

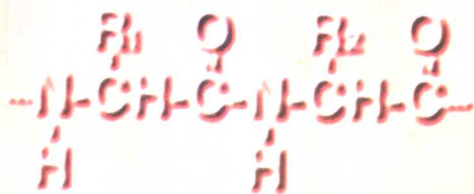
普通高等专科学校教育药学类规划教材

生物化学实验

(供药学专业用)

主编 薛莉珠

主审 赖炳森



33
2
9
1

中国医药科技出版社

普通高等专科学校教育药学类规划教材

生物化学实验

(供药学专业用)

主 编 薛莉珠 (解放军海军医学高等专科学校)

主 审 赖炳森 (解放军北京医学高等专科学校)

参编人员 (按姓氏笔画为序)

王映强 (解放军北京医学高等专科学校)

孙连云 (解放军石家庄医学高等专科学校)

胡学芳 (解放军海军医学高等专科学校)

江苏工业学院图书馆
藏书章

中国医药科技出版社

登记证号: (京)075 号

内 容 提 要

本教材为普通高等专科教育药学类规划教材《生物化学》的配套教材, 突出了专科教育以应用为主的特点。全书正文共分三个部分, 即生物化学基本技术及应用、生物化学基本实验和生物化学制剂制备综合实验。共编入 16 项实验, 计 35 个实验项目供使用者选择。每个实验均由“目的要求”、“实验原理”、“实验材料”、“实验方法”、“结果处理”、“注意事项”及“思考题”等 7 个部分组成。书的附录部分编入了与生物化学实验有关的技术参数及常用单位等供使用者查阅。

本教材供高等专科学校药学专业实验教学使用; 也可供其它相关专业的实验教学参考及药学工作者参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

生物化学实验/薛莉珠主编. —北京:
中国医药科技出版社, 1998. 12

普通高等专科教育药学类规划教材
供药学专业用

ISBN 7-5067-1943-6

I. 生… II. 薛… 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 (98) 第 29117 号

中国医药科技出版社 出版
(北京海淀区文慧园北路甲 22 号)

(邮政编码 100088)

本社 激 光 照 排 室 排版
北京昌平精工印刷厂 印刷
全国各地新华书店 经销

*

开本 787×1092mm¹/₁₆ 印张 8

字数 177 千字 印数 1—5000

1999 年 1 月第 1 版 1999 年 1 月第 1 次印刷

定价: 11.00 元

普通高等专科学校教育药学类

规划教材建设委员会名单

主任委员：杨爱菊（开封医学高等专科学校）

副主任委员：何子瑛（湖北药检高等专科学校）

赵增荣（海军医学高等专科学校）

委 员：苏怀德（国家医药管理局科技教育司）

张智德（中国医药科技出版社）

王桂生（新疆石河子大学医学院）

毛季琨（湖南医学高等专科学校）

陈建裕（广东药学院）

钟 淼（中国药科大学）

秘 书：张修淑（国家医药管理局科技教育司）

杨仲平（国家医药管理局培训中心）

序 言

我国药学高等专科学校教育历史悠久,建国后有了较大发展。但几十年来一直未能进行全国性的教材建设,在一定程度上影响了专科教育的质量和发 展。改革开放以来,专科教育面临更大的发展,对教材的需要也更为迫切。

国家医药管理局科技教育司根据国家教委(1991)25 号文的要求负责组织、规划高等药学专科教材的编审出版工作。在国家教委的指导下,在对全国高等药学专科教育情况调查的基础上,普通高等专科学校教育药学类教材建设委员会于 1993 年底正式成立,并立即制订了“八五”教材编审出版规划。在全国 20 多所医药院校的支持下,成立了各门教材的编审专家组(共 51 人)和编写组(共 86 人),随即投入了紧张的编审、出版工作。经 100 多位专家组、编写组教师和中国医药科技出版社的团结协作、共同努力,建国以来第一套普通高等专科学校教育药学类规划教材终于面世了。

该套规划教材是国家教委“八五”教材建设的一个组成部分,编写原则是既要保证教材质量,又要反映专科的特色。同时,由于我们组织了全国设有药学专科教育的大多数院校和大批教师参加编审工作,既强调专家审稿把关的作用,也注意发挥中、青年教师的积极性,使该套规划教材能在较短时间内以较高质量出版,适应了当前高等药学专科教育发展的需求。在编写过程中,也充分注意目前高等专科学校教育中有全日制教育、函授教育、自学高考等多种办学形式,力求使该套规划教材具有通用性,以适应不同办学形式的教学要求。

高等药学专科教育的主要任务是为医药行业生产、流通、服务、管理第一线培养应用型技术人才。为此,在第一套普通高等专科学校教育药学类规划教材面世之后,我们又立即组织编审、出版了这套配套教材(实验指导、习题集),以加强对学生的实验教学,培养实际操作能力。从现实国情考虑,我们统筹规划、全面组织教材建设活动,是为了优化教材编审队伍,确保教材质量,规范教材规格。同时,为了照顾各地办学条件和实际需求的不同,在保证基本的前提下,提供了若干可供灵活选择的材料。今后,规划教材的使用情况将作为教学质量评估的基本依据之一。

配套教材出齐之后,我们将大力推动以上两套教材的使用,并组织修订及评优工作,竭诚欢迎广大读者对这两套教材的不足之处提出宝贵意见。

普通高等专科学校教育药学类
规划教材建设委员会

1998 年 3 月

前 言

根据国家医药管理局教材建设规划的要求,1995年业已完成并出版了全国普通高等学校药学专科“八五”规划教材之一——《生物化学》。本教材——《生物化学实验》作为该教材的配套教材被列为“九五”规划教材。1997年4月在武汉召开的“九五”规划教材主编、主审工作会议上,对本教材编写的目的要求及其与各相关学科教材之间在内容上的交叉、衔接等问题进行了充分讨论,并明确了分工,从而为本教材的编写内容及格式奠定了基础。

随着生物化学学科的迅速发展,生物化学实验方法和技术也不断更新,已成为医药学专业广泛应用的重要实验手段之一,因此,生物化学实验课是医药学专业的必修课。

本教材以培养药学专业人才的实际工作能力及严谨求实的科学态度为宗旨,突出专科教育以应用为主的特点,以生物化学基本技术、基本技能为重点,以当前药学专业发展的需要和生物化学实验开设的实际情况为教材的主要内容,力求达到既体现生物化学实验教学改革的精神,又与《生物化学》规划教材密切联系;既能为药学专业课打好实验技术、实验技能的基础,又能在实现从药学专业基础实验课向专业实验课过渡中发挥作用。

本教材正文包括三个部分:第一部分是生物化学基本技术及应用,突出生物化学四个基本技术的原理、应用及使用方法,使学生了解并初步掌握生物化学基本实验技术和实验技能;第二部分是生物化学基本实验,所选实验与规划教材相匹配,突出定量概念,为从专业基础实验课向专业实验课过渡奠定基础;第三部分是生物化学制剂制备综合实验,是在前二部分实验的基础上,通过较系统的训练,进一步培养学生的逻辑思维、综合应用及动手操作等能力,使学生对生物化学制剂制备的主要过程有所了解,为专业课的学习打下一定基础。本教材的附录部分还附有生物化学实验的技术参数、常用单位等内容,供使用者参考。

本教材共编写了16项实验,每项实验都选择了2~4个实验项目供使用者选择。编入的实验绝大部分是作者多年使用,并经充实改进,实用性较强的项目;有的实验是作者最新的研究成果。因此,本教材具有一定的科学性、实用性和先进性。

本教材除生物化学制剂制备综合实验原则上安排6个学时外,其余各部分

每个实验均安排 2 个学时。本教材中所列各实验所需实验材料的数量系完成该项实验所需的最低标准。在教学活动中，建议用定量标准对学生实验进行考核，考核成绩占学科总成绩 10% 左右。

编写教材是一项十分复杂而繁重的工作，尽管我们作了很大努力，但由于时间仓促，经验和水平有限，因此书中缺点、错误在所难免。热忱欢迎使用本教材的老师 and 同学们提出宝贵意见。

主编：薛莉珠

1998 年 4 月

目 录

第一部分 生物化学基本技术及应用	(1)
实验一 分光光度技术	(1)
I 可见光分光光度计的使用	(2)
II 紫外分光光度计的使用	(6)
实验二 层析技术	(11)
I 氨基酸的单向纸上层析	(13)
II 氨基酸的硅胶薄层层析	(15)
III 葡聚糖凝胶柱层析分离核黄素和血红蛋白	(17)
实验三 电泳技术	(20)
I 醋酸纤维素薄膜电泳分离血清蛋白质	(21)
II 琼脂糖凝胶电泳分离血清脂蛋白	(24)
III 聚丙烯酰胺凝胶板状电泳分离血清蛋白质	(27)
实验四 离心技术	(30)
I 离心分离法分离血浆球蛋白和清蛋白	(32)
II 差速离心法分离亚细胞结构	(34)
第二部分 生物化学基本实验	(37)
实验五 蛋白质的定量测定	(37)
I 双缩脲法	(37)
II Folin-酚试剂法 (Lowry 法)	(39)
III 紫外分光光度法	(41)
IV 染料结合比色法	(43)
实验六 酶活性的测定	(45)
I 脲酶米氏常数的测定	(45)
II 血清丙氨酸氨基转移酶活性的测定 (改良赖氏法)	(48)
III 胰脂肪酶活性的测定	(51)
IV 血清乳酸脱氢酶同工酶的测定	(54)
实验七 核酸含量的测定	(56)
I 定磷法	(56)
II 定糖法	(59)
III 紫外分光光度法	(63)
实验八 维生素 C 的定量测定	(65)
I 还原型维生素 C 的测定 (2, 6-二氯酚靛酚法)	(65)
II 总维生素 C 的测定 (2, 4-二硝基苯肼法)	(67)
实验九 血糖浓度的测定	(70)

I 邻甲苯胺法	(70)
II 葡萄糖氧化酶法	(72)
实验十 血清总胆固醇的测定	(75)
I 硫磷铁显色法	(75)
II 酶法 (CE-COD-POD 法)	(77)
实验十一 血清三脂酰甘油的测定	(79)
I 乙酰丙酮显色法	(79)
II 酶法 (GK-GPO-POD 法)	(82)
实验十二 血浆脂蛋白的测定	
——聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳法	(84)
实验十三 血清 (浆) 尿素氮的测定	(87)
I 二乙酰一肟法	(87)
II 脲酶法 (半酶法)	(89)
第三部分 生物化学制剂制备综合实验	(92)
实验十四 血清 γ -球蛋白的分离、纯化及鉴定	(92)
实验十五 核酸的提取、分离及鉴定	(97)
实验十六 亚麻子油脂肪酸的制备及其定量测定	(102)
附 录	(107)
一、常用缓冲液的配制方法	(107)
I 甘氨酸-盐酸缓冲液 (0.05mol/L)	(107)
II 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液	(107)
III 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液 (0.1mol/L)	(108)
IV 乙酸-乙酸钠缓冲液 (0.2mol/L)	(108)
V 磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液 (0.2mol/L)	(109)
VI 巴比妥钠-盐酸缓冲液 (18℃)	(109)
VII Tris-盐酸缓冲液 (0.05mol/L, 25℃)	(110)
VIII 甘氨酸-氢氧化钠缓冲液 (0.05mol/L)	(110)
二、硫酸铵饱和度的常用表	(111)
I 调整硫酸铵溶液饱和度计算表 (25℃)	(111)
II 调整硫酸铵溶液饱和度计算表 (0℃)	(112)
III 不同温度下的饱和硫酸铵溶液	(112)
三、离心机转速 n 与相对离心力 (RCF) 的换算	(113)
四、国产化学试剂的等级表示法	(114)
五、一些常用单位	(114)
I 长度单位	(114)
II 体积单位	(114)
III 重量单位	(115)
IV 摩 [尔] 数与摩 [尔] 浓度表示法	(115)

第一部分 生物化学基本技术及应用

实验一 分光光度技术

分光光度技术是利用物质特有的吸收光谱对其进行定性、定量分析的实验技术。依据物质分子不同的吸收光区,可分为紫外光(吸收光区在 200~400nm)、可见光(吸收光区在 400~750nm)和红外光(吸收光区在 750~1000nm)三类分光光度方法。本实验介绍可见光和紫外光分光光度技术的一般原理和使用方法。

光是电磁波的一种,具有不同的波长。波长范围在 200~400nm、肉眼观察不到的光叫紫外光;波长范围在 400~750nm、肉眼可以观察到的光叫可见光。当光线通过溶液时,部分辐射能量被溶液吸收,其余部分透过溶液。不同物质的分子结构不同,对光的吸收能力也不同。在特定波长条件下,可通过测定溶液的吸光度,对溶液中的物质进行定量测定。其基本原理如图 1-1 所示。

Lambert-Beer 定律阐明了吸光物质对单色光吸收的强弱与该物质溶液的浓度、光径长度之间的定量关系。将 I_t/I_0 定义为透光度,用 T 表示;对 T 进行负对数处理,得溶液的吸光度,用 A 表示。则:

$$A = -\lg T = -\lg(I_t/I_0) = E \cdot C \cdot L \quad (1)$$

式(1)中, E 为溶液的吸光系数; C 为溶液的浓度 (g/L); L 为溶液的光径长度 (cm)。

由此可知,吸光度与吸光物质溶液的浓度和光径长度的乘积成正比关系。当待测物质与标准物质溶液的成分相同时,吸光系数 E 相等,而待测物质与标准物质溶液的光径长度也相等时,吸光度则与溶液的浓度成正比。

在实际工作中,常用已知浓度求算法或标准曲线查找法测定某一物质溶液的浓度。

一、已知浓度求算法

在相同条件下测定已知浓度 (C_s) 标准溶液的吸光度 (A_s),同时测定未知浓度 (C_u) 样品溶液 (待测溶液) 的吸光度 (A_u),由式(1)可得:

$$A_u = E_u \cdot C_u \cdot L_u \quad (2)$$

$$A_s = E_s \cdot C_s \cdot L_s \quad (3)$$

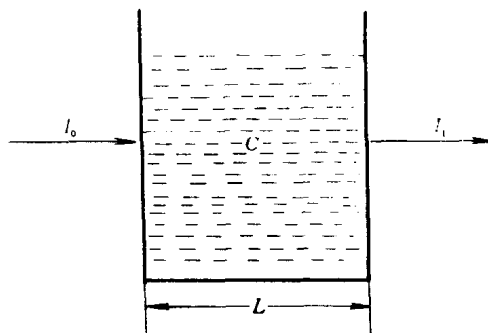


图 1-1 光线通过溶液示意图

I_0 : 入射光强度; I_t : 透射光强度;
 L : 溶液光径长度; C : 溶液浓度

因为被测物质与标准物质的成分相同, $E_u = E_s$; 比色皿规格相同, $L_u = L_s$; 所以 A_u 与 A_s 之比就等于两溶液浓度之比。

$$A_u : A_s = C_u : C_s \quad (4)$$

由此得出:
$$C_u = \frac{A_u}{A_s} \times C_s \quad (5)$$

二、标准曲线查找法

配制已知浓度的标准物质的梯度溶液(呈梯度递增的不同已知浓度), 用与被测溶液相

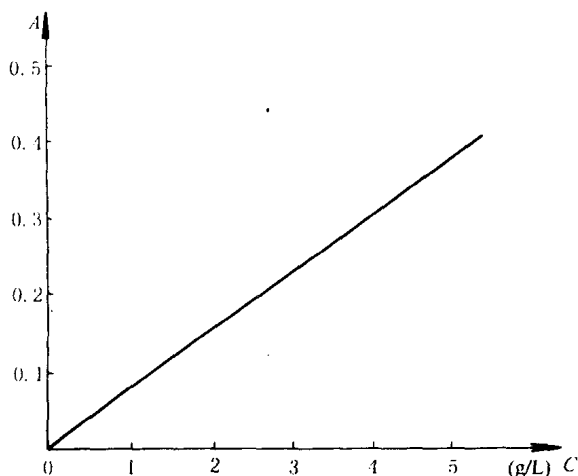


图 1-2 浓度-吸光度标准曲线示意图

同的方法处理显色, 在分光光度计上分别读取特定波长下各已知浓度的标准溶液的吸光度。以各已知浓度为横坐标, 以其相应的吸光度为纵坐标, 在方格坐标纸上作图即得标准曲线, 如图 1-2。此后在测定未知浓度的该物质时, 无需再作标准溶液的处理, 只需依据待测溶液的吸光度在标准曲线上便可查找到其对应的浓度。

一般来说, 已知浓度求算法比标准曲线查找法的误差要小。而标准曲线查找法却适合于大批量样品的测定, 具有节省人力和节约试剂等优点。

应特别注意, 制作标准曲线时, 标准溶液的测定必须与未知浓度样品的测定在同一台分光光度计上进行, 而且要求操作步骤和其它条件完全一致。否则, 会引起很大误差。另外, 所作标准曲线只能供短期使用, 而且应定期进行校验。

I 可见光分光光度计的使用

一、目的要求

- (1) 了解可见光分光光度法的基本原理。
- (2) 掌握可见光分光光度计的操作方法。

二、实验原理

依据硫酸铜溶液在一定浓度范围内, 在特定波长下的吸光度与浓度成正比的关系, 通过未知和已知浓度硫酸铜溶液的吸光度之比, 可计算出待测硫酸铜溶液的浓度。或绘制已知硫酸铜梯度浓度与其相应吸光度的标准曲线, 用待测硫酸铜溶液的吸光度在标准曲线上查找出其相应的浓度。

三、实验材料

(一) 试剂

(1) 已知浓度系列的标准硫酸铜溶液 配制浓度分别为 1g/L、2g/L、4g/L、6g/L 和 8g/L 硫酸铜溶液备用。

(2) 空白溶液 (蒸馏水)

(3) 待测浓度硫酸铜溶液 配制浓度范围为 4~8g/L 的硫酸铜溶液备用。

(二) 器材

722 型光栅分光光度计 1 台

四、实验方法

(一) 722 型光栅分光光度计的结构和工作原理

1. 仪器结构

722 型光栅分光光度计由光源、单色器、试样室、光电管、线性运算放大器、对数运算放大器及数字显示器等部件组成, 基本结构如图 1-3 所示。

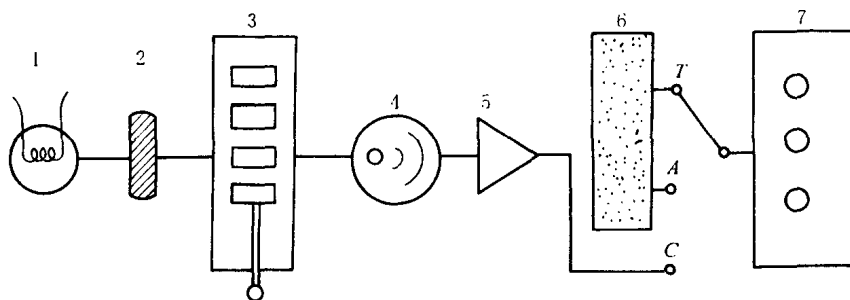


图 1-3 722 型光栅分光光度计结构示意图

1. 光源; 2. 单色器; 3. 试样室; 4. 光电管;
5. 线性运算放大器; 6. 对数运算放大器; 7. 数字显示器

2. 工作原理

如图 1-4 所示, 由光源灯 (1) 发出的连续辐射光线, 经滤光片 (2) 和球面反射镜 (3) 至单色器的入射狭缝 (4) 聚焦成像, 光束通过入射狭缝 (4) 经平面反射镜 (6) 到准直镜 (7) 产生平行光, 射至光栅 (8) 上色散后又以准直镜 (7) 聚焦在出射狭缝 (10) 上形成一连续光谱, 由出射狭缝选择射出一定波长的单色光, 经聚光镜 (11) 聚光后, 通过试样室 (12) 中的测试溶液部分吸收后, 光经光门 (13) 再照射到光电管 (14) 上。调整仪器, 使透光度为 100%, 再移动试样架拉手, 使同一单色光通过测试溶液后照射到光电管上。如果被测样品有光吸收现象, 光量减弱, 由光电转换元件将变化的光信号转变为电信号, 经线性运算放大器和对数运算放大器处理, 将光能的变化程度通过数字显示器显示出来。可根据需要直接在数字显示器上读取透光度 (T)、吸光度 (A) 或浓度 (C)。

(二) 722 型光栅分光光度计的使用方法

722 型光栅分光光度计的外观如图 1-5 所示。

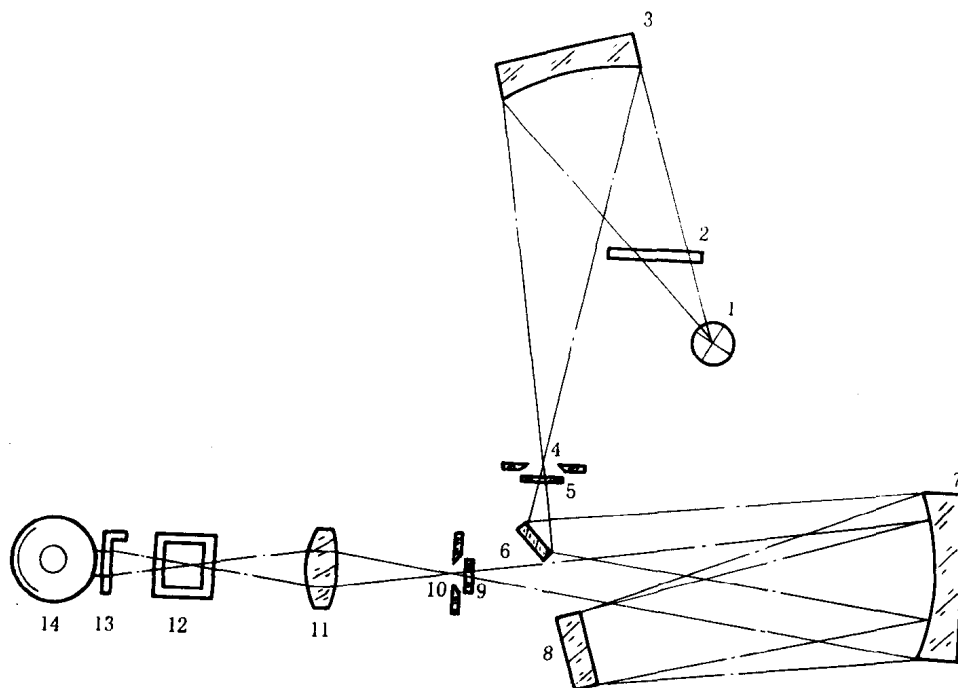


图 1-4 722 型光栅分光光度计光学系统示意图

1. 光源灯；2. 滤光片；3. 球面反射镜；4. 入射狭缝；5. 保护玻璃；6. 平面反射镜；7. 准直镜；
8. 光栅；9. 保护玻璃；10. 出射狭缝；11. 聚光镜；12. 试样室；13. 光门；14. 光电管

722 型光栅分光光度计的使用方法如下：

- (1) 调节灵敏度 将灵敏度旋钮置于放大倍数最小的“1”档；
- (2) 预热仪器 开启电源，开关指示灯亮，使仪器预热 20min，将选择开关置于“T”位；
- (3) 调透光度“0” 打开试样室盖（光门自动关闭），调节“0”旋钮，使数字显示为“00.0”；
- (4) 放置比色皿 将盛有溶液的比色皿置于比色皿架中；
- (5) 调节波长 旋动波长旋钮，调节所需波长；
- (6) 调节透光度“100” 合上试样室盖，推动试样架拉手，使空白溶液或对照溶液比色皿置于光路，调节“100”旋钮，使数字显示为“100.0”（若显示不到，适当增加灵敏度档位，重新调节步骤“3”后再按步骤“6”操作，保证“00.0”和“100.0”分别到位）；
- (7) 测定透光度 T 推动试样架拉手，将标准溶液或被测溶液置于光路，数字显示器即显示出位于光路溶液的透光度（ T ）；
- (8) 测定吸光度 A 参照步骤“3”和“6”分别调整仪器的“00.0”和“100.0”，将选择开关置于“A”，把空白或对照溶液置于光路，旋动“消光零”旋钮，使数字显示为“00.0”，再将标准溶液或被测溶液移入光路，在数字显示器上读取吸光度（ A ）；
- (9) 测定浓度 C 参照步骤“3”和“6”分别调整仪器的“00.0”和“100.0”，把选择开关置于“C”，将标准溶液推入光路，调节“浓度”旋钮，使数字显示为其浓度值，再将

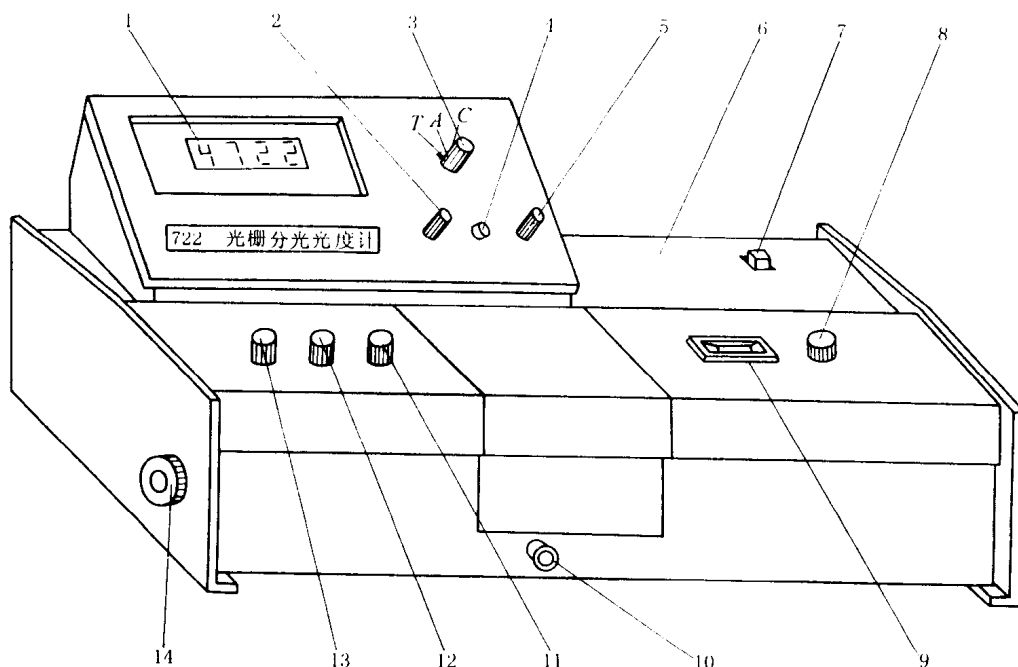


图 1-5 722 型光栅分光光度计外观示意图

1. 数字显示器；2. 吸光度调零旋钮（消光零）；3. 选择开关；4. 吸光度调斜率电位器；
5. 浓度旋钮；6. 光源室；7. 电源开关；8. 波长旋钮；9. 波长刻度窗；10. 试样架拉手；
11. 100%T 旋钮；12. 0%T 旋钮（0 旋钮）；13. 灵敏度调节旋钮；14. 干燥器

被测溶液推入光路，数字显示器上即显示出被测溶液浓度（C）。

（三）硫酸铜溶液的测定

用蒸馏水作空白，调节波长 690nm，按步骤“8”操作，分别读取系列标准硫酸铜溶液和待测溶液的吸光度。每一数据重复读取 3 次，取平均值。

五、结果处理

（一）标准浓度求算法

将 6g/L 标准硫酸铜溶液的吸光度及其浓度和待测硫酸铜溶液的吸光度代入公式（5），以求得待测硫酸铜溶液的浓度：

$$\text{待测硫酸铜溶液 (g/L)} = \frac{A_u}{A_s} \times C_s = \frac{A_u}{A_s} \times 6 \text{ (g/L)}$$

（二）标准曲线查找法

在方格坐标纸上，以各标准硫酸铜溶液的浓度为横坐标，以各浓度相应的吸光度为纵坐标，绘制标准曲线。用待测浓度的硫酸铜溶液的吸光度便可在标准曲线上查得相应的浓度数值。

六、注意事项

- （1）预热是保证仪器准确稳定的重要步骤。

(2) 比色皿的清洁程度, 直接影响实验结果。因此, 特别要将比色皿清洗干净。先用自来水将用过的比色皿反复冲洗, 然后用蒸馏水淋洗, 倒立于滤纸片上, 待干后再收回比色皿盒中。必要时, 还要对比色皿进行更精细的处理, 如用浓硝酸或铬酸洗液浸泡、冲洗。

(3) 比色皿与分光光度计应配套使用, 否则会引起较大的实验误差。

(4) 比色皿内盛液应为其容量的 $2/3$, 过少会影响实验结果, 过多易在测量过程中外溢, 污染仪器。

(5) 拿放比色皿时, 应持其“毛面”, 杜绝接触光路通过的“光面”。如比色皿外表面有液体, 应用绸布拭干, 以保证光路通过时不受影响。

(6) 若待测液浓度过大, 应选用短光径的比色皿, 一般应使吸光度读数处于 $0.1 \sim 0.8$ 范围内为宜。由于测定空白、标准和待测溶液时使用同样光径的比色皿, 故不必考虑因光径变化而引起的影响。

七、思考题

(1) 分光光度法对未知浓度物质溶液进行定量测定时, 为什么要放置标准溶液? 两者之间是什么关系?

(2) 已知浓度求算法和标准曲线查找法各有什么优缺点? 它们分别适用于什么具体情况?

(3) 同时改变空白、标准和待测溶液的光径, 为什么不会影响测定结果?

II 紫外分光光度计的使用

一、目的要求

(1) 了解紫外分光光度法的基本原理。

(2) 掌握紫外分光光度计的操作方法。

二、实验原理

用紫外光源通过分光光度技术对物质进行测定的方法叫作紫外分光光度法。所使用的仪器叫作紫外分光光度计。因为许多化合物的分子结构中存在共轭双键, 在 $200 \sim 400\text{nm}$ 的紫外光区具有吸收光的特性, 所以无需进行显色反应便能直接测定。在生物化学实验中, 常用紫外分光光度法对蛋白质和核酸进行定性、定量测定。蛋白质分子中所含酪氨酸、色氨酸和苯丙氨酸等芳香族氨基酸残基在波长 280nm 处具有最大吸收峰。故常用波长 280nm 处的吸光度测定蛋白质的浓度。

组成核酸的碱基也含有共轭双键, 其最大吸收峰的波长在 260nm 处。但在 280nm 处也有一定的光吸收, 对蛋白质的测定有一定的干扰作用。若分别测定 280nm 和 260nm 处的吸光度, 可通过经验公式消除核酸对蛋白质定量测定的影响。

紫外分光光度法可对微量蛋白质进行定量测定(蛋白质浓度范围在 $1 \sim 10\text{g/L}$)。因不需显色, 不必对样品进行复杂处理, 所以操作便捷, 而且可回收样品。此外, 盐类在 280nm 处无光吸收, 样品中存在少量的盐类也不会影响测定结果。

紫外分光光度法完全符合 Lambert-Beer 定律的基本原理。在其它条件保持一致的情况下，被测溶液的吸光度与被测溶液的浓度成正比。

三、实验材料

(一) 试剂

- (1) 稀释血清 准确吸取血清 0.1ml，置于 50ml 容量瓶中，用生理盐水稀释至刻度。
- (2) 生理盐水

(二) 器材

- | | | |
|------------------------|-------|-----|
| (1) UV-754 型紫外-可见分光光度计 | | 1 台 |
| (2) 刻度吸管 | 0.2ml | 1 支 |
| (3) 容量瓶 | 50ml | 1 只 |

四、实验方法

(一) UV-754 型紫外-可见分光光度计的结构和工作原理

UV-754 型紫外-可见分光光度计是具有微处理和打印输出功能的仪器。

1. 仪器结构

如图 1-6 所示，UV-754 型紫外-可见分光光度计由光源（钨灯或氙灯）、单色器、试样室、接受器（光电管）、微电流放大器、A/C 转换器、打印机、键盘和显示器等部件组成。微处理机（CPU）通过输入、输出（I/O）对微电流放大器、显示器和打印机等部件进行控制，实现仪器的整体功能。

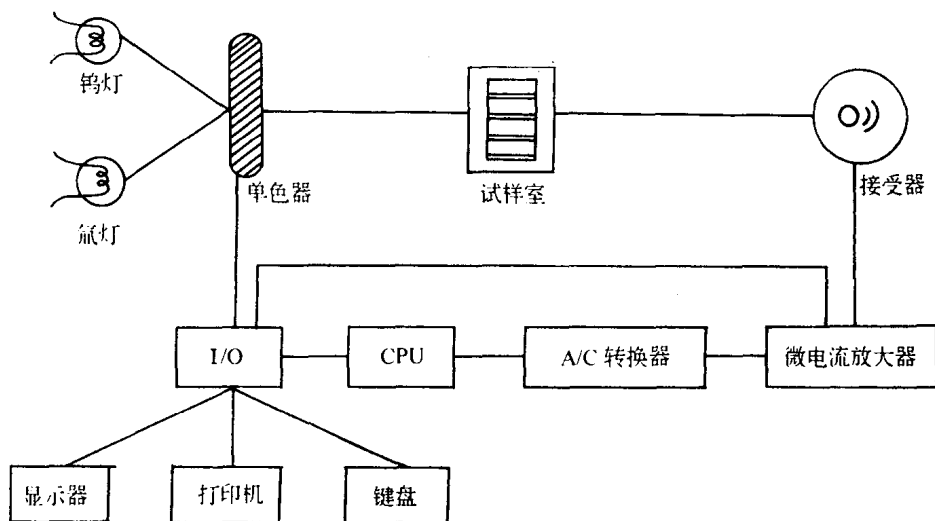


图 1-6 UV-754 型紫外-可见分光光度计结构示意图

2. 工作原理

如图 1-7 所示，由光源氙灯或钨灯（1 或 2）发出的连续辐射光线经滤光镜（3）和聚光镜（4）至单色器入射狭缝（5）处聚焦成像，再经平面反射镜（6）反射至准直镜（7）产生平行光射至光栅（8）在光栅上色散后又经准直镜（7）聚焦在出射狭缝（9）上成一连续

光谱, 经出射狭缝射出的光在聚光镜 (10) 聚光后分别通过试样室 (11) 中的空白溶液 (或对照溶液)、标准溶液或样品溶液, 被部分吸收后光经光门 (12) 再照射到光电管 (13) 上。被光电管接收的光信号再被转换成电信号, 后者通过输入、输出口 (I/O, 见图 1-6) 进入微处理机进行调零、变换对数、浓度计算以及打印数据等处理, 将检测结果通过显示器和打印系统显示出来。

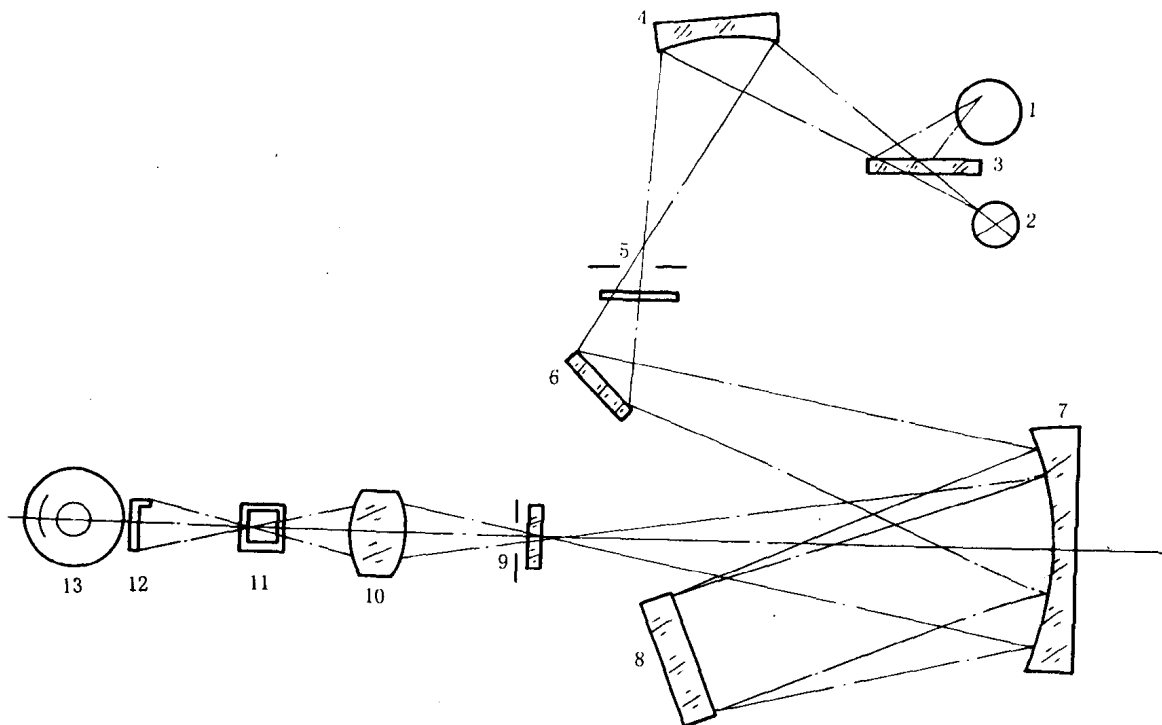


图 1-7 UV-754 型紫外-可见分光光度计光学系统示意图

1. 氘灯; 2. 钨灯; 3. 滤光镜; 4. 聚光镜; 5. 入射狭缝; 6. 平面反射镜;
7. 准直镜; 8. 光栅; 9. 出射狭缝; 10. 聚光镜; 11. 试样室; 12. 光门; 13. 光电管

(二) UV-754 型紫外可见分光光度计的外观与键盘

1. 仪器外观

UV-754 型紫外可见分光光度计的外观如图 1-8 所示。

2. 键盘内容

UV-754 型紫外-可见分光光度计的键盘如图 1-9 所示。

UV-754 型紫外-可见分光光度计的键盘包括以下内容:

- (1) 功能键 F1~F8, 暂无功能, 备扩展使用。
- (2) T 键 具有三种状态——“透光度 0~100%”、“透光度 0~20%”和透光度“90%~100%”。
- (3) A/C 键 吸光度/浓度转换键, 按此键可分别表示“吸光度 0~3A”、“吸光度 0~1A”、“吸光度 0~0.1A”和“浓度”四种状态。
- (4) 送入键 只在“A/C 键”处于“浓度”状态时才起作用。按下此键, 可通过“设