

# 生物技术综合实验 简明教程

齐志涛 主编

化学工业出版社

# 生物技术综合实验 简明教程

齐志涛 主编



化学工业出版社

· 北 京 ·

本书首先介绍了生物技术实验常用仪器设备的使用、生物技术相关实验原理及操作,然后精选了 21 个实验,涵盖核酸、蛋白质的提取与分离,电泳技术,PCR 技术,免疫组织化学技术,原核表达及纯化,免疫印迹等内容。同时,本书在生物技术实验的基础上,介绍了高效液相色谱技术在水产品中抗生素残留方面的应用以及鱼类细胞原代培养技术。在本书的附录中收集了常用的生物技术实验所涉及的缓冲液、试剂配方以及常用的原核表达载体信息。

本书可以作为农林、综合、师范等高等院校生物及相关专业的教材或教学参考书,也可供生物技术领域的专业技术人员使用和参考。

### 图书在版编目(CIP)数据

生物技术综合实验简明教程/齐志涛主编. —北京:  
化学工业出版社, 2017. 11  
ISBN 978-7-122-30678-4

I. ①生… II. ①齐… III. ①生物工程-实验-教材  
IV. ①Q81-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 233641 号

---

责任编辑:李玉晖

文字编辑:向东

责任校对:边涛

装帧设计:王晓宇

---

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印刷:北京市振南印刷有限责任公司

装订:北京国马印刷厂

710mm×1000mm 1/16 印张 5½ 字数 95 千字 2017 年 12 月北京第 1 版第 1 次印刷

---

购书咨询:010-64518888 (传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

---

定 价: 25.00 元

版权所有 违者必究

# 前言

## FOREWORD

生物技术是 21 世纪最具发展前景和活力的学科,在农业、医学等领域的应用日益广泛。本书以现代生物技术理论及实验为主线,分两章介绍了生物技术常用仪器设备的使用、生物技术相关实验原理及操作。全书共 21 个实验,涵盖了核酸、蛋白质的提取与分离、电泳技术、PCR 技术、免疫组织化学技术、原核表达及纯化、免疫印迹等内容。同时,本书在生物技术实验的基础上,介绍了高效液相色谱技术在水产品中抗生素残留方面的应用以及鱼类细胞原代培养技术。在本书的附录中收集了常用的生物技术实验所涉及的缓冲液、试剂配方以及常用的原核表达载体信息,方便读者进行查阅。本书力求文章简洁,尽量以图片的形式展示生物专业相关实验的操作及原理。同时,本书注重实用性,优化实验步骤及方法,可以帮助学生掌握生物技术相关的基本实验原理和基本操作技能,使学生在分析问题和解决问题方面受到严格的训练,以培养高素质应用型生物技术人才。

本书由齐志涛主编,齐志涛、王资生、乔幅、张启焕编写。

本书出版得到盐城工学院校级教材出版基金资助。

由于编者水平的限制和时间仓促等方面的问题,本书还存在很多需要改进的地方,希望各位读者对本书的不足之处予以批评指正。

编者

2017 年 9 月

# 目录

## CONTENTS

### 第一章 绪 论

|                     |    |
|---------------------|----|
| 第一节 常用仪器设备的使用 ..... | 1  |
| 一、离心机 .....         | 1  |
| 二、移液管 .....         | 2  |
| 三、移液器 .....         | 4  |
| 四、高压灭菌锅 .....       | 6  |
| 五、PCR 仪的使用 .....    | 7  |
| 六、超净工作台 .....       | 9  |
| 七、紫外-可见分光光度计 .....  | 10 |
| 第二节 生物实验室个人防护 ..... | 12 |

### 第二章 生物技术实验

|                                             |    |
|---------------------------------------------|----|
| 实验一 CTAB 法提取植物 DNA .....                    | 13 |
| 实验二 动物组织 DNA 的提取 .....                      | 15 |
| 实验三 动物组织总 RNA 的提取 .....                     | 17 |
| 实验四 质粒 DNA 的提取 .....                        | 19 |
| 实验五 DNA 的琼脂糖凝胶电泳 .....                      | 21 |
| 实验六 质粒的双酶切鉴定 .....                          | 25 |
| 实验七 感受态的制备及外源 DNA 转化 .....                  | 28 |
| 实验八 cDNA 的合成 .....                          | 31 |
| 实验九 PCR 技术—— $\beta$ -actin 基因中间片段的克隆 ..... | 32 |
| 实验十 动物组织蛋白质的提取 .....                        | 33 |
| 实验十一 BCA 法测定动物组织蛋白质浓度 .....                 | 34 |
| 实验十二 考马斯亮蓝法测定动物组织蛋白质浓度 .....                | 36 |
| 实验十三 蛋白质的 SDS-PAGE 分析 .....                 | 37 |

|       |                               |    |
|-------|-------------------------------|----|
| 实验十四  | 多克隆抗体的制备 .....                | 42 |
| 实验十五  | 免疫组织化学技术 .....                | 45 |
| 实验十六  | 原位杂交技术 .....                  | 49 |
| 实验十七  | 原核表达 .....                    | 54 |
| 实验十八  | 原核表达蛋白的纯化 .....               | 56 |
| 实验十九  | 免疫印迹 (Western Blot) .....     | 58 |
| 实验二十  | 水产品中恩诺沙星残留量的测定——高效液相色谱法 ..... | 60 |
| 实验二十一 | 鱼类细胞原代培养 .....                | 61 |
| 一、    | 实验室常规试剂配制方法 .....             | 64 |
| 二、    | 常用原核表达载体结构及序列 .....           | 73 |

## 参考文献

## 附 录

# 第一章

# 绪论

Chapter 01

## 第一节 常用仪器设备的使用

生物技术是涉及基因工程、分子生物学、生物化学、遗传学、细胞生物学、胚胎学、免疫学、有机化学、无机化学、物理化学、物理学、信息学及计算机科学等的多学科技术，其中不乏使用有毒化学药品及微生物，因此，在实验操作过程中要严格遵守实验室操作规范。

### 一、离心机

离心机是生物实验室常用的仪器设备，可以利用离心力将悬浮的固体颗粒与液体分开；或将乳浊液中两种密度不同又互不相溶的液体分开；也可用于排除湿固体中的液体。离心机如图 1-1 所示。



图 1-1 离心机

#### 1. 工作原理

离心机的作用原理有离心过滤和离心沉降两种。离心过滤是使悬浮液在离心

力场下产生的离心压力作用在过滤介质上,使液体通过过滤介质成为滤液,而固体颗粒被截留在过滤介质表面,从而实现液-固分离;离心沉降是利用悬浮液(或乳浊液)密度不同的各组分在离心力场中迅速沉降分层的原理,实现液-固(或液-液)分离。衡量离心机分离性能的重要指标是分离因数。它表示被分离物料在转鼓内所受的离心力与其重力的比值,分离因数越大,通常分离也越迅速,分离效果越好。

## 2. 使用守则

① 离心机在预冷状态时,离心机盖必须关闭,离心结束后取出转头要倒置于实验台上,擦干腔内余水,离心机盖处于打开状态。

② 转头在预冷时转头盖可摆放在离心机的平台上,或摆放在实验台上,千万不可不拧紧浮放在转头上,因为一旦误启动,转头盖就会飞出,造成事故!

③ 转头盖在拧紧后一定要用手指触摸转头与转盖之间有无缝隙,如有缝隙要拧开重新拧紧,直至确认无缝隙方可启动离心机。

④ 在离心过程中,操作人员不得离开离心机室,一旦发生异常情况,操作人员不能关电源(POWER),要按 STOP。在预冷前要填写好离心机使用记录。

⑤ 不得使用伪劣的离心管,不得用老化、变形、有裂纹的离心管。

⑥ 在节假日和晚间最后一个使用离心机的人例行安全检查后方能离去。

## 3. 使用注意事项

目前,实验室常用的是电动离心机,电动离心机转动速度快,要注意安全,特别要防止在离心机运转期间,因不平衡或试管垫老化而使离心机边工作边移动,以致从实验台上掉下来,或因盖子未盖,离心管因振动而破裂后,玻璃碎片旋转飞出,造成事故。因此,使用离心机时,必须注意以下操作。

① 离心机套管底部要垫棉花或试管垫。

② 电动离心机如有噪声或机身振动时,应立即切断电源,即时排除故障。

③ 离心管必须对称放入套管中,防止机身振动,若只有一支样品管,另外一支要用等质量的水代替。

④ 启动离心机时,应盖上离心机顶盖后,方可慢慢启动。

⑤ 分离结束后,先关闭离心机,在离心机停止转动后,方可打开离心机盖,取出样品,不可用外力强制其停止运动。

⑥ 离心时间一般为 1~2min,在此期间,实验者不得离开去做别的事。

## 二、移液管

移液管是一种量出式仪器,如图 1-2 所示,只用来测量它所放出溶液的体



积。它是一根中间有一膨大部分的细长玻璃管，其下端为尖嘴状，上端管颈处刻有一条标线，是所移取的准确体积的标志。常用的移液管有 5mL、10mL、25mL 和 50mL 等规格。通常又把具有刻度的直形玻璃管称为吸量管。常用的吸量管有 1mL、2mL、5mL 和 10mL 等规格。移液管和吸量管所移取的体积通常可准确到 0.01mL。

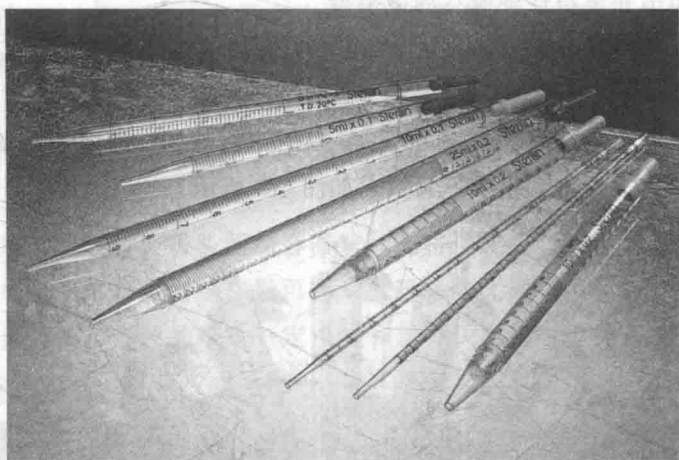


图 1-2 移液管

移液管的使用步骤如下。

(1) 使用前 使用移液管，首先要看一下移液管标记、准确度等级、刻度标线位置等。使用移液管前，应先用铬酸洗液润洗，以除去管内壁的油污。然后用自来水冲洗残留的洗液，再用蒸馏水洗净。洗净后的移液管内壁应不挂水珠。移取溶液前，应先用滤纸将移液管末端内外的水吸干，然后用欲移取的溶液涮洗管壁 2~3 次，以确保所移取溶液的浓度不变。

(2) 吸液 用右手的拇指和中指捏住移液管的上端，将管的下口插入欲吸取的溶液中，插入不要太浅或太深，一般为 10~20mm 处，太浅会产生吸空，把溶液吸到洗耳球内弄脏溶液，太深又会在管外沾附溶液过多。左手拿洗耳球，先把球中空气压出，再将球的尖嘴接在移液管上口，慢慢松开压扁的洗耳球使溶液吸入管内，先吸入该管容量的 1/3 左右，用右手的食指按住管口，取出，横持，并转动管子使溶液接触到刻度以上部位，以置换内壁的水分，然后将溶液从管的下口放出并弃去，如此用溶液反复洗 3 次后，即可吸取溶液至刻度以上，立即用右手的食指按住管口。

(3) 调节液面 将移液管向上提升离开液面，管的末端仍靠在盛溶液器皿的内壁上，管身保持直立，略微放松食指（有时可微微转动吸管）使管内溶液慢慢从下口流出，直至溶液的弯月面底部与标线相切为止，立即用食指压紧管口。将

尖端的液滴靠壁去掉，移出移液管，插入承接溶液的器皿中。

(4) 放出溶液 承接溶液的器皿如是锥形瓶，应使锥形瓶倾斜  $30^\circ$ ，移液管直立，管下端紧靠锥形瓶内壁，稍松开食指，让溶液沿瓶壁慢慢流下，全部溶液流完后需等 15s 后再拿出移液管，以便使附着在管壁的部分溶液得以流出。如果移液管未标明“吹”字，则残留在管尖末端内的溶液不可吹出，因为移液管所标定的量出容积中并未包括这部分残留溶液。

### 三、移液器

移液器又称移液枪 (pipettes 或 transferpette)，是一种用于定量转移液体的仪器，被广泛用于生物、化学等领域，如图 1-3 所示。

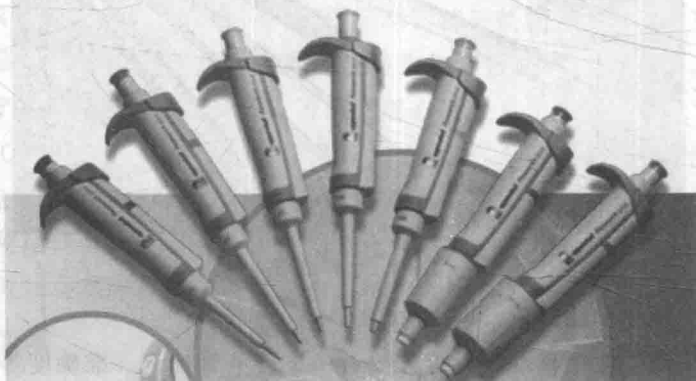


图 1-3 移液器

#### 1. 工作原理

移液器的工作原理是活塞通过弹簧的伸缩运动来实现吸液和放液。在活塞推动下，排出部分空气，利用大气压吸入液体，再由活塞推动空气排出液体。使用移液器时，配合弹簧的伸缩性特点来操作，可以很好地控制移液的速度和力度。

#### 2. 使用步骤

一个完整的移液循环，包括吸头安装—容量设定—预洗吸头—吸液—放液—卸掉吸头等六个步骤。每一个步骤都需要遵循的操作规范。

(1) 吸头安装 采用旋转安装法安装吸头，具体的做法为，把移液器白套筒顶端插入吸头（无论是散装吸头还是盒装吸头都一样），在轻轻用力下压的同时，把手中的移液器按逆时针方向旋转  $180^\circ$ 。

(2) 容量设定 采用两步法设定移液器容量，一是粗调，即通过排放按钮将容量值迅速调整至接近自己的预想值；二是细调，当容量值接近自己的预想值以后，应将移液器横置，水平放至自己的眼前，通过调节轮慢慢地将容量值调至预

想值,从而避免视觉误差所造成的影响。

(3) 预洗吸头 在我们安装了新的吸头或增大了容量值以后,应该把需要转移的液体吸取、排放2~3次,使吸头内壁形成一道同质液膜,确保移液工作的精度和准度,使整个移液过程具有极高的重现性。其次,在吸取有机溶剂或高挥发液体时,挥发性气体会在白套筒室内形成负压,从而产生漏液的情况,这时就需要我们预洗4~6次,让白套筒室内的气体达到饱和,负压就会自动消失。

(4) 吸液 先将移液器排放按钮按至第一停点,再将吸头垂直浸入液面,浸入的深度为:P2、P10 小于或等于1mm, P20、P100、P200 小于或等于2mm, P1000 小于或等于3mm, P5mL、P10mL 小于或等于4mm,平稳松开按钮,切记不能过快。

(5) 放液 放液时,吸头紧贴容器壁,先将排放按钮按至第一停点,略做停顿以后,再按至第二停点,这样做可以确保吸头内无残留液体。

(6) 卸掉吸头 卸掉的吸头一定不能和新吸头混放,以免产生交叉污染。

### 3. 使用注意事项

① 设定移液体积:从大量程调节至小量程为正常调节方法,逆时针旋转刻度即可从小量程调节至大量程时,应先调至超过设定体积刻度,再回调至设定体积(这是因为计数器里面有一定的空隙,需要弥补),这样可以保证移液器的精确度。

② 装配移液枪头:将移液枪垂直插入吸头,左右旋转半圈,上紧即可。切记用力不能过猛,用移液器撞击吸头,长期这样操作会导致移液器的零件因撞击而松散,严重时会导致调节刻度的旋钮卡住。

③ 吸液及放液:吸液时,浸入过深的话,液压会对吸液的精确度产生一定的影响。吸液前枪头先在液体中预润洗,慢吸慢放,放液时如果量很小则应使吸头尖端靠容器内壁。

④ 吸有液体的移液枪不应平放,枪头内的液体很容易污染枪内部而导致枪的弹簧生锈。

⑤ 移液枪在每次实验后应将刻度调至最大,让弹簧回复原型以延长移液枪的使用寿命。

⑥ 吸取液体时一定要缓慢平稳地松开拇指,绝不允许突然松开,以防将溶液吸入过快而冲入取液器内腐蚀柱塞而造成漏气。

⑦ 为获得较高的精度,吸头需预先吸取一次样品溶液,然后再正式移液,因为吸取血清蛋白质溶液或有机溶剂时,吸头内壁会残留一层“液膜”,造成排液量偏小而产生误差。

⑧ 浓度和黏度大的液体，会产生误差，为消除其误差的补偿量，可由试验确定，补偿量可用调节旋钮改变读数窗的读数来进行设定。

⑨ 在设置量程时，请注意旋转到所需量程数字清清楚楚地显示在显示窗中，所设量程在移液器量程范围内不要将按钮旋出量程，否则会卡住机械装置，损坏移液器。

⑩ 移液器严禁吸取有强挥发性、强腐蚀性的液体（如浓酸、浓碱、有机物等）。

⑪ 严禁使用移液器吹打混匀液体。

⑫ 不要用大量程的移液器移取小体积的液体，以免影响准确度。同时，如果需要移取量程范围以外较大量的液体，请使用移液管进行操作。

## 四、高压灭菌锅

高压灭菌锅（全自动高压蒸汽灭菌锅见图 1-4）适用于医疗卫生事业、科研、农业等单位，可用于医疗器械、敷料、玻璃器皿、溶液培养基等的消毒灭菌。



图 1-4 全自动高压蒸汽灭菌锅

### 1. 使用步骤

(1) 开盖 向左转动手轮数圈，直至转动到顶，使锅盖充分提起，拉起左立柱上的保险销，向右推开横梁，移开锅盖。

(2) 通电 接通电源，此时欠压蜂鸣器响，显示本机锅内无压力（当锅内压力升至约 0.03MPa 时蜂鸣器自动关闭），控制面板上的低水位灯亮，锅内属断水状态。

(3) 加水 将纯水或生活用水直接注入蒸发锅内约 8L，同时观察控制面板上的水位灯，当加水至低水位灯灭、高水位灯亮时停止加水。当加水过多发现内胆有存水，开启下排汽阀放去内胆

中的多余水量。

(4) 放样 将灭菌物品仪器堆放在灭菌筐内，各包之间留有间隙，有利于蒸汽的穿透，提高灭菌效果。密封：把横梁推向左立柱内，横梁必须全部推入立柱槽内，手动保险销自动下落锁住横梁，旋紧锅盖。

(5) 设定温度和时间 按一下确认键, 进入温度设定状态, 按上下键可以调节温度值, 再次按下确认键, 进入时间设定状态, 按左键或上下键设置需要的时间, 再次按动确认键, 设定完成, 仪器进入工作状态, 开始加热升温。

(6) 灭菌结束后, 关闭电源, 待压力表指针回落零位后, 开启安全阀或排汽排水总阀, 放净灭菌室内的余气。若灭菌后需迅速干燥, 需打开安全阀或排汽排水总阀, 让灭菌器内的蒸汽迅速排出, 使物品上残留的水蒸气快速挥发。灭菌液体时严禁使用干燥方法。

(7) 启盖 同步骤 (1)。

## 2. 使用注意事项

① 堆放灭菌包时应注意安全阀放汽孔位置必须留出空隙, 保障其畅通, 否则易造成锅体爆裂事故。

② 灭菌液体时, 应将液体灌装在耐热玻璃瓶中, 以不超过  $3/4$  体积为好, 瓶口选用棉花纱塞。

③ 对高压灭菌锅进行补水时尽量使用纯水, 以防产生水垢。

# 五、PCR 仪的使用

PCR (polymerase chain reaction, 聚合酶链反应), 是在体外快速扩增特定基因或 DNA 序列的方法, 只需在试管中建立反应, 经数小时后, 就能将极其微量的目的基因或某一特定 DNA 片段扩增数十倍到千百万倍。PCR 技术可用于分离和扩增目的基因、基因突变检测、疾病诊断等领域。

## 1. PCR 技术原理

在微量离心管中, 加入适量的缓冲液, 微量的模板 DNA、四种脱氧单核苷酸、耐热性多聚酶和引物, 通过高温变性、低温退火和适温延伸三个阶段为一个循环的反应过程, 每一次循环使特异区段的基因拷贝数放大一倍, 一般样品经过 30 次循环, 最终使基因放大了数百万倍 (图 1-5)。

## 2. PCR 仪的使用

本书仅以 BioRad T100 PCR 仪为例 (图 1-6), 简单介绍 PCR 仪的使用, 不同厂家生产的 PCR 仪的使用参考厂家所提供的说明书进行。

(1) 创建新程序

① 主菜单上点击 New Protocol。

② New Protocol 界面显示图形视图模式的程序。点击相应的按键设定对应的参数: 温度、时间、循环数、GOTO 循环开始步骤、样品体积、热盖温度。

③ 如果想选择一个步骤, 点击温度键以外的空白区域, 该步骤会高亮显示。

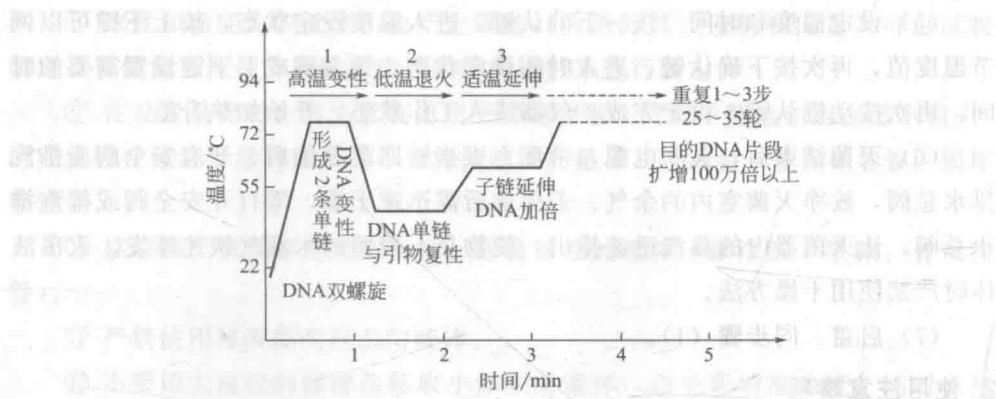


图 1-5 PCR 技术原理



图 1-6 BioRad T100 PCR 仪

此时可在该步骤后增加新步骤、删除所选步骤或重新输入该步骤的参数。

④ 点击 Insert 按键增加实验步骤。菜单会显示所需增加的步骤类型。温度固定的步骤选择 Temperature，温度梯度步骤选择 Gradient，典型循环步骤（变性、退火和延伸）选择 GOTO。

⑤ 点击 Delete，删除实验步骤。

⑥ 如果实验步骤需要设置高级参数，如温度、增减温度、时间、延伸时间、梯度和升降温速率，请点击 Options。

⑦ 点击 Save 保存程序。

⑧ 点击 Run 运行程序。如果无需保存，可在设置 Run 过程中随时点击开始运行。

## (2) 运行和保存已有程序

① 在主界面选择 Saved Protocols。T100 PCR 仪支持程序文件夹管理系统，Main 文件夹内预装 20 个标准程序。

② 在文件夹列表内选择文件夹，在所选文件夹内选择需要的程序。

③ 在右侧预览栏可以预览所选程序。

④ 点击 Run 开始运行程序，或选择 Edit 编辑所选程序。



### 3. PCR 仪使用注意事项

① PCR 仪使用的环境要恒定，工作环境的温度不能过高或过低，最好在有空调的房间使用，有些 PCR 仪有温度保护程序，在过低的温度下机器不能启动。

② PCR 仪使用的电源要稳定，工作的电压不能波动过大，波动过大会造成电子器件损坏，一般建议将 PCR 仪电源接于稳压电源上。

③ PCR 仪在使用前要详细阅读使用说明书，遇到不能解决的问题不要随意拆卸机器，应该让生产厂商负责售后服务的专业工程师进行处理。

## 六、超净工作台

超净工作台（图 1-7）是一种局部净化设备，即利用空气洁净技术使一定操作区内的空间达到相对的无尘、无菌状态，主要由空气过滤装置、紫外杀菌装置、操作台三部分构成。

### 1. 工作原理

通过风机将空气吸入预过滤器，经由静压箱进入高效过滤器过滤，将过滤后的空气以垂直或水平气流的状态送出，使操作区域达到百级洁净度，保证生产对环境洁净度的要求。超净工作台根据气流的方向分为垂直流超净工作台和水平流超净工作台，根据操作结构分为单边操作及双边操作两种形式，按其用途又可分为普通超净工作台和生物（医药）超净工作台。



图 1-7 超净工作台

### 2. 使用步骤

① 检查超净工作台的操作环境，如环境温度、空气质量、电源等，登记使用信息。

② 将实验需要的器材摆放到超净工作台台面上，灭过菌的材料如培养基等放左侧，工具放右侧。

③ 拉下玻璃挡板，开启紫外线灯照射 30min 进行表面灭菌。

④ 30min 后关闭紫外线灯，打开风机调节至适当的风量，打开照明灯。

⑤ 打开玻璃挡板至约 20cm 高，两只手在操作台内可以顺利操作，用 75% 酒精擦拭双手和台面。

- ⑥ 点燃酒精灯，操作过程严格遵循无菌操作规范。
- ⑦ 操作完成后将实验器材清理出无菌操作台，75%酒精擦拭台面，关闭照明、风机和挡板。
- ⑧ 开启紫外线灯照射 15min 后关闭紫外线灯。

### 3. 使用注意事项

- ① 超净工作台内严禁长时间存放物品。
- ② 紫外线对皮肤和视网膜有很强的刺激性，避免紫外线直射，单层玻璃即可有效阻挡紫外线。
- ③ 操作过程应严格遵守无菌操作规范。
- ④ 避免频繁开关紫外线灯管和照明灯管，延长灯管的使用寿命。
- ⑤ 定期检查空气滤网等滤材，老化严重应更换。

## 七、紫外-可见分光光度计

紫外-可见分光光度法 (ultraviolet-visible spectrophotometry) 通常是指利用物质对 200~800nm 光谱区域内的光具有选择性吸收的现象，对物质进行定性和定量分析的方法。按测量光的单色程度 (即含波长范围的宽窄程度) 分为分光光度法 (spectrophotometry) 和比色法 (colorimetry)。利用比较溶液颜色深浅的方法来确定溶液中有色物质的含量的方法称比色法。应用分光光度计，根据物质对不同波长的单色光的吸收程度不同而对物质进行定性和定量分析的方法称分光光度法 (又称吸光光度法)。分光光度法中，按所用光的波谱区域不同，又可分为紫外分光光度法和可见分光光度法，合称为紫外-可见分光光度法。在紫外及可见光区用于测定溶液吸光度的分析仪器称为紫外-可见分光光度计 (简称分光光度计，见图 1-8)。



图 1-8 紫外-可见分光光度计



## 1. 工作原理

物质的紫外-可见光谱直接地反映了物质分子的电子跃迁，与物质的结构直接相关，不同的物质其紫外-可见吸收光谱不同，而吸收强弱又与吸光物质的量有关。因此，可以由物质光谱的特异性对物质进行定性分析，并根据吸收强度对物质做定量测试。

在一定的条件下，吸光物质对单色光的吸收符合朗伯-比尔定律，即  $A = \epsilon bc$  [ $A$  为吸光度； $b$  为光程长度（即吸收池厚度），cm； $c$  为吸光物质的物质的量浓度，mol/L； $\epsilon$  为摩尔吸光系数， $L/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ ]；当  $b$ 、 $\epsilon$  一定时，吸光物质的吸光度为其浓度  $c$  的单值（线性）函数。因此，对吸光物质的浓度的测试可直接归结为对吸光度  $A$  的测试。

## 2. 使用步骤

① 取下防尘罩，将灵敏度调节钮置于“1”挡（信号放大倍率最小），将选择开关置于“ $\tau$ ”挡。

② 打开试样室盖，检查样品室内是否放有遮光物，若有则取出。插上电源插头，按下电源开关，指示灯亮，仪器预热 20min。

③ 调节波长旋钮，使测试所需波长值对准标线。

④ 在试样室盖打开的情况下，调节“0% $\tau$ ”旋钮，使显示器显示为“000.0”。

⑤ 用所要装盛的溶液润洗洁净的吸收池后，倒入相应的溶液（注意！溶液不可装太满，以免逸出腐蚀仪器，一般装至池高的 2/3~4/5 即可），用滤纸吸干吸收池外壁水珠；用擦镜纸擦亮透光面。将盛参比溶液的吸收池置于试样架的第一格内（靠操作者身边），盛试样的吸收池按试样编号依次置于第二、三、四格内，用弹簧夹固定好，盖上试样室盖。

⑥ 将参比溶液推入光路，调节“100% $\tau$ ”旋钮，使之显示为“100.0”，如果显示不到“100.0”则要增大灵敏度挡，然后再调节“100% $\tau$ ”旋钮，直到显示为“100.0”。

⑦ 重复操作④和⑤，直到显示稳定。

⑧ 稳定地显示“100.0”透射比后，将选择开关置于“A”挡，此时吸光度显示应为“.000”；若不是，则调节吸光度调零钮，使显示为“.000”。将试样推入光路，这时的显示值即试样的吸光度。

⑨ 若测量浓度  $c$ ，先将选择开关旋至“C”挡，将已知浓度的溶液推入光路，调节浓度旋钮，使数字显示器显示为标定值，再将被测溶液推入光路，则显示值即为被测溶液相应的浓度值。