

# 临床生化检验

## 复习参考



吉林医学院



军医学院610 2 00767859

# 临床生化检验复习参考

范常生 编

张莹 审



35488

吉林医学院

# 前 言

本复习参考资料是编者在执教之余，应广大临床检验工作者之需要，根据我院暂行的高等医药院校医学检验专业临床生化检验教学大纲的内容和要求编写的。文中所列之内容均在高等教育教材范畴之内，但它不是教材内容的简单重复，而是把有关问题经过提炼和整理，以问答和多选题的方式展现出来，以达到专业知识复习并通过复习，达到提高业务理论水平之目的。

由于临床生化检验系一门临床实验科学，它的主要宗旨是：紧密结合临床，阐述人体化学物质定性、定量的分析方法，直接为临床诊断服务。因此，它应用了很多定性、定量的分析技术，其专业性之强，测定项目之多，施用技术之广，系从事该项工作的同道举目共睹。本专业要求掌握的内容很多，欲在有限篇幅、有限时间内达到全面复习之目的是有困难的。

本复习资料着重于专业基本理论、基本知识和基本技能方面的复习，未列入讨论的内容并非不重要，只因篇幅有限未及提到，读者可根据自己的实际情况，对内容自行选学或增学。

本复习资料共分两大部分。第一部分是问答题，很多问题可在本部分中得到复习；第二部分是多选题选编，根据专业内容，以A、B、C、K四种类型，出数百道多选题，分组示出并在其后附有参考答案和必要的注解，帮助读者进一步扩大复习范围，并通过此形式供读者自我考核、自我思考和练习回答多选题之用。

本复习参考资料在编写过程中，曾得到很多老师、同道和同行的热心指导帮助，特别是得到教研室张莹主任的大力支持，促其成册，在此表示衷心感谢。

由于编者水平有限，实践经验不多，加之时间仓促，不当和错误之处在所难免，恳请读者批评指正。

编者1985年3月

# 目 录

<b>第一部分 问答题</b> .....	(1)
<b>一、光谱光度分析方法的有关问题</b> .....	(1)
1—1 何为比色法？比色法的主要优点和缺点是什么？ .....	(1)
1—2 使用比色法时为什么需要一定波长范围的光通过溶液？ .....	(1)
1—3 什么叫物质对光的吸收曲线？怎样制备这种曲线？有何意义？ .....	(1)
1—4 在比色法中绘制标准工作曲线有什么作用 .....	(2)
1—5 绘制标准工作曲线应注意哪些事项？ .....	(2)
1—6 何为互补光？它在比色法分析技术中有何指导意义？ .....	(2)
1—7 比色分析时怎样选择滤光片？ .....	(3)
1—8 什么叫利用波长除干扰？举例说明之.....	(3)
1—9 Lambert—Beer定律的最后数学表达式是什么？它与生化检验结果计算有什么关系？ .....	(3)
1—10 临床生化检验结果有几种换算方法？各有什么优缺点？ .....	(4)
1—11 一种物质溶液，如果改变其浓度，其最大吸收波长是否改变？ .....	(5)
1—12 为什么在吸收度测定中，读数在0.2—0.7之间，测定的浓度误差最小？ .....	(5)
1—13 从理论上说比色分析最容易产生误差的因素有哪些？ .....	(6)
1—14 比色分析中为什么要设空白对照？空白对照有几种？怎样用法？ .....	(6)
1—15 何为分光光度法？它与比色法有何异同点？ .....	(7)
1—16 吸收系数及吸收系数求算方法和意义？ .....	(8)
1—17 什么叫紫外分析法？它与比色分析方法有什么异同点？ .....	(8)
1—18 是否任何化学物质都可以使用紫外分光光度法测定？为什么？ .....	(8)
1—19 从光谱光度分析的角度谈谈比色法和紫外分光光度法属于哪种分析方法？ 可见—紫外吸收光谱是怎样产生的？ .....	(9)
1—20 何为发射光谱？不同的物质为什么有不同的发射光谱？ .....	(9)
1—21 简述用火焰光度法测定血清钾、钠元素的基本原理？ .....	(10)
1—22 使用火焰光度计测定钾、钠为什么也要使用滤光片或使用单色光器分光？ .....	(10)
1—23 火焰光度法的滤光或分光和吸收光谱类仪器的滤光或分光有什么异 同点？ .....	(10)
1—24 发射光谱的火焰光度法和吸收光谱的分光光度法（包括比色法），在选 择滤光片或分光的原则上有什么不同？ .....	(10)

1—25	何为荧光? 荧光是怎样产生的?	(11)
1—26	怎样理解和阐述荧光分析方法定量分析的基本原理?	(11)
1—27	荧光分析方法在定量分析方面的优点、缺点是什么?	(11)
1—28	比浊法是吸收光谱的分析方法吗? 为什么?	(11)
1—29	比浊法为什么可以通过光电比色计或其他可见光分光光度计进行定量测定?	(11)
1—30	比浊法既然不属于吸收光谱的方法, 为什么在光电比浊时还要选择入射光波长?	(12)
1—31	列出Lambert—Beer定律中透光度和吸收度数学关系式、计算例题。	(12)
1—32	通过下列例题, 熟悉克分子吸收系数和百分消光系数的计算方法。	(12)
1—33	怎样测知滤光片的半宽度? 有什么意义?	(13)
1—34	指出下列各图是哪一类光谱仪器示意图?	(14)
<b>二、电泳技术有关问题</b>		(15)
2—1	解释下列名词	(15)
2—2	带电质点在电场中的泳动速度与电场强度、摩擦系数有什么关系?	(15)
2—3	何为电泳迁移率?	(16)
2—4	迁移率的单位是什么? 其单位是怎样得出来的?	(16)
2—5	迁移率和颗粒本身大小有何关系?	(16)
2—6	对蛋白质而言, 研究它们的电泳迁移率有什么意义?	(16)
2—7	缓冲液的PH对蛋白质颗粒的电泳行为有什么影响? 为什么?	(16)
2—8	血清各种蛋白质为什么通过电泳可以分离开来?	(17)
2—9	缓冲液的离子强度对颗粒的电泳有何影响? 为什么?	(17)
2—10	缓冲液离子强度的概念及计算方法	(18)
2—11	在用醋酸纤维薄膜进行血清蛋白电泳时, 如果输出电压不变, 增加或减小薄膜的宽度, 电泳仪电流表会有什么变化? 为什么?	(19)
2—12	临床电泳时, 如仅测一个患者的样品, 怎样调节电场?	(19)
2—13	用醋酸纤维薄膜进行血清蛋白质电泳, 怎样用光密度扫描计获得结果?	(19)
2—14	在不用光密度扫描计时, 怎样计算出血清蛋白区带电泳的结果?	(19)
2—15	以醋酸纤维和琼脂板作支持物有什么优点和缺点?	(20)
2—16	在琼脂对流免疫电泳中抗体蛋白为什么往阴极方向移动?	(20)
2—17	免疫火箭电泳为什么能对抗原进行定量?	(20)
2—18	脂蛋白圆盘电泳的原理和电泳图谱的位置特点怎样?	(21)
2—19	聚丙烯酰胺凝胶是怎样合成的? 其分子筛孔径大小由什么决定?	(21)
2—20	阐述脂蛋白电泳臭氧氧化—亚硫酸品红染色法的原理和注意事项?	(21)

<b>三、层析技术有关问题</b>	.....	(22)
3—1 层析技术是怎样的一种分离方法？简要阐述层析技术的一般原理？	.....	(22)
3—2 何为液相层析及液一固、液一液层析？	.....	(22)
3—3 何为气相层析及气一固、气一液层析？	.....	(22)
3—4 何为分配层析和吸附层析？	.....	(22)
3—5 柱层析、纸层析、薄膜层析是怎么回事？	.....	(22)
3—6 何为分配系数？它在所有层析中有何重要意义？	.....	(22)
3—7 在液一液层析中，如果某物质在A相和B相间分配达平衡后，分配系数 $K = 1$ ，那么该物质在A、B两相中的总量如何？	.....	(23)
3—8 柱层析的保留体积和保留时间是什么概念？它与分配系数K值有什么 关系？有何意义？	.....	(23)
3—9 何为比移值？它与分配系数有何关系？	.....	(23)
3—10 何为相对比移值？它与比移值有何区别？有何意义？	.....	(24)
3—11 何为克分子分配系数？其值大小与什么有关？有何意义？	.....	(24)
3—12 简述纸层析的大体操作过程。	.....	(24)
3—13 简要回答纸层析的一般原理？	.....	(24)
3—14 简述薄层层析的大体操作过程。	.....	(25)
3—15 简要回答薄层层析的一般原理。	.....	(25)
3—16 在吸附层析中，选择条件时必须从哪几方面综合考虑？为什么？	.....	(25)
3—17 有一分配层析柱的流动相与固定相的体积比为 $V_m:V_s = 0.33:0.1$ ，若溶 质在固定相和流动相的分配系数 $K = 5$ ，比移值等于多少？	.....	(25)
3—18 一根层析柱长为10cm，流动相流速为0.01cm/秒，组分的洗脱时间为 40分钟，求R值是多少？	.....	(26)
3—19 离子交换柱层析的吸附状态是怎样发生的？它们可能存在哪三种吸 附状态？	.....	(26)
3—20 在离子交换层析中洗脱的基本方法是什么，常采用哪两种形式进行洗 脱？	.....	(27)
3—21 凝胶层析是怎样的一种层析技术？简述凝胶层析的基本过程？	.....	(27)
3—22 简述凝胶层析的基本原理？	.....	(27)
3—23 凝胶层析的分配系数是怎样一个概念？讨论这个系数有何意义？	.....	(27)
3—24 回答凝胶层析中的有关问题.....	.....	(28)
(1) 凝胶层析中常用凝胶有哪些？(列举两、三种)	.....	(28)
(2) 凝胶层析中混合物的分离主要取决于哪两个因素？	.....	(28)
(3) 凝胶颗粒内部微孔的大小与使用的凝胶分子的直径有何关系？	.....	(28)
(4) 何为凝胶粒度？其对分离效果有何影响	.....	(28)
(5) 凝胶层析中对样品体积有何要求？	.....	(28)

3—25 回答亲和层析技术的有关问题	(28)
(1) 何为生物分子间的亲和力?	(28)
(2) 何为亲和层析?	(28)
(3) 何为配基? 通常在亲和层析中称哪一方为配基?	(29)
(4) 具有专一性亲和力的生物分子主要有哪些? 它们的专一性是由什么决定的?	(29)
(5) 酶和底物是怎样进行专一性亲和的? 关于SE的性质在亲和层析中有哪两点必须注意?	(29)
(6) 在利用竞争抑制剂作为配基亲和吸附酶的机制如何? 在使用这种层析时应注意哪些问题?	(29)
<b>四、 “质控”的有关问题</b>	(30)
4—1 解释误差和偏差及其表示方法	(30)
(1) 绝对误差	
(2) 相对误差	
4—2 何为平均偏差和相对平均偏差? 怎样表示和计算?	(30)
4—3 何为标准差? 有何意义?	(30)
4—4 何为变异系数? 有何意义?	(31)
4—5 何为算术平均数和中位数? 怎样计算及在怎样情况下使用?	(31)
4—6 几何平均数怎样应用? 如何计算?	(34)
4—7 用例题中所给出的变量值, 分别计算算术平均数、中位数、相对平均偏差、标准差和变异系数。	(34)
4—8 概述系统误差和偶然误差的特点和产生原因?	(35)
4—9 何为准确度和精密度? 简述二者的关系如何?	(36)
4—10 回收试验的概念和用途?	(36)
4—11 通过题中所给出的实验数据计算回收率	(36)
(1) 样品制备	(36)
(2) 测定结果	(36)
(3) 计算	(37)
4—12 用两种方法测定同一批标本怎样应用t检验? 检验的结果可以说明什么问题?	(37)
4—13 根据例题计算两种方法测定结果的差数的均数和t值, 并对两种方法作出著性检验的评价。	(37)
4—14 判断两种测定方法的测定结果是否相关用哪一系数? 怎样判断?	(38)
4—15 如果用甲、乙两种方法分别重复测定同一份血清中的某种物质, 设甲法为X, 乙法为y, 请根据题中给出的数据计算相关系数r值是多少?	(38)
4—16 回归分析在“质控”中有何重要意义?	(39)
4—17 在用同一标本的重复测定中, 怎样用平均值和标准差估计变量值的分	

布?	(39)
4—18 生化检验室内的预防性质量控制应包括哪些内容?有什么意义?	(39)
4—19 回顾性质量控制是怎么回事?它所应用的原理是什么?	(40)
4—20 何为最佳条件下的变异?怎样了解这种变异?有何意义?	(40)
4—21 日常工作中室内质量控制应怎样进行?	(40)
4—22 室内质控图的制备方法和误差分析	(41)
平均值质控图	(41)
常出现的误差情况(见图A、B、C)	(41)
4—23 室间质控图的绘制方法和应用原理	(42)
(1) 对越限者的分析	(42)
(2) 对未越限者小误差性质的观察	(43)
4—24 变异百分率与变异系数是一回事吗?变异百分率在质控中有何应用?	(44)
<b>五、试剂和试剂配制的有关问题</b>	(45)
5—1 化学试剂分几级?怎样选用?	(45)
5—2 举例说明生化检验中哪些试剂易潮解、风化、挥发、氧化和变质?	(45)
5—3 举例说明哪些试剂需要避光保存?为什么?	(45)
5—4 举例说明哪些试剂是易燃、易爆、易腐蚀和剧毒药品?	(45)
5—5 百分浓度的试剂分几类?指意如何?	(45)
5—6 克分子浓度溶液的配制计算例题	(46)
5—7 克当量浓度溶液的配制例题	(46)
(1) 固体酸当量溶液配制	(46)
(2) 当量氢氧化钠溶液配制	(47)
(3) 当量氢氧化钠溶液标定和浓度校正	(47)
(4) 液态酸当量溶液的配制	(48)
(5) 当量盐溶液的配制	(48)
(6) 当量高锰酸钾溶液配制	(48)
(7) 氧化还原物质的当量如何确定	(48)
(8) 当量硫代硫酸钠溶液常用哪种物质标定?怎样判定反应终点? 为什么	(49)
5—8 溶液稀释方法的例题	(49)
5—9 稀溶液浓度纠正方法例题	(50)
5—10 在酸碱中和滴定中怎样计算被滴定溶液的当量浓度?	(50)
5—11 在配制标准溶液时计算化合物中的单质含量及怎样称量?	(51)
<b>六、血液pH和酸碱平衡测定的有关问题</b>	(52)
6—1 何为二氧化碳结合力?其测定有何临床意义?	(52)
6—2 血液pH及其测定的临床意义?	(52)

6—3	何为二氧化碳分压？其测定有何临床意义？	(52)
6—4	何为真实碳酸盐和标准碳酸盐？其测定有何临床意义？	(53)
6—5	何为缓冲碱？其测定有何临床意义？	(53)
6—6	何为碱过剩（碱超）？其测定有何临床意义？	(53)
6—7	何为二氧化碳总含量？其测定有何临床意义？	(53)
6—8	单纯性代谢性酸中毒血气测定指标有何特点？（附一血气诊断病例）	
		(54)
6—9	单纯性代谢性碱中毒血气测定指标有何特点？（附一血气诊断病例）	
		(54)
6—10	单纯性呼吸性酸中毒血气测定指标有何特点？（附一血气诊断病例）	
		(54)
6—11	单纯性呼吸性碱中毒血气测定有何特点？（附一血气诊断病例）	
		(55)
6—12	混合型酸碱平衡失常血气分析诊断例题	(55)
<b>七、有关测定项目的临床临床意义及其他问题</b>		(56)
7—1	血清总蛋白、白蛋白、球蛋白及白、球之比的正常值是多少？它们在急、慢性肝脏病中可能出现哪些变化？	(56)
7—2	血清醋酸纤维薄膜电泳法各组分蛋白质的正常值是多少？有何临床意义？	
		(56)
7—3	何为血清胶体稳定性试验？它通常包括哪些实验？	(57)
7—4	TTT试验原理和正常值是多少？	(57)
7—5	CCFT试验原理和正常值？	(58)
7—6	ZnTT试验原理和正常值？	(58)
7—7	Lugol碘试验原理和正常值？	(58)
7—8	血清胶体稳定性各项试验在慢性肝炎及阻塞性黄疸或肝外疾患时的表现如何？	(58)
7—9	溶血性黄疸常见于哪些病？溶血性黄疸在血清凡登白试验、尿胆红素和尿胆原试验时一般会出现什么结果？为什么？	(59)
7—10	肝细胞性黄疸常见于哪些疾病？肝细胞性黄疸在血清凡登白试验、尿胆红素和尿胆原试验时会出现什么结果？为什么？	(59)
7—11	阻塞性黄疸常见于哪些疾病？	(59)
7—12	黄疸指数测定有何临床意义？本测定常受哪些因素影响？	(59)
7—13	血清1分钟胆红素测定和总胆红素测定是怎样进行的？有何临床意义？	
		(60)
7—14	国际系统分类法将酶分几大类？其数字编号是怎么回事？举例说明之。	
		(60)
7—15	在临床诊断中主要反映肝细胞损伤的酶有哪些？它们在血液中的活性变化为什么能反映肝细胞损伤？	
		(60)

7—16 在诊断肠道阻塞性疾病时为什么常进行血清碱性磷酸酶 (AKP) 测定.....	(61)
7—17 血清单胺氧化酶 (MAO) 测定有何临床意义? .....	(61)
7—18 血清γ—谷氨酰转肽酶 (γ—CT) 测定的临床意义如何? .....	(61)
7—19 血清5'核苷酸酶(5'-NT)测定有何临床意义? 测定中应注意什么问题? .....	(62)
7—20 乳酸脱氢酶 (LDH) 及其同工酶测定有何临床意义? .....	(62)
7—21 血清磷酸肌酸激酶 (CPK) 测定大体有几种方法? 有何临床意义? .....	(62)
7—22 血清淀粉酶和尿淀粉酶测定有何临床意义? 测定时应注意什么? .....	(64)
7—23 习惯上所使用的酶活性单位与毫国际单位有怎样的换算关系? .....	(64)
7—24 酶促反应的动力学是研究什么的? 讨论酶促反应动力学的有关问题 对临床生化检验有什么意义? .....	(65)
7—25 写出米氏方程式及其导出? .....	(65)
7—26 米氏方程中的米氏常数有何意义? .....	(67)
7—27 简述双倒数作图法求米氏常数的大体过程? .....	(68)
7—28 何为血浆非蛋白氮? 它包括哪些物质? 临床测定时为什么大多选检尿素氮这一项.....	(68)
7—29 简述血浆非蛋白氮和尿素氮测定的临床意义? .....	(69)
7—30 何为血脂? 概要说明血脂包括哪些脂类? .....	(69)
7—31 与临床关系较密切的脂类有哪些? 写出它们的化学结构式? .....	(69)
7—32 何为血浆脂蛋白? 血浆脂蛋白是如何命名的? .....	(70)
7—33 你从下边的血浆脂蛋白化学组成中可以看出什么问题? 由此可以推论 血脂测定与血清脂蛋白测定有什么内在联系? .....	(70)
7—34 各组分血清脂蛋白中的蛋白质组成有什么不同? .....	(71)
7—35 血清中不同组分的脂蛋白为什么可以通过电泳的方法将其分开? .....	(71)
7—36 血清脂蛋白测定的临床意义? .....	(71)
<b>八、实验换算的有关问题.....</b>	(72)
8—1 毫克当量浓度相互换算问题.....	(72)
(1) 写出毫克百分浓度与毫克当量浓度相互换算公式.....	(72)
(2) 钠的毫克百分浓度与毫克当量浓度的相互换算.....	(72)
(3) 钾的毫克百分浓度与毫克当量浓度的相互换算.....	(72)
(4) 钙的毫克百分浓度毫克当量浓度的相互换算.....	(72)
(5) 氯的毫克百分浓度与毫克当量浓度的相互换算.....	(73)
(6) 磷的毫克百分浓度与毫克当量浓度的相互换算.....	(73)
(7) 钾、钠、钙、氯、磷的毫克当量浓度及毫克百分浓度的换算因 数是怎样得来的? .....	(73)

8—2 在用硝酸汞滴定法测定血清氯化物时，为什么要求硝酸汞溶液的浓度必须恰为 $10\text{mEq/L}$ ?	(74)
8—3 在对硝酸汞溶液进行标定时怎样计算硝酸汞溶液的实际浓度?	(74)
8—4 稀释硝酸汞溶液加水量计算	(74)
8—5 用硝酸汞滴定法测定血清氯化物，其结果计算为什么可以用硝酸汞消耗的ml数直接乘以100，便得血清氯的 $\text{mEq/L}$ ?	(74)
8—6 火焰光度法测定血清钾、钠结果计算问题	(75)
8—7 关于用醋酸铀镁低铁氰化钾比色测定血清钠的结果计算问题	(75)
8—8 标准工作曲线绘制中相当于测定管含量的计算	(76)
8—9 根据给出的各项操作表解释公式计算中各数字来源	(77)
8—10 血清稀释计算	(78)
8—11 血氨测定结果计算笔试	(78)
8—12 黄疸指数测定中的标准系列管黄疸指数单位的计算	(79)
8—13 磷酸酶活力单位计算	(80)
8—14 回答凯氏定氮法的有关问题。并根据一次实验设计操作表，核对其结果计算公式是否正确?	(81)
8—15 标准溶液含标准物质计算问题	(82)
<b>第二部分 多选题选编</b>	(83)
多选题简介及例题	(83)
一、实验室基本知识和基本技术	(83—87)
参考答案	(87)
二、血浆蛋白质和非蛋白氮测定	(87—92)
参考答案	(92—93)
三、酶测定	(93—98)
参考答案	(98—99)
四、血脂测定	(99—102)
参考答案	(102—103)
五、糖测定	(103—104)
参考答案	(104)
六、电解质测定	(105—108)
参考答案	(108)
七、血液气体、 $\text{pH}$ 测定及其有联系的问题	(108—113)
参考答案	(113—115)
八、激素及其代谢产物测定	(115—117)
参考答案	(117—118)
九、生化检验质量控制	(118—123)
参考答案	(123—124)

# 一、光谱光度分析方法的有关问题

## 1—1 何为比色法？比色法的主要优点和缺点是什么？

有色溶液颜色的深浅与浓度有一定关系，颜色愈深浓度愈高。利用比较溶液颜色深浅度以测知有色物质浓度的方法叫比色法（Colorimetry）。

比色法优点：（1）灵敏度高，可测定含量很低的痕量成分。（2）准确性高，尤其在测定微量组分时，绝对误差很小，适用于微量分析。（3）操作简便，测定项目广泛，能迅速测出结果。

缺点：相对误差较大。对于常量分析，不如重量法或容量法所测得的结果准确。

由于比色法具有灵敏、准确、简便和应用广泛等优点，特别是它适用于微量分析，是临床生化检验不可缺少的分析方法。

## 1—2 使用比色法时为什么需要一定波长范围的光通过溶液？

这是因为有色溶液对光有选择性吸收的缘故。不同物质的有色溶液对某些波长的光吸收强，而对另一波长的光则吸收弱或不吸收。有色溶液对它的补色光吸收最强，一般情况下应该让溶液颜色的补色光照射，因为溶液对其补色光有较强的吸收，透射过的光（透光度）才能出现明显的减弱，而且这种减弱程度随物质浓度的高低（厚度一定）而出现明显的变化，致使吸收度A值随溶液中物质浓度的变化而变化，这样，通过光电仪器测定才能达到灵敏、准确的目的。所以，比色法要选择一定波长的光通过溶液。

## 1—3 什么叫物质对光的吸收曲线？怎样制备这种曲线？有什么意义？

任何一幅能标志出某物质溶液在不同的光的波长（nm值）下，有对应的吸收度（A值）的直角坐标曲线图，都叫做该物质溶液对光的吸收曲线。

在仪器吸收度（A）值能示出的范围内，将一种浓度或几种浓度的同质溶液，分别在不同波长下测其吸收度，然后以入射光的波长（ $\lambda$ ）为横坐标，以对应的吸收度（A）为纵坐标，入点后连成圆滑曲线，就是该物质溶液的吸收曲线。

有下列意义：观察该物质溶液有几个吸收峰，最高吸收度下的波长（最大吸收波长 $\lambda_{max}$ ）是多少，其余吸收峰波长是多少；最高吸收度下的光的波长，为该溶液的补色光波长（指可见光而言），一般应在此波长下测定该物质的含量，因为在此波长下测定不仅灵敏度高，并且更符合比尔定律。但在实际临床常规测定中，其波长选择，不能单纯考虑选择灵敏度最高的波长，还要考虑该项测定在临床常出现的值域变化范围，用这个波长测定，吸收度A值是否会在读数准确范围内（A值在0.2~0.85之间），因为过于灵敏，常常使被测溶液的浓度限制在很低的范围内，而达不到临床测定的值域要求。这时，应通过

吸收曲线找出其他吸收峰，在此波长下，把该项测定的几个不同浓度（包括正常值内、外），从低浓度到高浓度连续测定，观察吸收度是否出现在仪器读数准确范围内，并以浓度为横坐标，吸收度为纵坐标，绘制成标准曲线，观察曲线线段与比尔定律符合程度，以决定测定应采用的入射光的波长，说明可测的浓度范围。

#### 1—4 在比色法中，绘制标准工作曲线有什么作用？

这里谈的主要足浓度对吸收度的工作曲线。

- (1) 可以观察所选用的测定方法其呈色反应是否符合光吸收定律。
- (2) 通过绘制标准工作曲线，可以确定出符合光吸收定律的被测物质的浓度范围。
- (3) 如果某项测定，其呈色反应不完全符合光吸收定律，是不能用公式法计算结果的，这种情况，可以绘制标准工作曲线，用测得的被测液的吸收度，直接查标准工作曲线得到结果，此时，结果误差比公式计算法小得多。
- (4) 通过标准工作曲域查测定结果，取消了标准管，因而节省了试剂，加快了操作；省去了繁杂的公式计算，能提高工作效率。
- (5) 从曲线的斜率，可观察方法的灵敏度，并在曲线的平行和重复制备中，了解方法的可靠性。

#### 1—5 绘制标准工作曲线时应注意那些事项？

- (1) 标准物质的化学性质应与被测物质相同。
- (2) 一般至少不能低于6只管。各管所相当的浓度，应包括被测物质的正常范围（中间值，最高值，最低值），特别要包括具有临床意义的高值或低值范围。
- (3) 测定所采用的条件，如试剂、反应时间、PH、入射光波长及操作步骤等，应与样品测定完全相同。
- (4) 每只管最后的加入量总体积应相同。
- (5) 每一管所标明的相当于被测样品的含量要正确无误，算法是把曲线中的每只管所含标准物质的实际量（毫克或克），分别代入原方法计算公式标准液浓度的位置，并视为测定管与这个标准管的吸收度一但相同时，所计算出的结果，便是曲线制备表中相当于被测溶液浓度的数值。浓度间隔要有一定的倍数关系。
- (6) 绘制曲线时，应将各只管相当的浓度自左至右递增地填在横坐标轴的整格子处，每小格所代表的浓度或单位数要一致。视第一只管测得的吸收度情况，确定纵坐标轴吸收度数字，格子大小要与横轴适当对应，每小格代表的A值要一致。
- (7) 为减少比色计以外的误差，标准液的配制、稀释、吸取必须准确。
- (8) 标准曲线绘制完毕后，应在坐标纸上注明检验项目的名称、比色计编号、滤光片号码或分光波长、绘制日期、绘制者姓名等。
- (9) 绘制的曲线必须在相同条件下使用，不能换用比色计，如比色计经过大修，重新换光源灯、光电池或光电管以及重新使用试剂批号等，都会给测定带来误差，曲线需要重新制备。
- (10) 标准工作曲线要经常核时，可通过抽测已知浓度的标准液，如误差超过允许误差范围，则该曲线不能继续应用。

#### 1—6 何为互补光？它在比色法分析技术中有何指导意义？

任何能合成白色的两种光称互补光。如红、橙、黄、绿、青、蓝、紫等颜色的光，它们的互补光如下图。图中直线两端的颜色光为互补光。为快速识别互补光，可先在纸上画一个圆，在圆内先连成“+”字直径，再间连两次，然后在任何一直线端位起均可，从红开始，以右旋方向，以红、橙、黄、绿、青、青蓝、蓝、紫的顺序标写上字，直线两端的色光就是互补光。其中，绿、红、蓝光中间的过度颜色光的互补颜色及波长早已有实验理论记载。



光的互补图

互补光对比色分析的理论指导意义：前边谈到，有色溶液对它的互补光吸收最强，如果用互补波长的光为比色分析的入射光，能保证测定有很高的灵敏度，因此在一般情况下，应采用在溶液的互补光波长下测定，这是一条重要原则。

### 1—7 比色分析时怎样选择滤光片？

先说明：什么样颜色的玻璃，可以允许什么样颜色的光通过（最大地透过），其余颜色的光则被其最大地吸收。因此就不难理解，比色时应选择与被测液颜色成互补色的滤光片，以获得溶液的互补光入射，才能保证测定的灵敏度，才能符合Lambert~Beer定律，因为这个定律的前提是单色光。

### 1—8 什么叫利用波长除干扰？举例说明之？

在临床测定实践中，只注意给最大吸收波长，有时是不妥当的，同时要注意在这个波长下测定是否干扰最小才是全面的。把应当在某个波长下测定而又为了避免在这个波长下测定出现其他因素的干扰，适当地另选一个波长测定叫波长除干扰。

例如，用福林—吴宪氏法测定血糖，经化学反应后的溶液是兰色，根据最大吸收的理论，测定时应选择兰色的互补色黄色滤光片滤光，以让黄色（570~600nm）波长的光入射，但有时为了消除血清胆红素过高而干扰测定，却选用480nm波长、650nm波长，即兰绿色或红色滤光片滤光，可以消除胆红素过高的影响因素，这时测定的灵敏度虽然有所下降，但由于避开了干扰，却提高了测定的准确度。

### 1—9 Lambert—Beer定律的最后数学表达式是什么？它与生化检验结果计算有什么关系？

Lambert—Beer定律的最后数学表达式是：

$$A = -\lg T = KCL$$

即吸收度 A (Absorbance) 等于透光度 (Transmittance) 的负对数。公式中 K 代表该物质的吸收系数，C 是物质浓度，L 是液层厚度。吸收度 A 与 KCL 成正比，实际测定时设有标准测定液和待测液，根据上述表达式便有：

$$A_s = K_s C_s L_s \quad (\text{标准液})$$

$$A_u = K_u C_u L_u \quad (\text{待测液})$$

比色时两种测定液使用同样大小的比色杯，即可写成  $L_s = L_u$ ，而且两种溶液中被测物质相同，又是在同样温度条件下测定的，可写成  $K_s = K_u$ ，吸收系数相同，上二式相除并相消：

$$\frac{A_s}{A_u} = \frac{K_s C_s L_s}{K_u C_u L_u} = \frac{A_s}{A_u} = \frac{C_s}{C_u}$$

那么便有：

$$C_u = \frac{A_u}{A_s} \times C_s$$

即被测溶液浓度，等于被测溶液的吸收度除以标准溶液的吸收度，乘以标准溶液浓度。

临床生化检验中，样品用量是一定的，而且多数项目用g/dl或mg/dl报告，便有下列实际计算公式：

$$\text{被测溶液浓度 (mg/dl)} = \frac{A_u}{A_s} \times \frac{\text{标准管标准物质实际含量}}{\text{实际用样品ml数}}$$

本公式很重要，它是生化检验中，比色分析的通用计算公式，其中标准管标准物质实际含量是指实验时标准管加入标准液的ml数，换算所含mg数代入。实际用样品ml数提示：如实验时样品事先有稀释，要把稀释倍数考虑进去，即换算成实际用的ml数。这两个量是随实验中实际用量灵活代入的，不能死记硬背。

### 1—10 临床生化检验结果有几种换算方法？各有什么优缺点？

通常有三种方法：

(1) 查标准工作曲线，直接获得结果，适用所有比色分析法。它的优点是简单快速，节省时间节省试剂；稍有偏离光吸收定律的情况下也可使用；能找到最适宜的测定浓度和不适宜的测定浓度。缺点是制备标准曲线时要求严格，粗糙或差错都将影响测定结果，另外，曲线要经常核对或做必要的更换，这些都需要时间。

(2) 公式计算法。本法优点是测定时随时有标准管跟随，并且与样品在同样条件下测定，直接比较计算，即使是试剂或仪器有些变化，但对测定液和标准液的影响是相同的，故能抵消部分误差。缺点是计算繁琐，且标准液与测定液的颜色（浓度）不能相差太大，否则会产生测定误差。

(3) 因数计算法。本计算方法是事先求出一个计算因数，以后只要获得被测液的吸收度，与因数直接相乘便得到结果。作法举例如下：双缩脲法测定血清蛋白质，先配制成2%，4%，6%，8%，10%的蛋白质标准液，然后按该方法的操作手续分别测定其吸收度，结果A值分别是0.054，0.108，0.159，0.214，0.267，按下表求算出计算因数：

蛋白质 (g%)	A值	$K = \frac{A}{g\%}$
2	0.054	0.0270
4	0.108	0.0270
6	0.159	0.0265
8	0.214	0.0267
10	0.267	0.0267

$$\Sigma K = 0.1339 \quad 0.1339 \div 5 = 0.0267$$

$$\text{因数} = \frac{1}{0.0267} = 37.453$$

有一血清样品，双缩脲法测得其A值为0.187，则该样品蛋白质含量为：

$$0.187 \times 37.453 = 7\text{g/dl}$$

如果事先算好，列成一览表，只要知道A值，马上可以查出结果。本法计算方便，如能列成一览表，类同查标准曲线。但本法不绘制曲线，上述曲线法讨论的情况是观察不到的。

### 1-11 一种物质溶液，如改变其浓度，其吸收度和最大吸收波长是否改变？

不同浓度的同一物质溶液，在可测范围内，用分光光度计在各种波长下，分别测定其吸收度，并绘出波长对吸收度的吸收曲线图，可以看到：其吸收度随溶液浓度（物质含量）的增高而增高，随溶液浓度的降低而下降，但吸收峰下的吸收波长（最大吸收波长 $\lambda_{max}$ 和其他吸收波长）不变，这是物质在吸收光谱理论上和实践上的一个很重要性质，即物质对光的吸收特征。不同物质对光吸收有不同的特征，吸收光谱分析技术中经常应用这个理论，进行物质定性分析。

### 1-12 为什么在吸收度测定中读数在0.2~0.7之间，测定的浓度误差最小？

这是在比色法中或吸收度测定中经常强调的一个问题。是透光率的读数误差，但不是视觉误差，是有理论根据的。测定结果的精确度常用相对误差 $(\frac{\Delta C}{C})$ 表示，因为浓度C与吸收度A是正比关系，

$$\text{即 } A = KC \quad \Delta A = K \Delta C \quad \therefore \frac{\Delta C}{C} = \frac{\Delta A}{A}$$

可见，测定结果的相对误差就是吸收度的相对误差。从透光率对吸收度，或透光度对浓度的曲线图可以看到，同样的透光率误差，当 $\Delta T$ 在透光率值不同时，所引起的浓度误差 $\Delta C$ 是不同的，透光率大时 $\Delta C$ 小，此时C值也小，相对误差 $\frac{\Delta C}{C}$ 就大；透光率很小时， $\Delta C$ 大，也使 $\frac{\Delta C}{C}$ 的值增大。只有在适中的透光率值域时，可使 $\frac{\Delta C}{C}$ 的值比较小。

$$\text{由于 } A = -I_g T$$

$$\text{当 } \Delta T \text{ 不大时 } \Delta A \approx dA = (-I_g T)' \Delta T = -\frac{0.434 \Delta T}{T}$$

$$\text{两式相除得 } \frac{\Delta A}{A} = 0.434 \Delta T \cdot \frac{1}{T I_g T}$$

表示出吸收度（浓度的）的相对误差是透光率T的函数，此处 $\Delta T$ 是代表仪器精度的常数。以 $\Delta A/A$ 为纵坐标并以 $\Delta T$ 为纵坐标单位，以透光率为横坐标便可以得到函数的图象，从图象中可以看到，当透光率很大或很小，误差都很大，只有中间一段误差较小。为求极值，将上式求导：

$$\left(\frac{\Delta A}{A}\right)' = 0.434 \Delta T \left(\frac{1}{T I_g T}\right)' = -0.434 \Delta T \cdot \frac{-I_g e + I_g T}{(T I_g T)^2}$$

$$\frac{\Delta A}{A} \text{有极值时} \quad \left( \frac{\Delta A}{A} \right)' = 0$$

即  $l_g e + l_g T = 0$

故  $T = 0.368$  或  $A = 0.434$

从函数图象中可见，当透光率为36.8%时误差最小；要使结果的相对误差大约控制在三个 $\Delta T$ 以内，就应把透光率读数控制在20~65%之间，也就是吸收度A值应控制在0.2~0.7之间。若透光率在10~80%之间，即A值在0.1~1.0之间，浓度误差可达五个 $\Delta T$ 。

所以，比色定量时，最好在0.2~0.7，最大也不要超过0.1~0.85的A值间读取读数，其措施是调整比色杯厚度或把浓度过高的被测溶液作必要的稀释。

### 1—13 从理论上说比色分析最容易产生误差的因素有哪些？

总的说有两个方面：

#### (1) 偏离Lambert—Beer定律

这里主要有两个因素：

①化学因素：测定时的化学反应如因浓度的改变而有离解、缔合、溶剂化或者由于络合物的组成发生改变等现象，使溶液中吸光物质对光吸收的选择性和吸光强度发生变化，即被测物质出现了质的改变，在原来的波长入射下，吸收度的变化与浓度的变化失去原有规律，使吸收度与浓度的关系偏离直线。

#### ②光学因素：

比色分析必须符合Lambert—Beer定律，前提是单色光，复合光可使定律失效。吸光度和浓度间线性关系是否良好与实验所用单色光的波长和光谱带宽度（波长范围）有很大关系，只要入射光的波长范围与物质吸收的波长范围适应，一般说来都可以获得较好的线性关系，单色光愈纯，愈与物质吸收波长吻合，测定愈灵敏，正比关系也愈好。所以，比色时正确选定和调整好入射光波长，是控制比色误差的一个重要方面。

#### (2) 透光率读数误差（仪器误差）

如前述（略）。

### 1—14 比色分析中为什么要设空白对照？空白对照分几种？怎样用法？

在吸收光谱测定中必须设立空白作为参比液，以消除由于比色杯、溶剂、试剂以及样品本身所含有的其他物质的干扰所带来的误差。

空白对照通常有三种，即溶剂空白，试剂空白及样品空白。

(1) 溶剂空白：在实验中，溶剂可能是蒸馏水、缓冲液或其他有机溶剂。如果显色剂或其他实验试剂均为无色，空白可采用蒸馏水。

(2) 试剂空白：实验试剂中有一种或几种试剂带有程度不同的颜色，就应该使用试剂空白。作法是，被测物质的加入量以水代替，其他所有试剂均按实验规定量加入。

(3) 样品空白：如果被测样品本身含其他干扰因素，这时要使用样品空白。作法是，显色剂以水代替，其他各种加入量按实验要求加入。

上述三种情况一般不会同时存在。

空白的使用方法：一般情况下以空白参比液调节仪器零点，以消除有关因素对入射光的反射或吸收所带来的误差；或者以蒸馏水调零，将样品空白或试剂空白的吸收度减去（如果