

临床生物化学检验

《高等临床检验专业试用教材》

吉林医学院



PDG

序

近年来，实验医学在国外发展十分迅速，而在国内发展较慢。其中，临床检验在我国处于十分落后状态。为了尽快改变这一局面，并适应我国四化建设的需要，培养高级临床检验人员实为当务之急。吉林医学院组织力量编印了一套临床检验教材，适逢其时，这将为临床检验专业教学质量的提高起到促进和保证作用。《临床生物化学检验》即其中之一，内容丰富，取材新颖。当然，临床生化检验是发展中学科，新理论、新技术有待我们临床生化检验工作者不断地收集和整理，补充和完善本教材，使之在3~5年内成为适应我国四化建设的临床生化检验统一教材。望希广大临床生化检验工作者为本教材的日臻完善提出宝贵意见。

安 乙 敏

一九八三年三月十九日

C0097581



编 写 说 明

ZL 90/24 16

根据高等临床检验专业教学计划及教学大纲,编写了《生物化学》、《临床生物化学检验》《临床免疫学检验》《临床微生物学检验》《临床血液学检验》《临床体液检验》《临床脱落细胞学检验》《临床检验专业英语阅读教材》等八种试用教材。

《临床生物化学检验》试用教材分两篇共十八章。第一篇是临床生物化学检验技术的基础理论部分,本篇介绍了光谱光度分析、层析技术、电泳等基本理论知识。为了避免与基础课过多重叠,有些地方进行了删减;第二篇是临床生物化学检验技术。鉴于本专业的课程设置,进入专业课教学时学员已具备了一定的专业基础知识,为了突出专业课特点,有利于在教学中对专业技术的系统讲述和操作技能的系统训练,把部分检验项目进行了归类,如把电泳项目、酶活性测定项目等,分别纳入专章进行讨论。因编写时间紧迫,生化自动分析及同位素分析技术等未能成章入册,授课时另行补入。

在编写过程中,我们参阅了一九七五年以来国内外出版的有关专著;结合教学需要,录用了书刊中的部分资料,因系内部讲义,未注明出处。

本书的印刷清稿曾得到安乙敏教授等视阅,并提出一些极其宝贵的指导意见,在此表示诚挚感谢。

由于我们的水平有限,实践经验也少,加上编写时间匆促,书中错误之处在所难免,恳请读者批评指正。

临床检验专业教材编写组

一九八二年八月

目 录

第 一 篇

第一章 光谱光度分析技术	1
第一节 光谱光度分析的基本原理	1
一、光的一般概念.....	1
二、光的电磁理论.....	2
三、发射光谱与吸收光谱.....	3
四、物质结构与光谱的关系.....	3
(一) 物质结构与发射光谱的关系.....	3
(二) 物质结构与吸收光谱的关系.....	4
第二节 发射光谱分析技术	6
一、简介.....	6
(一) 定性分析.....	6
(二) 定量分析.....	7
二、摄谱仪的基本构造.....	7
(一) 电光源.....	7
(二) 色散系统.....	8
(三) 检测器.....	8
三、火焰光度计.....	8
四、原子荧光光谱仪.....	10
第三节 吸收光谱分析技术	11
第二章 电泳技术	11
第一节 概述	11
第二节 电泳的基本原理	12
第三节 影响电泳的因素	14
一、电场强度.....	14
二、缓冲液.....	15
三、支持物.....	18
(一) 吸附.....	18
(二) 电渗.....	18
(三) 支持物的分子筛作用.....	19
第四节 电泳的称呼和类别	19

第三章 层析技术	20
第一节 层析的一般原理和分类	20
一、层析的一般原理.....	20
二、层析法的分类.....	21
第二节 吸附层析	22
一、吸附等温线.....	23
二、分配系数与保留值.....	24
三、吸附柱层析法.....	25
四、吸附薄层层析法.....	30
第三节 分配层析技术—纸层析法	36
一、原理.....	36
二、操作技术.....	37
第四节 反流分布法	40
一、基本原理.....	40
二、操作技术.....	42
第五节 离子交换层析	43
一、离子交换剂的结构与分类.....	43
二、离子交换树脂的特性.....	49
三、离子交换理论.....	50
四、应用与实例.....	52
第六节 凝胶层析法	53
一、基本原理.....	53
二、凝胶.....	55
三、凝胶层析的实验技术.....	58
四、影响凝胶层析的因素.....	59
五、防止微生物污染凝胶的方法.....	63
六、凝胶的再生.....	64
七、凝胶层析法的应用.....	64
第七节 亲和层析法	66
一、基本原理.....	66
二、操作.....	71
三、亲和层析法实例.....	78
第四章 临床生化检验的质量控制	82
第一节 概念	82
一、临床生化检验的质量控制.....	82
二、检验误差.....	82
三、回顾性质量控制的统计学基础.....	83

四、以平均值 $\bar{x} \pm ? SD$ 估计变量值的频数分布	84
第二节 室内允许误差的确定和质控图的制作	85
一、控制血清的准备	85
二、控制血清的定值	85
三、室内质控允许误差的确定	85
四、室内质控图的制作及例题分析	86
五、平均值和全距法质控图	87
第三节 方法考查提要	90
一、精密度试验	90
二、准确度试验	90
三、比较两种方法的测定均数差异是否显著	91
四、比色法标准工作曲线的校正	91
第五章 超速离心分析法	92
第一节 引言	92
一、一般原理	92
(一) 沉降速度法	94
(二) 沉降平衡法	95
第二节 基本数学理论	97
一、沉降系数与分子量测定	97
(一) 沉降系数	97
(二) 分子量测定	98
二、沉降速度与分子量测定	101
(一) 浓度测定与平方稀释定律	101
(二) 分子量测定	103
第三节 仪器设备	104
一、油涡轮超速离心机	104
二、气动超速离心机	105
三、电动超速离心机	106
四、制备用超速离心机	106
第四节 超速离心沉降界面的观察方法	108
一、柱面透镜法	108
二、光干涉法	111
三、光吸收法	112
第五节 实验方法	113
一、实验溶液的准备	113
二、离心管	114
三、离心管帽	115
四、离心池	116

(一) 单孔离心池	116
(二) 双孔离心池	116
五、区带离心法	117
(一) 差速与等密度区带离心法	118
(二) 密度梯度溶液的制备	119
1. 直线型密度梯度溶液的配制	119
2. 指数曲线型密度梯度溶液的配制	120
六、区带离心法的分离能力	122
第六节 超速离心实例	122
一、牛血清白蛋白沉降系数的测定	122
二、用差速离心法从鼠肝中提纯核蛋白体、及核蛋白体RNA	123
三、用蔗糖梯度离心法分部分离核糖核酸	124
第六章 试剂配制	
第一节 概述	126
第二节 临床生化检验常用的各种浓度试剂	127
一、百分浓度 (%)	127
二、克分子浓度 (M或mol/L)	127
三、当量浓度 (N) 和毫克当量浓度 (mEq/L)	127
四、比例浓度	128
第三节 溶液配制	128
一、配制方法及要求	128
二、有关浓度的换算	132
第七章 玻璃器材的备用	138
第一节 玻璃器材的消毒、清洁和存放	138
第二节 玻璃量器的使用方法	139
一、玻璃量器的种类、构造及用途	139
二、玻璃量器的使用规则	141
第三节 玻璃量器的校正	143
一、滴定管的校正	146
二、吸量管的校正	147
三、容量瓶的校正	148
四、微量吸管的校正	148
第八章 药物对生化检验的干扰	150

第二篇

第一章 临床基本操作技能.....	155
第一节 静脉采血.....	155
一、注射器.....	155
二、皮肤消毒.....	155
三、肘前静脉采血.....	155
四、腕背静脉采血.....	156
五、颈静脉采血.....	156
六、动脉采血.....	156
第二节 抗凝剂及其应用.....	156
一、草酸钾.....	156
二、草酸钠.....	157
三、肝素.....	157
四、乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na ₂).....	157
五、采血后怎样获取全血, 血浆血清.....	157
第三节 尿液标本的采取.....	158
一、收集量.....	158
二、容器.....	158
三、保存方法.....	158
第四节 无蛋白滤液制备.....	159
一、钨酸除蛋白法.....	159
二、三氯醋酸法.....	159
第二章 血液葡萄糖测定.....	160
第一节 概述.....	161
第二节 血液葡萄糖测定.....	161
一、磷钼酸显色法 (Folin—吴宪二氏法).....	161
二、邻甲苯胺法.....	164
三、葡萄糖氧化酶法.....	166
第三节 糖耐量试验.....	170
一、原理.....	170
二、操作.....	170
三、附注.....	171
四、临床意义.....	171

第三章 血液蛋白质及非蛋白氮测定

第一节 概述	172
第二节 血清总蛋白、白蛋白、球蛋白测定	174
一、微量定氮法	174
二、双缩脲法	176
第三节 非蛋白氮测定	179
一、纳氏比色法	179
二、次亚溴酸钠法	182
第四节 尿素氮测定	184
一、二乙酰一脲法	185
二、脲酶法	187
第五节 肌酐测定	188
第六节 肌酸测定	190
第七节 尿酸测定	192
一、磷钨酸钠显色法	192
二、磷钨酸—氰化钠法	184
三、磷酸三钠法	196
第八节 血氨测定	197

第四章 血脂测定

第一节 概述	202
第二节 血清总胆固醇测定	204
一、硫磷铁法	204
二、硫酸—邻苯二甲醛法	206
三、硫酸—醋酐法	207
第三节 血清甘油三酯测定	208
一、正庚烷—异丙醇—乙酰丙酮法（简易快速法）	209
二、醇—醚—氯仿提取法	211
第四节 血清 β 脂蛋白测定（肝素比浊法）	214
第五节 血清总脂测定	216
第六节 血清磷脂测定	218
一、高氯酸消化法	218
二、氨基萘酚磺酸法	220
第七节 血清游离脂肪酸测定	221
第八节 酮体测定	223
一、肝脏功能检查的原则	344
二、对某些肝功能试验在临床应用的评价	344
三、肝脏功能试验的选择	349

第五章 无机元素测定	226
第一节 概述	226
第二节 血清钾测定	227
四苯硼钠比浊法.....	227
附：尿钾测定.....	231
第三节 血清钠测定	232
一、焦性锑酸钾比浊法.....	232
二、醋酸双氧铀镁—亚铁氰化钾间接比色法.....	233
第四节 血清钾、钠火焰光度法	236
一、直接法.....	236
二、内标法.....	238
第五节 氯化物测定	240
硝酸汞滴定法.....	240
第六节 血清钙测定	243
一、乙二胺四乙酸二钠 (EDTA—Na ₂) 滴定法.....	244
二、邻甲酚酞络合剂比色法.....	246
附：尿钙测定 (EDTA—Na ₂ 滴定法).....	249
第七节 血清无机磷测定	250
一、硫酸亚铁磷钼蓝比色法.....	250
二、氨基萘酚磺酸磷钼蓝比色法.....	253
附：尿无机磷测定 (硫酸亚铁磷钼蓝比色法).....	254
第八节 铁测定	255
一、血清铁的测定 (双联吡啶比色法).....	257
二、血清 (浆) 总铁结合力测定.....	259
三、全血铁测定 (硫氰酸铁比色法).....	261
第九节 血清镁测定	263
达旦黄比色法.....	264
第十节 铜测定	266
一、血清铜二乙基二硫代氨基甲酸钠比色法.....	267
二、尿铜测定 (尿酮二乙基二硫代氨基甲酸钠比色法).....	268
三、血清铜二苯基羰酰二肼比色法.....	269
第十一节 血清锌测定	271
吡啶偶氮萘酚比色法.....	272
 第六章 血清酶类测定	
第一节 概述	274
第二节 转氨酶测定	275
一、谷丙转氨酶 (GPT) 测定.....	276

二、谷草转氨酶 (GOT) 测定	278
第三节 磷酸酶测定	280
一、碱性磷酸酶测定	280
二、酸性磷酸酶测定	286
第四节 淀粉酶测定	287
第五节 胆碱酯酶测定	289
一、胆碱酯酶测定	289
二、全血胆碱酯酶测定	292
第六节 磷酸肌酸激酶测定	294
第七节 5'-核苷酸酶测定	297
第八节 γ -谷氨酰转肽酶测定	299
第九节 单胺氧化酶测定	302
第十节 乳酸脱氢酶测定	304
第十一节 醛缩酶测定	307

第七章 肝脏功能试验

第一节 和蛋白质有关的肝功能试验	311
一、血清蛋白定量测定与电泳	311
二、血清浊度和絮状试验	313
三、甲胎蛋白试验	321
四、和某些凝血因子有关的试验	322
五、血氨测定	322
第二节 和脂类代谢有关的试验	323
一、血清总胆固醇测定	
二、卵磷脂胆固醇酰基转移酶的测定	324
第三节 和肝脏病有关的血清酶类试验	324
一、反映肝细胞损伤的酶类	324
二、反映胆道梗塞的酶类	326
三、反映肝纤维化的酶类	328
第四节 有关胆色素代谢的肝功能试验	328
一、血清胆红素测定	328
二、尿中胆红素、胆素原及胆素的测定	337
第五节 有关生物转化与排泄的肝功能试验	338
一、血清磺溴酞钠滞留量测定	338
二、靛青绿 (ICG) 排泄试验	343
第六节 肝功能试验的选择	343

第八章 内分泌测定	350
第一节 尿17-酮类固醇测定	350
第二节 尿17-羟类固醇测定	350
一、正丁醇提取法	353
二、氯仿-正丁醇-乙醇提取法	355
第三节 尿中儿茶酚胺测定	356
第四节 8-甲氧基-4-羟苦杏仁	359
酸测定	
第五节 血清蛋白结合碘测定	362
第九章 血液气体分析及 pH 测定	364
第一节 血液气体和酸碱平衡紊乱诊断的基本概念	364
一、气体分压及其在血液中溶解量的计算	367
二、血液中含氧量的计算	367
三、血液中 CO_2 、 Tco_2 和 HCO_3^- 含量及 pH 的计算	368
四、酸 平衡指标	369
第二节 血标本的采集和保存	373
一、密闭式动脉或静脉取血法	373
二、毛细血管血的采取法	373
三、血液标本的贮存	374
第三节 血氧测定法	375
一、氧分压测定——氧分压电极法	375
二、血氧饱和度测定	378
三、血氧含量测定——量气法	784
第四节 血液二氧化碳测定	397
一、二氧化碳分压测定	397
二、血浆碳酸氢根测定（滴定法）	403
三、血浆总二氧化碳测定（量气法）	404
第五节 血液 pH 测定	411
一、血浆 pH 计法	411
二、酚红比色测定法	414
第六节 各项酸碱平衡诊断指标的计算	417
一、pH— Pco_2 法	417
二、单一 CO_2 气平衡法	418
三、两种 CO_2 气平衡法	418
第七节 血液气体分析和 PH 测定的临床意义	422
一、正常范围和生理变动	422
二、呼吸功能诊断	428

三、酸碱平衡诊断·····	425
第十章 临床电泳·····	430
第一节 血清蛋白质电泳·····	430
一、血清蛋白质纸电泳法·····	430
二、血清蛋白醋酸纤维薄膜电泳·····	433
第二节 血清脂蛋白电泳·····	435
一、醋酸纤维薄膜电泳·····	435
二、琼脂糖电泳法·····	438
三、预染脂蛋白聚丙烯酰胺凝胶电泳(圆盘电泳)·····	439
第三节 血清乳酸脱氢酶(LDH)同工酶电泳·····	445
第四节 对流免疫电泳·····	448
附录:	
一、酸碱指示剂·····	449
二、生化实验常用缓冲液的配制方法·····	451
三、市售常用酸碱的浓度·····	455
四、实验室工作常用的度量衡单位·····	455
五、某些溶剂的沸点、比重及介电常数·····	458
六、乙醇的用水稀释法(15.6°C时)·····	459
七、原子量表·····	460

第一篇

第一章 光谱光度分析技术

利用各种化学物质——包括原子、基团、分子及高分子化合物所具有的发射、吸收或散射光谱谱系（带、线）的特征，来确定其性质、结构或含量的技术，称光谱光度分析技术。光谱光度分析技术应包括发射光谱分析、吸收光谱分析和散射光谱分析三大类。与其对应的仪器如下表：

表 1—1 光谱光度分析与其对应仪器

光谱分析类型	对应仪器名称
发射光谱	1. 各种摄谱仪 2. 火焰光度计 3. 原子荧光光谱仪 4. 荧光比色计
吸收光谱	1. 各种光电比色计 2. 各种可见光区及紫外光区分光光度计 3. 各种红外光区分光光度计 4. 原子吸收分光光度计
散射光谱	1. 各种浊度计 2. 各种乳光计 3. 各种生物光度计

光谱光度分析技术是生化领域内十分重要的分析技术，它不仅为生化研究所常用，而且是临床生化检验室所不可缺少的分析方法。

第一节 光谱光度分析的基本原理

一、光的一般概念

物理光学告诉我们，光是由光子微粒所组成，它不仅具有能量而且有动量。我们说的一束光就是大量光子的聚合，称光子流。光的本质是不连续的微粒性和连续的波动性矛盾的对立统一——光具有两象性。

波长和频率是光的波动性的特征，光子的能量值是光的微粒性的特征。

$$\varepsilon = \frac{h \cdot c}{\lambda} = h\nu$$

λ 为波长, ν 为频率, c 为光速, h 为 Planck 常数。此式表明, 光子的能量与光的波长成反比, 与频率成正比, 也就是说, 不同频率或波长的光具有不同的能量。

二、光的电磁理论

光和无线电波相似, 同属于电磁波, 只是光波波长比无线电波的波长更短。电磁波可由电场强度向量 E 与磁场强度向量 H 两个向量的振动来表示, 这两个向量以相同的相位在两个相互垂直的平面内振动, 它的传播方向 V 与向量 E 及 H 的方向垂直(图1-1);

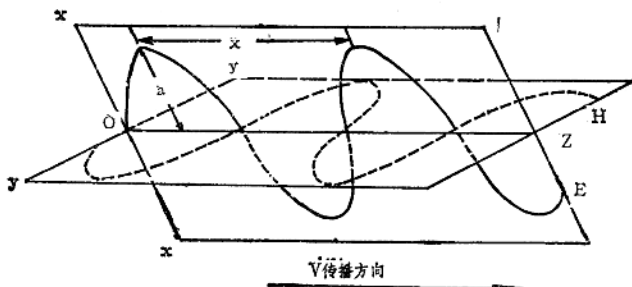


图1-1 电磁波图

图中实线表示向量 E 的振动发生在平面 XOZ 内, 向量 H 的振动(虚线)发生在平面 YOZ 内, 波沿 OZ 轴的正方向传播。光的许多效应, 如感光层上的化学反应, 发光, 光电的效应等是由电向量 E 的振动所引起。而光的偏振则与磁向量 H 有关。

为了比较, 下面把自然界中所存的各种不同波长的电磁波列图如下。

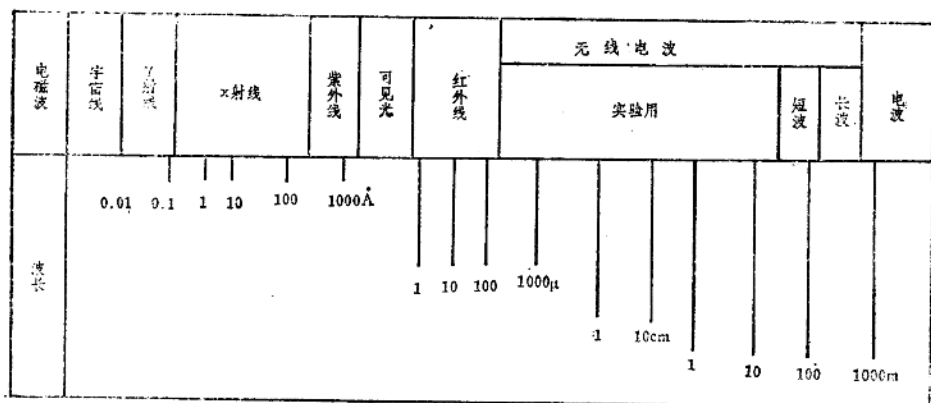


图1-2 电磁波谱

本章讨论的只是波谱图中 $200\mu\sim 10\mu$ ($1\mu = 1000m\mu$) 这一段波长的光谱, 其中 $200\sim 400\mu\mu$ 为紫外光区, $400\mu\mu\sim 760\mu\mu$ 为可见光区, $760\mu\mu\sim 10000\mu\mu$ 为红外光区。

三. 发射光谱与吸收光谱

(一) 发射光谱:

让电灯(钨灯)射出的光通过三棱镜折射到白纸上,色散成红、橙、黄、绿、兰、靛、紫组成的一幅色谱,这就是发射光谱,是电灯(钨灯)的发射光谱。不同的光源(如太阳灯、日光管、氢灯、汞灯、以及原子与分子燃烧时所发射的等等)通过三棱镜所色散出来的色谱是不同的,也就是说,它们有各自独特的发射光谱。因此,可以通过发射光谱来鉴别发光体的组分,也可以采用不同的发光体所发射出的光谱作为有关仪器的光源。钨灯能发出400—760m μ 波长的光谱,故可采用钨灯作为可见光分光光度计的光源,氢灯能发出185—400m μ 波长的光谱,故可采用氢灯作为紫外分光光度计的光源。

(二) 吸收光谱:

如果我们在光源和棱镜之间放一杯有色溶液,此时照射到白纸上的光谱有了缺空——即出现了几处暗的部分,光源发射光谱中某些波长的光因被溶液吸收而消失了。这种被溶液吸收后的光谱称为该溶液的吸收光谱。不同物质的吸收光谱是不同的,故根据吸收光谱可以鉴别溶液中所含物质,通过计算可知其含量。

四. 物质结构与光谱的关系

(一) 物质结构与发射光谱的关系

当物质在电弧、火花等电光源中被激发时,原子的外层电子被激发到较高的能级,当此电子回到较低能级时就放出能量,这种能量以不同波长(或频率)的光谱展示出来。所产生的光谱的性质决定于两个能级的能量差。各种原子的能级是一定的,所以各种原子有各自特有的发射光谱,这就是所有的发射光谱类仪器能鉴别物质的基础。大家知道,原子中各电子分布在若干层上,即K、L、M、N、O、P、Q,除K层外,其余各层又分为s、p、d、f等亚层(见表1—2),各层及各亚层之间均有一定的能量差。例如:钠元素最外层电子处于3S时为基态,经火焰光源激发,此电子跃迁到4p层或3d层,当此电子由4p直接返回基态3S时辐射出3302 \AA 波长的谱线,若由3P返回到3S,辐射出5893 \AA 波长的谱线(见图1—3)。如果光源给予Na最外层电子超过5.12eV(电子伏特)的能

表1—2

Li、Na、K、Ac(铜)电子层的结构

元 素	K		L			M			N				O				P Q			
	1s	2s	2p	3s	3p	3d	4s	4p	4d	4f	5s	5p	5d	5f	6s	6p	6d	7s		
Li	2	1																		
Na	2	2	6	1																
K	2	2	6	2	6		1													
Ac	2	2	6	2	6	10	2	6	10	14	2	6	10		2	6	1	2		

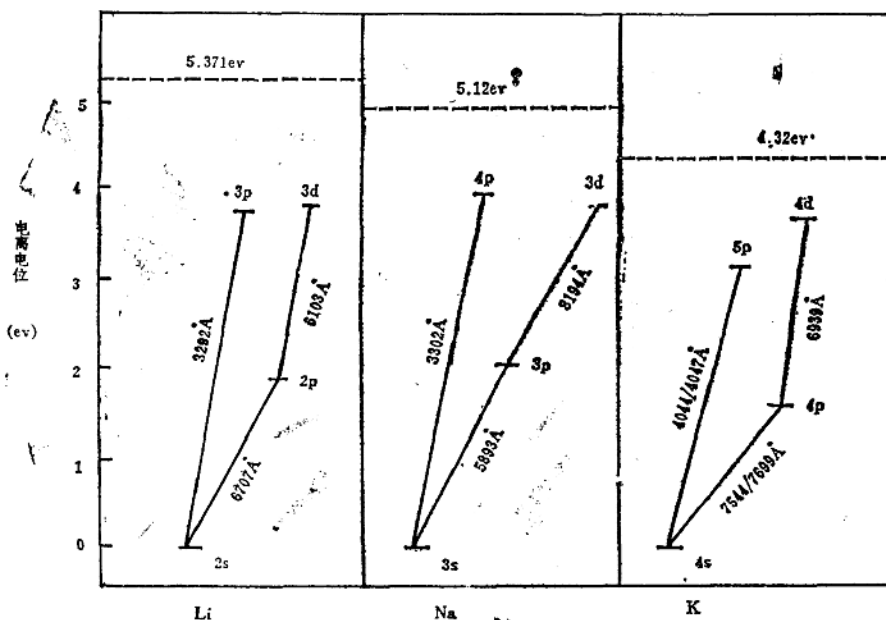


图 1—3 Li, Na, K 的光谱来源 (火焰光能)

量时, 此电子就不再受原子核束缚, 钠原子变成了钠离子, 5.12eV称为钠原子的电离势能 (如图中虚线所示)。在光谱中出现了这些钠离子所辐射的 3,302 Å, 5,893 Å, 8,180 Å/8,194 Å (双谱线) 的谱线时, 我们就肯定样品中有钠离子, 其谱线强度决定于钠的浓度。可见, 原子的发射光谱性质首先决定于外层电子。因此, ①周期表中同一族的元素具有相似的光谱, ②周期中同一族的元素也具有相近的电离势能, ③电离势能越大, 原子就越难激发 (碱金属电离势能最小, 惰性气体则最大)。根据这些规律可判断所研究元素激发的难易。当选择的光源适用于Li, 此光源也必然适用于K、Na等其他碱金属元素。因为同族元素具有相似的光谱性质, 分析就可以在类似的条件下进行。

(二) 物质结构与吸收光谱的关系

当一定光源所产生的电磁波通过具有某种物质 (主要是分子态物质) 的真溶液时, 此物质能选择性地吸收某特定波长的电磁波, 从而得到该物质所特有的吸收光谱, 这就是一切吸收光谱类仪器的理论基础。

分子的吸收光谱是由多方面因素决定的, 一个分子内部运动的能量主要由三部分组成——分子中电子的运动能量、分子振动的能量和转动的能量, 因此每个分子存在着一定数目的电子能级、振动能级和转动能级。这三类能级的变化可能同时发生, 也可能只发生其中的一种。由于转动能的能级差较小, 如果只有转动能级的跃迁而没有振动能级和电子能级的跃迁, 能量改变不大, 发生的吸收光谱在远红外光区或微波区。如果振动能级的跃迁和转动能级的跃迁同时进行, 所得的振动、转动光谱在近红外区。如果电子由一个能级跃迁到另一个能级, 同时伴有许多不同振动能级的跃迁, 而每一振动能级跃迁