

借

全国高等学校配套教材

供预防医学类专业用

卫生化学

实验指导

主 编 胡曼玲
副主编 章 满

 人民卫生出版社

R013-33

1

全国高等学校配套教材

供预防医学类专业用

卫生化学实验指导

胡曼玲 主编

章 满 副主编

编者 (以姓氏笔画为序)

王洪玮 (北京大学公共卫生学院)

孙成均 (四川大学华西公共卫生学院)

杜晓燕 (哈尔滨医科大学公共卫生学院)

金庆华 (华中科技大学同济医学院)

郑力行 (复旦大学公共卫生学院)

胡曼玲 (中南大学湘雅公共卫生学院)

郭爱民 (首都医科大学公共卫生与家庭医学院)

章 满 (中南大学湘雅公共卫生学院)

张洪权 (郑州大学公共卫生学院)

张加玲 (山西医科大学公共卫生学院)

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

卫生化学实验指导/胡曼玲主编. —北京:人民卫生出版社, 2003

ISBN 7-117-05628-2

I. 卫… II. 胡… III. 卫生学:化学-实验-医学院校-教学参考资料 IV. R113-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 053044 号

卫生化学实验指导

主 编: 胡 曼 玲

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 67616688)

地 址: (100078)北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

印 刷: 北京市增富印刷有限责任公司(天运)

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 4.75

字 数: 103 千字

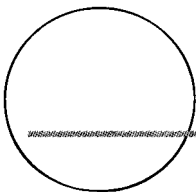
版 次: 2003 年 8 月第 1 版 2003 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-05628-2/R · 5629

定 价: 7.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)



前 言

编写第五版《卫生化学》规划教材的同时,考虑到该课程是实践性较强的学科,实验教学居重要地位。在教师指导下,让学生自己动手操作,既能使学生加深对基本理论和基本知识的理解和巩固,又能训练学生正确的基本操作技能,熟悉一些主要仪器的使用方法;还可以培养学生独立分析问题和解决问题的能力,严肃认真、实事求是的作风,以及有条不紊的工作习惯,为今后从事分析测试工作和科学实验打下良好的基础。鉴于此,将实验部分独立成册,作为配套教材使用。

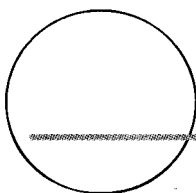
全书共分为两大部分:第一部分卫生化学实验基本要求及基本操作;第二部分实验:①仪器性能检查,5个实验;②分析条件的选择,4个实验;③分析测定,14个实验。总计23个实验和16个附录(表)。这些实验是编者通过自己多年教学科研实践或参照国家计量局、国家教委技术规定编写而成。内容实用,可操作性强。本书可以作为预防医学专业学生的实验教材和相近专业如临床检验专业和法医专业学生的实验教材,也可用作从事卫生检验或其他分析测试工作者的参考书。

本书在编写过程中得到山西医科大学公共卫生学院领导、卫生化学教研室、中南大学公共卫生学院领导、卫生化学教研室大力支持和帮助。在此一并致以深深的谢意。

限于编者知识水平,书中难免有不妥和错误之处,敬请读者批评指正。

胡曼玲

2003年4月



目 录

第一部分 卫生化学实验的基本要求及常用基本操作.....	(1)
一、实验室规程及基本要求	(1)
二、常用的基本操作	(1)
三、实验数据的记录、处理与实验报告的书写.....	(6)
第二部分 实验.....	(9)
实验一 可见分光光度计主要性能检查.....	(9)
实验二 原子吸收分光光度计性能检查	(11)
实验三 酸度计性能检查	(15)
实验四 氟离子选择性电极的性能检查	(19)
实验五 气相色谱仪性能检查	(20)
实验六 可见分光光度法分析条件的选择	(23)
实验七 原子吸收分光光度法分析条件的选择	(25)
实验八 荧光分析法最佳测定波长的选择	(27)
实验九 气相色谱分离条件的选择	(29)
实验十 紫外分光光度法测定苯甲酸	(30)
实验十一 可见分光光度法测定食盐中碘化物	(31)
实验十二 荧光法测定尿中核黄素(V_{B2})含量.....	(33)
实验十三 荧光法测定红细胞中游离原卟啉(FEP)含量	(34)
实验十四 火焰原子吸收分光光度法测定尿中微量锌	(36)
实验十五 石墨炉原子吸收分光光度法测定人发中铅含量	(37)
实验十六 冷原子吸收分光光度法测定微量汞	(39)
实验十七 溶液酸度的测定	(41)
实验十八 离子选择性电极法测定水中氟离子浓度	(43)
实验十九 电导法测定水的纯度	(44)
实验二十 微分电位溶出法测定尿中铅镉含量	(46)
实验二十一 薄层色谱法测定饮料中的食用色素	(48)
实验二十二 气相色谱法测定苯系物	(50)

实验二十三 高效液相色谱法测定尿中马尿酸和甲基马尿酸	(52)
附表	(54)
参考文献	(70)

第一部分

卫生化学实验的基本要求及常用基本操作

一、实验室规程及基本要求

卫生化学实验室是完成预防医学领域各类有关样品理化检验的综合性实验室。实验室既有大型的精密仪器,又有理化分析常用的实验设备、玻璃器皿、药品试剂等。因此,培养学生遵守实验室规程,严谨、科学、规范的实验基本操作技能,以巩固理论知识,保证实验室安全是十分重要的。为此在进行卫生化学实验时应注意以下规则及要求:

1. 实验前要认真进行预习。明确实验目的与要求,了解实验基本原理、操作步骤及仪器的使用方法。做好各项准备工作,以保证能取得令人满意的实验结果。
2. 实验时要自觉遵守纪律,保持实验室安静与整洁,严格遵守实验室安全措施,坚持节约原则。
3. 实验时要听从实验指导教师的指导,遵守操作规程,做到规范操作。仪器操作应严格按仪器说明书进行操作,养成良好的实验习惯。
4. 实验中要细心观察实验现象,积极思考,注意手脑并用,如实记录实验过程发生的现象、实验数据与分析结果。
5. 实验中要善于发现和解决实验过程中出现的问题。遇到疑难问题时,首先要独立思考,再互相讨论或向老师请教。真正做到严谨、生动、积极、主动地学习。
6. 实验中如发现实验内容和安排有不妥之处,应及时提出意见,供教师改进教学时参考。
7. 实验完毕后,要按照仪器说明书有关步骤关闭仪器,做好仪器使用登记。洗净所用设备及玻璃仪器,整理好实验台,最后应得到指导教师的签字认可。
8. 实验完毕后应根据原始记录写好实验报告,按时提交指导教师批阅。

二、常用的基本操作

卫生化学实验要完成环境、食品营养、生物材料等样品的处理;分析方法、分析条件的选择与确定;试剂、标准溶液及样品溶液的配制;分析仪器的操作;实验数据的记录及处理

等工作。因此在卫生化学实验中巩固和进一步理解所学理论知识;掌握预防医学中各类样品的处理方法;熟悉预防医学中常用仪器的基本操作;规范地进行仪器分析前的有关实验基本操作;正确记录与处理实验数据是十分重要的。由于卫生化学实验及后续专业实验中涉及的有关实验基本操作很多,限于篇幅本节仅介绍最常用的称量及容量仪器的使用与校正。

(一) 称 量

天平是实验室用于称量的仪器,常用的天平有:架盘天平(台秤)、阻尼天平、半自动电光天平、全自动电光天平、单盘电光天平及电子天平。各种天平按其分度值与最大载荷之比值可分为十级,如表1所列。

表1 天平相对精度级别

相对精度级别	1	2	3	4	5
分度值与最大载荷之比值	1×10^{-7}	2×10^{-7}	5×10^{-7}	1×10^{-6}	2×10^{-6}
相对精度级别	6	7	8	9	10
分度值与最大载荷之比值	5×10^{-6}	1×10^{-5}	2×10^{-5}	5×10^{-5}	1×10^{-4}

如果某天平的分度值为0.1mg、最大载荷为100g,则此天平的相对精度级别为4级。

天平称量应在专用的天平室进行。对天平室有特殊要求,称量时应注意天平的使用规则;天平性能检定;称量的一般程序及称量的方法。

1. 天平室的专项要求 天平是用于称量的精密仪器,天平室必须满足以下要求:①室内应保持相对恒温、恒湿,一般室温以18~26℃为宜,相对湿度应小于75%。②天平应放置在专用的天平台上。台面应铺设橡胶板防滑、减震。③天平室应配置窗帘,防止阳光直接照射天平。④天平室应保持清洁、安静。⑤与称量无关的一切物品不得带入天平室。⑥天平室应远离热源、震源,防止腐蚀性气体的侵入。

2. 天平的使用规则及主要性能指标 为了保证称量结果准确,在称量时应严格遵守天平的使用规则;定期对天平的主要性能进行检定,以保证天平处于最佳工作状态。

天平称量规则:①根据分析方法所要求的准确度和称量样品的重量确定天平的精度(分度值)及天平的级别。例如,需称量样品的重约30g,要求准确至0.1mg,则应使用4级天平。②天平箱内应放置干燥剂(变色硅胶),并注意及时更换,以保持天平箱的干燥。③同一个实验的全部称量必须在一台天平上完成。使用中不得调节天平的有关计量参数。④称量时,任何需称量的物品均不得直接放置于天平托盘上,应放置于适当器皿(如称量瓶、表面皿等)上,以防磨损、腐蚀天平托盘;称量物品放置好后应关闭所有天平门,以防气流影响读数。⑤除电子天平外,其他天平加减砝码、物品时应将天平横梁托起,以防止损伤摆动刀口,降低天平的灵敏度。⑥不得带潮湿的器皿进入天平室。需称取水溶液时,应将其盛入密封性好的容器(细颈比重瓶、称量滴管等)称量,并尽量缩短称量时间。

⑦称量完毕应将天平复原。

为了保证称量的准确度,应掌握天平的主要计量性能指标。必要时根据有关规定应对天平的主要性能进行检测,从而使称量者对所使用的天平性能有比较全面的了解。天平主要计量性能包括:灵敏性、稳定性、示值变动性和不等臂性。

(1)灵敏性:天平的灵敏性用灵敏度表示,是指在天平托盘上增加1毫克重量时,天平平衡点在标尺上移动的格数,单位是格/毫克。但在实际应用中,常用分度值(感量)表示天平的灵敏性。分度值是指使天平平衡点在标尺上产生一个分度位移时所需的重量(毫克),单位是毫克/格。因此,灵敏度是分度值(感量)的倒数。

影响天平灵敏性的因素很多,如:天平的重心位置、横梁刀口的磨损程度、天平的载重量等。在实际工作中应经常对天平的灵敏性进行检定,使天平处于良好的工作状态。具体检定方法可参考有关专著。

(2)稳定性和示值变动性:稳定性是指天平达到平衡时横梁经扰动离开平衡位置后,仍能自动恢复到原来位置的性能。示值变动性是在不改变天平状态的情况下,天平平衡位置的重复性。稳定性只与天平横梁的重心有关。而示值变动性不仅与天平横梁重心有关,还受温度、气流、震动等外界因素的影响,天平的示值变动性用示值变动性误差表示。

(3)不等臂性:不等臂性是指天平横梁两臂长度不一致。在称量时天平若存在不等臂性可产生一定的系统误差。

3. 称量的一般程序及方法 称量的一般程序可分为称量前、称量时及称量后三部分。

称量前:应做好一切有关称量的准备工作,包括专用的手套、记录本、存放和接受需称量物品的器皿等;天平应做必要的检查:①检查天平是否水平:以站立姿势对准天平的气泡式水准器,垂直方向查看其气泡是否处于圆圈中心,若不在则应调节天平的底脚螺丝直至水平。②天平托盘是否清洁:若有灰尘应以软毛刷清扫干净。③天平箱内干燥剂变色硅胶是否变色:若变色则应及时更换。④天平各部件是否处在正常位置:如有异常应及时做出处理。⑤检查和调节天平的零点:使天平处于正常工作状态后才可开始称重。

称重时:使待称物品与天平箱里的温度处于一致。对需称重物品有一个大致的重量估计(特别是需加砝码的双盘天平更应如此),先粗略称重(试重);再进行准确称量;最后读数并记录称量的数据,经检查无误后称量完毕。

称量后:使天平恢复到原状,包括砝码、横梁、托盘、天平门、电源及天平台和天平罩等;填写好天平使用登记。

天平的称量方法有:直接称量法、固定重量称量法、递减称量法(差减法)三种。

直接称量法:用药勺取适量需称重样品放于已知重量的适当容器中,准确称取样品的重量,然后将其全部转入容量容器中。

直接称量法适用于性质稳定且不易吸湿的物品(试样、试剂)的称量;在指定温度下干燥一定时间,放在干燥器中冷却后即可称量。

固定重量称量法:先称器皿(表面皿、小烧杯等)的重量,使用砝码的天平先加上所需称量重量的砝码,在容器中加入略少于所需称量重量的试样,再轻轻振动药勺使试样慢慢加入容器中直至达到所需称量的重量。

固定重量称量法适用于不易吸湿、且不与空气中各种组分发生作用、性质稳定的粉末状试样、试剂等的称量。常用于称量基准物质配制指定浓度的标准溶液。

递减称量法(差减法):其操作如图 1 所示。将适量试样(或试剂)装入称量瓶中,放置于天平上称取重量为 W_1 克;取出称量瓶放于容器上方,用称量瓶盖轻轻敲击称量瓶瓶口上方,使试样慢慢落入容器中至试样接近所需的重量;慢慢将称量瓶竖起,用瓶盖轻轻敲击瓶口使粘在瓶口内壁的试样落回瓶中,将称量瓶放回天平再称取重量为 W_2 ;两次称量之差 $W_1 - W_2$ 即为试样的重量。

递减法称量操作时应注意:①倒入容器中试样重量不够时可重复操作。如倒入容器中试样超出太多时应弃去试样重新操作;②称量瓶除放置天平托盘及表面皿上外,不得放置于其他地方以免粘污;③不得用手直接接触称量瓶,应带上专用手套或用纸带隔离,纸带不用时应放置于干净处;④称量瓶口的试样应尽量处理干净,以免丢失。

递减称量法因其操作简便、快速、准确而成为一种最常用的称量方法。

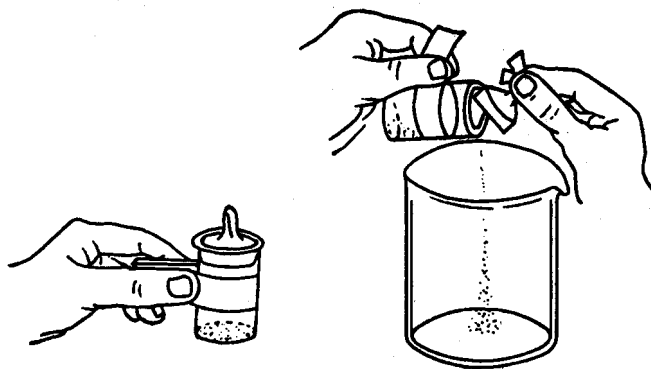


图 1 递减称量法示意图

(二) 容量仪器的使用与校正

卫生化学实验中常用的容量仪器有容量瓶、比色管、吸量管、移液管等。

1. 容量仪器的使用

容量仪器用于配制、量取或移取一定体积的试液和试剂。其准确度直接影响分析结果的准确度。基础化学中已学习过容量仪器的使用方法,此处仅对容量仪器的使用注意事项说明如下。

移液管与吸量管的使用 移液管是准确移取一定体积试液和试剂的量器。吸量管(刻度吸管)可以准确量取其刻度范围以内的溶液,常用于准确量取小体积或非整数体积的溶液。

移液管分为一条标线和两条标线两种类型。其标称容量有:1、2、5、10、25、50 及 100ml,分别分为 A、B 两级。具有一条标线的移液管在放所移取溶液时,让溶液自标线流至口端,A 级等待 15 秒、B 级等待 3 秒后移液管可离开接受容器(移液管流液口应保留残留液)。具有两条标线的移液管在从上标线至下标线放所移取的溶液时,让溶液自上标线

流至下标线上的 5mm 处, A 级等待 15 秒、B 级等待 3 秒, 然后调至下标线。

吸量管分为: 完全流出式、不完全流出式、吹出式三种。完全流出式又分为慢流式和快流式。完全流出式的慢流式标称容量有: 1、2、5、10、25 及 50ml, 分别分为 A、A₂、B 三级。完全流出式的快流式和吹出式的标称容量有: 0.1、0.2、0.25、0.5、1、2、5 及 10ml, 只有 B 级。不完全流出式的标称容量有: 0.1、0.2、0.25、0.5、1、2、5、10、25 及 50ml, 分别分为 A、A₂、B 三级。完全流出式吸量管在放出所吸取的溶液时, 让溶液自上标线流至口端, A、A₂ 级等待 15 秒、B 级和快流式等待 3 秒后吸量管可移开接受容器(吸量管液流口应保留残留液)。不完全流出式吸量管在放所吸取的溶液时, 让溶液自上标线流至最低标线上的 5mm 处, A、A₂ 级等待 15 秒、B 级等待 3 秒, 然后调至最低标线后吸量管可离开接受容器。吹出式吸量管在放出所吸取的溶液时, 让溶液自上标线流至口端, 等待 3 秒再将端口残留溶液全部吹出。为了减少误差, 无论吸量管需放出多少体积溶液均应以最上面刻度为起点。

容量瓶与比色管的使用 容量瓶分为“量入”式和量出式, 前者瓶上标有“In”字样、后者瓶上标有“Ex”字样。量入式容量瓶用于配制一定体积溶液, 在标明温度下, 瓶内充满至标线的溶液体积与瓶上所标明的体积相同; 将量出式容量瓶中充满至标线的溶液以一定方法倒出时, 其体积与瓶上所标体积相同。比色管的使用方式与容量瓶相同, 但其标称容量的准确度比容量瓶低。

容量瓶的标称容量有: 5、10、25、50、100、250、500 及 1000ml 等各种规格。在实验中常与移液管、吸量管配合使用。

使用容量仪器应注意: ①容量仪器不能烘烤, 也不许用任何其他方式加热; ②使用时应使溶液处于室温, 必要时考虑温度校正; ③使用完后应及时清洗干净; ④不能用容量容器长期存放试液。

2. 容量仪器的校正 校正玻璃容量仪器常采用称量法, 或容量仪器之间的相对校正法。

(1) 称量法: 在某温度下, 称得玻璃容量仪器所容纳一定体积水的重量, 然后根据该温度时水的密度将水的重量换算成体积, 从而求得玻璃容量仪器的容积。

由于不同温度下水的密度均已准确已知(可查表), 而且称量也能达到要求的准确度, 所以称量法校正玻璃容量仪器可靠性高。

测量液体体积的单位是“升”。1 升是指真空中 1 千克重的水在最大密度时(3.98℃)所占有的体积。3.98℃以上时, 水的密度随温度升高而减小, 同时玻璃容量仪器的容积和水的体积也会随温度改变而改变, 因此一般规定 20℃为校正玻璃容量仪器的标准温度。

将某温度的水重量换算成玻璃容量一起在 20℃时的容积时, 必须考虑以下三种影响因素: ①水的密度随温度而改变的影响; ②空气浮力对称量的影响; ③玻璃容量仪器的容积随温度而改变的影响。将三种影响因素综合考虑合并得到以下总校正公式:

$$d'_t = \frac{W}{V_{20}} = d_t [1 + \beta(t - 20)] \times 0.99894$$

$$\text{则 } V_{20} = \frac{W}{d'_t}$$

式中: d_t' 为不同温度下 1ml 纯水在空气中用黄铜砝码称量时的质量; W 为与纯水平衡的砝码质量; V_{20} 为玻璃容量仪器在标准温度 20°C 下的容积; d_t 为校正温度下纯水的容积; β 为玻璃的体积膨胀系数, $\beta=0.000025^\circ\text{C}^{-1}$; t 为校正时的温度。

将不同温度下的 d_t 按前式求出 d_t' 值列成表(表 2)。利用此表则仅需称量任意温度下的 W 值, 查得相应温度下的 d_t' 值就可求出校正玻璃容量仪器 20°C 时的容积。

表 2 1L(20°C)玻璃容量容器中的纯水在空气中用黄铜砝码称量的质量

温度 $^\circ\text{C}$	水的质量 g/L	温度 $^\circ\text{C}$	水的质量 g/L	温度 $^\circ\text{C}$	水的质量 g/L	温度 $^\circ\text{C}$	水的质量 g/L
0	998.24	10	998.39	20	997.18	30	994.91
1	998.32	11	998.32	21	997.00	31	994.68
2	998.39	12	998.23	22	996.80	32	994.34
3	998.44	13	998.14	23	996.60	33	994.05
4	998.48	14	998.04	24	996.38	34	993.75
5	998.50	15	997.93	25	996.17	35	993.44
6	998.51	16	997.80	26	995.93	36	993.12
7	998.50	17	997.66	27	995.69	37	992.80
8	998.48	18	997.51	28	995.44	38	992.46
9	998.44	19	997.35	29	995.18	39	992.12
						40	991.77

(2) 相对校正法: 在实际工作中, 由于移液管常与容量瓶配套使用, 因此并不需要确切知道容量瓶和移液管的准确容积, 而只需知道它们之间的相对关系是否准确。例如, 25ml 的移液管的容积是否等于 100ml 容量瓶的四分之一。不需要用称重法校正, 使用相对校正法校正即可。其操作方法如下: 洗净并晾干一支 25ml 移液管和一只 100ml 容量瓶; 用移液管准确移取蒸馏水 4 次注入容量瓶中; 观察容量瓶内液面最低点是否与瓶颈上的标线相切, 如不一致则应另作标记。经此校正的移液管与容量瓶必须配套使用。

三、实验数据的记录、处理与实验报告的书写

(一) 实验数据的记录

实验数据的记录必须遵循真实、科学、规范的原则。据此, 记录实验数据应做到:

1. 实验数据必须使用专用的记录本(原始记录本)记录, 以真实、系统反映所有实验情况。切不可将实验数据随意记录于书或草稿纸上。
2. 每次实验均应记录实验日期、天气状况、实验室温度、湿度、实验名称、仪器型号、仪器条件、测试条件及操作人员等。
3. 实验数据不允许涂改, 如确实有误只能将原数据用双斜线划掉, 将正确的数据清

晰的记录于旁边,由更改人签名于数据旁。

4. 实验数据应根据所用仪器的精密度正确记录。

实验完毕需将完整的实验数据记录交实验指导教师检查、核对并签字后方可离开实验室。

(二) 实验数据的处理

实验数据的处理包括:可疑数据的取舍、实验数据的表示、实验数据的评价及结果计算。对实验数据进行各种处理时都必须严格遵守有效数字规则。

1. 可疑值的取舍 参阅《卫生化学》教材第二章。

2. 实验数据的表示 用表格、图形或数学公式真实而准确地表示实验数据间的相互关系、变化的情况、趋势及测量的结果等有关信息,以取得准确的分析结果。

(1)表格表示法:是将实验操作数据、测量数据及有关计算数据按一定形式和顺序列成表格。其优点是简单易行,形式紧凑便于参考,能同时表示几组数据间的变化情况。

使用表格表示实验数据时应有明确、全面的表格名称;必要的实验条件;正确的表示有效数字;各行、各列的名称、单位(尽量用符号表示)。

(2)图形表示法:是将实验数据按自变量和因变量的对应关系绘制成图,从而将实验数据间的重要特性直观地显示出来,以有利于分析研究。在卫生化学实验中涉及绘制的图有标准曲线图、吸收光谱图及分析条件选择数据分析图等。本节以标准曲线图为例说明有关实验数据的处理和绘制曲线的注意事项。

卫生分析中常用工作曲线法定量,即将被测组分的标准含量对测量物理量的关系绘制成标准曲线(工作曲线),然后根据标准曲线计算被测组分的含量。如分光光度法的 $A-C$ 曲线、分子荧光分析法的 $F-C$ 曲线、离子选择性电极电位法的 $E-\lg C$ 曲线等。

标准曲线的绘制包括以下几个步骤:①选择合适的作图纸(计算纸或坐标纸):简单线性关系如 $A-C$, $F-C$ 等用直角毫米计算纸,而 $E-\lg C$ 曲线应选择半对数毫米计算纸。②选择合适的坐标轴及其分度:习惯上将浓度或质量作为自变量(x 轴),而将测量值作为因变量(y 轴)。坐标分度的选择应考虑坐标读数的准确及图形的紧凑、位置适中。 x 、 y 轴分度的比例应选择尽量使标准曲线的斜率接近或等于 1;某些标准曲线图,也不一定拘泥于以坐标原点作为分度的零点,如 $E-\lg C$ 曲线就可在体现 E 的测量准确度的前提下,用小于最小测量 E 值的整数作为分度的起点,用大于最大测量 E 值的整数作为分度的终点。③标绘数据点。④选择合适的直线位置绘制直线:综合各数据点的趋势使直线两侧的数据点数尽量相等,即使数据点均匀分布于直线两侧。⑤于图的右上角做出图注:图注包括详细图名、符号代表意义、必要的测量条件(如 $A-C$ 曲线的测量波长)及测量、绘制日期等。

根据样品测量值可从标准曲线上查得相应的浓度或质量。

(3)数学公式表示法:是将实验数据的自变量和因变量的关系用数学关系式表示的方法。可参考教材中各种分析方法的定量公式。

3. 实验数据的评价 主要涉及标准曲线的线性评价及多次平行测定平均值的准确度评价等。

(1)标准曲线线性评价:对标准曲线进行回归处理时,可得到回归线性方程 $y=a+bx$,评价此方程的线性即判断回归直线是否有实际意义。在数学上常用相关系数进行定量判断。

线性回归方程相关系数(r)的定义式为:

$$r=b\sqrt{\frac{\sum(x_i-\bar{x})^2}{\sum(y_i-\bar{y})^2}}$$

或

$$r=\frac{\sum(x_i-\bar{x})(y_i-\bar{y})}{\sqrt{\sum(x_i-\bar{x})^2\sum(y_i-\bar{y})^2}}$$

r 的物理意义为:①当所有测量值都在回归直线上时, $r=\pm 1$;②当测量值与标准浓度完全不存在直线关系时, $r=0$;③当 $r=0\sim 1$ 时,说明测量值与标准浓度之间有不同程度的线性相关, r 愈接近 1,直线关系愈好。

一般而言,标准曲线的相关系数愈接近 1,说明测量值与标准浓度的线性关系愈好。

(2)平均值的准确度评价 参阅《卫生化学》教材第二章。

(三) 实验报告的书写

正确书写实验报告是卫生化学实验步骤之一。实验报告主要包括以下内容:

1. 实验名称、实验日期、环境状况(如温度、湿度、天气状况等)、实验者。
2. 目的与要求、原理或方法提要、操作步骤。用简练的文字指明本实验应掌握、熟悉、了解的各项内容;简要介绍分析测定实验的原理,或简要介绍实验的方法提要;仪器的简要操作过程,包括仪器名称、仪器操作条件。
3. 报告应根据《卫生化学》教材第二章介绍的有关原则根据所操作的仪器和方法对数据进行正确处理。分析测定实验应将平行测定的各个分析数据计算出结果,再求出平均值;分析条件选择实验应根据数据表或数据表示图选择出最佳条件值或最佳条件区间;仪器性能检测实验应根据各检测项目及仪器性能指标给出评价。
4. 实验的注意事项。注意事项一般为本实验操作过程中特别强调的有关步骤。也可对原理或方法作必要的说明。
5. 报告最后应对实验内容、结果及实验中出现的问题进行讨论。讨论主要涉及影响本实验的有关因素。也可对本实验的有关内容如操作及安排提出改进意见。

(章 满)

第二部分

实 验

实验一 可见分光光度计主要性能检查

【目的与要求】

1. 掌握分光光度计的正确使用方法。
2. 熟悉仪器的技术指标及一般检查方法。
3. 了解分光光度计的性能。

【方法提要】

可见分光光度计是依据被测物质在可见光谱区范围内(360~800nm)吸收光谱的特性及吸收光的程度(吸光定律: $A = -\lg T = \epsilon bc$)对物质进行定性和定量测定的仪器。为保证分析灵敏度和准确度,国家计量局规定:对仪器应定期进行检查,检查周期一般为一年。检查的主要技术项目有:仪器外观、波长精度、灵敏度、稳定性和重现性;对于符合比耳定律的溶液,测量时溶液的浓度与吸光度值之间应具有良好的线性;一套比色皿之间应互相匹配以及仪器的绝缘等。上述各项性能应符合仪器所规定的技术指标(见操作步骤)。本实验采用规定方法对上述各项目进行检查。

【仪器与试剂】

1. 仪器与器皿 分光光度计;锗钨玻璃片;1厘米比色皿。
2. 试剂 $K_2Cr_2O_7$; $CoCl_2$; $CuSO_4$; H_2SO_4 ; 盐酸皆为分析纯试剂。

【操作步骤】

1. 仪器外观检查 仪器所有紧固件应紧固良好,各调节器能正常工作。仪器置于平稳工作台上,操作时不得有摆动现象。比色皿座应推动自如,无松动、卡住现象。光束透过各透光孔应畅通无阻。

仪器所配比色皿的透光面应光洁,无表面划痕、擦毛和斑点。任何一面不得有裂纹。

2. 波长精度的检查 在波长标度盘上的波长标度值误差,应符合以下规定:

波长范围	420~500nm	510~600nm	610~700nm
允许误差	$\leq \pm 3nm$	$\leq \pm 5nm$	$\leq \pm 6nm$

检查方法:使用仪器配备的锗钨玻璃片,该片对不同波长的光透光率不同,在上述各波长范围内有其透光率峰值。先用汞灯校正波长的分光光度计测定锗钨片各波长范围

的透光率峰值 λ_s , 再在此分光光度计上测定其透光率-波长曲线, 从曲线上找出锗铍片的透光率峰值, 则该仪器的波长误差 $\Delta\lambda = \lambda - \lambda_s$ 。

3. 线性误差的检查 在吸光度为 0.1~0.8 (透光率为 80%~16%) 的范围内, 用符合比耳定律的溶液进行测定, 在不同的吸光度值范围测量溶液浓度的线性误差应符合以下规定:

吸光度范围 0.1~0.3 0.3~0.6 0.6~0.8

线性误差 $\leq \pm 6\%$ $\leq \pm 3\%$ $\leq \pm 4\%$

检查方法: 配制 $K_2Cr_2O_7$; $CoCl_2$; $CuSO_4$ 溶液, 每种溶液配制以下三个浓度:

溶液名称	溶液浓度 ($\times 10^3 \mu g/ml$)			测定波长	备注
$K_2Cr_2O_7$	0.0300	0.0900	0.150	440nm	浓度以 Cr 计量
$CoCl_2$	2.00	6.00	10.00	510nm	浓度以 Co 计量
$CuSO_4$	2.00	6.00	10.00	690nm	浓度以 Cu 计量

注: $K_2Cr_2O_7$ 和 $CuSO_4$ 溶液用 0.1mol/L H_2SO_4 稀释, $CoCl_2$ 溶液用 0.1mol/L 盐酸稀释。

以重蒸馏水为空白, 用仪器分别测量以上各个溶液的吸光度, 每一浓度的溶液必须重复测量 3 次, 取其平均值。将记录的吸光度与对应浓度, 按下列公式计算各点的线性误差。

$$\frac{A_1 + A_2 + A_3}{C_1 + C_2 + C_3} = K$$

$$C_1 K = A_1'; C_2 K = A_2'; C_3 K = A_3'$$

$$A_1 \text{ 的线性误差} = \frac{(A_1 - A_1')}{A_1'} \times 100\%$$

$$A_2 \text{ 的线性误差} = \frac{(A_2 - A_2')}{A_2'} \times 100\%$$

$$A_3 \text{ 的线性误差} = \frac{(A_3 - A_3')}{A_3'} \times 100\%$$

式中: C_1 、 C_2 、 C_3 是同一种溶液的三个浓度; A_1 、 A_2 、 A_3 是测得的相应吸光度; K 是理想的直线斜率; A_1' 、 A_2' 、 A_3' 是 C_1 、 C_2 、 C_3 浓度在理想直线上的吸光度。

4. 灵敏度的检查 仪器的灵敏度是吸光度变化值与相应溶液浓度变化值之比, 其比值应符合下表规定:

溶液名称	灵敏度 [$A/(\mu g \cdot ml^{-1})$]	测定波长
$K_2Cr_2O_7$	$\geq 0.012/3$	440nm
$CoCl_2$	$\geq 0.014/200$	510nm
$CuSO_4$	$\geq 0.014/200$	690nm

检查方法: 配制如下浓度的溶液:

溶液名称	溶液浓度 ($\times 10^3 \mu g/ml$)	测定波长	备注
$K_2Cr_2O_7$	0.0300 与 0.0330	440nm	浓度以 Cr 计量
$CoCl_2$	2.00 与 2.20	510nm	浓度以 Co 计量
$CuSO_4$	2.00 与 2.20	690nm	浓度以 Cu 计量

在指定波长下分别测量各溶液吸光度,设每种溶液的两个浓度间变化值为 ΔC ,测得相应吸光度变化值为 ΔA ,则灵敏度 $S = \Delta A / \Delta C$ 。

5. 重现性的检查 仪器在同一工作条件下,用同一种溶液连续重复测定 7 次,其透光率最大读数与最小读数之差不应大于 0.5%。

检查方法:将波长固定在 510nm,用含 $\text{Co } 2.00 \times 10^3 \mu\text{g/ml}$ CoCl_2 溶液连续测定 7 次,记录 7 次测定透光率值,计算最大读数与最小读数之差。

6. 吸收池(比色皿)匹配性的检查 在同一波长下,配套使用的吸收池之间透光率之差要求不大于 0.5%。

检查方法:将波长固定在 440nm,用含 $\text{Cr } 0.0300 \times 10^3 \mu\text{g/ml}$ 的 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 溶液分别注入一套吸收池中,将其中一只推入光路中,调节透光率值至 95%(T 值可选小于 100% 而又尽量大的任一值),然后将各吸收池一一推入光路,记录各吸收池同第一只吸收池之间的透光率差值,差值不大于 0.5% 即可配对或配套使用。

7. 绝缘电阻的检查 在仪器测定的环境条件下,于仪器电源输入电路和外壳之间,用兆欧表(500 伏)测定其绝缘电阻。要求不低于 50 兆欧。

【注意事项】

1. 测定波长精度时,在锗钨片透光率峰值 λ_s 附近 10nm 范围内每隔 2nm 测定一次透光率值,远离峰值处每隔 10nm 测定一次。

2. 配制溶液时应注意试剂用量 2.829 克 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 相当于 1 克 Cr; 4.034 克 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 相当于 1 克 Co; 3.920 克 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 相当于 1 克 Cu。

【思考题】

1. 如果仪器的灵敏度达不到规定的指标,在测量标准曲线时会有什么结果?
2. 本实验采用的三种溶液具有不同的颜色,你能说明溶液颜色与吸收波长之间的关系吗?

(杜晓燕)

实验二 原子吸收分光光度计性能检查

【目的与要求】

1. 掌握仪器主要性能的检查方法及仪器的使用方法。
2. 了解原子吸收分光光度计性能检查的项目和技术指标。

【方法提要】

原子吸收分光光度计主要用于金属和类金属元素测定,仪器性能的好坏直接影响测定结果的准确度。对于长期使用或维修后的仪器应定期或及时的进行性能检查,检查周期为二年。

根据国家计量局检定规程和“JJG(教委)023—1996 原子吸收分光光度计检定规程”规定,原子吸收分光光度计的检查项目和技术指标如表 3 所示。本规程适用于新购置、使用中和检修后的各种类型原子吸收分光光度计。