当闪光灯中不加石英棒时

$$I = 5 \times 10^{19} \text{ 光子/闪光}$$

此测量结果与文献[6]所报道的一致。

总之，草酸铁钾化学光度计灵敏度高，不仅可以测定相当低的光强度，亦可测定窄脉冲的闪光强度。在我们的测量装置中虽然不能测定闪光灯的绝对光强度，但可以简便准确地测定出样品池中所吸收的闪光强度，在目前还没有理想的测定闪光强度的方法和仪器装置的情况下，此种化学光度计是有实用意义的。

参 考 文 献

[1] Taylor, H. A.: *Analytical Photochemistry and Photochemical Analysis*, p. 92, 1968.

[2] Parker, C. A.: *Proc. Royal Soc.* London. A. **235**, 518, 1956.

[3] Parker, C. A.: *ibid.*, A. **220**, 104, 1953.

[4] Calvert, J. C. et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 2101, 1952.

[5] Harris, L. et al.: *ibid.*, **57**, 1151, 1935.

[6] Porter, G.: *Flash Photolysis, in Technique of Chemistry*, Vol. 6, p. 367—462, 1974.

[本文于 1980 年 1 月 31 日收到]

用于研究光合作用的闪光分光光度计

孙 炳 荣

(中国科学院上海分院测试计算中心)

刘 一 先

(复旦大学物理系)

闪光吸收光谱法，首先由 Porter 用于研究有机光化学反应[1]。此法是在样品被闪光激励后，监视并记录光诱导反应引起样品光吸收变化与时间的函数关系，从而鉴别光反应中间产物的分子类别及属性。具体过程是：一束单色光，透过样品的光强是 I，在闪光后，它的变化为 ΔI，而吸收变化为 $\Delta A = -\log 10(1 + \Delta I/I)$：若 $\Delta I/I$ 很小，则 $\Delta A = -0.43\Delta I/I$。$I$ 和 ΔI 通过光电转换器件以电流(或电压)表示。将此电流(或电压)的变化放大，并加以记录，即可得出 $\Delta I/I$ 变化的时间函数曲线。

首先把这一技术用于光合作用原初光化学反应研究是 Witt[2]。近年国外学者以激光器发射的超短脉冲为作用光和监测光、与超短脉冲接收显示器件组合起来，研究物质分子中光能吸收和转移，获得了分子中光能接收和转移的第一手资料[3]。

本文介绍用于研究光合作用反应中毫秒—微秒范围内光诱导吸收变化的装置。为了提高仪器的信噪比 (S/N)，还将介绍信号平均器使用方法。本仪器当时间分辨率为 10^{-6} 秒时，对应吸收变化灵敏度为 10^{-4}。

仪 器 结 构

闪光分光光度计的主要组件如图 1 所示。现将它们分别介绍如下：

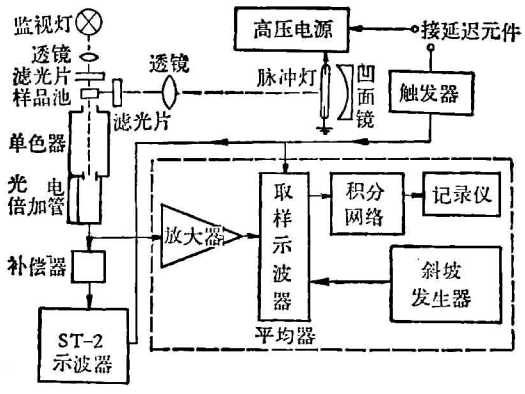

图 1 闪光分光光度计结构示意图

激励光 脉冲电源如图 2。T_1 是调压变压器，通过它可改变 C_1 上的电压，调节电能输出。闸流管 G_1 是放电回路的开关。当 G_1 栅极

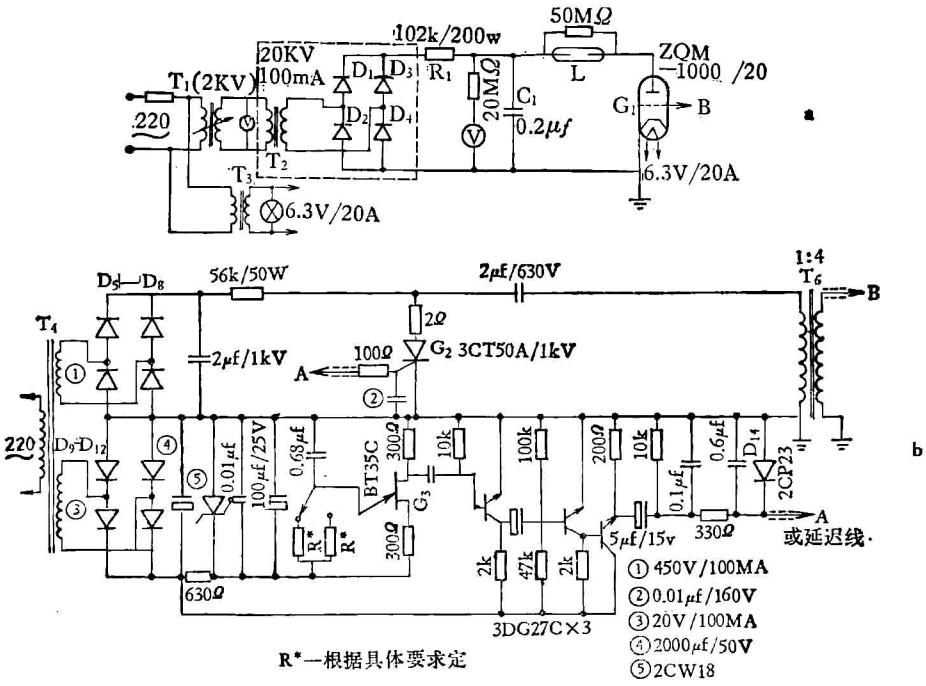

图 2　脉 冲 氙 灯

a. 电源　b. 触发器线路

上加上触发脉冲时，G_1 导通，同时闪光灯点燃，释放 C_1 上的能量。并联在灯上的 R_3；其作用一是保护灯管不被损坏，二是防止灯管未达应点燃电压时放电。G_1 栅极上的触发脉冲电压，由脉冲触发器产生。触发器电路图 2(b) 有两部分：一、双基极二极管 G_3 组成的弛张振荡回路，它在 D_{14} 处输出的具有一定的重复频率、脉冲形状及幅度的电压和电流，加到 G_2 的控制极上，使可控硅导通，二、由 G_2 等组成的触发脉冲电压输出电路，当 G_2 导通时，在脉冲变压器 T_6 的次级上输出近似为 6 微秒/2000 伏/12 安的方波脉冲，以此来触发 G_1 导通，从而点燃脉冲氙灯，用以上电路，当工作电压为 12000 伏时，点燃间隙为 50 毫米×3 毫米的脉冲氙灯，可获得输出光能达几个焦耳，脉宽近似于 2 微秒(半宽)，重复频率最高可达 10 次/秒。

由闪光灯发射的钟形脉冲光，经凹面镜反射后，由透镜聚焦成 20×2 毫米的光斑，再通过选定的滤光片入射到样品池(石英杯 10×10×40 毫米^3)。

监测光　为了监测在闪光期间光反应的瞬态变化，必须选择合适的特征吸收监测光束。本仪器选用溴钨灯，由 15 伏/8 安电源供电，灯发射的光经透镜聚焦，通过特征吸收波长的干涉滤光片后，在与作用光垂直方向上入射到反应池，反应池出射光进入光栅单色仪 (f = 250 毫微米，1200 条/毫微米) 的入口狭缝，单色仪出口狭缝射出的特征吸收波长光束进入光电检测器。为了避免样品发射的散射光和作用闪光对接收信号的干扰，光栅单色仪安置的位置极重要。经试验位置如图 1 所示，较合适。

光电检测器　本仪器使用 EMI9558QB 光电倍加管。为了避免环境中电磁场的干扰，管外壳加有屏蔽罩，光电倍加管的高压电源，由一新型的电路组成(图 3)，其原理与稳压电源相同，但作了以下改进：在电路中，由倍压整流产生的高压，经串联的二只调整管 Q_1、Q_2 和电流检测器后，给出一稳定电压 V_0、由高压输出电路上取出一部分电压反馈到运算放大器 FC52 的输入端，与 2CW7 上的基准电压进行比较，其差值由 FC52 放大后进入 AGC 回路(自动增益回路)，并由 Colpitts 振荡器调制，再由 L_2 线圈发射。L_3、L_4 接收反馈放大的信号后，分别通过一只二极管和一只电容，加到调整管

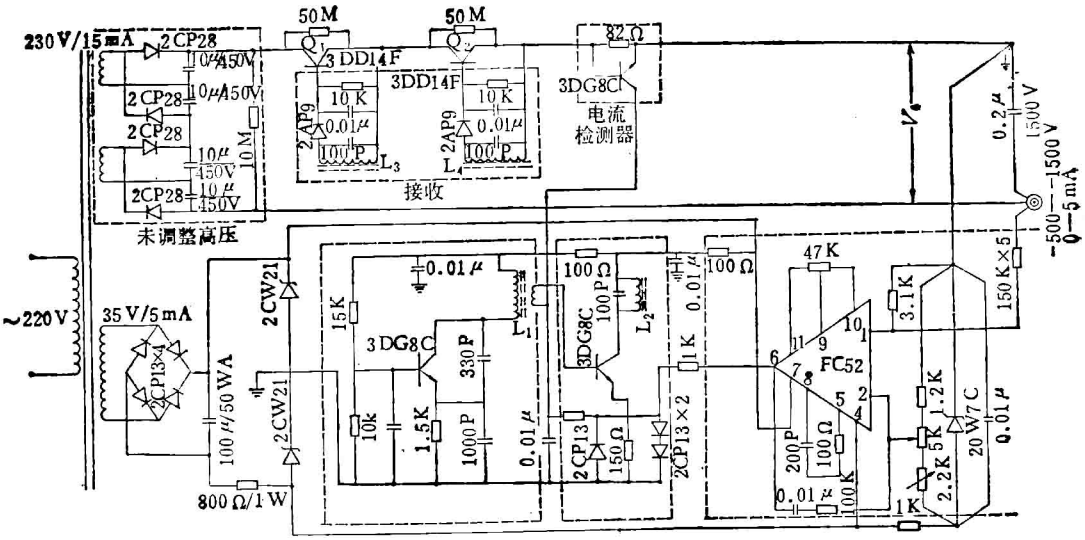

图3 倍加管电源线路

的基极和发射极，从而使输出高压极端稳定。此线路制作简便，输出高压达 1200 伏，电流 5 毫安，稳定度达 0.005%，极适用于弱光测定。

信号平均器 由放大器、取样示波器、斜坡发生器、积分网络、记录仪等组成。本仪器在以单闪激励方式工作时，反应系统光吸收变化由光电倍加管接收后，通过补偿器馈入高灵敏示波器 ST-2 进行放大显示。在应用信号平均方法测定反应系统吸收变化时，由光电倍加管出来的信号进入放大器（图 5）。该放大器的输出

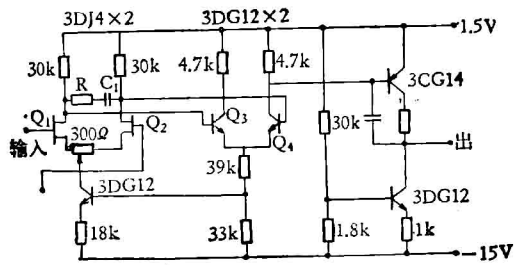

图 4 放大器线路

R_1、C_1、C_2 根据实验决定

端作为取样示波器 SQ-12 的输入端，再由取样示波器的 Y 轴记录器输出，经低通滤波器后进入 XWT-200 记录仪显示。

二级差分放大器（图 4），用一对 3DJ4 场效应晶体管作为输入级，具有高阻输入性能，次级用一对 NPN 硅管进行差分放大，末级采用互补型单端推挽电路，通过次级向输入级的恒流源施加直流反馈，从而达到稳定二级的工作点，该放大器增益较大。

图 5 是取样示波器 SQ-12X 轴扫描用的慢斜坡发生器，其主要部件由二只 FC52 运算放大器组成，由 A_1 构成积分器，A_2 构成比较器，积分器开始工作，积分电容 C_1 开始充电，斜坡

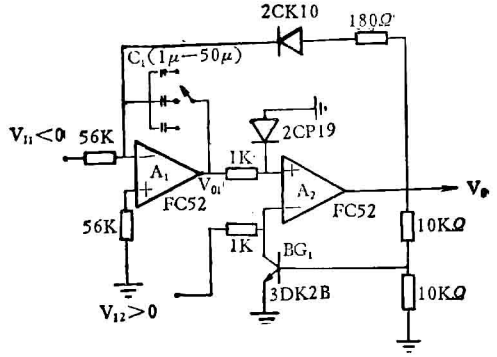

图 5 慢斜坡发生器线路 C_1 根据需要定

开始上升，V_{01}处电位逐渐升高，当此点送入A_2正向输入端的电位大于 A_2 另一端的比较电压时，BG_1 导通，积分电容迅速放电，完成了一个斜坡发生。当 A_2 正向输入端的电位低于比较电位时，BG_1 截止，积分电容停止放电，而进入第二次充电，于是又产生第二个斜坡。斜坡产生的周期（T）：

$$T = \frac{R_1C_1}{VI_1} VI_2 \left(1 - \frac{V_{ces}}{VI_2}\right)$$

式中 V_{ces} 为 BG_1 的共发射极饱和压降。本仪器中斜坡上升时间，由调节积分电容 C_1 的数值控制在 60—600 秒。

此装置还可用于其他光化学研究，如观察毫秒至微秒范围内光激励吸收变化过程，荧光变化动力学，以及延迟发光动力学过程。

参 考 文 献

[1] Porter, G.: *Techniques of Organic Chemistry*, (ed. Friess, S. L. et al.), Wiley. New York. 1963, Vol. 8, 1055—1106.

[2] Witt, H. T.: *Naturwiss*, **42**, 72. 1955.

[3] Fenton, J. M. Pellin, M. J.: *FEBS Letters*, **100**, 1, 1979.

[本文于 1980 年 8 月 29 日收到]

氨肽酶 M 的简易制法

俞鹤年　顾涵英　罗超权

(中国科学院上海生化所)

氨肽酶M是近年来新发展的酶制剂，它较之其它氨肽酶稳定，使用广泛，对于蛋白质、多肽和酶的结构功能的研究是极为有用的工具酶[1-3]。

已有文献方法[4]繁琐。为了尽可能立足于国内现有物质条件，因陋就简生产高产优质的氨肽酶 M，我们对其离心纯化，酶解，离子交换纤维素分离，透析去盐，产品的鉴定等方面作了改进和简化。自 1974 年本所东风正式投产以来，取得高产优质的效果，满足了科研工作的需要[2-3]。

一、材　料

猪肾：从屠宰场取得新鲜猪肾，经－20℃速冻。三羟甲基氨基甲烷（简称 Tris，下同），结晶胰蛋白酶、L-亮氨酰-β萘胺盐酸盐，均为本所东风厂产品。Visking 透析袋 20/32，SERVA 产品。DEAE 纤维素，上海有机所实验厂产品。薄层层析硅胶，浙江黄岩荧光化学厂产品。其它试剂均为化学纯以上规格。

二、生产流程和酶产品的鉴定

1. 生产流程　猪肾 3 公斤以 9 升 0.1*M* pH7.3 Tris 盐酸盐缓冲液制成匀浆；在 0℃搅动 12 小时；2500 转（德制 Stock 离心机）离心 15 分钟。上清液以浓醋酸调 pH 至 5，再在 2500 转离心 30 分钟；弃上清液。沉淀部分以上述缓冲液稀释至 6 升。缓慢加入 2 升甲苯，于 38—40℃搅拌保温 30 分钟，再在 2℃搅拌过夜。2500 转离心 1 小时，可见四层：上层为甲苯，第二层呈米黄色糊状（即微粒体层），再下一层为水溶液，底部为少量沉淀。使用连接水泵的滴管先吸去甲苯，然后穿过糊状层吸去水溶液。刮出含酶的第二层糊状层，约2000毫升，悬浮于 pH7.3，0.01 *M* Tris 盐酸缓冲液，最终体积为 3000 毫升；加结晶胰蛋白酶 2.1 克，置于 37—40℃，保温 4 小时后，冷却至 4℃。加固体硫酸铵至 20% 饱和度，2500 转离心。上清液再加固体硫酸铵至 80% 饱和度。于 2500 转离心得沉淀。酶沉淀以蒸馏水稀释 3 倍体积，装于透析袋内，在 0℃对蒸馏水透析去盐。并对 0.02 *M* pH7.3 磷酸缓冲液透析平衡。上清液在DEAE 纤维素柱（3 × 50 厘米）上吸附，氯化钠分级洗脱，层析图谱见图 1。0.2*M* 氯化钠洗脱的酶活力峰约 100 毫升，立即对过饱和硫酸铵溶液反透析 24 小时；析出沉淀在盒式小离心机 3500 转离心 30 分钟后，倾去上清液。酶沉淀悬浮于 10 毫升饱和硫酸铵溶液，以离子交换水稀释至