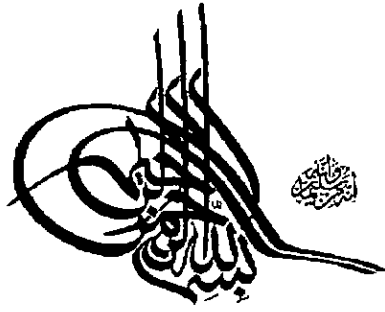




آنالیز ترکیبات بیولوژیک

تألیف

پروین شورنگ

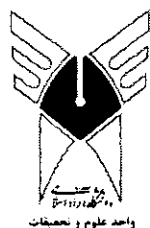
استادیار پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای
سازمان انرژی اتمی

علی اصغر صادقی

دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی
واحد علوم و تحقیقات تهران

مهدی امین افشار

استادیار دانشگاه آزاد اسلامی
واحد علوم و تحقیقات تهران



سرشناسه: صادقی، علی اصغر، ۱۳۵۴-

عنوان و پدیدآور: آنالیز ترکیبات بیولوژیک/ تألیف، علی اصغر صادقی، پروین شورنگ، مهدی امین افشار.

مشخصات نشر: تهران: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، ۱۳۹۰.

مشخصات ظاهری: ۵۳۷ صفحه.

شابک: 978-964-10-0299-4

وضعیت فهرست‌نویسی: فیا

یادداشت: ص.ع. به انگلیسی: Analysis of Biological Components

یادداشت: کتابنامه: ص. ۵۳۷-۵۳۳

موضوع: زیست شیمی تجزیه

موضوع: زیست شیمی تجزیه-دستنامه های آزمایشگاهی

شناسه افزوده: شورنگ، پروین، ۱۳۵۵-

شناسه افزوده: امین افشار، مهدی، ۱۳۵۷-

شناسه افزوده: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

رده‌بندی کنگره: ۱۳۹۰ ۲۱۸ص ۷/۱۹۵۱۹ QP

رده‌بندی دیویی: ۵۷۲/۳۶

شماره کتابشناسی ملی: ۲۶۴۴۶۳۴

نام کتاب

: آنالیز ترکیبات بیولوژیک

تألیف

: علی اصغر صادقی، پروین شورنگ، مهدی امین افشار

ناشر

: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

چاپ اول

: پاییز ۱۳۹۰

قیمت

: ۱۴۰۰۰۰ ریال

شمارگان

: ۳۰۰۰

شابک

: 978-964-10-0299-4

حق چاپ برای ناشر محفوظ است.

مرکز بخش: تهران، میدان پونک، انتهای بزرگراه اشرفی اصفهانی، به سمت حصارک، دانشگاه آزاد

اسلامی واحد علوم و تحقیقات، ساختمان علوم انسانی

تلفن: ۴۴۸۶۵۱۱۱ - ۰۲۱

فهرست مطالب

۱۳.....	پیشگفتار
۱۵.....	یادآوری نکات ایمنی در آزمایشگاه

فصل اول: محلول سازی

۲۱.....	محلول
۲۲.....	حلال
۲۴.....	غلظت
۲۶.....	درصد وزنی یا حجمی
۲۸.....	مولاریته
۳۳.....	تفسیر برچسب اسیدهای تجاری و تهیه محلول یک مولار از آنها
۳۳.....	تفسیر برچسب اسید کلریدریک
۳۴.....	تفسیر برچسب اسید نیتریک
۳۶.....	تفسیر برچسب اسید سولفوریک
۳۷.....	تفسیر برچسب اسید استیک
۳۸.....	مولالیه
۳۸.....	نرمالیه
۴۱.....	تهیه محلول با نرمالیه مشخص با استفاده از اسید غلیظ
۴۲.....	فرمالیه
۴۲.....	محلول ذخیره
۴۳.....	شیوه رقیق کردن یک محلول با غلظت معین
۴۳.....	محلول بافر
۵۲.....	بافرهای گود
۵۳.....	مواد معرف pH

فصل دوم: تکنیک‌های رایج آزمایشگاهی

۵۷.....	کروماتوگرافی
۵۹.....	کروماتوگرافی مایع با عملکرد زیاد (HPLC)
۵۹.....	اصول HPLC
۶۳.....	اجزای اصلی سیستم HPLC
۶۸.....	تزریق نمونه

۶۹	 ستون محافظ
۷۰	 ستون‌های HPLC
۷۲	 دتکتور
۷۷	 ثبات (رکوردر)
۷۹	 محاسبه وضوح (یا رزولوشن) اجزای یک نمونه جداشده با HPLC
۸۰	 کروماتوگرافی فاز نرمال و معکوس
۸۰	 گاز کروماتوگرافی
۸۳	 قسمت‌های اصلی گاز کروماتوگرافی
۸۴	 تأمین گاز و تنظیم کننده شدت جریان گاز
۸۵	 تزریق نمونه
۸۵	 ستون
۸۷	 دتکتور
۹۲	 تقویت کننده و ثبت کننده
۹۴	 شباهت‌های HPLC با GC
۹۴	 تفاوت‌های HPLC با GC
۹۶	 ژل فیلتراسیون
۹۹	 نمونه گذاری در ستون‌های کروماتوگرافی با ژل‌های مختلف
۱۰۰	 روش کار ژل فیلتراسیون
۱۰۷	 روش کروماتوگرافی بر اساس میل ترکیبی
۱۰۹	 مولکول‌های هدف
۱۱۰	 کروماتوگرافی جذب سطحی
۱۱۱	 کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)
۱۱۲	 کروماتوگرافی لایه نازک امروزی
۱۱۸	 اسپکتروفتومتری
۱۱۹	 اجزای اسپکتروفتومتر
۱۱۹	 منبع نور
۱۲۰	 کؤوت
۱۲۱	 شیوه کار با اسپکتروفتومتر
۱۲۱	 روش‌های خشک کردن نمونه
۱۲۲	 خشک کردن در هوا
۱۲۲	 خشک کردن در آون

۱۲۳	خشک کردن در آون متصل به خلاء
۱۲۳	خشک کردن با برودت (فریز درای)
۱۲۴	روش تعیین ماده خشک
۱۲۵	تبدیل مواد مغذی بر اساس ماده خشک
۱۲۶	روش های آنالیز مواد معدنی
۱۲۶	خاکستر خام
۱۲۸	فلایم فتومتری
۱۳۰	آماده کردن خاکستر برای آنالیز مواد معدنی
۱۳۱	اسپکتروفتومتر جذب اتمی

فصل سوم: آنالیز ترکیبات حاوی نیتروژن غیرپروتئینی

۱۳۳	روش تعیین پروتئین خام
۱۳۸	اشکالات روش کلدال
۱۴۰	تعیین کل نیتروژن در نمونه های حاوی نیترات
۱۴۱	اندازه گیری نیتروژن غیرپروتئینی
۱۴۳	تعیین قابلیت هضم درون شیشه ای
۱۴۶	روش تعیین محتوی نیتروژن محلول مواد خوراکی
۱۴۷	روش کالریمتریک برای تعیین اوره
۱۴۹	تعیین اوره به روشی دیگر
۱۵۲	تعیین مقدار اسیدهای آمینه: روش اکسیداسیون با اسید فرمیک
۱۵۸	تعیین آمونیاک به روش فنل-هیپوکلریت
۱۶۱	روش اندازه گیری کل نیتروژن فرار (TVN)

فصل چهارم: آنالیز پروتئین حقیقی

۱۶۳	مقدمه
۱۶۳	روش های تعیین مقدار پروتئین حقیقی
۱۶۴	روش قدیمی: گراویمتری
۱۶۵	روش کلدال
۱۶۷	روش های جذبی در طول موج فرابنفش
۱۶۸	روش اسپکتروفتومتری
۱۷۱	روش کریستین-واربرگ
۱۷۲	اسپکتروفتومتری: به شیوه دیگر
۱۷۳	اسپکتروفتومتری: به شیوه جذب در ۲۸۰ نانومتر

۱۷۸	اسپکتروفتومتری: به شیوه جذب در ۲۰۵ نانومتر
۱۷۹	روش ضریب extinction
۱۸۰	روش‌های رنگ‌سنجی
۱۸۰	آماده‌سازی نمونه مجهول
۱۸۱	متغیر بودن پروتئین با پروتئین دیگر
۱۸۳	مواد سازگار یا ناسازگار
۱۸۴	در نظر گرفتن زمان انجام واکنش
۱۸۹	روش بیورت
۱۹۴	بیورت: به روشی دیگر
۱۹۶	بیورت به روش گرنال و همکاران (۱۹۴۹)
۱۹۹	بیورت: به روشی دیگر
۲۰۰	بیورت: برای نمونه‌های حاوی پروتئین نامحلول
۲۰۱	روش لوری
۲۰۲	لوری: روش اول
۲۰۴	لوری: به روش دیگر
۲۰۶	لوری: به روشی دیگر
۲۰۷	لوری: روش تغییر یافته
۲۰۹	روش هارتری-لوری
۲۱۱	روش برادفورد
۲۱۵	روش ماکرو برادفورد
۲۱۷	شبه میکرو برادفورد
۲۱۹	روش میکرو برادفورد
۲۲۳	برادفورد تغییر یافته برای نمونه‌های کوچک
۲۲۳	روش اسمیت
۲۲۷	روش BCA: استاندارد
۲۲۷	روش BCA: روش میکرو
۲۲۸	روش هضم اسیدی-نین هیدرین
۲۳۲	روش بیوره
۲۳۴	روش فلورومتري

فصل پنجم: روش‌های تغلیظ و نگهداری پروتئین‌ها

۲۳۷	روش‌های استخراج پروتئین
۲۳۷	روش تری کلرواستیک اسید - استن
۲۳۸	روش فنل
۲۳۸	روش مولنی دترجنت
۲۳۹	روش کلرید پتاسیم
۲۴۰	روش MG/NP-40
۲۴۱	روش تغییر یافته تری کلرواستیک اسید - استن
۲۴۲	روش استن-تریس باز
۲۴۳	استخراج پروتئین از مواد خوراکی جهت انجام الکتروفورز
۲۴۳	روش‌های حذف مولکول و یون‌ها از محلول پروتئینی
۲۴۴	دیالیز
۲۴۵	آماده‌سازی کیسه دیالیز
۲۴۶	نگهداری از کیسه دیالیز
۲۴۷	روش دیالیز محلول حاوی پروتئین
۲۴۸	دیالیز ژل نمونه‌های پروتئینی
۲۴۹	ژل فیلتراسیون
۲۵۰	روش‌های تغلیظ پروتئین
۲۵۱	ته‌نشین سازی با تری کلرو استیک اسید (TCA)
۲۵۲	ته‌نشین سازی با سولفات آمونیوم
۲۵۳	ته‌نشین سازی با پلی اتیلن گلیکول
۲۵۴	روش دیالیز برای تغلیظ پروتئین‌ها
۲۵۴	خشک کردن با برودت یا لیوفیلیزه کردن
۲۵۵	پروتئین‌های غشایی و دیواره سلولی
۲۵۶	نگهداری پروتئین
۲۵۷	شرایط ذخیره‌سازی پروتئین
۲۵۸	ذخیره طولانی مدت پروتئین‌ها

فصل ششم: الکتروفورز پروتئین‌ها

۲۶۱	تاریخچه
۲۶۲	اصول
۲۶۹	الکتروفورز ژل پلی آکرلامید

۲۷۰	ویژگی‌های ژل پلی آکریلامید
۲۷۱	کاتالیزورهای پلیمریزاسیون
۲۷۲	اندازه منافذ ژل
۲۷۳	انتخاب کاتالیزور مناسب
۲۷۴	پلیمریزاسیون ژل
۲۷۵	سیستم بافری الکتروفورز
۲۸۰	سیستم الکتروفورز native-PAGE
۲۸۲	عوامل مؤثر بر واضح بودن باندها
۲۸۳	برآورد وزن مولکولی پروتئین‌ها
۲۸۴	شیوه تهیه بافر استخراج
۲۸۵	محلول استخراج پروتئین
۲۸۷	شیوه آماده کردن پلیت‌ها
۲۸۸	شیوه آماده سازی ژل پائینی
۲۸۹	شیوه آماده سازی ژل بالایی
۲۸۹	انجام الکتروفورز
۲۹۲	الکتروفورز: به روشی دیگر
۲۹۸	مشخص کردن و قابل مشاهده کردن باندهای پروتئین با رنگ آمیزی
۲۹۹	روش رنگ آمیزی کوماسی بریلینت بلو (CBB)
۳۰۰	محلول رنگ بری
۳۰۰	روش رنگ آمیزی کوماسی بلو (کلونیدی)
۳۰۲	روش رنگ آمیزی ایمیدازول-روی
۳۰۴	رنگ آمیزی نیترا ت نقره
۳۰۷	روش دیگر رنگ آمیزی نقره
۳۰۹	روش سریع رنگ آمیزی نقره
۳۱۰	رنگ آمیزی نقره برای ژل‌های دارای فیلم نگهدارنده
۳۱۱	روش اول رنگ آمیزی نیترا ت نقره (آمونیاکی)
۳۱۳	روش دوم رنگ آمیزی نیترا ت نقره (آمونیاکی)
۳۱۶	خشک کردن ژل
۳۱۶	تخمین وزن مولکولی
۳۲۱	ژل گرا دیان
۳۲۴	الکتروفورز اسنات سلولز

۳۲۶	ایزوالکتریک فوکوسینگ
۳۳۴	شیوه تعیین pH ایزوالکتریک پروتئین های نمونه
۳۳۵	ایزوالکتروفوکوسینگ با شیب های pH تثبیت شده (IPG)
۳۳۸	الکتروفورز دو بعدی
۳۴۲	قدرت تفکیک ژل های الکتروفورز دو بعدی
۳۴۳	جلوگیری از ایجاد رگه های افقی و عمودی
۳۴۳	دلایل بروز رگه های افقی و روش های جلوگیری از آن
۳۴۶	دلایل بروز رگه های عمودی و روش های جلوگیری از آن
۳۴۸	آنالیز تصویری
۳۴۹	مقدار اضافه کردن نمونه
۳۵۱	انتخاب شیب pH برای ایزوالکتروفوکوسینگ با IPG
۳۵۳	متعادل سازی بین بعدهای الکتروفورز

فصل هفتم: آنالیز کربوهیدرات ها

۳۵۵	مقدمه
۳۵۷	آزمون مولیش
۳۵۸	آزمون آنترون
۳۵۹	آزمون بندیکت یا فهلینگ
۳۶۱	آزمون بارفورد
۳۶۱	آزمون سیلوانف
۳۶۳	آزمون بیال
۳۶۴	آزمون لوگول
۳۶۴	آزمون تالن
۳۶۵	اثر اسید و باز بر قندها
۳۶۵	آزمون مور
۳۶۷	تعیین الیاف خام
۳۷۰	روش تعیین NDF یا ترکیبات دیواره سلولی
۳۷۳	روش تعیین دیواره سلولی بدون همی سلولز
۳۷۴	روش تعیین ADL
۳۷۵	روش تعیین ADIN
۳۷۶	روش تعیین لیگنین
۳۷۸	روش تعیین سلولز

۳۸۱	روش اندازه‌گیری گلوکز
۳۸۳	روش دیگر اندازه‌گیری گلوکز
۳۸۷	اندازه‌گیری کل نشاسته
۳۸۸	اصول روش مک‌کلیری
۳۹۵	روش آنزیمی برای تعیین فراهمی نشاسته
۳۹۸	روش تعیین نشاسته در مواد خوراکی، مواد هضمی و مدفوع
۴۰۱	اندازه‌گیری بتاگلوکان با روش مک‌کلیری
۴۰۸	تعیین مقدار بتاگلوکان جو و یولاف با روش Streamlined

فصل هشتم: آنالیز چربی‌ها و اسیدهای چرب

۴۱۳	مقدمه
۴۱۳	روش تعیین چربی خام یا عصاره‌اتری
۴۱۶	تعیین اسیدهای چرب
۴۱۸	تعیین اسیدهای چرب آزاد سرم یا پلاسما
۴۲۲	آنالیز اسیدهای چرب فرار
۴۲۵	روش تعیین انرژی خام چربی‌ها (بمب کالریمتر)

فصل نهم: آنالیز اسیدهای نوکلئیک

۴۲۹	روش‌های استخراج DNA
۴۲۹	استخراج DNA به روش جوشاندن
۴۳۰	استخراج DNA به روش فنل-کلروفرم همراه با پروتیناز k
۴۳۳	استخراج DNA به روش Salting out
۴۳۵	استخراج DNA از اسپرم
۴۳۶	شیوه تعیین کیفیت DNA
۴۳۶	شیوه نگهداری DNA استخراج شده
۴۳۷	اندازه‌گیری نیتروژن اسید نوکلئیک
۴۳۹	روش اندازه‌گیری پورین
۴۴۲	الکتروفورز DNA
۴۴۴	اندازه خلل و فرج ژل و طول DNA
۴۴۵	اثر ولتاژ
۴۴۶	ژل آگارز
۴۴۹	روش‌های آشکارسازی اسیدهای نوکلئیک
۴۴۹	روش انجام الکتروفورز افقی

۴۵۱	تهیه ژل آگارز و الکتروفورز محصولات PCR
۴۵۳	رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید و عکسبرداری از ژل
۴۵۳	تهیه ژل پلی آکریل آمید برای فرآورده‌های PCR
۴۵۵	بارگیری فرآورده‌های PCR و الکتروفورز آنها
۴۵۷	انواع روش‌های بلاتینگ

فصل دهم: واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

۴۶۱	مقدمه
۴۶۲	اصول و مبانی PCR
۴۶۴	مراحل PCR
۴۶۷	مواد مورد استفاده در PCR
۴۶۹	جزئیات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
۴۶۹	DNA مورد استفاده (الگو)
۴۷۰	طراحی پرایمر (آغازگر)
۴۷۲	دمای ذوب پرایمر
۴۷۴	غلظت پرایمرها و روش اندازه‌گیری
۴۷۴	اتصال پرایمر
۴۷۵	بسط پرایمر
۴۷۵	بافر PCR
۴۷۶	غلظت متیزیم
۴۷۶	دی اکسی نوکلئوزید تری فسفات‌ها
۴۷۷	آنزیم‌های پلی‌مرز
۴۷۸	DNA پلیمراز مقاوم به گرما
۴۷۹	غلظت آنزیم
۴۸۰	بازدارنده‌ها و تشدیدکننده‌های PCR
۴۸۱	آلودگی PCR
۴۸۱	اختصاصی بودن واکنش
۴۸۲	بهینه‌سازی واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز
۴۸۴	کاربردهای PCR
۴۹۰	مشکلات PCR
۴۹۱	انواع مختلف واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز
۴۹۱	PCR آشیانه‌ای

۴۹۱	PCR نامتقارن
۴۹۱	PCR با شروع داغ
۴۹۲	PCR چندگانه
۴۹۲	PCR کمی
۴۹۲	RT-PCR
۴۹۳	Touchdown PCR
۴۹۳	دستگاه ترموسایکلر
۴۹۴	برنامه ریزی دستگاه ترموسایکلر

فصل یازدهم: تعیین فعالیت آنزیم

۴۹۷	مقدمه
۴۹۷	اندازه گیری فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز
۵۰۲	روش استخراج آنزیم
۵۰۳	روش اندازه گیری فعالیت آلفا آمیلاز
۵۰۴	اندازه گیری فعالیت آلفا آمیلاز در محیط تخمیر میکروبی
۵۰۵	روش تعیین K_m و V_{max} آنزیم آلفا آمیلاز
۵۱۳	اندازه گیری زایلاناز
۵۱۵	روش استخراج
۵۱۵	روش اندازه گیری

فصل دوازدهم: سیستم واحدهای اندازه گیری

۵۱۷	مقدمه
۵۱۷	اجزای سیستم واحدها
۵۱۹	تاریخچه سیستم متریک
۵۲۲	سیستم بین المللی واحدها
۵۲۳	شیوه نوشتن واحدهای سیستم SI
۵۲۴	جداول تبدیل واحدهای اندازه گیری
۵۳۳	منابع مورد استفاده

به نام آنکه جان را فکرت آموخت

سپاس خداوند یکتا را که با اعطای قلم و نزول کتاب، بندگانش را به خواندن و نوشتن امر فرمود و به ما نیز این توفیق را عطا کرد تا بتوانیم با تألیف کتاب "آنالیز ترکیبات بیولوژیک" بخشی از وظیفه خود را تحقق بخشیده، دین خود را به جامعه علمی ادا کنیم. امید است با عنایت به این که لازمه تحقیق علمی در گرو اجرای آزمایش بنابر روش آزمایشگاهی صحیح است، این کتاب بتواند راهنمای خوبی برای پژوهش‌گران محترم و دانشجویان عزیز باشد.

مطالب مندرج در این کتاب دربرگیرنده سرفصل‌های درس بیوشیمی آزمایشگاهی، تکنیک‌های رایج آزمایشگاهی در علوم زیستی و تکنیک‌ها در پژوهش‌های تغذیه‌ای است که توسط شورای عالی برنامه‌ریزی برای دانشجویان کارشناسی، کارشناسی ارشد و دکتری رشته‌های علوم پایه، علوم زیستی، صنایع غذایی، علوم دامی و دامپزشکی تصویب شده است. ضمناً مطالب این کتاب طوری تنظیم شده است که برای پژوهش‌گران و دانشجویان سایر رشته‌های مرتبط با بیولوژی مفید باشد. کتاب حاضر در دوازده فصل شامل آشنایی با شیوه محلول‌سازی (فصل اول)، آنالیز مولکول‌های زیستی مختلف (فصل دوم تا یازدهم) و سیستم واحدهای اندازه‌گیری (فصل دوازدهم) ارائه شده است. امید است این کتاب برای کاربران و اساتید محترم درس‌های آزمایشگاهی مفید واقع شود. بدون شک ارتقاء سطح مطالب، ویرایش ادبی و افزودن گزینه‌های جدید به کتاب حاضر با ارسال نظرات ارزنده کاربران میسر خواهند بود، لذا از همکاران عزیز خواهشمند است نظرات، انتقادات و پیشنهادات خود را به پست الکترونیکی a.sadeghi@srbiau.ac.ir ارسال نمایند.