

高等医药院校实验课程教材

# 生物化学与分子生物学 实验指导


主 编 李 林

副主编 张悦红

张宇辉

汪远金

33

 人民卫生出版社

05-33  
26

高等医药院校实验课程教材

# 生物化学与分子生物学 实验指导

**主 编 李 林**

**副主编 张悦红 张宇辉 汪远金**

**编 者** (以姓氏笔画排序)

王惠珍(山西医科大学)

汪远金(安徽中医学院)

刘利兵(第四军医大学)

张宇辉(白求恩军医学院)

李 林(白求恩军医学院)

张悦红(山西医科大学)

李云峰(白求恩军医学院)

赵建滨(山西医科大学)

李芳芳(河北医科大学)

覃秀桃(山西医科大学)

人 民 卫 生 出 版 社

### 图书在版编目(CIP)数据

生物化学与分子生物学实验指导/李林主编. —北京:  
人民卫生出版社, 2004. 7

ISBN 7-117-06287-8

I. 生… II. 李… III. ①生物化学-实验-医学  
院校-教学参考资料②分子生物学-实验-医学院校-  
教学参考资料 IV. ①Q5-33②Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 055146 号

### 生物化学与分子生物学实验指导

主 编: 李 林

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 67616688)

地 址: (100078)北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: <http://www.pmph.com>

E-mail: [pmph@pmph.com](mailto:pmph@pmph.com)

印 刷: 北京人卫印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 12

字 数: 267 千字

版 次: 2004 年 7 月第 1 版 2004 年 7 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-06287-8/R·6288

定 价: 19.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究  
(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

# 前 言

---

20 世纪 70 年代以来, 分子生物学技术完成了创建、成熟与普及过程, 使生命科学步入了迅猛发展、日新月异的崭新阶段。生物化学与分子生物学是 21 世纪生命科学的领头学科, 其理论与基本实验技术已广泛渗透并常规应用于生命学科各个领域。以基因工程为核心的现代生物技术, 奇迹般地形成了一个遥遥领先的高新技术群, 它正以其巨大的活力推动着社会生产力的进步, 展示着惊人的发展潜力和极其广阔的应用前景。

学习和掌握生物化学与分子生物学的基本实验技术不仅是医学生的必备能力, 更是实施创新教育的重要手段。

为了使医学生不仅能够系统地学习和掌握生物化学与分子生物学的基本实验技能, 而且能够通过实验教学达到创新性教育的目的, 我们组织了几所院校有丰富教学经验并热心于教学改革的教师们编写了这本实验教材。我们对生物化学与分子生物学的基本实验内容进行了精心选择和取舍, 根据教学目的进行合理组合, 以力求使本教材体例新颖、内容实用、注重创新, 体现素质教育和能力培养, 争取得到同行和学生们的认可。

本教材分为三个部分。第一部分共六章, 系统地介绍了生物化学与分子生物学的主要技术理论, 包括分光光度技术、电泳技术、层析技术、离心技术、生物大分子制备技术和分子生物学基本技术。第二部分为生物化学与分子生物学教学实验, 由 25 个实验项目和学生设计性实验组成。我们认为, 实验教学的一个重要使命在于其服务性, 即服务于学科基础理论, 服务于科研实践, 服务于素质教育的实施。为此, 我们根据不同的教学目标, 本着由浅入深、循序渐进、注重创新的原则, 将实验内容进行了全新的组合。分为: ①理论验证试验。着重验证学科理论教学内容, 突出实验教学与理论知识的密切联系, 加深对理论知识的理解。②基本技术实验。即通过实验操作, 使学生掌握基本实验技能。③综合强化实验。即一个实验中包含着几个内容, 要运用几种不同的技术才能完成一个完整的实验, 以此来进一步强化训练学生的综合实验技能。④学生设计性实验。训练学生自定题目、自选方案、自查文献、自行设计实验, 有条件时可以进行具体验证。以此培养学生的创新意识、动手能力和基本科研能力, 有利于全面素质的提高。第二部分的实验内容可根据不同教学层次和对对象酌情选用。本教材的第三部分为生物化学与分子生物学常用数据及资料, 供学习、工作中查阅参考。

本教材由主编拟定大纲, 各作者分工编写, 集体审阅、讨论, 定稿, 是各位同仁精诚合作、辛勤劳动的共同结果。由于主编能力水平所限, 在最终统稿时没能整体提高全书水平, 尽管编写人员尽了很大努力, 仍难免出现疏漏、错误及种种不妥之处, 敬望广大师生提出宝贵意见。

在本书的编写过程中,得到了解放军白求恩军医学院各级领导及山西医科大学程牛亮副校长的大力支持和具体指导;山西医科大学实验中心张栋老师在本书插图的绘制和整理方面作了大量工作,在此一并表示诚挚的谢意。

李 林

2004年5月于白求恩军医学院

# 目 录

## 第一篇 生物化学与分子生物学基本技术

<b>第一章 分光光度技术</b> .....	3
<b>第一节 基本原理</b> .....	3
一、光的一般知识 .....	3
二、发射光谱与吸收光谱 .....	4
三、朗伯-比尔(Lambert-Beer)定律 .....	4
<b>第二节 分光光度计的结构</b> .....	5
一、光源 .....	5
二、分光系统(单色光器) .....	6
三、狭缝 .....	6
四、吸收池(比色杯) .....	7
五、检测系统 .....	7
<b>第三节 分光光度技术的应用</b> .....	7
一、用于溶液中物质的定量测定 .....	7
二、用于溶液中物质的定性测定 .....	8
<b>第四节 常用分光光度计的使用</b> .....	8
一、722型分光光度计的使用 .....	8
二、752型分光光度计的使用 .....	8
<b>第二章 电泳技术</b> .....	10
<b>第一节 基本原理</b> .....	10
一、电泳的概念 .....	10
二、电泳的主要影响因素 .....	11
<b>第二节 常用的电泳技术</b> .....	12
一、纸电泳和醋酸纤维素薄膜电泳 .....	12
二、琼脂糖凝胶电泳 .....	12
三、聚丙烯酰胺凝胶电泳 .....	13
四、等电聚焦电泳 .....	15
五、核酸的特殊电泳 .....	16
<b>第三章 层析技术</b> .....	18
<b>第一节 层析的基本知识</b> .....	18
一、层析的概念 .....	18
二、层析法分类 .....	18
<b>第二节 离子交换层析</b> .....	19

一、基本原理 .....	19
二、离子交换剂的结构与分类 .....	21
三、基本实验步骤 .....	22
第三节 凝胶层析 .....	25
一、基本原理 .....	25
二、常用凝胶 .....	26
三、凝胶层析实验步骤 .....	29
四、凝胶层析的应用 .....	29
第四节 亲和层析 .....	30
一、基本原理 .....	30
二、基本实验步骤 .....	31
第五节 吸附与分配层析 .....	32
一、吸附层析 .....	32
二、分配层析基本原理 .....	33
三、纸层析 .....	34
第六节 高效液相色谱 .....	35
一、基本概念 .....	35
二、分类 .....	35
三、基本装置及操作 .....	35
<b>第四章 离心技术 .....</b>	<b>37</b>
第一节 基本原理 .....	37
一、离心力 .....	37
二、沉降系数 .....	37
三、沉降速度 .....	38
四、沉降时间 .....	38
第二节 基本装置及分离方法 .....	38
一、基本装置 .....	39
二、离心方法 .....	40
三、普通教学用离心机的使用方法 .....	42
<b>第五章 生物大分子制备技术 .....</b>	<b>43</b>
第一节 细胞破碎及细胞器分离 .....	43
一、细胞破碎 .....	43
二、细胞器的分离 .....	44
第二节 分离与纯化 .....	44
一、蛋白质(包括酶)的分离与纯化 .....	44
二、核酸的分离与纯化 .....	45
第三节 提纯后的处理 .....	48
一、样品的浓缩 .....	48
二、样品的干燥及贮存 .....	49
<b>第六章 分子生物学基本技术原理 .....</b>	<b>50</b>
第一节 核酸分子杂交 .....	50

一、核酸分子杂交的基本理论 .....	50
二、核酸探针 .....	51
三、核酸探针标记 .....	52
四、核酸分子杂交的种类与方法 .....	55
<b>第二节 DNA 克隆技术基本原理 .....</b>	<b>57</b>
一、获取目的基因 .....	57
二、构建基因载体 .....	59
三、限制性核酸内切酶的作用 .....	61
四、DNA 分子重组 .....	61
五、重组 DNA 分子导入宿主细胞 .....	63
六、阳性重组体的筛选和鉴定 .....	63
七、克隆基因的表达 .....	64
<b>第三节 聚合酶链反应(PCR) .....</b>	<b>64</b>
一、基本原理与方法 .....	64
二、PCR 技术的应用 .....	66
<b>第二篇 生物化学与分子生物学教学实验</b>	
<b>第七章 理论验证实验 .....</b>	<b>71</b>
实验一 蛋白质等电点的测定 .....	71
实验二 蛋白质的沉淀反应 .....	73
实验三 几种理化因素对酶活性的影响 .....	76
实验四 琥珀酸脱氢酶的竞争性抑制作用 .....	79
实验五 碱性磷酸酶米氏常数的测定 .....	81
实验六 运动对尿乳酸含量的影响 .....	85
实验七 酮体的生成和利用 .....	87
实验八 血清丙氨酸氨基移换酶(ALT)活性测定(赖氏法) .....	90
<b>第八章 基本技术实验 .....</b>	<b>94</b>
实验九 酚试剂法测定血清蛋白质含量(改良 Lowry 法) .....	94
实验十 紫外分光光度法测定蛋白质含量 .....	97
实验十一 血清 HDL-胆固醇的测定 .....	99
实验十二 胡萝卜素的柱层析分离 .....	101
实验十三 肌肉组织氨基移换作用(纸层析法) .....	103
实验十四 离子交换层析法分离氨基酸 .....	106
实验十五 预染血清脂蛋白琼脂糖凝胶电泳 .....	108
实验十六 血清蛋白质醋酸纤维素薄膜电泳 .....	112
实验十七 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定蛋白质分子量(SDS-PAGE) .....	115
实验十八 人血清载脂蛋白 C 多态性的测定——聚丙烯酰胺凝胶等电聚焦法 .....	119
实验十九 细胞核的分离与纯化 .....	122
<b>第九章 综合强化实验 .....</b>	<b>124</b>
实验二十 激素对血糖浓度的影响 .....	124



实验二十一 血清 $\gamma$ -球蛋白的分离纯化及鉴定 .....	127
实验二十二 核酸的制备及测定 .....	131
实验二十三 分子克隆技术基本实验 .....	136
一、质粒 DNA 的提取(碱裂解法分离纯化) .....	136
二、限制性内切酶对质粒 DNA 的酶切作用 .....	137
三、DNA 的琼脂糖凝胶电泳 .....	139
四、感受态细菌的制备及质粒 DNA 的转化 .....	140
实验二十四 核酸的分子杂交 .....	143
实验二十五 聚合酶链反应体外扩增 DNA(PCR) .....	145
<b>第十章 学生设计性实验 .....</b>	<b>147</b>
<b>第一节 设计性实验概述 .....</b>	<b>147</b>
一、设计性实验的概念 .....	147
二、科技创造成功的影响因素 .....	147
三、医学科学研究的类型和医学实验的要素 .....	149
四、学生设计性实验的基本程序 .....	149
<b>第二节 学生设计性实验的选题和设计 .....</b>	<b>150</b>
一、设计性实验的选题 .....	150
二、实验设计 .....	151
<b>第三节 数据的记录与处理 .....</b>	<b>153</b>
一、实验研究的观察记录 .....	153
二、实验数据的处理 .....	154
<b>第四节 实验报告的撰写 .....</b>	<b>155</b>
一、撰写实验报告的意义 .....	155
二、实验报告的内容与格式 .....	155
<b>第三篇 生物化学与分子生物学常用资料及数据</b>	
<b>第十一章 实验室规则 .....</b>	<b>161</b>
<b>第十二章 生化实验特点及注意事项 .....</b>	<b>162</b>
一、玻璃仪器的清洗 .....	162
二、塑料器皿的清洗 .....	162
三、特殊污物的清洗 .....	162
四、吸量管的使用 .....	163
五、枪式定量移液器的使用 .....	163
六、溶液的混匀 .....	164
七、溶液的加热、保温及冷却 .....	164
八、血液的采取及常用的抗凝剂 .....	164
<b>第十三章 试剂的配制 .....</b>	<b>166</b>
一、一般化学试剂的分级 .....	166
二、试剂配制的一般注意事项 .....	166
三、易变质及需要特殊方法保存的试剂 .....	167
四、实验室常用酸碱试剂的比重和浓度 .....	167

---

五、常用酸碱标准液的配制 .....	168
六、重铬酸洗液的配制与再生 .....	169
<b>第十四章 常用酸碱指示剂 .....</b>	<b>170</b>
<b>第十五章 常用缓冲液配制表 .....</b>	<b>172</b>
<b>第十六章 常用层析基质 .....</b>	<b>174</b>
一、离子交换纤维素 .....	174
二、聚丙烯酰胺凝胶的技术数据 .....	174
三、琼脂糖凝胶的技术数据 .....	175
四、凝胶过滤层析介质的技术数据 .....	175
五、离子交换层析介质的技术数据 .....	177

# 第一篇

生物化学与分子生物学

基本技术



# 第一章

## 分光光度技术

利用各种化学物质(原子、基团、分子及高分子化合物)所具有的发射光、吸收光或散射光谱谱系的特征来确定其性质、结构及含量的技术,称为光谱光度分析技术,或分光光度技术。此项技术广泛应用于各个学科领域,在生物化学与分子生物学领域内,尤其是对于物质的定性及定量测定,是一项十分重要的技术。本章主要介绍吸收光谱分析技术。

### 第一节 基本原理

#### 一、光的一般知识

光是由光量子组成的。一束光就是大量光子的聚合,称为光子流。光具有二重性,即连续的波动性和不连续的微粒性。光的波动性体现为波长和频率,如下式所示:

$$\lambda = \frac{c}{\nu}$$

$\lambda$  为波长,具有相同振动相位的相邻两点之间的距离为波长。 $c$  为光速,等于  $299\,770 \pm 4\text{km/s}$ 。 $\nu$  为频率,即每秒钟振动次数。上式表明:光的波长与频率成反比,波长愈短,频率愈高;波长愈长,则频率愈低。光的微粒性是以光子的能量值为特征的。光子的能量与光的波长成反比,而与频率成正比,即不同波长与频率的光具有不同的能量。

光属于电磁波。自然界中存在着各种不同波长的电磁波,见表 1-1 所列。人的眼睛所能感觉到的光的波长是由  $400\text{nm}$  的紫色到  $760\text{nm}$  的红色,在这段波长以外的光不能为

表 1-1 电磁波谱

区域	波长	来源
$\gamma$ 射线	$10^{-3} \sim 0.1\text{nm}$	原子核
X 射线	$0.1 \sim 10\text{nm}$	内层电子
远紫外	$10 \sim 200\text{nm}$	中层电子
紫外	$200 \sim 400\text{nm}$	外层价电子
可见	$400 \sim 760\text{nm}$	外层价电子
红外	$0.76 \sim 50\mu\text{m}$	分子振动与分子转动
远红外	$50 \sim 1\,000\mu\text{m}$	分子振动与分子转动
微波	$0.1 \sim 100\text{cm}$	分子转动
无线电波	$1 \sim 100\text{m}$	核磁共振

肉眼所见。因此,将 400nm ~ 760nm 之间的光波称为可见光。200nm ~ 400nm 为紫外线,短于 200nm 为远紫外线。长于 760nm 为红外线。分光光度法所使用的光谱范围一般在 200nm ~ 10 000nm 之间。

## 二、发射光谱与吸收光谱

### (一) 发射光谱

发光体发出的光,透过三棱镜后所表现出的光谱称为发射光谱。发光体可以是日光灯、氩灯、钨灯等,亦可为原子与分子燃烧时所发出的光。不同的发光体各有其独特的发射光谱,根据发射光谱可以鉴别发光体的性质及组分,也可采用不同发射光谱的发光体作为仪器的光源;例如利用钨灯作为可见光区分光光度计的光源,氩灯作为紫外光区分光光度计的光源。

### (二) 吸收光谱

当一定光源所产生的发射光透过含有某种物质的溶液时,其光谱会发生改变。某些波长的光因被溶液中的物质所吸收而消失了,此时的光谱即为该物质的吸收光谱。

物质的吸收光谱与其结构、性质有关。不同的物质由于其分子结构不同,对不同波长的光的吸收能力也不相同,每种物质都具有其独特的吸收光谱。溶液对单色光吸收能力的强弱与其物质浓度有关。因此,利用吸收光谱可以对各种不同物质进行定性和定量分析,其理论依据是 Lambert-Beer 定律。

## 三、朗伯-比尔(Lambert-Beer)定律

朗伯-比尔定律是比色分析的基本原理。

当光线透过溶液时,由于溶液吸收了一部分光能,透过光的强度就要减弱(图 1-1)。

不同物质的溶液对于不同波长的光的吸收程度是不同的,它只对某一个或某几个波长的光吸收最强,这是分子的结构特性所决定的。溶液所呈现的颜色,是该溶液吸收最少而透过最多的那部分波长光线的颜色;其透过光谱中的暗带部分则是该溶液吸收最多而透过最少的那部分波长的光线,即该溶液的特征吸收波长。根据这一现象,在对待测溶液进行定量测定时,应选择该溶液吸收最强的单色光作为入射光,才能保证良好的灵敏度。

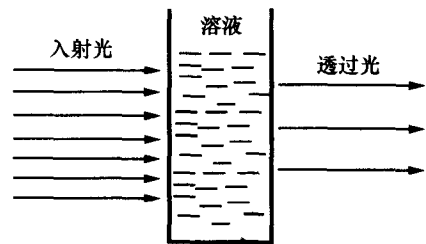


图 1-1 溶液对光的吸收

当单色光透过溶液后,透过光强度的减弱程度与溶液的浓度和厚度(光在溶液中经过的路径)有关。若溶液的浓度不变,则溶液的厚度愈大,光强度的减弱就愈显著。此关系可用公式表示。设入射光强度为  $I_0$ ,透过光强度为  $I_t$ ,溶液液层厚度为  $L$ ,则  $I_t/I_0$  就称为透光度(transmittance),用  $T$  表示,即透射光强度与入射光强度之比。透光度随溶液厚度的增加而减小,但二者之间不是严格的比例关系;透光度的负对数( $-\lg T$ )则随溶液厚度的增加而成比例增加。即:

$$-\lg T = -\lg \frac{I_t}{I_0} = \lg \frac{I_0}{I_t} \propto L$$

整理上式得:

$$\lg \frac{I_0}{I_t} = K_1 L$$

式中  $\lg \frac{I_0}{I_t}$  称为吸光度(A), 又称为消光度(E)或光密度(D)。整理上式得式(1):

$$A = K_1 L \quad (1)$$

此式表明了溶液吸光度与液层厚度的关系, 即当溶液的浓度保持不变时, 吸光度(A)与液层厚度(L)成正比。 $K_1$  为比例系数, 表示物质对光之吸收特性, 其值与溶液的性质和浓度、入射光波长及溶液温度有关。

此外, 若溶液的厚度保持不变, 则溶液的浓度愈大, 对光的吸收愈多, 吸光度(A)就愈大, 即吸光度与溶液浓度成正比。其定量关系如式(2):

$$A = K_2 C \quad (2)$$

C 为溶液浓度,  $K_2$  为比例系数, 其值取决于入射光波长、溶液性质、液层厚度及溶液的温度。

若同时考虑液层厚度和溶液浓度对光吸收的影响, 则将(1)、(2)式合并, 得式(3):

$$A = KLC \quad (3)$$

即吸光度与溶液浓度和液层厚度的乘积成正比, 这就是朗伯-比尔定律。式(3)中 K 为常数, 当 L 为定值时, A 与 C 成正比。

若式中 L 用 cm 表示, C 用 g/L 表示, 则 K 称为吸光系数, 其值大小取决于入射光的波长、溶液的性质和温度, 而与光的强度、溶液浓度及液层厚度无关。

## 第二节 分光光度计的结构

能从含有各种波长的混合光中将每一种单色光分离出来, 并测量其波长及强度的仪器称为分光光度计。通过分析经溶液吸收后的透射光强度而鉴定物质的性质和含量的检测仪器, 属于吸收光谱分光光度计。

分光光度计因使用的波长范围不同而分为紫外光区、可见光区、红外光区和万用(全波长)分光光度计。分光光度计的基本组成结构为: 光源、分光系统(单色光器)、狭缝、吸收池(样品池、比色杯)及检测系统(图 1-2)。

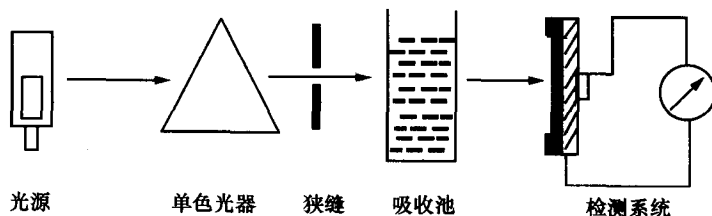


图 1-2 分光光度计结构示意图

### 一、光源

不同的光源发出的光的波长范围是不相同的。理想的光源应能提供所需波长范围的

连续光谱,稳定,有足够的强度。常用的有白炽灯(钨灯、卤钨灯)、气体放电灯(氢灯、氘灯等)、金属弧灯(汞灯)等。

可见光的连续光谱可由钨灯、卤钨灯发射,其最适工作范围为 360 ~ 1 000nm,稳定性好,光亮均匀。紫外线的连续光谱由氢灯、氘灯发射,波长为 150 ~ 400nm,可作为紫外光区分光光度计的光源。由于玻璃吸收紫外线,所以氢灯泡壳用石英制作。红外线光源由纳恩斯特(Nernst)棒产生,此棒由  $ZrO_2: Y_2O_3 = 17: 3$  (Zr: 锆, Y: 钇),或  $Y_2O_3, GeO_2$  (Ge: 锗),  $ThO_2$  (Th: 钍)之混合物制成。

## 二、分光系统(单色光器)

分光系统的作用是将混合光波分解为单一波长的光,即单色光。单色光器由棱镜或光栅构成。

棱镜可使光波发生折射。当光波经过棱镜时,其折射率因光的波长而不同。波长愈短的光折射率愈大(图 1-3),波长愈长的光折射愈小,由此形成光谱。由棱镜产生的光谱谱线,由紫外线端到红外线端,愈来愈密。棱镜可由玻璃制成,折射率愈大的玻璃分光性能愈好。但因玻璃吸收紫外线,因此玻璃棱镜只适合于可见光区,而石英棱镜在紫外光区有较好的分辨率,也适用于可见光区和近红外光区。

衍射光栅也是常用的单色光器(图 1-4),即在石英或玻璃表面上刻画许多平行线,刻线处不透光,如由无数平行狭缝所组成的屏。来自光源的光经狭缝照射到光栅上,由于衍射的结果,光不仅沿着原来的方向传播,而且发生偏折。不同波长的光的折射角度不同,从而达到了分光的目的,形成光谱。采用光栅作为分光系统,能获得比棱镜分光更纯的单色光。

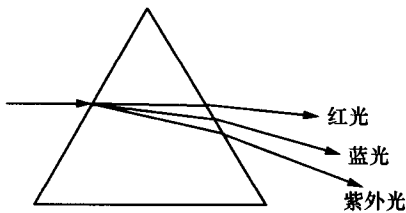


图 1-3 棱镜分光器

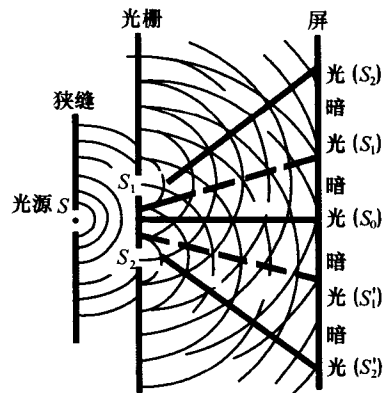


图 1-4 衍射光栅作用示意图

## 三、狭 缝

狭缝是由一对隔板在光路中形成的缝隙,其作用是调节入射的单色光的强度和纯度。狭缝愈狭窄所包含的光谱范围愈小,光的纯度愈好,但光强度却会减弱。使用时只能使狭缝在保证一定光亮度的情况下尽可能小,一般可在 0 ~ 2nm 宽度内调节。有些分光光度计的狭缝宽度可随波长一起被调节。



## 四、吸收池(比色杯)

比色杯用以盛装待测溶液,一般由玻璃、石英或萤石制成。当光波透过比色杯时,会发生一定的反射或被玻璃吸收;因此,各个比色杯的制作材质、规格及壁厚度等,应尽可能保持一致,否则将产生测定误差。玻璃比色杯只适用于可见光区,在紫外光区测定时要用石英杯。

## 五、检测系统

检测系统包括受光器和测量器两部分。

受光器有光电池和光电管两种,由特殊金属制成。这些金属能在光的照射下产生电流,光线愈强所产生的电流就愈大。因光的照射而产生的电流,成为光电流,此即为光电效应。

光电池的组成种类很多,最常见的是硒光电池。硒是半导体,受到光照后产生电流,光照愈强,光电流愈大,可直接用微电流计进行测量。当光电池受到长时间的连续照射后,会产生疲劳现象而使光电流降低,以致造成测量误差,这时需在暗中放置一段时间后才能恢复。因此在使用时要注意随用随关,不要长时间照射,以免光电池疲劳。

光电管有阴极与阳极。阴极由光敏感金属(多为碱土金属的氧化物)制成,当光波照射到阴极且达到一定的能量时,金属原子中的电子即发射出来。光愈强,光波的振幅愈大,电子放出的愈多,被吸引到阳极上就产生电流。但这种电流很小,常需要放大线路来增强电流,以便于测量。分光光度计中常用电子倍增光电管,以产生比其它光电管大得多的电流,提高测定的灵敏度。

测量器为一微电流计,以其特定方式记录了光电流强度,并转化及输出检测结果。

## 第三节 分光光度技术的应用

### 一、用于溶液中物质的定量测定

根据朗伯-比尔定律,当液层厚度一致时,溶液的吸光度与其浓度成正比。两种不同溶液的吸光度之比等于它们的浓度之比,以已知浓度的标准液的吸光度为参照,与待测溶液的吸光度进行比较,即可求出待测溶液的浓度。在测定时一定注意使用等同的比色杯,此时标准液与待测液的  $L$  值相等。计算公式如下:

$$\frac{A_x}{A_s} = \frac{KC_xL}{KC_sL} = \frac{C_x}{C_s}$$

即

$$C_x = \frac{A_x}{A_s} \times C_s$$

式中  $C_x$  为待测液浓度,  $C_s$  为标准液浓度,  $A_x$  为待测液吸光度值,  $A_s$  为标准液吸光度值,  $C_x$  由公式求出。

在日常工作中,也可用标准液在同一条件下作一系列不同浓度下的吸光度,绘制成标准曲线,用待测溶液的吸光度值就可从标准曲线上查找出相对应的浓度。