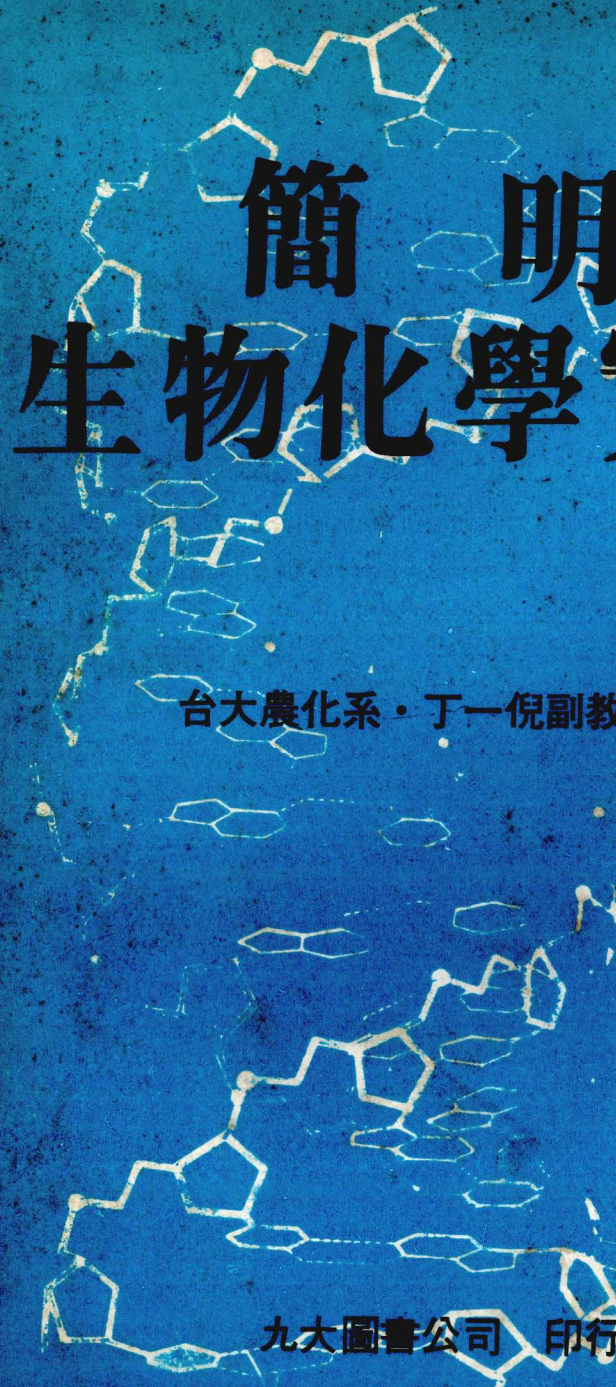




簡明 生物化學實驗

台大農化系・丁一倪副教授

九大圖書公司 印行

簡明 生物化學實驗

鄭永壽主編 丁一仙副主編

上海醫藥出版社

簡 明 生物化學實驗

台大農化系・丁一倪副教授

九大圖書公司 印行

簡明生物化學實驗

著者：台大農化系、研究所丁一倪副教授

出版：九大圖書公司

發行人：謝榮進

發行所：台北市和平東路二段96巷10弄7號三樓
台北郵箱23~11號

電話：(02) 7015394

購買：各大專附近書局、重慶南路大書局

郵政劃撥107092帳號 李春鋼 張戶

訂價：新台幣120元

版權所有・翻印必究

吉豐印刷廠印刷

中華民國67年11月25日初版台業字第 號

本書特色

- 1 本書取材力求實用，因此實驗材料多為植物組織或動物體液，實驗內容均為常用的分析方法。
- 2 本書各個實驗均分為兩個部分，第一部份為概述，詳細論列實驗過程各階段的化學反應，以及導致實驗誤差的原因。第二部份為實驗，詳細列出各該實驗所需之儀器及應備試藥和材料。對於實驗操作，則採用條敘式，以期一目瞭然，並以醒目的〔注意〕標明操作時應行注意的事項及可能發生的危險。本書全部實驗均經作者親手做過，因此所列之注意事項彌足珍貴。
- 3 為了啟發同學思考能力，本書若干實驗之後，均附有習題。
- 4 本書不僅適合於大專院校，理、醫、農、工有關科系，一般生化實驗之用，並可作為農牧產品成分分析及臨床生化檢驗手冊之用。
- 5 「工欲善其事，必先利其器」，欲得精確的實驗結果，對於實驗室中各種基本儀器必須能夠純熟使用並善盡保養之責，本書作者以十年的教學經驗，將在實驗室中所見所聞，寫下了本書第一編‘基本常識’更是本書一大特色。

九大圖書公司敬識

目 錄

本書特色

第一篇 基本常識

第一章 生化實驗重要參考書	1
---------------	---

第二章 實驗室規則及應變常識

第一節 實驗室規則及一般常識	5
----------------	---

第二節 應變常識	11
----------	----

第三章 基本儀器用法

第一節 吸管	15
--------	----

第二節 安全吸球	17
----------	----

第三節 恆溫水鍋	18
----------	----

第四節 冷凝管	20
---------	----

第五節 離心機	20
---------	----

第六節 電動天平	22
----------	----

第七節 光電比色計	24
-----------	----

第八節 酸度計	30
---------	----

第二篇 醣類

實驗一 醣類的呈色反應	35
-------------	----

一、Molish 試驗	43
-------------	----

二、Anthrone 試驗	44
---------------	----

三、Seliwanoff 試驗	45
-----------------	----

四、Bial 試驗	46
-----------	----

五、Schiff 試驗	47
-------------	----

實驗二 單醣及寡醣的定量

第一節 概述

一、單醣的定量	50
---------	----

二、試料的製備	53
第二節 實驗	
(一) Somogy 變法 (滴定法)	55
(二) Somogyi — Nelson 法 (比色法)	58
實驗三 總糖的定量	66
實驗四 血糖的定量	68
實驗五 五碳聚糖 (Pentosan) 的定量	77
實驗六 粗纖維的定量	82
實驗七 半纖維素的定量	85
實驗八 木質素的定量	88
實驗九 尿液的醣酵試驗	96
第三篇 脂質	
實驗一 油脂水解及其組成成分之分析	101
實驗二 血清中總胆固醇的定量	117
實驗三 血清中總脂質的定量	123
實驗四 粗脂肪的定量	128
實驗五 脂肪酸的逆相濾紙層析	132
實驗六 脂肪酸的薄層層析	141
第四篇 胺基酸與蛋白質	
實驗一 胺基酸的呈色反應	147
實驗二 以 Yemm — Cooking 法定量游離胺基酸	158
實驗三 以 Van Slyke 法定量游離胺基酸	163
實驗四 粗蛋白的定量	173
實驗五 純蛋白的定量	183
實驗六 以 Polyacrylamide Gel 進行電泳分離蛋白質	185

第五篇 非蛋白質含氮成分

實驗一 植物組織中銨態氮、醯胺態氮、硝酸態氮之系統分析...198

實驗二 血清及尿液中尿素的定量...201

實驗三 血清及尿中Creatinine 及 Creatine 的定量...219

第六篇 酵 素

實驗一 血清及尿中Amylase活性的測定...229

實驗二 蔗糖轉化酵素的檢驗...241

實驗三 Pyruvate decarboxylase 活性測定...245

實驗四 Malic dehydrogenase的製備及其活性的測定...251

實驗五 血清中脂質酵素的測定...257

實驗六 Cholinesterase 活性的測定...263

實驗七 血清中Phosphatase 活性的測定...271

實驗八 牛奶中Phosphatase 活性的測定...285

實驗九 從蔗糖水解酵素探討酵素性質及其反應動力論...295

附錄...309

元素表

對數表

酸鹼濃度表

生化物質的PK值表

第一篇 基本常識

第一章 生化實驗重要參考書

本書取材力求簡明實用，如果你對某方面特別有興趣不妨參看下列書籍：

一、一般生化實驗書籍。

- 1 丁一倪：生物化學實驗技術（1979）。歐亞書局印行。
- 2 J. M. Clark, Jr. : Experimental Biochemistry (1964)。
大學圖書公司翻版。
- 3 R. W. Cowgill & A. Pardee : Biochemistry Research Techniques (1957)。大學圖書公司翻版。
- 4 G. Bruening, R. Criddle, J. Press, & F. Rudert : Biochemical Experiments (1970). Wiley Interscience, New York.
- 5 R. J. Henry : Clinical Chemistry (1970). 合記圖書公司翻版。
- 6 M. J. Lynch S. S. Raphael, L. D. Mellor P. D. Spare & M. J. H. Inwood : Medical Laboratory Technology and Clinical Pathology (1972) 大學圖書公司翻版。
- 7 D. T. Forman & R. W. Mattoon : Clinical Chemistry(1976). American Chemical Society.
- 8 M. Werner: Microtechniques for the Clinical Laboratory (1976)。John Wiley & Sons Inc., New York.
- 9 M. A. Savageau: Biochemical System Analysis (1976), Addison-Wesley, Advanced Book Program, Reading, Mass

二、必備字典：

- 1 P. G. Stecher: The Merck Index of Chemicals and Drugs, 9th ed. (1976) 大學圖書公司翻版。
- 2 R. M. C. Dawson, D. C. Elliott, W. H. Elliott & K. M. Jones: Data for Biochemical Research, 3rd. ed. (1976)。歐亞圖書公司翻版。

3 中英日化工化學辭典——萬里程出版社翻版。

三 介紹生化實驗儀器原理書籍：

- 1 D. Freifelder : *Physical Biochemistry* (1977), 萬里程出版社翻版。
- 2 J. M. Brewer, A. J. Pesce & R. B. Ashworth : *Experimental Techniques in Biochemistry* (1975).
- 3 H. H. Willard, L. L. Merritt Jr. & J. A. Dean : *Instrumental Methods of Analysis*, 5th ed. (1974). 歐亞圖書公司翻版。

四 有關色層分析書籍：

A. 一般

- 1 D. Abbott & R. S. Andrews : *An Introduction to Chromatography*, 2ed ed. (1970).
- 2 J. M. Bobbitt, A. E. Schwarting & R. J. Gritter : *Introduction to Chromatography* (1968), 吳廷源等譯：色層分析法概論，科學圖書社印行。
- 3 R. C. Denney : *A Dictionary of Chromatography* (1976) Halsted Press, New York.

B. 薄層層析法

- 1 K. Randerath : *Thin-Layer Chromatography* (1963). 大學圖書公司翻版。
- 2 J. M. Bobbitt : *Thin-Layer Chromatography* (1963). 歐亞圖書公司翻版。
- 3 J. C. Touchstone : *Quantitative Thin-Layer Chromatography* (1973).
- 4 J. G. Kirchner : *Thin-Layer Chromatography* (1967). Interscience, New York.

C. 氣相層析法

- 1 H. M. McNair & E. J. Bonelli : *Basic Gas Chromatography* (1967). Varian Aerograph Walnut Creek California. 洽太儀器公司翻印。
- 2 T. S. Ma & A. S. Ladas, *Organic Functional Group*

Analysis (1976). Academic Press (London)Ltd., London .

- 3 G. J. Dickes & P. V. Nicholas : Gas Chromatography in Food Analysis (1976) . Butterworth (Publishers) Inc., Reading, Mass.

D . 液相層析法

- 1 R. P. W. Scott : Contemporary Liquid Chromatography (1976) John Wiley & Sons Inc., New York.
- 2 C. F. Simpson : Practical High Performance Liquid Chromatography (1976) . Heyden & Son Ltd., London.
- 3 N. Hadden, F. Baumann, F. MacDonald M. Munk, R. Stevenson, D. Gere F. Zamaroni & R. Majors : Basic Liquid Chromatography (1972). Varian Aerograph . 洽太儀器公司翻印。

E . 離子交換層析法 :

- 1 O. Samuelson: Ion Exchangers in Analytical Chemistry (1953) .
- 2 The Dow Chemical Company : Dowex - Ion Exchange (1964).

F . 膠質過濾法

- 1 Pharmacia Fine Chemicals A. B.: Sephadex-Gel Filtration in Theory and Practice (1966). Uppsala, Sweden.
- 2 上述公司所出的其他小冊。

G . 親和力層析法

- 1 Pharmacia Fine Chemicals A. B.: Affinity Chromatography (1974) . Uppsala , Sweden.
- 2 E. Merck, Darmstadt : Preparations for Affinity Chromatography (1974).
- 3 C. R. Lowe & P. D. G. Dean: Affinity Chromatography (1974) A Wiley Interscience Publishers, New York.

五、有關電泳書籍 :

- 1 M. Bier : Electrophoresis 2nd ed. (1968).
- 2 S. T. Nerenbery : Electrophoresis (1966).
- 3 G. Zweig & J. R. Whitaker: Paper Chromatography and

Electrophoresis (1967).

4 A. H. Gordon : Electrophoresis of Proteins in

Polyacrylamide and Starch Gels (1975) 歐亞書局翻印。

六有關氣壓分析法書籍：

W. W. Umbreit R. H. Burris & J. F. Stauffer : Manometric Techniques (1964). 環球書社翻版。

七有關酵素分析書籍：

1 S. P. Colowick & N. O. Kaplan : Methods in Enzymology.

2 H. U. Bergmeyer: Methods of Enzymatic Analysis
(1963). 環球書社翻版。

3 O. Zaborsky: Immobilized Enzymes (1973).

萬里程出版社翻版。

4 G. G. Guilbault : Handbook of Enzymatic Methods of Analysis
(1976). Marcel Dekker Inc., New York.

第二章 實驗室規則及應變常識

第一節 實驗室規則及一般常識

1. 在實驗室內嚴禁吸煙及高聲喧嘩。
2. 在實驗操作進行中，每組至少應留一人看守，不得全部離去。
3. 公用儀器、藥品用畢應即放回原處。
4. 一切儀器應按正確方法使用，對於用法不明的電氣儀器切勿任意開動以免損壞或發生危險。
5. 儀器零件及附件，請勿任意拆卸以免丟失。
6. 自己配製的藥品務請標明品名、濃度及配製日期，其易受光分解者請用有色瓶子盛之，請勿使用玻璃瓶盛裝濃鹼溶液。
7. 藥品或儀器放入櫥櫃時務請放置穩妥，以免開門時飛落傷人。
8. 請勿使用不乾淨的藥匙挖取藥品，也不要使用不乾淨的吸管或藥滴吸取藥液，以免造成污染。
9. 取用整瓶藥品時，除非該項藥品價格昂貴或不易獲得，請先估計所需用量，倒出適量使用，用剩的予以丟棄，以免污染整瓶藥品。
10. 取用藥品後應即加蓋（不可弄髒瓶蓋），若見藥品標籤脫落，請即貼好。
11. 請勿將厚燒杯置於電爐上直接加熱，或以之盛裝熱水，以免破裂。
12. 請勿將蒸發皿當做磨口使用，因其極易破裂。
13. 吸管及藥滴用完，請即洗淨。插放時，請尖端朝上，以免弄斷尖端。
14. 請勿將有塞燒瓶拔去瓶塞當做普通燒瓶使用。
15. 請勿將滴定管刷剪短當做普通毛刷使用。
16. 請勿將光度計的測光管當做普通試管使用。
17. 請勿爲了一時之便，任意拆卸成套儀器零件，作爲他用。
18. 天平砝碼應用夾子夾取，請勿亂丟。
19. 使用 pH 試紙時，請先將其剪成小片，以求節省。
20. 打開盛有乾燥劑的乾燥器時，請勿將蓋子覆在桌面，用完請即蓋上。
21. 請勿以玻璃容器盛裝會結冰的液體，放入冰箱冷凍室，以免結凍時，

脹破玻璃。

22. 冰箱用畢請隨手關緊。

23. 使用油壓式抽氣機時，應於抽氣機與被抽氣容器之間加裝吸收管，以免水蒸氣或藥品蒸氣侵入，損壞機油。

24. 打洞橡皮塞或軟木塞（須先用木砧滾壓）時，應以水潤滑由小端向大端打，切勿使打洞器叉口與桌面磨擦，以免損壞打洞器及桌面。

25. 在會與有機溶媒或其蒸氣相遇的場合，請勿使用橡皮塞。以橡皮塞或軟木塞作為瓶塞時，請於塞上包一張稱葯紙。

26. 使用安全吸球時，請勿讓葯液吸入球內。

27. 若無特別聲明，則在實驗過程中，A 液加 B 液，應立即予以混合均勻。

28. 若要將易結塊的葯品（如 $K_2Cr_2O_7$ ，之溶於濃硫酸，葡萄糖之溶於水）配成溶液時，宜一邊添加，一邊攪拌，或用磨白研磨助溶。

29. 請勿使用鋁箔或錫箔來蓋盛有塩酸的容器。

30. 盛過鹼液的滴定管或分液漏斗，用畢應即洗淨，否則其活栓會被粘住。

31. 抽氣過濾時，部氏漏斗中濾紙的大小以能蓋住全部孔洞為宜，不可過大翹起，所用橡皮管宜使用硬質者，若要保留濾液，則使用水流抽氣器（Aspirator）時，應加裝緩衝瓶，以防自來水倒流入濾液中。

32. 滴定前請先檢查滴定管活栓是否靈活，以及會不會漏。

33. 滴定时，請將注加葯液的漏斗取下，被滴定的溶液請以燒瓶盛之，不宜使用燒杯盛之。

34. 請勿將裝於 NaOH 標準溶液容器上的鹼石灰（sodalime）管任意拔下。

35. 請勿任意拆數量瓶，有塞燒瓶等蓋子或滴定管，分液漏斗等活栓。

36. 電爐下面要加爐墊（可用磚塊，但千萬不可用報紙或其他易燃物）不可直接置於桌面使用，否則會燒壞桌面。

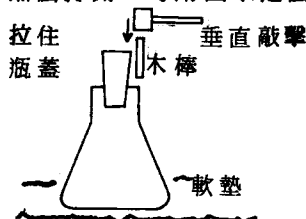
37. 雙插頭式電器，使用完畢應將接電源插座一端之插頭拔下，千萬不可只將接電器之插頭拔出，以免為其他同學碰到，發生觸電。

38. 遇有電器漏電，請將插頭拔出，換個方向插入電源，有時可以防免。

39. 請勿任意將電器上地線拉掉，若遇地線脫落請予接上。
40. 稱量易潮解的藥品時，請使用稱量瓶，不宜使用稱藥紙盛之。
41. 稱量自烘箱中取出的物品時，應先用坩堝夾夾至乾燥器中，待冷後始行稱量。
42. 自冰箱中取出的固體藥品，在溫度回升到室溫前請勿打開瓶蓋，以免受潮。
43. 使用量瓶配製難溶藥品的溶液時，宜先讓藥品在燒杯內溶解後，才倒入量瓶，然後用蒸餾水洗滌燒杯多次，並將各次洗液均倒入量瓶中。
44. 添加溶劑至量瓶之刻度時，其最後 1—2 ml 宜使用吸管添加，較能避免過量，若量瓶內液體的溫度高於或低於常溫，宜待其達到常溫時，始行加滿至刻度。加至刻度後，更應蓋上蓋子上下倒置，使其充分混合。
45. 用過的有機溶媒請勿倒去，以備蒸餾回收再用，以節能源。
46. 爲求實驗精確，吸管、量瓶及滴定管宜先經校正。
47. 洗完玻璃儀器後，應再用蒸餾水沖洗，沖蒸餾水時，不可用手指按住瓶口或管口振盪，沖蒸餾水後更不可用衛生紙或抹布擦乾。若要乾燥，須任其自然滴乾或烘乾。
48. 不可將塑膠製品，橡皮製品或有精確刻度的玻璃儀器放入烘箱烘乾。
49. 在無人照料情況下，不可開啓任何電熱器（如烘箱）的輔助（直通）電熱開關，以免過熱燒毀。
50. 烘箱內棉花或紙片着火時，請即切斷電源，並關閉氣門，切勿打開烘箱之門，以免空氣進入，火勢更旺。
51. 在定量實驗時不可使用量筒或藥滴量取試料或藥液，更不可使用量筒配製標準溶液。
52. 使用電磁攪拌器時，不可丟失攪拌子（常常有人忘了取出而倒入水槽），溶液中攪拌子不可用手撈取，宜用磁鐵在容器外吸取。
53. 玻璃、紙張、垃圾等固體，切勿投入水槽。有腐蝕性的藥品倒入水槽後，應即沖水。
54. 稀釋濃硫酸時，要將濃硫酸徐徐倒入水中，並不斷攪拌之（最好再於

容器之外用水冷却)，千萬不可將水注入濃硫酸中。

55. 不可將有刻度的玻璃儀器或厚薄不均勻的玻璃儀器置於電爐上加熱。否則會炸裂。
56. 揮發性的溶劑極易燃燒，切勿靠近火焰，不溶於水的有機溶媒着火時，切勿用水滅火，以免更助長火勢蔓延。酒精、丙酮及冰醋酸均可溶於水，故可用水滅火。
57. 添加酒精燈中酒精時，必須將酒精燈完全熄滅後，方可添加。
58. 燒玻璃時，必須注意玻璃冷却很慢，非放置一段時間不可用手去摸，以防灼傷。
59. 切勿將燒熱的玻璃容器投入水中急速冷却。
60. 振盪分液漏斗時，應將其尖端朝下，以免戳傷鄰近之人，且由於所用的溶媒多易揮發，因此振盪數下，即應排氣一次。
61. 當直接加熱試管內物質時切勿將試管口對着自己或他人，爲了避免試管內溶液濺出，宜常旋轉振盪試管，以免局部過熱。
62. 當瓶蓋打不開時，可將瓶蓋在水槽邊上輕敲或用螺絲起子的把手輕敲瓶蓋，即可開啓，如仍無法打開，可用圖示之法敲擊之：



切勿將打不開瓶蓋的密閉容器加熱，以免爆炸。

63. 使用油壓式抽氣機抽真空時，應檢查被抽真空的容器有無裂痕，以免爆炸。對於玻璃容器更應以布或實驗衣包住，以減少萬一爆炸時之殺傷力。
64. 切勿用口吸取強酸、強鹼或有毒物質。
65. 凡爲有毒物質或致癌物質污染之儀器，桌面及其他處所，務請清除乾淨，以免危害他人健康。
66. 實驗所用的藥品的性質及毒性不明時，請事先查閱“Merck Index”以免發生危險。一般認爲細胞突變劑與起癌有關，茲將目前已知者列舉

於下：

- ① Furfurylamine (AF-2, 曾被用作食品防腐劑) 及其他 nitrofurans 衍生物。
 - ② 亞硝酸及鹽類 (常被用作肉類增色劑)。
 - ③ NaHSO_3 (常被用作水果褐變防止劑)。
 - ④ ethylene oxide。
 - ⑤ Captan。
 - ⑥ ethylene dibromide。
 - ⑦ heptachlor。
 - ⑧ Chlordane
 - ⑨ atrazine (常用作玉米除草劑, 經玉米吸收代謝後可生致癌物質)。
- [註] ④~⑨項常被用作農藥。
- ⑩ hyacinthone (曾被用作寄生蟲驅除劑)。
 - ⑪ DES (曾被用作避孕藥)。
 - ⑫ 氧化態染髮劑。
 - ⑬ 氯仿 (chloroform, 常為止咳藥水成分之一)。
 - ⑭ benzidine (常用作檢出 PPC 或 TLC 上醌類斑點)。
 - ⑮ β -Propiolactone (曾被用於消毒血漿及疫苗)。
 - ⑯ ethylene imine。
 - ⑰ 4-nitro biphenyl。
 - ⑱ 4-amino biphenyl。
 - ⑲ bis Chloromethyl 衍生物。
 - ⑳ vinyl chloride。
 - ㉑ 5-bromouracil。
 - ㉒ 石線粉末。
 - ㉓ 鎳粉。
 - ㉔ 鋅粉。

其他詳細情形請參看: C、E、Searle: Chemical Carcinogens