷以白紙的玻璃板上滴加一排碘液。
2. 取試管一支，加澱粉液約5毫升和蒸餾水3毫升（對照實驗）。
3. 取另一個試管，注入澱粉液約5毫升和稀釋的唾液約3毫升。
4. 振盪二個試管，置於37°水浴中並各放入一個玻璃棒。
5. 時時用玻璃棒從各個試管中取出一滴溶液，滴加在碘液的滴上。

最初從兩個試管取出的液滴將呈藍色，而後從裝澱粉酶的試管取出的液滴很快地和碘作用呈紅褐色，不久由裝唾液試管取出的液滴不再呈色（自然仍保有游離碘之微弱着色）。而取自對照管之液滴全過程皆呈藍色。

6. 在對照管（無唾液的）能看到乳樣光澤，在第二個管（有唾液的）缺乏此種光澤。

7. 取上二試管中內容物之各一部分，分別作 Trommer 氏反應。為此向1—2毫升的檢液中加10%鹼液1—2毫升和滴入稀硫酸銅液直到振盪時微弱的混濁不消失為止。其次在試管內容物上層加熱至沸騰，觀察是否形成黃色 CuOH 沉澱或紅色 Cu₂O 沉澱。對照管（無唾液的）將呈陰性反應，而第二管（含唾液的）則呈陽性反應。

8. 分別採取兩管內的部分內容物作 Fehling 氏反應。為此須向1—2毫升檢液中加 Fehling 氏液約1毫升，加熱，無唾液的澱粉溶液將呈陰性反應，有澱粉唾液的水解產

① 極稀薄的 NaCl 液能加速澱粉酶對澱粉的作用，故稱為激動物。

物溶液呈陽性反應，即形成紅色的氧化亞銅沉澱。

II. 澱粉的酸水解：

1. 取小燒杯加澱粉液約15毫升（注意觀察溶液的乳樣光澤）並加10%硫酸約5毫升。
2. 將液體煮沸10分鐘，隨同煮沸添加蒸餾水。
3. 使燒杯的內容物冷卻（注意觀察液體乳樣光澤的消失），並用10%鹼液將其中和。
4. 取一部分中和的水解產物，分別作 Trommer 氏反應及 Fehling 氏液反應，兩反應將均呈陽性。

溫度對酶活性的影響

酶的反應在低溫時進行很慢，其反應速度一般是隨着溫度的升高而增加，當達到最適溫度後，溫度的上昇便引起酶的活性降低，因之其反應速度亦隨之下降。如當溶液的溫度還在50—60°C時，酶往往表現出由於溫度而不活性化。大多數酶的至適溫度約在37—50°C

由於酶的存在狀態不同，其對溫度的穩定性亦不一致。如有些酶的乾燥製劑雖經熱到100°C時其活性並無明顯的損失，但在100°C溶液中此酶却完全失去其接觸作用的活性。

低溫並不能失去酶的活性。一般來說它僅能延緩或停止酶的作用。

以唾液酶對澱粉的作用，和凝乳酶^①對牛乳作用為例，則易看出溫度對酶活性的影響。

- 器材：
1. 試管及試管架。
 2. 玻璃漏斗。
 3. 水浴。
 4. 溫度計。

- 試劑：
1. 碘化鉀·碘溶液（製法見本書第143頁第8項）。
 2. 新製備的1%澱粉水溶液（以0.3% NaCl液為溶媒）。
 3. 10%苛性鈉液。
 4. 1%硫酸銅液。
 5. Fehling 氏液（製法：見本書第143頁第9項）。
 6. 稀釋的唾液。
 7. 凝乳酶製劑的稀薄液。

① 凝乳酶的製劑，可用乾燥的小牛胃提取之。

8. 燒杯內盛冰塊或雪。

9. 冷的生牛乳。

操作：

I. 溫度對唾液酶活性的影響：

1. 取兩支試管各加澱粉液約 5 毫升，其中之一添加預先仔細煮沸的稀釋唾液約 1 毫升，在另一試管添加未煮沸的稀釋唾液約 1 毫升。

2. 混合後置二試管於 37° 水浴中 10 分鐘。

3. 用碘液，Trommer 氏反應和 Fehling 氏反應來鑑證澱粉在煮沸的唾液管內並未水解，但在未煮沸的唾液管中則發生水解。

II. 溫度對於凝乳酶製劑活性的影響：

1. 取三支試管記上號碼，並向各管加入凝乳酶之稀薄溶液約 1 毫升。

2. 充分煮沸一管之內容物（試管第一號），以後將三管全置於冷水中。

3. 每管各加入未經煮沸的涼牛乳約 5 毫升混合，並迅速移一管（第二號）於冰水中，移其餘二管（其中包括有已煮沸過的酶之試管）於 37°C 水浴中。

4. 可以看到在未經煮沸過的試管（第三號）中牛乳迅速凝固，而已經煮沸過之試管（第一號）中牛乳不凝固。

可以確信置於冰水中的第二號試管其酶並未被破壞，只不過在低溫影響下停止其作用。因為將該管由冰水中取出觀察時牛乳並未凝固，此後將該試管置於 37° 水浴中，則發現在此種情況下牛乳迅速凝固。

酶的特異性

酶類具有特殊作用，亦即每一種酶只作用於一種或一組相似之物質，例如澱粉酶能水解澱粉，而脂肪酶則水解脂肪。雖然兩者都是水解過程，但脂肪酶不能代替澱粉酶並相反亦然。

在上述情況下，酶的特異性僅限於一定組的物質。但其更高級的特異性，則是酶只分解其某一光學異構體，而對其餘者無作用（指另一異構物——譯者）。

酶對於作用物作用的特異性，在於該作用物之構造與一定的化學基團。

以澱粉及蔗糖為其作用物，取唾液的酶（含澱粉酶及麥芽糖酶）及蔗糖酶作為研究酶類特性的對象是很合適的。

如前所見，澱粉受唾液酶之作用很容易水解為麥芽糖及一部份葡萄糖。由於它們有自由之醛基對 Trommer 氏及 Fehling 氏試藥呈陽性反應，而蔗糖在同樣情況下則不被水解。這一事實可用下述方法確證之。

蔗糖的分子是由葡萄糖與果糖的不完全分子所構成的，在上述酶類作用之前，蔗糖對 Trommer 氏及 Fehling 氏液並不呈陽性反應，亦即蔗糖無自由的醛基或酮基，唾液的

酶作用於蔗糖後，仍呈陰性反應者，乃在此條件下並未產生醛基或酮基，換言之，即蔗糖在澱粉酶及麥芽糖酶之影響下並不能分解成葡萄糖及果糖。

假若以蔗糖酶（轉化酶）代替唾液酶，則出現另種現象，此時澱粉却不被水解，並在蔗糖酶作用之後，對 Trommer 氏及 Fehling 氏溶液依然保持陰性反應。相反蔗糖受轉化酶的作用，則分解為葡萄糖（帶有醛基）及果糖（帶有酮基），且此水解產物對 Trommer 氏及 Fehling 氏液則均呈陽性反應。

- 器材：
1. 試管及試管架。
 2. 玻璃漏斗。
 3. 水浴。
 4. 溫度計。

- 試劑：
1. 2% 蔗糖液。
 2. 新溶製的 1% 澱粉液（其中含有 0.3% 氯化鈉）。
 3. 稀釋之唾液。
 4. 蔗糖酶溶液（製法：見本書第 143 頁第 10 項）。
 5. 10% 氫氧化鈉液。
 6. 1% 硫酸銅液。
 7. Fehling 氏試液（製法：見本書第 143 頁第 9 項）。

操作：

I. 澱粉酶之特異性：

1. 用 Trommer 氏及 Fehling 氏試液反應鑑定原有的蔗糖液，如果蔗糖製劑很純淨則呈陰性反應。
2. 在一個試管中加入澱粉液約 5 毫升，而在另一試管中加蔗糖液約 5 毫升。
3. 向兩個試管中各加稀釋的唾液約 1 毫升，並混合各管內容物，再置於 37°C 的水浴中。
4. 經 10 分鐘後，用 Trommer 氏及 Fehling 氏試液反應檢查兩管的內容物，並可證實澱粉之水解（陽性反應）及蔗糖的未水解（陰性反應）。

II. 蔗糖酶的特異性：

1. 向一乾淨試管中加澱粉液約 5 毫升，另一試管加同量蔗糖液。
2. 兩管各加蔗糖酶液約 1 毫升，混合後置於 37°C 水浴中十分鐘。
3. 用 Trommer 氏及 Fehling 氏試液反應檢查兩管內容物，並可證實澱粉未水解（陰性反應）及蔗糖之水解（陽性反應）。

pH 對酶的作用之影響

酶在它所作用的環境中對其酸度的改變非常敏感。如胃蛋白酶只在酸性環境中水解蛋白質。相反胰蛋白酶只在弱鹼性環境中才能起水解作用。

因此可以認為每一種酶具有其一定而合適的氫離子濃度，在此時酶最有活性。倘其環境由至適 pH 向任何方面變動時，都將引起酶的活性降低。

pH 對酶作用的影響，可通過唾液澱粉酶對澱粉的作用而說明之。唾液澱粉酶的活性在近於中性 (pH=6.8) 時最大，而當鹼性及酸性時則被抑制。

器材：1. 10毫升吸量管（1毫升分度者）。

2. 兩個1毫升吸量管。

3. 試管及試管架。

4. 滴定管。

5. 水浴。

6. 溫度計。

7. 小燒瓶。

試劑：1. 0.2% 鹽酸液。

2. 1% 碳酸鈉液。

3. 新製的1% 澱粉液。

4. 新製的0.5% 澱粉液（其中含有0.3% 氯化鈉）。

5. 用蒸餾水稀釋到10倍的新鮮唾液。

6. 新鮮唾液（用蒸餾水稀釋到250倍的）。

7. 碘化鉀·碘溶液（製法：見本書第143頁第8項）。

8. 0.2M 磷酸氫二鈉液。

9. 0.1M 檸檬酸液。

操作：

I. pH 對於澱粉酶的影響可由下述試驗說明：

1. 用吸量管向8個附有號碼的試管各加蒸餾水1毫升。

2. 用吸量管向第一管加0.2% 鹽酸1毫升。

3. 用吸量管將第一試管內液體按吸取並吹出方法混合三次，然後移1毫升於第二管中。

4. 以同樣方式由第二試管取1毫升放入第三管，如此類推，直至由第八管取1毫升作為剩餘部份傾棄之，如此在八個試管中，各得到不同濃度的鹽酸稀釋液。

5. 由滴定管向各試管放入1% 澱粉液2毫升，並用吸量管各注加稀釋到10倍的新鮮唾液1毫升。

6. 振盪混勻各試管之內容物再放在37°C水浴上^①。
7. 經過15分鐘由水浴中取出試管，在冷水中冷卻，向各試管加幾滴碘液並混勻其內容物。

8. 測定澱粉在何種濃度的酸性液中發生分解。

以1%的碳酸鈉液代替0.2%鹽酸液進行類似的實驗。

II. pH 對於澱粉酶的影響，可由下述實驗更明顯地證實：

1. 取8個有號碼的燒瓶，並由滴定管按下述比例添加0.2M 磷酸鈉液和0.1M 檸檬酸液，以製備一系列的緩衝液。

燒瓶號碼	0.2M 磷酸氫二鈉 (毫升)	0.1M 檸檬酸液 (毫升)	pH
1	5.15	4.85	5.0
2	6.05	3.95	5.8
3	6.61	3.39	6.2
4	7.28	2.72	6.6
5	7.72	2.28	6.8
6	8.24	1.76	7.0
7	9.08	0.92	7.4
8	9.72	0.28	8.0

2. 其次由八個帶號碼燒瓶中，各取相對應的緩衝液2.5毫升（燒瓶與試管的號碼應彼此一致），另取0.5%澱粉液5毫升（以0.3%氯化鈉溶解的），及稀釋250倍的唾液2.5毫升，各注入8個附有號碼的試管中。各試管加唾液時，應由第一管開始，間隔同等時間（半分鐘）。各試管之內容物在加入唾液之後，仔細地混勻並靜置15—20分鐘。

3. 經15—20分鐘後，每隔一分鐘都由第五管中取出少量（幾滴）試料，注於盛有1—2滴碘液之各試管中。通常在最初呈藍色，以後是紫、紫紅及紅褐色。

4. 在第五管內容物剛顯出有紅褐色時，經過1—2分鐘，向所有帶號碼試管添加少許碘液，並攪拌之。由第一管開始並經同一間隔的時間（半分鐘）添加碘液。

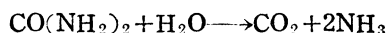
根據所獲得的顏色，可以斷定澱粉分解之程度乃依 pH 而定，其結果呈淺黃色者，為其至適 pH，經同樣時間在酶作用於澱粉後而有紅褐色結果者，其 pH 對於澱粉酶的作用是比較不利的。紫紅，紫及最終之藍色能說明澱粉分解之程度，並說明 pH 對於澱粉酶作用的影響。

① 在這種情況以及其他許多實驗中，最好用固定之金屬試管架的水浴，其試管孔附有號碼。

生物體中某些酶的定性反應

I. 尿 素 酶：

尿素酶是水解尿素之酶，其反應式如：



尿素酶含在某些細菌中，大豆中存在更多。

將尿液放置時，含有尿素酶的細菌則在其中繁殖，由於尿素酶的作用，尿中的尿素開始分離出氨，而尿液成爲鹼性（尿的生氮醱酵作用）。

大豆中的尿素酶，可用爲尿中尿素的定量。爲此，須將由尿素形成的氨吸收於一定容積的標準酸液內。因兩分子氨相當於一分子尿素，則從其所遊離的氨量可以確定被檢尿液中尿素的含量。

尿素酶是很穩定的酶，並在相當廣泛的 pH 範圍內有活性，其作用的至適 pH 近於中性。

器材：試管及試管架。

試劑：1. 尿或 2% 尿素水溶液。

2. 大豆粉。

3. 酚酞。

操作：

1. 加尿液（或尿素水溶液）約 5 毫升於試管內，並攪拌添加大豆粉約 1 克。

2. 數分鐘後觀察氨的形成（可在室溫條件下）。可聞其氣味或由添加幾滴酚酞液於試管中時其內容物呈紅色而確認之。

II. 氧 化 酶：

氧化酶是用自由分子氧促進基質氧化的酶。

其中最典型的氧化酶，是酪氨酸酶。由於此酶進一步的氧化作用，使酪氨酸變成與皮膚，毛髮等天然色素（黑色素）相近的暗色物質。

酪氨酸及其他酚類的衍生物，受酪氨酸酶的作用後成爲類黑色素樣物質的變化是經由三個步驟：

1. 氧化形成紅色色素。

2. 前項色素的脫色。

3. 所形成的物質被空氣中氧氧化成類黑色素樣物質。

第一階段的變化需要酶的存在；第二及第三階段不需要酶，因爲是非酶性的過程。

酪氨酸酶含在新鮮蘑菇、馬鈴薯（馬鈴薯根莖的外層）、糖蘿蔔、穀物及其他物質中。

酪氨酸酶作用的至適條件，是在弱鹼性反應中。

用氧化酶可以氧化癩創木脂中的癩創木酸成偶氮化物，同時呈現藍色。

器材： 1. 試管及試管架。

2. 乳鉢及杵。

3. 小刀。

4. 玻璃漏斗。

5. 水浴。

6. 溫度計。

試劑： 1. 生馬鈴薯。

2. 煮熟的馬鈴薯。

3. 用0.01N碳酸鈉溶解的酪氨酸液（製法：見本書第143頁第11項）。

4. 癩創木脂酒精溶液（製法：見本書第143頁第12項）。

操作：

(I) 1. 用小刀剝去生馬鈴薯的皮，並將表層根莖切成小塊，放入磁乳鉢中。

2. 向乳鉢中添加蒸餾水約10毫升，並用杵將馬鈴薯研碎。

3. 濾過乳鉢中的內容物。

4. 取約3毫升酪氨酸溶液倒於試管中，加馬鈴薯（水浸劑）之濾液1—2毫升，振盪並置於35°—40°之水浴中。

5. 爲使空氣中氧充分與溶液接觸，亦即爲了能獲得類黑色素樣物質，時時振盪試管。在此實驗條件下，試管內容物漸漸經過薔薇紅、褐色，最後（約經1—2小時）變成黑色。

(II) 1. 在生馬鈴薯切片上加幾滴癩創木脂溶液，則出現藍色，在根莖切片的邊緣接近表層處，出現更顯著的藍色。

2. 在熟馬鈴薯切片上加幾滴癩創木脂溶液並不出現藍色，這是由於熟馬鈴薯的氧化酶也與其他酶相同，當煮沸時由加熱而失活性的緣故。

III. 過 氧 化 酶：

過氧化酶是依靠氧，過氧化氫或其它過氧化物而引起許多物質氧化的酶，過氧化酶含在植物及動物體內。

過氧化酶（存在）的反應：1) 氧化溶解於水中之焦性沒食子酸 $[C_6H_3(OH)_3]$ 成爲不溶於水而沉澱的焦沒食橙 $[C_{11}H_8O_5]$ 。2) 氧化癩創木脂中的癩創木酸成爲藍色癩創木酸的臭氧化物。

器材： 1. 試管及試管架。

2. 1 毫升及 2 毫升吸量管。

試劑： 1. 1 % 焦性沒食子酸水溶液。

2. 2 % 過氧化氫溶液。

3. 辣根提出物（製法：見本書第143頁第13項）。

4. 癩創木脂酒精溶液（製法：見本書第143頁第12項）。

操作：

(I) 1. 加辣根提出物約 5 毫升於試管中，煮沸試管內容物 2—3 分鐘後冷卻之。

2. 取四個乾淨的附以號碼的試管，各加 1% 焦性沒食子酸水溶液 3 毫升。

3. 第一試管加 2% 過氧化氫 2 滴及蒸餾水 2 毫升，第二試管加未煮沸的辣根提出物 2 毫升。第三試管加 2% 過氧化氫 2 滴及未煮沸的辣根提出物 2 毫升。第四試管加 2% 過氧化氫 2 滴及事先煮沸過的辣根提出物 2 毫升。

4. 攪拌並觀察其色的改變與沉澱的出現，用以作為過氧化酶作用的判定標準。

(II) 1. 加癩創木脂溶液及過氧化氫液各約 0.5 毫升於試管中，再加幾滴辣根提出物則出現藍色。

2. 用煮過的辣根提出物重覆此試驗，其反應將為陰性，亦即不出現藍色，此時的過氧化酶因煮沸而失活性。

Ⅲ. 脫 氫 酶：

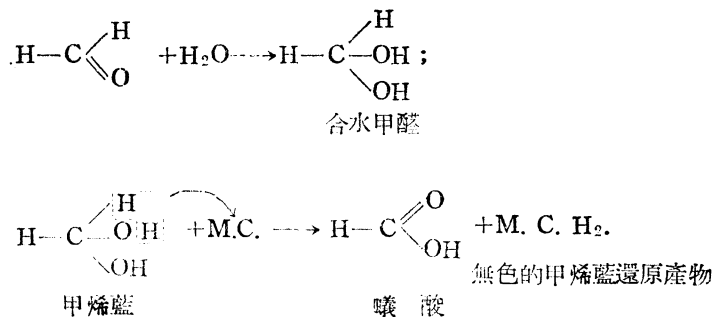
以脫氫的方式而促進各種物質氧化的酶，稱為脫氫酶。其過程名為脫氫，故其酶亦從此而得名。

在脫氫酶的作用下，物質的氧化並不需氧氣參與（無氧氧化）即能進行，所脫下之氫則傳遞給其它物質，此種物質即所謂受氫體^①。

脫氫酶的作用，可由存在於乳中的所謂 Schardinger 酶以及肌肉琥珀酸脫氫酶兩例看出。

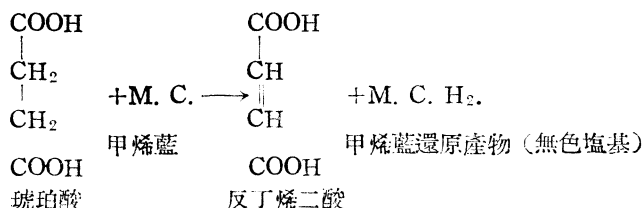
若取甲醛作為氧化的底質，取甲烯藍作為受氫體，將此二者加於牛乳中，並熱至 70°C 則藍色速迅消失。以上反應之所以進行，是因為乳的脫氫酶脫去甲醛上的氫轉交給甲烯藍，因而使前者氧化而後者則被還原為無色〔無色鹽基 (Лейкооснование)〕。

此時所進行的反應可圖示如下：



^① 因脫氫而進行的生物氧化過程，已被 E. И. Паллади 氏所發現。

琥珀酸脫氫酶將琥珀酸脫氫並同時氧化其為反丁烯二酸。因此當琥珀酸脫氫酶、琥珀酸及甲烯藍同時存在時，則發生甲烯藍的還原反應（脫色反應）。



器材： 1. 試管及試管架。

2. 水浴。

3. 溫度計。

試劑： 1. 新鮮牛乳。

2. 肌肉糜的生理塩水溶液。（取家兔或其他實驗動物的肌肉100克，用絞肉器絞碎並放在紗布中用水洗淨。反復壓榨後用生理溶液浸之）。

3. 1.4% 甲醛水溶液。

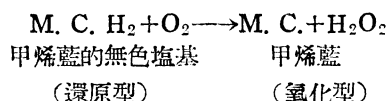
4. 0.02% 甲烯藍水溶液。

5. 3% 琥珀酸水溶液（係用10% 苛性鈉中和至對石蕊紙呈弱鹼性反應者）。

操作：

(I) 1. 取兩個帶號碼的試管，各加牛乳約5毫升。煮沸第二管並冷却之。兩試管各加甲醛約1毫升及甲烯藍液4滴，振盪並置於70°水浴中，經少頃觀察第一試管甲烯藍的脫色，而第二試管未脫色。

2. 第一試管脫色後用力振盪之，則又出現藍色，這是由於甲烯藍的氫被空氣中的氧奪去致使甲烯藍的無色塩基氧化的緣故。



如果將試管重新放入水浴中則甲烯藍又行脫色。此種操作可重復多次。在此情況下，甲烯藍是氫的傳遞者，因而少量甲烯藍可氧化多量的甲醛。

(II) 1. 取兩個帶號碼的試管各加肌肉糜3—4毫升。

2. 第一試管加琥珀酸溶液約0.5毫升（係用苛性鈉中和成弱鹼性反應者）。

3. 兩試管各加2滴甲烯藍液，振盪並置於37°C水浴中，經少頃後觀察第一管甲烯藍脫色及第二管未脫色。

肌肉脫氫酶的定量

測定酶的活性度，通常或記錄轉化一定量作用物所需的時間，或確定在一定時間內被酶所轉化的作用物的量。

脫氫酶的定量是以上述甲烯藍脫色反應為基礎的。在無氧狀態下其脫色速度是脫氫酶活性的尺度，並根據所添加的作用物（琥珀酸、甘油磷酸等），以測定各種固有脫氫酶的活性。

此處所引用的脫氫酶定量法，是不需要真空設備及唧筒的。

器材：1. 試管及試管架。

2. 水浴。

3. 溫度計。

4. 吸量管。

5. 燒杯（內盛冰塊）。

試劑：1. 0.01% 甲烯藍溶液。

2. 0.02M 琥珀酸液（中和到對石蕊呈中性）。

3. 0.02M 甘油磷酸鈉液（中和到對石蕊呈中性）。

4. 2% 瓊脂（洋粉）液（用0.5% K_2HPO_4 液溶解並中和到 pH=7）在使用之前煮沸溶解並冷卻到45°。

5. 肌肉糜（製法：見第39頁）。

操作：

1. 加一部份肌肉糜（約5毫升）於試管中，在沸騰水浴上煮10—15分鐘。

2. 兩試管（第一及第二號）各添加琥珀酸溶液0.5毫升，但第三管加甘油磷酸液0.5毫升。

3. 各試管加甲烯藍液1毫升及瓊脂液2毫升。

4. 第一及第三管各加肌肉糜3毫升，第二管加事先煮沸的肌肉糜3毫升。

5. 混合各管中的內容物並在冰中冷卻至成膠凍狀（1—2分鐘）。

6. 將三試管同時放入37°水浴中並記錄甲烯藍脫色的時間。

第一試管脫色速度最快，因為琥珀酸脫氫酶在此種條件下最富活性。第三試管的脫色需時間較長，而第二管，因琥珀酸脫氫酶因受熱而破壞，故完全不脫色。

脫色首先由試管下部開始，在瓊脂的表面，由於空氣中氧的擴散作用而生一藍色帶（2—3毫米）與其下方脫色部份恰成對照。

※Метт 氏蛋白酶定量法

蛋白酶的活性可用測量蛋白質分解產物濃度增加的方法測定之（按所游離之氨基或羧基）。

但這種方法需要很多的時間，精力及特殊裝置。

С. Г. Метт 氏（在巴甫洛夫實驗室）曾研究出用簡單的方法測定蛋白酶的活性，該法主要是測定消化液的消化能力。

Метт 氏的方法在臨床上完全適用。

測定的原理是測定玻璃管中凝固卵白的溶解（消化）量。

- 器材：
1. 50—100毫升的燒杯兩個。
 2. 保溫箱。
 3. 溫度計。
 4. 縮尺（帶有毫米刻度者）。
 5. 擴大鏡。

試劑：

1. 盛有凝固卵白的 Метт 氏管（製法：見本書第 144 頁第14項）。
2. 胃液或0.1%胃蛋白酶液（溶解於0.2%盐酸中者）（製法：見本書第144頁第15項）。

操作：

1. 加胃液或胃蛋白酶液約25毫升於一燒杯中，在另一燒杯中加預先稀釋4倍的胃液或胃蛋白酶液約25毫升。

2. 每個燒杯中放入長約2厘米的 Метт 氏管1—2個，將燒杯置於37°C保溫箱中2—4晝夜（至下一次課）。

3. 在下次課中取出 Метт 氏管用水洗滌並用擴大鏡以縮尺鏡量取蛋白柱的溶解（消化）長度（以毫米為單位），取各液平均值。

根據 Борисов 法則蛋白消化的長度與胃蛋白酶量之平方根成正比。因此，在此實驗中，稀釋4倍的胃液或胃蛋白酶液中消化的蛋白柱之長度應比未稀釋者少一半。

唾液及尿液中澱粉酶活性的測定

測定唾液及尿液中澱粉酶的活性度是基於測定作用物（澱粉）在一定時間內（例如30分鐘）被1毫升的唾液或尿液所分解的量。

測定唾液澱粉酶的活性同時也能說明致活物質與抑制物質對酶的影響。例如稀釋的食鹽溶液能加速唾液澱粉酶對澱粉的作用，相反硫酸銅溶液強烈的延緩唾液澱粉酶的作用。

澱粉酶的定量亦用於臨床的實際工作中。正常人的尿中含很少量的由胰腺所分泌的澱粉酶，尿中澱粉酶的含量在胰腺炎、膽道疾病及其他疾病時升高。當腎功能不全時，尿中澱粉酶減少。因此，測定尿中澱粉酶的含量能有診斷的價值。

- 器材：
1. 試管及試管架。
 2. 滴定管兩支。
 3. 1 毫升吸量管。
 4. 水浴。
 5. 溫度計。

- 試劑：
1. 新鮮唾液（稀釋10倍且濾過者）。
 2. 0.1%澱粉液（新製不含氯化鈉者）。
 3. 碘化鉀、碘溶液（製法：見本書第143頁第8項）。
 4. 1%及0.85%氯化鈉液。
 5. 1%硫酸銅液。

操作：

I. 測定唾液澱粉酶的活性：

1. 取10個帶號碼的試管，各由滴定管加入蒸餾水 1 毫升。
2. 第一試管加入稀釋10倍的唾液 1 毫升（用吸量管）。
3. 混合第一管的內容物即由吸量管抽吸試管中的液體再吹出之，如此反覆三次之後，取混完溶液 1 毫升移入第二管中。
4. 用同樣的方式再混合第二管中的內容物，取混完的內容物 1 毫升放入第三管。依此類推之。從第十管取出過剩液 1 毫升傾棄之，結局獲得酶的各種稀釋液：每一管含酶量比前一管少一半。
5. 再向10個試管各加蒸餾水 1 毫升。
6. 其次由滴定管向10支試管（開始向第10，其次向第9，……）各加入0.1%澱粉液 2 毫升，並混合各管之內容物。
7. 將10支試管同時放入加溫到37°的水浴上。
8. 經過30分鐘從水浴中取出各管迅速用冷水流冷卻之，混合每一試管的內容物，並按順序靜置於試管架上。
9. 各試管加 2 滴碘液混合，並觀察各管由黃到藍的色序，黃色證明無澱粉的存在，淺紅色證明有其水解之中間產物，即各種糊精的存在，藍色證明澱粉或其初期水解產物的存在。
10. 根據以下所述，計算被檢唾液中澱粉酶的活性。試管中液體仍為藍色時，乃應被分解的澱粉未發生水解，很顯然澱粉的充分水解是發生在沒有藍色的試管中。假設無色的管為第五試管（在第六管已有藍的色調），在第五管內的唾液相當未被稀釋的唾液 $\frac{1}{320}$ 毫升，由此即可寫出下式：

$\frac{1}{320}$ 毫升唾液水解 0.1% 澱粉 2 毫升
 1 毫升唾液水解 0.1% 澱粉 X 毫升,

$$\text{即 } X = \frac{2 \times 1}{\frac{1}{320}} = 640$$

因而未稀釋的唾液 1 毫升在 37°C 30 分鐘內能水解 0.1% 澱粉液 640 毫升。以上結果可用下式表示之：

$$d(\text{澱粉酶}) \frac{37^\circ}{30'} = 640 \text{ 單位 (係指此例而言)}。$$

爲了闡明當澱粉酶水解澱粉時，氯化鈉的致活及硫酸銅的抑制作用，可進行下述實驗。

用同一稀釋倍數的唾液做三組定量：1. 按前述。2. 用 1% 氯化鈉 1 毫升代替蒸餾水 1 毫升（前第 5 項）。3. 用 1% 硫酸銅 1 毫升代替蒸餾水 1 毫升（前第 5 項）。

比較以上三管測定的結果，可以發現澱粉酶活性之區別。

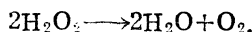
II. 尿液中澱粉酶活性的測定：

取 10 個帶號碼的試管各加蒸餾水 1 毫升。其次第一管加檢尿 1 毫升混合之，並移其混合液 1 毫升於第二管如此進行。至由第十管傾棄混合液 1 毫升。這樣一來，就可獲得尿的等比級數稀釋液。以後各管加生理鹽液（0.85% 食鹽液）1 毫升及 0.1% 澱粉液 2 毫升振盪，並放置各管於恰爲 45°C 水浴中 15 分鐘。其次的操作及計算與唾液實驗同（由前第 8 項起）。

健康人的尿液通常在： $d \frac{45^\circ}{15'}$ 時其平均值爲 16—64 單位。

* Бах 及 Зубковья 氏血液過氧化氫酶的定量

過氧化氫酶是分解過氧化氫的酶。反應式如下：



過氧化氫酶是一種分佈極爲廣泛的酶，在所有動物機體及組織中都或多或少的存在。

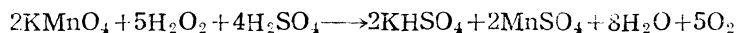
人及動物的紅血球中含有多量的過氧化氫酶。

組織或液體中過氧化氫酶的含量，可藉測定過氧化氫酶分解過氧化氫的量或測定在此反應中所產生之氧量的方法進行測定。

血中過氧化氫酶的定量，就是測定所謂「過氧化氫酶數」及「過氧化氫酶指數」。

1 微升 (μl) (1 微升等於 0.01 毫升) 被檢血所分解的過氧化氫毫克數稱爲過氧化

氫酶數，過氧化氫酶數的定量原理基於下列反應：



即按過氧化氫酶作用之前後，在滴定時所消耗之 KMnO_4 量之差以判定過氧化氫的分解量。

所謂過氧化氫酶指數，乃是以其過氧化氫酶數為分子而以 1 微升檢血中所含紅血球的百萬數為分母的分數。

應瞭解過氧化氫酶指數，並非過氧化氫酶數。因為血中的過氧化氫酶幾乎祇含於紅血球中，並不含有血紅蛋白中，而是在其基質中。

以下所述是關於過氧化氫酶數的測定。紅血球數目的測定可參閱生理學實習^①。

- 器材：
1. 100毫升量瓶。
 2. 小錐形燒瓶四個。
 3. 0.1毫升微量滴定管。
 4. 分度 1 毫升的 10 毫升吸量管。
 5. 1 及 2 毫升吸量管。
 6. Francke 氏針。
 7. 棉花。
 8. 紗布。
 9. 滴定管。

- 試劑：
1. 1% 過氧化氫液。
 2. 10% 硫酸液。
 3. 0.1N 高錳酸鈣液（做酸性滴定用）。
 4. 乙醇。
 5. 乙醚。

利用 Francke 氏針採血最方便，刺針應以酒精洗淨，並以乙醚乾燥（慎勿點火！）。不拘人血或動物血皆可供實驗，在所述情況時可由左手無名指取血，為此該指須用無菌蒸餾水細緻洗淨，在取血時應準備乾紗布或藥棉以為擦拭之用。針刺後所出現之第一滴血用乾紗布謹慎擦乾，並將再出現之新血滴吸入微量吸量管中。

在取血之同時精確地計算紅血球數（參看人體生理學實習），這一計算不僅便於測定過氧化氫酶數，進而也給測定過氧化氫酶指數以可能。應注意者，在測紅血球數時，可能由許多不正確的操作而引起其後在測定過氧化氫酶指數上的錯誤。如由毛細血管內徑的變化即能引起紅血球在數量上的顯著波動，因而過氧化氫酶指數的值也隨之而有顯著的動搖，所以在取指血之前，手指不應該用酒精或乙醚洗而只可用無菌蒸餾水。當由

① 例如參照在 1948 年莫斯科國立醫學書籍出版局出版的 И. И. Разенков 氏編著的“醫學院學生生理課實習指導”。

指端採血完成後，將該採血處用浸以乙醚的綿花裹上，並向手掌壓住。

操作：

1. 加蒸餾水約10毫升於100毫升的量瓶中。
2. 用微量吸量管加檢血0.1毫升（事先將吸量管尖端附着的血液擦乾），將吸量管在量瓶中以抽吸和吹出的方法洗淨。

3. 仔細地振盪量瓶同時加水至刻線，並記錄血液溶解的時間。

如此所獲得者為測定過氧化氫酶數的血液基本溶液（1:1,000）。

4. 取四個錐形瓶各量入蒸餾水 7 毫升，前二瓶加混勻的血液基本溶液 1 毫升。
5. 向其餘兩瓶也加基本血液 1 毫升，立刻將二燒瓶之內容物煮沸 2 分鐘以破壞過氧化氫酶。

6. 將四個燒瓶皆靜置於室溫下30分鐘（從血液的溶解時間算起）。

7. 各瓶準確添加過氧化氫液 2 毫升再靜置30分鐘。

8. 各瓶加10% 硫酸溶液 5 毫升，並用0.1N高錳酸鉀液滴定各瓶至呈薔薇紅色。

因為過氧化氫酶分解一部份過氧化氫，則前兩瓶滴定的平均值，將比後兩瓶（過氧化氫酶已被破壞者）滴定的平均值為小，其差數可供以後的計算使用。

9. 在滴定时所得之差乘以1.7則得出被檢血液中之過氧化氫酶數。

計算原理如下：

過氧化氫之克當量為17克，因而在0.1N過氧化氫液 1 毫升中應含過氧化氫1.7毫克，0.1N高錳酸鉀液 1 毫升相當於0.1N過氧化氫液 1 毫升。所以取上述0.1N高錳酸鉀毫升數的差乘以1.7則得出檢血 1 微升（檢查時每取基本血液 1 毫升其中含檢血為 1 微升）所分解之過氧化氫之毫升數，亦即直接得出過氧化氫酶數。

如已計算紅血球數則可得出過氧化氫酶指數的分數式：此時其分子為過氧化氫酶數而分母為檢血 1 微升中紅血球之百萬數。

血液中過氧化氫酶的含量在許多疾病時降低，尤其是伴發惡液質時。

血中的過氧化氫酶的降低是癆腫、貧血、結核的特徵。

※脂 酶 的 定 量

脂酶水解脂肪成甘油與脂酸。若用鹼中和所形成的脂酸，則按鹼的消耗量可以判斷脂肪分解的量，並由此可以判斷脂酶的活性，在上述實驗中如加膽汁，則可見到脂酶的活性有顯著的促進。

器材： 1. 小燒瓶四個。

2. 5 毫升吸量管（分度 1 毫升的）（用以量水、油、脂酶提出液以及膽汁）。

3. 水浴。

4. 溫度計。

- 試劑： 1. 脂酶的甘油提出液（製法：見本書第144頁第16項）。
 2. 向日葵油。
 3. 膽汁液（1:5）。
 4. 0.1N NaOH 液。
 5. 酚酞液。

操作：

1. 將下述液體按以下數量（毫升）注入於四個瓶杯中：

	燒 瓶 號 碼			
	1	2	3	4
蒸餾水·····	3	3	2	3
向日葵油·····	2	2	2	2
脂酶提出液·····	1	—	1	—
煮沸脂酶提出液·····	—	1	—	—
膽汁溶液·····	—	—	1	1

2. 向每個燒瓶內添加 2 滴酚酞液，並立即以 0.1N 鹼液中和（隨時小心振盪）至呈微粉紅色為止。

3. 同時將所有的燒瓶放在 37—38°C 的水浴中。

4. 經過 30 分鐘將燒瓶由水浴中取出，在細緻振盪的同時迅速用 0.1N 鹼液中和燒瓶中已經褪色的內容物並記錄其滴數。

因此脂酶的活性可按中和脂酸（由脂酶的作用而生成者）時所消耗的鹼量來確定。

例如：中和由水浴移出的燒瓶內容物時的消耗量：

No.1——4 滴鹼液。

No.2——1 滴鹼液。

No.3——6 滴鹼液。

No.4——2 滴鹼液。

※丁酸異戊酯的酶性合成

酶可以向兩個方向促進反應，換言之，在若干情況下，同一種酶可以接觸分解作用與合成作用。酶性合成作用最初由麥芽糖酶而證實。目前許多酶性合成作用在合乎酶性反應的實驗室條件下即可證明。

酶所促進的反應的方向有賴於許多條件，其中最重要的是反應物的濃度。若用含酯酶的胰腺製劑合成丁酸異戊酯時，則酶性合成作用極易顯出。

- 器材：
1. 小燒瓶數個。
 2. 5 毫升吸量管。
 3. 50 毫升有刻度的量筒。
 4. 水浴。
 5. 溫度計。

- 試劑：
1. 無甘油的乾燥脫脂胰腺製劑（製法：見本書第144頁第16項）。
 2. 異戊醇。
 3. 丁酸。
 4. 膽汁。
 5. 0.1N NaOH 液。
 6. 酚酞。

操作：

1. 量取0.5克胰腺製劑粉末於帶有磨口塞或橡膠塞的瓶內。
2. 添加蒸餾水 1 毫升，異戊醇40毫升，正丁酸0.5克及膽汁1—2滴。
3. 仔細地混合燒瓶內容物並置於38—40°水浴中2—3分鐘。
4. 經2—3分鐘再仔細混合之，並量取其內容物 5 毫升放入另一（第二）燒瓶中。第一燒瓶再放於38—40°水浴中半小時。
5. 將第二燒瓶加入酚酞，用0.1N苛性鈉滴定，滴定時並仔細振盪。滴定完了後，將第二瓶內容物傾棄並仔細洗淨燒瓶。
6. 過半小時再由第一燒瓶量取內容物 5 毫升注入第二瓶中並重新滴定之。如此量取與滴定每隔 1，1½，2 小時進行一次。
7. 第一瓶中內容物靜置到第二次課時，仍按前法量取第一燒瓶內容物 5 毫升並滴定之。
8. 比較所有六次滴定的數字，以滴定時所消耗的0.1N鹼液的數量為縱座標，以時間為橫座標，則得出被滴定酸變化的曲線。在滴定時所表現的鹼量減少恰說明丁酸異戊酯的合成。

維 生 素

維生素是有不同化學性質的有機物質，其共同特點是為營養所必需。維生素在食物中含量雖少，但它在機體內所起的作用却很大。

食物中各種維生素的缺乏或不足，都能引起許多特異的或非特異的物質代謝障礙，即所謂維生素缺乏症或維生素不足症。

關於許多維生素參與物質代謝的方式已被究明，並且也證明出某些維生素做為酶的輔基成份的作用。

維生素可分為脂溶性的與水溶性的。維生素的化學本質從前是不知道的，僅僅是按着拉丁字母加以命名。現在往往根據該物質的化學性質，用物質名稱來代替其舊名。

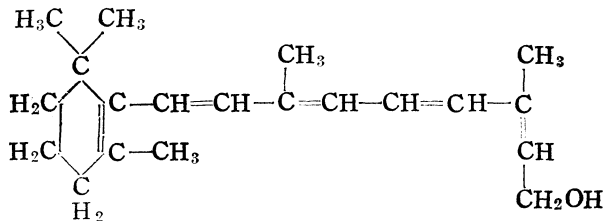
目前關於維生素的知識已發展成為完整的科學，並且也是重要科學知識^①。

維生素的鑑定可以用生物學方法（動物實驗）或化學方法（利用各種維生素的特殊反應）進行測定。

雖然維生素的生物學鑑定法極為特異，但是却很麻煩，並需要對生物作長期的觀察，因之我們就被限制於引用化學方法來測定維生素A，胡蘿蔔素及維生素C。

維生素 A 定性反應

維生素A是屬於脂溶性維生素。其構造式如下：



維生素A缺乏時，機體的生長減退或停止，並且發生眼病——角膜軟化，同時機體對傳染病的抵抗力減低尤其是呼吸道，並且上皮組織的正常功能發生變化。

① 在蘇聯 A. B. Палладин氏, Б. А. Лавров氏, В. Н. Букин氏, Б. А. Кудряшов氏及其他學者等對維生素的化學及其應用有重大的貢獻。

最常用的維生素A定性反應是在於維生素A的氯仿溶液與三氯化銻的氯仿飽和液作用生成藍色。

但是應當注意這一反應尚有些缺點。首先反應是非特異性的，不僅僅維生素A，其它一些物質的溶液也出現這個反應。例如，不能轉化成爲維生素A的胡蘿蔔素的氧化產物，其呈色強度雖遠較同量維生素A爲弱，但亦呈現此種反應。葉黃醇類和一些其他胡蘿蔔素亦呈現陽性反應。因此若檢品中同時有維生素A、胡蘿蔔素、及葉黃醇類存在時，後者必須用各種不同辦法與維生素A分離。

同時應當考慮，在某些脂肪內含有妨礙維生素A陽性反應的物質。在此情況下，只有事先洗淨脂肪，除去妨礙呈色物質之後，再進行維生素A的呈色反應，檢品中維生素A的存在才可能確證。

- 器材：
1. 試管與試管架。
 2. 10—15毫升的帶活塞的滴定管。
 3. 吸量管。

- 試劑：
1. 魚肝油。
 2. 精餾氯仿（製法：見本書第144頁第17項）。
 3. 三氯化銻的氯仿溶液（製法：見本書第144頁第18項）。
 4. 醋酸酐。

操作：

1. 加1—2滴魚肝油於乾燥潔淨的試管中。
2. 再加精餾氯仿0.5毫升混合之。
3. 用滴定管添加三氯化銻的氯仿溶液1—2毫升再混合之。
4. 若魚肝油中有維生素A存在時，即可觀察到藍色。

應當指出，這一反應的完成，需要特別仔細，因爲在氯仿和試管以及其他試驗器材內有水份存在時，甚至微量即可使三氯化銻形成氯氧化銻，此物已再不能與維生素A起反應，並引起混濁。爲了吸收可能含於反應液中的微量水分，可向溶液中添加醋酸酐1—2滴。

※維生素A定量

維生素A定量最常用的方法，是根據上述維生素A與三氯化銻氯仿溶液的呈色反應所產生之顏色強度來測定的。測定此種顏色強度，有特殊的儀器——色調計(tintometr)，附有一組色玻璃板，用以比較顏色強度。出現的強度以所謂「藍色單位」表示之，若無此色調計時，可利用特殊準備的硫酸銅與硝酸鈷的水溶液，也能測定此顏色強度。

以下所引用的維生素定量法，是莫斯科國立維生素檢查所測魚肝油中維生素A所提供的方法。

某些魚類肝油中維生素A含量列表如下：

魚	肝	油	維生素A含量微克 (μg)/克
鱈	魚		62.5—375
鱈	魚		1,000—1,375
梭	魚		3,750
海	鱈	魚	160,000—375,000

- 器材：
- 15個標準試管盛有色標準溶液〔由原液製成，原液為：含有 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 15克及 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ 0.7克溶成100毫升水溶液〕。按「藍色單位」量測定維生素A所用的標準液的製法：見本書第144頁第19項。
 - 空試管數個（高6厘米，直徑1厘米者）。
 - 玻璃棒。
 - 10—15毫升帶磨口活塞的滴定管（量取三氯化銻液用）。
 - 0.2毫升或分度0.1毫升的1毫升吸量管（量檢液用）。
 - 錐形瓶帶軟木塞插有長玻璃管做冷却器用。
 - 分液漏斗。
 - 水浴。
 - 用乾燥二氧化碳氣流驅逐乙醚的裝置（圖3）。

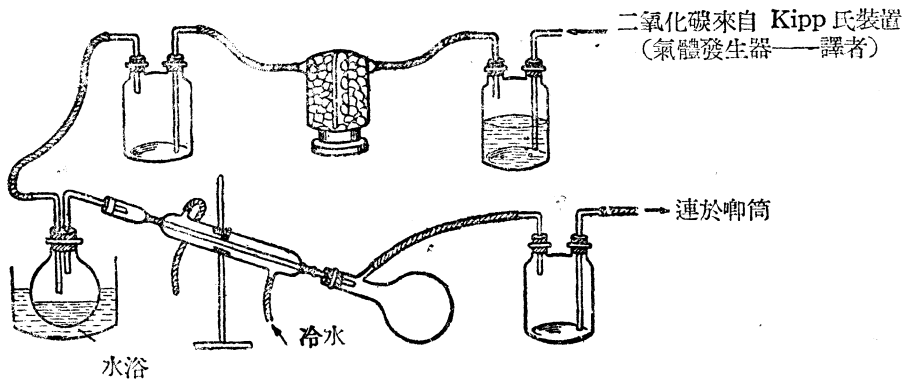


圖 3

此裝置由以下各部份組成：Kipp 氏二氧化碳發生器；三個玻璃瓶（1.盛水供洗二氧化碳用，2.盛二氯化鈣供乾燥二氧化碳用，3.為安全瓶）；驅逐瓶的一管（此管用以進氣，須插入驅逐瓶的深處）與安全瓶連接，另一管再與冷凝管相連；受納瓶用小管連於另一安全玻璃瓶上，該瓶再與水流唧筒連結。此裝置應當很仔細地加以連結。

10. 10—25毫升有磨口塞的量筒或量瓶。

- 試劑： 1. 0.5N KOH酒精液。
2. 不含過氧化物之雙蒸（再蒸）乙醚。
3. 0.5N KOH水溶液。
4. 絕對無水酒精（製法：見本書第145頁第20項）。
5. 精餾氯仿（製法：見本書第144頁第17項）。
6. 三氯化銻氯仿溶液（此試劑應極小心地製備），其製法見本書第144頁第18項）。

操作：

1. 用分析天秤量0.2—1克待測脂肪於錐形瓶內。量取的數量視維生素 A 之含量而定。
2. 注入0.5N氫氧化鉀酒精液10毫升於量取之脂肪中，蓋以軟木塞，其上插有做冷凝管用之玻璃管，將以上溶液置於 80—85° 水浴上皂化10分鐘，並經常小心振盪其內容物。
3. 皂化終了，加蒸餾水20毫升稀釋之，並冷卻至室溫。
4. 用乙醚（無過氧化物的）提出（用分液漏斗）不皂化成分兩次，乙醚用量：第一次50毫升，第二次25毫升。
5. 洗分液漏斗內的乙醚提出物，第一次用蒸餾水15毫升，其次用0.5N氫氧化鉀水溶液10毫升，此後用蒸餾水重洗兩次，每次20毫升，洗滌時必須仔細振盪。
6. 用乾燥的二氧化碳氣流驅逐乙醚，此後，向杯內殘渣添加10—20滴無水酒精（用以除去可能有的微量水分）。酒精也用乾燥二氧化碳氣排除之。此時水浴的溫度不應高於80°C。
7. 溶解乾燥殘渣於精餾氯仿中，並將其全量移於 10—25 毫升的量瓶（根據維生素 A 溶液的量來決定）內，準確地補加氯仿恰到刻度並仔細混合之。
8. 取充分混合的待測維生素 A 氯仿液 0.2 毫升，注入潔淨而完全乾燥的試管（高 6 厘米，直徑 1 厘米）內，量取溶液時必須十分準確。
9. 加三氯化銻液 2 毫升於盛有氯仿溶液的試管中，用玻璃棒迅速混合，並迅速比色，同時，記錄溶液在 10—30 秒內藍色的最高值。比色時，係將被檢液顏色與一系列標準液的顏色互相比較。
10. 比色繼續至檢品與標準管之一的顏色一致時，測定即可認為終了。檢品中維生素 A 的含量相當於最接近於檢品液顏色的標準管所具「藍色單位」的數值。假如檢品的顏色深度是介於兩個臨近標準試管之間時，則其「藍色單位」可取其平均值。
必須指出，用此種方法可以獲得適合於實用目的的概括定量。
- 為獲得更正確的結果，最好選擇檢品的分析數量，以使在測定時標準管恰介於「藍色單位」4—6之間，因在此範圍內所得的結果最佳。
11. 以魚肝油單位表示此色所得結果，然後將魚肝油單位換算為維生素 A 的微克

(μg)數。

此時應進行的計算可從下列瞭解。

量取的脂肪0.8237克。

比色確定的「藍色單位」數，—5

氣仿溶液的最終容積—10毫升。

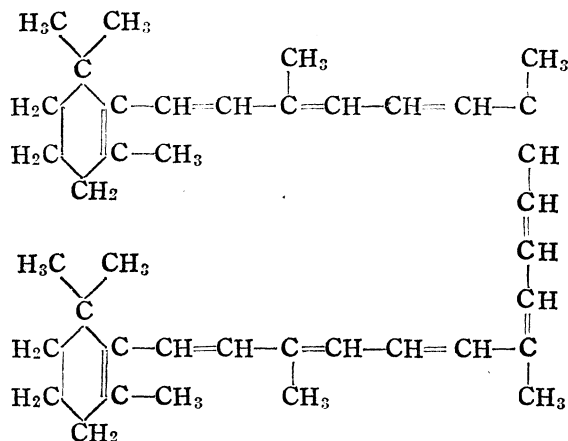
測檢品 1 克中應含魚肝油單位為：
$$\frac{5 \times 10 \times 20}{0.8237 \times 1,000} = 1,214 \text{ 魚肝油單位}$$
，其中 20 為計算成魚肝油單位的係數，而 1,000 為折合成克的毫克係數。

因為 1 個魚肝油單位=125 微克 (μg) 維生素 A/1 克脂肪，所以前例中，1,214 個魚肝油單位=152 微克 (μg) 維生素 A/1 克脂肪。

* Рачевский 氏胡蘿蔔素定量法

胡蘿蔔素 $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$ 是自然界分佈極廣的橙紅色色素。在自然界發現它有三種異構體 (α -、 β -和 γ -胡蘿蔔素)。

胡蘿蔔素與維生素 A 有很密切的關係，胡蘿蔔素水解時可以得到維生素 A。此時一分子胡蘿蔔素 (β -胡蘿蔔素) 能生成兩分子維生素 A。 β -胡蘿蔔素的構造如下：



胡蘿蔔素的含量在胡蘿蔔、菠菜、萵苣、杏子內特別豐富。動物組織含量較少。其中以腎上腺皮質，卵巢黃體及睪丸含量最豐富。

當胡蘿蔔素攝入人體後，受胡蘿蔔素酶的作用而分解成維生素 A。這樣一來，胡蘿蔔素在某種程度上可以代替食物中的維生素 A。

因此，測定食品，組織或體液中的胡蘿蔔素有很大意義。

胡蘿蔔素的定量法是基於用酒精及石油醚提出胡蘿蔔素。除去酒精，然後除去石油醚，再測定剩餘物質顏色的強度。其呈色強度與胡蘿蔔素之含量成比例。

測定人體血清內的胡蘿蔔素，通常用 Рачевский 氏法。正常的人體血清內胡蘿蔔素含量動搖在0.01—0.05毫克%之間。

以下記述 Рачевский 氏的簡易法。

- 器材：
1. 0.1毫升微量吸量管。
 2. 2 毫升吸量管。
 3. 玻璃棒。
 4. 厚壁試管。
 5. 帶膠皮管的 1 毫升刻度吸量管。
 6. 瓷杯。
 7. 電爐。

- 試劑：
1. 乙醇。
 2. 石油醚（沸點30—50°）。
 3. 血清。

操作：

1. 用微量吸量管取血清 0.1 毫升注於乾燥厚壁試管內，並用吸量管加入乙醇 2 毫升。
2. 用玻璃棒攪拌 2 分鐘。
3. 加石油醚 2 毫升，將試管用軟木塞蓋好，按住試管塞輕輕混合管中內容物。
4. 向試管加蒸餾水 2 毫升。
5. 將試管靜置 5 分鐘。
6. 用刻度吸量管仔細吸取其上層清液（醚溶液）（圖 4）1 毫升，並謹慎地滴入（用夾子）清潔而乾燥並熱到40°C的瓷杯底部。石油醚液之所以逐滴滴入，在於使其每一滴順次揮發。

7. 當瓷杯底出現明顯的黃色小環時即停止滴入醚液，依 Рачевский 氏規定此相當於大約0.05微克(μ g) 胡蘿蔔素。

8. 計算滴入瓷杯底的醚液毫升數，作為計算血清胡蘿蔔素含量的對應數值。其計算可由下例說明之。

設：滴入瓷杯的醚液為 0.4 毫升，則 100 毫升血清中胡蘿蔔素為 $\frac{0.05 \times 2 \times 100}{0.4 \times 0.1} = 250$ 微克 (μ g)，式中 0.1 為用於分析之血清毫升數，而 2 為的蘿蔔素醚溶液的毫升數。

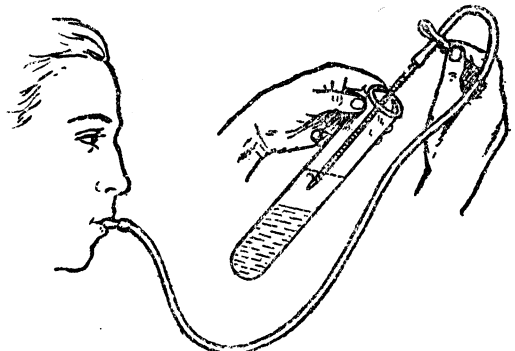


圖 4

維生素C定性反應

維生素C（抗壞血酸）是分佈極其廣泛，並在物質代謝中起重要作用的維生素之一。

食物中維生素C的長期不足或缺乏能引起嚴重的疾病，即衆所週知的壞血病。

抗壞血酸極不安定，在空氣中（尤其是在鹼性環境中或微量重金屬存在時）易被氧化。所以在儲存期間蔬菜及水果內的維生素C逐漸破壞。因此，在新鮮的蔬菜和水果中常常含有豐富的維生素C。

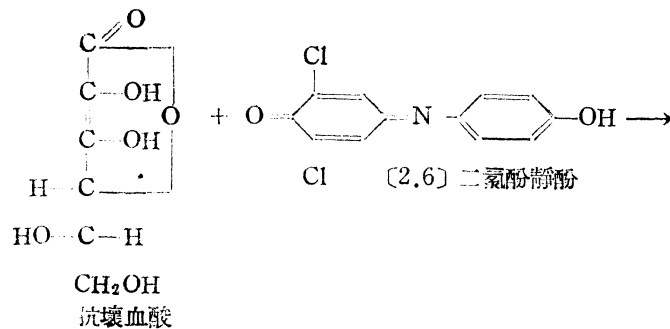
加熱（烹調食物）能促進維生素C的氧化（破壞）。因此，凡含有此種維生素的食品，應當避免長時煮沸。

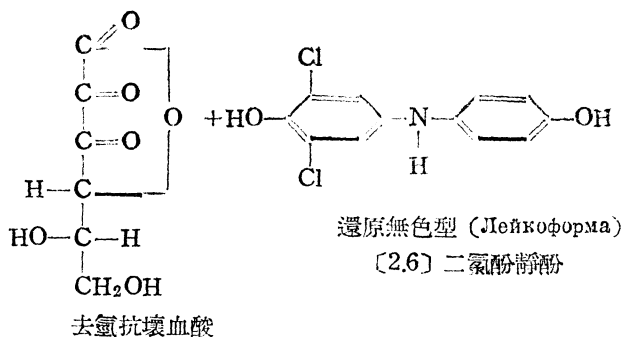
在某些食品中維生素C的含量列表如下：

食品名稱	抗壞血酸毫克/100克生食品
野薔薇果——果肉	100—4,500
黑醋栗	100—400
樅樹和松樹的針葉	150—250
牡牛腎上腺(皮質)	150—190
荷蘭芹(菜)——綠色部	100
檸檬	55
捲心菜	25—66
馬乳	20—30
馬鈴薯	6—17
人乳	3.5—7

抗壞血酸能還原 [2.6] 二氯酚靛酚。維生素C在此反應中變成其氧化型（去氫抗壞血酸）。

其反應依下列方式進行：





[2.6] 二氯酚靜酚的鈉鹽水溶液呈藍色；在酸性環境中變為玫瑰色，當其被還原時則脫色。

這一指示劑顏色之改變不僅能用於維生素C定性反應，而且又可用於其定量。

但應注意：用 [2.5] 二氯酚靜酚測定維生素C的反應仍有缺點，並由此可引起許多錯誤。這些錯誤的來源可能是：

1. 維生素C不僅以還原型存在，同時可能有其它型——去氫抗壞血酸及結合抗壞血酸。屬於後二者的維生素C不能將 [2.6] 二氯酚靜酚脫色，但仍有其生理作用。

2. 在檢品的水溶性提取物中有多種還原性物質，也可以與 [2.6] 二氯酚靜酚起反應。

3. 在檢品的水溶性提取物中常有色素類存在，以致難於觀察顏色的改變。

因之曾提出許多的改進辦法，這些辦法顯著地消除了上述反應的缺點。這類辦法往往是很複雜的，其記載可查閱專門文獻。

器材：試管及試管架。

試劑：1. 10% 鹽酸溶液。

2. 0.001 N [2.6] 二氯酚靜酚鈉鹽溶液（製備：見本書第145頁第21項）。

3. 檢液（製備：見本書第56頁 [維生素C定量]）。

4. 3% 過氧化氫液。

操作：

1. 兩支試管各加檢液2—3毫升。

2. 其一管添加數滴過氧化氫液並煮沸之以破壞維生素C。

3. 以上兩管各加10% 鹽酸1—2滴，然後（輕輕振盪）再加 [2.6] 二氯酚靜酚的鈉鹽溶液。在酸性環境中 [2.6] 二氯酚靜酚變為玫瑰色。當維生素C存在時，溶液褪色，再繼續滴加指示劑至玫瑰色不褪時，即表示試料中所有抗壞血酸已完全被氧化，在維生素C已被破壞的試管內不發生褪色，甚至加指示劑1—2滴即呈玫瑰色。

※維生素C定量

抗壞血酸的定量也是基於對 [2.6] 二氯酚靜酚的反應，利用 [2.6] 二氯酚靜酚氧化維生素C，至其變色時計算試劑的消耗量，可以測出被檢物質中維生素C的含量。

以下所敘述的維生素C定量法既簡單又方便；但是不應忘記維生素C與 [2.6] 二氯酚靜酚的反應有缺點，其缺點可以引起許多錯誤（見本書第55頁 [維生素C定性反應]）。

- 器材：
1. 50毫升小錐形瓶。
 2. 乳鉢及杵。
 3. 微量滴定管。
 4. 吸量管。
 5. 量筒。
 6. 50及100毫升量瓶。

- 試劑：
1. 10% 鹽酸溶液。
 2. 0.001N [2.6] 二氯酚靜酚鈉溶液（製備：見本書第145頁第21項）。

操作：

1. 量待檢液10毫升於錐形瓶內。

檢液可以用各種方法製備。例如市售的番茄汁，因考慮其常常含有大量維生素C，故以10% 鹽酸略微酸化的蒸餾水將其稀釋十倍或十倍以上，然後濾過之。當測定馬鈴薯、莓果、水菓及針葉中之維生素C時，用分析天秤稱取之^①，並用含數滴10% 鹽酸之蒸餾水在乳鉢內研磨放置，將提取物濾入量瓶內。所稱取的同一樣品須反覆抽出二、三次，並濾入同一量瓶中，最後用蒸餾水加到刻度，混合，量取10毫升，作滴定之用。

2. 利用微量滴定管以0.001N [2.6] 二氯酚靜酚鈉液滴定至略微呈色並保持半分鐘不褪。滴定时隨時將杯內容物混合，且滴定必須在酸性環境中進行，並全滴定過程不應超過2分鐘。

必須指出，為取得更正確的結果，用於滴定的色素溶液其消耗量不得少於1毫升或多於4毫升，假如滴定檢品時，所得到的數字超過指定範圍，則必須增減試料稱取量或將其適當稀釋之。

3. 計算維生素C的含量，已知0.001N [2.6] 二氯酚靜酚鈉液1毫升相當於抗壞血酸0.038毫克（抗壞血酸的分子量為176，其當量等於88克），再考慮稀釋倍數與檢品用量，則可算出維生素C之含量。

① 採取試料時應與採取其他定量用的試料相同，先將試料充分粉碎並仔細混合，然後取其一份平均試料，如此，選出的平均試料能比較完善地代表待檢品的組成及其性質。

茲舉一具體實例以說明應做之計算：

秤取野薔薇果的重量——0.4745克。

野薔薇果提取物的全量——50毫升。

一次滴定所取的提取物——10毫升。

用於滴定10毫升提取物的0.001N色素溶液消耗量（二次平均值）3.17毫升。

則檢品中所含維生素C之量為 $x = \frac{0.088 \times 3.17 \times 50 \times 100}{10 \times 0.4745} = 294$ 毫克%。

脂質及其代謝

「脂質」的定義較脂肪為廣，除脂肪本身之外，尚包括有類脂質：磷脂質和固醇類。

一般常將游離固醇也列入類脂質中。

一切類脂質的共同性質為溶於脂肪溶媒：乙醚、氯仿、苯、二硫化碳、石油醚以及其它，但不溶於水。

類脂質廣泛地存在於生物界，實際上，在任何細胞內都能發現其存在。很多脂質及其衍生物全是生物活性物質。

實際上脂肪（牛奶油、脂油、植物油等）由於其本身的高卡價，在營養上能起重大作用。此外，儲存在體內的脂肪（脂肪組織）能保護身體內部器官不受機械的損傷及寒冷的侵襲。

神經組織，性腺，精液，腎上腺皮質，特別富有磷脂質^①。

固醇及其衍生物（性激素，膽酸以及其它）起很重要的生理作用。

脂肪的消化

脂肪在人胃內的消化（水解）雖不顯著，但却已開始。消化脂肪的主要場所是十二指腸，由胰腺分泌出來的胰脂酶，一部份是活性的，另一部份是非活性的：非活性的脂酶受膽汁作用後而變為有活性。胰脂酶無論在鹼性，中性以及酸性全能呈現其作用。腸液也含有脂酶。

脂肪受脂酶的作用水解為甘油及脂酸。

觀察脂肪的水解作用，用胰脂酶最為方便，其作用物以牛乳為最適宜，因為牛乳中的脂肪呈乳糜狀能迅速地被分解為甘油和脂酸，而脂酸可再用鹼滴定之。

器材：1. 容量250毫升的錐形瓶四個。

2. 50毫升量筒。

3. 水浴。

① А. В. Палладиц氏 和 Г. Я. Городисская氏 曾致力於多種神經組織中磷脂質代謝的研究。

4. 溫度計。
5. 10毫升吸量管。
6. 2 毫升吸量管。
7. 乳鉢及杵。
8. 剪刀。
9. 玻璃漏斗。
10. 小瓷杯。
11. 試管及試管架。

- 試劑：
1. 新鮮胰腺（例如豬胰腺）。
 2. 甘油水溶液（三份水加一份甘油）。
 3. 煮沸後放冷的牛乳。
 4. 酚酞。
 5. 0.1N羥化鈉溶液。
 6. 膽汁。

操作：

1. 將胰腺之脂肪摘淨。
2. 剪碎摘淨的胰腺^①。
3. 取剪碎的胰腺約5克於乳鉢中，再加甘油水溶液約10毫升。
4. 用杵仔細地研磨乳鉢內的內容物4—5分鐘。
5. 將所製好之混合物用麻布過濾，搜集濾液於試管內，每一次實驗需濾出4—5毫升提取液。
6. 取兩試管，各加入提取液2毫升。
7. 於第一試管內再加膽汁2—3滴以致活脂酶。
8. 取兩燒杯（1號2號）各用量筒量入牛乳50毫升。
9. 將此二杯放於37°C水浴中保溫10—15分鐘。
10. 取另外兩燒杯（3號4號）各用吸量管量取蒸餾水10毫升，並各加酚酞數滴。
11. 將被膽汁致活的脂酶提取液2毫升加入1號燒杯內。而2號燒杯內加未致活的脂酶提取液2毫升（此二操作盡可能同時進行）。此後應迅速並仔細地混合各燒杯的內容物。
12. 用吸量管從1號燒杯中（有致活的脂酶）迅速量取10毫升液體放入3號燒杯（有水及酚酞）內，同時並從2號燒杯（有未致活的脂酶）中取10毫升液體放入4號燒杯（同樣也有水及酚酞）內。

① 於小瓷杯內用剪刀將胰腺剪碎，並混合之，如果需要大量脂酶時，可用切肉機絞碎胰腺。

13. 將1號2號燒杯重新放回37°C水浴內，而用0.1N鹼滴定3號及4號燒杯之內容物，並不停地仔細攪拌，直至呈淺粉色為止。滴完後記錄其結果，將3號4號內容物傾棄並仔細刷洗燒杯。

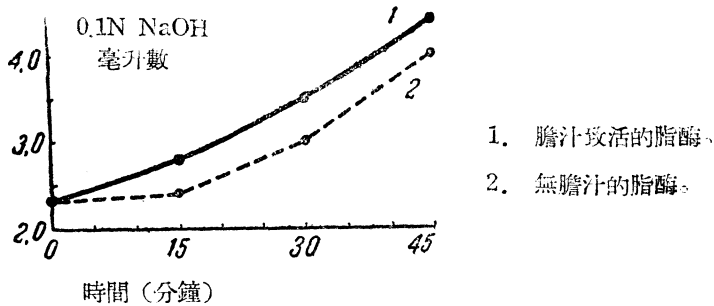


圖 5

14. 每隔15分鐘從1號2號兩燒杯中每次各取液體10毫升（共取三次），分別放於相當於3號及4號的潔淨燒杯內（此二燒杯曾預先各量入蒸餾水10毫升及酚酞數滴），而後按上述方法滴定。

15. 比較從1號及2號燒杯中所取出的四次樣品在滴定時所消耗的0.1N鹼量，並根據此二杯放置的時間劃出滴定曲線。

由於逐漸進行水解，故游離脂酸的量隨時間而增多。例如上表曲線（圖五），橫座標為時間，縱座標為滴定時所消耗的鹼毫升數。

從此例可見，膽汁（實際是膽酸）對於已經充分乳化之脂肪（如牛乳的脂肪）的消化上有很大意義。從而它對於消化其他脂肪所起的作用勢必更大，因為膽汁除致活脂酶之外尚能乳化脂肪。因此當進入腸內的膽汁不足時，脂肪幾乎以原形排於糞內。例如在膽管阻塞時，糞中出現許多未曾消化的脂肪。

尿中酮體的反應

丙酮 ($\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_3$)，乙醯醋酸 ($\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_2\text{COOH}$) 及 β 羥丁酸 ($\text{CH}_3 \cdot \text{CH} \cdot \text{OH} \cdot \text{CH}_2\text{COOH}$) 被稱為丙酮體或者是酮體。

這些物質是脂肪氧化不完全的產物。在醣代謝正常時 β 羥丁酸和乙醯醋酸幾乎完全氧化。

在健康成年人尿中經常含有極少量的酮體。但是如果人或動物繼續攝取含低醣的食物（即幾乎祇含有蛋白質和脂肪的食物），則在尿中出現多量酮體。在完全飢餓時同樣也能見到此現象。

在糖尿病患者尿中含有多量的酮體。

尿中酮體的分析有重大的診斷意義，因為這能夠說明物質代謝的障礙以及不正確的飲食方式。

當尿中含有大量酮體時，能以下述呈色反應檢出之。

丙酮，雙醋酸及 β 羥丁酸可與鐵亞硝基氰化鈉作用產生特殊的顏色，丙酮能在鹼液中與碘作用形成碘仿，乙醯醋酸則與氯化鐵產生顏色。

- 器材：
1. 試管及試管架。
 2. 50毫升小燒杯。
 3. 量筒。
 4. 玻璃漏斗。
 5. 吸量管。

- 試劑：
1. 冰醋酸。
 2. 新製的鐵亞硝基氰化鈉液。
 3. 濃氨水。
 4. 10% NaOH液。
 5. 10% 氯化鐵液。
 6. 過氧化氫液。
 7. 含有酮體的尿。

操作：

I. 乙醯醋酸和丙酮的檢出實驗

1. 於試管內加檢尿約5毫升。
2. 加冰醋酸約1毫升和新製的鐵亞硝基氰化鈉液約0.5毫升並振盪之。
3. 謹慎地加濃氨水約2毫升使其重疊，如有乙醯醋酸和丙酮則形成着色的環（一般為暗紫色）。

II. 用氯化鐵檢出乙醯醋酸的實驗（Gerhardt 氏法）。

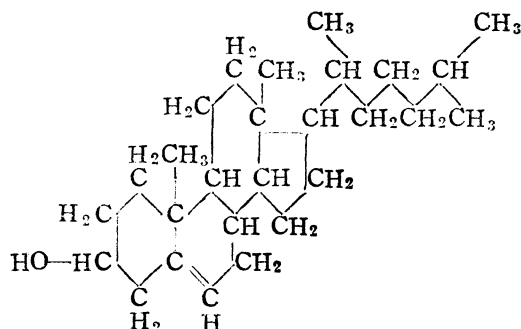
1. 於試管內加被檢尿約5毫升並滴加10%氯化鐵液直到不再生成磷酸鹽沉澱為止。
2. 將沉澱濾除並再向濾液中加氯化鐵液數滴，如有乙醯醋酸則產生葡萄紅色。

III. β 羥丁酸的反應

1. 向小燒杯內加入被檢尿液10毫升，蒸餾水10毫升，及醋酸數滴。
2. 在通風櫥內將小燒杯內液體蒸發到最初容量的半量為止。此時乙醯醋酸被破壞而丙酮消失，將此液體冷卻後移入試管內。
3. 試管內加過氧化氫液1毫升，加熱一分鐘後冷卻。
4. 加水醋酸10滴及新製的濃鐵亞硝基氰化鈉液約10滴振盪之。
5. 徐徐添加濃氨水約2毫升，使其重疊並放置少頃，尿中如有 β 羥丁酸存在，則出現紫色環。

腦髓中膽固醇的證明

膽固醇是複雜的環狀一元第二醇，具有下列的構造式：



膽固醇以酯狀或游離狀含於人及動物的各種細胞內，尤以腦髓，精液及皮脂內含膽固醇為多。膽石內膽固醇含量有時達90%，在綿羊的皮膚脂肪中含有許多膽固醇，醫用的羊毛脂是從綿羊皮膚脂肪內取得的，它主要是遇水則膨脹的膽固醇酯。

膽固醇溶於氯仿、石油精、苯、熱酒精及脂肪中，許多呈色反應可用以證明膽固醇的存在，下面所引證的膽固醇呈色反應，其化學機構乃根據從第二醇奪取水分後，膽固醇變成不飽和的碳氫化物。

- 器材：
1. 乾燥試管及試管架。
 2. 瓷乳鉢。
 3. 玻璃板（面積為10×10厘米）。
 4. 帶有溫度計的乾燥箱。
 5. 木製小鏟。
 6. 刀。
 7. 吸量管。

- 試劑：
1. 腦髓。
 2. 石膏。
 3. 新蒸餾過的氯仿（無水）。
 4. 濃硫酸。
 5. 醋酸酐。

操作：

1. 取腦髓3—5克及約二倍量的石膏在乳鉢中仔細地搗碎。
2. 將搗碎物用鏟子在薄玻璃板上，塗一薄層，在40°C乾燥箱內烘乾。

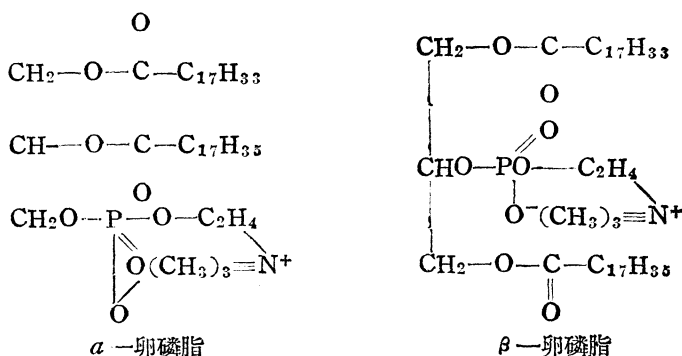
3. 用刀將乾片削到乾燥乳鉢內，再用乾燥乳鉢杵搗碎並放入乾燥的大試管內。
4. 加氯仿5—6毫升並小心振盪試管5—10分鐘。
5. 通過用氯仿浸濕的濾紙，將試管內容物濾到另一乾燥試管內。
6. 用所得的濾液一部分使其與濃硫酸起反應（Сальковский反應），使其另一部分與醋酐及硫酸起反應。

（一）向2—3毫升膽固醇的氯仿溶液內加約相等量的濃硫酸並謹慎地混合此溶液。當液體澄清時，該管內容物之上部（氯仿）出現紅色，下部出現綠螢光之黃紅色。

（二）向2—3毫升膽固醇的氯仿溶液內加醋酐10滴及濃硫酸1—2滴，充分混合此溶液則觀察到最初產生紅色，以後產生藍色最後呈藍綠色。若溶液內膽固醇量少時，便立刻出現綠色。

雞卵黃中卵磷脂的證明

卵磷脂是屬於一氨基磷脂。卵磷脂內的甘油有兩個羥基與二分子脂酸（軟脂酸、硬脂酸、油酸及其它）結合成酯，其第三個羥基與磷酸結合，而磷酸又與膽鹼（搵基）的第一個羥基結合成酯， α 和 β 卵磷脂的構造能以內鹽的形式（離子型）繪成如下。



目前認為有機體內各種細胞含有不同量的卵磷脂。大量的卵磷脂含在卵黃（到10%）、神經、精液、腦髓、骨髓、腎上腺、肺、心臟、蘑菇、酵母及其它組織內。

純卵磷脂是白色蠟狀塊，並根據其化學性質可呈弱酸性和弱鹼性反應，卵磷脂易溶於醇、氯仿、醚或二硫化碳中，而不溶於丙酮內。利用後一性質可由其他溶於丙酮的類脂質中分離出來。

很有意義的是卵磷脂與水的關係。卵磷脂的分子有顯著的極性構造，其中的磷酸基及膽素基兩個部份具有親水性質（也就是使其溶解於水），但是脂酸基則有憎水性妨礙其溶於水。實際上卵磷脂與水的關係是上述兩種性質之平均：卵磷脂不溶解於水，但易與水形成穩固的乳狀液，這種性質便於它的消化，遂可用於人造奶油及點心。

- 器材： 1. 小燒杯。
2. 玻璃棒。
3. 水浴。
4. 玻璃漏斗。
5. 乾燥試管及試管架。

- 試劑： 1. 雞卵黃。
2. 乙醇。
3. 丙酮。

操作：

1. 將一個雞卵黃的 $\frac{1}{3}$ 份放於小燒杯內。
2. 在攪拌同時添加熱乙醇約15毫升。
3. 混合放冷後瀘入乾燥試管內。如瀘液混濁，則須反覆瀘過直到完全透明。
4. 向另一乾燥試管內加丙酮2—3毫升並滴入瀘液數滴，在丙酮內出現混濁是說明卵磷脂不溶於丙酮而下沉。
5. 向剩餘的瀘液內加入幾滴蒸餾水，可見到形成卵磷脂的穩固的乳狀液。

醣 的 代 謝

在許多食物內含有大量的醣。其中以易於被機體利用的澱粉為最有食用價值。纖維素對人體沒有多大意義，因為它在腸內不消化，而且幾乎不變的由糞排出。

由麵包及其它麵製品、馬鈴薯、糧穀類等食物進入體內的澱粉尤多。

醣類在生體消化道內消化後，以單糖形式吸收入血。一部分醣以多醣類即糖元形式儲存於肝或肌肉內。

體內醣主要以葡萄糖的形式隨血液運輸於全身，血液中糖（葡萄糖）的含量是十分恆定的，每100毫升血液中約含100毫克葡萄糖。有許多激素調節血糖的平衡，如胰島素使血糖降低，腎上腺素使血糖升高。

當某些疾病時（例如糖尿病）血糖量增高（高血糖），並且尿中出現糖（糖尿），所以血糖的定量和尿糖的定性，在臨床檢查上有重要意義。

肌肉和其它組織中的醣（動物澱粉和葡萄糖）為能量的主要來源。當氧氣供給充足時則醣氧化為二氧化碳及水，若氧供給不足時（例如強烈的勞動）則醣經無氧分解而產生乳酸，即所謂醣元酵解作用。學者們曾詳細地研究過醣酵解的過程，其過程是由許多不同的反應所構成，如分解、磷酸化作用、氧化及還原^①。

醣代謝的主要中間產物乃是一些葡萄糖及果糖的磷酸脂及它們的分解產物，乳酸、丙酮酸、二羧酸等。

醣在酵母及其它細菌的作用下而發酵也就是它受酶的作用而分解，這種分解與醣醱酵很相似，但有其特殊性。例如醣在乙醇發酵時產生乙醇和 CO_2 ，在乳酸發酵時產生乳酸，醋酸發酵時則產生醋酸等。

胰澱粉酶對澱粉的消化

隨食物進入消化道的澱粉和其它多醣類在口腔及胃內受唾液澱粉酶的作用〔唾液澱粉酶在胃內尚能繼續作用一些時間（胃液不含唾液澱粉酶）〕，並未達到完全分解。多醣

① В. А. Энтельгардт 氏, В. А. Белицер 氏, Д. Л. Чердман 氏 等曾研究醣代謝及磷酸化的過程。

類主要是在十二指腸內受胰澱粉酶的作用而水解。此時所產生的麥芽糖及其它貳醣類一併再受腸液的消化作用成爲單醣類。

- 器材： 1. 試管及試管架。
2. 保溫箱。
3. 溫度計。

- 試劑： 1. 1%澱粉液（用0.3%NaCl液作溶媒）。
2. 胰腺提取液或0.2%胰腺製劑溶液（用0.1%碳酸氫鈉爲溶媒）。
3. 胃液或1%胃蛋白酶液（用0.2% HCl爲溶媒）。（製法：見本書第144頁第15項）。
4. 10%苛性鈉液。
5. 1%硫酸銅液。
6. 10%鹽酸液。
7. 碘化鉀·碘溶液（製法：見本書第143頁第8項）。

操作：

1. 取三支試管記上號碼，其中各加澱粉液約1毫升。
2. 第一試管加胰腺提取液或胰腺製劑約3毫升，第二試管加胃液或胃蛋白酶液約3毫升，第三試管加預先用苛性鈉中和的胃液或胃蛋白酶液約3毫升。
3. 將三試管放置於37°—40°C恒溫箱中1½—2小時。
4. 由每個試管取其一部分內容物與碘化鉀碘溶液作澱粉的碘反應。從第一和第三管內所取出的內容物，在未加碘之前先加幾滴鹽酸使其酸性化（抑制酶的繼續作用——譯者）。

第一管內容物的反應將爲陰性即不出現藍色，但可能出現紫紅色（糊精）。第二和第三試管內容物的反應將爲陽性即出現藍色。

5. 用各試管內容物作 Trommer 氏反應（見本書第30頁）。在有胰腺製劑的試管內，因有澱粉酶的作用，對 Trommer 氏反應呈陽性，在中和及未中和的胃液試管內，對 Trommer 氏反應將現陰性。

Hegedorn-Jensen 氏血糖定量法

如前所述血中的含糖量雖十分恒定，但在某些疾病時，如糖尿病則血糖增高（高血糖）。

進食富有醣的食物後，同樣也發生血中葡萄糖量的升高（飲食性高血糖），但是這是暫時性的與病理的高血糖不同。

血糖的定量對臨床診斷有很大意義。

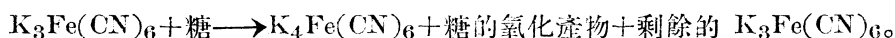
Hegedorn-Jensen 氏法可同時測定血液中糖及其它還原性物質（例如尿酸、肌酐

等)。當採用 Hegedorn-Jensen 氏法測血糖時所得到的血的一般的還原力，在正常空腹時動搖於70—110毫克%之間，即100毫升血液中含有0.07—0.11克。其實血糖含量稍低於此。

用 Hegedorn-Jensen 氏法測定血糖時血中其它還原物質也可隨之同時測出，這種情況雖然有些缺點但並不妨礙本法之應用，因為葡萄糖還原力畢竟較血中其它還原性物質佔優勢，並且當血中還原性物質比較顯著的改變時，在絕大多數情況下是由於葡萄糖量的改變所引起的。

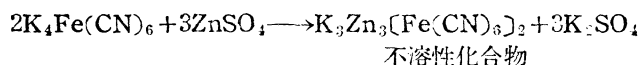
Hegedorn-Jensen 氏的原理如下：

首先要除去被檢血中的蛋白質。因此向血中加硫酸鋅及苛性鈉，並混合後煮沸濾過。其濾液內（含有糖的）加入一定量標準的 $K_3Fe(CN)_6$ 液（紅血鹽；鐵氰化鉀）。在此鹼性液加熱時該鹽類的一部分（決定於含糖量）則按下式變成 $K_4Fe(CN)_6$ （黃血鹽；亞鐵氰化鉀）：



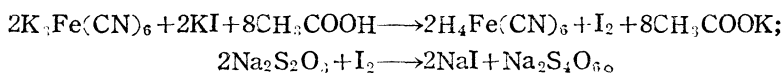
此時血糖的氧化程度是有差別的，這首先決定於被檢液內糖的濃度的不同，同時也決定於某些其它的原因。這也就是說，糖的量是與氧化紅血鹽的量相對應，其比例關係如特殊表所示（見後），並且在用本法時需要正確地操作（如準確的加熱時間等）。

其次將所生成的黃血鹽用硫酸鋅從反應系中以不溶性的化合物方式除去之，平衡式如下：



因此當進行釐定量時， $K_4Fe(CN)_6$ 不致呈可逆性而成為 $K_3Fe(CN)_6$ 以引起定量結果的錯誤。

用碘滴定所剩餘的標準 $K_3Fe(CN)_6$ 其反應式如下：



因此如果血糖多時，未消耗的 $K_3Fe(CN)_6$ 就剩餘的少，這樣游離出來的碘就少，結果用於滴定碘所消耗的硫代硫酸鈉的量也少。由此容易瞭解糖量和滴定所消耗的硫代硫酸鈉量不是正的關係而是逆的關係。但它不是精確的比例關係，因此利用特殊的由經驗確定下來的數字表以決定葡萄糖的量（已如上述）。

- 器材：
1. 100毫升（0.1毫升）微量吸量管兩個（吸量管應乾燥）。
 2. 試管及試管架。
 3. 金屬架（便於與試管同時放入沸騰水浴內）。
 4. 水浴。
 5. 四個玻璃漏斗（直徑3—4厘米）。

6. 小燒杯 (25×100毫米) 四個。
7. 金屬架 (便於和小燒杯同時放入沸騰水浴內)。
8. 1,2,3,和5 毫升的吸量管。
9. 2 毫升微量滴定管 (有0.001毫升的分度) 兩個。
10. Francke 氏針 (刺血用)。
11. 普通棉花。
12. 用蒸餾水重覆煮沸並經壓榨及乾燥的棉花 (過濾用)。
13. 紗布。

- 試劑:
1. 0.45% 硫酸鋅液。
 2. 0.1N 苛性鈉液。
 3. 0.005N 鐵氰化鉀鹼性溶液 (製法: 見本書第145頁第22項)。
 4. 氯·鋅·碘溶液 (製法: 見本書第145頁第23項)。
 5. 3% 醋酸液。
 6. 1% 澱粉液 (以純氯化鈉飽和溶液為溶媒)。
 7. 0.005N 硫代硫酸鈉液 (標定法: 見本書第145頁第24項)。
 8. 乙醇。
 9. 乙醚。
 10. 碘的酒精溶液。

操作:

1. 於四個試管各加入0.45% 硫酸鋅 5 毫升及0.1苛性鈉液 1 毫升。此時產生羥化鋅膠體液, 為以後除去血中蛋白質用。

2. 將四個試管全記上號碼。

對於一個完整的定量; 必須作兩個並行的定量 (No.1, No.2)及兩個對照定量 (No.3, No.4) 即為測定試劑還原性而作的無血液試劑的對照定量。

3. 用 Francke 氏針和微量吸量管從手指精確地取血液0.1毫升並擦去毛細管尖端周圍的血, 將血吹入裝有羥化鋅的一個試管 (No.1) 內。並仔細地用吸入和放出的方法洗微量吸量管三次。

4. 取另一乾燥的微量吸量管以同樣方式, 加入血液0.1毫升於另一試管 (No.2)。

5. 將上述的四個試管插入金屬架中, 而後一併放於沸騰水浴中三分鐘。

6. 取四個小燒杯並記上與試管相當的號碼。

7. 將四個漏斗垂立於各小燒杯內, 並將棉花稍稍壓實放於漏斗中。

8. 將試管內容物濾於號碼相當的各個小燒杯內。

9. 各試管用蒸餾水洗二次每次用 3 毫升, 並將洗液通過棉花濾過到相對應的小燒杯內。

10. 使洗液充分流入燒杯內。

11. 向每個燒杯內用微量滴定管精確地添加標準紅血鹽液 2 毫升。
12. 將四個小燒杯安放於架上，而後一併放在沸騰水浴內 15 分鐘。
13. 將小燒杯及其內容物放冷。
14. 每個小燒杯內各加氯·鋅·碘溶液 3 毫升及 3 % 醋酸 2 毫升。
15. 各小燒杯內滴加澱粉液 2 滴，將杯放在白的背景上（為易於識別顏色——譯者）由微量滴定管滴加硫代硫酸鈉液，滴定其內容物到藍色消失為止。
16. 根據表三作適當的計算。

表三 按 Hegedorn-Jensen 氏法所測定的糖量

硫代硫酸鈉 的毫升數	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
0.0	0.385	0.382	0.379	0.376	0.373	0.370	0.367	0.364	0.361	0.358
0.1	0.355	0.352	0.350	0.348	0.345	0.343	0.341	0.338	0.336	0.333
0.2	0.331	0.329	0.327	0.325	0.323	0.321	0.318	0.316	0.314	0.312
0.3	0.310	0.308	0.306	0.304	0.302	0.300	0.298	0.296	0.294	0.292
0.4	0.290	0.288	0.286	0.284	0.282	0.280	0.278	0.276	0.274	0.272
0.5	0.270	0.268	0.266	0.264	0.262	0.260	0.259	0.257	0.255	0.253
0.6	0.251	0.249	0.247	0.245	0.243	0.241	0.240	0.238	0.236	0.234
0.7	0.232	0.230	0.228	0.226	0.224	0.222	0.221	0.219	0.217	0.215
0.8	0.213	0.211	0.209	0.208	0.206	0.204	0.202	0.200	0.199	0.197
0.9	0.195	0.193	0.191	0.190	0.188	0.186	0.184	0.182	0.181	0.179
1.0	0.177	0.175	0.173	0.172	0.170	0.168	0.166	0.164	0.163	0.161
1.1	0.159	0.157	0.155	0.154	0.152	0.150	0.148	0.146	0.145	0.143
1.2	0.141	0.139	0.138	0.136	0.134	0.132	0.131	0.129	0.127	0.125
1.3	0.124	0.122	0.120	0.119	0.117	0.115	0.113	0.111	0.110	0.108
1.4	0.106	0.104	0.102	0.101	0.099	0.097	0.095	0.093	0.092	0.090
1.5	0.088	0.086	0.084	0.083	0.081	0.079	0.077	0.075	0.074	0.072
1.6	0.070	0.068	0.066	0.065	0.063	0.061	0.059	0.057	0.056	0.054
1.7	0.052	0.050	0.048	0.047	0.045	0.043	0.041	0.039	0.038	0.036
1.8	0.034	0.032	0.031	0.029	0.027	0.025	0.024	0.022	0.020	0.019
1.9	0.017	0.015	0.014	0.012	0.010	0.008	0.007	0.005	0.003	0.002

此表的用法和計算由下述實例即可明瞭：

假如滴定兩個裝有血液的小燒杯內容物（No.1 及 No.2）消耗硫代硫酸鈉 0.91 毫升和 0.92 毫升。可以按表在其第一個縱格中得到數值 0.9，而於上部橫格中得到 0.01 和 0.02。兩數的交叉點即相當於 0.193 和 0.191；取其平均值 0.192，其次如果滴定兩個對照的小燒杯內容物消耗硫代硫酸鈉 1.98 毫升和 1.97 毫升，則根據表格各相當於 0.003 及 0.005，取其

平均值為 0.004，由求出來的血糖量(0.192)中減去相當於試藥還原所消耗的糖量(0.004)則得 0.188；由是可知被檢血 0.1 毫升中含 0.188 毫克糖，即 100 毫升血含糖 188 毫克。

*糖耐量測定之血糖定量法

用 Hegedorn-Jensen 氏方法測血糖量其臨床意義很大，特別是在同時測定血液及尿（見本書 125 頁）中的含糖量時更為顯然。此外如果將此血糖定量利用於糖耐量實驗中則有很重大的價值。糖耐量實驗是檢查肝臟機能的實驗。

肝臟機能之糖耐量實驗的試法，是在最初半小時內檢查病人的血糖量三次（空腹），以後囑病人飲糖溶液按每公斤體重用 3 克糖計算，並且在服糖後經過 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 和 180 分鐘時陸續測定血糖量。將測定結果劃成曲線，並按曲線的特徵並參照其生臨床上的根據，以確定疾病的性質。於圖六內已劃出糖耐量實驗後體內血糖含量的四種曲線作為實例：

- I. 正常曲線。
- II. 糖尿病的曲線。
- III. 低位曲線。
- IV. 低血糖曲線^①。

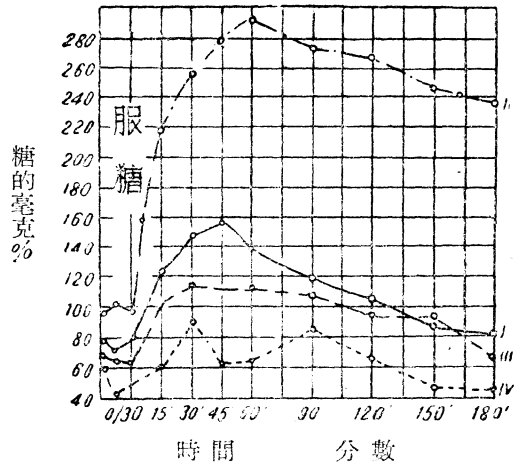


圖 6

胰島素對於血糖量的影響

胰島素是調節糖代謝的激素之一。胰島素製造自胰腺的藍格罕氏小島，而且是有蛋白性質的物質。用胰島素作皮下或靜脈內（但非口服）注射時可引起血糖量的降低。其降低是由於胰島素的刺激使肝和肌肉的葡萄糖合成動物澱粉並使組織的葡萄糖分解所致。依此作用胰島素廣泛地應用於治療糖尿病^②。

胰島素的生理單位是將胰島素注入事先飢餓 24 小時其體重為二公斤的家兔體內時，能引起其痙攣的量（胰島素性休克）。通常此時血中葡萄糖降低到約 45 毫克%。

① 根據 Петрунькина 氏 和 Петрунькин 氏。

② 1902 年 Л. В. Соболев 氏 首先發現了由胰腺獲取有效製劑的方法，並利用這種製劑來治療糖尿病。

- 器材： 1. 剪刀（剪家兔毛用）。
 2. 2—4毫升注射器（注射胰島素用）。
 3. 10毫升注射器（注射葡萄糖用）。
 4. 0.1毫升容量的乾燥微量吸量管五支。
 5. 小燒杯（稀釋胰島素用）。
 6. 0.1毫升分度的5毫升吸量管。

此外還需要有 Hegedorn-Jensen 氏血糖定量法所用的其它器材（見67—68頁）。

- 試劑： 1. 二甲苯。
 2. 市售的胰島素製劑（1毫升中40單位）。
 3. 40%葡萄糖液。

另外還需要 Hegedorn-Jensen 氏血糖定量法所用的全部試劑（見67—68頁）。

操作：

1. 秤量預先飢餓一晝夜的家兔體重。
2. 計算給家兔注射所需胰島素的量，其計算如下：

例如家兔體重二公斤。為使在一小時內發生相應的效果，必須按一公斤體重^①用1.5單位的比率而注射胰島素，即應對此家兔注射 $1.5 \times 2 = 3$ 單位的胰島素。因為市售的胰島素製劑1毫升含40單位，所以

$$1 - 40, x - 3, x = \frac{3}{40} = 0.075$$

即應對家兔注射0.075毫升胰島素製劑。但向注射器內吸取這樣少量的胰島素或向皮下注射皆不便於實施的，故應用以下方法操作：

用微量滴定管量取胰島素0.15毫升（即多一倍）放入小燒杯內，其中加入預先煮沸並冷卻的蒸餾水3.85毫升混合此溶液。則得到4毫升胰島素溶液，其次取此液2毫升^②給家兔注射。

3. 取4個附號碼的試管各加入0.45%硫酸鋅5毫升及0.1N苛性鈉液1毫升。
4. 用以二甲苯浸濕的棉花擦兔耳；後用溫水洗掉二甲苯，再用乾棉花擦乾兔耳，以後向耳靜脈內穿刺，並迅速地用微量吸量管吸取0.1毫升血液。
5. 擦掉微量吸量管尖端周圍所附着的血液，並迅速將此0.1毫升血液放入一個試管中。

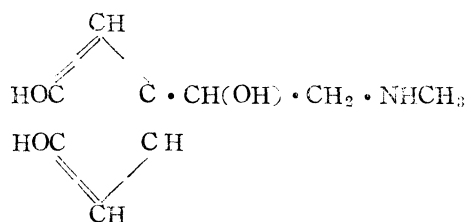
① 所以應用如此大的劑量是為能很快的引起低血糖，如果不即時給動物注入葡萄糖此劑量可產生致死的休克（見以下）。

② 也有市售的1毫升含有20個生理單位的胰島素製劑，當用此製劑時應按其含量進行計算。

6. 用另一乾燥的吸量管吸取0.1毫升血液並放入另一試管中，（見66頁“Hagedorn-Jensen”氏血糖定量法）^①。
7. 給家兔皮下注射預先準備好的胰島素溶液2毫升，並記錄注射的時間。
8. 繼續作完在注射胰島素前所採之血的糖定量。
9. 作完定量後再重新向四個乾燥的帶有號碼的小試管內各加入0.45%硫酸鋅液5毫升和0.1N苛性鈉液1毫升。
10. 給家兔注射胰島素後一小時，再由耳靜脈採血並將此血各0.1毫放入兩個試管內。
11. 向家兔皮下注射40%葡萄糖液10毫升使血糖升高，以預防胰島素性休克。
12. 繼續作完在注射胰島素後一小時所採之血的糖定量，比較注射胰島素前後的血糖含量，由於胰島素的作用，可見到血糖明顯的降低（低血糖）。

腎上腺素對血中糖量的影響

腎上腺素是腎上腺髓質的激素，其本身又是甲基氨基乙醇鄰苯二酚。



腎上腺素能作用於醣代謝，但與胰島素的作用相反，當機體注入腎上腺素時則引起高血糖症與糖尿。可見腎上腺素與胰島素在調節醣代謝上具有重要作用^②。

- 器材：
1. 剪子，剪平兔毛用。
 2. 注射器，容積2—4毫升注射腎上腺素用。
 3. 微量吸量管四支，容積為0.1毫升。
 4. 小燒杯，稀釋腎上腺素用。
 5. 分度為0.1毫升的5毫升吸量管。

此外還需有 Hagedorn-Jensen 氏血糖定量法所用的其它器材（見本書67—68頁）。

- 試劑：
1. 二甲苯。
 2. 市售的腎上腺素製劑（1:1,000）。

① 裝血液的試管可以放置數小時，並不影響測定結果，因為羧化鋅能抑止糖酵解。

② A. M. Утевский 氏曾研究腎上腺素及其衍生物在神經興奮傳導上的作用。

3. 0.9% 氯化鈉的水溶液。

此外尚需 Hagedorn-Jensen 氏血糖定量法所用的其它的藥品（見本書68頁）。

操作：

1. 秤量預先飢餓一晝夜的家兔體重。
2. 其次確定此兔注射腎上腺素的需用量，為此須進行以下的計算。

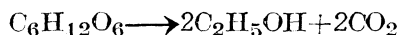
設家兔體重二公斤。為獲得預期效果，應按家兔體重每公斤相當於腎上腺素製劑（1:1,000）0.37毫升計算來注射，即對此兔注射 $0.37 \times 2 = 0.74$ 毫升。因為用注射器採取如此數量的腎上腺素並注入皮下頗不方便，故按以下方式進行。

用吸管量吸取腎上腺素製劑1.5毫升（ $0.74 \times 2 = 1.48$ 使歸成整數1.5，即二倍多一些），於小燒杯中再加0.9%氯化鈉水溶液2.5毫升並混合之。如是得到4毫升的腎上腺素溶液，然後取其2毫升對上述家兔注射。

3. 取記有號碼的試管四支，各加入0.45% 硫酸鋅液5毫升及0.1N 苛性鈉液1毫升。
 4. 由家兔的耳靜脈採血，並於兩支試管中各加此血0.1毫升。
 5. 將事先準備好的腎上腺素液（第2項）2毫升注射於家兔皮下，並記錄注射時間。
 6. 另取四個記有號碼的試管，各加入0.45% 硫酸鋅液5毫升及0.1N 苛性鈉液1毫升。
 7. 在家兔注射腎上腺素後30分鐘，再由耳靜脈採血，並將此血加於兩支（第6項）試管中各0.1毫升。
 8. 繼續並完成在腎上腺素注射前後（隔30分鐘）所採血液的血糖定量。
- 比較注射腎上腺素前後的血糖含量，可以看出血糖含量因腎上腺素的作用顯著升高（高血糖症）。

醱 酵 試 驗

如前所述，某些單糖由於各種微生物的酶的影響而引起各種各樣的分解，即所謂醱酵作用。例如：葡萄糖當受普通酵母作用時，則主要被分解成酒精與二氧化碳：

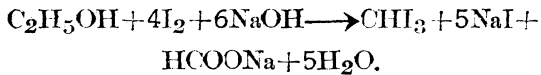


能進行生醇醱酵的醱，有三碳醱，六碳醱與九碳醱。其它單醱（如五碳醱）則不能醱酵。

此外，不同構型的單醱，各反映其不同的醱酵能力。例如：己醱的兩種光學異構體，其中存在於自然界者易於醱酵。

作醱酵的定性實驗常用特殊的醱酵管，（第7圖）向其中放入檢驗液與新鮮酵母，在醱酵的結果所形成的二氧化碳氣蓄積在管中並用鹼液吸收此氣體即可證明。管內乙醇

的存在，用生成碘仿的反應可證明：



醱類的醱酵，對於釀造葡萄酒，啤酒及醋等具有很大的工業意義。

- 器材：
1. 醱酵管兩支。
 2. 乳鉢及杵。
 3. 燒杯兩個。
 4. 量筒。
 5. 保溫箱。
 6. 溫度計。
 7. 試管及試管架。
 8. 小漏斗。

- 試劑：
1. 新鮮酵母。
 2. 5% 葡萄糖水溶液。
 3. 1% 酒石酸液。
 4. 10% 苛性鈉液。
 5. 碘化鉀·碘溶液（製法：見本書第143頁第8項）。

操作：

1. 取酵母1克及蒸餾水5毫升，在乳鉢中磨成糊狀，而後用30毫升蒸餾水將其洗入另一燒杯中。
2. 仔細混勻並加入1%酒石酸液約1毫升（至對石蕊素呈明顯的酸性反應為止）。
3. 將上杯內容物，傾注於醱酵管中，使其充滿管之彎曲部及其頂端，並使管的擴大部也存有一些液體。將此管做為對照管，因酵母本身可能含少許能被醱酵的醱。
4. 其次取酵母1克及待檢的葡萄糖液5毫升在乳鉢中磨成糊狀，另用30毫升待檢的葡萄糖液，將此糊洗入燒杯中。
5. 仔細混勻並加入1%酒石酸（至對石蕊素呈明顯的酸性反應為止）。
6. 用上述方法，將杯中內容物傾注於另一醱酵管中。
7. 置此醱酵管於30—35°C的保溫箱中，放置2—3小時。
8. 經2—3小時後，從保溫箱中取出二醱酵管，如酵母有活性且其本身不含可被醱酵之醱時，則在第一管頂端就無氣體（或出現極小的小氣泡）；而在第二管（有葡萄糖之管）的頂端則存有氣體。

9. 為了證明在第二管中所產生的氣體是 CO_2 氣，可按下述進行。

在醱酵管擴大部小心地加入10% NaOH 液，達於上緣，用拇指緊緊按住其開口，並將管倒轉數次。 CO_2 氣被鹼吸收而成真空，則拇指被吸着於管之開口。



圖 7

- 試劑： 1. pH=8.0的磷酸鹽緩衝液（製法：見本書第146頁第25項）。
 2. 0.5%的動物澱粉液（製法：見本書第146頁第26項），或0.5%澱粉液。
 3. 新鮮的肌肉糜（製法：見本書第146頁第27項）。
 4. 15%偏磷酸液。
 5. 液體石蠟油。
 6. 氫氧化鈣。
 7. 飽和硫酸銅液。
 8. 濃硫酸。
 9. 白黎蘆素（Veratrol，即磷苯二酚的二甲基酯）。

操作：

1. 取試管兩枝，各加磷酸緩衝液 3 毫升。
 2. 第一管加入蒸餾水 1 毫升，第二管加 0.5% 動物澱粉或澱粉液 1 毫升。
 3. 第一管（做為含有乳酸的肌肉糜之對照管）加偏磷酸液 2 毫升（用以沉澱蛋白及停止酶的反應）。
 4. 兩試管各加新製的肌肉糜 0.5 克，用一層（2—3 毫米）凡士林油封上。
 5. 置兩試管於 37°C 保溫箱中，放置 2 小時。
 6. 二小時後取出，於其第二管加偏磷酸液 2 毫升，（邊攪拌邊添加）使蛋白質沉澱。
 7. 濾過每個試管內容物。
 8. 量取各管之無蛋白質濾液各 4 毫升，於另外兩試管中，並各加氫氧化鈣 0.35 克及飽和硫酸銅液 1 毫升，而使醣沉澱。用玻璃棒充分攪拌每試管中之內容物，並放置 30 分鐘，時時混合之。
 9. 濾出所生成之沉澱物。
 10. 取每個管的濾液 0.5 毫升，注於其它兩試管中，並放在冰中冷卻。
 11. 用小量筒仔細滴加濃硫酸 1.5 毫升於每個試管中。
 12. 置二試管於沸騰水浴中，放置 4 分鐘。
 13. 4 分鐘後，將兩試管移於冰中冷卻 2 分鐘。
 14. 兩管中各加入白黎蘆素 4—5 滴，仔細振盪，並靜置 20 分鐘^①。
- 在第二個試管（產生醣分解的管）出現深紅色，在第一個試管可見到較淺的紅色，這是由於肌肉糜中預先生成乳酸的緣故。

II. 用肌肉提取液的糖元酵解作用

肌肉提取液的糖元酵解作用，可以在有氧條件下進行，此過程可由重碳酸鹽與乳酸作用而產生 CO_2 之蓄積證實。乳酸可用上述的與白黎蘆素之反應以證明之。

① 白黎蘆素在 15°C 時即凝固，因此若白黎蘆素已成結晶，則應加溫使之熔化。

- 器材：
1. 醱酵管（第74頁圖7）三個。
 2. 10毫升刻度吸量管。
 3. 2毫升吸量管。
 4. 保溫箱附有溫度計。
 5. 試管及試管架。
 6. 小漏斗三個。
 7. 盤一個，內盛冰塊。
 8. 水浴。
 9. 普通天秤（帶小砝碼的）。
 10. 小量筒。
 11. 滴定管三支。
- 試劑：
1. 新鮮肌肉提取液（製法：見本書第146頁第28項）。
 2. 0.4M 重碳酸鈉液。
 3. 4% 澱粉液。
 4. 10% 苛性鈉液。
 5. 麝香草酚細粉末。
 6. 15% 偏磷酸液。
 7. 氫氧化鈣。
 8. 飽和硫酸銅液。
 9. 濃硫酸。
 10. 白黎蘆素。

操作：

1. 取醱酵管兩個，各加新鮮肌肉提取液 8 毫升，另取第三醱酵管加預先煮沸的肌肉提取液 8 毫升。
2. 以上三管中各加入重碳酸鹽液 2 毫升。
3. 第一醱酵管中再加 2 毫升水（對照用），第二與第三管各加 2 毫升澱粉液。
4. 三個管各加麝香草酚粉末約 20 毫克，以防止微生物的繁殖。混合每一醱酵管中之內容物，並將三管放置 37°C 保溫箱中 1—2 晝夜。
5. 1—2 晝夜後將管取出。注意第二管中所蓄積的氣體，而在第一管（對照管）及第三管（其中肌肉提取物已預先煮沸）中，則無氣體或僅有少量氣體。
6. 確證在第二管中所放出之氣體為 CO_2 （由苛性鈉吸收 CO_2 可證明，見本書第 74 頁第 9 項）。
7. 用白黎蘆素反應證明乳酸，由各醱酵管中量取其液體 4 毫升於三個試管中，每個試管內加入偏磷酸液 2 毫升，以後按以肌肉糜為試料時之試法進行實驗（見本書第 76 頁 7—14 項）。

蛋 白 質 代 謝

蛋白質是人類及動物食物的必要成分。

大量的蛋白質含於多種動物性食品（肉、卵、牛乳渣、乾酪等）及某些植物性食品（豌豆、扁豆、大豆、醬油等）中，幾乎在所有食品中都含有少量的蛋白質。

蛋白質在胃中被胃蛋白酶消化成爲分子頗大的物質即朊。在十二指腸內由於胰蛋白複合酶類（Трипсиновый комплекс ферментов）的作用，蛋白質及朊則更進一步被消化，在小腸內由於肽酶的作用而消化成氨基酸及最簡單的肽。

蛋白質分解產物如 E. C. Лондон 與 H. П. Кочнева 二氏所示，是以氨基酸及最簡單肽的形式而吸收。

紅血球中的氨基酸其濃度經常是比其周圍血漿內之濃度爲高。氨基酸的濃度在紅血球中雖有動搖，而在血漿中則常保持一定的水平（約6—8毫升%）。如 B. И. Збарский 氏及其共同工作者所示，大部份氨基酸被血中紅血球運搬，因而紅血球可調節血漿中的氨基酸量。

隨血液運到組織的氨基酸，用以合成蛋白質。其餘未合成蛋白質的氨基酸與組織中蛋白質分解而生成的氨基酸，共同地蒙受許多的變化。這些變化中佔最重要地位的是 A. E. Браунштейн 與 M. Г. Крицман 二氏所發現的氨基轉換過程即氨基移換作用。

當氨基酸在組織內分解時，以氨的形式脫去其氨基氮。此氨一部分與酸結合，以銨鹽的形式由尿排出。大部分的氨則變成尿素，尿素是人類蛋白質代謝的主要最終產物^①此外氮又以肌酐，尿酸及其它物質的形式排出。

胃蛋白酶對蛋白的消化

胃蛋白酶是分解蛋白的酶，能在酸性環境中（pH=1.5—2）水解蛋白質成朊。

胃蛋白酶是胃液中最主要的酶。胃蛋白酶對蛋白的消化作用，能由其消化纖維蛋白而清楚地看出，纖維蛋白受胃蛋白酶的作用分解爲朊，而成爲可溶性物質。

器材： 1. 試管及試管架。

① M. B. Пенцкий 氏曾詳盡地研究尿素生成的過程。

2. 水浴。

3. 溫度計。

試劑：1. 纖維蛋白。

2. 1%重碳酸鈉液。

3. 0.2%鹽酸液。

4. 胃液或0.1%的胃蛋白酶在0.2%鹽酸液中的溶液。

操作：

1. 取四支試管記上號碼，並向第一試管中加0.2%的鹽酸液約4毫升；第二管加胃液約4毫升（或0.2%鹽酸與胃蛋白酶的溶液）；第三管內加入用蘇打中和好的（用石蕊素作指示劑）胃液約4毫升（或純胃蛋白酶液亦可）；第四管內加預先煮沸並冷卻的胃液約4毫升（或同樣煮沸冷卻的0.2%鹽酸之胃蛋白酶液）。

2. 各管中加入一小塊等大的纖維蛋白。

3. 將以上各試管同時放入37—40°C的水浴中。

4. 經半小時或一小時後，從水浴中取出試管，觀察其變化結果。在第一試管經酸的作用應僅僅發生纖維蛋白的膨脹；在第二試管則纖維蛋白被消化（溶解）；在第三試管纖維蛋白無改變；在第四試管中的纖維蛋白發生膨脹。

胰蛋白酶對蛋白的消化

胰與蛋白質由於胰蛋白酶的作用而水解。其水解比較完善，直到產生一部分的游離氨基酸為止（例如色氨酸）。胰蛋白酶的作用至適條件為弱鹼性反應（ $\text{pH}=8-8.7$ ）。

通常胰蛋白酶分解蛋白質較胃蛋白酶為快。但胃蛋白酶分解血清蛋白和結締組織的蛋白則較快。胰蛋白酶對蛋白質的消化作用，可由其消化纖維蛋白或酪蛋白而看出。此類蛋白由於胰蛋白酶的作用，而發生完全的水解。

I. 纖維蛋白的消化：

器材：1. 試管及試管架。

2. 水浴。

3. 溫度計。

試劑：1. 纖維蛋白。

2. 1%鹽酸液。

3. 胰蛋白酶提取液的碳酸鈉液（製法：見本書第146頁第29項）或溶於0.5%重碳酸鈉液的2%胰酶製劑。

操作：

1. 取三支試管記上號碼，並做以下處理：第一試管中加入約4毫升的胰蛋白酶或胰酶製劑溶液（鹼性）；第二試管中加入約4毫升預先用鹽酸中和的（用石蕊素作指示劑）

胰蛋白酶或胰酶製劑溶液；第三試管中加入約4毫升酸性的胰蛋白酶或胰酶製劑溶液。

2. 各試管加入約同等大的纖維蛋白一小塊。
3. 將以上各試管，連同其內容物同時放於37—40°C的水浴中。
4. 經過半小時或一小時後，由水浴中取出各管，並觀察結果。在第一試管應發生纖維蛋白的消化（溶解）。其餘試管則觀察不到消化（溶解）現象。僅在第三試管中能觀察到纖維蛋白的膨脹。

II. 酪蛋白的消化：

- 器材：
1. 100毫升的錐形瓶。
 2. 試管及試管架。
 3. 漏斗。
 4. 保溫箱。
 5. 溫度計。
 6. 棉花。

試劑：1. 胰蛋白酶提取液的碳酸鈉溶液（製法：見本書第146頁第29項）或2%的胰酶製劑溶液（用0.5% NaHCO_3 為溶媒）。

2. 酪蛋白（可用牛奶渣代替）。
3. 氯仿。
4. 濃醋酸（冰醋酸亦可）。
5. 溴水。
6. 濃硫酸。
7. 15% 硫酸汞液（用6 NH_2SO_4 為溶媒）。
8. 濃硝酸。
9. Millon 氏試劑（製法：見本書第143頁第2項）。

操作：

1. 取錐形瓶一個加入胰蛋白酶提取液25—30毫升（或胰酶製劑溶液），再加酪蛋白3—5克。

2. 混合後加 CHCl_3 約5毫升（防腐用），用棉花塞上瓶口，置於37—40°C的保溫箱中4—5晝夜（到下次課）。

3. 在下次課（經過數日後）取出錐形瓶加熱至沸騰，當沸騰時滴加醋酸直到呈弱酸性反應為止。此時未被消化的蛋白即行沉澱。

4. 將錐形瓶放入冷水中冷卻，並濾過以除去蛋白質。

5. 取一部分濾液（3—4毫升）於試管中，滴加溴水。出現紅紫色，此色在加過量的試劑即消失時，則表示有游離的色氨酸存在。

6. 取另一部分濾液（約2毫升），和濃硫酸約10滴及硫酸汞的硫酸溶液5—6毫升，混合之放置10—15分鐘。

7. 將其生成的色氨酸與水銀化合物的黃色沉澱物濾除，而保存其濾液，並用少量蒸餾水（每次1—2毫升）洗漏斗四、五次。

8. 用少量的水（約0.5毫升）把沉澱物洗於試管中。將沉澱物及濾液分為三份，並用各份沉澱物與濾液做 Adamkiewicz 反應。Millon 氏反應及蛋白黃色反應（詳見前呈色反應）。

注意沉澱物出現 Adamkiewicz 反應及黃色蛋白反應的陽性結果，與 Millon 氏反應的陰性結果。這些事實說明有色氨酸的存在，而無酪氨酸的存在。

濾液出現黃色蛋白反應與 Millon 氏反應的陽性結果，及 Adamkiewicz 反應的陰性結果，是說明濾液中存有酰胺酸而無色氨酸。

黃色蛋白反應（尤其是在用沉澱物時）的呈色較慢（通常須隔15—20分鐘）。

※腸肽酶對胰的作用

如所週知，腸肽酶是腸液中蛋白酶的複合物，其中包括氨基多肽酶、二肽酶及某些其它酶類。腸肽酶能將胰及多肽類水解成游離氨基酸，由腸吸收進入血液。

- 器材：
1. 試管及試管架。
 2. 保溫箱。
 3. 溫度計。
 4. 漏斗。

- 試劑：
1. 小腸提取液（製法：見本書第146頁第30項）。
 2. 1% 胰溶液。
 3. 10% 苛性鈉液。
 4. 1% 硫酸銅液。

操作：

1. 取胰液約5毫升於兩支大試管中。
2. 其一試管加入小腸提取液約10毫升，而另一試管加入同量預先煮沸的小腸提取液。置兩試管於37°C保溫箱中3—4日（到下次課）。
3. 到下次課時，取出兩試管，加熱至沸騰，並過濾之。
4. 取各管濾液作雙縮脲反應。

在事先煮沸提取液的試管中，因胰未被消化，故做雙縮脲反應呈紅紫色。而未事先煮沸提取液的試管則胰已消化，其雙縮脲反應呈陰性或稍呈色，這是由於胰尚未完全被消化所致。

體液蛋白質的除去與蛋白氮及非蛋白氮的測定

吸收後的氨基酸在器官與組織中受到各種變化。一部分的氨基酸用為構成器官與組織的蛋白質；一部分則變成其它生理上重要的含氮物質（酶、激素等）；另一部分則被分解。由於此等合成分解的過程，各種含氮物質經常存在於組織及體液中。特別是在血液中有蛋白質、多肽、氨基酸、尿素、肌酐、尿酸、銨鹽等含氮物質。

這些含氮物質的每一成分的定量，對於研究蛋白質代謝都極為重要。然而由於此類物質的分析是相當複雜的，故在臨床上常限於測定血清中總氮及非蛋白氮。

通常先做總氮量，即測定所有含氮物質中的氮。而後用另一份血清以某種沉澱法除去其中之蛋白質。用無蛋白濾液重新測定非蛋白含氮物質的氮，非蛋白氮就是除蛋白後的溶液中剩餘物質的氮。為了與總氮區別而特稱之為非蛋白氮。如由總氮中減去非蛋白氮的量，即得出蛋白質中含的氮量。

因此，要測定非蛋白氮，必須先由血液、血清、組織或其它體液的提取液中除去蛋白質。

在測定某些非氮化合物時，如糖及其它低分子代謝產物，也必須先除去蛋白質。此時係因蛋白質能妨礙分析的進行，所以在實驗時必須先將蛋白質除去。

首先應熟習由生物液體除去蛋白質的方法。

I. 體液蛋白質的除去法：

蛋白質的除去利用一系列的基於蛋白沉澱反應的方法（第13頁）。

最常用的方法是用三氯醋酸，鎢酸或偏磷酸。使蛋白沉澱的方法，並且也採用加醋酸煮沸的沉澱法（有鹽類存在時）及用重金屬銜化物的沉澱法。

茲就血清除去蛋白的方法舉例如下：

器材： 1. 試管及試管架。
2. 漏斗。

試劑： 1. 用水稀釋成5—6倍的血清。
2. 8%三氯醋酸。
3. 10%偏磷酸。
4. 5%鎢酸鈉溶液。
5. $\frac{1}{3}$ N硫酸。
6. 10%醋酸。
7. 4.5%硫酸鋅液。
8. 4%苛性鈉液。
9. 濃硝酸。
10. 20%硫代水楊酸。

操作：

1. 取試管五支附以號碼，各加稀釋血清約 5 毫升。
2. 第一試管加三氯醋酸液約 5 毫升並振盪之。
3. 第二試管加偏磷酸液約 1 毫升並振盪之。
4. 第三試管加鎳酸鈉液約 1 毫升及硫酸約 1 毫升並振盪之。
5. 第四試管加 10% 醋酸 10—15 滴，並謹慎地煮沸之。
6. 第五試管加硫酸鋅液約 5 毫升及苛性鈉液約 1 毫升並煮沸之。

以上各試管中，全產生蛋白沉澱。

7. 濾除每一試管中的蛋白沉澱。

8. 取各管的濾液，而後各用硫代水楊酸及濃硝酸，作蛋白質沉澱反應(16—17頁)，若濾液的蛋白反應為陰性，則表示體液中的蛋白已完全除盡。

II. 血清總氮及非蛋白氮的定量：

在臨床上常作血清總氮與非蛋白氮的定量。

正常人的血清中含總氮 1060—1300 毫克% 與非蛋白氮 20—40 毫克%。因總氮量是蛋白氮與非蛋白氮之和，所以蛋白氮可由總氮中減去非蛋白氮而得出。蛋白氮在正常血清中約含 1150 毫克%。

蛋白氮的值，能表示血清中蛋白質的含量。蛋白質中氮的含量平均為 16%，所以將蛋白氮的值乘以 6.25 ($100:16=6.25$) 即得出蛋白質的含量。

在正常血清中約含 7.2% 的蛋白質。風濕病及某些其它病時則血清中蛋白質含量增高(高蛋白血)。腎小管變性，消瘦，蛋白性飢餓以及癌時其含量降低(低蛋白血)。

非蛋白氮的含量(主要包括氨基酸、肽、尿素以及銨鹽的氮)在患有蛋白分解增高的某些疾病時則升高，如患熱病，腎小管變性，黃色肝萎縮及肝臟其它疾病，腎臟病及無機鹽代謝障礙等。

測定總氮及非蛋白氮，通常採用 Kjeldahl 氏法。此法如下述：

將被檢物置於特殊的燒瓶(Kjeldahl 燒瓶)中，加濃硫酸與接觸劑(硫酸銅或硫酸汞)並加熱。此時被檢物即被破壞。已破壞的產物一部分揮發，但是全部氮都以氨的形式而游離出來，並與硫酸結合生成不揮發性鹽即硫酸銨。此硫酸銨而後用鹼處理，以便自硫酸銨中將所有的氮再以氨的形式釋放出來。蒸餾氨並用一定量的硫酸標準溶液收集氨。經滴定後可知有若干毫升的 0.05 N 硫酸與氨結合，並根據 0.05 N 硫酸 1 毫升相當於 0.0007 克的氮即能算出被檢物中所含的氮量。

- 器材： 1. 試管及試管架。
2. 25—50 毫升的小燒瓶三個。

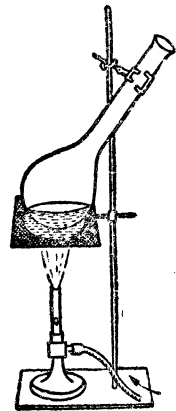


圖 8

3. Kjeldahl 燒瓶，燒灼檢驗品用（圖 8）。
4. 蒸餾氮之裝置（圖 9）。

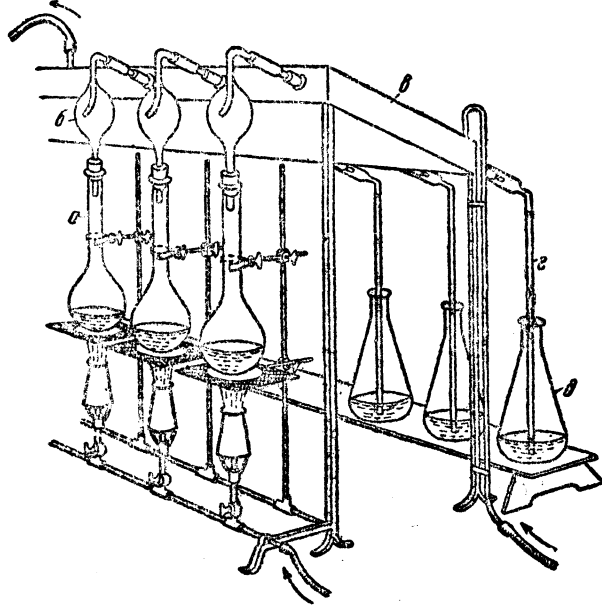


圖 9

5. 10毫升刻度吸量管。
6. 盛有蒸餾水的滴定管。
7. 3毫升吸量管。
8. 1毫升吸量管。
9. 10—15毫升量筒。
10. 25—50毫升量筒。

- 試劑：
1. 濃硫酸（比重1.84）。
 2. 結晶硫酸銅。
 3. 33%苛性鈉液。
 4. 0.05 N 硫酸標準溶液。
 5. 0.05 N 苛性鈉標準溶液。
 6. 0.2% 甲基橙或甲基紅酒精液。
 7. 硫酸鉀粉末。
 8. 小瓷片（新灼燒的）或毛細玻璃管。¹
 9. 8% 三氯醋酸液。

操作：

1. 量取血清10毫升於錐形瓶中，加8%三氯醋酸10毫升使蛋白沉澱。
 2. 向另一乾燥的錐形瓶中過濾瓶中內容物以除去蛋白質沉澱。
 3. 再取另一小錐形瓶，量加血清1毫升蒸餾水9毫升並混合之。
 4. 量取10毫升無蛋白血清濾液，於第一號 Kjeldahl 瓶中(測定非蛋白氮)。第二號 Kjeldahl 瓶中用吸量管加10倍稀釋的血清3毫升(測定總氮)。第三號 Kjeldahl 瓶中加10毫升蒸餾水，作為空白實驗(用以對照試劑中的含氮量)。
 5. 每個 Kjeldahl 瓶中，用量筒各加濃硝酸3毫升。
 6. 每瓶再各加硫酸銅0.2克及硫酸鉀約1克，用以提高混合物的沸點。
 7. 將以上三個 Kjeldahl 瓶放在通風櫥(Hood)內加熱，最初用微火，以後加強火，直至液體完全透明為止(無絲毫碳存在)。在此過程中首先有機物開始碳化，而後將碳燒盡，待液體透明以後繼續加熱15分鐘。
 8. 停火，取下燒瓶冷卻之，在攪拌其內容物的同時順着瓶壁慢慢加入蒸餾水約50毫升。以後用圖9所示裝置蒸餾氨。
- 如燒灼時用的是小 Kjeldahl 瓶，則驅逐氨時應用另一個燒瓶。因此將其內容物傾於驅逐氨用的燒瓶(a)中。並以少量蒸餾水仔細反覆沖洗 Kjeldahl 瓶數次，洗液一併傾注於驅逐氨用的燒瓶中。
9. 準備好作接受器的燒瓶(д)，用滴定管準確地量加0.05N H_2SO_4 10—15毫升於燒瓶(д)中，硫酸標準溶液的量應稍多於要結合被驅逐出的氮量。
 10. 加2—3滴的甲基紅或甲基橙液於接受氨的燒瓶中。
 11. 安裝驅逐氨裝置的冷卻器(в)，使其導管(г)末端浸入於接受燒瓶的硫酸中，其深度應伸入硫酸標準溶液面下數毫米處^①。
 12. 在蒸餾氨的瓶內加碎瓷片數小塊，或毛細玻璃管數根，以使勻等的沸騰。
 13. 沿蒸餾氨的瓶壁仔細加33%苛性鈉液15—18毫升，添加時應謹慎迅速以免損失氨。
- 在添加鹼液時尚應避免將燒瓶口上部內面(以後蓋軟木塞處)浸濕。此處必須無鹼才能保證軟木塞蓋穩而不致在實驗中衝掉。
14. 迅速而仔細地連接驅逐氨瓶於驅出裝置，而後輕輕混合瓶內容物。
 15. 點燃燈火，並向接受燒瓶中驅逐氨12—15分鐘。當接續管(б)的球部變熱時，即可認為已開始驅逐氨。然後從酸液中取出導管(г)末端，並繼續驅逐10—15分鐘。
 16. 用紅色石蕊試紙可確證氨完全被蒸餾(滴一滴蒸餾液於試紙並不變藍)。

① 為避免經滴定的酸逆流於驅逐瓶內，應當注意驅逐瓶的末端，在驅逐過程中不應浸入標準酸液的液面下過深(不深於2—3毫米)。

17. 用少量蒸餾水洗接受燒瓶導管末端，停火並摘下冷凝器。

18. 用0.05 N 鹼液滴定接受燒瓶中之液體，直到甲基紅呈黃色或甲基橙呈橙色為止。

19. 其餘二燒瓶的分析法，由本操作第八項起與上述操作同時進行（測定總氮及實施空白試驗）^①。

20. 按下例進行計算：

設曾放於接受燒瓶中的 0.05 N H_2SO_4 為15毫升。滴定空白實驗時消耗 0.05 N NaOH 液 14.93毫升。滴定非蛋白氮時消耗 0.05 N NaOH 液 12.53毫升，則與氮結合的硫酸應為： $14.93 - 12.53 = 2.40$ 毫升 0.05 N H_2SO_4 。因 0.05 N H_2SO_4 1 毫升能結合 0.7 毫克的氮（以氮的形式），所以在 10 毫升的稀釋二倍的血清濾液（在沉澱蛋白時稀釋的）中應含氮量為 $0.7 \times 2.4 = 1.68$ 毫克氮。由此得出每 100 毫升血清中含非蛋白氮為：

$$\frac{1.68 \times 2 \times 100}{10} = 33.6 \text{ 毫克 \% 非蛋白氮。}$$

設滴定總氮時消耗 0.05 N NaOH 液 10.18 毫升。因此有 $14.93 - 10.18 = 4.75$ 毫升的 0.05 N H_2SO_4 與氮結合。由此得知 10 倍稀釋的血清 3 毫升含氮量為 $0.7 \times 4.75 = 3.325$ 毫克；或每 100 毫升血清中含總氮量為： $\frac{3.325 \times 10 \times 100}{3} = 1108.3$ 毫克 % 氮，或化整為 1.11 % 總氮。

血清中蛋白氮的百分數可由總氮與非蛋白氮之差計算出來即是： $1.1083 - 0.0336 = 1.0747\%$ 。

由此可知血清中含 $1.0747 \times 6.25 = 6.716875\%$ 蛋白或化整為 6.72 % 蛋白。

Бородин 氏尿中尿素定量法

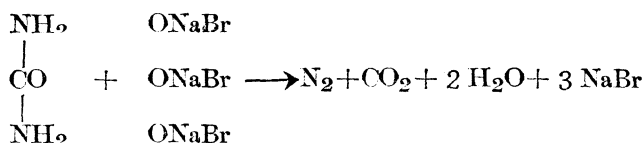
健康成人一晝夜由尿中排出尿素約 30 克。通常由於食物的質及量的不同可在以上數值左右變動。此外在病態如熱病時，尿中尿素的量顯著升高，而在某些肝疾患時則降低。

在一晝夜內尿中尿素的排出是不平均的，所以偶然測定一次尿的尿素量沒有臨床意義。必須計算一晝夜內所排出的尿素量。因此應收集一晝夜內所排出的尿測定其容量然後取此混合尿一部份，以定其尿素量。

Бородин 氏尿中尿素定量法如下：

尿素溶液與次亞溴酸鈉液互相作用，則按以下反應式而分解成氮與二氧化碳：

① 因為測定所有的實習材料，需時很久，所以測定非蛋白氮、總氮、與空白實驗時可使學員分頭同時進行操作。



若反應在氫化鈉溶液中進行，則形成的二氧化碳與鹼結合而成碳酸鈉。在此種情形下，只有氮以氣體狀態排出。測量排出氮的容積再換算成在0°C及760mm Hg 壓力下的容積。已知其容積便能算出排出氮的重量，再以此氮量計算出尿素的重量。

必須指出，用 Бородин 氏法測定尿素氮時，所釋放出來的氮不單純是尿素氮，而且尚有一部分肌酸酐，尿酸及某些其它化合物的氮。此外能形成少許不被鹼吸收的一氧化碳。另一方面尿素中所含的氮並不能全部排出來。結果，Бородин 氏的尿中尿素定量法，由於其對立的誤差能在某種程度內得到均衡，因此用於臨床檢查上相當準確。

- 器材：
1. 氣壓計。
 2. 溫度計。
 3. 50毫升量瓶。
 4. 5 毫升吸量管。
 5. 10毫升吸量管。
 6. 比重計（測尿比重用）。
 7. 小量筒（測尿比重用）。
 8. Бородин 氏裝置（10與11圖）。

裝置由下面各部組成：刻度玻璃管 AB，短而寬的玻璃管 B 與膠皮管 Г。刻度管

AB 是由兩部組成的，兩部之間有玻璃塞。在塞的末端(a)套上帶夾子的短膠皮管。如圖所示，塞子有二通路一方面能使 A與B 相通，另一方面又能使液體由A流出器外。用兩個夾子將 Бородин 氏裝置固定於金屬架上。

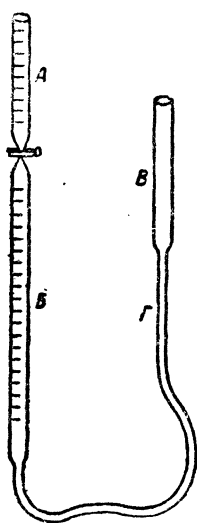


圖 10

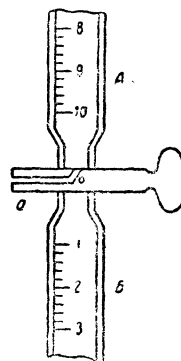


圖 11

- 試劑： 1. 2% 鹽酸液。
2. 次亞溴酸鈉（製法：見本書第146頁31項）。
3. 飽和 NaCl 液（加碳酸鈉變鹼性並濾過）。

操作：

1. 先用稀鹽酸洗 Бородин 氏裝置，而後再用蒸餾水洗，洗時可扭轉活塞使 A 與 B 相通。其次使稀鹽酸通過 B 管充滿整個裝置並高舉和低放 B 管數次，此後由 B 管將鹽酸倒出。最後再用蒸餾水以同樣方法沖洗之。

2. 用飽和 NaCl 液充滿 Бородин 氏裝置。經 B 管裝入 NaCl 溶液時，B 管應舉高；並轉動活塞使 A 與 B 通。注入的氯化鈉液應直到充滿 Г，B 與 A 的一部分為止。在裝入氯化鈉液時必須時時輕壓膠皮管 Г，以便排盡其空氣泡。以後扭轉活塞的方向使溶液由 A 經套在 a 上的膠皮管而排出，此後關閉管上之夾。

3. 用比重計測定量筒中尿的比重，若值太高（高於1.030），則將尿稀釋10倍，若不太高則稀釋5倍。

4. 用稀釋的尿洗滌 A，使液體由 a 排棄。再重複操作二次。如此可將 A 管中的氯化鈉液完全洗盡。

5. 閉住 a 末端的夾子，並用稀釋尿充滿 A 管至刻度零處，而後降低 B 管的水平。

6. 扭轉活塞使稀釋尿由 A 流至 B 5—10 毫升，再關閉活塞，並注意有若干毫升尿由 A 流入 B 中，因飽和 NaCl 液的比重較稀釋尿的比重頗大，故尿與氯化鈉飽和液不相混合，而僅浮在上面成層。

7. 將其餘的尿由 A 管經套在 a 孔上的膠皮管排棄後，再關閉其夾。

8. 立刻將次亞溴酸鈉液倒入 A 管中。此時 A 管中還有少許的尿素開始分解並排出氮。氣體排出一經停止，可用金屬絲將其殘氣趕出。

9. 轉動活塞仔細從 A 管注落數毫升試劑到 B 管中。而後再關閉活塞，靜待氣泡完全排出。

10. 再將次亞溴酸鈉液由 A 排入 B 中數次。如此操作至新加入的次亞溴酸鈉液已明顯地無氣泡發生時停止。必須注意 B 管中液體的水平要低於 A 管中液體的水平，並且 A 管中應經常存有次亞溴酸鈉液。

11. 靜置此裝置 20—30 分鐘，而後輕敲 B 管及膠皮管將所有氮集中於 B 管上端。

12. 爲使 B 管中氮與大氣等壓，高舉 B 管使其液面與 A 管中液面一致，而後目測 B 管中氮的容積。

13. 記錄氣壓表與溫度計的數值（A 管中液體的溫度）。

14. 算出在 100 毫升尿中尿素之含量。因 1 毫升的純氮在 0°C 760 mmHg 壓力時重 0.0012508 克，而氮的膨脹係數等於 0.00367，則已知所測氣體的溫度及其所處的壓力，即可依下式算出其重量。

$$P = \frac{V \times (b-f) \times 0.0012508}{760 \times (1 + 0.00367 \times t^\circ)}$$

其中 p—所測 V 毫升氮的重量，b—壓力計上的壓力，以毫米水銀柱表示，f—在該已知溫度的水蒸汽壓，以毫米水銀柱表示。

60.048 份重的尿素相當於 28.016 份重的氮（尿素的分子式為 N_2H_4CO 其分子量為 60.048，一分子尿素含 2 N，而氮的原子量為 14.008 所以 $2 N = 28.016$ ——譯者註）。故 1 份重的氮相當於 2.143 份重的尿素。同時必須將尿的稀釋程度與由 A 管到 B 管的稀釋尿的量考慮在內，結果，可得出以下計算式：

$$X = V \times \frac{(b-f) \times 0.0012508 \times 2.143}{760 \times (1 + 0.00367 \times t^\circ)} \times \frac{n+N}{n} \times \frac{100}{n_1}$$

此處之 n—取來預備稀釋的尿液毫升數。N—稀釋尿所用的水的毫升數， n_1 —稀釋尿從 A 管到 B 管中的毫升數。第一分數的數值能從附表 4 中找出。

應用此表很容易在表的上面第一橫行指出已知氣壓，在第一縱行中是溫度，而其交叉點即相當於上述第一分數數值。

因此可用下列更簡單的公式計算之：

$$X = V \times a \times \frac{n+N}{n} \times \frac{100}{n_1}$$

此處 X 表示 100 毫升被檢尿中尿素的毫克量，V—氮的容積毫升數，a—因數，即 1 毫升潮濕氮在該溫度與壓力下相當於尿素量的毫克數（可由表查知），n—所採取的原

壓力 p，溫度 t° 時與集於液面上 1 毫升氮等量的尿素的毫克量。

表 4

P t°														
	735	736	737	738	739	740	741	742	743	744	745	746	747	748
12	2.443	2.446	2.449	2.453	2.456	2.459	2.463	2.466	2.470	2.473	2.476	2.480	2.483	2.486
13	2.431	2.435	2.438	2.441	2.445	2.448	2.451	2.455	2.458	2.461	2.465	2.468	2.472	2.475
14	2.420	2.423	2.426	2.430	2.433	2.437	2.440	2.443	2.447	2.450	2.453	2.457	2.460	2.463
15	2.408	2.412	2.415	2.418	2.422	2.425	2.428	2.432	2.435	2.438	2.442	2.445	2.448	2.452
16	2.397	2.400	2.403	2.407	2.410	2.413	2.417	2.420	2.423	2.427	2.430	2.433	2.437	2.440
17	2.385	2.389	2.391	2.395	2.398	2.402	2.405	2.408	2.412	2.415	2.418	2.422	2.425	2.428
18	2.373	2.377	2.380	2.383	2.387	2.390	2.393	2.397	2.400	2.403	2.406	2.410	2.413	2.416
19	2.362	2.365	2.368	2.371	2.375	2.378	2.381	2.385	2.388	2.391	2.394	2.398	2.401	2.404
20	2.350	2.353	2.356	2.360	2.363	2.366	2.369	2.373	2.376	2.379	2.383	2.386	2.390	2.392
21	2.338	2.341	2.344	2.347	2.351	2.354	2.357	2.360	2.364	2.367	2.370	2.374	2.377	2.380
22	2.325	2.329	2.332	2.335	2.338	2.342	2.345	2.348	2.352	2.355	2.358	2.361	2.365	2.368
23	2.313	2.316	2.320	2.323	2.326	2.329	2.333	2.335	2.339	2.342	2.346	2.349	2.352	2.355
24	2.301	2.304	2.307	2.311	2.314	2.317	2.320	2.323	2.327	2.330	2.333	2.336	2.340	2.343

t°	P													
	749	750	751	752	753	754	755	756	757	758	759	760	761	762
12	2.490	2.493	2.496	2.500	2.503	2.507	2.510	2.513	2.517	2.521	2.523	2.527	2.530	2.533
13	2.478	2.482	2.485	2.488	2.492	2.495	2.498	2.502	2.505	2.509	2.512	2.515	2.519	2.522
14	2.467	2.470	2.473	2.477	2.480	2.483	2.487	2.490	2.493	2.497	2.500	2.504	2.507	2.510
15	2.455	2.458	2.462	2.465	2.468	2.471	2.475	2.478	2.482	2.485	2.488	2.492	2.495	2.498
16	2.443	2.447	2.450	2.453	2.457	2.460	2.463	2.467	2.470	2.473	2.477	2.480	2.483	2.486
17	2.431	2.435	2.438	2.441	2.445	2.448	2.451	2.455	2.458	2.461	2.465	2.468	2.471	2.474
18	2.420	2.423	2.426	2.430	2.433	2.436	2.439	2.443	2.446	2.449	2.453	2.456	2.459	2.462
19	2.408	2.411	2.414	2.417	2.421	2.424	2.427	2.431	2.433	2.437	2.440	2.444	2.447	2.450
20	2.396	2.399	2.402	2.405	2.409	2.412	2.415	2.419	2.422	2.425	2.428	2.432	2.435	2.438
21	2.383	2.387	2.390	2.393	2.396	2.400	2.403	2.406	2.409	2.413	2.416	2.419	2.423	2.426
22	2.371	2.374	2.378	2.381	2.384	2.387	2.391	2.394	2.397	2.400	2.404	2.407	2.410	2.413
23	2.359	2.362	2.365	2.368	2.371	2.375	2.378	2.381	2.384	2.387	2.391	2.394	2.397	2.401
24	2.346	2.349	2.352	2.356	2.359	2.362	2.365	2.369	2.372	2.375	2.378	2.382	2.385	2.388

t°	P													
	763	764	765	766	767	768	769	770	771	772	773	774	775	776
12	2.537	2.540	2.543	2.549	2.550	2.554	2.557	2.561	2.564	2.567	2.571	2.575	2.577	2.581
13	2.525	2.529	2.532	2.535	2.539	2.542	2.545	2.549	2.552	2.556	2.559	2.562	2.566	2.569
14	2.514	2.517	2.520	2.524	2.527	2.530	2.534	2.537	2.540	2.544	2.547	2.550	2.554	2.557
15	2.502	2.505	2.508	2.512	2.515	2.518	2.522	2.525	2.528	2.532	2.535	2.538	2.542	2.545
16	2.490	2.493	2.496	2.500	2.503	2.506	2.510	2.513	2.516	2.520	2.523	2.526	2.530	2.533
17	2.478	2.481	2.484	2.488	2.491	2.494	2.498	2.501	2.504	2.508	2.511	2.514	2.518	2.521
18	2.466	2.469	2.472	2.476	2.479	2.482	2.485	2.489	2.492	2.495	2.499	2.502	2.505	2.509
19	2.454	2.457	2.460	2.464	2.467	2.471	2.473	2.477	2.480	2.483	2.486	2.490	2.493	2.496
20	2.441	2.445	2.448	2.451	2.454	2.458	2.461	2.464	2.468	2.471	2.474	2.477	2.481	2.484
21	2.429	2.432	2.436	2.439	2.442	2.445	2.449	2.452	2.455	2.458	2.462	2.465	2.468	2.471
22	2.417	2.420	2.423	2.426	2.430	2.433	2.436	2.439	2.443	2.446	2.449	2.452	2.456	2.459
23	2.404	2.417	2.410	2.414	2.417	2.420	2.423	2.427	2.430	2.433	2.436	2.440	2.443	2.446
24	2.391	2.394	2.398	2.401	2.404	2.407	2.411	2.414	2.417	2.420	2.423	2.426	2.430	2.433

尿毫升數，N—稀釋尿時所用之水的毫升數， n_1 —從A管加到B管去的稀釋尿的毫升數^①。

① 在實驗作完後，應立即將器材洗淨，因為長期放置，鹼能腐蝕玻璃並且損害活塞。

尿 中 氨 的 定 量

在人體內氨基酸經脫氨基作用所產生的氨，一部分用於中和酸類隨尿以銨鹽形式排棄體外。其餘過剩的氨則在肝內變成尿素。

因此尿中經常有若干量的氨與酸（硫酸、鹽酸、磷酸、草酸等）結合成銨鹽的形式而存在，正常尿中不出現游離氨。

攝取混合食物的人，一晝夜由尿中以銨鹽形式排出氨 0.3—1 克。腎疾病及攝取植物性食品時銨鹽的排泄減少。相反肝疾病、慢性熱病、糖尿病，大量肉食以及某些其他情況時，由尿排出的銨鹽量則增多。

尿中銨鹽的增加說明體內有酸的蓄積及酸由尿中的排出量較之正常為高(酸中毒)。

尿中氨定量的方法，是基於用碳酸鈉分解銨鹽產生氨，並將游離的氨用空氣流驅逐於含一定量的標準酸液的受器中。氨被受器中的酸中和，過剩的酸再用鹼滴定。已知和氨結合的酸的量，便能算出由尿排出氨的量。

蒸餾氨時為防止尿產生泡沫，加燈用石油（Керосин）於尿中，但為減低氨在尿中的溶解度，即使氨更快地餾出，還應向尿中添加氯化鈉。

器材：1. 蒸餾氨裝置（圖12）。洗氣瓶 B 應盛 10% 硫酸至 $\frac{1}{3}$ 容積。U 型管 Г, Б 裝滿棉花。

2. 滴定管。

3. 吸量管。

試劑：1. 0.1N 的 NaOH 溶液。

2. 甲基紅（指示劑）。

3. 石油（Керосин）。

4. 0.1N 的 H_2SO_4 液。

5. 碳酸鈉粉末。

6. 氯化鈉粉末。

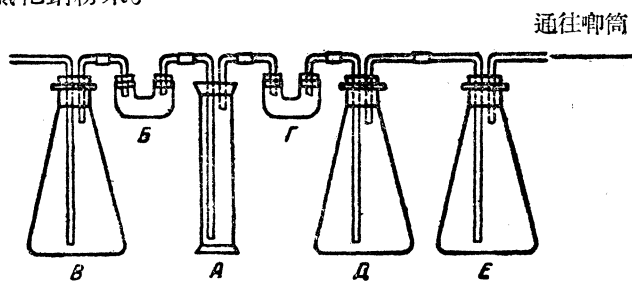


圖 12

操作：

1. 由滴定管向燒瓶 E, Д 中各加0.1N硫酸20毫升，以後再向各瓶內加蒸餾水100毫升及甲基紅5滴。

2. 向 A筒內加入尿25毫升，再加氯化鈉粉末5克，石油1—2毫升及碳酸鈉粉末10克。

3. 迅速安裝事先備好的氨蒸餾裝置，並開動水流唧筒。

4. 通氣1小時半再卸開裝置。將燒瓶 E, Д 中的內容物按定量混合，並用0.1N鹼滴定至甲基紅指示劑變黃色。

5. 按下式算出每100毫升被檢尿所含氮的克數。

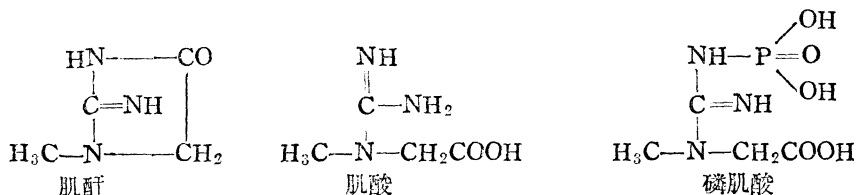
$$X = (a - b) \times 0.0017 \times 4$$

其中 a—兩個受器燒瓶 E, Д. 內所裝0.1N的 H_2SO_4 的毫升數；b—滴定燒瓶內的殘餘酸所消耗的0.1N鹼液毫升數；0.0017—相當於0.1N的 H_2SO_4 1 毫升的氮的克數；4—就100毫升尿計算的係數。

已知24小時尿量及100毫升尿中氮的含量，便能算出24小時尿中的氮量。

肌 酐 的 反 應

肌酐是人尿的組成成分。肌酐有弱還原性，並對石蕊試紙呈弱鹼或中性反應。但由於其與酸能生成鹽，並能由鹽中放出氮，因之又類似鹽基。



肌酐是代謝含氮終產物之一。它是肌酸的酐，並由磷肌酸而生成。

尿中的肌酐，可由其與苦味酸的反應 [Jaffe 氏反應] 或與硝基鐵氰化鈉的反應 (Weil 氏反應) 而檢出。肌酐和苦味酸的反應機構，是在鹼性條件下，將尿與數滴苦味酸水溶液混合而產生紅色的肌酐苦味酸鹽。

在鹼性條件下，將尿與硝基鐵氰化鈉 [$Na_2Fe(CN)_5NO$] 混合，形成異亞硝基肌酐 (Изониитрозокреатинин)，則其液體成紅色，其後又變成黃色。醋酸酸性能促進液體產生黃色。

器材：試管及試管架。

試劑：1. 苦味酸飽和溶液 (12克溶於1升)。

2. 10% NaOH 液。

3. 新製的3%硝基鐵氰化鈉液。

4. 5%醋酸液。

操作：

I. 苦味酸反應：

取尿2—3毫升，加10% NaOH 液數滴及苦味酸液數滴，於是產生帶橙黃色的紅色。

II. 硝基鐵氰化鈉法：

取尿2—3毫升，加10% NaOH 數滴及新配製的硝基鐵氰化鈉液數滴。液體變紅色，其後又變成黃色，醋酸酸性加速紅色的消失。

此種現象可用以區別肌酐與酮體，後者與硝基鐵氰化鈉反應，呈色時 [Legal 氏試驗] 不因加醋酸酸化而脫色。

※肌肉組織中肌酸的證明

肌酸和磷肌酸（見92頁）是肌肉組織的重要提取物。利用鹽酸與肌酸加熱產生肌酐，並進一步使肌酐與苦味酸反應，便能證明在肌肉的無蛋白濾液中有肌酸存在。

- 器材：
1. 試管及試管架。
 2. 漏斗。
 3. 5 毫升刻度吸量管。
 4. 水浴。
 5. 小量筒。

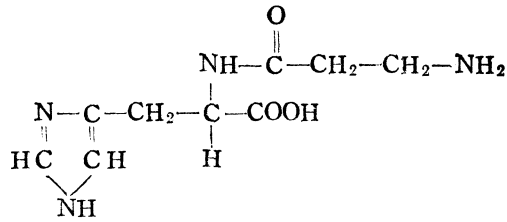
- 試劑：
1. 新鮮肌肉糜（製法：見本書第146頁第27項）。
 2. 20% 硫代水楊酸液。
 3. 2 N 的 HCl。
 4. 飽和苦味酸液。
 5. 15% NaOH 液。

操作：

1. 用 2 毫升蒸餾水將約 0.5 克肌肉糜洗入試管中。
2. 加硫代水楊酸液 2 毫升使蛋白沉澱。
3. 濾除蛋白沉澱。
4. 量取濾液 1 毫升放於試管內，再加鹽酸 1 毫升並放置於沸騰水浴中 2 小時，此時肌酸變成肌酐。
5. 由水浴取出試管，加入苦味酸液 1 毫升和 NaOH 液 2 毫升（用小量筒）。觀察特有的帶橙黃色的紅色。

肌肉組織中肌肽的證明

肌肽是組氨酸與β-氨基丙酸結成的二肽類（β-丙氨酸——組氨酸）。



肌肽是被 B. C. Гулевич 氏在肌肉提取物中發現的。

肌肽的異吡嗪環與重氮試劑反應而產生帶橙黃紅色。

器材： 1. 試管及試管架。

2. 漏斗。

3. 5 毫升刻度吸量管。

試劑： 1. 新鮮肌肉糜（製法：見本書第146頁第27項）。

2. 20% 硫代水楊酸液。

3. 重氮試劑（製法：見本書第147頁第32項）。

4. 10% 碳酸鈉液。

操作：

1. 沉澱並濾除0.5克肌肉糜中的蛋白質（製法：見本書第93頁第1—3項肌酸的證明）。

肌酸和肌肽的證明，可以利用同一種濾液進行之。

2. 量取無蛋白肌肉糜濾液 0.5 毫升於試管中，加重氮試劑 1 毫升及碳酸鈉液 2 毫升，觀察帶橙黃色的紅色。

尿中肌酐和肌酸的定量

成人一晝夜尿中排出肌酐量，一般約在1—2克之間。加強肌肉勞動，發熱狀態及某些其他疾病時，尿中肌酐量升高。

正常成人尿中不含肌酸。在有關組織分解加強的情況，例如產後子宮復舊時出現肌酸尿。兒童尿中經常含有肌酸及肌酐。

尿中肌酐的定量，可用比色法測定之。因之，有必要熟習在各種定量時廣汎應用的比色法的原理。

比色方法的基本原理在於將被檢物質加上適當的試劑，使其變成有色化合物而溶液呈色。同時利用這個試劑作用於一定量的已知物質而產生相當於該物質濃度的色度，以此所謂標準液與被檢液來比色。呈色的深淺與物質的濃度有正比例關係；同時呈色液層愈厚其色愈強。在同一溶媒中同一物質的兩種溶液比色時，如調節此兩種溶液的呈色強度相等，此時一種溶液（標準液）的濃度（ K_1 ）與其液層厚度（ h_1 ）之積等於另一種溶液

(檢液)的濃度(K_2)與其液層厚度(h_2)之積。因此:

$$K_1 h_1 = K_2 h_2 \quad \therefore K_2 = \frac{K_1 h_1}{h_2}$$

但應牢記在比色分析時，許多條件對比色結果的精確性都有影響:

1. 標準液和被檢液的濃度相差太大時則產生誤差。因此，應該將呈色液稀釋到被檢液與標準液的顏色相接近。
2. 比色時用極稀的溶液與用極濃的溶液(標準液與被檢液)都能引起很大誤差。
3. 比色溶液溫度的不同也能影響到測定的精確性。
4. 比色溶液的顏色亦有關係。使用紫色、紅色和綠色溶液較好，使用黃色溶液時則較差。
5. 夾雜物也有影響。有夾雜物時，吸收光線不同，誤差也就很大。

比色計的種類及形式很多，此處只介紹最普遍的杜伯斯科(Дюбоск)式比色計。

如圖所示，光線由反射鏡反射並通過含有標準液和被檢液的小玻璃杯。小玻璃杯能上下移動，在比色時應將其昇起，使玻璃柱沉入該側溶液中。

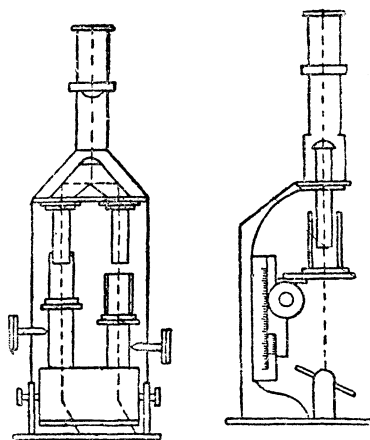


圖 13

光線通過呈色液層而進入玻璃柱中，其後光線又於特殊的稜鏡內被屈折，以致通過接目鏡觀察時，右半側視野相當左側玻璃柱，而左半視野相當右側玻璃柱。

比色前用小量瓶將溶液配製好，此後將標準液與被檢液各裝入該比色計杯中；轉動齒輪螺旋，昇起比色杯使玻璃柱的下端插入杯中，再由接目鏡觀察，找出兩半視野顏色強度相等的位置，而後讀取刻度數。向接目鏡內觀察時每次不得超過10—20秒，否則由於視力疲勞可能產生很大的誤差。

比色時最好是採用兩組測定方法(於標準液層的固定高度時及於被檢液層的固定高度時)，測定完成後進行計算。舉例說明計算過程:

標準液(K_1)中的物質濃度為1毫升中含0.002毫克，液層的厚度(高度)用刻度^①(厘米)表示。

① 應利用遊標尺精密讀至0.1毫米，恰如衆所週知，遊標尺是用以讀取主尺的某一刻度的分數的器材。比色計的遊標尺是具有十個刻度的條狀尺，這十個刻度恰等於主尺九個刻度(毫米)的長度。為測定主尺任何一點的位置，使遊標尺的零點與該點相合，再按主尺讀取其整數刻度。而刻度的十分之一數，則按與主尺的某一刻度一致的遊標尺刻度數讀取之，除條狀遊標尺外，另有圓形遊標尺(見22圖)。

第一組

	標準液	被檢液
	h_1	h_2
第一次計算.....	30.0	32.3
第二次計算.....	30.0	32.4
第三次計算.....	30.0	32.5
		平均 32.4

標準液側的一個刻度相當於被檢液側刻度為： $32.4:30.0=1.08$

第二組

	標準液	被檢液
	h_1	h_2
第一次計算.....	30.0	32.0
第二次計算.....	29.5	32.0
第三次計算.....	29.7	32.0
	平均 29.8	

因此，標準液側的一個刻度相當32.0： $29.8=1.0738$ 被檢液側的刻度。

兩組的平均數為 $\frac{1.08+1.0738}{2}=1.0769$ 。 $K_2=\frac{K_1h_1}{h_2}$ 。因而 $K_2=\frac{0.002 \times 1}{1.0769}$ ，即所得值(K_2)是以毫克表示被檢液中物質的濃度。

尿中肌酐的定量方法，基於和苦味酸的呈色反應(93頁)。假若在一定嚴格的條件下作這個反應，而後用比色計比較被檢液和標準液の色度，便能測定出被檢尿中的肌酐量。

- 器材：
1. Дюбоск 式比色計。
 2. 50毫升小量瓶兩個。
 3. 500毫升量瓶。
 4. 滴定管三支。
 5. 1 毫升吸量管。
 6. 1 毫升刻度吸量管。
 7. 帶有迴流冷凝管的錐形瓶。
 8. 小燒杯。

- 試劑：
1. 肌酐液：肌酐液 1 毫升含肌酐 1 毫克(標準液)。
 2. 苦味酸液：1 升溶液中含 12 克苦味酸。
 3. 10% NaOH 液。
 4. HCl 當量溶液。

5. 重鉻酸鹽的標準液（製法：見本書第147頁第33項）。

操作：

1. 加肌酐標準液 1 毫升於 50 毫升量瓶中。
2. 取另一 50 毫升量瓶加被檢尿 1 毫升。
3. 向每一量瓶再各加 10% 鹼液 1 毫升及苦味酸液 1.5 毫升。
4. 輕輕振盪並放置 5 分鐘。
5. 補加水到刻度，並蓋上瓶塞後，仔細混合每個量瓶內的內容物。
6. 比色^①。
7. 按下式計算肌酐量。

$$X = \frac{l \times h_1}{h_2}$$

其中 X—1 毫升被檢尿中的肌酐毫克量。

l—1 毫升標準液中肌酐的毫克量。

h_1 —標準液柱的高度。

h_2 —被檢液（含尿）柱的高度。

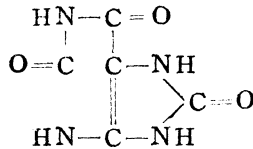
尿中肌酸量，可用肌酸及肌酐的總量與肌酐量之差而求得。因此，為使肌酸在數量上轉變成肌酐，將尿加鹽酸煮沸；進而用比色法測定總肌酐量（肌酸和肌酐的總量）及原有的肌酐量（未經煮沸的尿中）。兩者之差乘以 1.16（肌酸分子量等於 131，肌酐分子量等於 113，其計算係數等於 $\frac{131}{113} = 1.16$ ）。結果便得出被檢尿中所含肌酐的數量。

在測定尿中肌酐和肌酸時，若沒有化學上純的肌酐，則可利用重鉻酸鹽液做為標準液（製法：見本書第 147 頁第 33 項）。由經驗確定，此重鉻酸鹽液液柱高 8 毫米時所顯之色度，恰等於被檢尿（每 1 毫升含肌酐 1 毫克）與試劑反應所得之檢液的液柱高 8.1 毫米時所顯之色度。因此，當利用此種重鉻酸鹽液為標準液時，應按下列方法計算：設被檢液柱的高度為 a（取數次測定的平均值）。重鉻酸鹽液液柱的高度為 8 毫米，則被檢尿每 1 毫升中的肌酐含量，等於 $\frac{1 \times 8.1}{a}$ 毫克。

① 比色時一般不按照 96 頁所舉的例子所示採用兩組比色，為簡便計（雖然精密度稍差）祇作一組即可。即只將盛標準液的比色杯固定於一定位置，再從被檢液液柱高度的多次讀數中，取其算術平均值。

尿 酸

尿酸是嘌呤在體內氧化時產生的三氧嘌呤。



人的組織和體液中，在正常時一般含有微量尿酸，但在尿中一晝夜約排出尿酸 0.5 克。痛風時嘌呤代謝障礙，則血液中尿酸量顯著升高；此外當痛風時，尿酸開始沉着於體內各部組織，特別是關節內，而為疼痛的原因。

純的尿酸是極難溶於水的白色粉末。尿酸與鹼反應時，產生很不易溶於水的中性或酸性鹽（特別是後者）。尿的酸數種鹽例如鉍鹽和數種有機鹽是較易溶解的。

I. 尿中尿酸的析出：

使尿變成酸性時，難溶性的尿酸即析出沉澱，並由於其吸着尿色素而染成暗褐色。

- 器材：
1. 燒杯。
 2. 顯微鏡。
 3. 漏斗。
 4. 錐形瓶。

- 試劑：
1. 尿。
 2. 濃鹽酸。

操作：

1. 向一燒杯內注入尿約 200 毫升，加濃鹽酸 2—10 毫升使其變酸性，並於冷處放置一晝夜或更長些（直到下次課）。

2. 將尿傾入漏斗中濾出沉澱。並將燒杯壁及其底的尿酸沉澱刮倒漏斗中。

3. 用顯微鏡觀察所得之結晶（圖 14）；同時並可用它作尿酸反應。

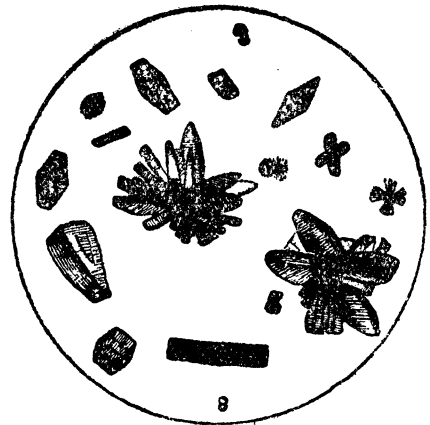


圖 14

II. 尿酸反應：

尿酸有還原性，對 Tromme 氏反應僅在繼續不斷沸騰時現陽性，此點與葡萄糖不同，葡萄糖在加熱中，當開始沸騰時就已將氧化銅還原。

尿酸最特有之試法是所謂紫尿酸反應。此反應按下列方法進行。

用濃硝酸沖洗少量尿酸於瓷蒸發皿中，使硝酸因蒸發而濃縮，其殘渣變成紅褐色。

若將此殘渣溶於氨水中，則溶液現出美麗的絳紅色。此溶液的顏色與密錐花的絳紅色相似，此色在古代曾取自軟體動物紫螺（Мурекс；Murex）。因此本反應在西文則稱爲 Мурексид；Murexid 反應（中文則意譯爲紫尿酸反應——譯者註）。

器材： 1. 試管及試管架。
2. 瓷蒸發皿。

試劑： 1. 尿酸。
2. 10% NaOH 液。
3. 1% CuSO₄ 液。
4. 濃硝酸。
5. 25% 氨水。

操作：

1. 取少量的尿酸放於試管內加蒸餾水並加熱，無顯著的溶解。
2. 將少量尿酸放入試管內加 NaOH 液 2—3 毫升，並滴加 CuSO₄ 液直至產生淡藍色混濁爲止。煮沸上層的液體，則看到產生紅色的氧化亞銅沉澱。
3. 用數滴濃硝酸將少量尿酸沖洗到瓷蒸發皿內，並且在直接火上（在通風櫥內）注意地蒸發乾。冷卻後用氨水浸濕經加水及氧化作用的尿酸產物。呈美麗的絳紅色。

血 液

組織由血液獲得氧和營養物質，並且向血液中排泄出二氧化碳和代謝產物^①。

血液內各種成分的含量相當恒定。血液的組成雖有較小的變化也能影響身體的狀況，相反，某些疾病也會使血液成分發生變化。因此許多血液成分的定量在診斷上和豫後判斷上有很大的意義。

血液分析在臨床上廣泛地被採用，它供給醫生關於瞭解病人情況，疾病及其經過性質上的重要資料。

血液在身體血管損傷時凝固。血液凝固是一種複雜的酶作用過程，從生物學看來，當外傷及出血時，血液的凝固在保護生命上是極為重要的。

人和脊椎動物的血液是由血漿（血漿含90—93%水及7—10%固體物質）和所謂具形成分——紅血球、白血球和血小板而組成。

*血 液 凝 固

血液由血管流出時，即行凝固，同時形成凝塊，並由凝塊中分出液體，所謂血清。

血凝塊是由纖維蛋白和具形成分組成的，而血清中殘留可溶性蛋白及血液的其他成分。在某些病理情況時，凝血也能在血管內發生而形成血栓。

血液凝固的過程是複雜的一系列的酶作用的反應。其過程的某些詳情仍不清楚，大體上可歸納如下：

當出血時，無活性的血液的酶元（即凝血酶元）被激動。凝血酶元受鈣離子和凝血酶活素的作用變成凝血酶，而凝血活素含於各種組織細胞內，當組織損傷時游離出來。凝血酶作用於溶解在血漿中的纖維蛋白元，使之變成不溶性的纖維蛋白。纖維蛋白析出呈絲狀，團集血液固形成分而形成凝塊。因此凝血活素及鈣離子為凝血作用所必需。在血小板中，尤其含有多量的凝血活素血液處於正常血管內時，並不凝固，因為正常血管內沒有活性的凝血酶，而凝血酶元則由於特異的抑制物即抗凝血酶的存在，並不能被致活。當組織和血小板損傷時，則放出凝血活素而與抗凝血酶結合，於是凝血酶元便能被致活，而血液發生凝固。必須特殊注意，只有在維生素K存在時，凝血酶元才能生成。

① С. В. Северин 及 Г. Е. Владимиров 二氏曾研究正常及病理的血液呼吸機能。

血液的凝固作用，可因添加種種物質破壞上述複雜的凝血過程中的某一階段，而防止其凝固。屬於此類物質計有：草酸鉀（使鈣沉澱）、肝素（屬於碳水化合物，含於組織中）及水蛭素（水蛭唾液腺的分泌物）。

器材：1. Francke 氏針或注射針。

2. 50毫升小燒杯。

3. 小木棒。

試劑：1. 二甲苯。

2. 秤有0.01克草酸鉀的小秤瓶（Бюкс）。

3. 秤有1毫克肝素或水蛭素的小秤瓶。

操作：

爲便於實驗的進行，必須備有一匹肥的健康家兔，由此兔可以很容易地得到20—30毫升血液。

採血前，將家兔耳朵用浸有二甲苯的棉花擦淨，並用熱水洗去二甲苯，再用乾棉花擦乾耳朵，將注射針刺入其耳靜脈取血。

I. 爲了分離纖維蛋白並獲得所謂去纖維蛋白的血液，可採用以下方法。

1. 採血液10—15毫升於小燒杯內。

2. 用小棉花球和鉗子壓住家兔耳靜脈。

3. 用小木棒攪拌血液，並注意慎勿觸及杯壁。數分鐘後纖維蛋白開始成纖維狀分離出來，並纏在小木棒上。

除去纖維蛋白的血液，叫做去纖維蛋白血，它已經不能再凝固。

II. 用草酸鉀作用於血液則可防止其凝固，其操作如下：由同一家兔繼續採血約5毫升，放入約含有0.01克草酸鉀的小秤瓶（Бюкс）中。頻頻振盪小瓶中血液。由於鈣離子沉澱，則血液不凝固。

III. 由以下實驗能觀察出肝素或水蛭素作用於血液時可防止其凝固。由另一個健康的肥家兔採血10毫升，放於秤有1毫克肝素或水蛭素的小秤瓶內振盪之。此時觀察不到血液凝固，因爲肝素妨礙鈣離子與凝血酶元的相互作用，以致阻碍凝血酶的形成；而水蛭素則抑止凝血酶與纖維蛋白元相互作用。

*凝血速度的測定

在某些疾病時能延長血液凝固時間。血友病患者的血液完全失掉其凝固能力。血友病患者雖無大的傷口，也能有由於流血而死亡的危險。

在臨床上於手術前，測知病人凝血速度的情況，是極重要的。

測定凝血速度時，血液的具形成分必須不受損傷，同時應避免雜質混入血內。

假若用下述方法測定凝血速度，健康人血液經過5—6分鐘便凝固。如用另外方法

測定血液的凝固速度，則由於測定條件的不同（溫度等），便得出不同的結果。

- 器材： 1. Francke 氏針。
2. 棉花。
3. 紗布。
4. 水浴。
5. 溫度計。
6. 錶玻璃。
7. 帶球端的小玻璃棒。
8. 秒錶。

- 試劑： 1. 乙醇。
2. 乙醚。

操作：

1. 由手指軟部取一滴血液，放在錶玻璃上；並能迅速將錶玻璃放在事先加熱的水浴上（30°C），採血時間需要準確地按錶記錄。
2. 過一分鐘後用小玻璃棒旋迴攪拌血滴，並盡量不超過血滴範圍。
3. 洗淨小玻璃棒使其乾燥，經半分鐘後再重複2項所載的操作。
4. 記錄由血滴中取出的小棒上出現第一個纖維蛋白小絲的時間，此一瞬間便算做凝血開始。
5. 按錶記錄產生一整個凝血塊的時間，這算做凝血終了。

*滲透壓對紅血球的影響

溶媒經半透膜向溶液方面移動的現象叫做滲透；作用於膜單位面積上而引起的滲透力量叫做滲透壓。滲透壓的恒定，決定於分子、離子和膠體顆粒的濃度的恒定。並將分子、離子及膠態顆粒的總濃度叫做滲透的濃度。

滲透現象在很多生物化學的現象中起着極其重要的作用，尤其是滲透壓對血液紅血球的作用更屬重要。

血液紅血球的外層繞有小膜，此膜具有有限的滲透性。如將紅血球放入低滲溶液中（即滲透濃度低於紅血球的滲透濃度的溶液中）時，由於滲透作用，水分進入紅血球中——紅血球容積增大，最後破裂（溶血）。

相反，如將紅血球放入高滲溶液中（例如濃氯化鈉液），即滲透濃度大於紅血球的滲透濃度的溶液中時，則紅血球內的水份被高滲液所吸去，而血球萎縮。

最後，如將紅血球放入等滲的氯化鈉液即與血漿有同一滲透壓的溶液中時，則紅血球的容積不發生任何變化。0.85% NaCl水溶液的生理鹽水，對人是等滲溶液。

- 器材： 1. 顯微鏡。

2. 載物玻璃。
3. 蓋玻璃。
4. 毛細吸量管三支（末端細長者）。
5. 吸量管用的小膠皮帽。

- 試劑：
1. 5 % NaCl液。
 2. 0.85 % NaCl液。
 3. 去纖維蛋白的血液。

操作：

I. 低滲溶液的作用：

將一滴去纖維蛋白血，放於載物玻璃片上，並用蓋玻璃片蓋上，再放於稍微放大的顯微鏡下。將蓋玻璃的一端掀起，並很仔細地將盛滿蒸餾水的毛細吸量管的尖端伸入其下方。用這樣方法將濾紙放入在蓋玻璃的相對端。其次用顯微鏡觀察，同時，換成較高倍放大的，對好焦點後再很仔細地放進蒸餾水。隨着滲透壓的降低，紅血球起初擴大容積，以後破裂，於是血紅蛋白溶於溶液，而紅血球只剩下無色的基質（Stroma）。這種現象便叫做溶血。

II. 高滲溶液的作用：

重複上述操作，但不將蒸餾水放入蓋玻璃片下，而將5 % NaCl液放入其下方。觀察紅血球的萎縮現象。

III. 等滲溶液的作用：

再進行以上操作，但向蓋玻璃片下加生理鹽水。則紅血球不發生變化。

氯化血紅素結晶的製法

紅血球的色素叫做血紅蛋白，並且是一種複合蛋白質（色蛋白），它是由珠蛋白〔亦名血球蛋白（Globin）〕及其輔基——原血紅素構成。

原血紅素也是複雜的有機化合物，它由四個吡咯核組成，並含兩價鐵。當酸作用於血紅蛋白時非蛋白部分（原血紅素）則游離，並若有氯化鈉存在時則變成氯化血紅素，此時鐵已成三價。

氯化血紅素的結晶有特有的形狀。因此可用以確證血紅蛋白的存在。

- 器材：
1. 顯微鏡。
 2. 載物玻璃。
 3. 蓋玻璃。

- 試劑：
1. 去纖維蛋白的血液。
 2. 冰醋酸。
 3. 氯化鈉結晶。

操作：

1. 向載物玻璃片上放一滴血。
2. 加熱不超過 60°C 使血液蒸乾。
3. 向蒸乾的血液上，加數小粒 NaCl 結晶，再加1—2滴冰醋酸。
4. 混合後蓋上蓋玻璃，再注意地加熱。
5. 用顯微鏡觀察產生的氯化血紅素(圖15)。

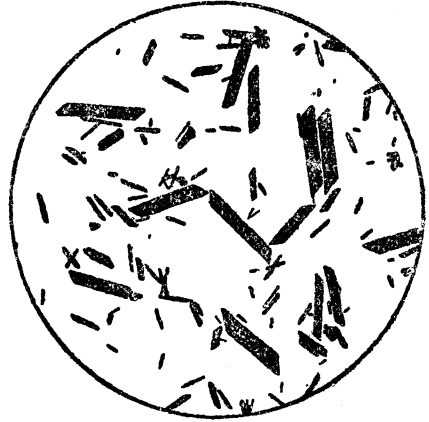


圖 15

血液的瘰瘡木脂試法

瘰瘡木脂試法是基于血液的色素及過氧化物酶的作用將瘰瘡木脂酸氧化成其臭氧化物的原理。瘰瘡木脂試法不僅是對新鮮血液，同樣對煮沸過的血液及陳舊的血痕等，全呈陽性。本試法的銳敏度，可檢出被稀釋至 $1/10000$ 的血液，稀釋更多時，反應的銳敏性則不足。本試法用於臨床和法醫學上的檢查。

器材：試管及試管架。

- 試劑：
1. 去纖維蛋白的血液。
 2. 新製的瘰瘡木脂酒精液（製法：見本書第143頁第12項）。
 3. 3%過氧化氫液。

操作：

1. 向試管內放入一滴去纖維蛋白血，加蒸餾水約5毫升，並仔細混合。
2. 以上試管再加入瘰瘡木脂酒精液約1毫升和1滴 H_2O_2 。
3. 觀察出現的藍色，此即證明已產生瘰瘡木脂酸的臭氧化物。

血液的聯苯胺試法

聯苯胺試法是根据過氧化氫藉血液色素的作用而氧化聯苯胺的原理。氧化聯苯胺所獲得的產物呈藍色或綠色，呈現此種顏色，即為血液存在之徵。

聯苯胺試法很銳敏，即在血液稀釋至 $1/20000$ 時，尚呈陽性。但其特有性則不足。

器材：試管及試管架。

- 試劑：
1. 去纖維蛋白的血液。
 2. 新製的5%聯苯胺冰醋酸液。
 3. 3% H_2O_2 液。

操作：

1. 向試管內放入約 1 毫升極稀薄的血液。
2. 加等容聯苯胺液和數滴 H_2O_2 液。
3. 觀察出現的藍色或綠色。

血液色素的分光分析

血液中除血紅蛋白 (Hb) 之外尚可見到一些色素，即血紅蛋白的衍生物。

帶氧血紅蛋白 (HbO_2)，是血紅蛋白和氧的不穩固性結合物，在正常情況下，血液色素的大部分是以此種形式含於血液中。

如果吸入一氧化碳(煤氣、燈用煤氣等)，則血中即形成一氧化碳血紅蛋白 (HbCO)，它是一氧化碳和血紅蛋白的相當穩固的結合物。血中一氧化碳血紅蛋白的蓄積能妨碍血液的呼吸機能而致中毒。

高鐵血紅蛋白 (MHb) 含有三價鐵，當血紅蛋白受某些物質 (如赤血藍) 的作用而中毒時，則血中出現此種物質。

在某些情況下，血中也能出現血紅蛋白的非蛋白衍生物即血色元等。

各種血液色素的分析鑑別，在臨床上及法醫學上是極重要的。爲此，可採用分光分析法。

用分光分析法檢查血液色素，在許多疾病和中毒的診斷，職業性傷害的鑑定，及某些法醫學的問題上，有很大幫助。

下面就分光分析法原理加以介紹：

用三稜鏡或特殊儀器即分光鏡分析白光可得到分光光譜，其中與不同波長的光源相對應的着色帶是按波長遞減的順序而排列，並現出虹色序列。若可見光線透過着色物質層時，則此着色物質選擇性地吸收一定波長的光線，而與透過光線形成特殊的吸收光譜。

檢查此種光譜時，可以看到吸收光譜中的一些區域出現黑暗帶，此黑暗帶恰相當於被檢色素所吸收的光線。因爲一定的色素具有一定的吸收光譜的能力，所以可利用吸收光譜以分析某種色素的有無。

爲了正確測定在光譜中各種色素吸收帶的位置，而採用日光光譜，此光譜並非連續不斷而是其中含有許多纖細的暗線，此暗線稱爲 Fraunhofer 氏線，Fraunhofer 氏線是一些物質的狹窄的吸收帶，這些物質是以蒸氣形式存在於太陽周圍的氣體中並吸收由灼熱的太陽所射出的一定的光線。

根據測定相當於 Fraunhofer 氏線的波長而配成標線，以便能夠正確地測定光譜中各種物質吸收帶的位置。

分光分析所用的特殊儀器分光鏡，其種類繁多而且構造複雜。構造較簡單的手提式分光鏡 (圖16)，適於臨床上血液色素的分光測定之用。此分光鏡由下述各部分組成：

1.——帶稜鏡的鏡筒, 2.——瓣: 可將光譜劃分成二部分(上部——日光光譜, 下部——檢液光譜), 3.——反光鏡, 4.——試管夾, 5.——調節目視標尺裝置的螺旋, 6.——接目鏡, 7.——調節孔隙寬度的裝置, 8.——測微計螺旋。

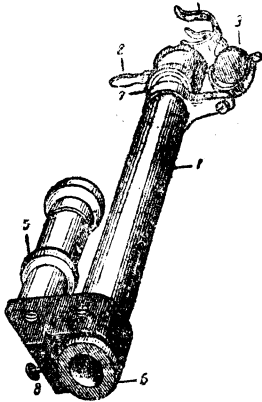


圖 16

器材: 1. 分光鏡。

2. 試管及試管架。

3. 吸量管。

4. 量筒。

試劑: 1. 去纖維蛋白的血液。

2. 史妥克 (Stokes) 氏試劑 (製法: 見本書第 147 頁第 34 項)。

3. 新製飽和鐵氰化鉀 ($K_3Fe(CN)_6$) 液。

操作:

I. 帶氧血紅蛋白 (HbO_2)

將去纖維蛋白血以水稀釋 5 倍 (容積倍數), 並以分光鏡觀察。其次逐漸稀釋血液並用分光鏡再觀察之。液柱直徑為 1 厘米, 當稀釋血液成為合氧血紅蛋白液並其濃度達到 0.1% 時, 即可看到在 Fraunhofer 氏線 D. 和 E. 之間有兩條吸收帶 (圖 17)。若稀釋至約 1:15000 時, 這些吸收帶隨即消失。

II. 血紅蛋白 (Hb)

向氧合血紅蛋白溶液滴加少量 Stokes 氏試劑時, 即可得到還原血紅蛋白。還原血紅蛋白只呈現一條寬的吸收帶 (圖 17)。

III. 一氧化碳血紅蛋白 ($HbCO$)

用含有一氧化碳的煤氣飽和去纖維蛋白血, 可得到一氧化碳血紅蛋白。一氧化碳血紅蛋白的稀釋液在光譜中呈現兩條吸收帶, 並與氧合血紅蛋白的吸收帶相似, 但其位置靠近於光譜的紫色側 (圖 17)。

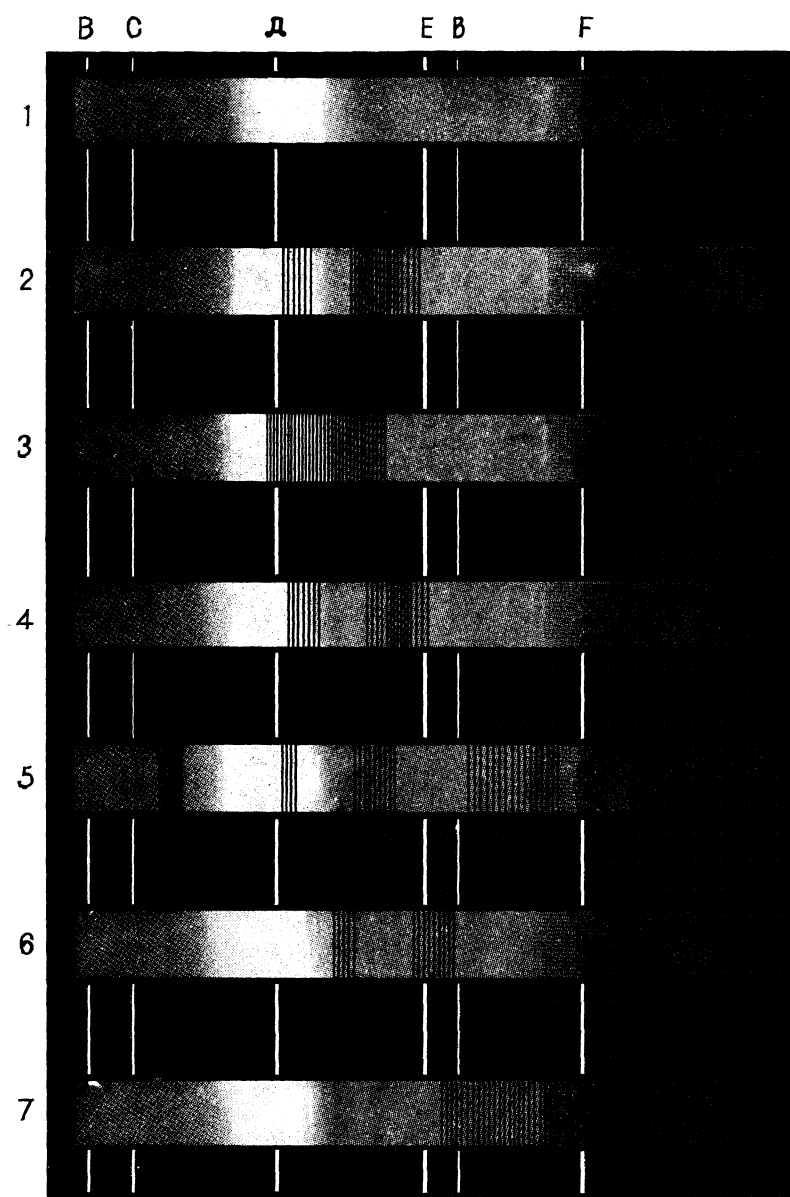
IV. 高鐵血紅蛋白 (MHb)

將去纖維蛋白血用水稀釋 5 倍 (容積倍數), 並添加數滴鐵氰化鉀液混勻, 即可獲得高鐵血紅蛋白。此液體微呈赤褐色, 在光譜中出現三條吸收帶, 其中一條清楚地光譜紅色部, 其他兩條在 D 線與 E 線之間。若用精密的分光鏡能在光譜的藍綠色部看到第四條吸收帶。

血 斑 鑑 定

證明衣服或各種物體上的血斑在法醫學上有很大的意義。

鑑定血斑存在的反應種類很多, 其中最常用的有氧化血紅素結晶試法, 瘡瘡木脂和



吸 收 光 譜

1. 日光光譜； 2. 一含氧血紅蛋白； 3. 一血紅蛋白； 4. 一氧化鐵血紅蛋白；
 5. 一高鐵血紅蛋白（中性）； 6. 一血色元（鹼性）； 7. 一尿膽素（在含有氯化鋅的鹼性溶液中）。

聯苯胺試法，以及血色元的分光檢查法。

上述方法不能鑑定是人血或任何動物血，因此，確證血液的種屬須用免疫學的反應（沉降反應）。

- 器材：
1. 試管及試管架。
 2. 解剖刀。
 3. 分光鏡。
 4. 顯微鏡。
 5. 吸量管。

- 試劑：
1. 附有乾燥血液的布片。
 2. 10% 苛性鈉液。
 3. Stokes 氏試劑（製法：見本書第147頁第34項）。
 4. 冰醋酸。
 5. 乾燥氯化鈉。
 6. 瘡瘡木脂酒精液（製法：見本書第143頁第12項）。
 7. 新製 5% 聯苯胺冰醋酸液。
 8. 3% 過氧化氫液。

操作：

1. 用刀刮取小布片上的血跡於載物玻璃片上，並製出氯化血紅素結晶（見本書第103頁），而後用顯微鏡觀察。
2. 用數滴蒸餾水將一小部分布片浸出，並把浸出液分成三份。
3. 用一份浸出液做瘡瘡木脂試驗（見本書第104頁）。
4. 用另一部份水浸液做聯苯胺試驗（見本書第104頁）。
5. 第三部份浸出液加數滴苛性鈉使呈鹼性，並煮沸至出現褐綠色。以後冷卻，加數滴 Stokes 氏試劑並用分光鏡檢查，能見到血色元所特有的光譜（圖17）。

※血紅蛋白定量

血中血紅蛋白定量對鑑別貧血及各種疾病的貧血症狀有很大的診斷價值。

測定血中血紅蛋白量有各種方法，例如，根據血紅蛋白容氧量，根據其含鐵量，以及血液色素色的強度。後一方法應用最廣，通常多用此法藉特殊儀器即 Sahli 氏血紅蛋白計（圖18）以測定血中血紅蛋白量。

血紅蛋白計由三個小管組成：其中兩個封閉的側管盛有着色液，做為血紅蛋白定量的標準管。另一個是裝被檢血液用的開口而帶刻度的中間管^①。在測定前於此中間管內

① 有些血紅蛋白計是用不褪色的玻璃柱代替其着色管。

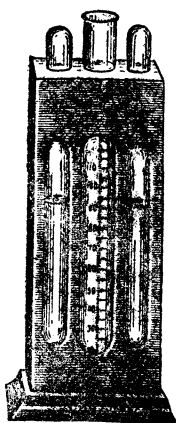


圖 18

加入少量的0.1N鹽酸液，其次加血0.02毫升。經過10—15分鐘開始向此管中添加蒸餾水直至血液的顏色和標準液色相同為止。刻度試管中液體的水平即標示出被檢血液中血紅蛋白的含量^①。

血紅蛋白計刻度管上100的值相當於100毫升血中含血紅蛋白17.3克，並且以此作為人血中血紅蛋白的百分之百（100%），但是實際上此數值較正常平均值稍高。

用 Sahli 氏血紅蛋白計定量血紅蛋白時，操作過速是產生錯誤原因之一。應當瞭解色素液的最大呈色（參看“操作”）不是立刻地而是逐漸完成的，因此添加蒸餾水需要經過10或15分鐘後（不得過早）方可。亦即應經常保持一定的時間間隔（10或15分鐘），否則將得到不能比較其結果的局面。

- 器材：
1. Sahli 氏血紅蛋白計。
 2. Francke 氏針。
 3. 取血用的刻度毛細吸量管(20微升=0.02毫升)。
 4. 吸量管（吸蒸餾水用）。
 5. 棉花。
 6. 紗布。
- 試劑：
1. 0.1N鹽酸液。
 2. 乙醇。
 3. 乙醚。
 4. 碘酒精液。

操作：

1. 向 Sahli 氏血紅蛋白計的刻度管內準確地加入0.1N鹽酸液到刻度10。
2. 用Francke 氏針刺手指。
3. 用特殊的吸量管吸取20微升的血液，並擦去毛細管尖端外面附着的血液後，再校準吸量管內的血液恰為20微升。
4. 仔細地放血於血紅蛋白計刻度試管的酸液中，慎勿使產生泡沫。
5. 細心地反覆吸入及吹出上層酸液以洗滌毛細管。
6. 用手指小心輕叩刻度試管下部，並仔細混勻試管內容物。
7. 記錄時間。
8. 經過10或15分鐘後，向刻度管內添加蒸餾水，直至刻度管內液體顏色與標準管顏色完全一致為止。

① 應當注意常用的血紅蛋白計往往在標準管色的強度上互有差別。近來蘇聯製出的血紅蛋白計是帶有相當於100毫升血中含16克血紅蛋白的標準管。

最初一次加入比較多量的蒸餾水（例如加到試管的40刻度處），每次加水後必須用細玻璃棒攪勻溶液，並將玻璃棒緊附於管壁使液體完全流入管內。當被檢液的顏色將接近標準色時，要加水每次1—2滴。被檢血中血紅蛋白愈多，則需向溶液內添加的蒸餾水亦愈多。

9. 觀測液體的水平面，其所對應的刻線的度數即表示該血紅蛋白含量的有條件的數值（即通常將正常量有條件地作為100%時其比例的百分數），但並不是血液中血紅蛋白的實際百分數。

有些血紅蛋白計其一般刻度之旁另刻着數值，此值表示正相當於該刻度的100毫升血中所含血紅蛋白的克數。

血清鈣的定量

許多無機正離子和負離子在正常的物質代謝中^①是極其重要的。

鈣對骨組織有重大作用。

因此在許多情況下測知血中的含鈣量是很重要的。

血鈣主要含於血液具形成分之外，故一般測定血鈣時採用血清而不用全血。正常血清含鈣9—11毫克%。

在乳兒手足搐搦，有時在佝僂病及其他某些疾病時血鈣減少。在骨組織破壞過程中及在許多其他情況下血鈣高於正常。

其定量方法是基於使鈣成草酸鈣而沉澱，然後將草酸鈣溶解並用高錳酸鉀滴定法滴定草酸的量。

- 器材：
1. 離心機。
 2. 特殊天秤：專用於平衡離心管及金屬套管（圖19）。
 3. 短尖底的離心管四個。
 4. 2毫升吸量管兩個。
 5. 10毫升刻度吸量管。
 6. 微量滴定管。
 7. 水浴。
- 試劑：
1. 血清。
 2. 4%草酸銨液。
 3. 2%氨水。
 4. N硫酸液。

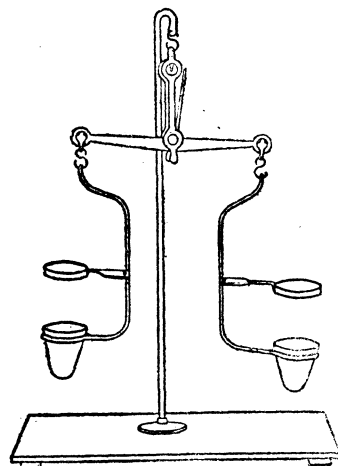


圖 19

① 關於無機鹽代謝 С. Я. Капланский 氏作過許多研究工作，氏曾著專文論述這一問題。

5. 0.01N高錳酸鉀液。

操作：

1. 於兩個離心管中各加蒸餾水 2 毫升，並於另二管（對照管）中各加水 4 毫升，每個離心管上應標記號碼。
2. 用吸量管加血清於前二管內各 2 毫升，另二離心管（對照管）不加血清。
3. 四離心管內各加 4 % 草酸銨 1 毫升。加試劑時必須直接加入液內，慎勿將試劑注於管壁。
4. 輕輕振動試管而後靜置 30 分鐘。
5. 旋離四試管的內容物，旋 10 分鐘^①。
6. 將液體從離心管傾出，而後用濾紙擦乾管口。在前二管有草酸鈣的白色沉澱遺留於管底。
7. 各離心管內各加 2 % 氨水 4 毫升，輕輕振盪後，再旋離沉澱 10 分鐘。
8. 傾棄管內液體再重複前一項操作。
9. 遠心分離後傾棄氨液，並向四管各加 N 硫酸液 2 毫升。用玻璃棒攪起沉澱並不提出玻璃棒，放試管於熱水浴中 2 分鐘。
10. 用微量滴定管以 0.01N 高錳酸鉀液滴定之（同時用玻璃棒攪拌），直到熱的溶液出現薔薇紅色並經 1 分鐘不褪為止。
11. 按公式進行計算：

$$X = 0.2 \times (a - b) \times 50;$$

$$X = 100 \text{ 毫升, 血清所含鈣的毫克數;}$$

$$0.2 = \text{相當於 1 毫升, 0.01N 高錳酸鉀液的鈣毫克數;}$$

$$a = \text{滴定血清試管所消耗的 0.01N 高錳酸鉀液的毫升數 (滴定兩管的平均值);}$$

$$b = \text{滴定空白 (無血清) 試管所耗消的 0.01N 高錳酸鉀液毫升數 (滴定兩管的平均值);}$$

$$50 = \text{換算成 100 毫升, 血清的係數。}$$

血液氮的定量

一般認為血液中的氮主要是以氯化鈉的形式存在，所以在分析時將氮量計算成氯化鈉的量。

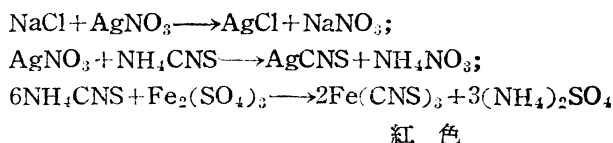
正常全血含氯化鈉 450—550 毫克%，血漿——約 690 毫克%，並且機體能夠維持血中的氮量於比較恒定的狀態。

某些疾病時血中氮量能明顯的減少或增加。例如，大量嘔吐，氮由血移向組織（昇

① 應預先使離心管及其金屬套管每對重量平衡。

汞中毒)，熱病及在許多其他情況下氯量顯著減少。相反，腎臟疾病、惡性腫瘤的某些情況以及貧血等血中氯量能顯著增多。

血氯的定量方法是根據檢品在硝酸存在下，用硝酸銀使氯沉澱。並以鐵銨明礬做指示劑，用硫氰酸銨滴定硝酸銀的剩餘量。此時反應如下：



- 器材：
1. 小錐形瓶四個。
 2. Francke 氏針。
 3. 棉花。
 4. 紗布。
 5. 2 毫升吸量管。
 6. 容量0.2毫升的微量吸量管兩個。
 7. 微量滴定管兩個。
 8. 0.5毫升吸量管。
 9. 1 毫升吸量管。

- 試劑：
1. 0.01N硝酸銀液（製法：見本書第147頁第35項）。
 2. 飽和高錳酸鉀液。
 3. 飽和鐵銨明礬液。
 4. 0.01N硫氰化銨液（製法：見本書第147頁第36項）。
 5. 乙醇。
 6. 乙醚。
 7. 濃硝酸。
 8. 葡萄糖。

操作：

1. 於四個帶號碼的小燒瓶內各加蒸餾水 2 毫升。
2. 用 Francke 氏針刺血，以後用微量吸量管吸血各0.2毫升於兩個小燒瓶中，將各該瓶的水吸入並吹出以洗滌微量吸量管，另二瓶中不加血即做為對照瓶^①。
3. 向四個小燒瓶中正確地各加0.01N硝酸銀 2 毫升，及濃硝酸0.5毫升。
4. 以上四瓶在石綿網上加熱（審慎！）至沸騰。
5. 向四個燒瓶內滴加飽和高錳酸鉀液（氧化有機物質）直到不褪色時為止。

① 在被檢血液中含有多量氯化鈉時則不用 0.2 毫升而用 0.15 或甚至 0.1 毫升，自然地在以後的計算中應當把它考慮在內。

6. 使四瓶內容物沸騰（審慎地）5分鐘。各瓶內容物均應着色；如不着色時須再各加等量的高錳酸鉀液。

7. 停止加熱並向各燒瓶的着色液中加入少量葡萄糖，而後顏色即當消失。

8. 使燒瓶冷卻，而後每個瓶內各加數滴鐵銨明礬液，並用硫氰化銨滴定未結合的剩餘硝酸銀至呈現淺薔薇紅色。

9. 依公式計算血中氯量：

$$X = \frac{0.355 \times (a - b) \times 100}{0.2}$$

x=100毫升被檢血液中所含氯的毫克數；

a=滴定對照實驗所消耗的0.01N硫氰化銨毫升數（兩次滴定的平均值）；

b=滴定血液實驗所消耗的0.01N硫氰化銨毫升數（兩次滴定平均值）；

0.355=相當於1毫升0.01N硫氰化銨的氯毫克數。換算成氯化鈉來表示氯量時，則可用係數0.585（氯化鈉分子量等於58.5）代替係數0.355。

膽 汁

膽汁是肝細胞的分泌物，存貯於膽囊，而排出於十二指腸中。

膽汁存在於膽囊時其水分一部被機體吸收，於是膽汁被濃縮，因此膽囊膽汁比肝膽汁濃度較大。

膽汁對於消化及小腸內的吸收，特別是對脂肪的消化及吸收起重大作用，它能乳化脂肪並由於增進胰液脂肪酶的活性而促進脂肪的消化。

許多疾病出現黃疸的一般症狀，此時有過量的膽汁循環於血液中，引起機體中毒及皮膚、白眼球被膽汁色素染色。因此在臨床上測定尿及血中膽汁色素和膽汁酸以及分析排於十二指腸的膽汁是有很大的意義。

膽汁是由膽色素，膽汁酸（成鹽的形式），膽固醇、卵磷脂、脂肪酸鹽及一些其他化合物組成。

膽汁色素的反應

膽汁色素的定性反應是根據膽紅素（膽汁的色素）能生成不同顏色的氧化物。下列物質是膽紅素的氧化產物：膽綠質（綠色）、膽藍質（藍色）、膽黃褐質（黃色）及其他。

器材： 1. 試管及試管架。

2. 玻璃漏斗。

3. 玻璃片。

試劑： 1. 膽汁。

2. 含有微量亞硝酸的濃硝酸（置硝酸於日光下常夾雜有硝酸）。

3. 10% 碳酸鈉液。

4. 3% 氯化鈣液。

5. 乙醇。

6. 濃鹽酸。

操作：

I. Gmelin氏試法

於試管內加用蒸餾水稀釋5倍的膽汁約1毫升，並細心地用濃硝酸約1毫升沿管壁重疊之。在兩液的界面形成膽汁酸和蛋白的沉澱及膽汁色素的色環。隨着色素氧化的程

度不同，而出現其特有的綠、藍、紫、紅及黃色環。

II. 濾紙試法

用小濾紙將少量膽汁濾過數次。由此則濾紙上留有部分的膽汁色素。如將濾紙展放於玻璃片上並向濾紙中央滴加濃硝酸，則出現膽汁色素的色環，綠色環位於外圈。

III. Huppert-Salkowski 氏試法

向試管內加稀釋 5 倍的膽汁約 5 毫升，10% 碳酸鈉液約 2 毫升，及 3% 氯化鈣液約 2 毫升。生成含有鈣的膽汁色素化合物的黃色沉澱。濾過沉澱並用由 1—2 滴濃鹽酸酸性化的乙醇 5—6 毫升煮沸沉澱（可與濾紙一同煮沸），則變成綠或藍綠色。

膽汁酸的反應

膽汁酸主要是甘氨酸和牛磺酸。

膽汁酸定性反應有 Pettenkofer 氏反應及表面張力試法。

Pettenkofer 氏反應的化學機構是基於蔗糖液經硫酸作用形成羥甲基糠醛再與膽汁的膽酸結合產生有色物質。

表面張力降低試法是根據膽汁酸及其鹽類有降低其溶液之表面張力的性質。本試法很銳敏，能在 1:120,000 的稀釋液中檢出膽汁酸的存在。

器材：試管及試管架。

- 試劑：
1. 膽汁。
 2. 10% 蔗糖液。
 3. 濃硫酸。
 4. 硫黃粉末。

操作：

I. Pettenkofer 氏反應

1. 加用蒸餾水稀釋 5 倍的膽汁約 5 毫升於試管內。
2. 在攪拌的同時加 1—2 滴蔗糖液。
3. 用濃硫酸沿試管壁徐徐注入約 1 毫升使之重疊（小心！），在兩液的界面形成紅紫色環。很細心地將試管內容物混勻並冷卻之則出現紫色。

II. 表面張力降低試法

1. 用三個試管：第一管加蒸餾水約 10 毫升；第二管加用水高度稀釋的膽汁約 10 毫升；第三管加輕度稀釋的膽汁約 10 毫升。
2. 在冷水中冷卻三管之內容物（冷到 10—15°C）。
3. 向液面上撒硫黃華粉末。

硫黃浮於純水的表面，在高度稀釋的膽汁中則落於管底，而在輕度稀釋的膽汁中則更迅速地沉於管底。這是由於膽汁能降低表面張力的緣故。

胃 液

人的胃液通常含有水份，鹽酸、氯化鈉、酸性磷酸鹽和許多有機化合物，其中有蛋白質、胃蛋白酶和脂肪酶。此外在胃液檢查時也常見到唾液、食物及其消化產物。在許多情況下胃液中也可能有乳酸、酪酸、醋酸和戊酸^①。

胃液幾乎經常是呈強酸性反應。〔總酸度〕表示胃液的所有酸性反應物質（即酸和酸性磷酸鹽）。〔結合鹽酸〕表示與食物中蛋白及其消化產物結合着（不穩固）的鹽酸；〔游離鹽酸〕表示未結合的鹽酸。〔總鹽酸〕表示結合鹽酸及游離鹽酸的和。

用藍色石蕊試紙可概略地決定胃液酸性。試紙不變紅說明胃酸缺乏，許多疾病時呈此現象。若石蕊試紙變紅則應闡明其酸性反應的由來。胃酸的存在可用特殊的反應證明之。

游 離 鹽 酸 反 應

證明胃液游離鹽酸可用指示劑即剛果紅和對位二甲基氨基偶氮苯，也可用Günzburg氏試法。

剛果紅是在酸性呈藍色而在鹼性呈紅色的指示劑。剛果紅的變色域是在 $\text{pH}=3-5.2$ ，因此只有強酸即無機酸能使紅色剛果紅變藍。稀薄的有機酸和酸性鹽不能使剛果紅變色。這種情形可用於證明胃液的游離鹽酸。

對位二甲基氨基偶氮苯在鹼性中呈黃色，而在有游離的磷酸存在時呈紅色，如有大量乳酸存在時則呈微紅黃色。對位二甲基氨基偶氮苯的變色域是在 $\text{pH}=2.9-4.0$ 。

Günzburg氏試劑有最特異的反應。在游離鹽酸存在時呈紫紅色。

胃機能正常時，胃液經常含有游離鹽酸。

器材： 1. 試管及試管架。

2. 磁製小坩堝蓋。

試劑： 1. 剛果紅試紙。

2. 0.5%對位二甲基氨基偶氮苯酒精液。

3. 新製的Günzburg氏試劑（製法：見本書第147頁第37項）。

① И. П. Павлов氏及其學生曾詳細地研究胃液的分泌及其組成。

4. 過濾的胃液。
5. 0.2% 鹽酸液。

操作：

I. 剛果紅試紙試法

1. 用小玻璃棒蘸取 0.2% 鹽酸液 1—2 滴，滴於紅色剛果紅試紙上，則出現藍色。
2. 取胃液代替 0.2% 鹽酸液用新剛果紅試紙做此反應，有游離鹽酸存在即出現藍色。

II. 對位二甲基氨基偶氮苯試法

1. 加數滴 0.2% 鹽酸於試管內，再加對位二甲基氨基偶氮苯液 1—2 滴，則出現紅色。
2. 用胃液代替 0.2% 鹽酸做此反應。當胃液中有游離鹽酸時則出現紅色，本試法能檢出含量 0.002% 的鹽酸。

如游離的有機酸在溶液中含量高於 0.5% 時亦可出現紅色，但此種情況在胃液中却很少發現。

III. Günzburg 氏試法

1. 取 Günzburg 氏試劑 2—3 滴及 0.2% 鹽酸 2—3 滴於磁坩堝蓋上，並混合之，然後仔細地加熱（不使沸騰）使其蒸發至全乾則出現紅色。
2. 取胃液代替 0.2% 鹽酸作此反應，有鹽酸存在時也能出現紅色。

乳 酸 反 應

胃液中的乳酸可用含氯化鐵的酚液證明，但此反應尚有缺點，因為胃內容物中可能含有乙醇、糖、磷酸鹽及其他物質，而這些物質也能產生陽性反應。另一方面，當胃內容含有鹽酸時，此反應的銳敏度較小，因之最好事先用乙醚將胃液中之乳酸提取再做乳酸反應。但通常只有當胃液中無鹽酸存在時才能出現相當大量的乳酸。因有上述的提取方法以及通常惟於胃酸缺乏時胃內才能存在大量乳酸所以乳酸的反應，在實際上是實施的。

- 器材：
1. 試管及試管架。
 2. 吸量管。
 3. 小量筒。
 4. 水浴（預先加熱至沸騰）。
 5. 小燒杯。
- 試劑：
1. 1% 酚液。
 2. 1% 氯化鐵液。

3. 濾過的胃液。
4. 0.1% 乳酸液。
5. 0.2% 鹽酸液。
6. 乙醚。

操作：

I. 1. 製備乳酸反應的試劑：對約15毫升的酚液中加數滴氯化鐵液並混勻之。溶液呈紫水晶色，用水稀釋至淺的顏色。

2. 取三試管各加4—5毫升乳酸試劑。

3. 第一管滴加乳酸液，第二管滴加濾過的胃液，第三管滴加鹽酸液。

第一管內容物呈陽性反應，即顏色變成綠黃。第二管的反應只有在有乳酸而無鹽酸或鹽酸含量極微的情況下呈現陽性反應。第三管是陰性反應。

II. 爲了更正確地完成胃液的乳酸反應可用下述方式進行：

1. 取濾過的胃液約2毫升於試管內。

2. 加乙醚約10毫升振盪之（用乙醚操作時，室內所有燈火皆須熄滅）。

3. 用吸量管吸取上層乙醚放入小燒杯中。

4. 在預先熱至沸騰的水浴上小心地蒸發燒杯中的乙醚。

5. 用少量蒸餾水溶解殘餘物質做上述乳酸反應^①。

總 酸 度 測 定

總酸度是表示中和100毫升濾過胃液中全部酸性物質所需0.1N 鹼液的毫升數。這種表示方法很方便，並且能夠做胃液各種酸度間的比較。正常的濾過胃液的總酸度是在40—60的範圍內。

- 器材：
1. 錐形瓶。
 2. 10毫升吸量管。
 3. 滴定管。

- 試劑：
1. 濾過的胃液。
 2. 0.1N 苛性鈉液。
 3. 酚酞液。

操作：

1. 用吸量管量取濾過胃液10毫升於錐形瓶中。
2. 加1—2滴酚酞液。
3. 用0.1N 苛性鈉液滴定錐形瓶的內容物至出現薔薇紅色爲止。

^① 揮發性脂酸如醋酸、酪酸、癩草酸的存在，可由其特有氣味判知。

4. 滴定結果乘10（為換算成100毫升），便得出代表胃液總酸度的值。

游離鹽酸測定

胃液游離鹽酸定量是以對位二甲基氨基偶氮苯做指示劑用 0.1N 苛性鈉液來滴定。滴定的終點應為液體的顏色由紅變為淺黃紅色的瞬間。滴定到黃色甚至到橙黃色都是過高而不正確的結果。

游離鹽酸量常以中和100毫升，被檢胃液中游離鹽酸所需 0.1N 鹼液的容量表示之。這樣表示方法是便於游離鹽酸度及總酸度的互相比較。通常認為正常濾過胃液的游離鹽酸度平均是20—40。游離鹽酸度有時也用百分比表示，可由下述方式算出：0.1N 鹼液，1 毫升相當於0.1N 鹽酸液，1 毫升，而0.1N 鹽酸液 1 毫升中是含有鹽酸 0.00365克；因此滴定所需的0.1N 鹼液毫升數乘0.00365並再乘10（取10毫升胃液滴定时），則得出被檢胃液中鹽酸含量的百分比。

- 器材： 1. 錐形瓶。
2. 10毫升吸量管。
3. 滴定管。

- 試劑： 1. 濾過的胃液。
2. 0.1N 苛性鈉液。
3. 0.5% 對位二甲基氨基偶氮苯酒精溶液。

操作：

1. 用吸量管吸取濾過的胃液10毫解放於錐形瓶中。
2. 加 1—2 滴對位二甲基氨基偶氮苯液。
3. 用0.1N 苛性鈉液滴定瓶內容物至淺黃紅色。
4. 滴定結果乘10，此乘積即表示胃液中游離鹽酸的有條件的酸度單位量。

用同一樣品測定游離鹽酸及總酸度的方法

用同一樣品也可測定游離鹽酸及總酸度，這在胃液量少時很有價值，並且此種測定酸度的方法常用於臨床化驗。

- 器材： 1. 錐形瓶。 2. 10毫升吸量管。 3. 滴定管。

- 試劑： 1. 濾過的胃液。
2. 0.1N 苛性鈉液。
3. 對位二甲基氨基偶氮苯酒精溶液。
4. 酚酞酒精溶液。

操作：

1. 用吸量管量取濾過的胃液10毫解放於錐形瓶中。
2. 加對位二甲基氨基偶氮苯1—2滴。
3. 用0.1N苛性鈉液滴定至出現淺黃紅色，讀取所消耗的鹼液毫升數(第一終點)。
4. 向此同一瓶內加酚酞1—2滴，並繼續滴定至出現的薔薇紅色不消褪時為止，讀取兩個滴定所消耗的鹼液總數(第二終點)。

其計算可由下列表明：

用對位二甲基氨基偶氮苯做指示劑滴定時(第一終點)消耗2.32毫升0.1N鹼液，用酚酞做指示劑滴定時(第二終點)消耗4.25毫升，0.1N鹼液。所以100毫升濾過胃液的游離鹽酸量等於 $2.32 \times 10 = 23.2$ ，而總酸度等於 $4.25 \times 10 = 42.5$ 。

※結合鹽酸測定

與食物蛋白及其消化產物不穩固結合的胃液鹽酸可用茜素磺酸鈉水溶液為指示劑，以0.1N鹼液滴定量。滴定時除結合鹽酸之外一切酸性物質都被中和後，指示劑的黃色即變為紫色。因而由總酸度中減去藉茜素磺酸鈉滴定的酸度即可得出結合鹽酸酸度。

- 器材：
1. 錐形瓶。
 2. 10毫升吸量管。
- 試劑：
1. 濾過的胃液。
 2. 0.1N苛性鈉液。
 3. 1%茜素磺酸鈉水溶液。

操作：

1. 用吸量管量取濾過的胃液10毫解放於錐形瓶中。
2. 加數滴指示劑。
3. 用0.1N苛性鈉液滴定至出現紫色。
4. 計算方法可由下列說明：

例如用酚酞做指示劑滴定10毫升胃液總酸度時(見本書第117頁)消耗0.1N鹼液6.20毫升。用茜素磺酸鈉做指示劑滴定時消耗4.05毫升，所以 $6.20 - 4.05 = 2.15$ 毫升的0.1N鹼液是相當於結合鹽酸數量，即結合鹽酸酸度等於21.5，結合鹽酸酸度也可用鹽酸的百分比計算。

測定游離及結合鹽酸後就能決定胃液的總鹽酸度。

※用同一樣品測定總酸度，游離及結合鹽酸的方法

游離及結合鹽酸酸度的測定可用同一份濾過的胃液操作。

器材： 1. 錐形瓶。 2. 10毫升吸量管。 3. 滴定管。

試劑： 1. 濾過的胃液。
2. 0.1N苛性鈉液。
3. 對位二甲基氨基偶氮苯的酒精溶液。
4. 酚酞酒精溶液。

操作：

1. 用吸量管量取濾過的胃液10毫解放於錐形瓶中。
2. 加對位二甲基氨基偶氮苯 1—2 滴及酚酞 2 滴。
3. 用0.1N 苛性鈉液滴定瓶內容物至淺黃紅色（假定消耗 2.10毫升），然後繼續滴定至檸檬黃色（假定從滴定開始共消耗4.44毫升），而最後滴到出現薔薇紅色（假定從滴定開始共消耗6.36毫升），即如下例：

滴定第一終點（淺黃紅色）	2.10毫升；
滴定第二終點（檸檬黃色）	4.44毫升；
滴定第三終點（薔薇紅色）	6.36毫升；
第二終點和第三終點的平均值：	$\frac{4.44+6.36}{2}=5.40$ 毫升。

即：

游離鹽酸	$2.10 \times 10 = 21.0$;
總鹽酸	$5.40 \times 10 = 54.0$;
結合鹽酸	$54.0 - 21.0 = 33.0$;
總酸度	$6.36 \times 10 = 63.6$ 。

胃液中血的反應

在初取出的胃液中雖有新鮮的血液（鮮紅色）但仍不能說明有出血性潰瘍的存在，因為胃粘膜可能被胃液導管損傷，在初採出的胃液中若有暗褐色血液（並且未曾吞嚥過血液）。就可以作為胃壁潰瘍極確實的證據。

通常決定血液的存在不僅用胃液的即時檢查，也用聯苯胺試法（見本書第104頁），並且是用經煮沸並未濾過的胃液來檢查。

胃液中膽汁的證明

由於腸管的逆蠕動，膽汁能夠進入胃液中。因而常以胃液的呈現草綠色或黃色的性質來判斷膽汁的存在。用未濾過的胃液測定膽汁色素（見本書第113頁）。

尿 液

尿是機體所排出之物質代謝最終產物的水溶液。正常時每次尿中的成份變動範圍很廣。但在一晝夜尿中許多成份在量上的改變，以及病理成份（如糖、蛋白質、膽汁色素等）的明顯出現，却能表示出患者的健康狀態，並且也是治療上極為重要的準繩^①。

尿液包括有吸收到體內的水份或有機物質氧化時所產生的水份；含氮物質的分解產物，無機物質各種藥物以及其他物質。

人類於普通營養及勞動條件下，其尿液成份與含量上的關係如下：（據 Гулевич 氏）。

一晝夜量	1,100—1,600 毫升
比 重	1,010—1,025
每 日 排 出 量 (克)	
固體 (殘渣)	47.0—65.0
有機物	22.0—46.0
尿 素	20.0—35.0
尿 酸	0.3—1.2
肌酸酐	1.52—2.4
無機物	12.0—25.0
Cl ⁻	5.0—11.0
PO ₄ ⁻⁻⁻	2.0—6.7
SO ₄ ⁻⁻⁻ (總量)	1.8—3.6
Na ⁺	3.0—5.2
K ⁺	2.0—3.3
NH ₄ ⁺	0.6—1.3
Ca ⁺⁺	0.2—0.3
Mg ⁺⁺	0.06—1.2

人類的新鮮尿通常對石蕊試紙呈酸性反應 (pH = 5—7)。放置後則變成鹼性 (由細菌的尿素酶的作用，尿素分解為氨)。當膀胱有卡他性炎症時，即或新鮮尿液也能呈現鹼性反應。

① 尿化學及其檢查法詳述於 В. С. Гулевич 氏所著的「尿分析」一書中。

人體一晝夜排出的尿量變動範圍很大，此種變動決定於許多條件；尤其主要是決定於飲水情況。在病態時尿液的排泄可能完全停止（無尿），尿液排泄減少（乏尿）或尿液排泄增加（多尿）。

在檢查尿時須要知道的並不是其任何成份的百分比，而是在一日尿中各種物質的含量。因為由於尿的排出時間之不同其成份也不同，所以分析尿液時須採取一晝夜的全尿。

一晝夜的全尿液收集方法如下：

在一定時間（如早七時）囑患者排尿（此尿棄去）。其後陸續採集全尿於清潔的容器內，並加少量甲苯（防腐用）。最後一次尿在翌晨七時採取之。補加甲苯（將液面完全蓋上），並保存於冷暗處。

有時也採取一定時間所排出之尿液進行分析（如早、晚等時間所排之尿液）。但是測定易於分解的物質（如雙醋酸、維生素C等）時，只可採用新鮮尿。

在分析尿液之前應將檢尿充分混合。

尿比重的測定

正常尿液在溫度15°C時比重是1.010—1.025。

當糖尿病，腎機能障礙以及其他許多疾病時，測定尿液比重有很大的診斷價值。尿比重同樣也決定於飲水量的多寡。

通常測定尿比重時，用特殊的液體比重計（稱為尿比重計）測定。尿比重計有兩種：一種是測定低比重（刻度從1.000到1.030）。另一種是測定高比重的（刻度從1.030到1.060）。測定尿比重時先用第一種。將被檢尿沿着器壁（避免發生泡沫^①）注入玻璃筒內，再將尿比重計輕輕放入其中。由比重計與凹面相對應的刻線即可讀出其數值。如尿比重大則用第二種尿比重計測定。尿的比重一般應在溫度15°C時測定，因為尿比重計的刻度大多數是按此溫度計算出來的。如尿溫度不是15°C或因某種原因難於使其達到15°C時，則按比重計讀數每高3°C加0.001，每低3°C則減去0.001。

尿色的檢查

尿通常呈各種不同的黃色，即從淡黃色到淺紅黃色。尿之所以呈色主要是由於其中含有尿色素、尿膽色素、糞紫質、尿紅素以及其他色素。尿液着色的強度一般是隨其比重而變。但糖尿病時其尿比重大而着色淺乃是例外。若尿中含血紅蛋白時，常呈微粉紅

① 假如已經產生泡沫可用濾紙將其除去之。

色或微褐色。如含膽色素時便呈綠色或黃褐色。當服用各種藥物或攝取某些食物時，尿色能有顯著地改變。如服用匹拉米董（解熱劑）後，通常呈微紅色，服用番瀉葉（瀉劑）後呈淺綠黃色等。

尿色的判定，通常用以下文字來表示：稻草黃色、琥珀黃色、番紅花黃色、淺粉黃色、血紅色、紅褐色、褐色、淺綠褐色等。

尿透明度的檢查

初排出的正常尿通常是透明的；放置後其中便出現一些主要由上皮細胞、粘液小體等新構成的雲絮狀混濁。鹼性尿之所以混濁主要是由於在鹼性時析出磷酸鹽的緣故。加酸時則混濁消失。富於尿酸鹽的尿靜止並澄清以後，出現由酸性尿酸鈉所形成的微紅色沉澱。在許多病態情況下，尿初由膀胱排出時即已混濁。

判定尿透明度，通常表示如下：透明的、微濁的、混濁的、乳濁的。

尿 嗅 的 檢 查

新鮮尿通常具有特殊微弱芳香氣味，並且稍有肉汁及新鮮鷄卵的味，當食用辣根、蒜以後即帶有臭味。在多量酮體存在時出現特殊的「水果」臭。鹼性醱酵的腐敗尿呈不快的氨刺激嗅。

尿 反 應 的 測 定

滴尿於石蕊試紙上檢查其酸度。尿的反應可能是酸性、弱酸性、中性、弱鹼性或鹼性。

正常尿的酸度因食物的種類而不同。肉食時反應傾向酸性（酸多），在植物性食品時傾向鹼性（鹼多）。在普通膳食時，尿呈酸性或弱酸性（ $\text{pH} = 5 - 7$ ）。

當痛風、熱病、糖尿病及其他疾病時尿的酸性增強。

尿糖的定性反應

正常尿常含少量葡萄糖（約0.02%），但用一般檢尿之反應不能檢出。當大量攝取含糖食物後，尿中葡萄糖量能有暫時的增加（飲食性糖尿）。有許多疾病尿中葡萄糖含量的升高不僅是暫時的而且是持續的（糖尿）。

尿中葡萄糖的定性可用下列方法：Trommer氏試法，Fehling氏反應，成脲實驗及醱酵試驗等檢查之。

Trommer 氏試法是證明尿中葡萄糖最常用的方法。醱酵試驗不僅是很容易做到，同時在證明尿中的葡萄糖上也是一個比較準確的反應。此試驗對葡萄糖是比較有特異性的。雖然果糖及少數其他糖類在此試驗也出現陽性，但是這些糖類（除葡萄糖外）却很少出現於尿中。但因醱酵試法不甚敏銳，故用此法不能檢出正常尿中葡萄糖的含量（極少量）。考慮到 Trommer 氏反應及醱酵試驗的上述價值，因此比較詳細地敘述其在尿液分析上的應用。

- 器材：
1. 試管及試管架。
 2. 漏斗。
 3. 醱酵管三個（見本書圖7）。
 4. 乳鉢及杵。
 5. 燒杯兩個。
 6. 量筒。
 7. 保溫箱。
 8. 溫度計。

- 試劑：
1. 10% 苛性鈉液。
 2. 1% 硫酸銅液。
 3. 新鮮酵母。
 4. 0.5% 葡萄糖水溶液。
 5. 1% 酒石酸液。

操作：

I. Trommer 氏反應

1. 取檢尿 4—5 毫升於試管中。
2. 加 10% 苛性鈉液 2—3 毫升，並滴入稀薄硫酸銅液直到出現氫氧化銅的淺藍色混濁並振盪時也不消失為止。
3. 對液層上部加熱至開始沸騰為止。停止加熱後一分鐘之內如出現氫氧化亞銅的黃色沉澱或氧化亞銅的紅色沉澱，則為葡萄糖的陽性反應。只現黃色則不足以認為陽性反應，因為正常尿中某些還原性物質（肌酐、正常尿中微量的葡萄糖等）也能引起這樣的結果。又尿中有大量蛋白時妨碍本反應的進行，此時須先加醋酸煮沸濾過。

II. 醱 酵 試 驗

1. 煮沸檢尿 100 毫升並冷却之。
2. 取酵母數小片與煮沸並冷却的尿 2—3 毫升，共同研碎（在乳鉢中）；用同一煮沸並冷却的尿 30 毫升將研碎的酵母洗於燒杯中，再加 1% 的酒石酸液至對石蕊試紙呈明顯的酸性為止。
3. 將燒杯內容物倒入醱酵管內令其封閉端完全充滿，且使管的擴大部也存有少量液體。

4. 再用兩個醱酵管做對照實驗，即對照酵母醱酵的能力及其含糖量。為此將一管按上述裝好，但用已酸性化的 0.5% 葡萄糖液代替尿液，而另一管用酒石酸酸性化的蒸餾水代替尿液。

5. 將以上三醱酵管放於 30—35°C 的保溫箱中 2—3 小時。

6. 若檢尿中有糖並酵母合乎要求，則於已充滿尿的醱酵管頂端能看到氣體，要確證此醱酵管中所形成的氣體是否為 CO_2 可用下法：

醱的醱管擴大部加滿苛性鈉液，用拇指緊緊按住管口倒轉數次。二氧化碳氣為鹼吸收而成真空，拇指即被吸着於管口。

如酵母質量很純時，則於其他兩個對照管可以看到：有葡萄糖的管內有 CO_2 形成，蒸餾水的管看不到氣體，或者祇出現極微量的小氣泡。

尿 糖 定 量

臨床上測定尿糖含量常用旋光法。此法是基於葡萄糖有旋轉偏光面的性質。

為檢尿用，有非常方便的旋光鏡（檢糖計），它能準確的驗出尿中葡萄糖的百分含量。旋光鏡的簡單結構如 20 圖。

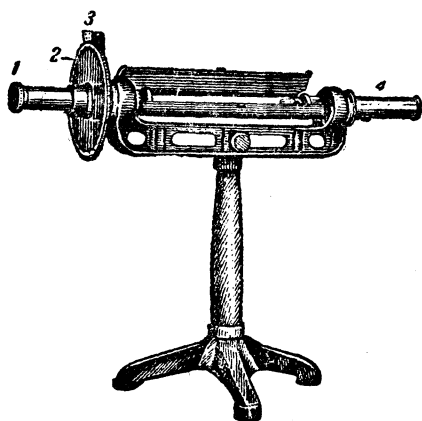


圖 20



圖 21

偏光計有特殊管。葡萄糖定量時為便於計算通常用 1.894 或 0.947 分米 (Decimeter) 的旋光鏡管 (圖 21)。光源用生出單色光之鈉焰的氯化鈉燈或鈉燈。

光 (圖 20) 於偏光鏡 (4) 處極化，通過充滿檢尿的觀測管進入固定於圓板上之檢光鏡 (2)。檢者由接目鏡 (1) 進行觀測。視野為兩半圓。

檢查前首先確定儀器之零點。為此置充滿蒸餾水的觀測管於其槽中；調節接目鏡 (1) 至分視野為兩半之線能清楚明視之處，其次迴轉刻度盤 (2) 至全視野呈同一光度為

止，此點即為本儀器之零點。假如儀器之零點不與圓板零點一致，則記錄其差。

測零點以及偏光角度時，可藉遊標尺(3)讀取刻度盤之刻度，此遊標尺能標示出十分之一度。如22圖刻度盤向右轉，固定遊標尺之零點位於第3—4刻度之間，因此旋轉角度為 $+3^\circ$ 稍多。其小數點下一位之讀數即為刻度盤的刻度與遊標尺刻度相一致之處。按此圖之遊標尺讀數為三分度，因此取值為 $+33'$ 。

假若此旋光鏡之零點在零之左側，則檢尿時(通常葡萄糖及其他許多右旋化合物之溶液亦然)，將所得之差加於測得度數中。如零點移向右側則減去此差。圓板零點確定後，若用旋光物質(例如葡萄糖)的溶液充滿觀測管，則兩半視野的光度即變不同，為了恢復同一光度，就需要旋轉圓板至一定角度。當檢查葡萄糖液時(及一般的右旋物質)，按順時針方向旋轉圓板以求視野光度的一致。當視野兩半月光度到一致時，即於此位置按標線讀取旋轉之角度。

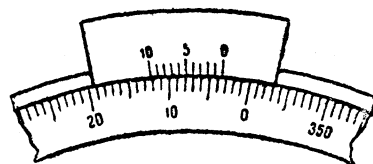


圖 22

如用於分析的觀測管長為 1.894 分米，則糖含量之百分數即等於其旋轉角度。若用 0.947 分米長的觀測管時，讀數須乘以二，如此即可直接得出糖的百分數。其計算很容易。即糖含量通常按下式計算：

$$A = \frac{100 \times \alpha}{l \times 52.8}$$

此處 A 為含糖量的百分數， α 為旋轉角度，l 為觀測管之長，52.8 為葡萄糖的比旋光度。

若觀測管之長 1.894 分米則用下式：

$$A = \frac{100 \times \alpha}{1.894 \times 52.8} = \frac{100 \alpha}{100} = \alpha$$

亦即用旋轉角度以測定溶液中葡萄糖含量的百分數。

器材：1. 偏光計(檢糖計)。

2. 燒杯兩個。

3. 玻璃漏斗。

4. 量筒。

試劑：1. 10% 醋酸液。

2. 10% 醋酸鉛液。

操作：

1. 將尿變成弱酸性。

2. 添加十分之一容積的醋酸鉛液，而後濾過之(尿脫色用)。

3. 將準備好的待檢尿裝滿於觀測管中(長 1.894 分米)，而後測定旋轉角度。將讀數乘 1.1 (將尿被醋酸鉛所稀釋的倍數考慮在內)。遂得出尿中葡萄糖的百分量。

如果不用長1.894分米管而用0.947分米管，則將得到之結果乘二。若尿中含有蛋白質。則須先煮沸濾過除去之。因為蛋白溶液係左旋性^①。

酮 體 反 應

酮體包括 β 羧丁酸，乙醯乙酸及丙酮，當醣或脂肪代謝障礙時，尤其是當糖尿病，飢餓以及不正常的飲食方式時，能出現於尿中。

在臨床化驗時證明尿中酮體有很大診斷價值。

可用60頁所述之反應檢出尿中酮體。

檢查尿時必須考慮到三氯化鐵試法對雙醋酸之銳敏度較小。而其陰性結果祇能意味着檢尿中雙醋酸低於0.05%。此外，內服某些藥物後尿中亦能產生同樣顏色；因此三氯化鐵反應陽性時，需做對照試驗。

對照試驗是根據加熱時雙醋酸之分解的事實為基礎。其方法如下：

取尿煮沸兩分鐘，冷卻，濾過，再做雙醋酸反應。因為煮沸時雙醋酸分解，所以煮沸後應不出現陽性反應或反應甚弱。

尿中丙酮的證明，其操作如下：

取檢尿約100毫升，蒸餾出5毫升於用冰冷卻的試管中。

此第一部分之蒸餾液中，集有大部分尿中原有的丙酮以及蒸餾時由雙醋酸分解而產生之丙酮。

用餾出液做丙酮之碘化鉀碘溶液反應。

為此取餾出液2—3毫升加數滴10%鹼液及碘液（含碘化鉀）。如有丙酮存在時則變混濁，並具有碘仿之特殊氣味。但應注意尿中有酒精時也能出現碘仿反應。當尿糖醱酵時，可產生酒精，又內服酒精（飲酒）時，亦能排於尿中。

尿 中 蛋 白 質 定 性

正常尿只含微量的蛋白質，用下述一般反應不能檢出。許多疾病，一晝夜尿中能出現1—25克蛋白質。而最常出現者為血清清蛋白及血清球蛋白。

① 往往尿中也能有其他左旋物質，如乳糖、五碳醣、 β 羧丁酸以及一些其他物質。此時用旋光法測定尿中葡萄糖量，可能發生許多誤差。為了避免這些誤差，可用偏光鏡在接檢查一次，並使醱酵後用醋酸鉛處理之後再檢查一次。葡萄糖因醱酵而破壞，而左旋物質仍留於其中（除尿中很少遇到之醱酵性果糖外），兩次所得數值相加即可。

尿中蛋白定性檢查，通常採取三種蛋白沉澱反應：

1. 煮沸實驗，
2. 用濃硝酸沉澱法，
3. 用硫代水楊酸沉澱法。

煮沸實驗是在有足夠量的中性鹽存在下加熱使成弱酸性，則蛋白凝固。

器材：1. 試管及試管架。

2. 玻璃漏斗。

3. 吸量管。

試劑：1. 2%醋酸液。

2. NaCl 飽和溶液。

3. 比重1.2—1.3硝酸。

4. 20%硫代水楊酸液。

操作：

I. 煮沸實驗

1. 取濾過的檢尿約5毫升於試管內，如尿為鹼性須先使其成為弱酸性。

2. 加NaCl飽和溶液約1毫升，並在溶液之上層加熱。

3. 待溶液之上層剛一開始沸騰時，便停止加熱，然後加稀醋酸2—3滴，並觀察是否出現沉澱。如有沉澱當補加醋酸尚不溶解時，即為尿中有蛋白質之證。

II. 濃硝酸實驗

取一試管加濃硝酸2—3毫升，謹慎地重疊檢尿濾液2—3毫升於酸液之上。有蛋白質存在時兩液的境界處出現白色混濁層，通稱為白環。如尿中蛋白質很少，此白環的產生需經2—4分鐘。

濃硝酸實驗較煮沸實驗銳敏，即約0.0033%之蛋白質尚能檢出。

如無蛋白質存在時，則在兩液境界處出現有色而透明之環，這是因為硝酸作用於尿色素所起的變化。富於尿酸鹽的尿，此白環的產生不在二液之境界處而在其稍上方。富有尿素的尿能產生沉澱，此乃由於不溶性的尿素硝酸鹽所成。此環中有結晶，而蛋白質之環則為無晶形。如先用水將尿稀釋重做此實驗時，則由尿素所生之白環即將消失。最後，不明顯之混濁可來自尿中粘蛋白的沉澱。此混濁不在硝酸與尿液的境界處，而位於較高處且境界不清。

III. 硫代水楊酸實驗

取試管加透明的弱酸性或酸性尿約4毫升，加20%硫代水楊酸液8—10滴。有沉澱或混濁出現時，即為蛋白質存在之證明。

臨床上最常用者為硫代水楊酸實驗。此法反應極其敏銳能檢出0.0015%的蛋白質。

蛋白質的定量

尿中蛋白質定量通常採用 Стольников 氏法。

此法是基于下述實驗確定的事實。當濃硝酸層與尿液層相互作用，在2—3分鐘內產生蛋白環時，則此尿液含蛋白質約0.0033%。

準備稀釋倍數不同之檢尿若干份，各做硝酸反應，並且記下2—3分鐘間出現蛋白環之稀釋倍數。

- 器材：
1. 試管及試管架。
 2. 漏斗。
 3. 吸量管。
 4. 滴定管。

試劑：比重1.2—1.3的硝酸。

操作：

1. 取五個試管附上號碼，試管內各加蒸餾水2.0毫升。
2. 第一管加濾過的尿液2毫升，混合其內容物，取此混合液2毫升移至第二管內，依此類推。最後由第五管取混合液2毫升，棄去之。

如此尿稀釋成2, 4, 8, 16及32倍。

3. 就各管做硝酸反應，記錄2—3分鐘內產生蛋白環管之稀釋倍數。如1—2分鐘蛋白環出現於稀釋8倍之試管，而3—4分鐘出現於稀釋16倍之試管，此即表示所需之稀釋倍數位於8—16倍之間。其後稀釋尿液成10, 12倍……等。並重做此實驗即可確定其所需之稀釋倍數。

將得到之稀倍數乘0.0033即可得出尿中蛋白質含量的百分數。

尿中血液定性反應

尿中血色素的存在，用下述方法檢出：將尿加鹼並煮沸之則析出磷酸鹽沉澱，此沉澱吸附由血色素所生成的血色元，待沉澱澄清後呈暗紅色。

此外尿中血液之檢出亦可採用癒創木脂及聯苯胺法。

含血色素的尿，自然也呈現蛋白反應。

器材：試管及試管架。

- 試劑：
1. 10%苛性鈉液。
 2. 新製癒創木脂液（製法：見本書第143頁第12項）。
 3. 3%過氧化氫液。
 4. 2%醋酸液。

5. 新製 5% 聯苯胺冰醋酸溶液。

操作：

I. 用鹼煮沸

1. 取未濾過的檢尿約 5 毫升於試管中，加 10% 苛性鈉液 5—6 滴。
2. 煮沸之。
3. 觀察產生磷酸鹽的雪花狀沉澱（六出雪花狀一譯者），有血紅蛋白存在時，沉澱澄清後，比原尿將更呈暗黑色；無血紅蛋白時，磷酸鹽之沉澱則比原尿色較淺^①。

II. 瘰創木脂法

1. 取未濾過的新鮮檢尿約 5 毫升於試管內。
2. 用石蕊試紙檢查尿液的反應，如尿呈鹼性使其變成酸性。
3. 因尿中有膿時通常亦呈陽性反應，故須煮沸，沸後即不呈陽性反應。
4. 加瘰創木脂酒精液 1—2 毫升及過氧化氫數滴於試管中。
5. 出現藍色即為陽性反應，此係由於過氧化氫之氧藉血紅蛋白而傳於瘰創木酸，形成瘰創木酸之臭氧化物的緣故。

III. 聯苯胺法

1. 取新鮮未濾過的尿液 1—2 毫升於試管內，煮沸後冷卻之。
 2. 加等量聯苯胺溶液及數滴過氧化氫液。如出現藍色或綠色之聯苯胺氧化產物即為陽性反應。此乃由於過氧化氫的氧藉血紅蛋白而將聯苯胺氧化所致。
- 如將尿長時放置，血紅蛋白變為高鐵血紅蛋白時，則用本法不能檢出尿中血液。

尿中膽汁色素反應

膽汁色素包括膽紅素、膽綠素、膽紫素、膽褐素、膽藍素，在黃疸時通常以其鹼性鹽出現於尿中。

含有膽汁色素的尿液呈黃褐色或綠色。此外，黃疸尿振盪時其泡沫常呈黃色，此可做為尿中膽汁色素存在之徵。

尿中膽汁色素之存在亦可用化學方法檢出。

- 器材：
1. 試管及試管架。
 2. 玻璃漏斗。
 3. 玻璃片。

① 在許多情況下尿中磷酸鹽含量很少，因而出現極微量的沉澱。此時應當人為的加入磷酸鹽。為此將尿混以數滴氫化鈣液，再加入混有數滴磷酸鈉的苛性鈉液。磷酸鈉與氫化鈣產生磷酸鈣沉澱，以後再煮沸尿。若尿強度着色而妨礙區別沉澱顏色時，可將此沉澱濾過並用水洗。如此處理之後可以區別沉澱之色。

- 試劑：
1. 含有微量亞硝酸的濃硝酸。
 2. 10% 碳酸鈉液。
 3. 3% 氯化鈣液。
 4. 乙醇。
 5. 濃鹽酸。

操作：

I. Gmelin 氏試法

1. 取濃硝酸 1—2 毫升於試管內。
2. 審慎添加檢尿 1—2 毫升使其重疊於硝酸之上。在溶液的接觸面形成綠、藍、紫、紅及黃色環。

出現綠色環為膽汁色素存在之徵。放置時則整個環進而氧化為黃色。

II. 小型濾紙濾過法

將尿液通過小型濾紙濾過數次，於是膽色素部分地留在濾紙上。若將小型濾紙展開於玻璃片上，向其中心滴加濃硝酸，便出現各種色環。尿中有膽汁色素存在時，綠色環將位於距中心稍遠，亦即硝酸較少之處。

III. Huppert—Salkowski 氏試法

1. 取檢尿約 5 毫升於試管中。
2. 加碳酸鈉液約 2 毫升邊混合邊滴加氯化鈣約 2 毫升。
3. 濾除沉澱並用水洗淨。
4. 將濾紙與沉澱一併放入試管中。
5. 加酒精 5—6 毫升及濃硝酸 1—2 滴。
6. 煮沸試管之內容物。

如尿中含有膽汁色素，溶液即呈綠色或藍綠色。

尿中膽汁酸的反應

在黃疸時，尿中有時能出現少量膽酸鹽。

尿中膽酸及其鹽類的存在可用以下方法定性及定量（部分的）。此法乃根據膽酸及其鹽類具有降低溶液表面張力的特性。

器材：燒杯。

- 試劑：
1. 1% NaOH 液。
 2. 酚酞液。
 3. 硫黃華。

操作：

1. 取尿約 50 毫升放入燒杯中並滴加 1—2 滴酚酞液。

2. 用苛性鈉液將尿中和，並置燒杯於冷水中10分鐘。
3. 將少量硫黃華撒於尿液的表面。

如硫黃華立刻沉底則尿中含膽酸及其鹽約0.01%。如需要輕輕振盪後硫黃華才能沉下時，則尿中含膽酸及其鹽約為0.0025%。若振盪以後，硫黃華仍留在表面，則說明尿中不含膽酸及其鹽類。

尿中尿膽素反應

膽汁色素即膽紅素，在腸中受細菌作用而還原。還原產物之大部以糞膽素之形式隨糞排出，尚有一部以尿膽素形式吸收到門脈血中（顯然與糞膽素係同一物質）。以後更還原成無色的尿膽素元，其一部分隨尿排出。

因此新鮮的正常尿液中並沒有尿膽素，但於日光下放置時經大氣中氧的作用，一晝夜之尿中可由尿膽素元形成約0.1克的尿膽素。

尿中出現多量的尿膽素係肝機能不全的重要徵候。與紅血球破壞增多有關的疾病，尿中亦含有多量之尿膽素。

肝機能障礙，傳染病以及其它某些疾病時，一晝夜尿液中尿膽素含量可達2克。

尿膽素為無定形之淺紅色物質。尿膽素溶液呈現特殊之吸收光譜（見本書圖17）。在一定條件下尿膽素可發生美麗的螢光，此法亦可用於尿膽素之檢出。

I. Ненцкий 氏試法

器材： 1. 試管及試管架
2. 橡皮塞。

試劑： 1. 2% 鹽酸。
2. 戊醇。
3. 濾過後的氯化鋅液（製法：氯化鋅1克溶於乙醇100毫升中用氨水使成鹼性）。

操作：

1. 取檢尿約10毫升於試管中，加鹽酸使其變成弱酸性。
2. 加戊醇約3毫升蓋以橡皮塞，倒置試管數次混合其內容物。此時尿膽素溶於戊醇中。
3. 使溶液澄清，並加數滴氯化鋅液於溶有尿膽素之上部醇層中（不將其倒出）。尿中有尿膽素存在時出現綠色螢光。

II. 分光檢查法

器材： 1. 試管及試管架。
2. 漏斗。
3. 分光鏡。

- 試劑： 1. 10% 氨水。
2. 1% 氯化鋅液。

操作：

1. 取檢尿約10毫升於試管中，加氫氧化銨數滴至有顯著的氨味出現為止。
2. 放置數分鐘使其澄清，並濾出磷酸鹽。
3. 加氯化鋅液數滴於濾液中，觀察溶液之綠色螢光。
4. 用分光鏡觀察溶液，於光譜藍綠部位可見到吸收帶（圖17）。

尿中尿藍母反應

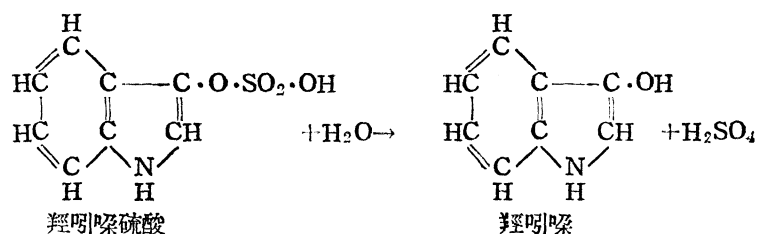
腸中許多氨基酸受腸內細菌的作用，部分發生分解（脫羧基、脫氨基及氧化）而形成對機體有毒的物質。此等物質吸收入血後，主要在肝中解毒，芳香族化合物如酚、甲酚、羥吲哚（indoxyl）， α 羥- β 甲基吲哚（scatoxyl）等與硫酸或葡萄糖醛酸結合成偶合化合物，並以此種形式隨尿排出。

尿藍母：此乃羥吲哚硫酸的鉀鹽或鈉鹽。在正常人尿中尿藍母的含量極少（一晝夜排出約0.01克）。

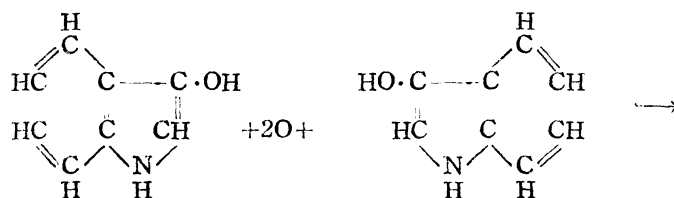
草食動物的尿中含有多量的尿藍母。當腸內腐敗增強時（腐敗細菌大量存在），人尿中亦可出現多量的尿藍母。

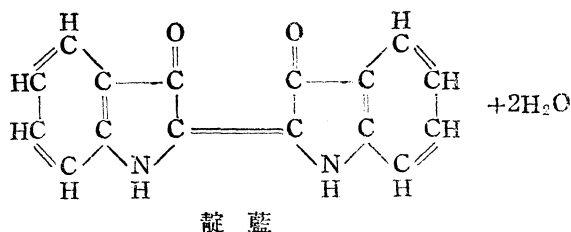
證明尿中尿藍母的定性反應，是根據以下的事實：

用濃鹽酸作用於檢尿，則羥吲哚硫酸按如下方程式水解。



其次加氯仿及少量的高錳酸鉀，因而羥吲哚按下式被氧化成靛藍。





產生的靛藍因易溶於氯仿中而使氯仿呈藍色。呈色的強度，在某種程度上亦可做為檢尿中尿藍母含量之指標。

器材：試管及試管架。

- 試劑： 1. 比重1.19的鹽酸。
2. 氯仿。
3. 1%高錳酸鉀液。

操作：

1. 取檢尿約5毫升加入試管中。
2. 邊振盪邊添加等容積的濃鹽酸。
3. 加氯仿1毫升及高錳酸鉀液1—2滴。
4. 將試管用塞蓋嚴，倒置數次，慎勿振盪。
5. 將試管放於試管架上，觀察氯仿層呈藍色。

根據此呈色強度，可概略地測知尿中尿藍母的含量，其結果通常以「正常」及「顯著出現」表示之。

尿液的臨床檢查^①

臨床尿液檢查時採用上述各種反應。

此外臨床尿液分析時也常用顯微鏡檢查尿殘渣中的紅血球及白血球。紅血球在顯微鏡下是微黃色圓盤形；由側面觀察呈圓餅乾狀。在酸性濃尿中紅血球的邊緣不整，呈鋸齒狀；在鹼性尿中相反則膨脹，輪廓鮮明。有時紅血球完全喪失其有色物質，此多半為腎出血之徵。

完全正常的尿中可以出現極少量的紅血球。檢尿中之紅血球於每視野內少於10—15個時，聯苯胺反應呈陰性。

白血球較紅血球大，在尿中能見到顆粒狀白血球，其中尤以正常型顆粒白血球為常見。白血球在顯微鏡下，其外觀與腎上皮細胞相似。可用碘反應區別之。碘可使白血球

① 此檢查可用為常規工作。

……1948年十月一日……

尿 液 分 析

患者

反 應 性	……酸 性
比 重	……1.018
色	……稻草黃色
臭 味	……正 常
殘 渣	……微有所見
糖	……未 檢 出
丙 酮	……無
乙 醯 醋 酸	……無
蛋 白	……0.0033%
尿 膽 素	……少 量
尿 藍 母	……未 檢 出
紅 血 球	……1—3/每視野中
白 血 球	……3—5/每視野中

署 名

(表圖) 23

呈褐色（動物澱粉），而上皮細胞則着淡黃色。

在正常尿液中亦可遇到少量之白血球。其大量出現於尿中是標示腎或尿道的病態。

臨床之尿液檢查幾乎可用於每種疾患，並對診斷以及豫後有重要價值。

茲舉例患者的一般（簡略的）尿液臨床檢查如圖（圖23）。

※尿沉渣及尿結石的檢查

具有混濁甚至有沉澱的尿液常須進行分析。因尿沉渣往往由於物質代謝障礙而出現，所以尿殘渣的分析是有意義的。

尿沉渣分為有機物及無機物兩部：

微生物、血球、尿道及陰道上皮小片等都屬於有機殘渣。

各種鹽類及有機物的沉澱屬於無機殘渣。由於這些物質在酸性液及鹼性液中其溶解度不同，可分成酸性尿沉渣及鹼性尿殘渣。

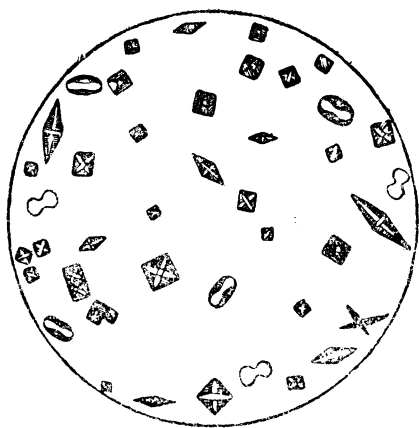


圖 24



圖 25

酸性尿中有尿酸（見本書圖14）或酸性尿酸鈣鹽或鈉鹽（酸性尿酸鹽）。以及草酸鈣（見本書圖24）與磷酸氫鈣的沉澱。

鹼性尿中有磷酸鎂銨（正磷酸鹽）（見圖25），鹼土金屬的正磷酸鹽、酸性尿酸銨

鹽（見圖26）等。

很少見到有蛋白質及某些氨基酸的沉澱（胱氨酸，酥氨酸，白氨酸）；而脂肪及膽固醇也能出現。

如沉澱集聚於尿路則稱為尿結石。尿結石由有機質密集而成，並可達到鷄卵大，因此可惹起疼痛及尿路堵塞。稱小形尿結石為尿砂，大形為尿石。

在臨床上為診斷疾病及採用正確的治療方法，常進行尿殘渣及尿結石的分析。

結石的組成常不一致，其中含有各種不同物質。

分析尿結石是根據顯微鏡的檢查，溶解度的化學實驗以及尿殘渣中含有物質的特殊反應。

茲僅就尿殘渣或尿酸鹽、磷酸鹽及草酸鹽之結石等之檢查法介紹於下：

器材：1. 乳鉢及杵。

2. 試管及試管架。

3. 漏斗。

4. 坩鍋蓋或瓷皿。

5. 顯微鏡。

試劑：1. 10% 鹽酸。

2. 10% 氨水。

3. 10% 醋酸。

4. 濃硝酸。

5. 尿殘渣或尿結石。

操作：

I. 取一小部尿殘渣置於載物玻璃片上，用蓋玻璃片蓋上，然後用顯微鏡觀察。根據其特殊形狀而確定其性質。

II. 1. 將殘渣或結石於容有3—5毫升蒸餾水的乳鉢中磨碎。

2. 將乳鉢中的內容物（順着玻璃棒）倒入試管中，添加鹽酸3—4毫升，振盪並同時加熱。

3. 待冷後濾過。有不溶性殘渣時，即說明其中有尿酸存在。

4. 加氨水於濾液中，直到出現明顯的鹼性反應（有顯著的氨味）為止，此時磷酸鹽及草酸鹽析出沉澱。

5. 用醋酸處理殘渣使之呈酸性反應，此時磷酸鹽溶解而草酸鹽仍殘存未溶。

以上所介紹的簡短檢查可圖示如下。

磷酸離子及草酸離子的存在，一般可由定性反應（即其與鉬酸銨及氯化鈣的反應）得到充分證明。

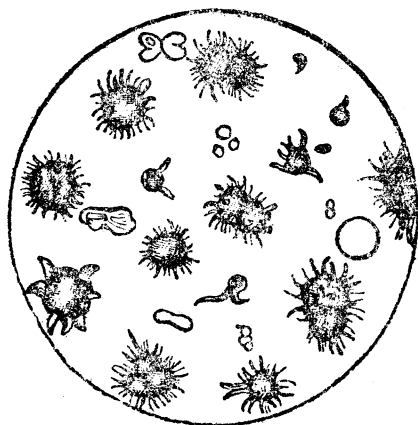
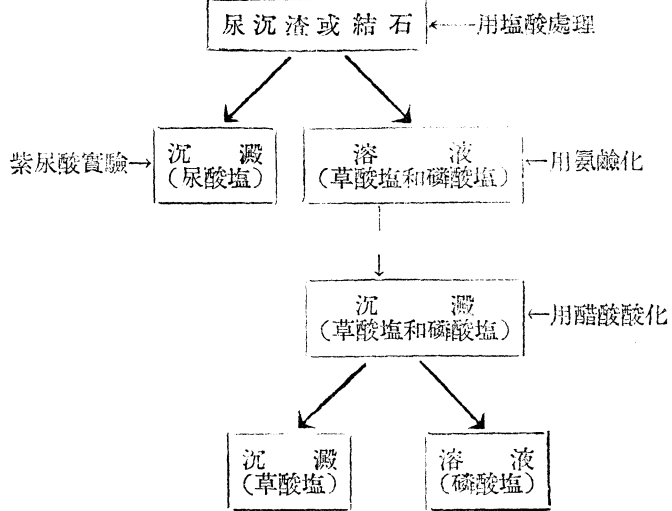


圖 26

尿殘渣分析圖解



乳

乳是正常用以養育初生期乳兒及哺乳類幼小動物的唯一營養物質。

乳具有高級的營養價值，並幾乎含有為營養所必需的全部成分。不同動物的乳其成分也不同，此外，食物、氣候與其他一些因素亦能影響乳之組成。

因此其化學成分難以用確定的數量來表示。茲列舉乳成分百分數的平均值如下（表五）：

表 五

	水	脂 肪	蛋 白	乳 糖	無 機 物
人 乳.....	88.82	3.11	1.94	6.30	0.19
牛 乳.....	87.35	3.80	3.47	4.75	0.73
綿羊乳.....	83.00	5.30	6.30	4.60	0.80
山羊乳.....	85.16	5.45	3.48	5.12	0.79
馬 乳.....	89.04	2.10	1.98	6.47	0.38

人乳與牛乳間最主要的區別是人乳較缺乏酪蛋白元及塩類而富於球蛋白及乳糖，其次，人乳中磷酸的五分之四以有機物形式存在，但在牛乳中的磷酸其四分之一是有機磷酸，四分之三則為無機磷酸。

乳中富有鈣並為生體中鈣和磷的有力保障，然而，乳中幾乎不含有鐵。

※УМИКОВ 氏鑑別人乳與牛乳的試法

用 УМИКОВ 氏呈色反應能區分人乳與牛乳，其反應為若將氫氧化銨加入人乳中並加熱到60°C時則呈紫色。

只有人乳產生此呈色反應，反應的強度決定於授乳期，愈在授乳後期則反應愈強。

- 器材：
1. 試管及試管架。
 2. 預先加熱到60°C的水浴。
 3. 溫度計。

試劑： 1. 人乳。

2. 牛乳。
3. 10%氫氧化鋁液。

操作：

1. 於一試管加入人乳約2毫升，另一試管加入牛乳約2毫升。
2. 兩試管內均添加氨水1—2毫升。
3. 置二試管於60°C之水浴中。
4. 觀察第一管（人乳）出現紫色，第二管（牛乳）則不呈色。

乳的酸度測定

如果檢查十分新鮮的牛乳則可發見其能結合一定量的0.1N鹼液。此主要說明乳中存在有能與鹼結合的蛋白質及酸性鹽。當放置時由於乳酸桿菌的作用使乳糖變成乳酸而乳的酸度增加。

乳的酸度通常以 Тернер 度來表示：此度數表示中和100毫升被檢乳所需0.1N鹼液的毫升數（用酚酞做指示劑）。

新搾出的牛乳其酸度為 Тернер 度15—18°；市售的牛乳是20—22°；這些都是未曾凝固的乳，但因煮沸而凝固的乳則變為24—27°。

人乳以及馬、驢乳的酸度較牛乳的為低。人乳的 Тернер 度為1—9°，馬乳約為6°，人乳、馬乳、驢乳對石蕊試紙呈明顯的鹼性反應。

- 器材：
1. 錐形瓶。
 2. 10毫升和20毫升的吸量管。
- 試劑：
1. 0.1N 氫氧化鈉液。
 2. 酚酞液。
 3. 乳。

操作：

1. 量取被檢乳10毫升於錐形瓶中。
2. 加蒸餾水20毫升及酚酞液數滴。
3. 一面振盪，一面滴加0.1N氫氧化鈉液至出現薔薇紅色繼續兩分鐘不褪為止。滴定時需要仔細振盪瓶內容物。
4. 滴定時所消耗的0.1N氫氧化鈉液毫升數乘10（為丁換算成100毫升）。結果表示被檢乳酸度的 Тернер 度數。

乳的比重測定

人乳的比重近於 1.032，通常有小範圍的升高或降低的變動。正常收集在一起的牛乳其比重動搖在 1.028—1.033 的範圍內。

測定牛乳的比重是極其普遍並且具有很大的實際意義。

如用水將乳沖淡則其比重減少；如除去乳脂或將一部分脫脂乳加於全乳中則其比重增加。因此，測定乳的比重能揭發其偽造，並能概略的確定其偽造情況。如同時除去乳脂和添加水分則雖屬雙重偽造但乳亦能保持其正常比重，在這種情況下只要測定乳中脂肪的百分比，便能容易揭穿其偽造（見本書第 141 頁）。

乳的比重通常用特殊的比重計即乳比重計（圖 27）測定，並由其刻度的度數表示之。乳比重計所示整數的百分之一和千分之一表示乳的實在比重。例如乳比重計讀數 32° 則相當於乳的比重 1.032。

乳亦與一切物體相同，其比重隨同溫度而改變，並且乳比重計度數是按常溫 15°C 時計算的，因此在其他溫度下測定乳比重時須行如下的修正：即溫度每高於 15°C 一度時在比重計的度數上加 0.2，而每低於 15°C 一度時減 0.2。

測定比重所取的乳應當不早於擠乳後兩小時，因為就初採取之乳所測定的比重較經過兩小時以後者為小，這一現象可做如下解釋：初擠出的乳中脂肪是液態，經過一定時間因其容積縮小而改變其形態。此種解釋可由以下證實，即加熱到超過脂肪的熔點而後再冷卻之，則乳中脂肪可重覆上述現象（液態 \rightleftharpoons 凝固——譯者），而除去乳脂的乳則無此現象。

器材：1. 乳比重計。

2. 高的量筒。

操作：

1. 仔細攪勻檢乳^①。

2. 沿器壁謹慎的將檢乳加入量筒中，以避免產生妨碍讀取乳比重計刻度的泡沫。

3. 慢慢將乾燥的乳比重計沉入乳中到 30 刻度處。

4. 過一分鐘後讀取乳表面與乳比重計刻度接觸處的度數。

5. 所得度數加 0.2，此為對凹面的修正數值。

6. 測量乳的溫度（溫度的刻度在乳比重計上部），並按溫度差加以校正。



圖 27

① 由於乳中脂肪具有生成乳脂層的性質，因此在做任何檢查之前必須將乳仔細混勻。

實 例:

乳比重計讀數	32.0
凹面修正	0.2
乳的溫度	17°
溫度差數	$17° - 15° = 2°$
溫度修正	$0.2 \times 2 = 0.4$
修正的乳比重計度數	$32.0 + 0.2 + 0.4 = 32.6$
乳的比重	1.0326

*乳 中 脂 肪 定 量

濃硫酸作用於乳時乳中蛋白溶解，脂肪膜的安定性降低，同時加熱後的脂肪當離心沉澱時易於以透明的柱狀而分離。加戊醇時形成的硫酸戊醇酯能促進脂肪小滴很快凝聚。測定脂肪用特殊裝置即乳脂計（圖28）。

器材： 1. 量取硫酸及戊醇的特殊裝置（圖29）。

2. 量乳用的11毫升吸量管。

3. 乳脂計及乳脂計架。

4. 水浴。

5. 溫度計。

6. 乳脂分離器。

試劑： 1. 濃硫酸(比重1.81—1.82)。

2. 戊醇。

操作：

1. 將硫酸10毫升用特殊裝置注入乳脂計中^①。

2. 加檢乳11毫升，添加時使乳沿乳脂計管壁流下盡量不使乳與硫酸混合。

3. 用特殊裝置或吸量管添加戊醇1毫升。

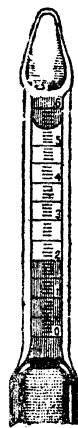


圖 28

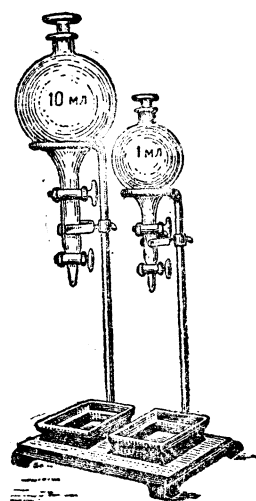


圖 29

務必遵守上述填充乳脂計的程序，否則，如直接使戊醇和硫酸混合時則形成一些物質（如戊烯），這些物質再旋入脂肪柱而使結果升高。

4. 將乳脂計緊密的蓋上膠塞。

5. 以拇指按住管塞，謹慎振盪乳脂計內容物，應當注意在混合時乳脂計發生強熱。

① 如無特殊器材時，可用量筒測量之。

6. 將乳脂計放入65°C水浴中3—5分鐘。
7. 把乳脂計插入（塞向外）離心器（即乳脂分離器）中，如測定的乳脂計不是偶數的而是用一個或一般奇數的乳脂計時則於另一乳脂計中加水，而後使乳脂計在離心機中對稱。
8. 遠心分離繼續五分鐘。
9. 取出乳脂計（塞向下）放入65°C水浴中三分鐘。
10. 根據乳脂計刻度得出脂肪百分數。

※乳中蛋白質定量

乳中有三種不同蛋白：1.酪蛋白元，2.乳白蛋白，3.乳球蛋白。

此外乳中尚發見有一些其他種蛋白，乳光蛋白（Опализин）即屬於此類，用氯化鈉鹽析人乳乳漿時能分離出來此種蛋白。另有一種集中在牛乳脂肪小球周圍的蛋白質亦屬於此類。最後在乳中又證明有與醇溶蛋白相似的蛋白質。但是所有這些蛋白（除酪蛋白元、乳白蛋白、乳球蛋白外）在乳中含量極微，且目前很少研究。

乳中蛋白質總量可按 Kjeldahl 氏法正確地定量乳中的氮來測定（見本書第83頁）。所得到的總氮值乘以係數6.45（按乳中蛋白氮的含量等於15.5%計算，並將所有氮都按屬於蛋白氮而考慮的）即得出乳中蛋白的含量①。

按 Kjeldahl 氏法測定與前述血清蛋白定量法相同（見本書第83頁）。

此試驗除需要本書第83頁至第84頁的器材試劑外，尚需稱量時用的有磨塞的小稱量瓶。

小瓶中加入牛乳數毫升，蓋塞後，在分析天秤上稱量。傾出約1毫升乳於燒瓶中（灰化用），並再稱稱量瓶。按稱量瓶傾出前後之重量差，得出測定用所取的乳量。

以後用硫酸灰化乳放出氮，並用前記滴定法測定之。

所得氮量乘6.45即算出蛋白量，並由乳的重量計算蛋白的百分數。

① 因為多數蛋白質的含氮量大約是16%，所以一般用6.25（ $100:16=6.25$ ）的數做為蛋白質的換算係數。乳中酪蛋白的含氮量應作15.5%，因此採用6.45（ $100:15.5=6.45$ ）的係數。

附 錄

試 劑 製 法

1. 蛋白質溶液：除去蛋黃的雞蛋白與19--20倍容積的水混合之。
2. Millon 氏試劑：汞40克溶解於比重1.42的濃硝酸57毫升中，先冷卻而後在水浴上溶解之；其後將此溶液用二倍容積的水稀釋，待澄清後，取出上面的清液。
3. 塩析與透析用的蛋白質溶液：三個除去卵黃的雞卵蛋白與700毫升蒸餾水及300毫升飽和食塩水溶液混合後通過數層紗布濾過之。
4. 沉澱反應用蛋白質溶液（非塩析用）：除去卵黃的雞卵蛋白與19—20倍容積的水混合後，通過數層紗布濾過之。
5. 碘化鉀·碘化汞溶液：溶解碘化鉀5克於50毫升蒸餾水中加碘化汞12克飽和之，並加水到100毫升。
6. 甲醛混合液：臨用前製備，添加0.05%酚酞酒精水（1：1）溶液1毫升於30—40%的甲醛50毫升中，其後用0.2N 氫氧化鈉液滴定到微薔薇紅色。
7. 鈷酸鉍溶液：鈷酸50克溶解於200毫升10%氨水20毫升中，其後與比重1.2硝酸750克混合之。靜置數日，取其上清液。
8. 碘化鉀·碘溶液（Lugol 氏試劑）：取碘化鉀20克及碘12.7克溶解於200毫升蒸餾水中。
9. Fehling 氏液：（一）酒石酸鉀鈉(Seignette 氏塩)鹼性溶液：取酒石酸鉀鈉200克及氫氧化鈉150克溶解於1升量瓶中，加水到刻度。（二）硫酸銅溶液：取硫酸銅40克溶解於1升量瓶中，加水到刻線。用前取試劑（一），（二）等容積混合之。
10. 蔗糖酶溶液：取乾燥研碎的酵母100克，將乾燥的塊研成粉末，加水，濾過，並於濾液中加入過量的丙酮。將此液體反覆混合，吸取形成的沉澱。其次於37°C乾燥沉澱，並研成粉末。將所得粉末溶解於水中。
11. 酪氨酸0.01N 氫氧化鈉溶液：取酪氨酸0.1克溶成200毫升溶液。為加速溶解應將溶液在水浴中略微加熱，爾後在室溫中放涼。
12. 癩瘡木脂酒精溶液：取癩瘡木脂1—2克溶解於95%酒精100毫升中。
13. 辣根的提取物：研碎的辣根100克用0.005N 氫氧化鈉溶液100毫升浸漬並濾過之。

14. Мерт氏管製法：將雞卵蛋白經麻布濾過，並放於真空除濕器中一晝夜以除去溶於其中的空氣。將蛋白注入內徑1—2毫米的清潔乾燥玻璃管中，使蛋白充滿全管而不帶氣泡。然後將此管放於60—70°C水浴中。加熱水浴到90°C，其後再將水浴與玻璃管一同冷卻。管端封以石蠟或蒙捷列葉夫油質。

使用前將管斷成長約2厘米之小塊。

15. 胃蛋白酶的0.2%鹽酸溶液：將胃粘膜用生理鹽水洗淨（37°C），在絞肉器中絞碎並加等容積的0.4%鹽酸。一晝夜後用多摺濾紙濾過。

定性實驗全可用市售的胃蛋白酶製劑，其1克溶解於1升0.2%鹽酸中，經數小時後濾過。

16. 脂酶的甘油提出液：將豬的胰腺（或其他動物胰腺）除掉脂肪，搗碎，然後浸於丙酮中再濾過之。將沉澱先用酒精後用乙醚洗淨，其次夾於兩張濾紙之間在空氣中使之乾燥。將所得之乾燥塊在小乳鉢中研碎，再用87%的甘油將脂酶由粉末中提出（1份粉末加12份甘油在30°C 5—6小時內提出）。

17. 精餾氯仿：將市售的純氯仿用蒸餾水洗2—3次，使其在煨製碳酸鉀或無水硫酸鈉條件下乾燥，在暗色玻璃燒瓶中蒸餾。

18. 三氯化銻氯仿溶液：將三氯化銻用少量精餾氯仿洗到溶液不呈色為止，並在硫酸乾燥器內乾燥，用精餾的氯仿和三氯化銻製成飽和溶液（溫度20°C）。

19. 以「藍色單位」量測定維生素A所用的標準比色列（Эталон）的製備：製備含有15克 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 及0.7克 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ 溶解於100毫升水中的標準溶液。將此基本溶液用水稀釋製備標準比色列（同表六）。

表 六

試管號碼	基本溶液的毫升數	水的毫升數	藍色單位的數
	基本溶液		9.2
1	20	0.4	9.0
2	20	1.6	8.5
3	20	3.0	8.0
4	20	4.5	7.5
5	20	6.3	7.0
6	20	8.7	6.5
7	20	11.6	6.0
8	10	7.3	5.5
9	10	9.5	5.0
10	10	12.2	4.5
11	10	15.8	4.0
12	10	20.6	3.5
13	10	27.7	3.0
14	10	37.1	2.5
15	10	52.0	2.0

用高 6 厘米直徑 1 厘米的管做標準比色列的管最為適宜。其中各加相對應的標準溶液 4 毫升，將管裝滿後用硬塞塞上，用蒙捷列葉夫油質封好，順次插入試管架孔中，並附註適當的藍色單位量。

20. 無水酒精：如酒精的濃度低於 95% 時，則先行蒸餾使其濃度達到 95%。然後將所得的 95% 酒精注入圓形燒瓶中（少半瓶）並加生石灰塊使其量超出酒精表面。連結燒瓶和帶有氯化鈣管的蛇形冷凝器；謹慎地在水浴上加熱一小時，而後放置兩天，兩天後用直型冷卻裝置蒸餾酒精；接受器應採用 Bunsen 氏瓶使其嚴密的連接於冷凝器，同時連結氯化鈣管於此瓶的分枝管上。這樣精餾出的酒精其濃度約 99.5%。如需完全除去水分則可按下列法進行：

於 99.5% 酒精 1 升中添加入鄰苯二甲酸二乙酯 27.5 毫升及金屬鈉 7 克，將此混合液用逆流冷凝器煮沸一小時並蒸餾之，應避免酒精從空氣中吸收水分。如此精餾出來的酒精其濃度約為 99.95%。

21. 0.001N 的 [2.6] 二氯酚靜酚鈉溶液：製備此試劑需用 Sørensen 氏磷酸緩衝液。因為指示劑在水溶液中很快被破壞，為此用 KH_2PO_4 —9.078 克/升， $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ —11.867 克/升的水溶液。二溶液分別保存。用時以 $\frac{\text{KH}_2\text{PO}_4}{\text{Na}_2\text{HPO}_4} = \frac{4}{6}$ 的比率將其混合，此時 pH 將是 7.0—6.9。

秤量色素 0.25 克放入 700 毫升蒸餾水中，振盪並加緩衝液 300 毫升。謹慎地再將此溶液混合之，於次日濾過再仔細反覆混合。用 Mohr 氏鹽測定此溶液滴定量，而 Mohr 氏鹽的當量值預先以高錳酸鉀液確定之。[按 Mohr 氏鹽即 $\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ —譯者]。

精確量取指示劑 10 毫升於小量杯中加飽和草酸銨液 5 毫升用 Mohr 氏鹽液（鹽溶液之力價當然是已知的）滴定（用微量滴定管）到指示劑的藍色變為草黃色時為止。

為獲得 Mohr 氏鹽的 0.01N 溶液可秤 Mohr 氏鹽 3.92 克溶解於 0.02N 硫酸 1 升中。以 0.01N 高錳酸鉀液滴定：Mohr 氏鹽力價即燒杯中注入 Mohr 氏鹽液 10 毫升及比重 1.84 的濃硫酸及水的稀釋（1：2）液 1.5 毫升，滴定到產生持久的薔薇紅色。高錳酸鉀液之力價如所週知，可用草酸鈉或草酸以確定之。

22. 0.005N 鐵氰化鉀鹼性溶液：用分析天秤秤量純鐵氰化鉀 $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1.65 克。[製劑必須檢查不出：（一）三價鐵鹽及（二）亞鐵氰化物，其檢查法如下：

（一）取被檢製劑的 5% 鐵氰化鉀溶液 5 毫升加 10% 硫酸一滴及亞鐵氰化鉀液一滴；如有三價鐵存在時則呈藍色。

（二）取被檢製劑的 5% 溶液 1 毫升加 1% Fe_2Cl_6 液數滴及鹽酸當量液數滴，如出現藍色即為陽性反應。] 將其加入一升的量瓶用蒸餾水溶解，瓶中添加預先備好的煅製無水碳酸鈉 10.6 克再加蒸餾水到刻線。將溶液保存於預先用水蒸氣洗去鹼性物質的着色瓶中，並放於暗處。

23. 氯、鋅、碘三者所成之溶液：取硫酸鋅 50 克及氯化鈉 250 克放入一升的量瓶

中，加水到刻線。濾過，用前與碘化鉀混合成爲 2.5% 的溶液。添加碘化鉀於基本溶液時必須在使用溶液的當日內現做。

24. 0.005N 硫代硫酸鹽溶液：此液每當使用時均用會被滴定的碘酸鉀液檢查之。0.005N 碘酸鉀液製法如下：

稱量純碘酸鉀 0.3567 克溶解於二升的量瓶中，加雙重蒸餾水到刻線。硫代硫酸鈉液力價的確定法如下：

精確量取碘酸鉀液 2 毫升於燒瓶中，並添加 3% 醋酸液 2 毫升及氯、鋅、碘溶液 3 毫升，再加澱粉液 2 滴，並用微量滴定管以硫代硫酸鈉液滴定之。

25. pH=8.0 的磷酸緩衝液：製備兩種溶液：

1) 磷酸二氫鉀 (KH_2PO_4) 9.078 克用曾煮沸的蒸餾水溶成一升。

2) 磷酸氫二鈉 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 11.876 克用曾煮沸的蒸餾水溶成一升。

精確量取第一液 1 份與第二液 18 份混合，即獲得 pH=8.0 的磷酸緩衝液。

26. 動物澱粉製法：以富有醣的食品（馬鈴薯、胡蘿蔔）喂動物（例如家兔），經過 6—8 小時後將動物殺死，迅速切出肝臟，並立刻切成小塊後浸入等量的沸騰的 60% 氫氧化鉀中。連結蛇形冷凝器上在 100°C 的溫度下加熱 2—3 小時，冷卻後用二倍容積（與肝重量之比）的蒸餾水，並用一倍容積的 96% 酒精沉澱之。放置到次日將沉澱濾過，其次先用一容積的 15% 氫氧化鉀和二容積的 96% 酒精混合液洗沉澱，然後再用 66% 酒精洗淨。將所得的動物澱粉沉澱溶解於所需量的沸騰水中並濾過之。

27. 新鮮的肌肉糜：將新殺死的動物（鼠、蛙）肌肉用剪刀切成碎塊（最好在冷處）即可，肌肉糜應在臨用前製備。

28. 新鮮肌肉提取液：新殺死動物（家兔、小白鼠、鼠、蛙）的肌肉，凍到零下 1—2°C，並用冰冷的小乳鉢（放在冰上）將肌肉與冷卻的生理溶液（肌肉 1 份：生理溶液 4 份）研碎，其溫度不應超過 0°C。反覆攪拌 30 分鐘提出之。次用離心機旋離約 20 分鐘，使提取液由肌肉的未溶解部份分離出來，此提取液可於零下 2—3°C 條件下保存數小時。提取物必須在上課的當天內準備。

29. 胰蛋白酶提取液的碳酸鈉溶液：將胰腺搗碎，於次日用較胰重 3—4 倍的 0.03% 氨水提出一晝夜（須加甲苯）。其次將提取物濾過，濾液中添加稀醋酸則生沉澱，濾取沉澱溶解於 0.2—0.8% 碳酸鈉溶液中。此溶液中添加腸粘膜提取液（見下第 30 項），此溶液即可供實驗之用。

30. 小腸的提取液：將長約 50 厘米小腸（豬的或其他某些動物的）縱切開，用水洗淨，並用刀或玻璃片刮取粘膜。取分離出的粘膜加海砂在小乳鉢中研碎，添加約 5 容積的水及 1—2 毫升氯仿，在室溫放置 24 小時，其後將提取物經紗布濾過。提取液含有胰肽酶的複合物，磷酸酶、蔗糖酶、麥芽糖酶及一些其他酶類。

31. 次溴酸鈉：將苛性鈉 300 克溶解於一升水中，冷卻後仔細且在不斷攪拌中添加（在通風櫥內）純溴 50 克（約 16 毫升）。此溶液在暗處保存於褐色瓶中。此溶液在 2—3 個

月內不致腐壞。

32. 重氮試劑：重氮試劑在授課的當天內用對氨基苯磺酸的貯藏液製備之。取對氨基苯磺酸0.9克溶於9毫升濃鹽酸中加水到100毫升；於褐色瓶中保存之。此對氨基苯磺酸貯藏液能保存一年而有效。

取對氨基苯磺酸基本液1.5毫升注入於在冰中放置的50毫升量瓶中，加新製的亞硝酸鈉液1.5毫升。在冰中放置5分鐘後在振盪同時再加5%亞硝酸鈉液6毫升。經過1分鐘後漸次加（在冷卻中）水到刻線。振盪後，將此溶液在冰上放置15分鐘。重氮試劑在冰上能保存一晝夜有效。

33. 重鉻酸鹽的標準溶液：取在110°C乾燥到恒重的純重鉻酸鉀24.54克放入一升量瓶中加蒸餾水到刻線。

34. Stokes 氏試劑：將1份硫酸亞鐵及2份酒石酸溶解於15份蒸餾水中。用前加氨水到呈弱鹼性反應。溶液應透明並呈綠色。

35. 0.01N 硝酸銀溶液：用分析天秤稱量化學純的硝酸銀1.6987克放入1升量瓶中加蒸餾水到刻線。

36. 0.01N 硫氰化銨溶液：稱量0.8克硫氰化銨放入一升量瓶中加蒸餾水到刻線。將此溶液用0.01N 硝酸銀液校正成準確的0.01N 溶液（用鐵銨明礬做指示劑）。

37. Günzburg 氏試劑：取間苯三酚2克及香莢蘭醛1克溶解於50毫升無水酒精中。此試劑須臨使用時新製。

表

I. 某些元素的實用原子量

元 素	原 子 量	元 素	原 子 量
氮.....	14.01	鉀.....	39.10
鋁.....	26.97	鈣.....	40.08
銀.....	137.36	氧.....	16.00
溴.....	79.92	鋰.....	6.94
氫.....	1.01	鎂.....	24.32
鐵.....	55.85	銻.....	54.93
碘.....	126.92	銅.....	63.54
砷.....	74.91	銀.....	107.88
鈉.....	23.00	銻.....	121.76
鎳.....	58.69	碳.....	12.01
錫.....	118.70	磷.....	30.98
鈮.....	106.7	氟.....	19.00
鉑.....	195.23	氯.....	35.46
汞.....	200.61	鉻.....	52.01
鉛.....	207.21	鋅.....	65.38
硫.....	32.07		

II. 苛性鈉水溶液的比重

比 重 d_{4}^{15}	% 苛 性 鈉 ^①	1 升含有苛性 鈉的克數	比 重 d_{4}^{15}	% 苛 性 鈉	1 升含有苛性鈉 的克數
1.007	0.61	6.143	1.067	5.87	62.632
1.014	1.20	12.168	1.075	6.55	70.412
1.022	2.00	20.440	1.083	7.31	79.167
1.029	2.71	27.886	1.091	8.00	87.280
1.037	3.35	35.860	1.100	8.68	95.480
1.045	4.00	41.800	1.108	9.42	104.374
1.052	4.64	48.813	1.116	10.06	112.270
1.060	5.29	56.074	1.125	10.97	123.413

1,134	11.84	134,263	1,308	27.80	363.63
1,142	12.64	144,349	1,320	28.83	378.56
1,152	13.55	156,096	1,332	29.93	398.67
1,162	14.37	166,980	1,345	31.22	429.91
1,171	15.13	177,172	1,357	32.47	440.62
1,180	15.91	187.74	1,370	33.69	461.55
1,190	16.77	199.56	1,383	34.96	483.50
1,200	17.67	212.04	1,397	36.25	508.41
1,210	18.58	224.82	1,410	37.47	528.33
1,220	19.58	238.88	1,424	38.80	552.51
1,231	20.59	253.46	1,438	39.99	575.06
1,241	21.42	265.82	1,453	41.41	601.69
1,252	22.64	283.45	1,468	42.83	628.75
1,263	23.67	298.95	1,483	44.38	658.16
1,274	24.81	316.08	1,498	46.15	678.33
1,285	25.80	331.53	1,514	47.60	720.66
1,297	26.83	347.99	1,530	49.02	750.00

① 本表以及次表中所表示的是溶質含量的重量百分比。

Ⅱ. 氨水溶液的比重

比 重 d_{15}^{15}	% 氨	1 升含有氨的 克數	比 重 d_{15}^{15}	% 氨	1 升含有氨的 克數
1.000	0.00	0.0	0.972	6.80	66.1
0.998	0.45	4.5	0.970	7.31	70.9
0.996	0.91	9.1	0.968	7.82	75.7
0.994	1.37	13.6	0.966	8.33	80.5
0.992	1.84	18.2	0.964	8.84	85.2
0.990	2.31	22.9	0.962	9.35	89.9
0.988	2.80	27.7	0.960	9.91	95.1
0.986	3.30	32.5	0.958	10.47	100.3
0.984	3.80	37.4	0.956	11.03	105.4
0.982	4.30	42.2	0.954	11.60	110.7
0.980	4.80	47.0	0.952	12.17	115.9
0.978	5.30	51.8	0.950	12.74	121.0
0.976	5.80	56.6	0.948	13.31	126.2
0.974	6.30	61.4	0.946	13.88	131.3

0.944	14.46	136.5	0.912	24.33	221.9
0.942	15.04	141.7	0.910	24.99	227.4
0.940	15.63	146.9	0.908	25.65	232.9
0.938	16.22	152.1	0.906	26.31	238.3
0.936	16.82	157.4	0.904	26.98	243.9
0.934	17.42	162.7	9.902	27.65	249.4
0.932	18.03	168.1	0.900	28.33	255.0
0.930	18.64	173.4	0.898	29.01	260.5
0.928	19.25	178.6	0.896	29.69	266.0
0.926	19.87	184.2	0.894	30.37	271.5
0.924	20.49	189.3	0.892	31.05	277.0
0.922	21.12	194.7	0.890	31.75	282.6
0.920	21.75	200.1	0.888	32.50	288.6
0.918	22.39	205.6	0.886	33.25	294.6
0.916	23.03	210.9	0.884	34.10	301.4
0.914	23.68	216.3	0.882	34.95	308.3

Ⅲ. 鹽酸溶液的比重

比 重 d_{4}^{15}	% HCl	1 升含有 HCl 的克數	比 重 d_{4}^{15}	% HCl	1 升含有 HCl 的克數
1.000	0.16	1.6	1.105	20.97	232
1.005	1.15	11.6	1.110	21.92	243
1.010	2.14	21.6	1.115	22.86	255
1.015	3.12	31.7	1.120	23.82	267
1.020	4.13	42.1	1.125	24.78	278
1.025	5.15	52.8	1.130	25.75	291
1.030	6.15	63.3	1.135	26.70	303
1.035	7.15	74	1.140	27.66	315
1.040	8.16	85	1.145	28.64	328
1.045	9.16	96	1.150	29.57	340
1.050	10.17	107	1.155	30.55	353
1.055	11.18	118	1.160	31.52	366
1.060	12.19	129	1.165	32.49	379
1.065	13.19	141	1.170	33.45	392
1.070	14.17	152	1.175	34.42	404
1.075	15.13	163	1.180	35.39	418
1.080	16.15	174	1.185	36.31	430
1.085	17.13	186	1.190	37.23	443
1.090	18.11	197	1.195	38.16	456
1.095	19.06	209	1.200	39.11	469
1.100	20.01	220			

V. 硫酸溶液的比重

比 重 d_{4}^{15}	% H_2SO_4	1 升含有 H_2SO_4 的 克 數	比 重 d_{4}^{15}	% H_2SO_4	1 升含有 H_2SO_4 的 克 數
1.000	0.09	1	1.440	54.07	779
1.020	3.03	31	1.460	55.97	817
1.040	5.96	62	1.480	57.83	856
1.060	8.77	93	1.500	59.70	896
1.080	11.60	125	1.520	61.59	936
1.100	14.35	158	1.560	65.20	1,017
1.120	17.01	191	1.580	66.95	1,058
1.140	19.61	223	1.600	68.70	1,099
1.160	22.19	266	1.620	70.42	1,141
1.180	24.76	292	1.640	72.12	1,182
1.200	27.32	328	1.660	73.81	1,225
1.220	29.84	363	1.680	75.50	1,262
1.240	32.28	400	1.700	77.17	1,318
1.260	34.57	435	1.720	78.92	1,357
1.280	36.87	472	1.740	80.68	1,404
1.300	39.19	510	1.760	82.44	1,451
1.320	41.50	548	1.780	84.50	1,504
1.340	43.74	586	1.800	86.92	1,564
1.360	45.88	624	1.820	90.05	1,639
1.380	48.00	662	1.840	95.60	1,759
1.400	50.11	702	1.841	98.20	1,808
1.420	52.15	740	1.839	99.12	1,823

VI. 硝酸溶液的比重

比 重 d_{4}^{15}	% HNO_3	1 升含有 HNO_3 的 克 數	比 重 d_{4}^{15}	% HNO_3	1 升含有 HNO_3 的 克 數
1.000	1.10	1	1.070	12.33	132
1.010	1.90	19	1.080	13.95	151
1.020	3.70	33	1.090	15.53	169
1.030	5.50	57	1.100	17.11	188
1.040	7.26	75	1.110	18.67	207
1.050	8.90	94	1.120	20.23	227
1.060	10.68	113	1.130	21.77	246

1,140	23.31	266	1,330	52.37	697
1,150	24.84	286	1,340	54.07	725
1,160	26.36	306	1,350	55.79	753
1,170	27.88	326	1,360	57.57	783
1,180	29.38	347	1,370	59.39	814
1,190	30.88	367	1,380	61.27	846
1,200	32.36	388	1,390	63.23	897
1,210	33.82	409	1,400	65.30	914
1,220	35.28	430	1,410	67.50	952
1,230	36.78	452	1,420	69.80	991
1,240	38.29	475	1,430	72.17	1,032
1,250	39.82	498	1,440	74.03	1,075
1,260	41.34	521	1,450	77.28	1,121
1,270	42.87	544	1,460	79.98	1,168
1,280	44.41	568	1,470	82.90	1,219
1,290	45.95	593	1,480	86.05	1,274
1,300	47.49	617	1,490	89.50	1,335
1,310	49.07	643	1,500	94.90	1,411
1,320	50.71	669			

譯 後

1953年春我們生化教研組結束了俄文速成的學習，自今年三月開始全體教員分頭從事翻譯 Збарский氏著生物化學實習。在一面教學一面翻譯的情況下，經過了一個半月初步脫稿。本來這次的試譯目的，主要是爲了鞏固俄文，兼作校內的實習教材，但經我校上級的一再鼓勵以及中央衛生部的校對，這次和全國各兄弟學校見面了。

在譯完這本實驗手冊之後，我們強烈而深刻地感到這部實驗手冊的編述是充分地實踐了著者——莫斯科大學生物化學教研組 Збарский 教授等在序言中所提到那些話，同時給我們很大的啓發與教育，這明確地表現在以下兩個突出的特點上：

(一) 實驗手冊在選材方面，嚴格遵循了蘇聯保健部所批准的生物化學教學大綱上的要求，竭力選擇了實際內容，一方面照顧了醫生實際工作的需要，比較全面地選入了應用的實驗；另一方面爲了使所講授的理論深刻化，又適當地選入了說明理論的實驗，並且所有這些實驗在一般的醫科大學的實驗室條件下都是切實可以作到的，在內容編排方面是以蛋白質爲中心有機地和 Збарский氏等所著的生物化學緊密配合，有理論的闡述有實驗的證明，如是使教學大綱，教材及實驗手冊三者統一起來成爲一個完整而不可分割的有機體。

(二) 實驗手冊的內容表現了嚴整的科學體系與培養學生獨立工作相結合的精神，在每一系統實驗的排列上及全本實驗的聯系上是由淺入深，由簡及繁，前邊的實驗給以後的實驗打基礎而後述的實驗又進一步地應用了以前的實驗，並且在每一實驗的敘述上，首先對實驗的目的，應用及原理給了一個精闢而扼要的闡述，隨後列舉實驗所需器材及試劑並逐步地詳述其操作過程，最後指出觀察實驗現象的要點及必要的計算，這樣明確，具體而完整的過程不僅表現了嚴整的科學性，並且使學生預習起來一目瞭然，內容具體，概念明晰，容易掌握實驗的關鍵，同時更培養了學生的自學及獨立工作的能力。

以上僅僅是我們譯後的一點體會，由於我們還未來得及使用這部手冊所以體會的一定是很差的。另外在採用這部實驗手冊時至少應注意兩點：一、原書沒有醣化學這一章，這可能是由於蘇聯的學生早做過而省略掉，二、實驗中會採用蘇聯特有的產物如在測定過氧化酶實驗中的辣根在製酪氨酸用特殊的廢絲等，這可以根據國內各院校的情況適當地補充醣化學並用國產材料以代用上述特殊材料。

我們在譯述本書時雖然組內全體教員同志發揮了集體主義精神作了最大限度的努力，但是由於時間倉促教學繁忙，更加上我們的俄文程度不足，並受業務水平及文字修養的限制，一定有許多誤譯及用語不當之處，幸經中央衛生部及北京大學劉思職教授最後加以週密校對一定能減少許多錯誤，這就更便於使用了！

瀋陽中國醫科大學生化教研組

副教授 任永忠

一九五三、六、十八

