



南昌大学  
NANCHANG UNIVERSITY

# 脂肪酸的 $\beta$ -氧化

南昌大学生物学实验教学中心 汪艳璐





## 一、实验目的：

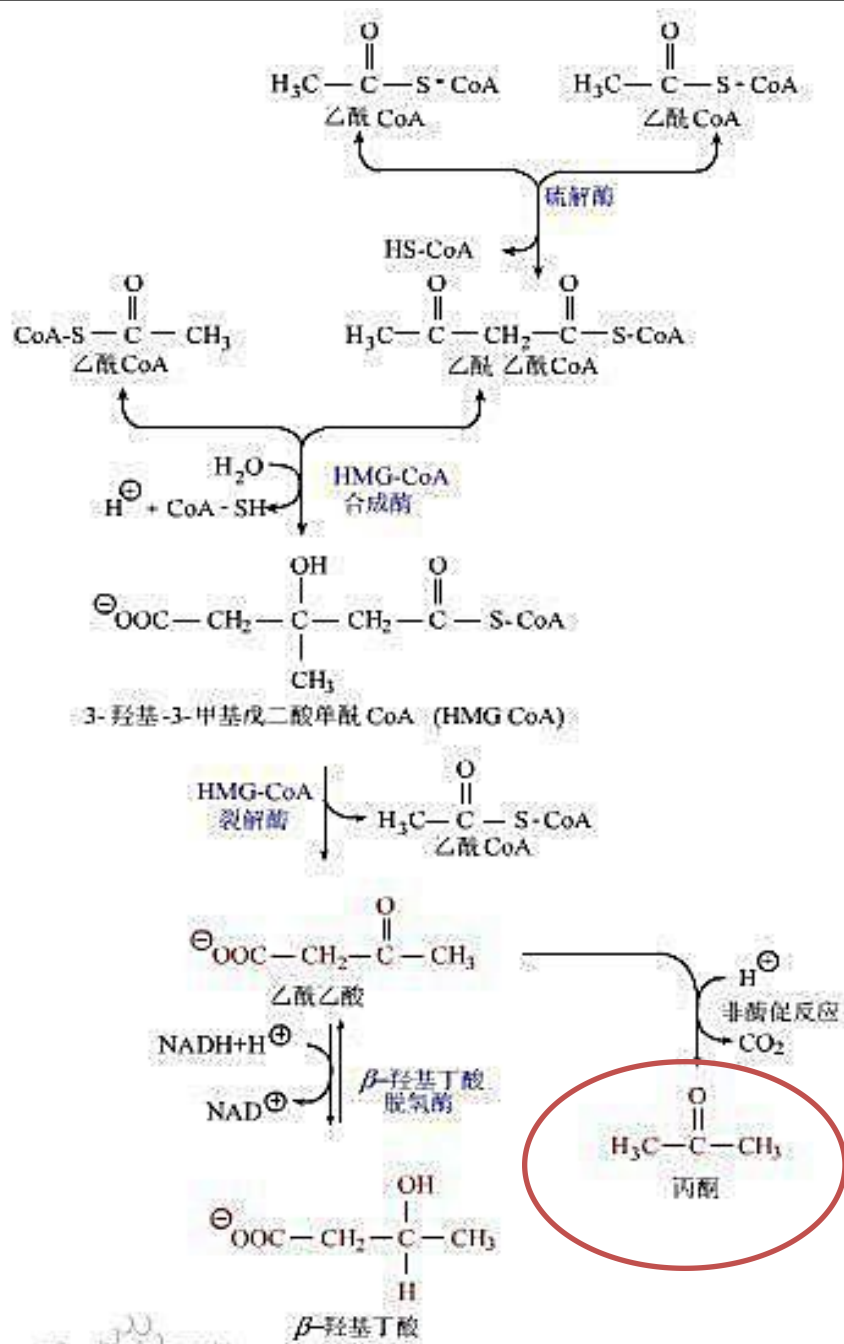
- (1) 了解脂肪酸的 $\beta$ -氧化作用。
- (2) 掌握测定 $\beta$ -氧化作用的方法和原理。



## 二、实验原理：

在肝脏中，脂肪酸经 $\beta$ -氧化作用生成乙酰辅酶A。2分子乙酰CoA可缩合生成乙酰乙酸。乙酰乙酸可脱羧生成丙酮，也可还原生成 $\beta$ -羟丁酸。

本实验采用丁酸为底物：





生成的丙酮在碱性条件下，与碘生成碘仿。反应式如下：



剩余的碘，可以用标准硫代硫酸钠滴定。



根据滴定样品与滴定对照所消耗的硫代硫酸钠溶液体积之差，可以计算由丁酸氧化生成**丙酮**的量。





## 三、实验材料及仪器

1、材料：新鲜猪肝

2、仪器

(1) 匀浆器

(2) 试管

(3) 电子天平

(4) 剪刀及镊子

(5) 锥形瓶

(6) 碱式滴定管

(7) 水浴锅

(8) 移液管

(9) 漏斗





## 四、试剂：

- 0.1%淀粉溶液
- 1/15mol/L7.6磷酸盐缓冲溶液
- 0.9%氯化钠溶液
- 0.5mol/L丁酸溶液
- 15%三氯乙酸溶液
- 0.1mol/L碘溶液
- 10%氢氧化钠溶液
- 10%盐酸溶液
- 标准0.01mol/L的硫代硫酸钠溶液





## 五、实验步骤:

### 1、肝糜制备

取新鲜肝脏，用0.9%氯化钠溶液洗去污血。用滤纸吸去表面的水分。称取肝组织5g置研钵中，剪成碎块。加少量0.9%氯化钠溶液，研磨成细浆。再加0.9%氯化钠溶液至总体积为10mL。

2、取2个50mL锥形瓶，各加入3mL 1/15mol/L pH 7.6的磷酸盐缓冲液。向一个锥形瓶中加入2mL正丁酸，另一个锥形瓶加2mL水，不加正丁酸作为对照。然后各加入2mL肝组织糜。混匀，置于43°C恒温水浴中保温。



试剂 (ml) / 编号	1号实验组	2号对照组
磷酸盐缓冲溶液	3	3
正丁酸溶液	2	——
H <sub>2</sub> O	——	2
肝组织糜	2	2
43 °C恒温水浴保温1.5小时		
15%三氯乙酸	3	3
正丁酸溶液	——	2
H <sub>2</sub> O	2	——
混匀，静置15分钟，过滤，滤液分别收集于试管中		





### 3、沉淀蛋白质

43℃保温**1.5小时**后，取出锥形瓶，各加入3mL 15 %三氯乙酸溶液，在**对照瓶**内追加**2mL正丁酸**，混匀，静置15分钟后过滤。将滤液分别收集在2支试管中。

### 4、酮体的测定

吸取2种滤液各2mL分别放在另2个锥形瓶中，再各加3mL 0.1 mol/L碘溶液和3mL 10%氢氧化钠溶液。摇匀后，静置10分钟。加入3mL 10%盐酸溶液中和。然后用**0.01mol/L**标准硫代硫酸钠溶液滴定剩余的碘。**滴至黄色时**，加入5滴淀粉溶液作指示剂。摇匀，**并继续滴到蓝色褪去**。记录滴定样品与对照所用的硫代硫酸钠溶液的mL数，并按下式计算样品中丙酮含量。



试剂 (ml) \ 编号	1号实验组	2号对照组	3号空白组
滤液	2	2	-
H <sub>2</sub> O	-	-	2
0.1mol/L碘溶液	3	3	3
10%氢氧化钠溶液	3	3	3
摇匀，静置10分钟			
10%盐酸溶液	3	3	3



## 六、计算

肝糜催化生成的丙酮含量 ( $\text{mmol/g}$ ) =  $(B-A) \times C_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \times 1/6$

式中：

A为滴定**实验管**所消耗的0.01mol/L硫代硫酸钠溶液的mL数；

B为滴定**对照管**所消耗的0.01mol/L硫代硫酸钠溶液的mL数；

$C_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$ 为标准硫代硫酸钠溶液浓度 (mol/L) 。





## 七、注意事项：

- 1、肝脏要充分研磨，不能有组织块状
- 2、研磨时只加少量生理盐水，最终要定容至10mL
- 3、随加随滴定，要加一个滴定一个，不能都加好盐酸再滴定
- 4、滴定至黄色就滴加淀粉溶液，开始颜色比较深，随着滴定会逐渐变浅，出现淡紫色就说明很快到达终点。

