

 全国高等医药院校规划教材编辑委员会 (供医学检验专业用)
全国高等医药院校规划教材



临床 生物化学检验 实验指导

主编 郑铁生



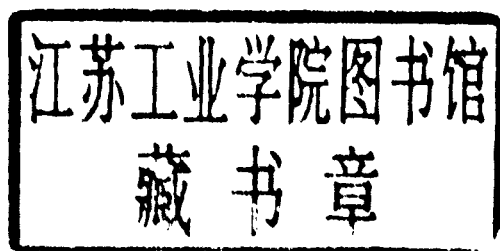
中国医药科技出版社

全国高等医药院校规划教材编辑委员会
全国高等医药院校规划教材

临床生物化学检验实验指导

(供医学检验专业用)

主 编 郑铁生



中国医药科技出版社

内 容 提 要

《临床生物化学检验实验指导》是与高等医药院校医学检验专业理论教材相配套的实验教材。全书共分 18 次 50 项实验,包括实验室基本技术,蛋白质、糖类等多种物质的测定,各种生化技术的应用,多种评价试验以及临床生化检验实验设计等,内容新、技术全、代表性好、实用性强。本教材改革了传统的以代谢物检测为主线的教学模式,采取以生化检验技术为主线的模式,开设了技能性、应用性、验证性、综合性、设计性实验,实验内容力求与临床融合。

本教材可供高等医药院校医学检验专业本、专科学生及成人教育本、专科学生使用,也可供从事临床检验工作的技术人员和从事医学研究的技术人员参考使用。

图书在版编目 (CIP) 数据

临床生物化学检验实验指导/郑铁生主编. —北京:
中国医药科技出版社, 2004. 8
全国高等医药院校规划教材. 供医学检验专业用
ISBN 7 - 5067 - 2866 - 4

I. 临... II. 郑... III. 生物化学 - 医学检验 - 医
学院校 - 教材 IV. R446. 1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 081306 号

美术编辑 陈君杞
责任校对 张学军
版式设计 郭小平

出版 中国医药科技出版社
地址 北京市海淀区文慧园北路甲 22 号
邮编 100088
电话 010 - 62244206
网址 www.mpsky.com.cn
规格 787 × 1092mm¹/₁₆
印张 9¹/₄
字数 191 千字
印数 1—5000
版次 2004 年 8 月第 1 版
印次 2004 年 8 月第 1 次印刷
印刷 北京建筑工业印刷厂
经销 全国各地新华书店
书号 ISBN 7 - 5067 - 2866 - 4/G · 0377
定价: 15.00 元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

编委会名单

主 编 郑铁生
副主编 姜旭淦
编 者 江苏大学医学技术学院
(以姓氏笔画为序)
马 洁 乔 正 郑铁生
赵 燕 姜旭淦 徐顺高

前 言

临床生物化学检验实验的教学目的在于：按照高等医学检验专业的培养目标和临床生物化学检验课程的基本要求，指导学生掌握实验的基本操作和基本技能，树立实事求是的科学态度和科学作风，并通过实验过程培养学生分析问题和解决问题的能力；在掌握专业理论知识的基础上，培养学生具有创新思维和初步从事科研的能力；与时俱进，培养学生面对临床、面对市场，具有从事临床生化实验室实际工作的能力。

为了达到上述目的，我们在实验教学中，改革了传统的以代谢物检测为主线的教学模式，采取以生化检验技术为主线的教学模式，开设了技能性、应用性、验证性、综合性、设计性实验，实验内容力求与临床融合，使读者做到举一反三，学以致用。经过五年的教学实践，听取毕业生和临床实验室专家的意见反馈，编写了这本实验教材。在内容的编排方面，采取了循序渐进的训练方式，以技术训练为主，以临床应用项目为点，以点带面，以便在有限的实验教学时间，达到较好的实验教学效果。

本教材共分 18 次 50 项实验。每项实验包括目的与要求、原理、试剂、操作步骤、结果计算、注意事项和方法学评价等。书后附学生专用器材、实验室共用仪器及实验学时分配表，以供参考。内容包括实验室基本技术，蛋白质测定、糖类测定、甘油三酯测定、电解质测定、微量元素测定、肝功能试验、自动分析仪 K 值测定、酶类测定、代谢物酶试剂法测定、免疫学测定、琼脂糖同工酶电泳、层析分析技术、方法学评价实验、试剂盒性能评价、室内质量评价实验、临床生化检验实验设计等。所选实验项目，内容新、技术全、代表性好、实用性强。不仅节省了课时，而且提高了实验的效果。

本教材是与高等医学检验专业理论教材相配套的实验教材，可供高等医药院校医学检验专业本、专科学生及成人教育本、专科学生使用，也可供从事临床检验工作的技术人员和从事医学研究技术人员参考使用。

本教材在编写思路、内容选择及编写过程中，得到了检验医学界许多专家、教授的指点和帮助，同时得到了江苏大学医学技术学院及兄弟院校同行们的大力支持，在此表示衷心的感谢。

由于检验医学发展快、技术涉及广，限于编者的水平和能力，不足之处在所难免，敬请使用者提出批评和宝贵意见。

郑铁生

2004 年 7 月

编写说明

根据教育部关于“教材建设精品化,教材要适应多样化教学需要”的精神,为适应我国检验专业教育发展和改革的需要,培养面向21世纪医学检验专业的新型人才,适应整个社会对临床检验人才的需要,特编写了本套教材。参编单位有卫生部临床检验中心以及多家设有检验系的知名医学院校,如上海第二医科大学、华中科技大学同济医学院、中南大学、江苏大学、天津医科大学、广东医学院、重庆医科大学、青岛大学医学院、温州医学院、中山大学等,参编人员均为长期从事临床一线工作并同时担任教学任务的知名教授。

本套教材在注重体现“三基”(基础理论、基本知识和基本技能)、“五性”(思想性、科学性、先进性、启发性和适用性),保持传统教材优势的基础上,还具有如下特色:①编排设计新颖独到,每章附有学习要点,书后附有中英、英中索引(或对照)。②书中配有大量彩色插图,图文并茂,形象生动。③内容求新、求精,系统全面,并着重突出临床实用性,使教学与临床实际紧密结合。

全套教材共有如下9种,并有部分实验指导、习题集及Powerpoint同期推出。

- | | |
|--------------|------------|
| 1.《临床检验基础》 | 主编:刘成玉 |
| 2.《临床生物化学检验》 | 主编:郑铁生 |
| 3.《临床血液学检验》 | 主编:胡翊群 |
| 4.《临床微生物学检验》 | 主编:洪秀华 |
| 5.《临床免疫学检验》 | 主编:吕世静 |
| 6.《临床寄生虫学检验》 | 主编:吴忠道 |
| 7.《分子诊断学》 | 主编:吕建新 尹一兵 |
| 8.《临床实验室管理》 | 主编:丛玉隆 |
| 9.《临床输血检验》 | 主编:胡丽华 |

目 录

实验一 实验室基本技术	(1)
一、实验用纯水的制备与质量要求	(1)
二、实验用玻璃仪器的清洗、使用和校正	(3)
三、加样器的使用与校正	(7)
四、分光光度计的光源检查和波长校正	(8)
五、试剂与试剂的配制	(9)
实验二 血清蛋白质测定	(12)
一、血清总蛋白测定（双缩脲比色法）	(12)
二、血清白蛋白测定（溴甲酚绿法）	(14)
三、A/G 比值计算	(16)
实验三 糖类测定	(17)
一、血糖测定（葡萄糖氧化酶法）	(17)
二、葡萄糖耐量试验	(19)
三、糖化血红蛋白分离测定（微柱法）	(20)
实验四 血清甘油三酯测定（乙酰丙酮显色法）	(22)
实验五 电解质测定	(25)
一、血清钾、钠、氯、钙离子测定（离子选择性电极法）	(25)
（一）血清钾、钠离子测定	(25)
（二）血清氯离子测定	(28)
（三）血清钙离子测定	(29)
二、血清总钙测定（邻甲酚酞络合酮法）	(31)
实验六 微量元素测定	(34)
一、血清铁及总铁结合力测定（亚铁嗉比色法）	(34)
二、血清锌测定（比色法）	(36)
实验七 肝功能试验	(39)
一、血清总胆红素及直接胆红素的测定（改良 J-G 法）	(39)
二、肝功能损伤实验	(42)
（一）肝损伤动物模型建立	(42)
（二）肝损伤相关酶指标测定	(43)
（三）结果处理及分析	(49)
实验八 自动化分析仪实际 K 值测定	(50)
一、340nm 波长实际 K 值测定	(50)

2 目 录

二、405nm 波长实际 K 值测定	(52)
实验九 NADH 正、负向反应法测定酶类	(54)
一、NADH 正向反应法测定血清 LD (连续监测法)	(54)
二、NADH 负向反应法测定血清 ALT (连续监测法, 单、双试剂比较)	(56)
实验十 色素原底物反应法和定时法测定酶类	(59)
一、色素原底物反应测定法测定 ALP (连续监测法, 单、双试剂比较)	(59)
二、定时法测定血清胆碱酯酶 (羟胺三氯化铁比色法)	(62)
实验十一 代谢物酶试剂法测定	(65)
一、终点法测定血清 HDL 亚类 (PEG 分离 - Trinder 反应法)	(65)
二、速率法测定血清尿素 (单、双试剂测定比较)	(67)
(一) 单试剂法	(68)
(二) 双试剂法	(68)
三、速率法测定血清肌酐 (肌酐胺基水解酶法)	(70)
实验十二 免疫学测定	(73)
一、血清载脂蛋白 A1 和载脂蛋白 B 测定 (免疫透射比浊法)	(73)
二、快速检测肌钙蛋白 I (固相层析免疫分析法)	(74)
实验十三 琼脂糖 LD 同工酶电泳	(77)
实验十四 层析分析技术	(82)
一、血清苯妥英测定 (HPLC 法)	(82)
二、血清 γ -氨基丁酸测定 (HPLC 法)	(84)
实验十五 临床生化检验方法学评价试验	(88)
一、批内重复性试验	(88)
二、回收试验	(90)
三、干扰试验	(92)
四、方法比较试验	(94)
五、检测能力测定	(97)
附 血糖测定比较方法 (HK 法)	(99)
实验十六 临床生化检验试剂盒性能评价试验	(101)
一、线性范围试验	(101)
二、时间反应曲线试验	(104)
(一) 终点法时间反应曲线试验	(104)
(二) 连续监测法时间反应曲线试验	(105)
三、稳定性试验	(106)
实验十七 室间质量评价实验	(109)
一、变异指数评分实验	(109)
二、能力比对分析	(110)
实验十八 临床生化检验实验设计	(113)
一、实验设计的基本思想和原理	(113)

(一) 设计思想	(113)
(二) 设计原理	(113)
(三) 实验的两个条件	(114)
二、实验设计的基本原则	(114)
(一) 对照的原则	(114)
(二) 随机的原则	(115)
(三) 重复的原则	(115)
三、实验设计方法	(115)
(一) 单组比较设计	(116)
(二) 组间比较设计	(116)
(三) 配伍设计	(116)
(四) 正交设计	(118)
(五) 析因设计	(119)
四、临床生化检验方法学实验设计	(120)
(一) 方法学实验设计的原理确定	(120)
(二) 方法学实验设计的条件选择	(120)
(三) 方法建立后的临床观察	(122)
参考文献	(125)
附录 1 实验教学课时计划 (供参考)	(126)
附录 2 临床生化检验实验室常用器材使用方法	(127)
英汉缩写对照	(134)

实验一 实验室基本技术

随着临床生物化学检验理论和实验技术的发展，实验室工作者不仅要掌握本专业的相关理论和技术，而且要熟悉影响实验结果准确性的各种因素，掌握实验用纯水的制备方法与质量要求、玻璃仪器的清洗与使用、常用量器的校正与正确使用、常用仪器的检定与正确使用等实验室基本知识。

一、实验用纯水的制备与质量要求

【目的与要求】

掌握实验用纯水的制备原理、方法和用途；熟悉实验用纯水的分级和检查方法。

【原理】

水是常用的溶剂，天然水中含有许多杂质。天然水经简单的物理、化学方法处理，除去悬浮物质和部分无机盐即得到自来水。天然水和自来水经蒸馏、电渗析等处理，除去杂质，即成实验用纯水。实验用纯水并非不含任何杂质，其质量高低直接影响到所配试剂的质量，影响实验结果的准确度和精密度。

【纯水的制备方法】

1. **蒸馏法** 将自来水（或天然水）在蒸馏器中加热汽化，然后冷凝水蒸汽即得蒸馏水。蒸馏水是实验室中常用的较为纯净的洗涤剂 and 溶剂。蒸馏法制水耗能大，冷却水消耗亦多，同时需注意管道的清洁。蒸馏水在 25℃ 时其电阻率为 $1 \times 10^5 \Omega/\text{cm}$ 左右。

2. **离子交换法** 它是将自来水通过离子交换柱（内装阴、阳离子交换树脂）除去水中杂质离子的方法。

离子交换树脂是一种人工合成的带有交换活性基团的多孔网状结构的高分子化合物，在网状结构的骨架上，含有许多可与溶液中的离子起交换作用的“活性基团”。根据树脂可交换活性基团的不同，离子交换树脂被分为阳离子交换树脂和阴离子交换树脂两大类。当水通过阳离子交换树脂时，水中的 Na^+ 、 Ca^{2+} 等阳离子与树脂中的活性基团 $-\text{H}^+$ 发生交换；当水通过阴离子交换树脂时，水中的 Cl^- 、 SO_4^{2-} 等阴离子与树脂中的活性基团 $-\text{OH}^-$ 发生交换。所以离子交换法制备纯水时的过程是水中的杂质离子先通过扩散进入树脂颗粒内部，再与树脂的活性基团中的 H^+ 和 OH^- 发生交换的过程。

由于树脂是多孔网状结构，具有很强的吸附能力，可以同时除去电中性杂质，又因交换柱本身是一个很好的过滤器，所以颗粒杂质可以一同除去。本法得到的去离子水纯度较

2 实验一 实验室基本技术

高, 25℃时电阻率达 $5 \times 10^6 \Omega/\text{cm}$ 以上。

3. 电渗透法 电渗透法是将自来水通过电渗析器, 除去水中阴、阳离子, 实现净化的方法。电渗析器主要由离子交换膜、隔板、电极等组成。离子交换膜是整个电渗析器的关键部分, 是由具有离子交换性能的高分子材料制成的薄膜。阳离子交换膜(阳膜)只允许阳离子通过, 阴离子交换膜(阴膜)只允许阴离子通过。电渗析水的电阻率一般在 $10^4 \sim 10^5 \Omega/\text{cm}$ 。

4. 炭吸附法 炭吸附法是采用装有活性炭柱处理自来水, 除去有机物的方法。该法可作为各种制备纯水配套的一种措施。

5. 超滤膜法 超滤膜法是采用超滤膜除去供水中的悬浮物的方法, 所得的水需进一步纯化。

6. 混合纯化系统 目前多采用本法制备纯水, 其基本装置系用滤膜预处理系统的供水、结合炭吸附和离子交换处理, 最后以孔径 $0.45 \mu\text{m}$ 的滤膜除去微生物。

【水的纯度检查】

水的纯度检查首先用电导率仪测定其电导率或电阻率, 然后用特定试剂检测水中可溶性硅、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 等成分的含量。

1. 电阻率 用电导仪或兆欧表测定。用电导仪测得电导率, 与电阻率可进行换算。电导是电阻的倒数, 单位为西门子(S), 即 $1\text{S} = 1\Omega^{-1}$; 每厘米长的电导为电导率(S/cm)。电导仪表头读数单位为 $\mu\text{S}/\text{cm}$, $1\mu\text{S}/\text{cm} = 1 \times 10^{-6}\text{S}/\text{cm}$, 即当电导仪读数为1时, 其电阻率为 $1 \times 10^6 \Omega (1\text{M}\Omega) / \text{cm}$ 。

2. 可溶性硅定性检验 方法如下: 纯水10ml加入1%的钼酸溶液15滴, 草酸硫酸混合液(4%草酸1份加4mol/L H_2SO_4 3份)8滴, 摇匀, 置室温10min, 滴加1%硫酸亚铁溶液5滴摇匀, 以不显蓝色为合格($\leq 0.05\text{mg}/\text{L}$)。

【实验用纯水标准】

美国病理学会(CAP)于1976年提出了实验用水的三级标准, 见表1-1。美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)于1985年提出了新标准, 见表1-2。

表1-1 CAP生化试剂及生化检验用水标准

特性指标	I级	II级	III级
pH	6.0~7.0	6.0~7.0	6.0~7.0
电导率($\mu\text{S}/\text{cm}$, 25℃)	<0.1	<2.0	<5.0
电阻率($\text{M}\Omega/\text{cm}$, 25℃)	>10	>0.5	>0.2
硅酸盐(mg/L)	<0.01	<0.01	<0.01
重金属(mg/L)	<0.01	<0.01	<0.01

表1-2 美国NCCLS等级纯水的规定

级 别	I级	II级	III级
微生物含量(最大每毫升菌落)	10	10^3	未定
pH	未定	未定	5.0~8.0

续表

级 别	I 级	II 级	III 级
电阻率 (M Ω /cm, 25 $^{\circ}$ C)	10	2.0	1.0
硅 (mgSiO ₂ /L, 最大量)	0.05	0.1	1.0
微粒	0.2 μ m 微孔膜过滤	未定	未定
有机物质	活性炭过滤	未定	未定

【实验用纯水的使用与用途】

临床实验室一般选用 II 级水, 特殊实验如酶活性测定、电解质分析等应选用 I 级水, III 级水用作仪器、器皿的自来水清洁后冲洗。实验用纯水用途见表 1-3。

表 1-3 NCCLS、CAP 规定的等级纯水的用途

级 别	用 途
NCCLS	I 原子吸收、火焰光度、电解质、荧光、酶、高灵敏度层析、电泳、参比液、缓冲液
	II 一般实验检验, 玻璃器皿冲洗
	III 玻璃器皿洗涤, 要求不高的定性试验
CAP	I 原子吸收、火焰光度、酶、血气及 pH、电解质、无机元素、缓冲液、参比液
	II 一般实验室检验, 血液学、血清、微生物检验等
	III 普通定性测定、尿液检验、组织切片、寄生虫、器皿洗涤

在实际工作中, 还应重视纯水的贮存、运输和使用过程, 防止使纯水等级下降。一般选用聚乙烯或聚丙烯桶(瓶)贮存, 贮存时间不宜太长。使用时应避免一切可能的污染, 切勿用手接触纯水或容器内壁。

【思考题】

1. 实验用纯水常用的制备方法有哪些? 各有何优缺点?
2. 如何根据实验项目来合理选择不同级别的实验用水?

二、实验用玻璃仪器的清洗、使用和校正

【目的与要求】

掌握普通玻璃仪器的正确清洗和使用方法; 熟悉吸量管、容量瓶的校正方法; 了解清洁液的配制和使用。

【实验用玻璃仪器的分类】

实验用玻璃仪器分为容器类和量器类。容器类玻璃仪器为常温或加热条件下, 物质的反应容器和贮存容器, 包括试管、烧杯、锥形瓶、滴瓶、漏斗等。量器类玻璃仪器用于计量溶液体积, 不可用作实验容器, 包括量筒、移液管、吸量管、容量瓶、滴定管等。

【普通玻璃仪器的使用】

1. 量筒 量筒是实验中常用的度量液体的量器，用于不太精密的液体计量，用容量表示。根据需要选用各种不同容量规格的量筒。例如量取 8.0ml 液体时，应选用 10ml 量筒（测量误差为 ± 0.1 ml）；如果选用 100ml 量筒量取 8.0ml 液体体积，则至少有 ± 1 ml 的误差。

量筒不能用作反应容器，不能装热的液体，更不可对其加热。

读取量筒的刻度值，一定要使视线与量筒内液面（半月形弯曲面）的最低点处于同一水平线上，否则会增大体积的测量误差。

2. 容量瓶 容量瓶是一种细颈梨形的平底瓶，瓶颈上有环形标线，表示在所指温度下（一般为 20℃）液体充满至标线时的容积。常用的容量瓶有 25ml、50ml、100ml、250ml、500ml、1 000ml 等规格。

容量瓶主要是用于把精密称量的物质配制成准确浓度的溶液或是将准确容积及浓度的浓溶液稀释成准确浓度及容积的稀溶液。

容量瓶与瓶塞要配套使用，使用前应检查是否漏水。工作中不要一次性地将溶液加至刻度。不宜用容量瓶长期存放溶液。另外，容量瓶不能在烘箱中烘烤，不许以任何形式对其加热。

3. 移液管、吸量管 移液管和吸量管是用于准确量取一定体积液体的量出式的玻璃量器。移液管的中间有一膨大的球部，球部上、下均为细窄的管颈，上端管颈刻有一条标线，用于移取固定量的溶液。吸量管是具有分刻度的玻璃管，亦称刻度吸量管，用于移取非固定量的溶液。

用移液管（吸量管）移取溶液前，应保证其干燥清洁，并用欲移取的溶液涮洗 2~3 次，以确保所移取溶液的浓度不变。移取溶液时，用右手的大拇指和中指拿住管上方，下端插入溶液中 1~2cm，左手用洗耳球慢慢将溶液吸入管内。当液面升高到刻度以上时，立即用右手的示（食）指按住管口，将移液管（吸量管）下口提出液面，管的末端靠在盛溶液器皿的内壁上，略为放松示指，使液面平稳下降，直到溶液的弯月面与标线相切时，立即用示指压紧管口，使液体不再流出。取出移液管（吸量管），以干净滤纸片擦去移液管（吸量管）末端外部的溶液，然后插入承接溶液的器皿中，使管的末端靠在器皿内壁上。此时移液管（吸量管）应垂直，承接的器皿倾斜，松开示指，让管内溶液自然地沿器壁流下，加入所需量溶液，等待 10~15s 后，拿出移液管（吸量管）。管口上未标“吹”字，残留在移液管（吸量管）末端的溶液，不可用外力使其流出；管口上刻有“吹”字，使用时末端的溶液必须吹出。

4. 试管 口径一般为 10~15mm，常用规格为 10mm×75mm、13mm×100mm、15mm×150mm 等，用玻璃或塑料制成。试管规格和质量的选择按试验而定。临床实验室宜使用化学清洁、一次性试管，以保证试验的质量。

5. 烧杯 用于盛液、加热、溶解和配试剂，常与容量瓶配合使用。使用时切勿用手接触其内壁，溶解或混匀试剂时可用玻璃棒搅拌助溶或助匀。烧杯内试剂倾入容量瓶时，注意多次冲洗烧杯，一并倾入容量瓶内。

6. 漏斗 漏斗都呈 60° 角,下部直管有长有短。在定量分析中,漏斗垫滤纸过滤时,滤纸对角折叠两次后放入漏斗内,纸的边缘不能超出漏斗上缘,滤纸的大小要与欲过滤液量相配,过大会使滤液收量减少、所含成分浓缩从而影响试验的结果。

【普通玻璃仪器的清洗】

实验中所使用的玻璃仪器清洁与否,直接影响实验结果。如果仪器不清洁或被污染将会造成较大的实验误差,甚至会出现相反的实验结果。因此,玻璃仪器的洗涤清洁是一项非常重要的工作。

1. 初用玻璃仪器的清洗 新的玻璃仪器表面常附着有游离的碱性物质,可先用肥皂水(或去污粉)洗刷再用自来水洗净,然后浸泡在 $1\% \sim 2\%$ 盐酸溶液中过夜(不少于4h),再用自来水冲洗,最后用蒸馏水冲洗 $2 \sim 3$ 次,在 $100 \sim 130^\circ\text{C}$ 烘箱内烤干备用。

2. 使用过的玻璃仪器的清洗

(1) 容器类玻璃仪器 如试管、烧杯、锥形瓶等。先用自来水洗刷至无污物,再选用大小合适的毛刷沾取去污粉(掺入肥皂粉)刷洗或浸入肥皂水内。将器皿内外(特别是内壁)细心刷洗,用自来水冲洗干净后,再用蒸馏水冲洗 $2 \sim 3$ 次,烤干或倒置在清洁处,干后备用。

(2) 量器类玻璃仪器 如吸量管、滴定管、容量瓶等。使用后应立即浸泡于凉水中,勿使物质干涸;然后用流水冲洗,除去附着的试剂、蛋白质等物质。晾干后浸泡在铬酸洗液中 $4 \sim 6\text{h}$ (或过夜),再用自来水充分冲洗,最后用蒸馏水冲洗 $2 \sim 4$ 次,晾干备用。

(3) 其他 具有传染性标本的容器,如病毒、传染病患者的血清等沾污过的容器,应浸泡在杀菌剂(5% 煤酚皂溶液)中过夜,进行消毒后再清洗。

【清洁液的配制和使用】

清洁液的配方有数种(表1-4),可按需要选用。

表1-4 清洁液的配方

配 方	1	2	3
重铬酸钾(g)	80	50	200
粗浓硫酸(ml)	100	900	500
水(ml)	1000	100	500

配制时,先将重铬酸钾溶于水,加热助溶,待冷。然后将粗浓硫酸缓慢加入上液中,边加边搅拌,切勿过快,以免产生高热使容器破裂。不要把重铬酸钾溶液向硫酸中倾倒。配制时,根据用量选用烧杯或陶瓷缸作容器。

清洁液的腐蚀性强,用时注意勿溅在皮肤和衣服上。它的吸水性较强,故应加盖贮存。如果清洁液的颜色逐渐变为绿色,表示效力降低,再加入适量的重铬酸钾和浓硫酸,还可继续使用;如已变成黑色,则不能再用。

清洁液适用于事先清洗过但未能洗净的玻璃器皿,将水甩干后浸泡。未清洗或未消毒

的器皿不要直接浸泡于清洁液中，否则会使清洁液迅速失效，减低洗涤能力。

【常用玻璃量器的校正】

在校正量器之前，必须先熟悉玻璃容量仪器的正确使用方法，校正时的使用方法必须和实际工作中的使用方法一致。

校正量器的方法是从量器在某温度时所容纳的水或水银重量，来推算其体积。由于量器的容积随温度而变化，所以必须确定温度，量器才有其意义。温度的选择以接近实验室全年平均温度为佳，一般采用 20℃。例如，20℃ 1000ml 的容量瓶，是指在 20℃ 时，它的容积为 1000ml；如果温度超过 20℃，显然它的容积大于 1000ml；低于 20℃，它的容积就不足 1000ml。因此，校正时必须考虑三个因素：①温度对容量仪器的影响；②温度对水（或水银）密度的影响；③空气浮力对所称水（或水银）重量的影响。其中影响最大的是温度对水密度的影响，校正时的温度应尽可能选择靠近 20℃。

进行容量校正时，先称量出量器某温度下某一容量标线内容纳或放出的水重，然后根据下式将该温度下水的重量换算为 20℃ 时的体积。

$$V_{20} = W_t / r$$

式中 W_t 为某一温度下所称得的水重

r 表示在 20℃ 时充满容量为 1L 的玻璃量器的水，在空气中不同温度下用黄铜砝码所称得的重量（表 1-5）

表 1-5 水在 10~40℃ 间的 r 值

t (°C)	r (g)	t (°C)	r (g)
10	998.14	26	995.91
11	998.34	27	995.66
12	998.26	28	995.41
13	998.17	29	995.51
14	998.06	30	884.88
15	997.94	31	994.60
16	997.81	32	994.31
17	997.67	33	994.01
18	997.51	34	993.71
19	997.35	35	993.40
20	997.15	36	993.07
21	996.99	37	992.74
22	996.79	38	992.41
23	996.59	39	992.06
24	996.37	40	991.71
25	996.14		

例如：容器为 1L 的量瓶在 21℃ 校正时，称得水重为 998.06g，从表 1-5 查得 21℃ 时

r 值为 996.99g, 则该量瓶在 20℃ 时的真实容量为

$$V_{20} = \frac{W_t}{r} = \frac{998.06}{996.99} \times 1000 = 1001.07 \text{ (ml)}$$

校正值为 $1001.07 - 1000 = +1.07\text{ml}$

这种校正方法考虑了影响玻璃量器容量的三个因素, 校正结果精密准确, 适用于准确度较高的分析工作。

1. 吸量管的校正 校正吸量管时应事先洗净、干燥。一般 0.2ml 以上吸量管均可用水称量法校正。取 25ml 或 50ml 具塞锥形瓶一只, 于分析天平上精确称重。加水后的重量减去原瓶重即得 W_t , 代入公式求得 V_{20} 值。如果在允许误差范围内即为合格, 超出允许误差范围者则弃去不用或重新刻度。

2. 容量瓶的校正 容量瓶为量入式量器。校正时将已清洗干燥的容量瓶置天平上称重, 然后向容量瓶中注入蒸馏水至刻度, 用滤纸吸去瓶颈内壁上沾附的水珠再称量, 此重量减去空瓶重即为 W_t , 代入公式即可求出 V_{20} 。

【思考题】

1. 玻璃仪器的洗涤清洁对实验结果有何影响? 如何根据实际情况进行玻璃仪器的洗涤清洁?
2. 吸量管校正时应考虑哪些影响因素? 如何进行校正?

三、加样器的使用与校正

【目的与要求】

掌握加样器的正确使用方法; 熟悉加样器的校正过程。

【加样器的使用】

加样器下段为可装卸可更换的吸液嘴, 用加样器上方的“推进按钮”定量采取液体。它有固定式和可调式两种。

在使用加样器时, 如为可调式则先将容量调至所需容量上, 在下端装上吸液嘴, 右手握住加样器, 用拇指把“推进按钮”向下按到第一静止点(第一档位), 将吸液嘴尖头浸入样品或溶液中 1~3mm 深度, 再缓缓放开“推进按钮”, 使返回原处, 停留 1~2s 后, 将吸液嘴离开标本或溶液, 拭干吸液嘴外部残液。然后把吸液嘴尖头轻轻地接触容器内壁, 将“推进按钮”向下按到第一静止点(第一档位), 停留 1~2s, 再将“推进按钮”向下按到第二静止点(第二档位), 排出尖头中的残液。

【注意事项】

1. 加样器是精密量器, 不允许将加样器直接与液体接触, 以免液体或杂质吸入管内, 导致阻塞。吸液嘴与吸液杆的连接必须密合。

8 实验一 实验室基本技术

2. 吸液嘴在使用前须经湿化,即在正式吸液前将所吸溶液吸放2~3次。湿化前后实际容量和排出量均有显著差异。另外,有些新购的吸液嘴是经硅化过的,这有利于减少液体的吸附,但有实验表明,经加样一浸泡一消毒一冲洗一烘干备用连续使用1周后,其泄出量即显著降低,有条件应予以重新硅化,对外观有明显“花纹”或透明度降低者应弃掉不用。

3. 当加样器中有溶液时,不得倒放,必须垂直放置,否则久后失准。

【加样器的校正】

目前,许多实验室都已经使用国产或进口的加样器,尽管进口加样器在准确度、精密度、性能和使用寿命等方面优于国产加样器,但在这类量器的使用中,每年至少也应检验校正2~3次,校正方法如下:校正时要求室温20℃,按正规操作吸取蒸馏水,并精确称取蒸馏水重量,计算出容积及校正值。如果相对百分误差大于 $\pm 2\%$ 时,应进行调整。调整后,必须再进行检测,直至加样器能正确给出调整的容积。

【思考题】

如何正确使用加样器?使用时应注意哪些方面?

四、分光光度计的光源检查和波长校正

【目的与要求】

掌握分光光度计的光源检查和波长校正方法。

【光源检查】

光源检查即波长初步检查:不论何种分光光度计在校正之前都要先检查光源。检查方法是将波长选定在580nm处,将狭缝开到最大(或打开光门),打开钨灯,在比色皿内插一片白纸片。当光源正常时,应看到均匀的黄色光斑,边缘清晰整齐;如果明暗不均,形状异常,则应调节光源灯的位置。调节方法是放松灯座固定螺丝,一边小心地向各个方向移动灯的位置,一边观察光斑变化,直至出现明亮均匀的黄色光斑为止。如系751型或高级分光光度计,这种调试工作还因灯泡固定机构复杂而应更细致,调好后要固定好。每次换新灯泡时都需要重新调整。

【波长校正】

分光光度计的波长精度随不同类型而异,且受温度影响,故常常需要对波长进行校正,即检查波长刻度与实际波长之差是否保持在一定的范围内,否则将使测定的误差增大。波长校正的方法很多,常用的有:①用含某些特定元素的玻璃来校正。最常用的有锗钨玻璃、钽玻璃等。校正时将这种玻璃放在比色皿座上,以空气调零,测定几个吸收峰值的波长是否相符即可。最常用的为573nm与586nm的双峰和741nm、808nm等处,如与刻度不符,需要时应调节准直镜角度进行校正。一般可见分光光度计波长精度只有 $\pm 3 \sim \pm 4\text{nm}$,在此范围内一般可不调