

“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材配套教材

国家卫生和计划生育委员会“十二五”规划教材配套教材
全国高等医药教材建设研究会“十二五”规划教材配套教材

全国高等学校配套教材

供医学检验技术专业用

临床检验仪器与技术 学习指导与习题集

主 编 郑 芳



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材配套教材

国家卫生和计划生育委员会“十二五”规划教材配套教材

全国高等医药教材建设研究会“十二五”规划教材配套教材

全国高等学校配套教材

供医学检验技术专业用

临床检验仪器与技术 学习指导与习题集

主 编 郑 芳

编 者 (以姓氏笔画为序)

王菊香 (河北工程大学医学院)

石继飞 (包头医学院)

宋玉国 (北华大学医学检验学院)

张明亮 (山西医科大学汾阳学院)

易 斌 (中南大学湘雅医院)

郑 芳 (武汉大学中南医院)

郑峻松 (第三军医大学)

郑培丞 (福建医科大学)

侯 艳 (佳木斯大学检验医学院)

施新明 (上海交通大学医学院)

姜晓峰 (哈尔滨医科大学)

贺志安 (新乡医学院)

钱士匀 (海南医学院)

程 江 (石河子大学医学院)

谢圣高 (湖北中医药大学)

谢国明 (重庆医科大学)

樊绮诗 (上海交通大学医学院)

秘 书 孙 慧 (武汉大学中南医院)

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

临床检验仪器与技术学习指导与习题集/郑芳主编.
—北京:人民卫生出版社,2015
全国高等学校医学检验专业第六轮暨医学检验技术专业第一轮规划教材配套教材
ISBN 978-7-117-20961-8

I. ①临… II. ①郑… III. ①医用分析仪器-医学院校-教学参考资料 IV. ①TH776

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 134689 号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数据库服务, 医学教育资源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

临床检验仪器与技术学习指导与习题集

主 编: 郑 芳

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 三河市潮河印业有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 10

字 数: 250 千字

版 次: 2015 年 8 月第 1 版 2015 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-20961-8/R·20962

定 价: 19.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

前 言

为适应新一轮教育改革和社会发展的需要,响应教育部医学检验专业由“五年制”医学学位向“四年制”理学学位的调整,贯彻四年制医学检验技术人才的培养目标,在重视“三基五性”的基础上,突出“医学检验技术”的专业特色,现编辑出版了一套全国高等医药院校医学检验技术专业(四年制)规划教材,《临床检验仪器与技术》为其中之一。鉴于临床分析或测定的仪器和设备在现代医学检验中已得到普遍应用并具有突出地位,因此,学习医学检验常用仪器的工作原理和相关技术、掌握仪器的主要结构及其性能特点、了解仪器的操作和日常保养,是医学检验技术专业学生必须掌握的知识。

《临床检验仪器与技术学习指导与习题集》是《临床检验仪器与技术》的配套教材,内容与理论教材相呼应,突出重点、难点的同时,给出了相应的习题集。强调对理论教材重点内容的掌握和实际运用,适于学生复习回顾、自我测评和知识拓展。本教材包括绪论以及光谱分析、电化学分析、色谱分析、生物质谱、电泳、流式细胞分析等仪器与技术,涵盖了临床血液学检验、临床尿液检验、临床生物化学检验、临床免疫学检验、临床微生物检验、临床即时检验、临床分子生物学检验的常用仪器与技术,并介绍了实验室自动化系统和临床检验实验室通用设备,共十六章。各章内容均包括“学习目标”、“重点和难点内容”、“习题”及“参考答案”四个部分。习题类型有名词解释、填空题、单项选择题(A型题和B型题)和简答题。既可供高等医药院校和全国医学专科学校医学检验技术专业师生使用,也可以作为临床医学专业和预防医学专业学生的辅助教材,并为广大临床检验和相关临床专业从业人员提供参考。

本教材的17位编委全部是相应理论教材的编委,保证了配套教材与理论教材的一致性和符合度。在编写过程中得到了各编委单位的大力支持,并得到了理论教材主编、副主编和各位编委的鼎力帮助与精诚合作,在此一并表示感谢!

鉴于编者的局限性,不足之处尚恐难免,敬请同行专家和读者们批评指正。

郑 芳

2015年1月

目 录

第一章 绪论	1
第二章 光谱分析仪器与技术	9
第三章 电化学分析仪器与技术	19
第四章 色谱分析仪器与技术	26
第五章 生物质谱仪器与技术	37
第六章 电泳仪器与技术	45
第七章 流式细胞分析仪器与技术	52
第八章 临床血液学检验仪器与技术	60
第九章 临床尿液检验仪器与技术	79
第十章 临床生物化学检验仪器与技术	87
第十一章 临床免疫学检验仪器与技术	94
第十二章 临床微生物检验仪器与技术	101
第十三章 临床即时检验仪器与技术	108
第十四章 临床分子生物学检验常用仪器与技术	117
第十五章 实验室自动化系统	124
第十六章 临床检验实验室通用设备	134

一、学习目标

- 掌握** 临床检验常用仪器的主要实验技术。
- 熟悉** 临床检验常用仪器的名称及其功能;临床检验常用仪器的发展趋势。
- 了解** 临床检验常用仪器的使用与管理。

二、重点和难点内容

(一) 概念

1. 吸收光谱 是指基于物质的分子或原子对辐射能的选择性吸收而得到的分子或原子光谱。
2. 发射光谱 是指物质的分子、原子或离子接受外界能量,由基态跃至高能态,再由高能态回到基态而产生的光谱。
3. 高效液相色谱 是在经典色谱法的基础上把流动相改为用高压输送,用小粒径的填料充填色谱柱,提高柱效应,并且连接高灵敏度的检测器,能对流出物进行连续检测。
4. 质谱 是带电原子、分子或分子碎片按质量-电荷比的大小顺序排列的图谱。
5. 电泳 是指分散介质中带电粒子在电场作用下,带负电荷的粒子向电场的正极移动,带正电荷的粒子向电场的负极移动的现象。

(二) 临床检验常用仪器的主要实验技术

1. 光谱分析技术是指借助光与物质之间发生相互作用时所产生的吸收、发射或散射光谱的波长或强度对物质进行定性、定量分析的技术。
2. 电化学分析技术是指将待测物质溶液组成一个化学池,通过测量电池的电位、电流、电量和电阻等变量,使待测物质的浓度转变为电学参数而进行检测的分析技术。
3. 色谱法是一类分离分析技术的总称,主要用于复杂的多组分混合物的分离和分析。色谱法利用混合物中各组分在互不相溶的两相之间分配系数的差异而使物质的各组分得到分离,再对其进行定性或定量测定。
4. 利用电泳现象进行物质分离的技术称为电泳分析技术。
5. 流式细胞术是综合了激光、流体力学、计算机及电子测量等技术,能在流动相快速准确测量细胞的细胞分析技术。
6. 标记免疫技术是各种临床免疫学测定技术中的基本技术,是指用不同的物质标记抗

原或抗体,使其具有示踪功能,通过抗原-抗体的特异性反应,达到能检测出临床标本中待测物质的目的。

7. 荧光免疫技术是将抗原-抗体反应与荧光标记技术相结合,从而提高了反应的特异性、敏感性和直观性。

8. 放射免疫技术是以放射性核素为示踪物标记抗原(或抗体),测定样本中抗体(或抗原)的一种标记免疫技术。

9. 酶免疫技术用酶作为标记物,是一种把酶催化底物的高效性(微量的酶分子可催化大量底物)和抗原-抗体反应的高特异性相结合的标记免疫技术。

10. 化学发光免疫分析技术是新近发展起来的标记免疫技术,是将发光原理和免疫反应相结合的一种测定微量抗原或抗体的技术。

(三) 临床检验的常用仪器

1. 血细胞分析仪 又称血液自动分析仪,它能对血液中的细胞成分(红细胞、白细胞、血小板、网织红细胞等)进行计数和白细胞分类计数,能测定血液中的血红蛋白等。

2. 血液凝固分析仪 血液凝固分析仪是对血栓与止血有关成分进行自动化检测的常规检验仪器。

3. 尿液分析仪 尿液分析仪采用干化学技术,分析尿液理化性质的变化。

4. 尿液有形成分分析仪 尿液有形成分分析仪能定量识别尿液中的各种有形成分。

5. 自动化生化分析仪 能够分析和测定蛋白质、糖类、无机离子、血清酶、血气与酸碱分析、脂蛋白及载脂蛋白等物质。

6. 自动化免疫分析仪 通过检测患者血清从而对人体进行免疫分析的医学检验仪器。

7. 自动化血培养检测和分析系统 与人工细菌培养方法相比,自动化血培养系统具有更多的优势。

8. 自动化微生物鉴定和药敏分析系统 自动化微生物鉴定和药敏分析系统能鉴定出包括需氧菌、厌氧菌、真菌的数百种细菌种类,能进行细菌药物敏感试验和最低抑菌浓度测定等,在数小时内即可得出鉴定结果。

9. PCR 扩增仪 利用聚合酶链反应扩增特定的 DNA 片段的分子生物学仪器。

10. 荧光定量 PCR 扩增仪 由荧光定量系统和计算机组成,用来监测 PCR 循环过程中的荧光信号,通过标准曲线的计算,对 DNA 模板初始浓度进行定量的分子生物学仪器。

11. DNA 测序仪 分析 DNA 碱基序列的分子生物学仪器。

(四) 临床检验常用仪器的发展趋势

1. 自动化。

2. 一体化 一体化即不同检测系统间的整合。通过更新技术平台,把不同的测定模块整合在一起,形成一个检测平台,以满足实验室降低成本、提高效率、节约实验室空间和缩短检验报告周期等实际需要。

3. 全实验室自动化 通过传输轨道或模块整合把同一品牌(或不同品牌)的临床化学、免疫学、血液学等分析仪连接在一起,形成一个检测平台。与一体化检测平台不同的是,除了各检测仪器的整合以外,全实验室自动化系统还包括了样本信息接收、条形码扫描、样本离心、试管开盖、样本分杯和分配、检测后样本保存等模块。

4. 小型化。
5. 高通量化。

(五) 临床检验常用仪器的使用与管理

1. 医学检验专业的学生在使用仪器以前必须先掌握各仪器的相关知识,包括结构和各主要部件的功能、仪器的技术原理和工作原理、根据仪器制造商发布的操作指南编写简易并便于执行的操作规程,熟悉操作步骤。
2. 对于新添置的仪器,操作人员必须经过严格的培训,考核合格后经实验室授权才能上机操作。
3. 当仪器发生故障时,应按照实验室管理体系的要求对故障进行排除或及时向维修人员报修,维修后进行性能验证。
4. 仪器的维护应由专人负责,并形成制度化,包括:①每日维护;②每周维护;③每月维护;④每季度维护;⑤年度维护。
5. 临床检验实验室对仪器的管理有明确的、切实可行的规章制度。包括:①技术资料;②建立档案;③使用记录;④性能校准;⑤仪器报废等。

三、习 题

(一) 名词解释

- | | |
|-----------|---------------|
| 1. 光谱分析技术 | 2. 吸收光谱 |
| 3. 发射光谱 | 4. 电化学发光免疫测定法 |
| 5. 高效液相色谱 | 6. 质谱 |
| 7. 质谱仪 | 8. 流式细胞仪 |

(二) 填空题

1. 光谱分析技术是指借助光与物质之间发生相互作用时所产生的_____、_____或_____光谱的波长或强度对物质进行定性、定量分析的技术。
2. 色谱法利用混合物中各组分在互不相溶的两相之间_____的差异而使物质的各组分得到分离,再对其进行定性或定量测定。
3. 能够使物质粒子离化成离子并通过适当的电场或磁场将它们按空间位置、时间先后、或者轨道稳定与否实现质荷比分离,经检测强度后对物质进行分析的仪器是_____。
4. 酶免疫技术可分为酶免疫组织化学技术和酶免疫测定技术,后者又分为_____和_____技术。

(三) 单项选择题

A 型题

1. 物质的分子、原子或离子接受外界能量,由基态跃至高能态,再由高能态回到基态而产生的光谱是
A. 吸收光谱
B. 发射光谱

- C. 散射光谱
D. 跃迁光谱
E. 原子吸收光谱
2. 电化学分析技术是指将待测物质溶液组成一个化学池,通过测量电池的变量,使待测物质的浓度转变为电学参数而进行检测的分析技术。这些变量**不包括**
- A. 电位
B. 电流
C. 电量
D. 电阻
E. 电容
3. 当用散射免疫比浊法测定抗原或抗体的含量时,当光源发出的光通过待测样品,样品中的抗原与其特异性抗体形成抗原-抗体复合物,散射光的强度与复合物的含量的关系是
- A. 倍比
B. 正比
C. 等比
D. 反比
E. 无关
4. 色谱法利用混合物中各组分在互不相溶的两相之间的何种差异而使物质的各组分得到分离,再对其进行定性或定量测定
- A. 质量
B. 分配系数
C. 分子量
D. 溶解度
E. 挥发性
5. 免疫固定电泳也是临床上常规开展的一种电泳技术,利用琼脂糖凝胶电泳技术分离血清、尿液、脑脊液或其他体液中的抗原,因为这些抗原具有不同的
- A. pH
B. 电荷和分子量
C. 电渗效应
D. 浓度
E. 溶解度
6. 荧光免疫技术是用以下哪种物质标记抗体,从而提高了反应的特异性、敏感性和直观性
- A. 酶蛋白
B. 放射性核素
C. 荧光素
D. 化学发光剂
E. 电化学发光剂
7. 放射免疫技术是以下列哪种物质为示踪物标记抗原(或抗体),测定样本中抗体(或抗原)的一种标记免疫技术
- A. 酶蛋白
B. 放射性核素
C. 荧光素
D. 化学发光剂
E. 电化学发光剂
8. 酶免疫技术用下列哪种物质作为标记物和抗原-抗体反应的高特异性相结合
- A. 酶蛋白
B. 放射性核素
C. 荧光素
D. 化学发光剂
E. 电化学发光剂
9. 基于物质的分子或原子对辐射能的选择性吸收而得到的分子或原子光谱即为
- A. 吸收光谱
B. 发射光谱
C. 散射光谱
D. 衍射光谱
E. 原子吸收光谱

10. 在经典色谱法的基础上把流动相改为用高压输送,用小粒径的填料充填色谱柱,使柱效应大大提高,并且连接高灵敏度的检测器,能对流出物进行连续检测的方法是
- A. 气相色谱法
 - B. 吸附色谱法
 - C. 分配色谱法
 - D. 高效液相色谱法
 - E. 离子交换色谱法
11. 当患者使用肝素或口服抗凝剂如华法林时,需要监测患者的出、凝血状况,需要使用
- A. 血细胞分析仪
 - B. 血液凝固分析仪
 - C. 红细胞沉降率测定仪
 - D. 全自动生化分析仪
 - E. 荧光酶免疫分析仪
12. 下列哪种仪器是基于流式细胞术和电阻抗相结合的原理工作
- A. 荧光定量 PCR 扩增仪
 - B. 尿液干化学分析仪
 - C. 血小板聚集仪
 - D. 全自动生化分析仪
 - E. 尿液有形成分分析仪
13. 利用体外扩增基因的技术,能对靶分子进行定量分析,如对乙型肝炎和丙型肝炎等病毒核酸进行定量检测的是
- A. PCR 扩增仪
 - B. 荧光酶免疫分析仪
 - C. 荧光偏振免疫分析仪
 - D. 干化学式自动生化分析仪
 - E. 荧光定量 PCR 扩增仪
14. 在临床检验中应用最普遍的分子生物学技术应该是
- A. 抗原-抗体反应
 - B. 化学发光反应
 - C. 非均相反应
 - D. 聚合酶链反应
 - E. 均相反应
15. 对血栓与止血有关成分进行自动化检测的常规检验仪器是
- A. 血小板聚集仪
 - B. 血流变分析仪
 - C. 红细胞沉降率测定仪
 - D. 血细胞分析仪
 - E. 血凝分析仪
16. 能鉴定出包括需氧菌、厌氧菌、真菌的数百种细菌种类,能进行细菌药物敏感试验和最低抑菌浓度测定等,在数小时内即得出鉴定结果的检验仪器是
- A. 自动化血培养检测和分析系统
 - B. 自动化微生物鉴定和药敏分析系统
 - C. 自动化细菌培养系统
 - D. 荧光定量 PCR 扩增仪
 - E. DNA 测序仪

B 型题

(1~3 题共用备选答案)

- A. 吸收光谱
- B. 发射光谱
- C. 散射光谱
- D. 衍射光谱
- E. 跃迁光谱

1. 基于物质的分子或原子对辐射能的选择性吸收而得到的分子或原子光谱即为
2. 物质的分子、原子或离子接受外界能量,由基态跃至高能态,再由高能态回到基态而产生的光谱是

3. 当光源发出的光通过待测样品时,样品中的抗原与其特异性抗体形成抗原-抗体复合物,使溶质颗粒(浊度)增大。因此,可以从哪种光谱的强度变化测得抗原的含量

(4~6题共用备选答案)

- A. 酶蛋白
- B. 放射性核素
- C. 荧光素
- D. 化学发光剂
- E. 电化学发光剂

4. 经典的荧光免疫技术是以哪种物质标记抗体对样本中的抗原进行定位

5. 酶免疫技术是用哪种物质作为标记物和抗原-抗体反应的高特异性相结合的标记免疫技术

6. 放射免疫技术是以哪种物质为示踪物标记抗原(或抗体),测定样本中抗体(或抗原)的一种标记免疫技术

(7~10题共用备选答案)

- A. 血细胞分析仪
- B. 血液凝固分析仪
- C. 尿液干化学分析仪
- D. 干化学式自动生化分析仪
- E. 荧光定量 PCR 扩增仪

7. 利用体外扩增基因的技术,能对靶分子进行定量分析,如对乙型肝炎和丙型肝炎等病毒核酸进行定量检测的是

8. 对血栓与止血有关成分进行自动化检测的常规检验仪器是

9. 能对血液中的细胞成分(红细胞、白细胞、血小板、网织红细胞等)进行计数和白细胞分类计数,能测定血液中的血红蛋白等的常规检验仪器是

10. 基于干化学技术,能够分析和测定蛋白质、糖类、无机离子、血清酶、血气与酸碱分析、脂蛋白及载脂蛋白等物质的常规检验仪器是

(四) 简答题

1. 请简述临床检验常用仪器的发展趋势。
2. 请简述自动化分析的优势。
3. 请简述与人工细菌培养方法相比,自动化血培养系统的优势。
4. 请简述临床检验实验室对仪器的管理规章制度包含哪些内容。

四、参 考 答 案

(一) 名词解释

1. 光谱分析技术:是指借助光与物质之间发生相互作用时所产生的吸收、发射或散射光谱的波长或强度对物质进行定性、定量分析的技术。

2. 吸收光谱:是指基于物质的分子或原子对辐射能的选择性吸收而得到的分子或原子光谱。

3. 发射光谱:是指物质的分子、原子或离子接受外界能量,由基态跃至高能态,再由高能态回到基态而产生的光谱。

4. 电化学发光免疫测定法:是由电化学反应引起的化学发光过程与免疫反应过程结合

的一种技术。

5. 高效液相色谱:是在经典色谱法的基础上把流动相改为用高压输送,用小粒径的填料充填色谱柱,提高柱效应,并且连接高灵敏度的检测器,能对流出物进行连续检测。

6. 质谱:是带电原子、分子或分子碎片按质量-电荷比的大小顺序排列的图谱。

7. 质谱仪:是一类能够使物质粒子离化成离子并通过适当的电场或磁场将它们按空间位置、时间先后、或者轨道稳定与否实现质荷比分离,经检测强度后对物质进行分析的仪器。

8. 流式细胞仪:是综合了激光、流体力学、计算机及电子测量等技术,能在流动相快速准确测量细胞的仪器(每秒可测量上万个细胞)。

(二) 填空题

1. 吸收 发射 散射
2. 分配系数
3. 质谱仪
4. 均相酶免疫测定 异相酶免疫测定

(三) 单项选择题

A 型题

1. B
2. E
3. B
4. B
5. B
6. C
7. B
8. A
9. A
10. D
11. B
12. E
13. E
14. D
15. E
16. B

B 型题

1. A
2. B
3. C
4. C
5. A
6. B
7. E
8. B
9. A
10. D

(四) 简答题

1. 请简述临床检验常用仪器的发展趋势。

①自动化;②一体化;③全实验室自动化;④小型化;⑤高通量化。

2. 请简述自动化分析的优势。

①提高工作效益;②提高方法学的精密度与准确度;③减少人为差错;④改良分析技术;⑤功能完整;⑥降低检测成本。

3. 请简述与人工细菌培养方法相比,自动化血培养系统的优势。

(1)培养基能提供不同细菌繁殖所必需的营养成分,培养瓶内还有充分的混合气体,能最大限度地检测出阳性标本。

(2)培养箱在恒温条件下连续振荡,更有利于细菌的生长。

(3)自动连续监测,缩短了能检测出细菌生长的时间。

(4)及时报出阳性结果。

(5)设有内部质控系统。

(6)检测样本种类较多,除了血液标本外,临床上所有无菌体液都可以作为标本进行细菌培养检测。

4. 请简述临床检验实验室对仪器的管理规章制度包含哪些内容。

(1)技术资料:应有专人负责清点技术资料。

(2)建立档案:应为实验室的每一台仪器或设备建立档案。

(3)使用记录:对仪器在日常使用过程中所产生的数据和仪器状态进行记录。

(4)性能校准:仪器硬件部分每年至少校准一次,由仪器厂家的工程师执行,是对仪器的性能进行综合性测试。

(5)仪器报废:申请仪器报废时应遵守管理部门的规定,做好记录。

(樊绮诗)

一、学习目标

掌握 光谱分析技术的分类,各类分析技术的特征;紫外-可见分光光度计工作原理、紫外-可见分光光度计的基本结构及各部件的基本功能;荧光分析的基本原理、原子吸收分光光度计和原子发射光谱仪的基本原理;散射光谱技术分析方法的分类及其检测原理。

熟悉 紫外-可见分光光度技术定量分析的方法、紫外-可见分光光度计的基本类型及其特点、原子分光光度计分析条件的选择原则、荧光光谱仪的基本结构;浊度分析的基本原理及基本分析方法。

了解 光的基本性质和朗伯-比尔定律的意义、分光光度计分析条件的选择;影响荧光强度的因素;原子光谱分析仪及散射免疫比浊分析技术的临床应用。

二、重点和难点内容

(一) 重点

1. 紫外-可见分光光度计的工作原理 紫外-可见分光光度计的工作原理遵循朗伯-比尔定律。

设入射光强度为 I_0 , 当透过浓度为 C 、液层厚度为 b 的溶液后, 透射光强度为 I , 透射光强度与入射光强度的比值称为透光度, 也叫透射率, 以 T 表示。当液层厚度 b 或溶液浓度 C 按算术级数增加时, 透光度 T 按几何级数减少, 数学表达式为:

$$T = \frac{I}{I_0} = 10^{-KCb}$$

式中 K 为比例常数。

在光谱分析中, 常常用吸光度表示溶液对入射光的吸收程度。吸光度与透光度的关系是: 吸光度等于透光度的负对数, 用 A 表示吸光度, 有下列公式关系。

$$A = -\lg T = -\lg \frac{I}{I_0} = \lg \frac{I_0}{I} = \lg \frac{1}{T} = KCb$$

2. 紫外-可见分光光度计的基本结构及各部件功能 紫外-可见分光光度计的基本结构由光源、单色器、吸收池、检测器和信号显示系统 5 部分组成。

3. 紫外-可见分光光度计的基本类型 紫外-可见分光光度计可以按仪器的使用波长分类; 也可按仪器的光学系统分类。按使用波长分类可分为: 紫外分光光度计 (0.1 ~ 200nm)、可见分光光度计 (360 ~ 800nm)、紫外-可见分光光度计 (200 ~ 1000nm)、紫外-可

见-红外分光光度计(200~2500nm)等。按光学系统分类可分为:单光束分光光度计、双光束分光光度计、双波长分光光度计、双波长-双光束分光光度计、动力学分光光度计等。

4. 紫外-可见分光光度技术定量分析的方法 定量分析主要包括直接比较法、吸光系数法及双波长分光光度法等。

5. 原子吸收分光光度计的基本工作原理 原子吸收分光光度法是根据处于气态的基态原子在某特定波长光的辐射下,原子外层电子对光的特征吸收这一现象建立起来的一种光谱分析方法。其方法原理是以测量气态基态原子外层电子对共振线的吸收作为基础的分析方法。测量原子吸收光谱,就可以对物质进行定性分析。

6. 荧光光谱仪的基本原理 对于某一荧光物质的稀溶液,在激发光的频率、强度以及液层厚度不变时,此荧光物质所发出的荧光强度与溶液的浓度成正比关系。由此可以通过测定荧光强度来求出该物质的含量。荧光分析法和紫外、原子吸收分析方法有本质的不同。它所测量的是待测物质所发射的荧光强弱,而不是物质对光谱的吸收强弱,属于发射光谱分析。

7. 浊度分析的基本方法 根据检测器的位置及其接收光信号的性质,浊度分析可分为透射免疫比浊法和散射免疫比浊法两大类,前者是在 0° 角,亦即在直射角度上测定透射光强度和被测溶液中微粒浓度关系的方法,可用分光光度计及比色计进行测定,透射免疫比浊法测定的信号主要是溶液的光吸收及其变化,即溶液的光吸收因散射作用造成的总损失之和。后者则是在 $5^\circ \sim 96^\circ$ 角的方向上测量散射光强度和被测溶液中微粒浓度关系的方法,后者则需专用的浊度计。

(二) 难点

1. 紫外-可见分光光度计的分类与结构特点 紫外-可见分光光度计可以按仪器的使用光波长分类;也可按仪器的光学系统分类。按使用波长分类可分为:紫外分光光度计(0.1~200nm)、可见分光光度计(360~800nm)、紫外-可见分光光度计(200~1000nm)、紫外-可见-红外分光光度计(200~2500nm)等。按光学系统分类可分为:单光束分光光度计、双光束分光光度计、双波长分光光度计、双波长-双光束分光光度计、动力学分光光度计等。

2. 单色光的产生与颜色互补

(1) 单色光的产生:紫外-可见分光光度计所用的光源,发射光的光谱是连续的光源。而被测物质所需要的光是单色光,需要在连续的光谱中分离出单一波长的单色光。单色光是由单色器产生的,用于分光光度计上的单色器主要有棱镜单色器和光栅单色器两种。棱镜单色器的分光原理是光的折射原理,不同波长光的折射率不同,当一束平行的混合光进入棱镜单色器后就会按波长顺序分解成各种单一波长的单色光,根据需要选择不同波长的光。光栅单色器是利用光的衍射和干涉原理进行分光的。

(2) 互补光:如果将两种颜色的单色光按一定的强度比例混合可以成为白光,这样的两种光互称为互补光。紫外-可见分光光度计的可见光谱分析要求被测溶液的颜色与所用的单色光互补,以求达到溶液对光的最大吸收。在某些方法学研究中要预先测定某种溶液的最大吸收光的波长。

3. 原子吸收光谱仪和原子发射光谱仪的工作原理区别 原子吸收光谱仪基本工作原理是测定气态的自由原子对某种特定光谱的吸收。原子发射光谱法是根据处于激发态的待

测元素原子回到基态时发射的特征谱线对待测元素进行分析的方法。

4. 雷莱(Rayleigh)光散射理论与米-德拜(Mie-Debye)散射理论 粒子被光照射后而发光,这一现象主要取决于粒子的大小,即当粒子直径大于入射光波长的一半(半波长)时就发生散射现象。

雷莱对小粒子溶胶系统进行研究后,于1871年总结出反映粒子对入射光散射作用的有关因素相关的公式,即

$$I = \frac{24\pi^3 \nu V^2}{\lambda^4} \left(\frac{n_2^2 - n_1^2}{n_2^2 + 2n_1^2} \right)^2 I_0 \quad (2-1)$$

式中: I_0 —入射光强; λ —入射光波长; n_1, n_2 —分散介质和分散相的折射率; ν —单位体积内的粒子数; V —单个粒子的体积。

由上式可得出如下结论:

- (1) 单位体积的散射光强度与每个粒子体积的平方成正比。
- (2) 散射光总能量与入射光波长的四次方成反比。入射光波长愈短,散射愈显著。
- (3) 分散相与分散介质的折射率相差愈显著,则散射作用亦愈显著。
- (4) 散射光强度与单位体积中的粒子数成正比。

该公式仅适用于稀释溶液,微粒直径约为入射光波长的 $1/20 \sim 1/10$ 的溶液。而当粒径与入射光波长的比例大于该比值时,各方向散射光的强度不尽相同,即成为不对称或各向异性的了,此时正向散射光强度趋于增强。这种情况实际上偏离了雷莱提出的公式,为此 Mie 和 Debye(米-德拜)先后对雷莱公式加以修正。即

$$I = \frac{24\pi^3 \nu V^2}{\lambda^4} \left(\frac{n_2^2 - n_1^2}{n_2^2 + 2n_1^2} \right)^2 (1 + \cos^2 \theta) I_0 \quad (2-2)$$

公式进一步表明检测器的位置与被测光信号的性质及强度之间的关系。米-德拜所做的修正更适合于粒径等于或大于入射光波长的情况。在免疫化学反应过程中,可溶性抗体(Ab)与可溶性抗原(Ag)反应,形成免疫复合物(IC)粒子,混合物系统中的粒子由小变大,并不恪守某一固定公式,故而米-德拜对雷莱散射理论的修正公式更适合于现代实验室测定项目的原理。目前这个液相化学公式主要被应用于免疫检测系统中,常称为免疫浊度法。

三、习 题

(一) 名词解释

- | | |
|--------------|--------------|
| 1. 光谱分析技术 | 2. 朗伯-比尔定律 |
| 3. 颜色互补光 | 4. 单色器 |
| 5. 吸收池 | 6. 检测器 |
| 7. 原子化器 | 8. 原子吸收分光光度法 |
| 9. 发射光谱法 | 10. 激发光源 |
| 11. 荧光淬灭 | 12. 胶体溶液 |
| 13. 透射免疫比浊法 | 14. 散射免疫比浊法 |
| 15. 散射光谱分析技术 | |

(二) 填空题

1. 透射免疫比浊法是浊度分析的基本方法之一,分析过程中在____角,亦即在____上测定____光强度和被测溶液中微粒浓度关系的方法。
2. 散射免疫比浊法是浊度分析的基本方法之一,分析过程中在____角的方向上,测量____光强度和被测溶液中微粒浓度关系的方法,需专用的____计。

(三) 单项选择题

A 型题

1. 紫外-可见分光光度计的工作原理主要依据
 - A. 光的互补原理
 - B. 光谱分析原理
 - C. 光的吸收定律
 - D. 光的波粒二象性
 - E. 以上都不是
2. 下列哪一项不是紫外-可见分光光度计的主要部件
 - A. 光源
 - B. 单色器
 - C. 吸收池
 - D. 反光镜
 - E. 检测器
3. 棱镜或光栅可作为
 - A. 滤光元件
 - B. 聚焦元件
 - C. 分光元件
 - D. 感光元件
 - E. 反光元件
4. 卤钨灯的适用波长范围是
 - A. 320 ~ 2500nm
 - B. 150 ~ 400nm
 - C. 254 ~ 734nm
 - D. 800 ~ 1600nm
 - E. 150 ~ 800nm
5. 关于单光束紫外-可见分光光度计特点描述错误的是
 - A. 只有一条光路
 - B. 只有一套色散元件
 - C. 结构简单
 - D. 可以用电表或数字显示
 - E. 可进行光谱扫描
6. 在紫外-可见分光光度法测定中,使用参比空白溶液的作用是
 - A. 调节仪器透光率的零点
 - B. 吸收入射光中测定所需要的光波
 - C. 调节入射光的光强度
 - D. 消除试剂等非测定物质对入射光吸收的影响
 - E. 调节仪器吸光度的零点
7. 分光光度计的可见光波长范围是
 - A. 200 ~ 400nm
 - B. 400 ~ 800nm
 - C. 500 ~ 1000nm
 - D. 700 ~ 1000nm
 - E. 800 ~ 1200nm
8. 检测有色溶液最大吸收峰用下列哪个仪器最好