

SHIYONG
SHENGWU
HUAXUE
SHIYAN

(供医学、药学、卫生、口腔、检验、法医学专业用)

实用生物
化学实验

实用生物化学实验

(供医学、药学、卫生、口腔、检验、法医学专业用)

王茂音 主编

安徽科学技术出版社

责任编辑：王 颖

田海明

封面设计：赵素萍

实用生物化学实验

(供医学、药学、卫生、口腔、检验、法医学专业用)

王茂音 主编

*

安徽科学技术出版社出版

(合肥市九州大厦八楼)

邮政编码：230063

安徽省新华书店发行 安徽新华印刷二厂印刷

*

开本：787×1092 1/16 印张：11 字数：278 000

1991年8月第1版 1991年8月第1次印刷

印数：00001—10000

ISBN 7-5337-0686-2/R·118 定价：4.15元

主 编：王茂音 **副主编：**袁凌云 吕灿群

审 阅：季秀生

参加编写单位(以首字笔画为序)：

天津第二医学院 宁夏医学院

安徽医科大学 青海医学院

济宁医学院 皖南医学院

新疆医学院 福建医学院

前 言

生物化学是一门实验性很强的基础学科，而生物化学实验是生物化学教学的重要组成部分。通过实验，可以培养学生勤于思考的素质，以及分析问题、解决问题的能力。因此，生物化学实验教学的重要性，绝对不逊于生物化学理论教学。

近些年来，生化实验的技术、设备和方法有了飞速发展。各医学院校在生物化学教学中，急需一本比较系统的新编生物化学实验教材，其内容既包括传统的实验方法，又介绍新近出现的现代技术。为此，我们八所医学院校经过充分讨论，决定在总结数十年生物化学教学经验的基础上，参照部颁教学大纲，联合编写一本较为实用的生物化学实验教材。

本教材所编内容着眼于以下几点：①通过实验，学生除对部分理论内容得到验证，从而产生较深的感性认识外，还可了解生物化学实验技术的原理，学会基本操作技能，并从中逐步体会科学实验的设计构思，为将来独立进行科学研究打下基础。②实验内容以基本实验(基本的操作技术)为基础，兼顾先进的技术和方法，并注意到能为多数院校所采用。③能为大学本科和专科学生所通用，其中本科教学约可采用全部内容的85%，专科教学约可采用全部内容的70%。

全书共45个实验，对有的较为重要和常用的实验，均列出两种以上的实验方法，并对不同方法的优缺点加以评价，以供使用院校根据自身的条件和喜好进行挑选。书中的每一个实验均写出注意点，以提高学生在实验过程中的成功率，并增长有关的知识。

目录上有*号者，系编者建议大学专科考虑采用的内容，当然，各校将按照自身的实际情况进行选择。

本教材适用于医学、药学、卫生、口腔、检验、法医学等本科及专科的生物化学实验教学；也可供医学院校、中等卫生学校生物化学教师，生物学及生物化学领域的科研人员、研究生参考。

本教材在编写过程中，各编写人员所在单位的各级领导和有关部门，都给予热情鼓励和支持；不少院校生物化学技术室的同志在誊抄、绘图等工作上均给予热情帮助，在此一并致谢。

由于编写时间仓促，编者水平有限，书中不足甚至错误之处，恳请同道和广大读者批评、指正。

王 茂 音

目 录

概 述

生物化学实验的特点	1
生物化学实验须知及安全措施	1
生物化学实验报告的书写	2

生物化学实验基础

*实验一 生物化学实验的基本操作	4
一、基本操作	4
二、721 分光光度计的使用	7
三、硫酸铜标准曲线的制作	7

蛋白质化学

常用蛋白质实验方法的基本原理	9
一、盐 析	9
二、透 析	9
三、层 析	10
四、电 泳	13

实验部分

*实验二 蛋白质的定性试验——沉淀反应	15
一、盐析法	15
二、乙醇沉淀法	16
三、重金属盐沉淀法	16
四、无机酸和有机酸沉淀法	17
五、蛋白质的两性反应——酪蛋白的等电点测定	17
*实验三 蛋白质的定量测定	19
一、微量凯氏(Kjeldahl)定氮法	19
二、双缩脲法	21
三、Folin-酚试剂法	22
四、改良Lowry氏法	24
五、考马斯亮蓝法	26
六、紫外吸收法	28
*实验四 血清蛋白质的醋酸纤维素薄膜电泳	30
实验五 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离血清蛋白质	31
实验六 血清 γ -球蛋白的分离与纯化	35
实验七 分子筛凝胶层析法测定蛋白质分子量	39
实验八 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定蛋白质分子量	41

酶 学

*实验九 酶的特异性和高效性	44
一、酶的特异性	44
二、酶的高效性	45
*实验十 影响酶促反应速度的因素	45
一、温度对酶促反应速度的影响	45
二、pH对酶促反应速度的影响	46
三、激动剂和抑制剂对酶促反应速度的影响	47
实验十一 酶的米氏常数(K_m)测定	47
一、蔗糖酶的 K_m 测定	48
二、碱性磷酸酶的 K_m 测定	52
三、脲酶的 K_m 测定	54
*实验十二 胃蛋白酶原的激活	56
*实验十三 乳酸脱氢酶及其辅酶的作用	57

维生素的测定

实验十四 食物中胡萝卜素的柱层析分离	59
实验十五 食物中维生素C含量的测定	60

糖代谢

*实验十六 糖的硅胶G薄层层析分离	63
实验十七 红细胞中的糖酵解作用	65
*实验十八 运动对肌肉组织糖酵解的影响	67
*实验十九 血糖测定及激素对血糖水平的影响	68
一、肾上腺素和胰岛素对血糖水平的影响	68
•二、血糖测定(Folin-吴法)	69
•三、血糖测定(邻甲苯胺法)	71
四、血糖测定(葡萄糖氧化酶法)	72
附: 血糖定性试验	75
*实验二十 糖原测定	76
——饱和和饥饿对小鼠肝糖原含量的影响	76
实验二十一 血清乳酸脱氢酶同工酶的电泳分离	78
一、聚丙烯酰胺凝胶电泳法	78
二、琼脂糖电泳法	82

脂代谢

实验二十二 血清甘油三酯含量的测定(乙酰丙酮法)	84
*实验二十三 血清总胆固醇含量的测定	86
一、乙酸酐-硫酸显色法	86
•二、邻苯二甲醛直接显色法	87
•三、胆固醇氧化酶法	88
*实验二十四 血清脂蛋白琼脂糖电泳	90

实验二十五	血清高密度脂蛋白的分离及其胆固醇含量的测定	92
实验二十六	单向免疫扩散法测定人血清中apo A1和apo B的含量	93
*实验二十七	酮体的生成和氧化	94
实验二十八	卵黄中脂质的提取及其成分的鉴定	95
实验二十九	去污剂对红细胞膜稳定性的影响	97
实验三十	血清过氧化脂质的测定	98
生物氧化		
*实验三十一	丙二酸对琥珀酸脱氢酶的抑制作用	100
*实验三十二	细胞色素体系的氧化作用及CN ⁻ 的抑制作用	101
氨基酸的代谢		
*实验三十三	氨基移换作用	103
*实验三十四	精氨酸酶在尿素生成中的作用	104
	一、扩散皿法	104
	二、纸片法	106
核酸的化学		
*实验三十五	核酸的增色效应	107
实验三十六	肝中核酸的分离与鉴定	107
肝脏生化		
实验三十七	血清黄疸指数测定	113
*实验三十八	血清胆红素定性试验及定量测定	114
	一、血清胆红素定性试验(Van den bergh试验)	114
	二、血清总胆红素及一分钟胆红素定量测定	116
*实验三十九	血清清蛋白及球蛋白含量的测定	117
*实验四十	血清谷丙转氨酶活力测定(改良穆氏法)	119
血液生化		
*实验四十一	血清尿素氮测定(二乙酰一胍法)	122
实验四十二	血清肌酐测定(碱性苦味酸盐法)	123
水盐代谢及酸碱平衡		
实验四十三	血清钾、钠含量测定	126
	一、火焰光度法测定血清钾、钠含量	126
	二、四苯硼钠法测定血钾含量	128
实验四十四	血钙含量测定	130
	一、EDTA直接滴定法	130
	二、核固红比色测定法	131
	附:家兔低血钙的观察	132
*实验四十五	血浆二氧化碳结合力的测定	133
	一、范氏(Van Slyke)气量法	133
	二、酸碱滴定法	136
	三、安医大式简易气量法	138

附 录

附录一	常用生化正常值	140
附录二	部分复杂试剂的配制方法	142
附录三	常用缓冲液的配制	146
附录四	常用抗凝剂的配制	155
附录五	常用标本的制备	155
附录六	滤光片的选用	157
附录七	硫酸铵饱和浓度表	157
附录八	常用摩尔溶液的配制	157
附录九	乙醇稀释表	158
附录十	常用蛋白质分子量参考值	159
附录十一	法定计量单位	160
附录十二	离心机转数与相对离心力的换算	161
附录十三	常用生化单位换算表	161
附录十四	化学试剂纯度分级表	165
附录十五	常用元素的原子量表	165

概 述

生物化学实验的特点

生物化学是一门重要的实验性基础学科。自20世纪初期，作为一门独立的学科从生理学独立出来后，生物化学发展迅速。但归根结底，每一项重要理论的提出，都源于实验，而又反过来指导实验。实验将设想上升为理论，理论又在指导实验的同时，向实验提出了新的要求，二者相辅相成，促进了整个学科的发展。所以，生化实验在整个生物化学及相关学科的发展上，都起着决定性的作用。

生化实验作为一门实验性科学的重要组成部分，归纳起来，有如下的主要特点：

(1)生化实验主要是应用化学的原理和方法所设计的科学实验。但由于科学发展的横向性，有关学科互相渗透，因此生化实验在渗入其他学科的同时，也渗进了一些相关学科的理论知识和实验方法。

(2)微量和定量是生化实验的一大特点。随着生化实验技术方法的进步，用于生化检测的样品量，大多已从以往的常量降到现在的微量和超微量(ml、 μ l)，但所得结果却较常量精确可靠。另外，生化实验大多为定量测定，因为定量测定才更能说明物质的量与质的改变情况。由于上述原因，生化实验要求有严格的条件，这就要求实验者必须一丝不苟地遵守所规定的条件，这样才能期望得到正确的结果。

(3)生化实验往往涉及生物大分子和生物材料的检测，因此取材常为生物体的组织器官，甚至活的生物体，并且要按照需要定时、定位地取样。有时要自行喂养动物，以人为地控制其代谢。

(4)生化实验拥有先进的实验手段。实验器材和仪器的现代化，是当今生化实验领域中引人注目的变化。如蛋白质分离纯化及分析、研究的新技术，基因工程的新技术等，都是和现代化的化学试剂和设备分不开的。可以说，新技术手段的出现和发展，推动了生物化学的发展。

(5)医学生化实验与临床医学密切联系。有一些实验直接为临床服务，如辅助诊断、了解治疗效果和预后；有的实验则可向临床医务人员发出某种信号，以及时引起重视。

生物化学实验须知及安全措施

1)实验须知

(1)自觉遵守课堂纪律，不迟到，不早退。

(2)养成文明习惯，不大声喧哗，不随地吐痰。

(3)实验前认真预习，了解实验目的和基本原理，认真听教师讲解；实验中认真操

作, 仔细观察实验现象和结果, 如实做好原始记录; 实验过程中发现问题, 应认真思考, 不能解决时, 请示指导老师; 实验结束后, 根据原始记录, 按照要求, 严肃认真地书写实验报告。

(4) 养成试剂瓶及药品瓶用后即盖的良好习惯, 防止其内容物氧化和污染(空气污染和交叉污染); 废弃物倒入指定容器内, 不得乱丢。

(5) 注意节约试剂、药品及水、电、煤气。

(6) 在整个实验过程中, 要保持实验台面的整洁; 实验完毕后清理实验台, 打扫实验室, 检查完灯、火、水、电及煤气后, 再离开实验室。

2) 安全措施

(1) 进入实验室必须穿实验工作服。

(2) 实验室内严禁吸烟, 易燃易爆物品应远离火源。低沸点的有机溶剂, 不得在火焰上直接加热; 必须加热时, 可在水浴进行。

(3) 使用电器设备要严防触电, 切忌用湿手触摸电器。发现仪器漏电时, 立即报告并停止使用。万一发生触电事故, 应立即关闭电源, 并用干木棍将导线挑离被电者身体; 对呼吸停止者, 应立即进行人工呼吸, 并及时送医院抢救。

(4) 强酸、强碱液体或剧毒液体, 不得用口径吸量管吸取, 必须使用橡皮球。万一不慎吸入口内或沾及皮肤, 应立即用清水多次漱口或局部冲洗。若为强碱灼伤, 清洗后可用5%硼酸溶液清洗; 若为强酸灼伤, 水洗后可用5%碳酸氢钠溶液清洗。严重灼伤者, 应立即将残留在身体上的液体轻轻冲洗后, 送医务部门处理。

(5) 用后的浓酸、浓碱残液, 应倒入指定的容器, 不要直接倒入水池内, 以免蚀损水管; 若少量残液已倒入池内, 应立即放水冲稀流走。

(6) 万一着火, 不要惊慌失措, 要立即切断火源和电源, 搬走易燃物品, 同时立即报告指导老师, 进行紧急处理, 严防火势蔓延; 若火势蔓延, 应立即报警。万一衣服着火, 切忌惊慌奔跑, 可用衣服包裹身体或就地翻滚, 借以绝氧灭火。

生物化学实验报告的书写

实验报告是科学实验的忠实记录和总结, 是锻炼学生分析能力的有效途径, 也是对学生实验课学习成绩考察的参考。所以每次实验结束, 应认真做好实验报告。

1) 实验记录 实验记录是实验过程的原始资料, 也是书写实验报告的依据。实验者必须实事求是地记录实验过程中所观察到的真实结果和出现的问题。在判断所出现的结果时, 务需客观, 切忌掺入主观因素。不准无根据地涂改原始记录, 确因记错而需纠正时, 可将原错处轻轻划掉(不要涂抹, 要使被划处仍可看清), 然后加写正确的记录; 也可保留原错处, 而在其后或最后加以说明。

2) 实验报告 书写实验报告应字体端正, 清楚易认。内容包括: 实验题目, 实验日期, 基本原理, 主要操作, 实验结果(定量实验应包括计算公式及计算数据; 对定性实验应有结论), 讨论。如实验中出现某种(些)问题, 应尽可能对出现的原因进行分析。

下面的实验报告格式可供参考。

(1)定性实验报告

实验× ×××××××(题目)	年 月 日
基本原理	
主要操作(可设计成表格式或条文式)	
结 果	
讨 论	
结 论	实验者

(2)定量实验报告

实验× ×××××××(题目)	年 月 日
基本原理	
主要操作(表格式或条文式)	
结果与计算	
讨 论	
备 注	实验者

(安徽医科大学 王茂音)

生物化学实验基础

实验一 生物化学实验的基本操作

一、基本操作

【玻璃仪器的清洗】生化实验常用各种玻璃仪器，其清洁程度直接影响实验结果的准确性。因此，清洁玻璃仪器不仅是实验前后的常规工作，也是一项重要的技术性工作。清洗玻璃仪器的方法很多，需根据实验要求、污物的性质和沾污程度选用合适的清洁方法。

1)新购玻璃仪器的清洗 新购玻璃仪器，其表面附有碱质，可先用肥皂水刷洗，再用流水冲净后，浸泡于1~2%盐酸中过夜；再用流水冲洗，最后用蒸馏水冲洗2~3次，干燥备用。

2)使用过的玻璃仪器的清洗

(1)一般玻璃仪器：如试管、烧杯、锥形瓶等，先用自来水洗刷后，用肥皂水或去污粉刷洗；再用自来水反复冲洗，去尽肥皂水或去污粉，最后用蒸馏水淋洗2~3次，干燥备用。

(2)容量分析仪器：吸量管、滴定管、容量瓶等，先用自来水冲洗，待沥干后，再用铬酸洗液浸泡数小时；然后用自来水充分冲洗，最后用蒸馏水淋洗2~3次，干燥备用。

(3)比色杯：用毕立即用自来水反复冲洗。洗不净时，用盐酸或适当溶剂冲洗，再用自来水冲洗。避免用碱液或强氧化剂清洗，切忌用试管刷或粗糙布(纸)擦拭。

上述所有玻璃器材洗净后，以倒置后器壁不挂水珠为干净的标准。

【玻璃仪器的干燥】

1)晾干 不急用的玻璃仪器洗净后，可沥尽水分，倒置于无尘的干燥处，让其自然风干。

2)加热烘干 一般玻璃仪器洗净并沥尽水分后，可置于电烘箱中烘烤，温度控制在105~110℃，烘1h左右。但带有刻度的量器不宜在高温下烘烤。有盖(塞)的玻璃仪器，如容量瓶，称量瓶等，应去盖(塞)后烘烤。

【吸量管的种类及使用】

1)吸量管的种类及用途

(1)奥氏吸量管：这类吸量管的特点是在同一容量的各类吸量管中，其容量表面积最小，故准确性最高。奥氏吸量管上只有一个刻度(图1-A)，放液时残留于管尖的液体必须吹出。它常用于量取粘度较大的液体(如血液等)，其规格有0.5ml、1ml、2ml、3ml、5ml等。

(2)移液管：又称移液吸量管。每根移液管上只有一个刻度(图1-B)，放液时任其自然流出后，让管尖接触容器内壁15~30s，管尖残留液体不得吹出。其规格有10ml、20ml、25ml、50ml等。

(3)刻度吸量管：这类吸量管带有许多分刻度，刻度标记有自下而上和自上而下两种，供量取10ml以下的任意体积的液体之用。其规格有0.1ml、0.2ml、0.25ml、0.5ml、1ml、2ml、5ml及10ml等。

刻度吸量管有两种类型：①全流出式刻度吸量管。此吸量管刻度标至尖端〔图1-C(b)〕刻度容量包括液体流出的全部，放液时需将管尖残留液体吹出。这种吸量管在管上端有些标有“吹”字，有些则无。值得注意的是有些标有“快”字，表明此吸量管检校时，已校正过尖端残留液的误差，故不能吹出管尖残留液体。②不完全流出式刻度吸量管。此种吸量管上有零刻度，又有总刻度〔图1-C(a)〕。使用时，以刻度为准，不能放液至最后的刻度线以下。

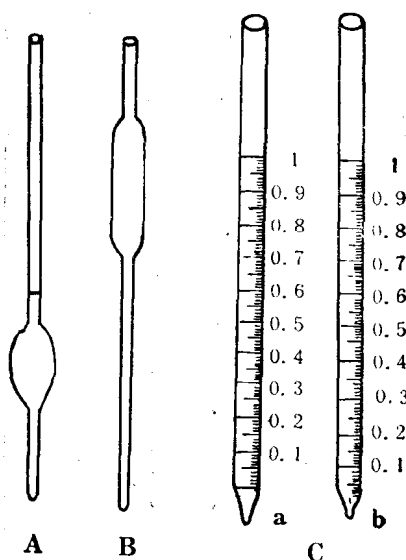


图 1 三类吸量管

A: 奥氏吸量管 B: 移液管 C: 刻度吸量管

a. 刻度不到尖端的刻度吸量管 b. 刻度到尖端的刻度吸量管

为了便于准确、快速地选取所需的吸量管，国际标准化组织统一规定，在刻度吸量管的上方要印有各种彩色环，以示容积区别(表1)。

表 1 各标准刻度吸量管的色标和环数

	标 准 容 量 (ml)									
	0.1	0.2	0.25	0.5	1	2	5	10	25	50
色 标	红	黑	白	红	黄	黑	红	橘红	白	黑
环 数	单	单	双	双	单	单	单	单	单	单

此外，不完全流出式吸量管还在单环或双环上方再加印一条宽1~1.5mm的同色彩环，以与完全流出式刻度吸量管相区别。

2) 吸量管的使用方法(图2)

(1) 执管：将中指和拇指拿住吸量管上部，食指按住吸量管上口以控制流速；刻度数字应对向操作者。

(2) 取液：把吸量管插入液体中(切忌悬空，以免液体吸入洗耳球内)，用洗耳球吸取液体至所取液量的刻度上端1~2cm处，然后迅速用食指按紧吸量管上口，使管内液体不再流出。

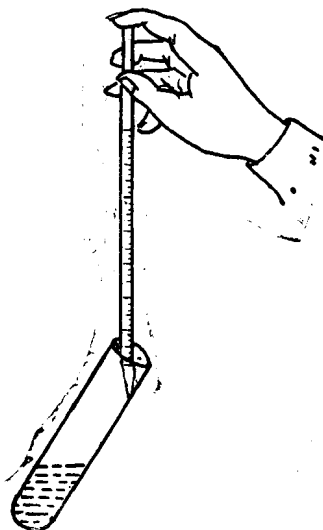


图 2 使用吸管的手式

(3) 调准刻度：将已充足液体的吸量管提出液面，用滤纸片抹干管尖外壁液体，然后垂直提吸量管于供器内(管尖悬离供器内液面)。用食指控制液流至所需刻度，此时液体凹面、视线和刻度应在同一水平面上，并立即按紧吸量管上口。

(4) 放液：放松食指，让液体自然流入受器内。此时，管尖应接触受器内壁，但不应插入受器内的原有液体之中，以免污染吸量管及试剂。

(5) 洗涤：吸取血液、尿、组织样品及粘稠试剂的吸量管，用后应及时用自来水冲洗干净。如果吸取一般试剂的吸量管可不必马上冲洗，待实验完毕后，用自来水冲洗干净，晾干水分，再浸泡于铬酸洗液中，数小时后，再用流水冲净，最后用蒸馏水冲洗，晾干备用。

【溶液的混匀】样品与试剂的混匀是保证化学反应充分进行的一种有效措施。为使反应体系内各物质迅速地互相接触，必须借助于外加的机械作用。混匀时须防止容器内液体溅出或被污染。严禁用手指直接堵塞试管口或锥形瓶口震荡。混匀的方式大致有下面几种，可随使用的器皿和液体容量而选用。

1) 旋转混匀法 用手持容器，使溶液作离心旋转。该法适用于未盛满液体的试管或小口器皿，如锥形瓶。旋转试管时宜用手腕旋转。

2) 指弹混匀法 用手持容器，手腕用力前后摇动使内容物混匀。还可用左手持试管上端，用右手指轻轻弹动试管下部，使管内溶液作旋涡运动；或用左手持试管上端，在左手掌上打击的方法以混匀内容物。

3) 颠倒混匀法 适用于有塞的容量瓶及有塞试管内容物的混匀。一般试管内容物混匀时可用聚乙烯等薄膜封口, 再用手按住管口颠倒混匀。

4) 吸量管混匀法 用吸量管将溶液反复吸放数次, 使溶液充分混匀。

5) 玻棒搅动法 适用于烧杯、量筒内容物的混匀, 如固体试剂的溶解和混匀。

其他尚有电磁搅拌混匀法和震荡器混匀法等。

二、721分光光度计的使用

721分光光度计是一种国产、常用的可见光分光光度计。

1) 仪器的使用

(1) 首先应将仪器放置在干燥的室内, 室内照明不宜过强。仪器应置于牢固平稳的台面上, 避免引起震动。

(2) 在仪器未接通电源时, 电表指针应位于“0”刻线上; 必要时可用电表上的校正螺丝调节至“0”, 但一般已调整好, 无需调整。

(3) 接通电源(指示灯亮), 打开比色杯暗盒盖(此时光门关闭), 电表指针处于“0”位, 预热20min。

(4) 转动波长选择旋钮, 选用所需的单色光波长, 并根据可选择波长用相应的放大灵敏度档。原则是能使空白溶液良好地用光量调节器调整 $T\% = 100$ 处。一般选择“1”档, 各档的灵敏度范围是: 第一档 $\times 1$ 倍; 第二档 $\times 10$ 倍; 第三档 $\times 20$ 倍。要求在低档操作。

(5) 闭上比色杯暗盒盖(这时光门打开), 使空白溶液比色杯对准光路。旋转光量调节器“100”, 使电表指针准确指向 $100\%T$ (或 $A=0$)。

(6) 按上述方法, 重复操作3~4次, 连续几次调“0”和 $100\%T$, 仪器即可进行测定。

(7) 拉动比色杯座的拉杆, 使测定管的比色杯依次进入光路, 从刻度盘上读取吸光度(A)值, 并作记录。

(8) 测定完毕, 取出比色杯。若仪器停止工作, 开关应拨至“关”的位置, 同时切断电源, 将比色杯暗盒盖盖好, 清洁比色杯。

三、硫酸铜标准曲线的制作

1) 方法 首先配制一系列不同浓度的标准溶液, 在溶液吸收最大的波长下, 逐一测定它们的吸光度(A); 然后用方格坐标纸以溶液浓度为横纵标、吸光度(A)为纵座标作图。若被测物质对光的吸收符合光的吸收定律, 则必然得到一条通过原点的直线, 即标准曲线亦称工作曲线(图3)。

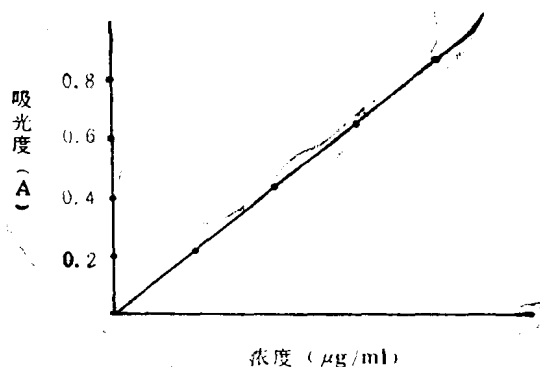


图 3 标准曲线

2)操作与计算

(1)硫酸铜贮备标准液的配制(含铜量 $20\,000\mu\text{g/ml}$):精确称取 $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 39.261g ,置于 100ml 烧杯中,用 0.05mol/L 硫酸溶解后,移入 500ml 容量瓶中,用少量 0.05mol/L 硫酸冲洗烧杯3次,洗液一并转入容量瓶中。用 0.05mol/L 硫酸稀释至刻度。该液应放置阴凉处,如发现沉淀混浊,应重新配制。

(2)应用标准液的配制:用 5ml 移液管,按下表要求,将硫酸铜贮备标准液分别加入4只 50ml 容量瓶中。用 0.05mol/L 硫酸分别将其稀释至刻度,摇匀,置阴凉处备用。

编号	应用标准液浓度($\mu\text{g/ml}$)	加入贮备标准液体积(ml)
1	2 000	2.5
2	4 000	5.0
3	6 000	7.5
4	8 000	10.0

(3)绘制硫酸铜标准曲线:分别从编号容量瓶中,吸取硫酸铜应用标准液,加到光径 1cm 的比色杯中。用721分光光度计,以蒸馏水作空白调零点,在 690nm 波长处,测定1~4号容量瓶中溶液的吸光度(A);每一溶液重复测3次,取其平均值。以各瓶溶液浓度为横坐标,各溶液的吸光度值为纵坐标,用坐标纸绘制出硫酸铜标准曲线。

(4)未知硫酸铜溶液浓度的计算:取未知硫酸铜溶液 1ml (若过浓可稀释5~10倍),用721分光光度计,在 690nm 波长处测定吸光度。以此吸光度值可在硫酸铜标准曲线上查得未知硫酸铜溶液的浓度。

(宁夏医学院 马俊儒 蓝开蔚)