

医用生物化学实验

YIYONG SHENWU HUAXUE SHIYAN

主 编 黄大鹏 李建端
张菊娥 王树立



46.1

中国医药科技出版社

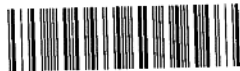
94
R446.1
3
2

X117418

高等医药院校教材

医用生物化学实验

主编	黄大鹏	李建端	张菊娥	王树立
审阅	油书恒	杨云虹	魏重琴	
编者	(以姓氏笔划为序)			
	王秀彦	王明臣	王俊萍	邢陆伟
	陈廷华	杨予安	李良晨	范云霞
	金国平	侯卫红	张现超	张旭
	赵勤	赵卫星	张岚	黄郁
	崔景彬	单杰		



3 0147 0360 1

中国医药科技出版社



B

993826

登记证号(京)075号

医用生物化学实验

主编 黄大鹏 李建端 张菊娥 王树立

审阅 油书恒 杨云虹 魏重琴

中国医药科技出版社 出版发行
(北京西直门外北礼士路甲38号, 邮政编码100810)
郑州市南五里堡印刷厂印刷

开本787×1092mm¹/ 13印张
字数300千字 印数: 1—1000册
1992年10月第1版 1992年10月第1次印刷
ISBN 7-5067-0701-21R·0623

定价: 6.60元



内 容 简 介

生物化学是现代生物学领域中发展十分迅速的学科之一，它不仅使生物学进入分子水平、也大大推动了现代医学的发展。生物化学实验方法和技术是生物化学发展的先决条件，也是医学科学研究的重要手段。高等医学院校学生不仅要掌握生物化学的基本理论，同时也应认真掌握生化实验的原理和技术。

本书主要根据卫生部颁发的《生物化学教学大纲》（草案）和《高等医学院校五年制医学专业学生基本技能训练项目》（草案）的有关要求并结合我校生化教学经验和条件编写而成。包括联系课堂理论的实验和具有代表性的临床生化测定方法。完成本书的教学将使学生加深对生物化学理论的理解和认识，基本掌握医学科学研究所必需的生化技术和方法，为毕业后从事医学临床和实验研究打下坚实的基础。

本书系统阐述了生化基本技术理论，如电泳、层析、比色分析等，并对一些实验的有关知识作了附注；还选录了实验室一些常用参数表，故不仅是一本实用的生化实验指导，也可作为医学实验技术的工具书。

本书是河南医科大学生物化学教研室全体同志多年来教学辛勤劳动的结晶。郭成才、苗健、关琰、陈本懋等教授曾给予许多有益的指导。由于我们的业务水平所限，编写时间仓促，因此本书难免有些缺点、错误和遗漏。我们诚恳希望读者给予批评指正。

编 者

一九九三年元月

目 录

第一篇 生化技术概述

第一章 吸光光度法	(1)
一、原理.....	(1)
二、光电比色法.....	(4)
三、分光光度法.....	(6)
四、计算.....	(12)
五、荧光分析法.....	(12)
第二章 层析法	(17)
一、吸附层析.....	(17)
二、分配层析.....	(19)
三、离子交换层析.....	(20)
四、凝胶层析.....	(22)
五、亲和层析.....	(24)
第三章 电泳法	(25)
一、原理.....	(25)
二、影响电泳的主要因素.....	(26)
三、区带电泳的分类.....	(27)
四、几种电泳简介.....	(28)
第四章 离心法	(32)
一、分级离心法.....	(32)
二、密度梯度离心法.....	(33)
三、电动离心机的使用.....	(34)
附：离心机转速与离心力的换算.....	(36)
第五章 放射性同位素技术	(37)
一、基本知识.....	(37)
二、射线的探测.....	(40)
三、放射性同位素的优缺点.....	(42)
第六章 生物大分子实验技术	(43)
一、盐析.....	(43)
二、透析和超滤.....	(45)

三、减压浓缩和冷冻干燥.....	(46)
第七章 生化实验样品的制备.....	(48)
一、血液样品.....	(48)
二、尿液样品.....	(49)
三、组织样品.....	(49)
第八章 基本技能训练.....	(51)
一、玻璃仪器的洗涤.....	(51)
二、常用仪器的使用.....	(52)
三、容量仪器的校正.....	(57)
第九章 数据处理与实验报告.....	(62)
一、实验误差与数据处理.....	(62)
二、产生误差的原因和校正.....	(64)
三、实验报告书写.....	(65)

第二篇 生物化学实验

蛋白质

实验一 蛋白质的变性与沉淀.....	(66)
一、蛋白质的盐析.....	(67)
二、重金属盐及某些酸类沉淀蛋白质.....	(68)
三、加热沉淀蛋白质.....	(69)
四、乙醇沉淀蛋白质.....	(70)
实验二 蛋白质含量的Folin-酚法测定.....	(72)
附注：蛋白质的定量分析.....	(74)
实验三 微量凯氏(Kjeldahl)定氮法.....	(75)
实验四 血清蛋白质的定量.....	(81)
一、总蛋白测定(双缩脲法).....	(81)
二、血清蛋白溴甲酚绿比色测定法.....	(84)
三、血清球蛋白乙醛酸比色测定法.....	(85)
实验五 血清蛋白质醋酸纤维薄膜电泳.....	(87)
实验六 血清蛋白质聚丙烯酰胺凝胶电泳.....	(89)
附：聚丙烯酰胺电泳快速分离人血清蛋白质.....	(93)

核 酸

实验七 细胞核的分离与核酸的检定.....	(96)
一、细胞核的分离与纯化.....	(96)
二、核糖核酸的测定.....	(98)
三、脱氧核糖核酸的测定.....	(100)

实验八	动物肝DNA的提取和定量	(103)
实验九	酵母RNA的分离及组分鉴定	(106)
	附注:测定组织核酸含量的方法简评	(108)
实验十	^3H 胸苷参入核酸的实验	(109)

酶

实验十一	温度对酶促反应速度的影响	(111)
	附注:不同温度条件下体液酶的稳定性	(112)
实验十二	PH对酶促反应速度的影响	(113)
实验十三	激动剂及抑制剂对酶活性的影响	(114)
	附注:酶的激动剂与抑制剂	(115)
实验十四	可逆性抑制剂对酶促反应速度的影响	(116)
实验十五	蔗糖酶的专一性	(120)
实验十六	过氧化氢酶米氏常数的测定	(122)
	附注:米氏常数的意义及应用	(124)
实验十七	血清乳酸脱氢酶同工酶的测定	(126)
实验十八	血清谷丙转氨酶的活性测定(改良 Mohun 法)	(128)
	附注:1. 酶活力的意义及测定方法	(130)
	2. 测定血清谷丙转氨酶活性方法简介	(131)
实验十九	碱性磷酸酶的提取及比活性测定	(132)
	附注:酶的提取及纯化应注意的问题	(136)
实验二十	精氨酸酶的作用	(138)

糖

实验二十一	糖的滤纸层析	(140)
	附注:层析用滤纸和溶剂选择	(141)
实验二十二	肝糖元的提取和定量	(142)
	附注:饱食与饥饿对肝糖原含量的影响	(144)
实验二十三	血糖浓度测定	(146)
	一、血清葡萄糖邻甲苯胺(O-TB)法测定	(146)
	二、血清葡萄糖氧化酶(GOD)法测定	(147)

脂类

实验二十四	血清甘油三酯测定	(151)
	一、分溶抽提乙酰丙酮显色法	(151)
	二、酶法测定(一步终点比色法)	(153)
实验二十五	血清总胆固醇及高密度脂蛋白胆固醇含量的测定(酶法)	(155)
	附注:血清胆固醇含量测定方法的简评	(156)
实验二十六	血清脂蛋白琼脂糖凝胶电泳	(158)
	附注:血清脂质及脂蛋白测定的临床意义	(159)

实验二十七 肝脏的生酮作用..... (161)

生物氧化

实验二十八 乳酸脱氢酶及其辅酶..... (163)

附注: 酶蛋白与小分子物质的分离方法..... (164)

实验二十九 细胞色素氧化酶的作用及其抑制与解毒..... (165)

维生素

实验三十 胡萝卜素的色层分析..... (167)

实验三十一 维生素 B₁ 的定性 (荧光法)..... (169)

实验三十二 还原型维生素 C 的定量测定及其影响因素..... (170)

附注: 测定维生素 C 的方法比较..... (172)

其它

实验三十三 血清尿素氮 (BUN) 测定..... (173)

一、二乙酰-脲显色法..... (173)

二、脲酶-波氏比色法..... (174)

实验三十四 血浆二氧化碳结合力 (CO₂CP) 测定..... (176)

附注: CO₂CP 的测定方法简述..... (177)

实验三十五 血清钾钠测定-火焰光度法..... (178)

附注: 火焰光度法基本原理..... (181)

实验三十六 尿中异常成分的定性..... (184)

一、尿中酮体的定性测定 (Lange 法)..... (184)

二、尿糖的定性测定 (班氏试剂法)..... (185)

三、尿蛋白定性 (磺基水杨酸法)..... (187)

附注: 正常人尿液成分..... (188)

附录

§ 1. 常用缓冲液的配制方法..... (189)

§ 2. 常用酸碱指示剂..... (193)

§ 3. 化学试剂纯度分级表..... (195)

§ 4. 实验室常用酸碱比重和浓度..... (195)

§ 5. 元素原子量表..... (196)

§ 6. 哺乳类实验动物的血清生化值..... (197)

§ 7. 几种食物中一般营养成分表 (可食部分每百克中的含量)..... (198)

§ 8. 生化实验须知..... (200)

§ 9. 仪器使用管理制度及实验仪器单..... (201)

第一篇 生化技术概述

第一章 吸光光度法

吸光光度法是基于物质对不同波长的光波具有选择性吸收而建立起来的分析方法。包括可见及紫外分光光度法以及红外光谱法等。本章重点讨论可见光区的吸收分光光度法，并简单介绍紫外吸收分光光度法和荧光分析法。

一、原理

(一)、光吸收基本定律

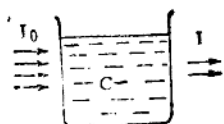


图 1—1 光吸收示意图

当一束平行单色光照射到任何均匀、透明的溶液时，光的一部分被吸收，一部分透过溶液，一部分被器皿的表面反射（图 1—1）如果入射强度为 I_0 ，吸收光的强度为 I_a ，透过光的强度为 I_t ，反射光的强度为 I_r ，则

$$I_0 = I_a + I_t + I_r \quad (1)$$

在吸光光度法中，测量时采用同样质料比色皿，反射光强度基本不变，影响互相抵消，于是（1）式可简化为

$$I_0 = I_a + I_t \quad (2)$$

透过光强度 I_t 与入射光强度 I_0 之比称为透光度或透光率，用 T 表示。

$$T = \frac{I_t}{I_0} \quad (3)$$

溶液的吸光度越大，说明对光的吸收越小；相反，透光度越小，则溶液对光的吸收越大。

1. 朗伯 (Lambert) 氏定律

设有一束平行单色光，通过液层厚度为 b 的均匀透明溶液，如将液层分成无限小的相等的薄层，其厚度为 db ，又设照射在薄层上的光强度为 I ，当光通过薄层后，光强度减弱为 $-dI$ ，则 $-dI$ 应与 db 及 I 成正比，即

$$-dI = K_1 dbI \quad -\frac{dI}{I} = K_1 db \quad (1)$$

假定入射光强度为 I_0 ，透过光强度为 I_t ，将(1)式积分，得

$$-\int_{I_0}^{I_t} \frac{dI}{I} = K_1 \int_0^b db$$

$$-(\ln I_t - \ln I_0) = K_1 b$$

$$\ln \frac{I_0}{I_t} = K_1 b$$

$$\lg \frac{I_0}{I_t} = 0.4343 K_1 b$$

令 $K_2 = 0.4343 K_1$ ，则

$$\lg \frac{I_0}{I_t} = K_2 b \quad (2)$$

式中 K_2 为吸光系数。

上式表明，入射光与透过光强度之比的对数 $\lg \frac{I_0}{I_t}$ ，即透光度倒数的对数 $\lg \frac{1}{T}$ 与液层

厚度成正比。若用“ A ”表示 $\lg \frac{I_0}{I_t}$ 或 $\lg \frac{1}{T}$ ，则

$$A = \lg \frac{I_0}{I_t} = \lg \frac{1}{T} = K_2 b \quad (3)$$

A 称为吸光度(亦称光密度 $O.D$ 或消光度 E)。

吸光系数 K_2 与入射光波长、溶液性质、浓度和温度有关。

由朗伯氏定律可知，当入射光的波长，吸光物质的浓度和溶液的温度一定的，溶液的吸光度与液层厚度成正比。

2. 比耳(Beer)氏定律

同理，当一束平行单色光通过液层厚度一定的均匀透明溶液时，溶液中吸光质点浓度增加 dc ，则入射光通过溶液后减弱 $-dI$ 。因此， $-dI$ 应与 I 及 dc 成正比，即：

$$-dI = K_3 I dc$$

$$-\frac{dI}{I} = K_3 dc$$

按(2)式同样推导，不难得出

$$\lg \frac{I_0}{I_t} = K_4 C$$

$$\text{或 } A = \lg \frac{I_0}{I_t} = K_4 D \quad (4)$$

比耳氏定律表明：当入射光的波长、液层厚度和溶液温度一定时，溶液的吸光度与溶液浓度成正比。

如果要求同时考虑溶液浓度 C 和液层厚度 b ，可将 (3) 式 (4) 式合并得

$$A = I_0 \frac{I}{I_0} = Kbc \quad (5)$$

式 (5) 即为朗伯一比耳定律的物理表达式。K 为吸光系数，它与入射光波长，物质的性质和溶液的温度有关。

在液层厚度 b 一定的情况下，吸光度与溶液中溶质浓度 (c) 呈正比 (图 1-2)。

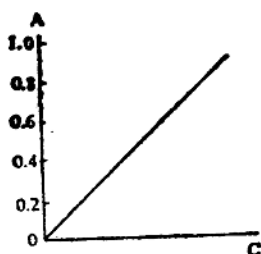


图 1-2 吸光度与溶液浓度的关系

K 值随 c 、 b 所用的单位不同而不同，当 c 以克/升，液层厚度 b 以厘米表示时，常数 K 以 a 表示，称为吸光系数，单位为升/克·厘米。若 c 用摩尔、 b 用厘米表示，则常数 K 用 ϵ 表示，称为摩尔吸光系数或称克分子消光系数，单位为升/摩尔·厘米。它表示物质浓度为 1 摩尔/升，液层厚度为 1 厘米时溶液的吸光度。 ϵ 越大，表示该物质对某波长光的吸收能力越强，比色测定的灵敏度就越高。因此在作比色测定时，通常选择具有最大 ϵ 值的波长作为 λ 射光。

(二)、偏离朗伯一比耳定律的原因

在吸光度分析中，通常固定溶液的厚度不变，然后用比色计或分光光度计测量一系列标准溶液的吸光度。根据朗伯一比耳定律

$$A = Kbc = K' C$$

即吸光度与被测物质的浓度成正比。因此以吸光度为纵坐标，浓度为横坐标作图时，应得到一条通过原点的直线。此直线称为标准曲线或工作曲线。一条理想的标准曲线应是斜率接近于 1 且通过原点的直线，其范围应在被测物浓度的一半到二倍之间，吸光度在 0.05—1.0 之间。但在实际工作中经常发现标准曲线不成直线的情况。特别是浓度较高时，明显可见曲线向浓度轴弯曲 (个别情况向吸光度轴) 弯曲。这种情况称偏离朗伯一比耳定律。引起偏离的原因有：

1. 由于非单色光引起的偏离

严格地说，朗伯一比耳定律只适用于单色光，但实际上目前各种方法所得到的入射光都混有其它波长的杂光，因而导致这种偏离。

2. 由于溶液本身的原因所引起的偏离

(1) 由于介质的不均匀性引起的偏离

当被测物是胶体溶液、乳浊液或悬浮物质时，入射光通过溶液后，除了一部分被溶液吸收外，还有一部分因散射现象而损失，因而实测吸光度增加，导致偏离。

(2) 由于溶液中的化学反应所引起的偏离

溶液中的吸光物质常因离解，缔合形成新的化合物或发生结构互变，从而使待测物的浓度发生改变。其结果必然导致偏离朗伯一比耳定律。

为此，在进行比色和分光光度分析中，得到一条好的标准曲线是十分重要的。它既可以指示测定是否偏离朗伯一比耳定律，又可指示待测物符合朗伯一比耳定律的浓度范围，以保证得到准确可靠的实验结果。

(三) 比色法与分光光度法的特点

比色和分光光度法主要用于测定微量组分，它们的特点是：

1. 灵敏度高。是测定物质微量组分（ $1-10^{-3}\%$ ）的常用方法，甚至可测定 $10^{-4}\sim 10^{-5}\%$ 的痕量组分。

2. 准确度较高。一般比色法的相对误差为 $5-10\%$ ，分光光度法为 $2-5\%$ ，如采用精密的分光光度计测量，相对误差减少至 $1-2\%$ 。

3. 应用广泛，在无机、有机和生化领域里的许多物质都可以直接或间接用比色法和分光光度法进行测定。

4. 操作简便、快速、仪器设备也不复杂。

二、光电比色法

利用溶液颜色深浅来测定溶液中物质含量的方法称比色法。若用光电池和滤光片进行比色分析，则称光电比色法。光电比色法的条件是在可见光范围，并要求测定物为有色物，或经过一定的化学处理，使无色物转变成有色物，使其所处的溶液转变成有色液。再行比色。

(一)、仪器介绍

光电比色计种类很多，一般均由光源、滤光片、比色皿、光电池和检流计等五个部件构成（图1-3）。下面主要介绍国产581-G型光电比色计的结构。

1. 光源：以稳压器供给直流电，以6.3V白灼钨丝灯泡作为光源，波长在 $400\sim 2500\text{nm}$ 。通常都备有聚光镜，使光源发出的光成为平行光束，通过比色皿。

2. 滤光片，不同物质的有色溶液，对不同波长的可见光有选择性吸收，一种溶液只对某一波长的光有最大吸收。因此，滤光片的作用是使有色溶液吸收最大的那部分光通过，其余波长的光被滤光片吸收。

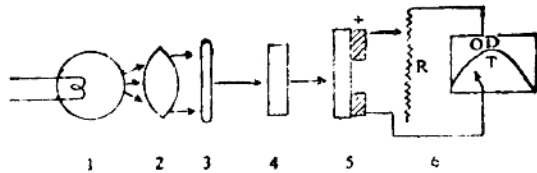


图1-3 光电比色计结构模式图

1.光源 2.透镜 3.滤光片 4.比色皿 5.光电池 6.检流计
T: 透光度 OD: 光密度

581-G型光电比色计配有的滤光片为玻璃滤光片。它由各种有色玻璃制成，半宽度通常在 60nm 以上。一般配有三块滤光片（红、绿、蓝）最大透过波长分别为 650 、 530 和 440nm 。常用滤光片还有夹胶滤光片，半宽度约为 $30-40\text{nm}$ ，干涉滤光片，半

宽度为10nm。半宽度就是滤光片透过峰 1 / 2 高度处的宽度；半宽度越小，透过的单色光就越纯。每一滤光片上就标有最大透光率的波长。

测定时，为了获得被测有色液的最大吸收，应选用与被测液互为补色的滤光片。表 1—1 可供选择滤光片时参考。

表 1—1 待测溶液和选用滤光片的对应关系

溶液的颜色	滤光片的颜色	滤光片通过的光波长 (nm)
绿色带黄	青紫	400~435
黄	蓝	435~480
桔红	蓝色带绿	480~490
红	绿色带蓝	490~500
紫	绿	500~560
青紫	绿色带黄	560~580
蓝	黄	580~595
蓝色带绿	桔红	595~610
绿色带蓝	红	610~750

有些溶液的颜色一时难以确定，可用各种颜色的滤光片测定它的光密度值，选择获得最大光密度值的滤光片。

3. 比色皿：比色皿是由无色透明、耐腐蚀的玻璃制成的，一般为长方形。厚度相同的比色皿之间的透光率相差应小于0.5%。比色皿必须保持十分干净，注意保护其透光面，不要用手指直接接触。

4. 光电池：比色计中常用的是硒光电池，它是由三层物质构成的薄片。表层是导电性能良好的可透光金属（如金、铂、银或镉）薄膜，中层是具有光电效应的半导体材料硒，底层是铝或铁片。在一定的光强度范围内，光电流大小与照射光强度成正比。硒光电池具有较高的光电灵敏度，每流明光通量可产生100~200uA电流，故可用微电流计测量。但是由于它内阻较小，不能用一般直流放大器放大，因此不适用十分微弱的光测量。光电池受强光照射或连续使用会出现光电池“疲劳”现象，使用时应予以注意。

硒光电池对不同波长的光的灵敏度是不同的。其感光光波范围是300~800 nm，但以500~600nm最为灵敏。（图 1—4）

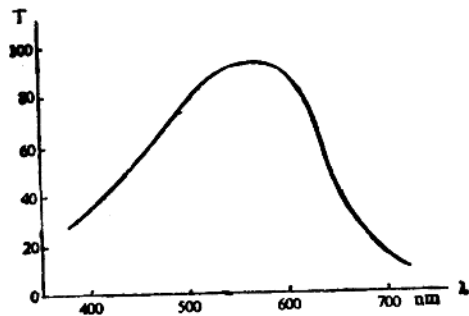


图 1—4 硒光电池对光的敏感度特性
T: 透光度 λ: 波长

5. 检流计: 581-G型光电比色计采用悬镜式光点反射检流计。其灵敏度为 10^{-7} 安培/格。使用时应防止震动和大电流通过, 以免悬丝扭断。仪器不使用时, 必须断开检流计开关。

在检流计标尺上, 有百分透光率 $T\%$ 和吸光度 A 两种刻度(图 1-5), 由于 $A = -\lg T$, 因此吸光度 A 的标尺刻度是不均匀的。

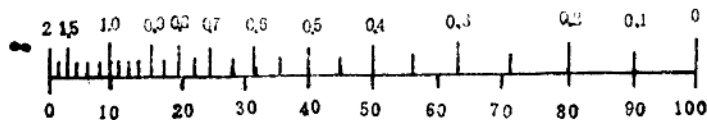


图 1-5 吸光度和透光率的关系

(二)、操作方法

1. 将光电比色计置于背光而平稳之台面上, 按规定接上电源, 拨开关使其指向“1”, 预热10分钟。旋转零点调节器, 使读数盘上亮圈中黑线位于透光度“0”或吸光度“ ∞ ”处。然后选择适当的滤光片插座中。

2. 取清洁比色皿(只能拿毛玻璃面)分别盛装空白、对照及测定液约 $3/4$ 容积, (皿外如有液珠, 必须用软滤纸擦拭), 分别放入比色槽内。

3. 将空白或对照皿置于光路上, 再将开关拨向“2”的位置。依次利用粗调节及细调节改变电阻, 使读数盘上亮圈中黑线恰好位于透光度“100”或吸光度“0”处。

4. 移动比色槽使测定皿置于比色位置, 读数盘上亮圈发生移动, 等光圈移动停止后, 立即读记亮圈黑线所指的吸光度读数。并重复一次以求准确。

5. 读数结束, 应先将开关拨回到“1”后, 再进行第二次比色。

6. 比色结束后, 将开关拨回“0”位, 拔去电源, 取出比色皿并及时清洗(切忌用毛刷刷洗), 倒置凉干。

三、分光光度法

(一)、分光光度法特点

分光光度法的基本原理与光电比色法相同。但分光光度法采用棱镜或光栅等分光器, 比使用滤光片能获得纯度较高的单色光(半宽度 $5 \sim 10\text{nm}$)而且其入射光的范围也扩大了, 并在一定范围内可连续选用各种不同波长的光用于比色。分光光度法的主要特点是:

1. 由于入射光是纯度较高的单色光, 因此分光光度法可以得到十分精确而细致的吸收光谱曲线。不同物质有不同的吸收光谱曲线。通过选择最合适的波长进行测定, 可使偏离朗伯一比耳定律的情况大为减少, 标准曲线的直线范围扩大, 分析结果的灵敏度和准确度都要高于光电比色法。

2. 由于可任意选取某一波长的单色光, 在一定条件下, 利用吸光度的加和性, 可同时测定溶液中两种和两种以上的组分。

3. 由于入射光的波长范围(200~1000nm)扩大了,故许多无色物质,只要它们在紫外线或红外光区内有适当的吸收峰,均无须进行显色处理,可进行直接测定。不仅简化了测定手续,而且标本无耗损。

用于分光光度分析的仪器可分为三类,一是可见分光光度计,二是紫外一可见分光光度计;三是红外分光光度计。紫外及可见分光光度计主要用于无机物和有机物含量的测定,红外分光光度计主要用于结构分析。下面着重介绍可见分光光度计及紫外一可见分光光度计的结构及使用。

(二)、分光光度计的部件介绍

分光光度计种类很多,但无论那一类均由光源、单色器、吸收池、受光器和检流装置等几部分组成。但不同波长范围的组成部件的制作材料是不同的。

1. 光源

光源必须具有稳定的,足够强度的连续光谱。光亮均匀,能通过聚光镜而成为平行光。可见光光源通常为白灼钨光,其光谱范围为320~2500nm。紫外光常以低压汞弧灯为光源。为透过紫外光,汞弧灯具石英窗。其光谱范围为180~375nm。

为了保证光源的稳定,常配有稳压电源,汞弧灯需经预热,故需配制开关管控制的专用稳压器。

2. 分光系统

分光系统又称单色器,是一种将混合光波分解为单一波长的装置。其主要部件是棱镜或光栅。棱镜是利用光的折射现象来获得连续光谱的一种装置。可见光范围内使用的棱镜系用特制玻璃制成,玻璃的折射率越大,其分光性能越好。用于紫外光的棱镜系用石英材料制成。棱镜的形状也很多,国产751型紫外一可见分光光度计系采用利特罗棱镜(图1-6)。

3. 吸收池

吸收池又名比色杯、吸收皿,是用以盛装测定液。按容量或光程的不同有多种规格,常用的为10mm吸收池。玻璃吸收池用于可见光范围内的测定,石英吸收池主要用于紫外光测定,也可用于可见光范围。

吸收池制造工艺精细,配对吸收池其透光率相对偏差小于0.5%,一般应固定仪器使用。特别是石英吸收池应倍加爱惜,注意维护。

4. 受光器

受光器的主要作用是接受透射光信号,将光能转换成电能。分光光度计中的受光器主要是光电管和光电倍增管。721型,751型分光光度计均以光电管为光接受器。由光电管产生的光电流较小,故仪器都具有放大装置。

光电管的结构见图1-7,它是由一个阳极和一个阴极构成的真空二极管,阴极为一半圆金属筒,内表面镀有适当的光电发射材料。阳极为金属电极,一般为镍环或镍

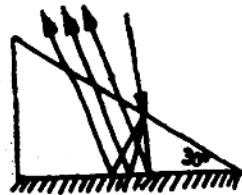


图1-6 利特罗棱镜

片。当光照射到阴极上时，即发射电子，如这时光电管两极加上电压，则有电流通过。不同波长范围内使用的光电管，其阴极光电发射材料也不同。铯铷阴极为紫敏光电管，使用范围为200~625nm；银氧化铯阴极材料为红敏光电管，使用范围为625~1000nm。国产751型分光光度计同时具有紫敏和红敏光电管，分别用于紫外及可见光范围内的分析。

5. 检流装置

分光光度计的检流装置是一种放大读数系统。光电流经放大器放大后可有二种读数方法，一是直接读数法，即直接由电流计指示读数，如国产721型。二是补偿读数法（即零位读数法），即用密电位器补偿放大精电流的变化，从电位器上的刻度读数，电流计只作指示用，如国产751型。

（三）721型分光光度计的结构与使用

1. 结构

721型是一种可见分光光度计，其光谱范围为360~800nm。所有部件均在一部主机里操作方便，灵敏度高。图1—8和图1—9是其外观和光学系统示意图。

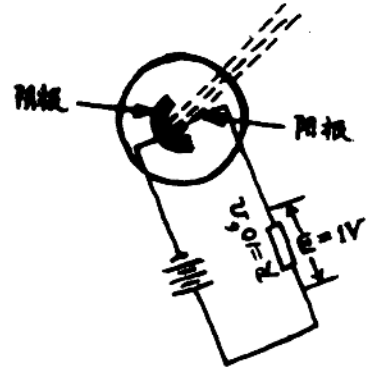


图1—7 光电管的构造和作用原理

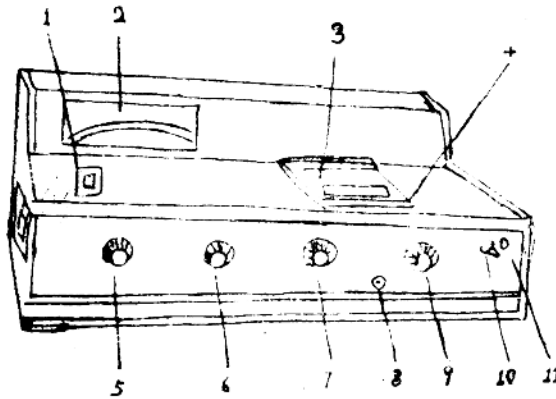


图1—8 721型分光光度计外形

- | | | |
|-----------|----------|-----------|
| 1. 波长读数窗 | 2. 电表 | 3. 比色器暗箱盖 |
| 4. 光电按门 | 5. 波长旋钮 | 6. 零位调节旋钮 |
| 7. 光量调节旋钮 | 8. 比色皿拉杆 | 9. 灵敏度旋钮 |
| 10. 开关 | 11. 指示灯 | |

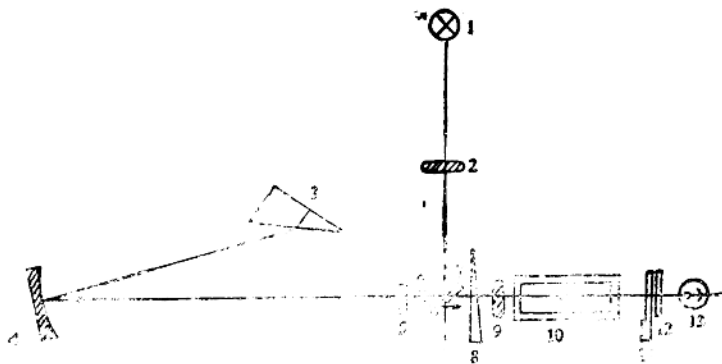


图 1—9 721型分光光度计结构示意图

- 1.光源灯 2.透镜聚光 3.色散棱镜 4.准直镜 5.保护玻璃 6.狭缝
7.反射镜 8.光栅 9.聚光透镜 10.比色杯 11,12.光门 13.光电管

721型以12V、25W白灼钨灯为光源，经透镜聚光后射入单色器；经棱镜色散，反射到准直镜，穿狭缝得到波长范围很窄的光波作为入射光进入比色杯；透出光被光电管接收；产生电流，再经放大器放大，可直接读出吸光度。

2. 使用

(1) 在仪器未接通电源时，电表指针必须位于“0”刻度。必要时可用电表上的校正螺丝调至“0”（一般已校正）。

(2) 接通电源，打开比色皿暗箱盖（此时光门关闭），使电表指针处于“0”位，预热20分钟。

(3) 用波长调节旋钮“λ”选择需用波长。

(4) 用调“0”电位器校正电表“0”位。

(5) 盖上比色皿暗箱盖（此时光门打开），旋转光量调节器“100”，使电表指针准确指向100%T，如不能调到“100%T”，表示光量小，可调节灵敏度选择开关。通常用“1”档，这时可改用“2”档或“3”档再调式。重复操作（4）、（5），连续几次调整“0”和100%T，仪器即可工作。

(6) 将盛有空白、对照、测定液的比色皿置于比色皿架中，放入比色皿暗箱中的正确位置，先把空白或对照置于光路，盖好比色皿暗箱盖，调节电表指针至100%T。

(7) 拉动比色皿架拉杆，使待测管进入光路，可从电表中直接读数吸光度（或光密度）值。

(8) 使用完毕，注意切断电源，取出比色皿，关上比色皿暗箱盖，并及时清洗比色皿。倒置凉干。

注意：为防止光电管疲劳，在读数的间隙时间里，应打开暗箱盖，关闭光门。避免光电管持续曝光。

(四)、751型分光光度计的结构和使用

1. 结构与工作原理