

新编运动生物化学实验指导

(适用专业：运动训练)

中国海洋大学

2018 年本科教学工程基金支持项目

前 言

运动生物化学是生物化学的一个分支，其主要研究人体运动时体内的化学变化规律和特点的一门学科，其发展是建立在科学实验研究和运动实践应用之基础上。因此，运动生物化学实验是学习运动生物化学的一个重要环节，也是培养学生动手能力和创新能力的重要手段之一。

我国自 1959 年就开始了《运动生物化学实验》的教学工作，目前国内高校体育类各专业普遍采用 1987 张蕴琨主编的《运动生物化学实验指导》为实验课教材。我国运动训练专业设立比较晚，目前国内高校运动训练专业也普遍采用上述实验指导作为实验课教材。由于运动训练专业的生源情况、培养目标及要求与体育类其他专业具有较大的差别，因此一概采用上述实验指导作为教材并不合适。另外，目前上述实验指导的部分实验内容与方法相对落后，已经远远落后于体育科研的发展步伐，亟需进行相应的改革。制定与运动训练实践需求相匹配的《运动生物化学实验》教学大纲及实验手册，是目前亟需解决的问题。

在 2018 年本科教学工程基金项目的支持下，在充分调研当前运动训练专业特点的基础上，结合目前运动实践对生物化学监控指标的需求，我们对运动训练专业《运动生物化学实验》课进行了有针对性的实验教学改革与研究，并编写了本实验指导手册，望国内同行及专家提出宝贵的修改意见。

课题组：于文兵 李世明 李传发 王伟 王毅 王彦臻

2018 年 11 月

目 录

实验一	常用化学实验仪器使用与操作及实验安全教育-----	3
实验二	血红蛋白的测定 (HiCN 化法) -----	12
实验三	血乳酸的测定-----	18
实验四	尿肌酐系数的测定-----	22
实验五	血尿素氮的测试-----	25
实验六	尿蛋白的测定-----	28
实验七	运动负荷的综合评定-----	30
实验八	运动生化指标的综合应用-----	32

实验一

常用化学实验仪器使用与操作及实验安全教育

运动生物化学是研究人体运动时体内的化学变化特点与规律的一门学科。运动生物化学实验的方法基本上是采用化学实验的方法，用定量及定性的分析方法来观察机体内物质代谢的规律与特点。因此，实验时必须做到定性物质的洁净及定量结果的精确。为保证实验结果的准确性与可靠性，需要做到实验取样要准确、样品要无污染、实验仪器选用匹配、实验仪器干净无污染等。因此，掌握常用的实验仪器的用途及使用方法，是正确完成实验的前提保障。

一、实验目的

- (一) 学习常用实验仪器的名称与用途。
- (二) 学习移液枪的使用方法。
- (三) 学习玻璃仪器的清洗方法。
- (四) 学习实验报告的书写方法。


二、实验器材

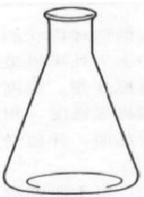

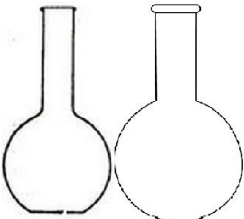

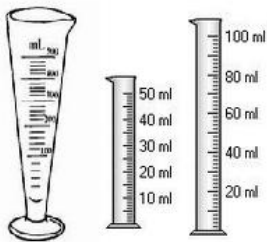

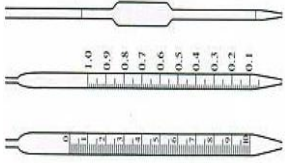
烧杯、锥形瓶、圆（平）底烧瓶、洗瓶、量筒、容量瓶、试剂瓶、漏斗、试管、刻度试管、移液管、移液枪、试管架、去污粉、无磷洗衣粉、各种型号毛刷、蒸馏水、722s 可见分光光度计等。

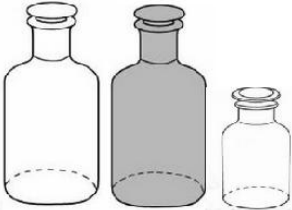


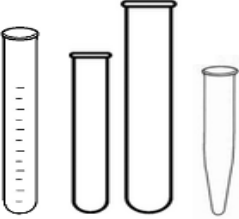


三、实验步骤

- (一) 学习常用实验仪器的名称与用途（参见表 1-1）。

表 1-1 运动生物化学实验常用仪器的名称、规格及用途

名称	图片	常用规格	主要用途
烧杯		50ml 100ml 250ml 500ml 1000ml 2000ml□	配制溶液、溶解样品等。

锥形瓶		50ml 125ml 250ml 500ml	加热处理试样和容量分析滴定。
碘瓶		50ml 100ml 250ml 500ml 1000ml	碘量法或其它生成挥发性物质的定量分析。
圆(平)底烧瓶		50ml 100ml 150ml 200ml 250ml 500ml 1000ml 2000ml 5000ml 等	加热及蒸馏液体。
洗瓶		常用500ml	装纯化水洗涤仪器或装洗涤液洗涤沉淀。
量筒、量杯		10ml, 25ml, 50ml, 100ml, 200ml, 1000ml 等	粗略地量取一定体积的液体用。
容量瓶		25ml, 50ml, 100ml, 250ml, 500ml, 1000mL 等	配制准确体积的标准溶液或被测溶液。
移液管		5ml, 10ml, 25ml,, 50mL 等	准确地移取一定量的液体

试剂瓶		60ml、125ml、250ml、500ml、1000ml、3000ml 等	细口瓶用于存放液体试剂；广口瓶用于装固体试剂；棕色瓶用于存放见光易分解的试剂。
滴瓶		500ml、250ml、100ml 等	装需滴加的试剂。
漏斗		普通漏斗的规格按口径定义，如60mm 等。	长颈漏斗用于定量分析，过滤沉淀；短颈漏斗用作一般过滤。
试管、刻度试管		1ml、2ml、5ml、10ml、25ml、50ml 等	定性分析检验离子；离心试管可在离心机中借离心作用分离溶液和沉淀。
表面皿		60mm、80mm、100mm、120mm、150mm、200mm、300mm 等	盖烧杯及漏斗等。
研钵		45ml、60 ml、70 ml、80 ml、90 ml、100 ml、120 ml 等	研磨固体试剂及试样等用；不能研磨与玻璃作用的物质

毛刷		大号、中号、小号等	主要用于各种玻璃仪器的洗涤。
----	-----------------------------------------------------------------------------------	-----------	----------------

(二) 学习移液枪的使用方法

移液枪是移液器的一种，常用于实验室少量或微量液体的移取，规格不同，不同规格的移液枪配套使用不同大小的枪头，不同生产厂家生产的形状也略有不同，但工作原理及操作方法基本一致。移液枪属精密仪器，使用及存放时均要



小心谨慎，防止损坏，避免影响其量程。下面介绍量程可调式移液枪的使用方法。

用拇指和食指旋转取液器上部的旋钮，使数字窗口出现所需容量体积的数字，在取液器下端插上一个塑料吸头，并旋紧以保证气密，然后四指并拢握住取液器上部，用拇指按住柱塞杆顶端的按钮，向下按到第一停点，将取液器的吸头插入待取的溶液中，缓慢松开按钮，吸上液体，并停留 1~2 秒钟（粘性大的溶液可加长停留时间），将吸头沿器壁滑出容器，用吸水纸擦去吸头表面可能附着的液体，排液时吸头接触倾斜的器壁，先将按钮按到第一停点，停留一秒钟（粘性大的液体要加长停留时间），再按压到第二停点，吹出吸头尖部的剩余溶液，如果不便于用手取下吸头，可按下除吸头推杆，将吸头推入废物缸。

移液器使用注意事项：

1、吸取液体时一定要缓慢平稳地松开拇指，绝不允许突然松开，以防将溶液吸入过快而冲入取液器内腐蚀柱塞而造成漏气。

2、为获得较高的精度，吸头需预先吸取一次样品溶液，然后再正式移液，因为吸取血清蛋白质溶液或有机溶剂时，吸头内壁会残留一层“液膜”，造成排液量偏小而产生误差。

3、浓度和粘度大的液体，会产生误差，为消除其误差的补偿量，可由试验确定，补偿量可用调节旋钮改变读数窗的读数来进行设定。

4、可用分析天平称量所取纯水的重量并进行计算的方法，来校正取液器，1ml 蒸馏水 20℃时重 0.9982g。

5、移液器反复撞击吸头来上紧的方法是非常不可取的，长期操作会使内部零件松散而损坏移液器。

6、移液器未装吸头时，切莫移液。

7、在设置量程时，请注意 旋转到所需量程 数字清清楚楚在显示窗中，所设量程在移液器量程范围内不要将按钮旋出量程，否则会卡住机械装置，损坏了移液器。

8、移液器严禁吸取有强挥发性、强腐蚀性的液体（如浓酸、浓碱、有机物等）。

9、严禁使用移液器吹打混匀液体。

10、不要用大量程的移液器移取小体积的液体，以免影响准确度。同时，如果需要移取量程范围以外较大量的液体，请使用移液管进行操作。

（三）学习玻璃仪器的洗涤方法

1、洗涤液的选择

洗涤玻璃仪器时，应根据实验要求、污物的性质及玷污程度，合理选用洗涤液。实验室常用的洗涤液有以下几种。

①水：水是最普通、最廉价、最方便的洗涤液，可用来洗涤水溶性污物。

②热肥皂液和合成洗涤剂：是实验室常用的洗涤液，洗涤油脂类污垢效果较好。

③铬酸洗涤液：铬酸洗涤液具有强酸性和强氧化性，适用于洗涤有无机物玷污和器壁残留少量油污的玻璃仪器。用洗液浸泡玷污仪器一段时间，洗涤效果更好。洗涤完毕后，用过的洗涤液要回收在指定的容器中，不可随意乱倒。此洗液可重复使用，当其颜色变绿时即为失效。该洗液要密闭保存，以防吸水失效。

④碱性 KMnO_4 溶液：该洗液能除去油污和其他有机污垢。使用时倒入欲洗仪器，浸泡一会儿后再倒出，但会留下褐色 MnO_2 痕迹，须用盐酸或草酸洗涤液洗去。

⑤有机溶剂：乙醇、乙醚、丙酮、汽油、石油醚等有机溶剂均可用来洗涤各种油污。但有机溶剂易着火，有的甚至有毒，使用时应注意安全。

⑥特殊洗涤液：一些污物用一般的洗涤液不能除去，可根据污物的性质，采用适当的试剂进行处理。如：硫化物玷污可用王水溶解；沾有硫磺时可用 Na_2S 处理； AgCl 玷污可用氨水或 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 处理。

一般方法很难洗净的有机玷污，可用乙醇-浓硝酸溶液洗涤。先用乙醇润湿器壁并留下约 2mL，再向容器内加入 10mL 浓硝酸静置片刻，立即发生剧烈反应并放出大量的热，反应停止后用水冲洗干净。此过程会产生红棕色的 NO_2 有毒气体，必须在通风橱内进行。注意，绝不可事先将乙醇和硝酸混合！

2、洗涤的一般程序

洗涤玻璃仪器时，通常先用自来水洗涤，不能奏效时再用肥皂液、合成洗涤剂刷洗，仍不能除去的污物，应采用其他洗涤液洗涤。洗涤完毕后，都要用自来水冲洗干净，此时仪器内壁应不挂水珠，这是玻璃仪器洗净的标志。必要时再用少量蒸馏水淋洗 2~3 次。

3、洗涤方法

洗涤玻璃仪器时，可采用下列几种方法。

①振荡洗涤 又叫冲洗法，是利用水把可溶性污物溶解而除去。往仪器中注入少量水，用力振荡后倒掉，依此连洗数次。试管和烧瓶的振荡洗涤如图 1-2 和图 1-3 所示。



图1-2 试管的振荡



图1-3 试管的振荡



图1-4 试管的刷洗

②刷洗法 仪器内壁有不易冲洗掉的污物，可用毛刷刷洗。先用水湿润仪器内壁，再用毛刷蘸取少量肥皂液等洗涤液进行刷洗。试管的刷洗方法如图 1-4 所示。刷洗时要选用大小合适的毛刷，不能用力过猛，以免损坏仪器。

③浸泡洗涤 对不溶于水、刷洗也不能除掉的污物，可利用洗涤液与污物反应转化成可溶性物质而除去。先把仪器中的水倒尽，再倒入少量洗液，转几圈使仪器内壁全部润湿，再将洗液倒入洗液回收瓶中。用洗液浸泡一段时间效果更好。

(四) 实验记录和实验报告的书写

正确记录实验过程及书写实验报告，是巩固实验所学重要内容。实验是在理论指导下的科学实践，目的在于经过实践，掌握科学观察的基本方法和技能。是培养科学思维、分析判断和解决实际问题能力的重要途径，也是培养探求真知、尊重科学事实和真理的学风，以及培养科学态度的重要环节。

为此，在实验前必须预习、理解从基本原理和实验基本操作步骤、注意事项，列出所需试剂和仪器，实验中组织安排好时间，严肃认真地执行操作，细致观察变化，如实作好记录、书写实验报告等。

1、实验记录

实验记录要整洁、字迹清楚。实验中观察到的现象、结果和数据，要及时地直接记在记录本。原始记录必须准确简练、详尽、清楚。记录时，应做到如实正确记录实验结果，不可夹杂主观因素。在实验条件下观察到的现象，也应如实仔细地记录下来。在定量实验中观测到的数据，如称量物的重量、滴定管的读数、光电比色计的光密度值等，都应设计一定的表格准确记录。并根据仪器的精确度准确记录有效数字。要求对实验的每个结果都应正确无遗漏地做好记录。

实验中使用仪器的类型、试剂的规格、化学反应式、分子量、浓度等，都应记录清楚。实践过程中，应一丝不苟，努力培养严谨的科学作风。

完整的实验记录应包括日期、实验题目、目的、操作、结果。

2、实验报告

实验结束后，应及时整理和总结实验结果及记录，写出实验报告。

实验报告应包括实验名称、实验日期、目的要求、实验原理、实验器材、实验步骤、实验结果、讨论分析等内容。

书写实验报告时，目的和要求、原理以及操作方法部分应作简单扼要的叙述，但对实验条件和操作的关键环节必须写清楚。对于实验结果部分，应根据实验的要求，把所得的实验结果和数据进行整理、归纳、分析和对比，并尽量总结成各种图表，如标准曲线图以及实验组与对照组实验结果的比较表等。还应针对实验结果进行必要的说明和分析。讨论部分不是对结果的重述，而是对实验方法，实验结果和异常现象进行探讨和评论，以及对于实验设计的认识、体会和建议。一般实验，要有结论，结论要简要扼要，说明本次实验所获得的结果。

（四）实验安全教育

1、实验室的防火防盗

在实验室进行实验期间要注意防火、防盗（包含仪器设备与各类危险化学品）、进出关好门窗，关闭水电与仪器设备，如出现各类意外或违反校规校纪的乃至违反国家法律，将上报学校或公安机关。

2、实验仪器的安全使用

实验仪器的使用应严格按照实验规范或授课教师的讲解进行操作，如造成精密仪器损坏或丢失，应按学校规定赔偿，若丢失应向学校公安机关报案。

3、实验耗材与试剂的安全使用

实验室包含诸多危险化学品，为保障师生的实验安全及人身、财产安全，各类危险化学品使用之前将由任课教师宣讲使用规范，且要严格管控危险化学品、剧毒品的使用情况，防止各类人身损伤，实验事故及危险化学品及剧毒品的丢失。若有实验人员偷窃实验试剂与耗材将向公安机关报案。

4、实验人员安全行为教育

除以上三项实验安全教育之外，应严格规范及杜绝实验人员在实验室的行为，例如嬉笑、打闹、在实验室吃东西等易造成实验事故、人员安全的情况。

5、体育系实验安全管理文件学习

学习学校及体育系的实验安全管理文件。深刻严肃的学习实验安全的重要性。

四、注意事项

- (一) 玻璃仪器清洗后注意检查，管壁不能留有水珠。
- (二) 使用移液枪吸取液体时一定要缓慢平稳，不要太快、太猛。

五、作业与思考

- (一) 常用的化学仪器有哪些？都有什么用途？
- (二) 玻璃仪器的清洗有哪些基本要求？

实验二

血红蛋白的测定（HiCN 化法）

血红蛋白（Hb）是红细胞中的一种重要蛋白质，1分子的Hb是由4分子的亚铁血红素和1分子的珠蛋白结合而成的。Hb的主要生理功能是运输氧气（O₂）、二氧化碳（CO₂）和对酸性物质（H⁺）起缓冲作用，参与体内的酸碱平衡调节。运动时机体需氧增加，故血红蛋白增加，有利于为组织提供氧气，促进物质的有氧代谢和带走CO₂，而且也能起中和酸性的作用。如果血红蛋白下降，氧供应减少，影响运动能力。

运动员安静时血红蛋白值与正常人没有明显差异。一般人Hb的正常值男性为120-160g/L；女性110-150g/L。临床上常用判断贫血的标准，即成年男性低于120 g/L；成年女性低于110 g/L；而14岁以下的少年、儿童，不论男女，均以低于120 g/L作为贫血。

血红蛋白的含量与运动员的身体机能状态、训练水平、运动负荷等关系密切，因此血红蛋白的含量高低直接影响运动员的身体机能和运动能力，尤其对耐力运动员的专项素质能力。运动员在大运动量开始时，血红蛋白浓度出现明显下降，经过一段时间训练后，运动员身体机能逐渐适应大运动量训练，血红蛋白逐渐回升。若训练一个阶段后Hb水平仍未回升或还有继续下降的趋势，应及时注意调整运动量，并加强营养补充。因此，定期测定Hb的含量，有助于了解运动员的对负荷的适应、身体机能水平及营养状态等情况。

一、 实验目的

- （一）学习取微量血的方法。
- （二）掌握血红蛋白的测定方法。
- （三）学习722s可见分光光度计的基本操作。
- （四）掌握运动训练中血红蛋白指标应用的评价及价值。

二、 实验原理

文齐氏液是HiCN化法（氰化高铁血红蛋白法）的稀释剂，当血液加入文齐氏液内，将血红蛋白两价铁氧化为三价铁，它再与氰化物结合形成稳定棕红色的HiCN化高铁血红蛋白，这种溶液在540nm波长的血红蛋白计或绿色滤

光片的光电比色计及分光光度计上，测定人血液中的血红蛋白浓度。

分光光度法鉴定物质性质及含量的技术，其理论依据是主要是指利用有色溶液对光线有选择性的吸收作用，不同物质由于其分子结构不同，对不同波长的光线的吸收能力也不同，因此，每种物质都具有其特异的吸收光谱。有些无色溶液，虽对可见光无吸收作用，但所含物质可以吸收特定波长的紫外线或红外线。其测试原理称为 Lambert 和 Beer 定律，也称朗伯—比尔定律。

朗伯—比尔定律：当一束平行单色光垂直通过某溶液时，溶液的吸光度 A 与吸光物质的浓度 c 及液层厚度 b 成正比： $A = \epsilon cb$

ϵ ——摩尔吸光系数。它表示物质的浓度为 1mol/L ，液层厚度为 1cm 时，溶液的吸光度。其单位为 $\text{L/mol} \cdot \text{cm}$

b ——液层光程 (cm)，常使用 1.0cm 的比色皿， $b=1\text{cm}$ 。

c ——样品浓度 (mol/L)

分光光度计的基本操作如下：

1、预热

为使仪器内部达到热平衡，开机后预热时间不小于 30 分钟。开机后预热时间小于 30 分钟时，请注意随时操作置 $0\%(T)$ 、 $100\%(T)$ ，确保测试结果有效。

注意：由于仪器检测器（光电管）有一定的使用寿命，应当尽量减少对光电管的光照，所以在预热的过程中应打开样品室盖，切断光路。



2、改变波长

通过旋转波长调节手轮可以改变仪器的波长显示值（顺时针方向旋转波长调节手轮波长显示值增大，逆时针方向旋转则显示值减少）。调节波长时，视线一定要与视窗垂直。

3、置参比样品和待测样品

- (1) 选择测试用的比色皿；
- (2) 把盛好参比样品和待测样品的比色皿放到四槽位样品架内；
- (3) 用样品架拉杆来改变四槽位样品架的位置。当拉杆到位时有定位感，到位时请前后轻轻推拉一下以确保定位正确。

4、置 0%(T)

目的：校正读数标尺的零位，配合置 100%(T) 进入正确测试状态。分光光度计的检测器是基以光电效应的原理，但当没有光照射到检测器上时，也会有微弱的电流产生（暗电流），调 0%T 主要用消除这部分电流对实验结果的影响。

调整时机：改变测试波长时；测试一段时间后。

操作：检视透射比指示灯是否亮。若不亮则按 MODE 键，点亮透射比指示灯。打开样品室盖，切断光路（或将黑体置入四槽位样品架中，用样品架拉杆来改变四槽位样品架的位置，使黑体遮断光路）后，按“0%ADJ”键即能自动置 0%(T)，一次未到位可加按一次）。

5、置 100%(T)

目的：校正读数标尺的零位，配合置 0%(T) 进入正确测试状态。

调整时机：改变测试波长时；测试一段时间后。

操作：将用作参比的样品置入样品室光路中，关闭掀盖后按“100%ADJ”键即能自动置 100%(T)，一次未到位可加按一次。

注意：置 100%(T) 时，仪器的自动增益系统调节可能会影响 0%(T)，调整后请检查 0%(T)，若有变化请重复调整 0%(T)。

6、改变操作模式

本仪器设置有四种操作模式，开机时仪器的初始状态设定在透射比操作模式。

三、 实验器材

（一）文齐氏液稀释液：取 10ml 文齐氏液，用蒸馏水稀释至 500ml，置于棕色瓶中，瓶口塞紧后保存于冷暗处或冰箱，注意不能冷冻，至少可稳定 1 个月。（或者 HiCN 转化液。配制方法如下：高铁氰化钾($K_3Fe(CN)_6$) 200mg，氰

化钾 (KCN) 50mg, 无水磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 140mg, TritonX-1001.0ml, 蒸馏水加至 1000ml。过滤后为淡黄色透明液体, pH7.0~7.4, 置有色瓶中加盖、冷暗处保存。如发现试剂变绿、变浑浊则不能使用。)

(二) 75%酒精, 一次性采血针、吸血管、棉球。

(三) 试管、移液枪、722s 分光光度计等。

四、实验步骤

(一) 微量采血

1、部位

中指或无名指尖内侧。

2、器材

采血针、吸管、75%酒精棉球。

3、步骤

首先用手指按摩采血部位, 使中指或无名指指尖自然充血, 再用 75%酒精棉球消毒皮肤, 待酒精挥发干燥后, 用左手拇指和示指固定采血部位, 右手持消毒刺针, 自指尖腹侧迅速刺入 2~3mm, 立即出针, 让血液自然流出, 用消毒棉球擦去第一滴血后, 按需要依次采血, 采血完毕, 用消毒干棉球压住伤口片刻即可。

4、注意事项

所选择的采血部位, 不能有冻疮、紫绀、水肿、炎症等; 皮肤消毒后, 一定要乙醇挥发干燥后采血, 否则流出的血会四处扩散不成滴; 为避免交叉感染, 采用一次性采血针, 并严格实行一人一针制; 如穿刺后血液不易流出, 可于伤口远端稍加压力, 或重新穿刺, 切忌用力挤压, 以免混入大量组织液, 使血液稀释影响检验结果, 出血时间测定需另处刺一部位, 凝血时间另行测定。

(二) 实验操作

取 2 支大试管编号, 按表 2-1 进行操作。按照上述实验步骤取新鲜手指血 20 μL , 加入测定管中, 充分混匀, 静置 5 分钟。

表 2-1 血红蛋白的测定

	空白管	测定管
--	-----	-----

文齐氏液稀释液 (ml)	5.0	5.0
新鲜手指血 (ml)	—	0.02

分光光度计波长调至 540nm 处，光径为 1.0cm，以文齐氏液或者蒸馏水调零，测定测定管的吸光度。

五、 结果计算

对实验结果进行计算，并分析讨论。

$$Hb(g \cdot L^{-1}) = \frac{A}{44} \times \frac{64458mg}{1000} \times 251 = A \times 367.7 \quad (6.2-3)$$

A: 为波长 540nm 处标本吸光度。

44: 为 HiCN 在波长 540nm，光径 1.0cm 条件下的毫摩尔消光系数 (L · mmol⁻¹ · cm⁻¹) 。

64458(mg): 为 Hb 的毫克分子量，即 1mmol · L⁻¹Hb 溶液中的 Hb 毫克数。

1000: 为将 mg 转变为 g。

251: 为血液稀释倍数。

六、 注意事项

(一) 试剂含有氰化物，为剧毒药品，配制和保存时必须严格注意安全。实验后一定要洗手，并注意药品的处理，不能乱倒。使用前必须对学生进行安全教育，强调实验安全，并在实验过程中保障药品试剂的安全存放，防火防盗。

(二) 取血部位对血红蛋白测定结果有很大影响，最好取手指血测定血红蛋白。同时，取血时注意擦干、消毒采血部位，用自然流出的第二滴血。最好固定采血部位。

(三) 一次性采血针应一人一针，严防交叉感染。

七、 作业与思考

(一) 运动训练对血红蛋白含量有何影响？

(二) 在训练周期中如何运用血红蛋白指标来评定？

实验三

血乳酸的测定

乳酸是体内糖代谢的中间产物，安静状态下主要由红细胞和皮肤产生，运动时主要由骨骼肌产生。通过糖酵解代谢产生乳酸，是剧烈运动时骨骼肌、机体某些代谢旺盛组织或者无线粒体组织供能的主要方式。在运动时，通过糖酵解代谢产生乳酸是为满足剧烈运动所需，是为骨骼肌快速提供能量的主要方式。乳酸经扩散进入血液，称为血乳酸。在正常情况下，乳酸的生成与消除处于动态平衡中，正常人安静时血乳酸浓度保持在 1~2mmol/L，运动员血乳酸安静值与正常人无差异，但在比赛前情绪紧张时，运动员的血乳酸安静值有可能出现升高至 3mmol/L，这与体内的肾上腺分泌增多有关。

剧烈运动时，肌肉内糖的无氧分解加强，血乳酸浓度显著升高。运动时血乳酸浓度的变化与所动用供能系统有关。以磷酸原系统供能为主的运动，血乳酸生成量较少，血乳酸一般不超过 4mmol/L；以糖酵解系统供能为主的运动，血乳酸可达 15mmol/L 以上；而以有氧氧化系统供能为主的运动，血乳酸在 4mmol/L 左右。

速度耐力性运动项目的高水平运动员，运动成绩好者，运动后血乳酸最大浓度值也高；耐力性运动项目的运动员，在完成相同亚极量运动负荷时，优秀运动员运动后血乳酸相对较低。根据这一特点可用以评定运动员训练水平或选材。可根据运动后血乳酸的消除速率来评定运动员有氧代谢能力，若恢复速度快，表示有氧代谢能力强。因此，血乳酸含量的测定，对于从事体育工作的人来说是很重要的。

一、实验目的

- (一) 掌握采用 Biosen C_line GP 快速血乳酸分析仪测定血乳酸的方法。
- (二) 初步掌握血乳酸的运动生物化学评定方法及意义。

二、实验原理

Biosen Cline 系列乳酸分析仪采用乳酸氧化酶—标准电极电位法检测标本中的乳酸浓度。本机采用特殊半透膜作为电极膜，夹心法包被乳酸氧化酶。由于该电极膜是半透膜，只允许乳酸或比乳酸分子小的物质透过

半透膜参与反应。而其他脂类、蛋白等大分子不能穿过半透膜。因此，此原理所受的标本干扰相对较小，特异性强。

乳酸氧化酶被固定在两层膜中间。反应结束后，经过系统液的冲洗可反复使用，降低成本。本机采用毛细管定量采集标本，可采用末梢、静脉、动脉全血；血浆、血清等标本。采集标本后，将10微升毛细管投入到0.5毫升试剂管中，形成1:50的稀释比例，这样可以防止全血标本大量黏附在仪器管路上，对下一个标本产生交叉污染。同时，仪器内置恒温装置，使酶促反应工作于最佳状态。整机特异性和精确性非常高。（见图3.1）

三、实验器材

（一）测试仪器 Ekf biosen-cline（见图3.2）

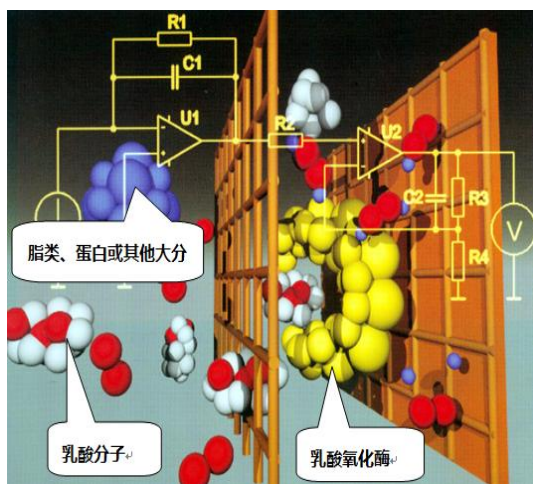


图 3.1



图 3.2

（二）耗材清单（参见表3.1）

表 3.1 Ekf biosen-cline 耗材清单

耗材名称	生产厂商	单位
Reagent (200人份)	德国	1盒
试剂 (200人份, 200只毛细管, 200只采血针)	EKF-诊断公司	
System Solution	德国	1瓶
系统液 (500ml)	EKF-诊断公司	
Standard Solution (Glucose)	德国	10个
乳酸定标液 (1ml试剂杯)	EKF-诊断公司	

2 in 1 Standard Solution(Lactate) 2和1定标液（乳酸）	德 国 EKF-诊断公司	10个
Membrane (Lactate) 膜（乳酸）	德 国 EKF-诊断公司	1个
一次性采血针	国产	盒
采血笔	国产	2只
消毒棉球	国产	瓶

四、实验步骤

分别选用 100 米、200 米、400 米专项同学各 2 名（根据选课学生情况酌情筛选）。测试前充分热身 5min，要求热身后安静血乳酸浓度不超过 3mmol/L。每个项目同学按照比赛的强度要求完成相应的距离跑。并按照表 3.2 测定血乳酸值。

血样采取方法按照实验二的方法采指尖血。

表 3.2 乳酸测试结果登记表

项目	安静	运动 后即 刻	运动 后 1min	运动 后 3 min	运动 后 5 min	运动 后 7 min	运动 后 9 min	运动 后 11 min	运动 后 13 min	运动 后 15 min
100								----	----	----
100								----	----	----
200										
200										
400										
400										

五、实验结果

通过测试，分别记录 100 米、200 米、400 米专项受试者运动后血乳酸最高值及峰值出现的时间，并结合相同专项 2 名同学的实际情况（如爆发力、耐力及成绩等）进行分析。

六、注意事项

乳酸测定时取样时间非常重要，测定安静状态下的血乳酸值应当考虑受试者因对采血紧张而引起的血乳酸浓度升高。运动后血乳酸的测定应根据不同运动项目而定，一般运动强度较低的运动在运动后 20s 左右取样，中等强度运动在运动后 1~6min 取样，大强度运动在运动后 3~12min 取样。在实际测试时，可多选几次采血时间（如 1、3、5……分钟）间隔采样。

七、作业与思考

- （一）测定血乳酸时应如何控制采血样的时间？
- （二）如何运用血乳酸指标监控运动强度？
- （三）如何运用血乳酸指标评定运动员有氧代谢能力和无氧代谢能力？

实验四

尿肌酐系数的测定

人体 90%肌酸存在于肌肉，而且大部分以磷酸肌酸的形式存在于肌肉中。磷酸肌酸脱去磷酸后生成肌酐，肌酐随尿液排出即为尿肌酐。正常人尿肌酐日排出量相当稳定，成年男子日排出量约 1.0~1.8g，女性为 0.7~1.0g，不受食物蛋白质含量和尿量的影响。24h 每千克体重排出的尿肌酐毫克数称为尿肌酐系数。正常人尿肌酐系数为：男子 18~32 mg/kg 体重，10~25mg/kg 体重。运动员尿肌酐系数高于常人，一般为 25~40mg/kg 体重。不同项目的运动员尿肌酐系数也不同，力量和速度项目运动员，肌肉发达，其尿肌酐系数也高，且尿肌酐的日排出量与运动成绩高度相关。

尿肌酐日排出与肌肉中磷酸肌酸和肌酸的含量有关。因此，测定尿肌酐含量可以间接了解骨骼肌中磷酸肌酸的含量。运动员经过一个阶段训练后，尿肌酐系数可能增加，这反映肌肉的磷酸肌酸浓度或肌肉发达程度提高。尿肌酐系数可作为运动员力量素质与速度素质的评定、运动选材、训练效果的指标。

一、实验目的

- (一) 学习尿肌酐的测定方法。
- (二) 掌握尿肌酐系数指标的计算及在运动实践中的作用。

二、实验原理（碱性苦味酸法）

尿中的肌酐在碱性溶液中与苦味酸作用，生成橙红色的苦味酸肌酐复合物，其生成量与肌酐含量成正比，通过吸光度值的测定可以测定尿中肌酐含量。

三、实验器材

- (一) 试剂一：50 $\mu\text{mol/L}$ 肌酐标准品应用液 20ml \times 1瓶，4 $^{\circ}\text{C}$ 保存3个月（南京建成生物制品有限公司提供）。
- (二) 试剂三：苦味酸溶液 60ml \times 1瓶，4 $^{\circ}\text{C}$ 保存6个月（南京建成生物制品有限公司提供）。
- (三) 试剂四：0.75mol/L 氢氧化钠 60ml \times 1 瓶，4 $^{\circ}\text{C}$ 保存 6 个月（南京

建成生物制品有限公司提供)。

(四) 722s 分光光度计、恒温水箱、移液枪等

四、实验步骤

(一) 尿液稀释

取尿液 0.5ml, 加入蒸馏水 100ml, 稀释后备用。

(二) 取 3 支大试管编号, 按照表 4.1 进行操作

表 4.1 尿肌酐测定

	空白管	标准管	测试管
稀释尿液 (ml)			1.6
试剂一 (50 μ mol/L 肌酐标准品) (ml)		1.6	
双蒸水 (ml)	1.6		
试剂三 (苦味酸溶液) (ml)	0.5	0.5	0.5
试剂四 (0.75mol/L 氢氧化钠溶液) (ml)	0.5	0.5	0.5

充分混匀, 37 度水浴 10 分钟, 于 510nm 波长测定吸光度。

五、结果计算

$$\text{尿肌酐 (}\mu\text{mol/l)} = \text{测定 OD 值} / \text{标准 OD 值} \times 50 \times 201$$

$$\text{尿肌酐系数} = 24 \text{ 小时尿肌酐量 (mg)} / \text{体重 (Kg)} = \text{尿肌酐 (}\mu\text{mol/l)} \times 0.11312 \times 1.5 \text{ (L)} / \text{体重 (Kg)}$$

每日尿量大约 1500ml

肌酐分子量 113.12

毫摩尔肌酐与毫克肌酐的换算公式: $\text{mg/L} = \text{mmol/L} \times 113.12$

六、注意事项

(一) 显色反应在 10~15min 内完成, 若时间过长, 尿液中其他物质也能与

碱性苦味酸起反应而影响结果。

(二) 若尿液样品浓度过高，应重新稀释尿液，结果乘以稀释倍数即可。

(三) 肌酐与碱性苦味酸反应所显颜色要渐渐褪色，故宜在半小时内进行比色，读取结果。

(四) 使用前必须对学生进行安全教育，强调实验安全，并在实验过程中保障药品试剂的安全存放，防火防盗。

七、作业与思考

(一) 如何利用尿肌酐测定来评价运动员有机能？

(二) 日肌酐排泄量增高，是否能表明尿肌酐系数增高？为什么？

实验五

血尿素的测试

尿素是体内蛋白质、氨基酸分解代谢的终产物。体内蛋白质和氨基酸分解代谢产生氨，氨代谢的主要去路是在肝脏合成尿素后释放进入血液，然后经血液循环至肾脏排出体外。

正常生理活动时，尿素的生成和排泄处于平衡状态，使血尿素浓度保持相对稳定。正常人血尿素氮安静值为 3.2~7.0 mmol/L。运动员的安静值与普通人一致。一般在 30min 以内运动时，血尿素变化不大，超过 30min 以上的运动蛋白质和氨基酸分解代谢加强参与供能，尿素生成增多，血尿素含量也较明显增加。身体对运动负荷的适应性越差，运动时生成的尿素就越多。在训练期可每天或隔天、或大运动量训练后次日晨测定血尿素，来评定运动员身体机能状况；也可测定每周一晨的血尿素以了解机体的恢复情况。所以，血尿素氮可作为评定运动负荷量、机能状况及机体疲劳程度的重要指标。

在运用血尿素氮指标进行技能评定时，要充分考虑其对运动负荷量、运动强度的参考价值。该指标对强度相对较大、运动量也较大的训练或运动更具有针对性。

本实验采用二乙酰肟法测定血清尿素。有条件的实验室可以采用干式生化分析仪测试血尿素，该方法具有需要的样本量较少、对运动员的创伤较少、操作简单等优点，易于被运动员所接受。其测试的结果与其他测试方法的结果差异不大，其差异在临床可以接受的范围之内。

一、实验目的

- (一) 学习血尿素的测定方法。
- (二) 学习静脉采血的方法。
- (三) 掌握血尿素指标在运动实践中的应用。

二、实验原理

在加热和强酸条件下，尿素氮与二乙酰肟缩合成红色的联吡嗪称之为 Fearon 反应。根据色泽的深浅可以计算出尿素氮的含量。

三、实验器材

(一) 试剂一：1g/L 的脲溶液100ml×1 瓶，4℃保存。

(二) 试剂二：酸溶液40ml×1 瓶，用时加双蒸水80ml 配成酸应用液，4℃保存。

(三) 试剂三：10mmol/L 尿素氮标准品×1 瓶，4℃保存。

(四) 分光光度计、移液枪、真空采血管

四、实验步骤

(一) 样本采集与处理

1、标记试管

在试管上贴上标签，标记上受试者的姓名、性别及年龄等。

2、消毒双手

采血前，操作人员衣帽整齐，应用肥皂或消毒液和水洗手、戴口罩手套。

3、选择静脉

采血前，要求受检者坐在实验台前。将前臂放在实验台上，掌心向上，并在肘下放一枕垫。卧床受检者要求前臂伸展，暴露穿刺部位。常用采血位置是肘前静脉，因其粗大、容易辨认。

4、检查注射器

打开一次性注射器包装，左手持针头下座，右手持针筒，将针头和针筒紧密连接，并使针头斜面对准针筒刻度，抽拉针栓检查有无阻塞和漏气。最后排尽注射器中的空气，备用。使用前，保持针头无菌状态。

5、扎压脉带

在采血部位上端约 6cm 处，将压脉带绕手臂一圈打一活结，压脉带末端向上。要求患者紧握和放松拳头几次，使静脉隆起。压脉带应能减缓远端静脉血液回流，但又不能紧到压迫动脉血流。

6、选择进针部位

采用左食指，触摸进针部位的静脉。

7、消毒皮肤

用 30g/L 碘酊棉签自所选静脉穿刺处从内向外，顺时针方向消毒皮肤，待碘酊挥发后，再用 75%乙醇棉签以同样的方式拭去碘酊，带干。

8、穿刺皮肤

取下针头无菌帽，以左手拇指固定静脉穿刺部位下端，右手持注射器，食指固定针头下座。保持针头斜面和针筒刻度向上，沿静脉走向使针头与皮肤成 30° 角斜行快速刺入皮肤，然后成 5° 角向前穿破静脉壁进入静脉腔。确认穿刺入静脉中心位置，并沿着静脉走向将针头推入 10~15mm。

9、抽血

用左手缓缓向后拉注射器针栓，见少量回血后，松开压脉带。然后，向后拉针栓到达采血量 3ml 刻度。若使用一次性真空采血装置，当针头进入血管后会见少量回血，将真空采血管插入试管托内采血针中，因试管内负压作用，血液自动流入试管，到达采血量刻度后拔出试管即可。

10、止血

嘱受检者松拳，用消毒棉签压住进针部位，迅速向后拔出针头。继续紧按住消毒棉签 3min。

11、放血

从注射器上取下针头。将血液沿试管壁缓缓注入，到达标记处。含抗凝剂试管需迅速轻轻颠倒混匀几次。

12、从抗凝管抽取血液 1.5ml 到离心管中，离心机 2000rpm 离心 10min。上清液即受试者的血浆待测样本。

(二) 按照表 5.1 操作

	空白管	标准管	测定管
双蒸水 (ml)	0.02		
10mmol/L 尿素氮标准品 (ml)		0.02	
待测样本 (ml)			0.02
试剂一 (ml)	1	1	1
试剂二应用液 (ml)	1	1	1

混匀，置沸水中准确水浴 15 分钟，立即用自来水冷却。于波长 520nm，1cm 光径，

双蒸水调零，测定各管 OD 值。

表 5.1 血尿素氮测定

计算公式：血尿素氮 (mmol/L) = OD 测 / OD 标 * 10

五、注意事项

- 1、酸溶液与脲溶液可按等量混匀，用量为 2ml，但此混合液只能保存 7 天左右。
- 2、比色前若发现沉淀，则可 3500 转/分离心 10 分钟。
- 3、颜色太深时，将样品作适当稀释，结果再乘以稀释倍数。
- 4、重度脂血标本要用除蛋白滤液测定。
- 5、试剂 4℃保存，有效期一年
- 6、使用前必须对学生进行安全教育，强调实验安全，并在实验过程中保障药品试剂的安全存放，防火防盗。

六、作业与思考

- (一) 测定血尿素含量有什么实际意义？
- (二) 血尿素含量变化与身体机能有什么关系？
- (三) 如何通过测定血尿素氮浓度控制训练负荷？

实验六

尿蛋白的测定

尿蛋白是指尿中蛋白质而言，尿蛋白的主要成分是白蛋白。正常人尿内含有微量蛋白质，在 2mg% 以内，成年人每昼夜排出的总量约 10-100mg，偶尔可达 150mg。安静状态与，运动员的尿蛋白含量与正常人含量无差别。由于运动而出现尿中蛋白质增加的现象称为运动性蛋白尿。在体育运动或训练后，尿中蛋白质的排出量可能达到 250mg 以上。测定运动员运动后尿中蛋白质的数量，可以用来评定运动员体机能状态、运动强度和运动量及恢复情况等。评定一次训练课的运动负荷量时，一般采集晨起安静时尿液与运动后 15min 的尿液进行比较。若运动量大，尤其是运动强度越大，尿蛋白生成量也越多。而观察身体机能状况及身体恢复情况，要采集运动后 4h 或次日晨尿液进行评定。若运动后 4h 或次日晨尿蛋白下降至正常值，说明机能已经恢复；若仍处于较高水平，则说明机能尚未恢复。

运动性蛋白尿的数量受多种因素的影响，如运动身体机能状态、训练手段、情绪、环境、年龄等，且存在个体差异，因此，在一个训练周期中可进行跟踪测试，根据个体尿蛋白变化规律评定训练负荷、系统监测机体对训练负荷的适应情况。

一、实验目的

- (一) 学习尿蛋白的测定方法。
- (二) 掌握尿蛋白指标在运动训练中的应用。
- (三) 学会用尿液分析仪测定尿液中各种指标。

二、实验原理（如图 5.1）

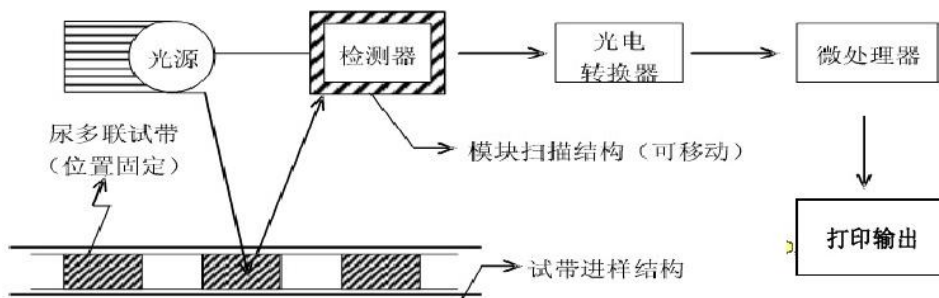


图 5.1 光反射测试尿蛋白原理

三、实验器材

(一) 拜耳尿十项分析仪 Clinitek Status。



(二) 尿十项测试试纸、一次性尿杯

四、实验步骤

(一) 用一次性塑料杯留取中段尿液。

(二) 将尿样均匀的滴入试纸条上，将多余的尿液去掉。

(三) 将试纸条放入尿十项分析仪载物台，后按“测试”键

(四) 测试完毕后，打印结果。拿掉试纸条，用棉棒擦干净载物台。

五、作业与思考

(一) 测定运动员尿蛋白排泄量有什么实际意义？

(二) 在一次大强度运动训练或比赛后，何时取尿比较理想？

(三) 尿蛋白一次测定值增高，能否肯定其身体机能下降，为什么？

实验七

运动负荷的综合评定

一、实验目的

学会用血乳酸、血尿素氮等多项生物化学指标对无氧运动或有氧运动的运动强度、运动负荷等进行综合评定。

二、实验原理

在运动负荷的评定中，单一生物化学指标难以说明问题，只有多指标的综合评定，才能起到互相补充，扬长避短的作用。一般地说，目前常采用血乳酸、血清肌酸激酶等评定运动负荷强度；采用血红蛋白、血尿素、血清睾酮/皮质醇比值等评定负荷量和运动员的机能状态。评定运动负荷的生物化学指标除了要多项测试，还要进行综合评价，所以不仅要测定运动后的生化指标变化，还要测定运动前的生化指标的量，对运动前后的生化指标相差绝对值进行综合评定。

采用不同运动方式运动，机体的主要供能系统有所侧重，运动后各指标的变化也不同。短时间大强度运动（10s 以内）基本上依靠磷酸原供能系统供能，运动后血乳酸浓度的变化不太大；运动时间在 10s 到几十秒钟的大强度运动则主要依靠糖酵解系统供能为主，运动后血乳酸浓度会出现大幅度的升高；而长时间的低、中强度运动以糖和脂肪的有氧氧化为主，运动后血乳酸浓度上升较少。

三、实验器材

实验室现有的简便仪器，如血乳酸分析仪、722s 分光光度计等。

四、实验步骤

将教学班分为若干组，每组 5-6 人，每组随机抽取 2~3 人为受试者，其余担任测试工作。例如受试者进行准备活动后，可分别进行 3 种运动：（1）10s 原地快跑；（2）原地高抬腿慢跑 3min；（3）3000m 以上距离的长跑运动。

（一）分别于运动前安静时、运动后 3~5min 取血，测定血乳酸。

（二）运动前安静时和运动后 15~20min 取血，测定血尿素氮。

将实验结果填入表 6.1 中。

表 6.1 运动负荷的综合评定

	姓名	血乳酸 (mmol/L)		血尿素氮 (mmol/L)	
		安静	运动后 3~5min	安静	运动后 15~20min
方案一					
方案二					
方案三					

对实验结果进行分析讨论。分析 3 种运动方式运动后各指标的变化及其原因，进而了解 3 种不同运动方式的运动强度。

五、注意事项

注意控制好血乳酸、血尿素氮取样的时间。

实验八

运动生化指标的综合应用

一、实验目的

(一) 能够综合应用所学的运动生物化学实验知识和技能，去解决一些实际问题。

(二) 初步了解科研实验的基本要求和程序，提高学生分析问题、解决问题的能力，提高创新的能力。

二、实验原理

要对运动员进行科学的技能评定，首先要做到对运动动员所从事项目的项目特点进行充分的了解，项目特点包括项目的运动类型、项目的运动强度、项目的供能特点等。其中，把握项目的物质和能量代谢特点尤其重要。

运动时机体的物质代谢和能量代谢发生变化，导致血、尿、汗和唾液中某些成分发生改变。测定某些生化指标可了解机体的变化规律，从而对运动人体机能做出定性或定量的分析。为了科学地、准确地评定运动人体机能，应采用多个生化指标的综合评定。常用的生化指标有血乳酸、血尿素、血红蛋白、血清酶、尿肌酐、血睾酮等。

三、实验器材

试管、移液管、取血针、722s 分光光度计、血乳酸分析仪、尿十项分析仪等常用生化仪器。

四、实验步骤

(一) 选题。

把学生分成若干个小组，4~6 人为一小组，要求每小组自行选一个训练或比赛项目且自拟实验题目。运用两个或两个以上的生化指标，设计并解决下列运动训练中的实际问题。

1. 评定运动后的身体机能状况。常采用尿蛋白、血尿素、血红蛋白等评定机能状况。
2. 评定训练课的负荷安排。采用血红蛋白、血尿素、尿胆原评定负荷量。
3. 监测比赛的运动强度。常采用血乳酸、尿蛋白、CK 等评定运动强度。

4. 评定训练后的恢复状况。常采用血乳酸、血尿素、尿蛋白等评定。

(二) 查阅文献资料。

了解所选运动项目的供能过程及生化特点；选择两种或两种以上的生化指标，能反映该运动项目训练情况。

(三) 进行实验设计。

根据已学的运动生物化学知识和相关文献资料，每一个学生各自进行实验设计方案。实验设计的内容包括：题目、实验目的、实验对象、运动方式、实验器材、实验观察的生化指标及其测试方法等。

(四) 实验研究

实施实验过程及生物化学指标的测定，并对实验结果进行讨论分析。(根据人力、物力和课时的实际情况，可只进行实验设计而不进行具体的实验实施的方式。)

(五) 书写研究报告

以小论文的形式完成实验报告。

五、注意事项

(一) 学生要复习所学的能量供应、运动员机能评定等相关理论知识，在规定的时间内（实验课前一周）完成实验过程的设计，经任课教师审核合格后，才能实施实验。

(二) 注意各生物化学指标的适宜测试时间。

六、作业与思考

(一) 根据自己的实验设计和实验结果分析，以小论文的形式写一篇实验报告或按设计性实验格式完成实验作业。