



普通高等教育“十三五”创新型规划教材

现代生物仪器设备 分析技术

Modern Biological Instrument and
Equipment Analysis Technology

张淑华 主编



北京理工大学出版社

BEIJING INSTITUTE OF TECHNOLOGY PRESS



普通高等教育“十三五”创新型规划教材

现代生物仪器设备 分析技术

Modern Biological Instrument and
Equipment Analysis Technology

张淑华 主编

 **北京理工大学出版社**
BEIJING INSTITUTE OF TECHNOLOGY PRESS

内 容 简 介

本书涵盖生物化学、微生物学、细胞生物学、分子生物学和大型生物仪器等五方面现代生物仪器设备与分析技术。通过对这些现代生物仪器设备的讲解,学生在了解生物工程与技术领域发展概貌的同时,掌握生物工程和生物技术等生物相关专业仪器设备正确使用的基本技能,了解这些仪器设备的使用原理,重视这些仪器设备的维护保养等。本书既可以让学生科学合理地使用相关仪器设备,减少仪器设备的损耗,延长仪器设备的使用寿命,又可以为学生的基本实践技能、创新思维、创新能力、科学素养的培养搭建一个坚实的平台。

本书可作为专科、本科学生及研究生的教材与参考用书。它不仅适用于生物工程与生物技术专业的本科实践教学,还对生物化工、应用化学等专业的教学及科研工作具有重要的参考价值。

版权专有 侵权必究

图书在版编目(CIP)数据

现代生物仪器设备分析技术 / 张淑华主编. —北京: 北京理工大学出版社, 2017. 12

ISBN 978-7-5682-5142-6

I. ①现… II. ①张… III. ①生物工程-仪器设备-研究 IV. ①Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 330249 号

出版发行 / 北京理工大学出版社有限责任公司

社 址 / 北京市海淀区中关村南大街 5 号

邮 编 / 100081

电 话 / (010) 68914775 (总编室)

(010) 82562903 (教材售后服务热线)

(010) 68948351 (其他图书服务热线)

网 址 / <http://www.bitpress.com.cn>

经 销 / 全国各地新华书店

印 刷 / 保定市中华美凯印刷有限公司

开 本 / 710 毫米×1000 毫米 1/16

印 张 / 12

字 数 / 217 千字

版 次 / 2017 年 12 月第 1 版 2017 年 12 月第 1 次印刷

定 价 / 29.00 元

责任编辑 / 杜春英

文案编辑 / 党选丽

责任校对 / 周瑞红

责任印制 / 王美丽

图书出现印装质量问题, 请拨打售后服务热线, 本社负责调换



前言

本书是与目前高校生物工程和生物技术等生物相关专业基础实践课程相配套的综合性实践指导用书。目前,针对生物学相关专业的实验用书在市场上非常丰富,且主要侧重于实验内容与实验步骤的讲解。但是,对生物实验仪器设备的正确使用、工作原理、维修保养、注意事项等相关操作技能进行讲解的书却甚少,不能满足现实中对实践教学的基本要求,教材建设亟待加强。本教材涵盖生物化学、微生物学、细胞生物学、分子生物学和大型生物仪器设备五个方面仪器设备分析技术。对这些现代生物仪器设备的讲解,可以使学生在了解生物工程与技术领域发展概貌的同时,掌握生物工程和生物技术等与生物相关专业仪器设备正确使用的基本技能,了解这些仪器设备的使用原理,重视这些仪器设备的维护保养。既可以指导学生科学、合理地使用相关仪器设备,减少仪器设备的损耗,延长仪器设备的使用寿命,又可以为学生基本实践技能、创新思维、创新能力、科学素养的培养搭建一个坚实的平台。本书可作为本科、专科学生及研究生的教材与参考用书,也适用于生物工程与生物技术专业教师的本科实践教材;同时,对生物化工、应用化学等专业的教学及科研工作也具有重要的参考价值。

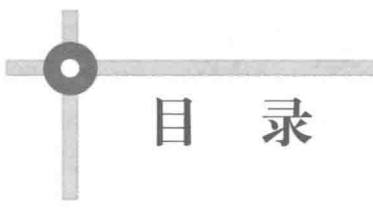
全书共分五章。第一章是生物化学实验仪器设备分析技术,分别介绍酸度计、电子天平、分光光度计、酶标仪、电泳装置、离心机、凯氏定氮仪、冻干机、超声波清洗机及其他生化仪器的工作原理、使用方法、维修保养和注意事项等内容。第二章是微生物学实验仪器设备分析技术,主要介绍普通光学显微镜、高压蒸汽灭菌锅、干热灭菌箱、恒温培养箱、恒温摇床及超净工作台的工作原理、使用方法、维修保养和注意事项等知识。第三章是细胞

生物学实验仪器设备分析技术，主要介绍二氧化碳培养箱、液氮罐、细胞培养实验室及倒置显微镜的工作原理、使用方法、维修保养和注意事项等知识。第四章是分子生物学实验仪器设备分析技术，主要介绍微量移液器、PCR 仪、凝胶成像仪、恒温水浴锅及分子杂交仪的工作原理、使用方法、维修保养和注意事项等内容。第五章是大型生物仪器设备分析技术，系统介绍高效液相色谱仪、气相色谱仪、毛细管电泳仪、红外光谱仪、质谱仪、DNA 测序仪、流式细胞仪及实时荧光定量 PCR 仪的工作原理、使用方法、维修保养和使用注意事项等内容。

本书由张淑华主编，主要负责制定编写大纲，对全书进行统稿、修改，并承担第二章微生物学实验仪器设备分析技术的编写工作。其他章节由多年从事本课程实践教学的陈玉娟、葛淑敏、何秀霞、郝凤奇等编写。这些教师具有多年的教学经验，学术水平也较高。全书由于源华教授进行校对，同时李成玉、王晴、夏青等也参与了部分编写及校对工作。

由于编者水平有限，书中难免有不当之处，敬请批评指正。

编 者



目 录

第一章 生物化学实验仪器设备分析技术	1
第一节 酸度计	1
第二节 电子天平	5
第三节 分光光度计	9
第四节 酶标仪	13
第五节 电泳装置	19
第六节 离心机	25
第七节 凯氏定氮仪	29
第八节 冻干机	34
第九节 超声波清洗机	39
第十节 其他生化仪器	42
第二章 微生物学实验仪器设备分析技术	47
第一节 普通光学显微镜	47
第二节 高压蒸汽灭菌锅	53
第三节 干热灭菌箱	58
第四节 恒温培养箱	61
第五节 恒温摇床	64
第六节 超净工作台	69
第三章 细胞生物学实验仪器设备分析技术	73
第一节 二氧化碳培养箱	73
第二节 液氮罐	78
第三节 细胞培养实验室	87
第四节 倒置显微镜	93
第四章 分子生物学实验仪器设备分析技术	98
第一节 微量移液器	98

第二节	PCR 仪	101
第三节	凝胶成像仪	106
第四节	恒温水浴锅	109
第五节	分子杂交仪	111
第五章	大型生物仪器设备分析技术	114
第一节	高效液相色谱仪	114
第二节	气相色谱仪	130
第三节	毛细管电泳仪	136
第四节	红外光谱仪	143
第五节	质谱仪	146
第六节	DNA 测序仪	155
第七节	流式细胞仪	158
第八节	实时荧光定量 PCR 仪	172
参考文献		181

第一章 生物化学实验 仪器设备分析技术

第一节 酸 度 计

酸度计用于溶液酸碱度的测定与调节，其实物如图 1.1 所示。酸度计简称 pH 计，由电极和电计两部分组成。使用中若能够合理维护电极，按要求配制标准缓冲液和正确操作电计，可大大减小 pH 的示值误差，进而提高化学实验、医学检验数据的可靠性。

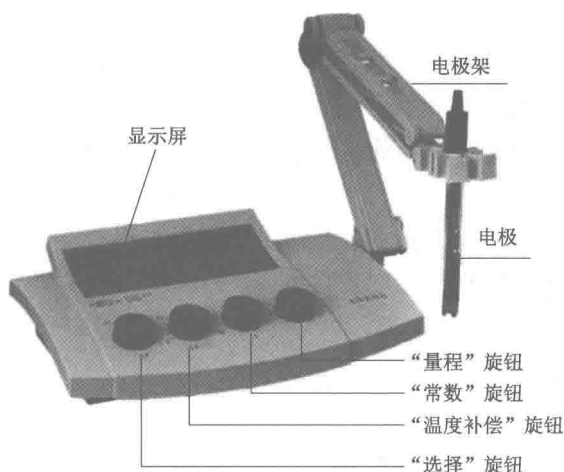


图 1.1 酸度计

一、酸度计的工作原理

酸度计是采用氢离子选择性电极测量液体 pH 值的一种广泛使用的化学分析仪器。其基本原理是：将一个连有内参比电极的可逆氢离子指示电极和一个外参比电极同时浸入某一待测溶液中形成原电池，在一定温度下产生一个内、外参比电极之间的电池电动势，这个电动势与溶液中氢离子的活度有关，

而与其他离子的存在基本没有关系。仪器通过测量该电动势的大小，最后将其转化为待测溶液的 pH 值而显示出来。

二、酸度计的组成

1. 电极球泡

电极球泡是由具有氢功能的锂玻璃熔融吹制而成，呈球形，膜厚为 0.1~0.2 mm，电阻值 $<250\text{ M}\Omega$ （25℃）。

2. 玻璃支持管

玻璃支持管是支持电极球泡的玻璃管体，由电绝缘性优良的铅玻璃管制成，其膨胀系数应与电极球泡玻璃一致。

3. 内参比电极

内参比电极为银/氯化银电极，主要作用是引出电极电位，要求其电位稳定，温度系数小。

4. 内参比溶液

内参比溶液是指零电位下 pH 为 7 的溶液，是中性磷酸盐和氯化钾的混合溶液。

5. 电极壳

电极壳通常由聚碳酸酯（PC）塑压成型或者由玻璃制成。PC 塑料在有些溶剂中会溶解，如四氯化碳、三氯乙烯、四氢呋喃等，如果测试中含有以上溶剂，就会损坏电极外壳，此时应改用玻璃外壳的 pH 复合电极。

6. 外参比电极

外参比电极为银—氯化银电极，作用是提供与保持一个固定的参比电势，要求电位稳定，重现性好，温度系数小。

7. 外参比溶液

外参比溶液是指氯化钾溶液。

8. 电极导线

电极导线为低噪声金属屏蔽线，内芯与内参比电极连接，屏蔽层与外参比电极连接。

三、酸度计的使用方法

1. 正确使用与保养电极

目前实验室使用的电极都是复合电极，其优点是使用方便，不受氧化性或还原性物质的影响，且平衡速度较快。使用时，将电极加液口上所套的橡胶套和下端的橡皮套全取下，以保持电极内氯化钾溶液的液压差。下面简单介绍一下电极的使用与维护。

(1) 复合电极不用时,可充分浸泡在 3 M 氯化钾溶液中,切忌用洗涤液或其他吸水性试剂浸洗。

(2) 使用前,检查玻璃电极前端的球泡。在正常情况下,电极应该透明而无裂纹;球泡内要充满溶液,不能有气泡存在。

(3) 测量浓度较大的溶液时,应尽量缩短测量时间,用后应仔细清洗,防止被测液黏附在电极上而污染电极。

(4) 清洗电极后,不要用滤纸擦拭玻璃膜,而应用滤纸吸干,避免损坏玻璃薄膜,出现交叉污染,影响测量精度。

(5) 测量中注意电极的银—氯化银内参比电极应浸入球泡内的氯化物缓冲溶液,避免电计显示部分出现数字乱跳现象。使用时,注意将电极轻轻甩几下。

(6) 电极不能用于强酸、强碱或其他腐蚀性溶液中。

(7) 严禁在脱水性介质如无水乙醇、重铬酸钾等中使用电极。

2. 标准缓冲液的配制及其保存

(1) pH 标准物质应保存在干燥的地方,如混合磷酸盐。pH 标准物质在空气湿度较大时就会发生潮解,一旦出现潮解,pH 标准物质即不可使用。

(2) 配制 pH 标准溶液应使用二次蒸馏水或去离子水。如果是用于 0.1 级的 pH 计测量,则可以用普通蒸馏水。

(3) 配制 pH 标准溶液应使用较小的烧杯来稀释,以减少沾在烧杯壁上的 pH 标准液。存放 pH 标准物质的塑料袋或其他容器,除了应倒干净以外,还应用蒸馏水多次冲洗,然后将其倒入配制的 pH 标准溶液中,以保证配制的 pH 标准溶液准确无误。

(4) 配制好的标准缓冲溶液一般可保存 2~3 个月,如发现有浑浊、发霉或沉淀等现象,不能继续使用。

(5) 碱性标准溶液应装在聚乙烯瓶中密闭保存,以防止二氧化碳进入标准溶液后形成碳酸,降低其 pH 值。

3. 酸度计的正确校准

pH 计因电极设计的不同而有很多类型,因而其操作步骤也各有不同,因而 pH 计的操作应严格按照其使用说明书正确进行。在具体操作中,校准是 pH 计使用操作中的一个重要步骤。表 1.1 列出的数据是精度为 0.01 级、经过计量鉴定合格的 pH 计在未校准时与校准后的测量值,从中可以看出校准的重要性。

尽管 pH 计种类很多,但其校准方法均采用两点校准法,即选择两种标准的缓冲液:一种是 pH7 标准缓冲液;另一种是 pH9 标准缓冲液或 pH4 标准缓冲液。先用 pH7 标准缓冲液对电计进行定位,再根据待测溶液的酸碱性选择第二种标准缓冲液。如果待测溶液呈酸性,则选用 pH4 标准缓冲液;如果待

测溶液呈碱性,则选用 pH9 标准缓冲液。若是手动调节的 pH 计,应在两种标准缓冲液之间反复操作几次,直至不需再调节其零点和定位(斜率)旋钮,此时, pH 计即可准确显示两种标准缓冲液的 pH 值,校准过程结束。此后,在测量过程中,零点和定位旋钮就不应再动。若是智能式 pH 计,则不需反复调节。因为其内部已贮存几种标准缓冲液的 pH 值可供选择,而且可以自动识别并自动校准;但要注意标准缓冲液选择及其配制的准确性。智能式 0.01 级 pH 计一般内存有 3~5 种标准缓冲液 pH 值,如科立龙公司的 KL-016 型 pH 计等。

表 1.1 pH 计校准前后测量值比较

单位: pH

标准	校准前误差	校准后误差
13.000	00.060 0	00.000 0
12.000	00.045 0	00.000 5
11.000	00.050 0	00.001 0
10.000	00.030 0	00.000 0
9.000	00.020 0	00.000 5
8.000	00.010 0	00.000 5
7.000	00.001 5	00.000 0
6.000	-00.010 0	-00.000 5
5.000	-00.010 5	00.000 5
4.000	00.015 0	00.000 0
3.000	-00.030 0	00.000 0
2.000	-00.020 0	-00.000 3
1.000	-00.035 0	-00.000 1

其次,在校准前应特别注意待测溶液的温度,以便正确选择标准缓冲液,应调节电计面板上的温度补偿旋钮,使其与待测溶液的温度一致。不同的温度下,标准缓冲溶液的 pH 值是不一样的,如表 1.2 所示。

表 1.2 标准液 pH 值随温度变化的情况

温度/℃	pH7	pH4	pH9
10	6.92	4.00	9.33
15	6.90	4.00	9.28
20	6.88	4.00	9.23
25	6.86	4.00	9.18
30	6.85	4.01	9.14
40	6.84	4.03	9.01
50	6.83	4.06	9.02
50	6.83	4.06	9.02

四、酸度计的使用注意事项

校准工作结束后,对使用频繁的 pH 计,一般在 48 h 内仪器无须再次定标。如果遇到下列情况之一,仪器则需要重新标定:

- (1) 溶液温度与定标温度有较大的差异。
- (2) 电极在空气中暴露过久,如半小时以上。
- (3) 定位或斜率调节器被误动。
- (4) 测量过酸 ($\text{pH}<2$) 或过碱 ($\text{pH}>12$) 的溶液后。
- (5) 换过电极后。

(6) 当所测溶液的 pH 值不在两点定标时所选溶液的中间,且距 pH7 又较远时。

第二节 电子天平

电子天平如图 1.2 所示,用于称量物体的质量。其特点是称量准确可靠,显示快速清晰且具有自动检测系统、简便的自动校准装置以及超载保护等装置。电子天平可用于微量实验药品的准确称量。

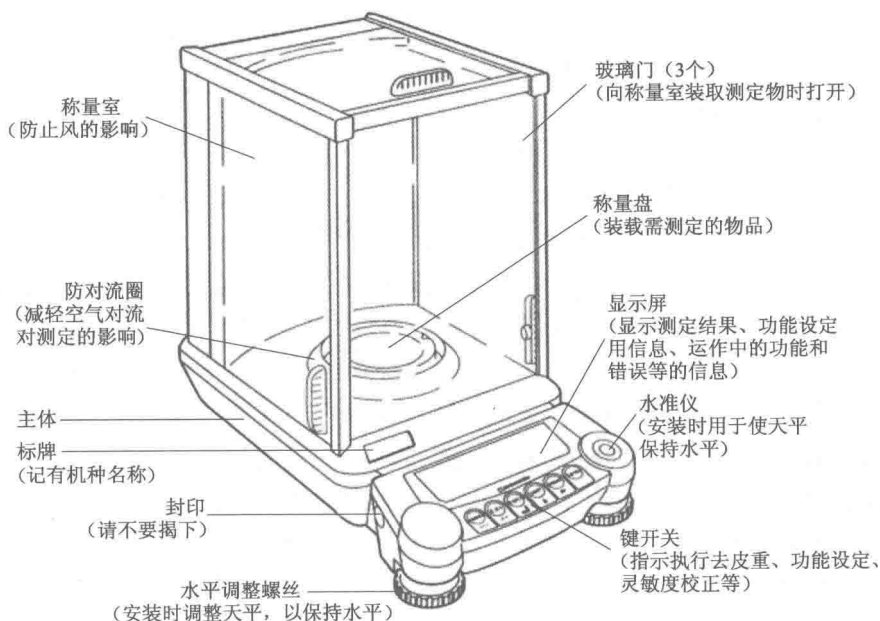


图 1.2 电子天平

一、电子天平的工作原理

电子天平采用现代电子控制技术,利用电磁力平衡原理实现称重,即测量物体时,采用电磁力与被测物体重力相平衡的原理实现测量。当秤盘上加上或除去被称物时,天平会产生不平衡的状态,此时可以通过位置检测器检测到线圈在磁钢中的瞬间位移,通过电磁力自动补偿电路使其电流变化以数字方式显示被测物体的质量。天平在使用过程中会受到所处环境温度、气流、震动、电磁干扰等因素的影响,因此要尽量避免或减少在这些环境下使用。

与其他种类的天平不同,电子天平应用了现代电子控制技术进行称量,无论采用何种控制方式和电路结构,其称量依据都是电磁力平衡原理。其特点是称量准确可靠,显示快速清晰且具有自动检测系统、简便的自动校准装置和超载保护等装置。电子天平的重要特点是在测量被测物体的质量时不用测量砝码的重力,而是采用电磁力与被测物体的重力相平衡的原理来测量物体的质量。秤盘通过支架连杆与线圈连接,线圈置于磁场内。在称量范围内时,被测重物的重力 mg 通过连杆支架作用于线圈上,这时在磁场中若有电流通过,线圈将产生一个电磁力 F ,方向向上,可用下式表示:

$$F = KBLI \quad (1.1)$$

式中 K ——常数(与使用单位有关);

B ——磁感应强度, T;

L ——线圈导线的长度, m;

I ——通过线圈导线的电流, A。

电磁力 F 因和秤盘上被测物体的重力 mg 大小相等、方向相反从而达到平衡。同时在弹性簧片的作用下使秤盘支架回复到原来的位置,即处在磁场中的通电线圈,流经其内部的电流 I 与被测物体的质量成正比,只要测出电流 I 即可知道物体的质量 m 。若秤盘上加上或除去被称物时,电子天平则产生不平衡状态,通过位置检测器检测到线圈在磁钢中的瞬态位移,经 PID 调节器和前置放大器产生一个变化量输出,经过一系列处理使流经线圈的电流发生变化,这样使电磁力也随之变化并与被测物相抵消从而使线圈回到原来的位置,达到新的平衡状态。这就是电子天平的电磁力自动补偿电路原理。电流的变化则通过数字显示出被称物体的质量。

天平在使用过程中,其传感器和电路在工作过程中受温度的影响,或传感器随工作时间变化而产生某些参数的变化,以及气流、振动、电磁干扰等环境因素的影响,都会使电子天平温度产生漂移(温漂),造成测量误

差。其中,气流、振动、电磁干扰等环境温度的影响可以通过对电子天平的使用条件加以约束,将其影响程度减小到最低限度。而温漂主要是来自环境温度的影响和天平自身的内部影响,其形成的原因复杂,产生的漂移大,必须加以抑制。

二、电子天平的分类

电子天平按精度不同,可分为以下几类。

1. 超微量电子天平

超微量天平的最大称量是 $2 \sim 5 \text{ g}$, 其标尺分度值小于 (最大) 称量的 10^{-6} g , 如 Mettler 的 UMT2 型电子天平。

2. 微量电子天平

微量电子天平的称量一般为 $3 \sim 50 \text{ g}$, 其分度值小于 (最大) 称量的 10^{-5} g , 如 Mettler 的 AT21 型电子天平以及 Sartorius 的 S4 型电子天平。

3. 半微量电子天平

半微量电子天平的称量一般为 $20 \sim 100 \text{ g}$, 其分度值小于 (最大) 称量的 10^{-5} g , 如 Mettler 的 AE50 型电子天平和 Sartorius 的 M25D 型电子天平。

4. 常量电子天平

常量电子天平的最大称量一般为 $100 \sim 200 \text{ g}$, 其分度值小于 (最大) 称量的 10^{-5} , 如 Mettler 的 AE200 型电子天平和 Sartorius 的 A120S、A200S 型电子天平。

5. 电子分析天平

电子分析天平其实是常量天平、半微量天平、微量天平和超微量天平的总称。

6. 精密电子天平

精密电子天平是准确度级别为 II 级的电子天平的统称。

三、电子天平的使用方法

1. 使用前的准备

(1) 使用之前, 要预先向管理人员做好预约, 做好使用登记。

(2) 称重时, 工作台一定要保持平稳、牢固、可靠。

(3) 用水平仪调整电子天平: 电子天平升高, 调节右旋前面地脚; 电子天平下降, 调节左旋前面地脚。在电子天平使用地点调整地脚螺栓的高度, 使水平仪内的空气泡正好位于圆环的中央。

(4) 插上电源并接通电源 ($220 \text{ V}/50 \text{ Hz}$)。

(5) 天平通电后, 应进行预热, 时间应不低于 30 min 。

(6) 开机。按“开/关”键，显示屏显示全亮，然后显示“CED-CEB”，进入天平的自动检测工作。一切正常时则显示该天平的型号；当天平稳定后，则显示“0”位。

(7) 天平的校准。经过预热的天平，在使用前，都应该进行校准，使天平达到最佳的工作状态。

① 清除秤盘上物品的质量，按“去皮”键“TARE”，使天平显示为“0”。

② 按校准键，使天平显示为“C”。

③ 加载校准砝码，将相应数值的校准砝码放在秤盘上。

④ 经过几秒钟后，天平显示校准砝码数值，并发出“嘟——”的一声，说明校准完毕，天平自动回到称重状态。取下砝码即可进行正常工作。

2. 天平的称重步骤

(1) 将待称物品放在秤盘上，当稳定标志“g”出现时，表示读数已稳定，此时天平的显示值即为该物品的质量。

(2) 如需在秤盘上称第二种物品，可按“去皮”键“TARE”，使天平显示为“0”。

(3) 放上第二种物品，显示值即为该物品的质量。

(4) 这时，再按“去皮”键“TARE”，使天平显示为“0”。

(5) 将秤盘上的物品全部放上，天平显示两物品的总质量。

3. 称量结束后

称量完毕后，按下“L/O”键，盖好防尘罩，不要拔掉电源（长期不使用时拔去电源）。

四、电子天平的使用注意事项

(1) 称量时，显示器上出现稳定标记“g”时，再记录质量。

(2) 天平的称重方法：

① 减量法。打开天平，当显示“0.000 0”时，在秤盘上放入盛有供试品的称量瓶，记录质量，取出称量瓶，倒出供试品后，再放秤盘，记录质量，相减即得。

② 增量法。打开天平，当显示“0.000 0”时，在秤盘上放入称量瓶，稳定后，按一下控制板的“TARE”键，即可消去称量瓶重，将所需供试品直接放入称量瓶中，记录供试品的质量，即可获得。

③ 在对天平清洗之前，要将仪器与工作电源断开。清洗时，不要使用强力清洗剂，不要把液体渗到仪器内部。在用湿毛巾擦拭后，再用一块干燥的软毛巾擦干。样品剩余物/粉末必须小心地用刷子或后持式吸尘器去除。

五、电子天平的维护保养

- (1) 将天平置于稳定的工作台上，避免振动、气流及阳光照射。
- (2) 在使用前调整水平仪气泡至中间位置。
- (3) 电子天平应按说明书的要求进行预热。
- (4) 称量易挥发和具有腐蚀性的物品时，要盛放在密闭的容器中，以免腐蚀和损坏电子天平。
- (5) 经常对电子天平进行自校或定期外校，保证其处于最佳状态。
- (6) 如果电子天平出现故障应及时检修，不可带“病”工作。
- (7) 操作天平不可过载使用，以免损坏。
- (8) 若长期不用电子天平时，应暂时收藏为好。

第三节 分光光度计

分光光度计，又称光谱仪 (Spectrometer)，是将成分复杂的光分解为光谱线的科学仪器，如图 1.3 所示。测量范围一般包括波长为 400~760 nm 的可见光区和波长为 200~400 nm 的紫外光区。不同的光源都有其特有的发射光谱，因此可采用不同的发光体作为仪器的光源。分光光度计利用分光光度法对物质进行定量定性分析的仪器。分光光度法则是通过测定被测物质在特定波长处或一定波长范围内光的吸收度或发光强度，对该物质进行定性和定量分析的方法。目前已经成为生化与现代分子生物实验室的常规仪器。常用于核酸、蛋白定量以及细菌生长浓度的定量测定。



图 1.3 分光光度计

一、分光光度计的工作原理

分光光度计采用一个可以产生多个波长的光源，通过系列分光装置，

从而产生特定波长的光源，光线透过测试的样品后，部分光线被吸收，在计算样品的吸光值后，转化成样品的浓度。样品的吸光值与样品的浓度成正比。

单色光辐射穿过被测物质溶液时，被该物质吸收的量与该物质的浓度和液层的厚度（光路长度）成正比，其关系如下：

$$A = \frac{-\lg I}{I_0} = -\lg T = kLc \quad (1.2)$$

式中 A ——吸光度；

I_0 ——入射的单色光强度，cd；

I ——透射的单色光强度，cd；

T ——物质的透射率；

k ——摩尔吸收系数， $L/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ ；

L ——被分析物质的光程，即比色皿的边长，cm；

c ——物质的浓度， mol/L 。

物质对光的选择性吸收波长，以及相应的吸收系数是该物质的物理常数。当已知某纯物质在一定条件下的吸收系数后，可用同样条件将该供试品配成溶液，测定其吸收度，即可由上式计算出供试品中该物质的含量。在可见光区，除某些物质对光有吸收外，很多物质本身并没有吸收，但可在一定的条件下加入显色试剂或经过处理使其显色后再测定，故又称比色分析。由于显色时影响呈色深浅的因素较多，且常使用单色光纯度较差的仪器，故测定时应用标准品或对照品同时操作。

二、分光光度计的光谱范围

1. 发射光谱

不同的光源都有其特有的发射光谱，因此可采用不同的发光体作为仪器的光源。

1) 钨灯的发射光谱

钨灯所发出的 400~760 nm 波长的光谱通过三棱镜折射后，可得到由红、橙、黄、绿、蓝、靛、紫组成的连续色谱；该色谱可作为可见光分光光度计的光源。

2) 氢灯（或氘灯）的发射光谱

氢灯，能发出 185~400 nm 波长的光谱，可作为紫外光光度计的光源。

2. 吸收光谱

1) 如果在光源和棱镜之间放上某种物质的溶液，此时在屏上所显示的光谱已不再是光源的光谱，它出现了几条暗线，即光源发射光谱中某些波长的