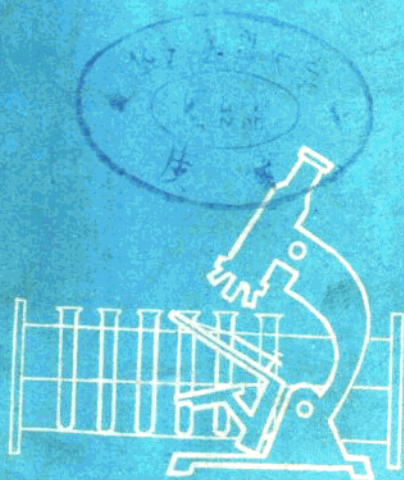


卫生检验技术手册

weisheng jianyan
JISHUSHOUCE



济南军区后勤部军事医学研究所

卫生检验技术手册

编写：胡仁为、王怀江

审校：李金刚、苗仲水

济南军区后勤部军事医学研究所

前 言

近几年来，我军认真贯彻执行“预防为主”的卫生工作方针和《全军除害灭病规划》，部队的环境质量和生活质量都有了明显的改善，指战员健康水平进一步提高。在预防医学向着宏观和微观发展的新形势下，如何以改革创新的精神，开拓卫生防疫工作的新局面，是摆在我们面前的一个重大任务。向宏观发展，工作范围扩大了，不但要预防传染病，还要预防常见病。向微观发展，则是要认识事物的本质，从定性到定量。微观发展的重要手段，就是卫生检验。靠着卫生检验来评价环境质量和生活质量。实践中我们体会到，在除害灭病工作中，只有建立建全监测体系，开展卫生检验，才能有的放矢地实施指导，将除害灭病工作纳入科学轨道。巩固发展除害灭病成果。

为适应爱国卫生运动的深入发展，满足部队基层开展卫生检验工作的需要，我们编写了这本《卫生检验技术手册》。由于编者水平有限，错误不当之处在所难免，恳请读者提出宝贵意见。

编 者

一九八五年十一月

目 录

第一章 概述	(1)
第一节 卫生检验的意义与内容	(1)
第二节 卫生检验的分析方法	(1)
一、 感官检查法	(1)
二、物理检查法	(1)
三、 化学分析法	(2)
四、 物理化学分析法	(3)
第三节 实验室运算基础及试剂配制方法	(38)
一、 百分浓度	(38)
二、 试剂配制	(40)
第二章 实验室质量控制和数据处理	(75)
第一节 质量控制的意义及影响因素	(75)
第二节 实验数据处理方法	(76)
一、 基本概念	(76)
二、分析结果的表示及数据处理	(81)
三、 分析数据的核对和评定	(82)
第三节 实验室质量控制	(84)
一、 实验室质量保证	(84)
二、 测试方法的选定	(86)
第四节 质量评价	(87)
一、 实验室内部分析质量控制	(87)
二、 实验室间分析质量控制	(108)
第三章 水质检验	(116)
第一节 水样的采集与保存	(116)
一、 天然水与生活饮用水水样的采集	(116)
二、水样的保存	(117)
第二节 水质理化分析	(118)
一、 温度	(118)
二、臭与味	(118)
三、 色度	(119)
四、 浑浊度	(121)
五、 PH值	(123)
六、 总硬度	(127)
七、 硫酸盐	(129)
八、 铁	(133)
九、 锌	(136)
十、 铜	(138)
十一、 锰	(138)
十二、 铝	(140)

十三、挥发酚类·····(143)	二十八、溶解性总固体·····(193)
十四、阴离子合成洗涤剂·····(147)	二十九、氯仿与四氯化碳 ·····(194)
十五、氟化物·····(149)	三十、苯并(a)芘·····(195)
十六、砷·····(154)	三十一、滴滴涕·····(198)
十七、氰化物·····(158)	三十二、六六六·····(199)
十八、硒·····(163)	三十三、漂白粉(或漂白粉精)有效 氯含量测定·····(199)
十九、汞·····(167)	三十四、余氯的测定·····(203)
二十、镉·····(171)	三十五、漂白粉加入量(加氯 量)的测定·····(205)
二十一、铬·····(174)	三十六、碘化物·····(206)
二十二、铅·····(176)	三十七、总 α 放射性·····(208)
二十三、氨氮·····(179)	三十八、总 β 放射性·····(211)
二十四、亚硝酸盐氮·····(181)	
二十五、硝酸盐氮·····(184)	
二十六、耗氧量·····(186)	
二十七、氯化物·····(188)	
第三节 水中卫生微生物学检验·····(213)	
一、细菌总数·····(213)	二、总大肠菌群·····(215)
第四章 食品卫生检验·····(224)	
第一节 样品的采集、送检、检验、报告·····(224)	
一、样品的采集·····(224)	三、检验·····(226)
二、送检·····(224)	四、报告·····(227)
第二节 食品样品的处理方法·····(227)	
一、挥发法·····(227)	五、离子交换法·····(228)
二、沉淀法·····(227)	六、透析法·····(229)
三、蒸馏法·····(228)	七、提取法·····(230)
四、吸附法·····(228)	八、有机质破坏法·····(231)
第三节 常见食品的感官及理化分析·····(233)	
一、猪肉的理化检验·····(233)	五、罐头食品检验·····(248)
二、鱼的理化检验·····(237)	六、食用油脂的检验·····(252)
三、鲜蛋的理化检验·····(237)	七、调味品的检验·····(255)
四、乳与乳制品的检验·····(237)	
第四节 食品主要成份及毒物分析·····(260)	
一、水分·····(260)	五、脂肪·····(266)
二、灰分·····(262)	六、还原糖·····(268)
三、比重·····(263)	七、还原型抗坏血酸测定·····(269)
四、蛋白质(微量克氏定氮法) ·····(263)	八、亚硝酸盐(重氮化偶合比色法) ·····(271)

九、 甲醇(品红亚硫酸比色法).....(272)	十四、 磷化锌.....(280)
十、 游离矿酸.....(273)	十五、 生物碱类.....(281)
十一、 杂醇油(对二甲胺基苯 甲醛比色法).....(274)	十六、 巴比妥酸类安眠药.....(284)
十二、 氰化物.....(275)	十七、 六六六、滴滴涕.....(287)
十三、 砷与汞.....(278)	十八、 有机磷农药.....(297)
	十九、 黄曲霉毒素B ₁ (薄层层析 法).....(297)
第五节 食品中卫生微生物学检验.....(302)	
一、 菌落总数测定.....(302)	六、 蛋与蛋制品卫生微生物学检 验.....(325)
二、 大肠菌群测定.....(304)	七、 水产食品卫生微生物学检验(327)
三、 沙门氏菌检验.....(308)	八、 清凉饮料卫生微生物学检验(328)
四、 肉与肉制品卫生微生物 学检验.....(323)	九、 调味品卫生微生物学检验.....(329)
五、 乳与乳制品卫生微生物 学检验.....(324)	三、 按掀法.....(332)
第六节 餐具卫生微生物学检验.....(330)	
一、 棉试法.....(331)	
二、 滤纸法.....(332)	
第五章 空气卫生检验及照度、噪声、微波的测量.....(333)	
第一节 空气的物理性状检查.....(333)	
一、 气温.....(333)	四、 气压.....(349)
二、 气湿.....(335)	五、 辐射热.....(351)
三、 气流.....(343)	
第二节 空气样品的采集.....(353)	
一、 采样的基本原则.....(353)	四、 最大采气量的意义与计 算.....(363)
二、 常用的采样方法.....(354)	五、 采样注意事项.....(364)
三、 空气中有毒物质浓度表 示方法与换算.....(362)	
第三节 空气中有毒物质的测定.....(365)	
一、 铅.....(365)	六、 硫化氢.....(384)
二、 汞.....(368)	七、 一氧化碳.....(387)
三、 苯、甲苯、二甲苯.....(372)	八、 氧化氮.....(388)
四、 三硝基甲苯.....(379)	九、 室内空气的卫生细菌检 验.....(392)
五、 二氧化硫.....(380)	
第四节 空气中粉尘的测定.....(394)	
一、 粉尘浓度的测定(滤膜 重量法).....(394)	二、 粉尘分散度的测定(滤膜法)(395)

三、 粉尘中的游离二氧化硅 的测定(焦磷酸重量法)(396)	四、 灰尘自然沉降量(重量 法).....(398)
第五节 照度测定.....(401)	五、 飘尘(重量法).....(399)
一、 光的单位.....(401)	二、 照度的计算与测定.....(401)
第六节 噪声测量.....(403)	
一、 测量仪器.....(403)	三、 数据记录.....(405)
二、 测量方法.....(404)	四、 数据处理.....(405)
第七节 微波测量.....(406)	
第六章 土壤检验(409)	
第一节 土壤样品的采集、制备及结果表示.....(409)	
一、 土壤采样点的选择.....(409)	三、 土壤分析样品的制备.....(412)
二、 土壤样品的采集.....(410)	四、 土壤分析检验结果的表示.....(413)
第二节 土壤的机械物理检查.....(413)	
一、 颗粒大小.....(413)	四、 最大容水量.....(414)
二、 气孔总容积.....(413)	五、 透水性.....(415)
三、 含水量.....(414)	六、 毛细管作用.....(415)
第三节 土壤的化学检验.....(415)	
一、 灼烧减重.....(415)	五、 土壤水浸液的制备及检验(419)
二、 有机碳.....(416)	六、 卫生数的计算.....(420)
三、 总氮量.....(417)	七、 土壤铵态氮的测定.....(421)
四、 蛋白性氮.....(419)	
第四节 土壤卫生细菌学检验.....(424)	
一、 细菌总数.....(425)	三、 产气荚膜杆菌(韦氏杆菌).....(431)
二、 粪便大肠菌.....(427)	
第五节 土壤卫生蠕虫学检验(土壤中蛔虫卵的检验方法).....(432)	
第七章 粪便无害化卫生检验(438)	
第一节 粪便无害化卫生标准.....(438)	
一、 高温堆肥卫生标准.....(438)	二、 沼气发酵卫生标准.....(438)
第二节 堆肥、粪稀中粪大肠菌群检验.....(439)	
一、 样品采集及混悬液制 备.....(439)	二、 接种.....(440)
第三节 堆肥、粪稀中蠕虫卵检查.....(441)	
一、 堆肥蛔虫卵检查.....(441)	三、 粪稀钩虫卵检查.....(448)
二、 粪稀蛔虫卵检查.....(446)	四、 粪稀中血吸虫卵检查.....(449)

第八章 医院污水、污泥检验.....(452)

- | | |
|-----------------------------|-------------------------|
| 一、 污水中总余氯的测定.....(452) | 菌属的检验.....(459) |
| 二、 臭氧的测量.....(453) | 五、 污泥粪大肠菌值的检验.....(461) |
| 三、 污水总大肠菌群的检
验.....(455) | 六、 污泥蛔虫卵的检验.....(462) |
| 四、 沙门氏菌属和志贺氏 | 七、 结核杆菌的检验.....(463) |
| | 八、 培养基的制备.....(465) |

主要参考资料.....(470)

附录.....(471)

- | | |
|---------------------------------|---|
| 一、 实验室规则和须知.....(471) | 十、 相当于氧化亚铜重量的
葡萄糖、果糖、乳糖、
转化糖重量表.....(494) |
| 二、 化验室的临时急救措
施.....(471) | 十一、 几种试剂的配制与标定.....(501) |
| 三、 卫生实验室所需仪器
设备表.....(473) | 十二、 常用酸等的当量浓度表
.....(502) |
| 四、 卫生实验室所需试剂
表.....(481) | 十三、 配制各种浓度溶液时应
取原物质的量.....(503) |
| 五、 一般化学试剂的分级.....(486) | 十四、 度、量、衡单位名称表.....(504) |
| 六、 化学试剂的保管要求.....(487) | 十五、 单位换算表.....(505) |
| 七、 国际原子量表(1969).....(488) | 十六、 卫生统计部分常用指标.....(506) |
| 八、 主要试剂分子量及当
量表.....(489) | 十七、 常用统计符号.....(508) |
| 九、 毫克/升与毫克当量/升
互换表.....(493) | 十八、 希腊字母表.....(512) |
| | 十九、 缩写字表.....(513) |

第一章 概 述

第一节 卫生检验的意义与内容

卫生检验是卫生学的主要研究方法之一，是卫生事业中不可缺少的一个组成部分。通过卫生检验可阐明各种影响人体健康的外界因素的性质和程度，为制定各种卫生标准和采取各种措施提供科学依据。同时，还可用检验结果来评价各项措施的效果。因此，卫生检验是开展卫生工作和环境保护的一项极为重要的方法。

卫生检验技术与卫生学有极密切的关系，同时与化学、物理学、微生物学及寄生虫学等基础学科也有着密切的关系。因此，检验工作者除了应当具备这些基础学科的基本理论和技术外，还应了解卫生检验的结果在卫生学和环境保护上的意义，从而使卫生检验与卫生学理论及卫生工作紧密结合起来。

《卫生检验技术手册》侧重于物理学和化学的检验及部分微生物学和寄生虫学检验。它的内容包括实验室的质量控制；生活饮用水物理的、化学的、微生物学的检验；食品的卫生检验和食品中主要营养成分及有害毒物分析；空气中有害毒物、粉尘和气象条件的测定；土壤的部分理化项目，寄生虫卵及卫生微生物学的检验；粪便无害化效果检验；医院污水处理效果检验。并汇集了实验室常用的部分附录。

卫生检验工作是一项复杂而又细致的工作，检验过程中的每一步骤都会影响结果的准确性。因此，作为一个卫生检验工作者，必须热爱自己的专业，认真掌握有关的科学技术。以严肃的态度，严格的要求和严密的方法努力完成各项卫生检验任务，为我军的现代化建设贡献力量。

第二节 卫生检验的分析方法

在卫生检验工作中，由于测定的目的不同与被检物质的性质各异，所用的方法也较多，但其常用的方法有：感官检查法、物理检查法、化学分析法、物理化学分析法（如原子吸收分光光度法、电位分析法、层析法和气相色谱法等）。

一、感官检查法

本法主要依靠人的感觉器官，即视觉、嗅觉、味觉等来鉴定被检物质的外观、颜色、气味和味道等。感官检查法在对某些食品进行卫生评价时具有重要意义。

二、物理检查法

本法是用于测定某些被检物质的物理性质如温度、比重、熔点等。此外，根据某些

物质的化学性质，用仪器来进行检查也属于物理方法，如用折光仪测定物质的折光率，用旋光仪测定物质的旋光度等。借此判定物质的纯度和浓度等。

三、化学分析法

本法是当前卫生检验工作中应用最广泛的方法。根据检查目的和被检物质的特性，可进行定性或定量分析。

(一) 定性分析 定性分析的目的，在于检查某一物质是否存在。它是根据被检物质的化学性质，经适当分离后，与一定试剂产生化学反应，根据反应所呈现的特殊颜色或特定性状的沉淀来判定其存在与否。

(二) 定量分析 定量分析的目的，在于检查某一物质的含量。可供定量分析的方法比较多，除利用重量和容量分析外，近年来，定量分析的方法正向着快速、准确、微量的仪器分析方向发展，如光学分析、电化学分析、层析分析等。

1. 重量分析 本法是将被测成分与样品中的其它成分分离，然后称定该成分的重量，计算出被测物质的含量。它是化学分析中最基本、最直接的定量方法。尽管操作麻烦、费时，但准确度较高，常作为检验其它方法的基础方法。

在卫生检验中，目前仍有一部分项目采用重量法，如水分、油脂含量、总固形物、溶解固形物、灰分、游离二氧化硅的测定等都是重量法。由于红外线灯、热天平近代仪器的使用，使重量分析操作正向着快速和自动分析的方向发展。

根据使用的分离方法不同，重量法又可分为以下三种：

(1) 挥发法 是将被测成分挥发或将被测成分转化为易挥发的成分去掉，称残留物的重量，根据挥发前和挥发后的重量差，计算出被测物质的含量。

(2) 萃取法 是将被测成分用有机溶剂萃取出来，再将有机溶剂挥发，称残留物的重量，计算出被测物质的含量。

(3) 沉淀法 是在样品溶液中，加一种适当且过量的沉淀剂，使被测成分形成难溶的化合物沉淀出来，根据沉淀物的重量，计算出该成分的含量。

2. 容量分析 是将已知浓度的操作溶液（即标准溶液），由滴定管加到被检溶液中，直到所用试剂的毫克当量数与被测物质的毫克当量数相等时为止。反应的终点，可借指示剂的变色来观察。根据标准溶液的浓度和消耗标准溶液的体积，计算出被测物质的含量。

根据其反应性质不同，容量分析可分为下列四类：

(1) 中和法 是利用已知浓度的酸溶液来测定碱溶液的浓度，或利用已知浓度的碱溶液来测定酸溶液的浓度。滴定终点借助于适当的酸、碱指示剂如甲基橙和酚酞等的颜色变化来决定。

(2) 氧化还原法 是利用氧化还原反应来测定被检物质中氧化性或还原性物质的含量。

碘量法：是利用碘的氧化反应来直接测定还原性物质的含量或利用碘离子的还原反应，使与氧化剂作用，然后用已知浓度的硫代硫酸钠滴定析出的碘，间接测定氧化性物质的含量。

高锰酸钾法：是利用高锰酸钾的氧化反应来测定样品中还原性物质的含量。用高锰酸钾作滴定剂时，一般在强酸性溶液中进行。

另外，属于氧化还原法的，还有重铬酸钾法和溴酸盐定量法等。

(3) 沉淀法 是利用形成沉淀的反应来测定其含量的方法。

(4) 络合滴定法 在卫生检验中主要是应用氨羧络合滴定中的乙二胺四乙酸二钠(EDTA)直接滴定法。它是利用金属离子与氨羧络合剂定量地形成金属络合物的性质，在适当的pH值范围内，以EDTA溶液直接滴定，借助于指示剂与金属离子所形成络合物的稳定性较小的性质，在达到等当点时，EDTA自指示剂络合物中夺取金属离子，而使溶液中呈现游离指示剂的颜色，来指示滴定的终点的方法。

四、物理化学分析法

(一) 比色分析法 根据溶液颜色的深浅或测定光线被溶液吸收的程度，来测定物质含量的方法，叫比色分析法。

【原理】

当单色光束透过有色溶液时，由于溶液吸收了一部分光能，透过的光线强度降低，溶液的颜色愈深即浓度愈高，厚度愈厚，光线被吸收的就愈多，可用朗白一比耳定律表示这种定量关系。

$$L g \frac{I_0}{I_t} = KCL$$

式中： I_0 为入射光强度； I_t 为光线透过溶液后的强度； L 为溶液层的厚度； C 为溶液的浓度； K 为吸光系数，为一常数。

$L g \frac{I_0}{I_t}$ 值是有色溶液的一个重要特性，称为溶液的光密度(D)， $\frac{I_t}{I_0}$ 称为溶液的透光度(T)。

从上式看出，如果溶液液层的厚度一定时，则光密度(D)与溶液中物质的浓度(C)成正比。如用横轴表示浓度，纵轴表示光密度，则上述关系在坐标纸上，可得到通过原点的直线。直线的斜率，决定于溶液的吸光系数(K)。如果溶液服从这一定律，则光密度(D)和浓度(C)的函数关系必是一条直线。如不遵守这一定律，直线关系就被破坏。吸光系数(K)是随物质的性质和入射光的波长而变，与光的强度和液层的厚度无关。如果溶液的浓度(C)以克分子/升表示，比色杯的厚度为1厘米时， K 值称为克分子吸光系数，以 ϵ 表示。克分子吸光系数是有机化合物的重要特点。根据克分子的吸光系数值，可以客观的估计反应的灵敏度，它的数值愈大，比色测定的灵敏度愈高。

【常用方法】

有目视和光电比色法两种。

1. 目视比色法 是用肉眼比较样品溶液同标准溶液颜色程度的方法。目视比色法有多种，卫生检验中常用的是标准系列比色法。眼睛对有色溶液的色调和颜色深浅的辨别能力是很灵敏的，特别是对红色、蓝色，但对黄色的分辨能力较差。比色时用的标准管和

样品管的颜色、规格均应相同。测定时，首先将已知浓度的标准液定量地加入各比色管中，稀释至一定体积；同时取与标准管体积相同的样品溶液放在另一比色管中，加入试剂配成标准系列与样品管，然后将样品管与标准管比色，将比色管放在有白色背底的比色管架上，由上至下或由侧面观察溶液的颜色，确定样品管与标准管中哪一管的颜色相同，该标准管中有害物质的含量即为样品管中的含量；如果样品管的颜色介于两个标准管的中间，则样品管的含量取两个标准管含量的平均值。

2. 光电比色法 利用电流的强度表示透射光的强度，以达到比色测定的目的，叫光电比色法。

(1) 光电效应 当光线照射在某一物体上时，有电子从物体中放出的现象，称光电效应。具有光电效应的物质，称为光敏物质。例如，半导体硒或氧化铯等都是光敏物质。比色计和分光光度计上的光电池和光电管，就是由这些物质组成的产生光电效应的部件。当光线照射在光电池或光电管上就产生电流，其强度与透射光的强度成正比，根据产生电流的强度，可知道透射光的强度，从而达到比色测定的目的。

光电池所产生的光电流一般比较大，可以直接用电流计测量。但光电池受强光照射和连续使用会产生疲劳现象，使测定产生较大的误差。因此，光电比色时，在打开光源前，一定要先放入滤光板，以免强光照射光电池。光电池受潮后，能影响光电效应，可将硅胶袋作为干燥剂放在比色计中，以免光电池受潮。硒光电池和眼睛相似，对不同波长的光线，灵敏度是不同的，它对绿光特别敏感，而对红外线及紫外线无光电效应。

光电管通常产生的电流较小，经放大后才能用电流计测量。由于使用了放大装置，因此，可测量微弱的光线，其灵敏度较高。

(2) 滤光板 比色分析时，在光源与光电池之间，必须放一滤光板。当光源通过滤光板，才能获得一定波长范围的单色光。选用滤光板所得的单色光，应对测定有色溶液有最大的灵敏度。因此，滤光板的颜色应与溶液颜色互为补色。

要准确地选用滤光板，需要分光光度计以波长对光密度绘成吸收光谱曲线求出。通常最常用的方法，是用溶液的互补色范围的两三个滤光板测量溶液的光密度，其中光密度最大的是较合适滤光板。滤光板的选择见

表 1 滤光板的选择

表 1

波长 (毫微米)	滤光板的颜色		溶液的颜色	
400—435	青	紫	绿 色 带 黄	
435—480	蓝	紫	深	黄
480—490	蓝 色 带 绿		橘	红
490—500	绿 色 带 蓝		深	红
500—560	暗	绿	深	紫
560—580	绿 色 带 黄		青	紫
580—595	深	黄	蓝	紫
595—610	橘	红	蓝 色 带 绿	
610—750	深	红	绿 色 带 蓝	

(3) 光电比色计 根据其构造原理，可归纳为单光电池和双光电池两种类型。

①单光电池比色计 仪器的基本构造，如图 1 由于光源发出的光线经透镜成为平行光，通过滤光板及装有色溶液的比色杯照射在光电池上，产生的光电流由检流计示出。通常光电比色计上的检流计读数，已经直接用相应的光密度 (D) 表示，因此，可直接读出光密度值。

比色时，先在比色杯中装入水或空白溶液，用可变电阻调节灯光强度，使检流计的光点位于光密度为零，然后将待测溶液装入

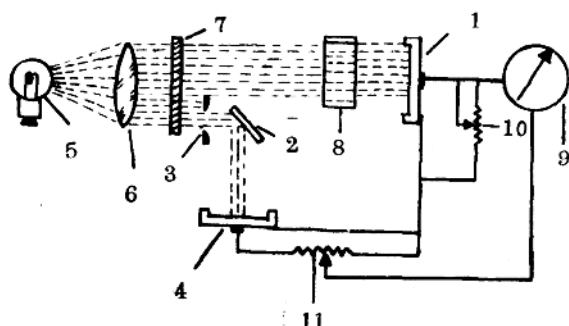


图1 单光电池比色计

- 1.可变电阻 2.光源 3.光电池 4.检流计 5.比色杯 6.滤光板
7.透镜 8.开关 9.变压器

比色杯中，检流计就指示出该溶液的光密度值。

②双光电池比色计 仪器的基本构造，如图2 光源发出的光线分成两部分，一部分经过比色杯后照射在作用光电池上，另一部分经过可变光栅，由反射镜反射到补偿光电池上。当比色杯中盛有空白溶液时，将读数盘（即电位器 R_1 ）的刻度调到透光度100，调节可变光栅，使两个光电池受到同样光线的照射，产生相同的光电流。于是检流计的光点指示为零。当比色杯装入有色溶液时，由于作用光电池产生的电流减少，检流计光点移动，转动读数盘，使光点又回到零位，根据读数盘上的刻度，可测出有色溶液的光密度。

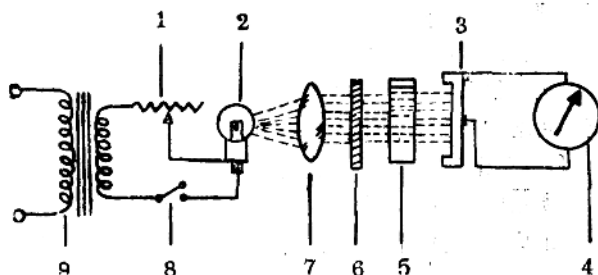


图2 双光电池比色计

- 1.作用电池 2.反射镜 3.可变光栅 4.补偿光电池 5.光源 6.透镜 7.滤光板
8.比色杯 9.检流计 10.电位器 R_1 11.电位器 R_2

(4) 测定溶液浓度的方法

①标准溶液比色法 分别测出未知溶液（浓度 C_x ）和标准溶液（浓度 C_s ）的光密度为 D_x 和 D_s 。根据朗白一比耳定律， $D = KCL$ ，若测定时所用的比色杯规格完全相同，则光密度 D 与浓度 C 成正比。

$$D_s = KLC_s \quad D_x = KLC_x$$

$$\frac{D_x}{D_s} = \frac{C_x}{C_s}$$

$$C_x = \frac{C_s}{D_s} D_x$$

根据上式，测得标准溶液的光密度和未知溶液的光密度，可计算出未知溶液的浓度。

②标准曲线法 是日常比色分析中经常采用的方法。标准曲线的制作方法如下：

准备一系列不同浓度的标准溶液，显色后，分别测定其光密度，然后在坐标纸上把光密度与浓度的关系绘成标准曲线如图8。

在分析某一未知样品时，测得其光密度后，从标准曲线上查出未知样品的浓度。

【条件选择】

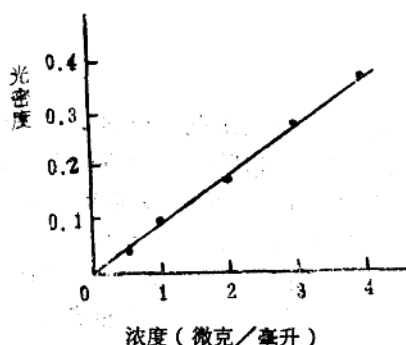


图3 标准曲线

用于比色分析法的化学反应有显色反应和褪色反应。常用的是显色反应。

1. 显色剂的选择 由于卫生检验要分析的量绝大多数在微克级，所以，比色反应要求很灵敏，即所选用的显色剂与被测物质生成有色化合物的颜色要深，克分子吸光系数要大，其它共存物质干扰少，生成物要恒定，离解度要小，化学性质要稳定。显色剂本身最好是无色或颜色极淡，至少要求显色剂与反应生成物的颜色有显著差异。

2. 显色剂的用量 在一般情况下，为避免有色络合物的离解或显色剂本身的颜色所造成的误差，加入显色剂的量应固定而且是通过量的。在制备标准管和样品管时，各管加入显色剂的量应完全相同。

3. 选择适当的溶剂 很多有色络合物在有机溶剂中的离解度比在水中要小的多，因此，采用有机溶剂，可增加颜色的稳定性并提高灵敏度。

4. 选择溶液的pH 在比色分析中，显色反应不同，溶液显色受pH的影响也就不同。生成有色络合物所用的显色剂，大多数是一些弱酸型有机络合剂，溶液的酸度，直接影响有色络合物的形成和离解。因此，需要选择和控制溶液的pH，所形成的有色络合物才稳定。

氧化还原反应的方向，与溶液的pH有密切关系。有的显色剂（如茜素）本身具有指示剂性质，当溶液的pH改变时，颜色也会发生变化。因此，在某些分析中，必须注意选择和控制溶液的pH。

5. 选择溶液颜色的稳定时间 有的颜色反应在加入试剂后立即完成，但有的反应则需要经过一定时间才能显色完全，随后，由于种种原因，可使溶液的颜色渐褪，做一个溶液的光密度与放置时间的关系曲线，就可以观察出反应速度和显色溶液的稳定性。从中选择在溶液颜色达到最深（即光密度最大）且较稳定的时间范围内进行比色。

6. 温度对显色的影响 有些显色反应在室温下进行得很慢，需要加热到一定温度。

在一定的时间内,产生可测定的颜色。有些显色反应,在升高温度时,会加深颜色的消褪。

7.确定比色浓度的范围 根据朗白—比耳定律,溶液在同样厚度的液层中,光密度与浓度成正比,但在比色测定时,溶液的颜色太浅或太深,都使定量测定产生困难,如勉强进行测定,则会产生较大的误差,故必须确定比色浓度的范围。

当有色溶液在吸收曲线最大吸收峰的波长下,能吸收光线的5%时,可认为是适于测定浓度的下限,能吸收光线的90%时,则为适于测定浓度的上限。若液层厚度为1厘米,即可求出上限和下限的光密度。

浓度下限的光密度为:

$$D_1 = L \lg \frac{I_0}{I} = L \lg \frac{100}{95} = 2 - 1.98 = 0.02$$

浓度上限的光密度为:

$$D_2 = L \lg \frac{I_0}{I_2} = L \lg \frac{100}{10} = 2.00 - 1.00 = 1.00$$

当知道了克分子吸光系数(Σ)的数值时,就可应用公式计算适于比色测定的浓度C。求下限浓度以0.02代入,求上限浓度以1代入即可。如铅——双硫腙吸光系数为50000,

则下限浓度为 $\frac{0.02}{50000} = 4 \times 10^{-7} (M)$, 上限浓度为 $\frac{1}{50000} = 2 \times 10^{-5} (M)$ 。

【误差】

比色分析的误差主要有两个原因,一是化学反应的条件,二是仪器的误差。

1. 化学反应条件引起的误差

(1) 由于某些溶液不符合朗白—比耳定律引起的误差。朗白—比耳定律只适用于低浓度的溶液,当浓度较高时,误差较大,在实际工作中,必须制定出标准曲线,确定比色测定的浓度范围。

(2) 显色条件不一致引起的误差。如溶液的酸度、显色时间、试剂浓度、温度、加试剂的顺序和干扰物质的存在等,对显色反应都有一定影响。利用标准曲线进行测定时,样品溶液的反应条件,应与绘制标准曲线的反应条件相同。

(3) 朗白—比耳定律没有考虑溶液对光的反射作用。如果溶液和溶剂对光反射有较大差异,就会造成误差。要尽可能使空白溶液和样品溶液试剂的组成接近,以消除误差。

2. 仪器的误差

(1) 仪器本身结构造成的误差 如电源的电压不稳,光电池的光电效应不呈线性,电流计非线性或刻度不准,滤光板的质量差而使透过光的波段过宽,比色杯的厚度不均,杯壁不够平行或有污迹都会造成误差。

(2) 仪器的读数误差 透光度读数偏近于100%或0一边,能造成较大的误差。最适宜的测定范围,在透光度20~80%之间,对浓度太大或太小的溶液,可换用比较合适的比色杯。

(二) 分光光度法 用分光光度计测定物质浓度的方法,叫分光光度法。分光光度

计的基本原理与光电比色计相似，其不同点如下：

1.光源 供给各种波长的混合光光源，一般用钨丝灯和氢灯，前者波长的应用范围在320~1100毫微米，若波长在183~350毫微米时，则需用后者。

2.单色光器 单色光器一般包括色散器和狭缝。色散器为一玻璃或石英棱镜，有时也用衍散光栅。对于红外线部分，则用岩盐晶体为棱镜。它使混合光色散为光谱，再利用放置在适当位置上的狭缝，从光谱中分出所需波长的单色光。如固定狭缝的宽度，转动棱镜，则可使各波长的光穿过狭缝照射在测定溶液上。用单色光器所得的单色光，虽比滤光板得到的波长范围要窄得多，但并非只有一个波长。波长范围，与狭缝的宽窄有关。缝越窄，所得的单色光越纯，但光线强度同时降低。

光电分光光度计类型很多，但基本原理是相同的。国产72型分光光度计的构造，如图4。光源发出的白光，经过光狭缝、反射镜和透镜后，成平行光进入棱镜，经棱镜色散后的各种波长的单色光被反射镜反射，经过透镜。反射镜、透镜装在一个转盘上，转动转盘可使需要的单色光通过出光狭缝，反射镜转动的位置可用校正过的波长标尺指示之。单色光通过盛有溶液比色杯后，再射到硒光电池上，产生的光电流用检流计指示出来。在光电池前面装有一个光亮调节器，以调节进入光电池的光量。本仪器采用了钨丝灯泡光源、玻璃棱镜及硒光电池，因此，它的适用波长范围为420~700毫微米。

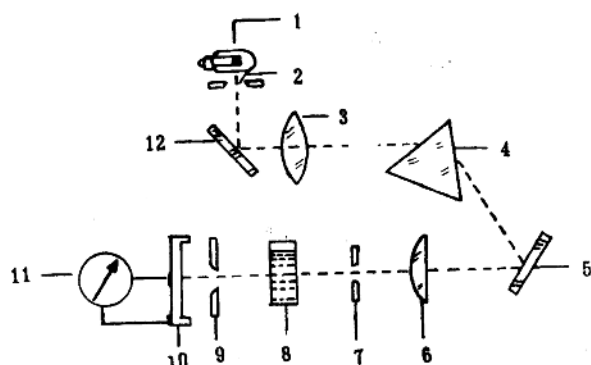


图4 72型分光光度计构造图

1.光源 2.进光狭缝 3.透镜 4.棱镜 5.反射镜 6.透镜

7.出光狭缝 8.比色杯 9.光亮调节器 10.光电池

11.检流计 12.反射镜

国产751型分光光度计的构造，如图5是一种单光束、非记录型光电分光光度计，可应用于紫外光区、可见光区和近红外光区的定性和定量分析。它的波长范围为200~1000毫微米，在波长320~1000毫微米范围内，用钨丝灯泡作为光源，在波长200~320毫微米范围内用氢弧灯作为光源。以石英棱镜作为单色器。用光电管作为接受元件，配有紫敏和红敏光电管两种，前者适用于

波长200~625毫微米，后者适用于625~1000毫微米。此仪器配有玻璃和石英两种比色杯，分别适用于可见光区和紫外光区。

由光源发出的连续辐射光线，射到聚光凹面镜上，被反射到平面镜，然后反射至入射狭缝 S_1 上，再入射到单色器内，而狭缝 S_1 正好位于球面准直物镜的焦面上，因此，入射光线到达物镜上反射后，就以一束平行光射向棱镜（该棱镜背面镀铅），光线进入棱镜后，就在其中色散，入射角在最小偏向角，入射光在铅面上反射后，并不依原路反射回来，这样从棱镜色散后的光线，经准直物镜反射后，就会聚在出射狭缝 S_2 上。为了消除杂散光对测量结果的影响，在出射狭缝后装有滤光片，光线通过滤光片后进入试样

室，室中装着比色杯托架，可放四只比色杯，根据波段需要采用玻璃或石英比色杯。为了使光线能量能够集中的照射到光电管上，在出射狭缝后装有石英聚光镜，光线通过聚光镜后，就集中的通过测试样品照射到光电管上，如果被测试样品有吸收现象，则光能就发生改变，此时，可以转动读数电位器，来改变补偿电压，使电表指针重新回零。电位器上的指示值，就可以直接反应出试样的透光率或光密度。

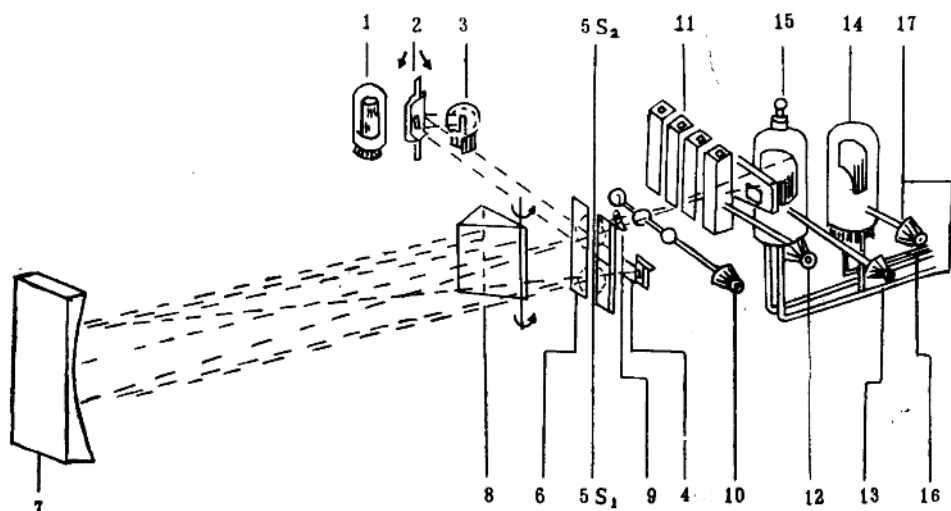


图5 751型分光光度计基本构造图

- 1.氢弧灯 2.凹面反光镜 3.钨丝灯 4.平面反光镜 5.石英窗 6.弯曲狭缝 7.准直镜
8.石英棱镜 9.石英透镜 10.滤光片架 11.比色杯 12.比色杯托架拉杆 13.暗电流控制闸门
14.紫敏光电管 15.红敏光电管 16.光电管滑动架 17.放大器

本仪器应用范围较广，精确度较高。

（三）原子吸收分光光度法

【原理】

当含有待测元素的溶液受到足够高的高温时，该元素可自化学键中解离出来，成为不激发不电离的基态原子蒸气。此基态原子可吸收它们自己特定的共振波长的光辐射。若将这种波长的光通过该原子的蒸气层，则一部分光被吸收，一部分光透过。透过光的强度与基态原子的浓度的关系符合朗白——比耳定律

$$I_v = I_0 \cdot 10^{-K \cdot L \cdot C}$$

$$\lg \frac{I_0}{I_v} = K \cdot L \cdot C$$

式中： I_0 为特定共振光入射光强度； I_v 为透射光强度； K 为原子吸收系数； L 为共振光通过原子蒸气层的厚度； C 为基态原子的浓度。

【主要结构】

原子吸收分光光度计的主要结构，由辐射系统、吸收系统、波长选择系统及辐射检出系统等四部分组成，如图6。