



GAODENG XUEXIAO ZHUANYE JIAOCAI

• 高等学校专业教材 •

[高校教材]

生物化学实验

(工科专业适用)

李明元 唐 洁 主编
车振明 主审

BIOCHEMICAL EXPERIMENT



中国轻工业出版社

高等学校专业教材

生物化学实验

(工科专业适用)

李明元 唐 洁 主编

车振明 主审

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物化学实验 / 李明元, 唐洁主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2008. 7

高等学校专业教材. 工科专业适用

ISBN 978-7-5019-6430-7

I. 生… II. ①李…②唐… III. 生物化学 - 实验 - 高等学校 - 教材 IV. Q5 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 062789 号

责任编辑: 张 靓 责任终审: 张乃柬 封面设计: 锋尚设计

版式设计: 王超男 责任校对: 杨 琳 责任监印: 胡 兵 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 利森达印务有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2008 年 7 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 10.25

字 数: 184 千字

书 号: ISBN 978-7-5019-6430-7/Q · 053 定价: 22.00 元

读者服务部邮购热线电话: 010-65241695 85111729 传真: 85111730

发行电话: 010-85119845 65128898 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社读者服务部联系调换

80075J4X101ZBW

编写人员

主 编 李明元 唐 洁

主 审 车振明

编写人员 (按姓氏笔画为序)

李玉锋 李明元 杨 潇

张大凤 赵金梅 唐 洁

蒙 英

前 言

生物化学是生命科学领域中最活跃的分支学科之一，其实验方法和技术是生物化学发展的重要组成部分。掌握生物化学实验的基本原理和操作技术，对包括食品科学与工程、制药工程、环境工程等专业在内的工程专业的学生是必不可少的，而且对于培养学生的科学精神、科研及实际工作能力、分析问题与解决问题的能力等都是非常重要的。本教材是在西华大学“生物化学（工科）”省级精品课程建设的基础上，邀请同行专家集体编写而成。在精选实验项目上体现了以下教学目的：

第一，生物化学实验基本操作技能的训练，如生化实验中常用仪器的使用、生物物质的分离、纯化、分析技术等。通过这些实验，使学生掌握生物化学的基本操作技术，为后续课程的实验、毕业论文以及将来的科研和实际工作打好基础。

第二，基础生物化学实验的掌握，如糖、蛋白质、核酸等的性质实验、代谢实验，分子生物学基础实验等内容。通过这些实验，使学生加深对课堂知识的理解，进一步掌握生物物质的特点和规律，以及在工业生产中的应用。

第三，综合运用知识能力的培养。为适应素质教育、创新教育的需要，本教材在传统生物化学实验的基础上，增加了综合性、设计性实验的内容，在教师的指导下，由学生根据已有知识，自己设计实验方案，尝试自己分析实验结果，进一步培养学生的综合能力、分析与设计能力、逻辑思维能力。

第四，工程意识和工程能力的培养。突出工科专业特点是本教材的特色与亮点，我们在实验项目的选择、实验材料与预处理方法的确定、结果与数据处理等方面，尽可能结合相关工业生产的实际问题，理论联系实际，在培养基本技能的同时，培养学生解决实际工程问题的能力，潜移默化地强化学生的工程意识。

本教材由西华大学李明元、唐洁两位老师共同主编，李玉锋、张大凤、杨潇、赵金梅、蒙英编写了部分内容，全书由车振明教授审稿。西华大学生物工程学院领导对本教材的出版给予了大力支持，中国轻工业出版社也做了大量工作，在此一并致谢。本教材在编写过程中参考了许多优秀的生物化学实验指导书，特别是一些经典实验的内容均选自参考书籍，对原书作者深表感谢。

本教材可供工程类的生物工程、食品科学与工程、环境工程、轻化工程等工科专业作为本科生物化学实验课教材，也可供其他专业的学生、相关专业的研究生和工程技术人员参考。

由于编者水平有限，书中错误和不足之处在所难免，敬请广大读者批评指正。

编者

2008 年 3 月于西华大学

目 录

第一章 概论	(1)
第一节 实验室基本常识	(1)
一、生物化学实验室安全与防护常识	(1)
二、生物化学实验的基本要求	(2)
第二节 生物化学实验基本操作	(6)
一、实验室常用仪器的使用	(6)
二、生物化学的分离、纯化、分析技术概述	(15)
第二章 基础生物化学实验	(20)
第一节 生命物质化学实验	(20)
实验 1 糖的呈色反应和定性鉴定	(20)
实验 2 植物中还原糖和总糖的测定——3, 5 - 二硝基水杨酸比色法	(23)
实验 3 种子粗脂肪的提取	(26)
实验 4 血清胆固醇的测定——磷钼铁法	(28)
实验 5 纸层析法分离鉴定氨基酸	(30)
实验 6 谷物种子中赖氨酸含量的测定	(32)
实验 7 蛋白质的性质实验	(34)
实验 8 蛋白质含量测定——双缩脲法、考马斯亮蓝法、紫外分光光度法	(41)
实验 9 血清蛋白的醋酸纤维薄膜电泳	(46)
实验 10 正交法测定几种因素对酶活力的影响	(48)
实验 11 枯草杆菌蛋白酶活力测定	(52)
实验 12 脲酶 K_m 值的简易测定	(54)
实验 13 细胞色素 c 的制备及测定	(57)
实验 14 核酸含量的测定	(61)
实验 15 维生素 A 的测定——比色法	(68)
第二节 生命物质代谢实验	(70)
实验 16 脂肪酸的 β - 氧化	(70)

实验 17 多酚氧化酶的纯化和活力测定	(72)
实验 18 酪蛋白的制备	(73)
实验 19 SDS - PAGE 电泳测定蛋白质相对分子质量	(75)
实验 20 胰岛素和肾上腺素对血糖浓度的影响	(80)
实验 21 肝糖原的提取与鉴定	(82)
第三节 核酸化学实验	(84)
实验 22 离子交换柱层析分离核苷酸	(84)
实验 23 酵母 RNA 的提取及组分鉴定	(89)
实验 24 DNA 的琼脂糖凝胶电泳	(91)
实验 25 质粒 DNA 的微量提取、纯化	(94)
实验 26 植物中 DNA 的提取	(100)
实验 27 聚合酶链式反应	(101)
第三章 综合性实验	(105)
实验 28 血清 γ - 球蛋白的分离、纯化与鉴定	(105)
实验 29 酪氨酸酶的提取及其酶促反应动力学研究	(110)
实验 30 固定化酵母细胞及蔗糖酶的检测	(116)
实验 31 发酵过程中无机磷的利用和 ATP 的生成 (ATP 的生物合成)	(118)
实验 32 兔抗人血清抗体的制备和效价测定	(120)
实验 33 有机废水的 COD 测定	(122)
第四章 设计性实验	(125)
实验 34 蛋白质的制备及其含量的测定	(125)
实验 35 茶叶中茶多酚类物质的提取与含量测定	(126)
实验 36 天然产物中多糖的提取、纯化与鉴定	(127)
实验 37 蛋白质的表达、分离、纯化和鉴定	(129)
附录	(135)
一、试剂配制的一般注意事项	(135)
二、玻璃仪器的洗涤方法	(136)
三、实验样品的准备	(138)
四、常用缓冲液的配制	(141)
五、实验室中常用参数	(145)
参考文献	(151)

第一章 概 论

第一节 实验室基本常识

一、生物化学实验室安全与防护常识

1. 实验室安全

在生物化学实验中，经常要与有腐蚀性、易燃、易爆性和毒性很强的化学药品及有潜在危害性的生物材料直接接触，经常要用到煤气、水、电，因此，安全操作是一个至关重要的问题。

(1) 熟悉实验室煤气总阀、水阀门及电闸门所在处。离开实验室时，一定要将室内检查一遍，应将水、电、煤气的开关关好。

(2) 熟悉如何处理着火事故。在可燃液体燃着时，应立刻转移着火区内的一切可燃物质。酒精及其他可溶于水的液体着火时，可用水灭火；乙醚、甲苯等有机溶剂着火时，应用石棉布或沙土扑灭。

(3) 了解化学药品的警告标志（如图1所示）。

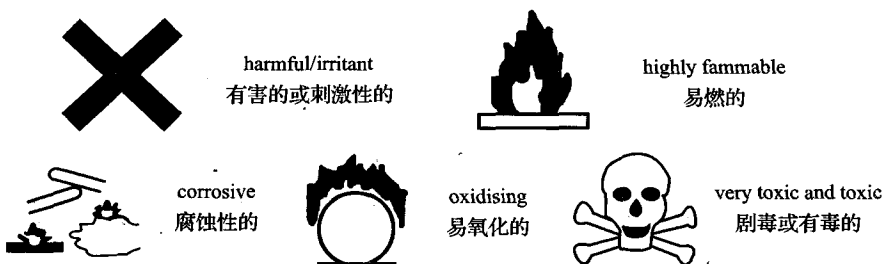


图1 危险化学品分类所用标志

(4) 实验操作过程中凡遇到能产生烟雾、有毒性或腐蚀性气体时，应在通风橱中进行。

(5) 使用毒性物质和致癌物质必须根据试剂瓶上标签说明严格操作，安全称量、转移和保管。操作时应戴手套，必要时戴口罩或防毒面罩，并在通风橱中进行。沾过毒性、致癌物的容器应单独清洗、处理。

(6) 废液，特别是强酸和强碱不能直接倒在水槽中，应先稀释，然后倒入水槽，

再用大量自来水冲洗水槽及下水道。

(7) 生物材料如微生物、动物组织和血液都可能存在细菌和病毒感染的潜伏性危险,因此处理各种生物材料必须谨慎、小心,做完实验后必须用肥皂、洗涤剂或消毒液洗净双手。

(8) 进行遗传重组的实验时应根据有关规定加强生物安全的防范措施。

2. 实验室应急处理

(1) 在生物化学实验中,如发生受伤事故,应立即适当地采取急救措施:如不慎被玻璃割伤或其他机械损伤,应先检查伤口内有无玻璃或金属等物碎片,然后用硼酸水洗净,再涂擦碘酒或红汞水,必要时用纱布包扎。若伤口较大或过深,应迅速在伤口上部和下部扎紧血管止血,送医院诊治。

(2) 轻度烫伤时一般可涂上苦味酸软膏。如果伤处红痛(一级灼伤),可擦医用橄榄油;若皮肤起泡(二级灼伤),不要弄破水泡,防止感染;若烫伤皮肤呈棕色或黑色(三级灼伤),应用干燥无菌的消毒纱布轻轻包扎好,急送医院治疗。

(3) 皮肤不慎被强酸、溴、氯气等物质灼伤时,应用大量自来水冲洗,然后再用5%的碳酸氢钠溶液洗涤。

(4) 如酚触及皮肤引起灼伤,可用酒精洗涤。

(5) 酸、碱等化学试剂溅入眼内,先用自来水或蒸馏水冲洗眼部,如溅入酸类物质则可再用5%碳酸氢钠溶液仔细冲洗;如溅入碱类物质,可以用2%硼酸溶液冲洗,然后滴入1~2滴油性护眼液起滋润保护作用。

(6) 若水银温度计不慎破损,必须立即采取措施回收,防止汞蒸发。若不慎汞蒸气中毒,应立即送医院救治。

(7) 煤气中毒时,应到室外呼吸新鲜空气,严重中毒者应立即到医院救治。

(8) 生物化学实验室内电器设备较多,如有人不慎触电,首先应立即切断电源,在没有断开电源的情况下,千万不可徒手去拉触电者,应用木棍等绝缘物质使导电物和触电者分开,然后对触电者施行抢救。

二、生物化学实验的基本要求

(一) 实验的准确性

生物化学实验是以活的生命体为对象,对生物体内存在的主要大分子物质,如糖、脂肪、蛋白质、核酸、酶等进行定性或定量的分析测定。定性分析是确定存在物质的种类,或粗略计算物质所占的比例;而定量分析则需要确定物质的精确含量。因此分析工作者要根据实验要求对实验结果进行分析和总结,要善于分析和判断结果的准确

性,认真查找可能出现误差的原因,并进一步研究减少误差的办法,以不断提高所得结果的准确度。

一般在实验测量过程中都会有误差产生,但在了解这些误差的可能来源的前提下,多数的误差是可以通过适当的处理来校正的。产生误差的原因很多,一般根据误差的性质和来源可把误差分为两类,即系统误差和偶然误差。

1. 系统误差

系统误差是指在测量过程中某些经常发生的原因所造成的误差。它对分析结果的影响比较稳定,常在重复实验时重复出现,使测定结果系统偏高或偏低。

(1) 系统误差的来源

① 方法误差:如用滤纸称量易潮解的药品;做生物实验特别是酶的实验时没有考虑温度的影响等。

② 仪器误差:如量取液体时,按烧杯的指示线量取液体往往准确度较低,需要用容量量取;在配制标准溶液时量筒同样不够精确,要选用等体积的容量瓶定容至刻度线;不同的天平其精度差别很大,如果需要称量 100g 以上的物体,使用托盘天平即可,但如称量 1g 的样品,选用扭力天平比较方便,称量 10mg 以下的样品则必须使用感量为 1/10000g 的分析天平或电子天平。

③ 试剂误差:如试剂不纯或蒸馏水不合格,引入微量元素或对测定有干扰的杂质,就会造成一定的误差。

④ 操作误差:如在使用移液管量取液体时,由于每个人的操作手法不同,可能会存在一定的操作误差。特别是在读数据时,目光是否平视,视线与液体弯月面是否相切,都可成为生化实验中造成较大误差的主要原因。

(2) 系统误差的校正

① 仪器校正:在实验前对使用的砝码、容量皿或其他仪器进行校正,对 pH 计等测量仪器进行标定,以减少误差。

② 空白试验:在任何测量实验中都应包括有对照的空白实验。用同体积的蒸馏水或样品中的缓冲液代替待测溶液,并严格按照待测液和标准液那样的方法处理,即得到所谓的空白溶液。在最后计算时,应从实验测得的结果中扣除从空白溶液中得到的数值求得比较准确的结果。

2. 偶然误差

由于难以察觉的原因或由于个人一时辨别差异,或是某些不易控制的外界因素而引起的误差称为偶然误差。一般生物类实验的影响因素是多方面的。常常由于某些条件,如温度、光照、气流、反应时间、反应体系的微小变化都会引起较大的误

差。特别是某些因素的作用机理目前仍不十分清楚，所以有些实验结果重现性较差。

偶然误差初看起来似乎没有规律性，但经过多次实验，便可发现偶然误差的分布有以下规律：一是正误差和负误差出现的几率相等；二是小误差出现的频率高，而大误差出现的频率较低。因此，解决偶然误差主要是通过进行多次平行实验，然后取其平均值来弥补。测试的次数越多，偶然误差的几率就越小。

3. 操作错误

除了上述两种误差外，往往还有由于操作不认真、观察不仔细、没有按操作规程去操作等引起的操作错误。这对于初做生物化学实验的工作者来说是经常发生的。如加错试剂、在配制标准溶液时固体溶质未被溶解就用容量瓶定容、在称量样品时未关升降钮就加砝码、在做电泳时点样端位置放错、在做抽滤实验时应留滤液却误留滤渣、在作图时坐标轴取反以及记录和计算上的错误等。这些失误会对分析结果产生极大的影响，致使整个实验失败。所以在实验中一定要避免操作错误，培养严谨和一丝不苟的科学实验作风，养成良好的实验习惯，减少失误的发生。

此外，在实际工作中要根据实验目的，设计好切实可行的实验方案，并根据实际需要的准确度来选择测试手段（仪器及方法），如在做定性实验时，称量及配制试剂可相对粗些，可选择台秤及量筒来称重、称取，而在做定量实验时，则必须使用分析天平及容量瓶来称量、定容，以确保实验数据真实可靠。

（二）实验记录及报告

如前所述，由于生物化学实验的对象是生命体或是生物活性物质，在实验中很容易受外界环境条件的影响，而引起实验结果的差异。因此，在实验记录和写实验报告时，需要实验者做到仔细、认真、实事求是，只有这样才能获得真实可靠的实验结果。

1. 实验记录

在实验课前应认真预习，初步了解实验目的、实验原理，对操作方法及步骤要做到心中有数。最好写一个预习提纲，将实验步骤简要地写出来。

在实验中要对观察到的结果及数据及时记录。记录时要准确、客观，切忌夹杂主观因素，例如在做一些颜色反应实验时，要根据实验中出现的真实颜色记录，真实的实验记录才是今后结果分析的可靠依据，因此，切勿根据课本中已经了解的可能出现的现象做虚假记录。实验中配制溶液的过程、加样的体积、使用仪器的类型以及试剂的规格、浓度都应该记录清楚，以便在总结实验时，查找实验失败的原因。另外，实验时的环境条件（如温度、湿度、光度等）及反应时间也要认真记录，详细的记录才能成为今后实验的参考数据。

2. 实验报告

实验结束后,应及时整理和总结实验数据写出实验报告。一份好的实验报告应包括以下内容。

(1) 标题 标题应包括实验时间、实验地点、实验组号、实验者姓名、实验室条件(如温度、湿度)等。

(2) 实验名称、实验目的。

(3) 实验原理 应简明扼要地阐述实验的理论指导,使未做过实验的人看后对该实验有一个初步的了解。

(4) 材料和仪器 对实验材料要写清其来源及规格、浓度、配制方法和配制人。对实验仪器要写明其生产厂家、型号、生产序号等常用指标。

(5) 操作方法 要描述自己的操作过程及方法,不能完全照抄实验指导书,可简明扼要地把实验步骤一步步写出,也可用工艺流程图或表格形式按照先后顺序表示,实验步骤一定要写得准确明白,以便他人能够重复验证。

(6) 实验结果 将实验中的现象、数据进行整理、分析,得出相应的结论。在生物化学实验中最常用的多以图表法来表示实验结果,这样可使实验结果清楚了。特别在生化实验中通过对标准样品的一系列分析测定,制作图表或绘制标准曲线等,可为以后待测样品的分析提供方便的条件。如通过实验值在图表中直接查出结果。现将常用方法介绍如下。

① 列表法:将实验所得的各种数据列出表格。通常在表格的第一行和第一列标出数据的名称或单位,其余行列内只写数字。有的表格在中间或末端的一行内还要填上反应条件如“水浴中加热 5min”等。

② 作图法:实验所得的一系列数据之间的关系及变化情况,常常可用图线表示,这样可直观地分析实验数据。作图法比较适用于实验数据较多的情况,但不易清楚地表示数据间的情况。如生化实验中用比色法测定未知样品浓度时,常常采用绘制已知标准样品浓度的工作曲线,然后在同样工作条件下测定未知样品,用所得的数据从标准工作曲线中查出未知样品的浓度。作图时,首先要在坐标纸上标出坐标轴,标明轴的名称和单位,然后在横轴和纵轴上一一找出实验交叉点,用“×”或“·”标注上,再用直线或平滑线将各点连接起来。因线不一定经过所有实验数据点,但要求线必须尽量通过或靠近大多数数据点。个别偏离过大的点应舍弃,或重复实验进行校正。此外,在图上还应标明标题,以防单纯看图的人对图不知所云。

(7) 讨论 讨论部分是对整个实验过程、实验结果的总结、分析。对得到的正常结果和出现的异常现象以及教师提出的思考题的探讨、研究。也可对实验设计、实验

方法提出合理的改进性意见,以便教师今后能更好地安排实验。

第二节 生物化学实验基本操作

一、实验室常用仪器的使用

(一) 恒温箱

恒温箱是实验室常用加热设备之一。按用途不同恒温箱又可分为真空干燥箱、隔水式恒温箱、鼓风干燥箱和防爆干燥箱等。

恒温箱一般由箱体、发热体(镍铬电热丝)、测温仪或温度计、控温机构和信号系统等组成,特殊用途的恒温箱还有水箱、鼓风马达和防爆装置等。进气孔一般在箱体底部,排气孔在顶部。

使用方法:

(1) 使用前做好内、外检查,箱内如有其他存物,应取出放好。打开风顶(排气孔),插好温度计。注意电源与铭牌上标称电压是否相符。箱壳要接好地线,以防漏电。

(2) 通电后指示灯亮,如加热指示红灯不亮应将调温旋钮顺时针方向转动至红灯发亮。恒温箱如有鼓风马达,应将开关打开。

(3) 当箱内温度即将达到所需的温度,红绿灯自动交替明灭时,表示箱内温度已处在恒温状态。由温度计读数看是否为所需温度,如有偏差可稍调节调温旋钮。

(4) 当箱内温度稳定在所需要温度后放入待干燥或待培养样品。温度计指示最上层网架中心面积的近似温度,所以样品尽量放在这个部位,其他层次和部位实际温度要偏高一些。

(5) 调温旋钮所指刻度并非箱内温度。每次恒温后可把恒温温度及旋钮所指刻度对应记录,以后使用时作为参考,可以节省时间。

(二) 电热恒温水浴

电热恒温水浴(槽)用于恒温、加热、消毒及蒸发等。常用的有2孔、4孔、6孔和8孔。工作温度从室温至100℃。

使用方法:

(1) 关闭水浴底部外侧的放水阀门,向水浴中注入蒸馏水至适当的深度。加蒸馏水是为了防止水浴槽体(铝板或铜板)被侵蚀或积垢。

(2) 将电源插头接在插座上,合上电闸。插座的粗孔必须安装接地线。

- (3) 将调温旋钮沿顺时针方向旋转至适当温度位置。
- (4) 打开电源开关, 接通电源, 红灯亮, 表示电炉丝通电开始加热。
- (5) 在恒温过程中, 当温度升到所需的温度时, 沿逆时针方向旋转调温旋钮至红灯熄灭, 绿灯亮为止。此后, 红绿灯就不断熄、亮, 表示恒温控制发生作用。
- (6) 调温旋钮度盘的数字并不表示恒温水浴内的温度。随时记录调温旋钮在度盘上的位置与恒温水浴内温度计指示的温度的关系, 在多次使用的基础上, 可以比较迅速地调节, 得到需要控制的温度。
- (7) 使用完毕, 关闭电源开关, 拉下电闸, 拔下插头。
- (8) 若较长时间不使用, 应将调温旋钮退回零位, 并打开放水阀门, 放尽水浴槽内的全部存水。

注意事项:

- (1) 水浴内的水位绝对不能低于电热管, 否则电热管将被烧坏。
- (2) 控制箱内部切勿受潮, 以防漏电损坏。
- (3) 初次使用时, 应加入与所需温度相近的水后再通电, 并防止水箱内无水时接通电源。
- (4) 使用过程中应注意随时盖上水浴槽盖, 防止水箱内水被蒸干。
- (5) 调温旋钮刻度盘的刻度并不表示水温, 实际水温应以温度计读数为准。

(三) 分光光度计

1. 722 型光栅分光光度计

722 型光栅分光光度计能在近紫外、可见光谱区对样品作定性、定量分析。

使用方法:

- (1) 将灵敏度旋钮调至“1”挡(放大倍率最小)。
- (2) 打开样品室盖(光门自动关闭)。开启电源, 指示灯亮, 仪器预热 20min。
- (3) 旋动波长手轮, 把所需波长对准刻线。
- (4) 将装有溶液的比色皿放置比色架中, 令参比溶液置于光路。
- (5) 盖上样品室盖, 调节透光率“100% T”旋钮, 使数字显示为“100.0”。如显示不到“100% T”, 则可适当增加灵敏度的挡次, 重复步骤(2)调零操作。
- (6) 吸光度 A 的测量: 仪器调 T 为 100% 后将选择开关转换至 A, 旋动 A 调零旋钮使数字显示为“.000”, 然后移入被测溶液, 数字显示值即为试样的吸光度 A 值。
- (7) 浓度 c 的测定: 将选择开关由 A 旋至 C, 将标定浓度的溶液移入光路, 调节浓度旋钮, 使数字显示为标定值, 再将被测溶液移入光路, 即可读出相应的浓度 c 值。

注意事项:

(1) 实验中如果大幅度改变测试波长,在两种波长下测定的时间应间隔数分钟,使光电管有足够的平衡时间。

(2) 比色一般在稀溶液条件下进行,如果吸光度 >1 ,透光率 $<10\%$ 时,需把选择开关拨到“ $\times 0.1$ ”挡,读得的吸光度结果加上 1.0,透光率则除以 10。

(3) 同套比色杯吸光度肯定有差异,如果各个比色杯内装上蒸馏水,在相同的波长下吸收度有较大的差别,应选用空白吸收值最小的杯子装参比溶液,其他杯子在读数后应减去空白读数值作校正。

(4) 比色杯必须成套使用,注意保护。清洗时用 0.1mol/L 盐酸和乙醇溶液或稍加稀释的洗涤液浸泡去污,用蒸馏水充分清洗干净,晒干备用。

(5) 仪器每年或每搬动 1 次,应请有经验的人对波长作一次校正。

2. WFJ UV - 2000 型分光光度计

WFJ UV - 2000 型分光光度计有透射比、吸光度、已知标准样品的浓度值或斜率测量样品浓度等测量方式,可根据需要选择合适的测量方式。该光度计还设有自检功能,自检后波长自动停在 546nm 处,测量方式自动设定在透射比方式 (T),并自动调“ $100\% T$ ”。

在开机前,须确认仪器样品室内是否有物品挡在光路上,光路上有阻挡物将影响仪器自检甚至造成仪器故障。

使用方法:

(1) 连接仪器电源线,确保仪器供电电源有良好的接地性能。

(2) 接通电源,至仪器自检完毕,显示器显示“ $546\text{nm } 100.0$ ”即可进行测试。

(3) 用〈MODE〉键设置测试方式:透射比 (T),吸光度 (A),已知标准样品浓度值方式 (c) 和已知准样品标斜率 (F) 方式。

(4) 用波长设置键,设置所需的分析波长。如果没有进行上步操作,仪器将不会变换到想要的分析波长。根据分析规则,每当分析波长改变时,必须重新调整“ $100\% T$ ”。2000 型和 UV - 2000 型光度计特别设计了防误操作功能:当波长被改变时,第一排显示器会显示“BLA”字样,提示下一步必须调“ $100\% T$ ”,当设置完波长时,如没有调“ $100\% T$ ”,仪器将不会继续工作。

(5) 根据设置的分析波长,选择正确的光源。光源的切换位置在 335nm 处。正常情况下,仪器开机后,钨灯和氘灯同时点亮。为延长光源灯的使用寿命,仪器特别设置了光源灯光控制功能,当分析波长在 $335 \sim 1000\text{nm}$ 时,应选用钨灯。

(6) 将参比样品溶液和被测样品溶液分别倒入比色皿中,打开样品室盖,将盛有溶液的比色皿分别插入比色皿槽中,盖上样品室盖。一般情况下,参比样品放在第一

个槽位中。仪器所附的比色皿，其透射比是经过配对测试的，未经配对处理的比色皿将影响样品的测试精度。比色皿透光部分表面不能有指印、溶液痕迹，被测溶液中不能有气泡、悬浮物，否则也将影响样品测试的精度。

(7) 将参比样品推（拉）入光路中，按〈100% T〉键调“100% T”，此时显示器显示的“BLA”，直至显示“100.0”为止。

(8) 当仪器显示器显示出“100.0”后，将被测样品推（拉）入光路，这时便可从显示器上得到被测样品的透射比或吸光度值。

(四) 电动离心机

在实验过程中，欲使沉淀与母液分开，有过滤和离心两种方法。在下述情况下，使用离心方法较为合适：

- (1) 沉淀有黏性。
- (2) 沉淀颗粒小，容易透过滤纸。
- (3) 沉淀量多而疏散。
- (4) 沉淀量少，需要定量测定。
- (5) 母液量很少，分离时应减少损失。
- (6) 沉淀和母液必须迅速分离开。
- (7) 母液黏稠。
- (8) 一般胶体溶液。

离心机是利用离心力对混合物溶液进行分离和沉淀的一种专用仪器。电动离心机通常分为大、中、小三种类型。

使用方法：

- (1) 使用前应先检查变速旋钮是否在“0”处。
- (2) 离心时先将待离心的物质转移到大小合适的离心管内，盛量占管的2/3体积，以免溢出。将此离心管放入外套管内。
- (3) 将一对外套管（连同离心管）放在台秤上平衡，如不平衡，可用小吸管调整离心管内容物的量或向离心管与外套间加入平衡用水。每次离心操作，都必须严格遵守平衡要求，否则将会损坏离心机部件，甚至造成严重事故，应十分警惕。
- (4) 将以上两个平衡好的套管，按对称位置放到离心机中，盖严离心机盖，并把不用的离心套管取出。
- (5) 开动时，先开电门，然后慢慢拨动变速旋钮，使速度逐渐加快。停止时，先将旋钮拨到“0”，不继续使用时，拔下插头。待离心机自动停止后，才能打开离心机盖并取出样品，绝对不能用手阻止离心机转动。