

# 生物化学常用分析仪器

赵忠信 编

辽宁大学生物系生化教研室

一九七八年十月

# 第一章 光电比色计

1.1	比色分析的基本理论	1
1.1.1	Lambert — Beer 定律	
1.1.2	Lambert — Beer 定律的物理意义	
1.2	光电比色计的构造	5
1.2.1	光源和聚光镜	
1.2.2	滤光片	
1.2.3	比色杯	
1.2.4	光电池	
1.2.5	检流计	
1.3	581—G型光电比色计	10
1.3.1	结构与光学系统	
1.3.2	电路分析	
1.3.3	使用方法	
1.4	比色结果的计算	21

第二章 分光光度计

2.1	72型分光光度计的结构原理	28
2.1.1	仪器的结构	
2.1.2	电路系统	
2.2	分光光度计的安装、使用与维护	32
2.2.1	安装要求及接线方法	

2.2.2	使用方法	
2.2.3	仪器的维护	
2.3	常见故障及排除	3 3
2.3.1	磁饱和稳压器的故障	
2.3.2	单色光器的故障	
2.3.3	微电计的故障	
2.4	7 2 1 分光光度计(简介)	3 6
2.4.1	仪器的结构	
2.4.2	仪器的光学系统	
2.4.3	仪器的安装与使用	
2.4.4	仪器的维护和校正	
2.5	7 5 1 型分光光度计(简介)	4 5
2.5.1	仪器的结构	
2.5.2	仪器的工作原理	
2.5.3	光学系统	
2.5.4	操作程序	
2.5.5	仪器的维护、使用及其注意事项	
2.6	分光光度计应用举例	5 3
2.6.1	应用7 2 型分光光度计测定蛋白质浓度	
2.6.2	植物羊蹄蕨醌测定	
2.6.3	用紫外光分光光度计测定味精发酸液中腺嘌呤含量	

### 第三章 火焰光度计

- 3.1 结构原理 ..... 60
- 3.2 HG—I型火焰光度计的操作及注意事项..... 63
  - 3.2.1 操作方法
  - 3.2.2 操作时的注意事项
- 3.3 火焰光度计的应用 ..... 65

### 第四章 荧光计

- 4.1 荧光的定量分析原理..... 67
  - 4.1.1 荧光的产生
  - 4.1.2 荧光定量分析原理
- 4.2 荧光计的构造 ..... 70
  - 4.2.1 基本装置
  - 4.2.2 光源
  - 4.2.3 滤光板
  - 4.2.4 受光器
  - 4.2.5 比色杯
- 4.3 沪江四用荧光计 ..... 72
- 4.4 荧光分光光度计简介..... 74
- 4.5 影响荧光分析的因素 ..... 75
  - 4.5.1 杂质的影响
  - 4.5.2 荧光的衰减

4.5.3	与浓度的关系	
4.5.4	pH的影响	
4.6	荧光分析的应用	76

## 第五章 旋光仪

5.1	偏振光与旋光现象	79
5.1.1	偏振光	
5.1.2	旋光现象	
5.1.3	旋光度与浓度测定	
5.2	旋光仪的结构原理及其使用方法	83
5.2.1	旋光仪的结构	
5.2.2	光学系统及其工作原理	
5.2.3	实验方法	

## 第六章 电泳仪

6.1	电泳的基本原理	89
6.2	电泳仪的主要部件	91
6.2.1	直流电源装置	
6.2.2	电泳槽	
6.2.3	电极	
6.3	Dy—I型电泳仪	93
6.3.1	仪器的工作原理	
6.3.2	电路分析(供参考)	
(1)	主电路	

(2) 触发电路

6.3.3 使用方法

6.3.4 注意事项

第七章 气体压力计(一)

7.1	仪器的结构	102
7.1.1	气体压力计的类型及一般构造	
7.1.2	华氏呼吸计的构造和装置	
7.2	华氏呼吸计的基本原理	104
7.2.1	一般原理	
7.2.2	反应瓶常数 $K$ 的推导	
7.2.3	温度和大气压力的影响及其校正	
7.2.4	氧气的消耗和二氧化碳的吸收	
7.2.5	方法的局限	
7.2.6	二氧化碳的测量	
7.2.7	氧体的溶解度	
7.3	呼吸计的校正	115
7.3.1	重量法	
7.3.2	测压法	
7.4	仪器的使用	116
7.4.1	操作程序	
7.4.2	参比点的选择	
7.4.3	反应过程中物质的加入	

7.5 华氏呼吸计的生物化学研究 ..... 1 1 8  
中的应用

7.5.1 应用简述

7.5.2 应用举例

## 第八章 气体压力计(二)

### —微量呼吸检压仪

8.1 仪器结构 ..... 1 2 2

8.2 线路原理(供参考) ..... 1 2 7

8.3 仪器的使用 ..... 1 2 9

8.4 注意事项 ..... 1 3 0

## 第九章 电导仪

9.1 基本知识 ..... 1 3 1

9.1.1 电导和电导率

9.1.2 电导分析中的单位换算

9.2 仪器的结构与测量原理 ..... 1 3 4

9.2.1 仪器的结构

9.2.2 测量原理

9.3 仪器的使用方法 ..... 1 3 7

9.4 仪器的维护与修理 ..... 1 3 9

9.4.1 仪器的维护

9.4.2 仪器修理

9.5 电导仪的应用 ..... 1 4 2

- 9.5.1 测定水的纯度
  - 9.5.2 测定弱电解质的解离度、解离常数
  - 9.5.3 测定难溶性盐的溶解度
  - 9.5.4 电导滴定—测定电解质溶液浓度
- 附表1 KCl溶液的电导率

## 第十章 酸度计

- 10.1 pH值的概念及pH值的测定法 ..... 151
  - 10.1.1 pH值的概念
  - 10.1.2 测定pH值的方法
- 10.2 电位法测定pH值的原理 ..... 155
  - 10.2.1 基本原理
  - 10.2.2 电极
- 10.3 25型酸度计 ..... 159
  - 10.3.1 仪器的工作电路
  - 10.3.2 25型酸度计的使用方法
  - 10.3.3 仪器的维护及校正



## 第一章 光电比色计

光电比色计是测定<sup>V</sup>颜色溶液<sup>浓</sup>度的一种分析仪器。这种仪器工作时，使一束光线通过颜色溶液照射到光电池上，激励光电池产生光电流，再用检流计显示出来。因为颜色溶液有吸收光线的能力，当光线通过不同浓度的颜色溶液时，发生不同程度的减弱，使光电池产生相应的光电流。所以应用光电比色计来测定颜色溶液的浓度，就是通过测定产生光电流的大小来实现的。

光电比色计的操作简单，灵敏度较高，适合微量分析，在科研、教学和医药卫生等部门已被广泛应用，特别是目前广大农村县、社基层单位的科研所、实验站、医院和防疫站等更是不可缺少的分析仪器之一。

### 1.1 比色分析的基本理论

大家都晓得，当颜色溶液的浓度改变时，溶液颜色的深浅随之变化，浓度愈大则颜色愈深，反之浓度变小则颜色变浅。根据这个规律测定颜色溶液和浓度，可以采用对比溶液颜色深浅的办法来完成。通常把这样测定颜色溶液浓度的方法，叫做比色分析法。下面介绍比色分析的基本理论。

#### 1.1.1 Lambert—Beer 定律

上面对比色分析的基本含义作了初步介绍，为了深入理解比色分析的原理，并为掌握分光光度分析法打下初步基础，现将 Lambert—Beer 定律作以讲述：

Lambert—Beer定律是从许多实验现象中总结出来的一条规律，它的基本内容可以表述如下：

如果把一束单色光照射到有色溶液时，一部分光从容器表面反射回来，一部分光进入溶液后被溶液所吸收，而未被吸收的光则透过溶液。如图 1.1 所示。这几部分有如下关系：

$$I_0 = I_a + I_r + I_t \quad (1.1)$$

式中： $I_0$ —入射光强度

$I_r$ —反射光强度

$I_t$ —透射光强度



图 1.1

然而，在实际测定过程中，盛装溶液的比色杯规格和质料都相同，那么，从容器表面反射回来的光  $I_r$  是一个定值，因而反射光  $I_r$  所引起的误差几乎可以消除。这样对反射光的影响则不必考虑。所以上式可以改为：

$$I_0 = I_a + I_t \quad (1.2)$$

就式 (1.2) 来看：当入射光强度  $I_0$  为一定时，假如被溶液所吸收的光强度  $I_a$  增大，则透过溶液的光强度  $I_t$  减小。也就是说，当一束单色光通过有色溶液时，由于一部分光线被溶液所吸收，透过溶液的光强度被减弱了，被吸收的愈多，则透过的光线就愈少。在不考虑反射光的影响下，光强度的减弱只与溶液的性质有关。

那么，溶液对光线的吸收究竟与那些因素有关呢？实验证明它与溶液的浓度  $C$ ，液层的厚度  $l$ （光线在溶液中经过的路程）、入射光的强度  $I_0$  以及溶液的种类有关。溶液浓度愈大，液层愈厚，则光线被吸收得越多，透过溶液的光强度也就更小。下面的公式是从许多实

验中总结出来的经验公式 ( 细推导从略 ) :

$$\lg \frac{I_0}{I_t} = \Sigma \kappa L \quad (1.3)$$

这公式就是 Lambert—Beer 定律 ( 或叫 Lambert—Beer 定律的数学表达式 )。

### 1.1.2 Lambert—Beer 定律的物理意义

(1) 式 ( 1.3 ) 的性质有如下两点 :

① 当  $I_t = I_0$  时, 即透射光强度与入射光强度相等时, 表明溶液没有吸收光线。此时  $\lg \frac{I_0}{I_t} = 0$

② 当  $I_t < I_0$  时, 表明溶液吸收了一部分光线, 这时  $\lg \frac{I_0}{I_t}$  的值增大。

很明显  $\lg \frac{I_0}{I_t}$  表示光线通过溶液时被溶液吸收的程度, 通常称为“光密度”或“消光度”, 一般用符号  $D$  或  $B$  表示。这样, 式 ( 1.3 ) 可改写为:

$$D = \Sigma \kappa L \quad (1.4)$$

(2) 式 ( 1.4 ) 中的  $\Sigma$  是比例常数 ( 叫做消光系数 ),  $\Sigma$  值的大小与颜色溶液的种类及入射光的波长有关。但是对于同种溶液以及一定波长的入射光来说,  $\Sigma$  是一个常数。

一般在比色分析中, 常把  $\frac{I_t}{I_0}$  称为透光率 ( 或透光度 ), 而把  $1 - \frac{I_t}{I_0}$  称为吸收率 ( 或吸收度 ), 分别用  $T$ 、 $A$  表示, 又把  $T\%$ 、

A% 分别称为百分透光率与百分吸收率。

综上所述，Lambert—Beer 定律可以概括如下：

有色溶液的光密度（或消光度）与有色溶液的浓度乘以溶液的厚度之积成正比例。

至于运用 Lambert—Beer 定律怎样测定有色溶液的浓度，将在后面叙述，这里只简单提一点：

如果有两个有色溶液的液层厚度相等（ $L_1 = L_2$ ），并是同种物质的不同浓度的溶液（ $\Sigma_1 = \Sigma_2$ ），其中之一为已知浓度，另一是待测浓度（ $C_1 = \text{已知}$ ， $C_2 = ?$ ）。根据公式（1.4）则有：

$$C_1 = \text{已知} \quad D = \Sigma_1 C_1 L_1 \quad (1.5)$$

$$C_2 = ? \quad D = \Sigma_2 C_2 L_2 \quad (1.6)$$

因为  $L_1 = L_2$ ， $\Sigma_1 = \Sigma_2$

把（1.5）除以（1.6）得：

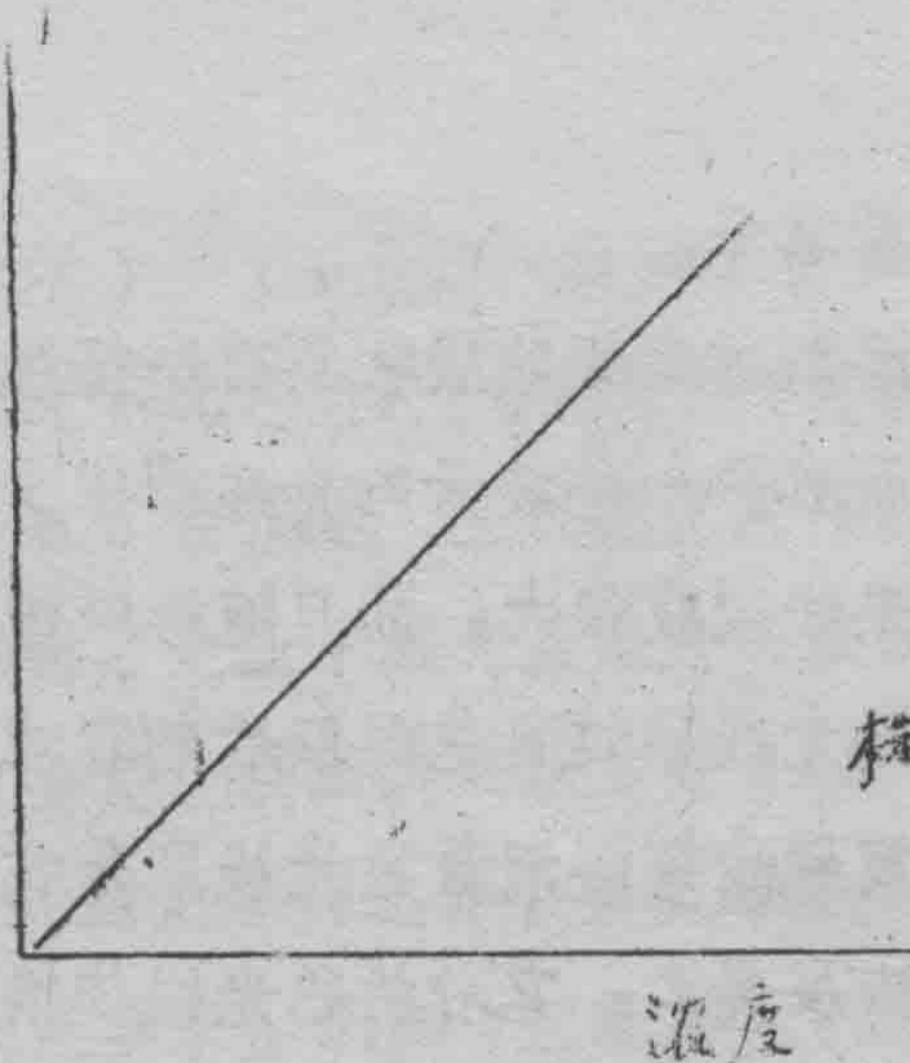
$$\frac{D_1}{D_2} = \frac{C_1}{C_2} \quad (1.8)$$

这公式（1.8）表明溶液的光密度与溶液的浓度成正比。其中  $C_1$  是已知浓度（即标准溶液）， $D_1$  和  $D_2$  可用光电比色计测量得到。而被测溶液浓度  $C_2$  可以求出：

$$C_2 = \frac{C_1}{D_2} D_1 \quad (1.9)$$

$C_2$  还可以从事先绘制的标准曲线中查得。如图 1.2 所示。

光  
密  
度



标准曲线图

## 1.2 光电比色计的构造

无论那种型号的光电比色计，都包括以下五个部分：即光源和聚光镜、滤光片、比色杯、光电池以及检流计共五部分。现将各部分的作用说明如下：

### 1.2.1 光源和聚光镜

一般情况下都用6~10伏的小灯泡为光源，可由市电经变压器之后，选取适合的电压连接于光源灯泡，也可用蓄电池供应电源。为了测得的结果准确可靠，光源应发出强度稳定的光线，尤其是单光电池比色计的要求更为严格。因此在光电比色计上，一般均附有稳压装置。

聚光镜一般都采用抛物面形的反射镜（称为反光银碗），它的作用是会聚光线，并使光线平行笔直地通过有色溶液。

### 1.2.2 滤光片

滤光片是一些带颜色的玻璃片。在作比色测定时，必须在光源与光电池之间插入一块滤光片。滤光片的作用，是从含有各种波长的光源中选择一近似的单色光通过有色溶液，其余的光线则被滤光片所吸收。只有在单色光条件下，有色溶液的吸收情况才服从 Lambert-Beer 定律。滤光片所选择的近似单色光波长范围愈窄，即更接近单色

光)、滤光片的质量就越好。

此外，由于有色溶液对光线的吸收具有选择性，它对某些波长的光线能更多的吸收，而对另一些波长的光线却很少吸收。例如：兰色硫酸铜溶液，对黄色光线吸收很大，而且随溶液浓度增加而增加。因此，可以根据这一部分光线通过有色溶液后的衰减程度来断定被测溶液的浓度。所以，测定硫酸铜溶液黄色光线则是我们所需要的。与此相反，不论硫酸铜的浓度多大，它对兰色光线却很少吸收。故测定此溶液时兰色光线就不能采用。因此，在比色分析中应根据溶液的彦色选择滤光片，才能得到所需要的近似单色光，从而提高测量的精度。

选择滤光片的原则：滤光片的彦色应该与溶液的彦色互为补色。就是说最容易透过滤光片的光波应该是溶液最容易吸收（透光率最小）的光波。表1.1列出滤光片的彦色与被测溶液彦色的互补关系，可供选择滤光片时参考。

表 1.1

波长 (nm) *	滤光片的彦色	被测溶液的彦色 (互补色)
400—435	青 紫	绿色带黄
435—480	青 兰	深 黄
480—490	兰色带绿	桔 红
490—500	绿色带兰	深 红
500—560	暗 绿	深 紫
560—580	绿色带黄	青 紫
580—595	深 黄	紫 兰
595—610	桔 红	兰色带绿
610—750	深 红	绿色带兰

\*  $1 \text{ nm}$  (毫微米) =  $10^{-7} \text{ m}$  =  $10 \text{ \AA}$  (埃)

目前各厂制造的光电比色计，一般只对附有最常用的三块滤光片(42号、50号、65号)这三块滤光片可以满足一般测量的要求。滤光片上标刻的数字是表示透光度最大的波长的近似代号，例如：

“42”号滤光片，其透光度最大的波长是  $415 \text{ nm}$ 。

在一般的测定中，滤光片的选择不要求那样严格，只要作近似的选择其灵敏度已可满足要求。例如：被测溶液的彦色为“绿色带黄”、“深黄”、“桔红”时，都可选用“42”号滤光片。选择时可参考表1.2。

表1—2

滤光片编号	最大透光度的波长 (nm)	滤光片的彦色	被测溶液的彦色
42	415	兰 紫	绿色带黄、深黄、桔红
50	510	暗 绿	深红、深紫、青紫、紫兰
65	650	深 红	兰色带绿、绿色带兰

如果需要其它波长的滤光片(如44、48、53、55、59、62号等)，可向制造厂购买。

### 1.2.3 比色杯

一般是长方形的，用时把比色溶液装在其中。最好的比色杯是使标准溶液和被测溶液的厚度误差非常之小。检查比色杯的方法，是装入同一浓度的某种溶液于一系列比色杯中，然后放进光电比色计中，在光源恒定的条件下，检流计的读数误差应小于0.5%，否则说明比色杯因厚度引起的误差过大，不能使用。此外，比色杯应采用无色透明并有耐腐蚀的材料制成。

### 1.2.4 光电池

光电池的种类很多，在光电比色计中多采用硒光电池。

光电池是由三层物质构成的圆形薄片，装在圆形或方形塑料匣里，上百散开以便光线照射表面。薄片上的第一层是导电良好的金或铂制成的半透明薄膜，中间层为半导体硒，第三层是铁片。如图 1.3 所示。

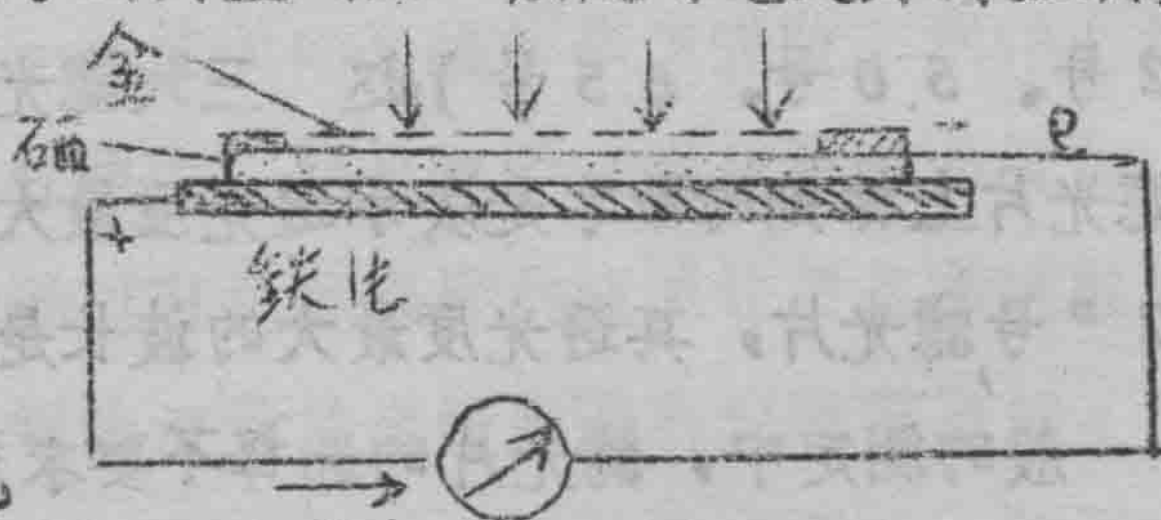


图 1.3 硒光电池

当一定强度的光束照射光电池时，硒层表面逸出电子。电子移动的方向与半导体的性质有关，在硒光电池中，电子奔向半透明金属薄膜一边，使它带负电成为光电池的负极，当硒层失去电子后显正电性，使铁片也随之形成正极。由于电子在这样的特定情况下只能单方向移动，也就是电子逸出硒层之后只能奔向金属薄膜，而到达金属膜上的电子则不再反回硒层，只有通过外电路才能经过铁片层再到达硒层。如此连续不断地进行则形成一定的电流。

硒光电池所产生的光电流虽然很小，但可以用高灵敏度检流计测量出来。当光电池受强光照射时，产生光的电流最初很快达到高峰，之后又慢慢降下来，这样便发生所谓“疲劳现象”。在使用过程中一定要注意防止出现光电池的“疲劳现象”。硒光电池容易受潮损坏其功能，在实验和保存中一定要注意防潮。

硒光电池对不同波长的光线灵敏度不同，对波长为  $500 \sim 600$  nm 的光线特别灵敏，但对紫外线和红外线则完全不能应用。

在光电比色计中所用硒光电池的型号是 56—A 型的。国产 56—A 型硒光电池的技术条件为：

外形尺寸：圆形薄片，直径为  $45 \text{ mm}$

极限照度： $1000$  米烛光

光电流： $15$  微安 /  $35$  米烛光



表百温度  $< 60^{\circ}\text{C}$

内阻：(室温  $20^{\circ}\text{C}$ )  $500 \sim 4000 \Omega$

耐压力  $< 0.1$  公斤

光谱灵敏度波峰： $560 \text{ nm} \pm 7\%$

普通新的硒光电流，在夜晚室内用一盏  $200 \text{ V } 60 \text{ W}$  的电灯光，距离为  $1$  米垂直照射之下，用灵敏度为  $20000 \Omega/\text{V}$  的万用电表测量，其光电流约为  $35 \sim 50 \mu\text{A}$ 。若测得的数据远小于这个值时，说明硒光电池已经衰老失效。

### 1.2.5 检流计

在单光电池的光电比色计中，检流计用来指示光电流的大小。

光电比色计中常用的检流计有两种：

(1) 光点反射式(又叫吊丝式)检流计。其构造由光源(打光灯)、读数标尺和检流计本体三部分组成，其结构如图 1.4 所示。其中检流计本体结构比较精细，主要由吊丝、动圈(线圈)、反射镜、铁芯和张力弹簧片等组成。检流计工作时，打光灯射出的光经过反射镜反射之后，在读数标尺上映成一个清晰的光点。

当电流通过动圈时，动圈以吊丝(反射镜固定在吊丝上)为转轴在磁场中带动反射镜立

1 光源(打光灯)

2 反射镜

3 读数标尺

4 吊丝

5 动圈

6 铁芯

9 永久磁铁

8 张力弹簧片

图 1.4 光点反射检流计示意图

仪