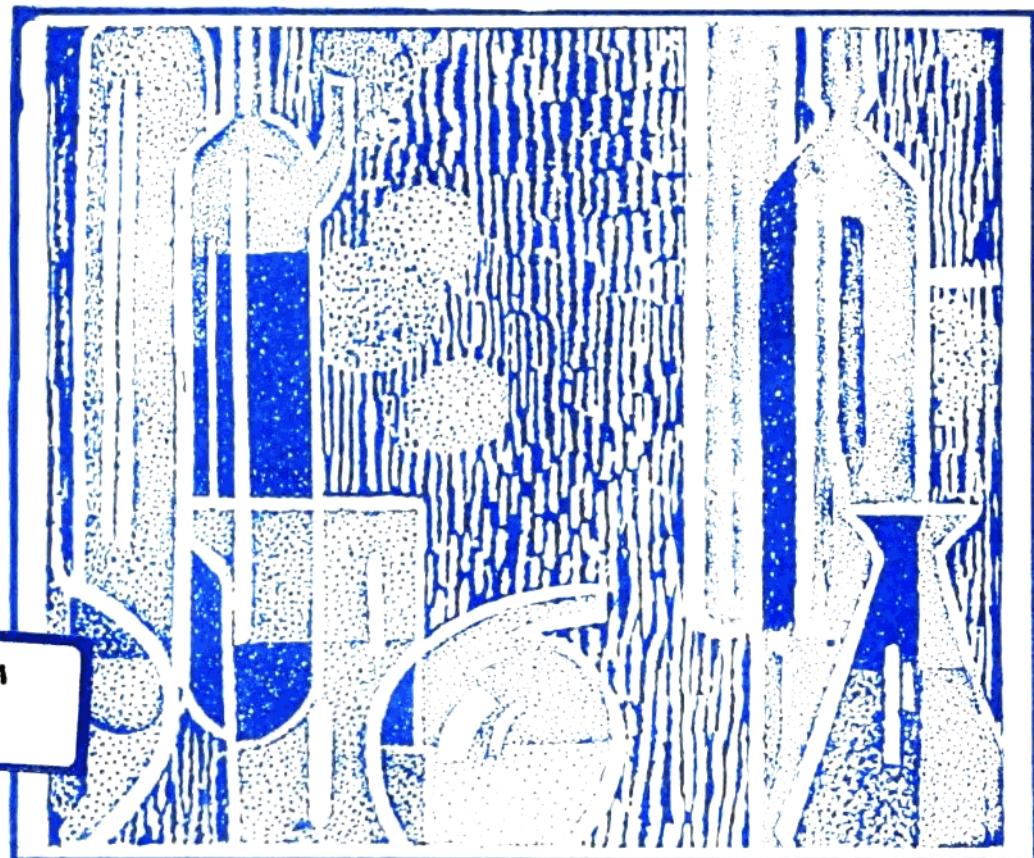


# 临床生物化学实验

(供临床医学类检验专业用)

主 编 王霞文

副主编 陈正炎  
杨伟宗



高等医学院校教材

92  
B446.1  
2  
2

# 临床生物化学实验

(供临床医学类检验专业用)

主编 王霞文  
副主编 陈正炎  
杨伟宗

XUD74/27



3 0147 0380 9

湖南科学技术出版社



B

222464

湘新登字004号

高等医学院校教材  
(供临床医学类检验专业用)  
**临床生物化学实验**

王震文 主编

责任编辑: 沙一飞

责任校对: 徐克前

\*

湖南科学技术出版社出版发行  
(长沙市展览馆路3号)

长沙市东方印刷厂印刷

1992年7月第1版第1次印刷

开本: 787×1092毫米 1/16 印张: 10 字数: 239,000

印数: 1—2000

ISBN 7-5357-1116-2  
R·239 定价: 5.80元

**参编单位人员(按笔划顺序排列)**

广州医学院	蒋中俊 副教授
上海第二医科大学	杨伟宗 副教授
北京医科大学	寇丽筠 教授
张家口医学院	康健 副教授
青岛医学院	王广华 副教授
重庆医科大学	王霞文 教授
蚌埠医学院	蒋秉坤 教授
湛江医学院	祝其锋 教授
湖南医科大学	陈正炎 教授
镇江医学院	郑铁生 讲师

## 前　　言

临床生物化学是医学检验的一门主干课程。它既是一门理论性学科，也是一门实践性学科。对于医学检验专业的学生来说，除了学习有关理论和技术知识外，尚需加强科研和实验能力的培养，为此我们10所医学院校协作编写了这本《临床生化实验》教材，以配合康格非主编的《临床生物化学》和陈惠黎主编的《生物化学检验技术》两本教材，供医学检验专业本科生使用以及研究生和专科生参考。

本教材共12章。第一章为实验前准备，要求学生通过自学，重温做好临床生化实验所需的准备工作。第二章为临床生化方法学评价，明确如何正确地建立和评价一个临床化学方法，然后以此观点指导以后各章各实验的学习与实践，各校可以通过一些具体实验让学生分别进行评价实验的训练。第三章至第十二章分别为临床生化技术检验的常用实验方法，共计63个实验。其中以全国临床检验中心和“临床检验操作规程”推荐的方法为主，卫生部首批淘汰35项临床检验项目、方法均未编入。各校可以根据各自的具体情况选用。书末附录实验室常用缓冲液配制，常用化学物质新旧单位换算系数表等。

由于全国尚未出版过此类教材，我们的经验也不多，加之水平有限，时间仓促，必有不恰当和错误之处，请同志们批评指正。

编著者  
一九九二年二月

# 目 录

<b>第一章 实验前准备</b> .....	( 1 )
第一节 器材的清洗.....	( 1 )
第二节 仪器的校准.....	( 2 )
第三节 试剂规格及配制原理.....	( 6 )
第四节 标本的采集、处理与储存.....	( 9 )
<b>第二章 临床生化方法的选择、建立与评价</b> .....	( 13 )
第一节 临床生化方法的分级.....	( 14 )
第二节 临床生化方法的建立.....	( 18 )
第三节 临床生化方法的评价.....	( 21 )
<b>第三章 血清蛋白质的测定</b> .....	( 36 )
实验一 微量凯氏定氮法.....	( 36 )
实验二 双缩脲法.....	( 38 )
实验三 酚试剂法.....	( 41 )
实验四 紫外分光光度法.....	( 43 )
实验五 考马斯亮蓝G-250 染料结合法.....	( 44 )
实验六 血清蛋白质醋酸纤维薄膜电泳.....	( 46 )
实验七 血清蛋白质聚丙烯酰胺凝胶电泳.....	( 49 )
实验八 血清白蛋白溴甲酚绿法.....	( 51 )
实验九 凝胶层析法分离血清白蛋白和球蛋白.....	( 53 )
<b>第四章 血清(浆)葡萄糖和糖化血红蛋白的测定</b> .....	( 55 )
实验十 邻甲苯胺法.....	( 55 )
实验十一 葡萄糖氧化酶法.....	( 57 )
实验十二 电泳分离GHb.....	( 59 )
实验十三 糖化血清蛋白测定.....	( 61 )
<b>第五章 脂肪与脂蛋白测定</b> .....	( 63 )
实验十四 甘油三酯的乙酰丙酮显色法.....	( 63 )
实验十五 甘油三酯的酶法测定.....	( 65 )

实验十六 总胆固醇邻苯二甲醛直接显色法	( 66 )
实验十七 总胆固醇的硫磷铁比色法	( 67 )
实验十八 总胆固醇的三联酶法测定	( 69 )
实验十九 血清脂蛋白琼脂糖凝胶电泳	( 70 )
实验二十 血清高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 测定及低密度脂蛋白胆固醇 ( LDL-C ) 的计算测定	( 71 )
实验二十一 ApoA <sub>1</sub> 和ApoB <sub>100</sub> 联合火箭电泳	( 73 )
<b>第六章 血清无机元素测定</b>	( 75 )
实验二十二 火焰光度法测定血清钾钠	( 75 )
实验二十三 离子选择电极法测血清钾钠	( 77 )
实验二十四 硝酸汞滴定法测血氯	( 78 )
实验二十五 EDTA 络合滴定法测血钙	( 80 )
实验二十六 邻甲酚酞络合酮法测血钙	( 82 )
实验二十七 还原钼蓝法测血磷	( 83 )
实验二十八 甲基麝香草酚蓝比色法测血镁	( 85 )
实验二十九 Calmagite 染料比色法测血镁	( 86 )
<b>第七章 血气分析</b>	( 87 )
一 前言	( 87 )
二 酸碱和血气分析仪的基本组成和工作原理	( 87 )
三 血液样本的采取	( 88 )
四 CORNING ( 康龄 ) 168型血气分析仪使用方法简要介绍	( 88 )
五 参考值	( 89 )
六 临床意义	( 90 )
<b>第八章 肝功能测定</b>	( 92 )
实验三十 血清胆红素测定 ( 改良 J-G 法 )	( 92 )
实验三十一 直接显色法测血氨	( 94 )
实验三十二 谷氨酸脱氢酶速率法测血氨	( 95 )
<b>第九章 肾功能测定</b>	( 97 )
实验三十三 二乙酰一肟显色法测血清尿素氮	( 97 )
实验三十四 脲酶法测血清尿素氮	( 98 )
实验三十五 血清肌酐 ( Cr ) 测定 ( 苦味酸法 )	( 100 )
实验三十六 内生肌酐清除率测定	( 101 )
实验三十七 血清尿酸测定	( 103 )

<b>第十章 酶学实验</b>	.....	( 106 )
实验三十八 离心法分离纯化麦芽中ACP	.....	( 106 )
实验三十九 对硝基酚标准曲线的制备及酶活性的测定	.....	( 108 )
实验四十 蛋白质标准曲线的制备及各上清液中蛋白质含量的测定	.....	( 109 )
实验四十一 时间进程曲线	.....	( 110 )
实验四十二 蛋白质曲线	.....	( 111 )
实验四十三 pH-酶活性曲线	.....	( 111 )
实验四十四 ACP作用于NPP的米氏常数	.....	( 112 )
实验四十五 磷酸盐对ACP的抑制作用	.....	( 113 )
实验四十六 谷丙转氨酶测定(改良赖氏法)	.....	( 114 )
实验四十七 血清门冬氨酸氨基转移酶测定	.....	( 117 )
实验四十八 血清碱性磷酸酶测定	.....	( 118 )
实验四十九 血清乳酸脱氢酶速率法测定	.....	( 120 )
实验五十 血清LDH比色法测定	.....	( 122 )
实验五十一 大鼠各组织中LDH同工酶酶谱分析	.....	( 123 )
实验五十二 血清γ-谷氨酰转移酶	.....	( 125 )
实验五十三 血清淀粉酶的测定(碘淀粉比色法)	.....	( 126 )
实验五十四 血清肌酸激酶(CK)的测定(肌酸显色法)	.....	( 128 )
实验五十五 血清5'-核苷酸(5'-NT)测定	.....	( 130 )
<b>第十一章 激素的测定</b>	.....	( 134 )
实验五十六 血浆皮质醇荧光测定法	.....	( 134 )
实验五十七 尿液3-甲氧基-4-羟基扁桃酸(VMA)测定	.....	( 136 )
实验五十八 尿液17-羟皮质类固醇测定	.....	( 138 )
<b>第十二章 治疗药物监测</b>	.....	( 141 )
实验五十九 血清水杨酸盐测定	.....	( 142 )
实验六十 氨茶碱药动学性质的测定	.....	( 143 )
实验六十一 血清奎尼丁测定	.....	( 145 )
实验六十二 血清地高辛测定	.....	( 147 )
实验六十三 高效液相色谱法测定血清中抗癫痫药	.....	( 149 )
<b>附录</b>	.....	( 152 )
实验室常用缓冲液的配制	.....	( 152 )
常用化学物质新旧单位换算系数表	.....	( 153 )

# 第一章 实验前准备

实验前需要做的准备工作很多，本章涉及的实验前准备主要包括器材和仪器的准备，试剂的准备和标本的准备。

## 第一节 器材的清洗

为了保证每一项实验结果可靠，必须使与试剂或标本接触的各种量具和容器达到化学清洁，这在临床生化检验中是一项工作量相当大的工作。

### 一、洗液的配制

#### (一) 铬酸洗液

1. 淡清洗液 80g重铬酸钾溶于100ml水中，再缓慢加入100ml工业用浓硫酸，边加边用玻棒搅动，使热量散开，玻璃器皿需在此清洗液中浸泡2~3天。

2. 浓清洗液 60g重铬酸钾溶于300ml水中，再缓缓加入460ml浓硫酸，并随时用玻棒搅动，玻璃器皿需浸泡12~24小时。

3. 饱和(高浓)洗液 在浓硫酸中直接加重铬酸钾至饱和。玻璃器皿在此洗液中只须浸泡20分钟。铬酸洗液具有极强的酸性和氧化能力，能使器材表面的污物溶解并可使少量的有机物氧化分解而达到清洁目的，主要适用于精密的玻璃量器如吸量管、滴定管和容量瓶等的清洗，也可用于一般玻璃器材上难以用其它方法去掉的污物的清除。 $Hg^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$ 、 $Ag^{+}$ 等离子遇铬酸会形成不溶性沉淀，如遇这类物质污染，可先用稀盐酸或稀硝酸处理后再放入洗液浸泡。卤族化合物及其它还原性物质或较多的有机物也需在事前洗掉、沥干，然后在放入洗液浸泡，否则可使铬酸迅速破坏而失效。

新配制的铬酸洗液呈红褐色，可以反复使用，待洗液变成深绿色时说明洗液已失效，需重新配制。

#### (二) 肥皂水、洗衣粉和去污粉

此为最常用的洗涤剂，可除去污垢，能使脂肪、蛋白质及其它粘着性物质溶解或松弛。试管、烧杯、广口瓶等一般玻璃仪器均可用试管刷蘸肥皂水、洗衣粉或去污粉刷洗，也可先经肥皂水等浸泡后刷洗。金属器材及有机材料器皿不能用强酸强碱配制的洗液清洗，这类器皿也可用肥皂水或洗衣粉洗涤。此外，这类洗液也适用于超声波清洗机。

#### (三) 其它洗液

以上两种洗液在日常工作中最常采用，但有时也需要一些特殊的洗液。下列几种可供参考。

1. 尿素洗液 为45%的尿素水溶液，主要用于溶解容器内的蛋白质。
2. 磷酸三钠洗液 为5~10%的磷酸三钠水溶液，可去除油污，但不适用于磷的化验，且久用可使玻璃面模糊不清。
3. 乙二胺四乙酸二钠洗液 为5~10%之水溶液，用于重金属盐沉淀的清除。
4. 草酸盐洗液 可洗掉高锰酸钾痕迹。
5. 硫代硫酸钠洗液 主要用于消除碘污，其稀溶液也可清除高锰酸钾痕迹。
6. 硝酸洗液 浓硝酸可清除碳水化合物，1:1的硝酸可用于洗涤二氧化碳测定器，20%的硝酸用于浸泡比色皿。
7. 有机溶剂 洗涤脂类及其它有机物污染。

## 二、洗涤方法

- (一) 洗涤干净的标准 凡洗涤干净的玻璃器皿，用水冲洗后应不挂水珠。
- (二) 洗涤新购置的玻璃器皿，应先用2%盐酸浸泡2~6小时，取出后用自来水冲洗干净，再用蒸馏水冲洗三次。
- (三) 刚使用过的器皿，应先用自来水冲洗，再用肥皂水或洗衣粉刷洗干净，然后用自来水冲洗数次，最后用蒸馏水冲洗3次。
- (四) 对久置未用，污垢甚多或用上述方法不能达到清洁目的的器皿，应先用自来水冲洗，沥干后置铬酸洗液或其它特殊洗液中浸泡一定时间，再以(三)法洗涤。
- (五) 如洗涤的工作量较大，可使用超声波清洗机洗涤，效果很好，且省时省力。一般玻璃器皿洗干净后均应倒置沥干，任其自然干燥，也可置烤箱内烘干，但容量仪器如容量瓶、吸量管等不可在高于60℃的条件下烘烤，有机材料也不能置烤箱内烘烤。

## 三、注意事项

1. 洗液的选用应首先选价廉的肥皂水和洗衣粉等。
2. 洗完后应及时检查是否已清洁，如发现仍挂水珠，应重新洗涤。
3. 必须用铬酸洗液浸泡的器皿，应先将有机物尽量去掉，把水沥干，然后置入洗液浸泡，以免浪费洗液。
4. 测甘油三酯用的器皿，必须以自来水将肥皂或洗衣粉彻底冲洗干净，至少需冲8~10次，否则残存的微量该类物质也可导致误差。
5. 做酶学实验的器皿如经铬酸洗液浸泡，也需用自来水反复冲洗干净，否则也可导致误差。细菌培养皿不宜用铬酸洗液，因残存的铬酸可抑制细菌的生长。

## 第二节 仪器的校准

多种仪器在使用前或使用一段时间后需进行校准，实验室工作人员应该掌握仪器校准的方法。本节仅介绍常用容量仪器，721分光光度计和分析天平的校准。

### 一、容量仪器的校准

#### (一) 有关容量仪器校准的几个概念

1. 升的定义 指质量为1000g的水，在一个标准大气压和最大密度(3.98°C)时所占的体积。

2. TD和TC吸量管 TD即To deliver,意为泻出量吸量管，TC是To contain的缩写，意为包含量吸量管。TD吸量管使用时液体自然泻出后不吹，仅在管壁上停留数秒钟，使管内液体不再流出为止。TC吸量管使用时则需吹出最后的余滴。

3. 量入式和量出式容器 量入式容器以“入”或“E”标记，用于测定注入容器内的液体量；量出式以“出”或“A”标记，测定从容器中倾出的液体量。

## (二) 校准方法

量器的校准方法有称重法、比色法、滴定法等，其中以称重法比较准确可靠。称重法又可分为水称重法和水银称重法，方法是以天平称出量器在某刻度时所容纳蒸馏水或水银的质量，再推算出量器的实际容积。通常量器的标示值均指20°C时该量器的容量，故校准时也需将其实际容积换算成20°C时的容积。校准时必须考虑以下三个因素的影响，即温度对量器容积的影响，温度对水密度的影响和空气浮力对天平称重的影响。

设：量器在t°C时的容积为V<sub>t</sub>

该量器所容纳的蒸馏水用黄铜砝码称得的质量为W<sub>t</sub>

20°C时体积为1ml的水t°C时在空气中用黄铜砝码称得的质量为d<sub>t</sub>

量器在20°C时的容积为V<sub>20</sub>

$$\text{则 } V_t = -\frac{W_t}{d_t}$$

$$V_{20} = \frac{W_t}{d_t [1 + (t - 20) \times 0.000026]} \quad (\text{式中 } 0.000026 \text{ 为玻璃的热膨胀系数})$$

$$\text{令 } d_t [1 + (t - 20) \times 0.000026] = \gamma$$

$$\text{则 } V_{20} = \frac{W_t}{\gamma}$$

W<sub>t</sub>可用天平称得，γ可由下表查到，即可根据以上公式求得V<sub>20</sub>。

表1—1： 不同温度下的γ值

t(°C)	γ	t(°C)	γ	t(°C)	γ	t(°C)	γ
10	0.99841	18	0.99751	26	0.99591	34	0.99311
11	0.99834	19	0.99735	27	0.99566	35	0.99340
12	0.99826	20	0.99717	28	0.99541	36	0.99367
13	0.99817	21	0.99699	29	0.99515	37	0.99394
14	0.99806	22	0.99679	30	0.99488	38	0.99411
15	0.99794	23	0.99659	31	0.99460	39	0.99428
16	0.99781	24	0.99637	32	0.99431	40	0.99441
17	0.99767	25	0.99614	33	0.99401		

γ值的含义是不同温度下充满20°C时容积为1ml的量器中的水，在空气中用黄铜砝码称得的质量。以上计算方法考虑了影响量器容积的三因素，计算的校正值是比较准确的。

### (三) 容量瓶的校正

将已清洗的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重，此重量减去空瓶重即为 $W_1$ ，代入公式即可求出 $V_{20}$ 。

例：在22℃条件下测得某标示值为100ml的容量瓶所容纳的蒸馏水重 $W_{22}$ 是100g，求其校正值。

$$V = W_{22} / \gamma_{22} = 100 / 0.99679 = 100.32 \text{ (ml)}$$

即此容量瓶的校正值为+0.32ml，此误差超出允许范围，应重标刻度。

### (四) 滴定管的校正

滴定管需要分段校正，一般可将滴定管分成五个区段。如50ml容量的滴定管可分成0~10ml, 10~20ml, 20~30ml, 30~40ml, 40~50ml五个区段，校正时需按顺序分别测出各区段所容纳蒸馏水的重量，再分别计算各段的校正值。以后使用该滴定管时，应根据各段校正值对滴定量进行修正。

### (五) 吸量管的校正

校正吸量管时首先需要弄清楚该吸量管是TD型还是TC型，且需预先洗净、干燥后备用。一般0.2ml以上的吸量管均可用水称重法校正，校正步骤如下：

1. 取25ml或50ml的具塞锥形瓶一个，置天平上准确称重。
2. 用待校吸量管准确吸取蒸馏水到刻度，按规则将蒸馏水注入锥形瓶。
3. 再准确称重后算出蒸馏水的质量 $W_1$ ，即可按公式求得校正值。

例：校正某10ml吸量管，测得其吸取的蒸馏水为9.98g，实验室温度30℃。

$$V_{20} = 9.98 / 0.99488 = 10.031 \text{ (ml)}$$

即校正值为+0.031ml，此数值在二等吸量管的允许误差范围之内。

### (六) 微量吸管的校正

微量吸管包括0.2ml以下的吸量管和血红蛋白吸管。这类吸管的容积常与标示值有较大的出入，在实验中又常用于吸取样品或标准液，对实验的准确性有较大的影响，所以在使用前最好进行校正。由于微量吸管容量很小，用水称重法不易称量准确，且水的蒸发也会带来较大误差。水银蒸发慢、比重大，能准确地反映吸管的容积，故多采用水银称重法。具体操作方法如下：

1. 将待校吸管洗净、干燥备用。
2. 取1~2ml注射器一付，抽筒涂以凡士林。装针头的一端经一小段厚壁橡皮管（或在橡皮塞上打孔）与待校吸管相连。
3. 取新启封的纯净（AR）水银，测温后倒入一清洁干燥的小烧杯内，小心将吸管插入水银，用注射器缓缓抽吸水银到刻度。
4. 将吸管中的水银小心注入一已称重的小烧杯或表面皿内，准确称重。
5. 计算 因水银比重大，故不必考虑空气浮力和玻璃的热膨胀等因素，直接用下式计算。

$$V = \frac{W}{d} \quad \text{式中 } d \text{ 是水银比重}$$

表 1-2 水银的比重 (mg/μl)

t(℃)	比重								
11	13.568	15	13.558	19	13.549	23	13.539	27	13.529
12	13.566	16	13.556	21	13.546	24	13.536	28	13.527
13	13.563	17	13.554	21	13.544	25	13.534	29	13.524
14	13.561	18	13.551	22	13.541	26	13.531	30	13.522

例：校正某20μl血红蛋白吸管，称得水银重256mg，实验室温度24℃。

查表得水银在24℃时的比重为13.536，故被测吸管之实际容积

$$V = W/d = 256/13.536 = 18.91 (\mu l)$$

即其校正值为-1.09μl，其相对误差为

$-1.09/20 \times 100\% = -5.45\%$ 。血红蛋白吸管的相对误差允许范围为±2%，超出这一范围时应另刻正确标线。

## 二、分光光度计的校准

分光光度计是生化检验中最常使用的仪器之一，检验人员除了要掌握其使用保养方法外，还需了解仪器的调校。下面以721系列分光光度计为例介绍。新购置的仪器因经过长途运输，安装时均需校准零点和波长。仪器工作数月后或搬运后最好也进行校准。

### (一) 机械调零

在仪器尚未接通电源时，电表的指针必须位于“0”刻线上。若不在此“0”刻线上，可调整电表上的校正螺丝，使指针恰指“0”位。

### (二) 光电管暗电流的调整

面板上的调零电位器是细调。如用此电位器调不到零位，可在底板上靠左侧找到一个粗调电位器，顺时针旋转使电表指针向右(100%)，逆时针旋转时指针向左。一般要求达到零位调节时1~3档变换，电表指针相差应在10%电表读数内。

### (三) 波长校准

波长校准可采用干涉滤光片或用钕镨玻璃滤光片。推荐使用钕镨玻璃滤光片。该滤光片是含有稀有金属钕和镨的玻璃制品，其光谱吸收特性是固定的，可利用其529nm波长的吸收峰来校准仪器的波长。

1. 先将波长盘指示在580nm处，观察出射单色光应为黄色，如不是黄色，要调节波长调节螺杆使出射光为黄色。

2. 将波长指示转到520nm处，光路空白时调节透光率为100%，然后拉动拉杆使钕镨玻璃正对光路，记录透光率读数，比如为70%，再将波长盘转到522nm，钕镨滤光片拉出光路，重调透光率达100%，然后再将钕镨滤光片推入光路测透光率，记下读数65%。这样依次逐点测定，查出最小透光率时的波长指示为533nm，则误差为 $533 - 529 = 4 \text{ nm}$ 。此时可调节波长调节螺杆反时针方向转动，若误差为负值时则应顺时针方向调节。

3. 以上调节波长调节螺杆时只要稍微转一点，再按上法检查，直到调至最小透光率时波长指示在529nm为止。

### 三、天平的校准

天平使用一段时间后，由于受振动或其它原因，常需进行一些必要的调整和校准。新安装的分析天平更要仔细调校后方能使用。现以全机械加码分析天平为例介绍天平的校准。

#### (一) 零点调整

零点指空载时平衡状态下指针所指的位置。此时天平的指针最好指在“0”位，最多偏“0”不得超过±5小格。较大的零点调整可旋动横梁上左右两个平衡铊，较小的零点调整，可由底座下部的微动调节杆调整。

#### (二) 感量校准

感量指天平指针移动1格所对应的重量，与灵敏度互为倒数，故感量的校准与灵敏度校准的作用是相同的。如果想直接按投影屏的读数称量，需使感量为1mg/格或使灵敏度为1格/mg。

感量的调整可旋低或旋高重心螺母，直到使10mg的砝码在天平屏上显示10格的移动为止。旋低重心垂可使感量升高，反之使感量降低。此项操作需耐心细致，戴细纱手套。感量调整完毕后需重新调整零点，为调整零点，为调整方便，应准备一个10mg的记差砝码，以便经常核对光学读数值的准确性。

## 第三节 试剂规格及配制原理

### 一、化学试剂的规格

#### (一) 国产化学试剂的规格

国产试剂根据其纯度通常分为四级。

表1—3 化学试剂的规格和用途

级别	中文名称	外文缩写	瓶签颜色	纯度和用途
一 (保证试剂)	优级纯	G.R.	绿色	纯度高、杂质含量低，适用于科研和配标准液
二 (分析试剂)	分析纯	A.R.	红色	纯度较高杂质含量较低，适用于定量定性分析
三	化学纯	C.P.	蓝色	纯度略低于二级，可用于一般定量定性分析
四	实验试剂	L.R.	黄色	纯度较低，但高于工业用，用于一般定性试验

#### (二) 进口试剂规格

等级	规格符号	相当于国产品级
I	AR, GR, ACS, PA	一级品
II	CP, PUSS, LAB, Puriss	二级品
III	LR, EP, Pract, Rein	三级品
IV	Pure	四级品

### (三) 特殊规格

BR——生物试剂，瓶签黄褐色； BS——生物染色剂，瓶签褐色； Ind——指示剂，瓶签红色。

以上试剂系按用途分类，不分等级。另有SSS, SP为光谱纯，Ultra Pure, Hyper Pure为超纯，FCP为层析纯等一些特殊的规格。

### (四) 试剂等级的选择

原则上应按实验要求选用试剂，如选用低品级的试剂常导致实验误差过大甚至失败，但也不可盲目选用高等级的试剂，以免造成浪费。

## 二、化学试剂的配制

在临床生化检验工作中，试剂配制不当是引起实验误差的常见原因之一，这里仅介绍一些有关的基本概念。

### (一) 常用浓度表示法

1. 比例浓度 多指以溶质的重量或体积与溶液的体积比表示的浓度。如碘化钾溶液(1:5)指5ml溶液中含碘化钾1g。有时也用溶质的重量或体积与溶剂的体积比表示，这种浓度表示方法常用于表示强酸溶液的浓度。如盐酸(1:1)表示1体积浓盐酸与1体积水配成的溶液。

2. 百分浓度 (1)重量体积百分浓度(W/V) 指100ml溶液中所含溶质的克数，常用于表示固体的水溶液的浓度。如0.9%氯化钠溶液指100ml溶液中含0.9g氯化钠。毫克百分浓度实际上也属于此种浓度，mg%即表示100ml溶液中所含溶质的毫克数。

(2)重量重量百分浓度(W/W)指100g溶液中所含溶质的克数，常用于表示强酸的浓度。如98%硫酸(W/W)指100g溶液中含纯硫酸98g。

(3) 体积体积百分浓度(V/V) 指100ml溶液中所含溶质的毫升数，常用于表示液体为液体的溶液的浓度。如1%醋酸(V/V)指100ml溶液中含1ml醋酸。

3. 摩尔浓度 即克分子浓度，以符号M表示，指1L溶液中所含溶质的摩尔数。如2M氢氧化钠溶液指1L溶液中含有2mol(80g)NaOH。离子的浓度也可用摩尔浓度表示。在实际应用中，一阿伏加德罗数的质点常称之为1摩尔，不管该质点本质上是离子、原子还是分子。例如，35.5gCl<sup>-</sup>可以叫做1摩尔而不称为1“克离子”。摩尔浓度通常以方括弧表示，例如[H<sup>+</sup>]即氢离子的摩尔浓度。

4. 当量浓度 当量浓度以1升溶液中所含溶质的克当量数表示，1克当量浓度单位(1N)=1克当量/升，1毫克当量浓度单位(1mEq)=1毫克当量/升。酸、碱和盐的当量可按下列公式计算：

$$\text{酸的当量} = \frac{\text{分子量}}{\text{该酸分子中可被置换的氢原子数}}$$

$$\text{碱的当量} = \frac{\text{分子量}}{\text{该碱分子中所含OH根的个数}}$$

$$\text{盐的当量} = \frac{\text{分子量}}{\text{分子中金属原子数} \times \text{金属价数}}$$

### (三) 溶液配制方法

溶液的配制方法可分成两类，一为直接配制法，一为间接配制法。

1. 直接配制法 (1) 标准液 配制标准液的试剂应选用GR或AR品级，否则须先经提纯后再使用，且应易于烘干、恒重、便于准确称量。试剂须先经干燥至恒重后放入干燥器内备用。使用的量器须先经校准，所有玻璃器皿须先经清洗干燥。配制时直接用万分之一分析天平准确称取所需量的标准物，以少量溶剂溶解后，移入容量瓶中，然后再加溶剂至刻度。通常标准液配成浓的贮存液保存，使用时再稀释成应用液。

(2) 一般溶液 凡不是标准液，且对浓度条件要求不严格的试剂，均可直接配制。可以使用普通天平称量，用容量瓶或量筒配制，吸量管和容量瓶不需校准。

2. 间接配制法 间接配制法指在配制试剂时需先配成大致浓度的溶液——粗配，经标定后再配准确浓度——精配。

某些易吸水潮解难以恒重的固体试剂和含量不准的液体应采用间接配制法。如酸碱溶液、高锰酸钾溶液、硫代硫酸钠溶液等均属此类。

粗配溶液的浓度标定很关键。不同的试剂有不同的标定方法， $\text{KMnO}_4$ 可用草酸钠标定。 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 可用重铬酸钾标定，碘溶液可用硫代硫酸钠标定， $\text{NaOH}$ 溶液可用邻苯二甲酸氢钾标定，各种酸可用 $\text{NaOH}$ 标定，而各种碱溶液则可用已标定的盐酸标定。

### (四) 酸碱溶液的配制

酸碱溶液需用间接法配制，即先配成饱和溶液或大致浓度的当量溶液，再标定精配成准确浓度。

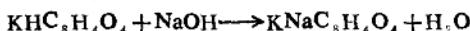
#### 1. 常用酸碱溶液的粗配(表1—4)

表1—4 常用酸碱当量溶液的配制

名称	分子式	比重	% (W/W)	当量浓度	配1N溶液1升时 需加毫升数
浓硫酸	$\text{H}_2\text{SO}_4$	1.84	96	36	28
浓盐酸	$\text{HCl}$	1.19	30	12	85
浓硝酸	$\text{HNO}_3$	1.42	69.5	16	64
浓磷酸	$\text{H}_3\text{PO}_4$	1.71	85	(30, 45)	67 (以15N计)
冰醋酸	$\text{CH}_3\text{COOH}$	1.06	99.8	18	57
氢氧化铵	$\text{NH}_4\text{OH}$	0.9	$\frac{23}{(\text{NH}_3)}$	15	67
饱和氢氧化钠	$\text{NaOH}$	1.50	50	19	53

#### 2. 常用酸碱溶液的标定 (1) 氢氧化钠溶液的标定 通常以中和滴定法标定酸或碱

的浓度，氢氧化钠溶液的标定可采用邻苯二甲酸氢钾，反应如下：



由上式可知邻苯二甲酸氢钾的当量等于其分子量，且反应所消耗的NaOH与 $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ 等当量（等摩尔），所以根据消耗NaOH的体积和 $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ 的重量即可算出NaOH的浓度。

### （2）盐酸浓度的标定 标定盐酸浓度多用NaOH溶液进行中和滴定。

（3）其它酸碱浓度的标定 其它酸可参照盐酸的标定方法用NaOH溶液标定之，其它碱可用已标定精配的盐酸标定。标定时须注意所用器材不得有酸碱污染，所用蒸馏水不能含 $\text{CO}_2$ ，所用标定液的当量浓度与待标液的浓度应接近。

## 第四节 标本的采集、处理与储存

### 一 血液标本

#### （一）采血方法

临幊上最常用的是静脉采血法，其次为毛细血管采血，少数情况下还需动脉采血。

1. 静脉采血法 多选用肘静脉穿刺取血，如婴幼儿肘静脉过细不易穿刺，也可选用外颈静脉穿刺。穿刺时令病人取坐位或卧位，暴露穿刺静脉，在肘上5 cm处绑上止血带。先用碘酒消毒局部皮肤，稍待片刻，再以75%酒精拭去碘迹，然后穿刺取血。抽血时抽力不可过大，否则会引起溶血。除去针头后，将血液徐徐注入干燥试管中，如需用抗凝血，试管中应预先加好抗凝剂，并立即混匀，以免凝固。

2. 毛细血管采血法 采血部位必须无水肿、充血及血循环障碍。成人可选指尖或耳垂取血，以指尖为佳，但痛觉较敏感。小儿可选大趾或足跟采血。刺针最好用不锈钢三棱针或专用采血针，用粗针头代替亦可，必须一人一针。

（1）指尖采血 采血前先将采血部位揉软，再用酒精棉球消毒，待酒精蒸干后，用拇指与食指握紧患者中指或无名指第一关节，用刺针迅速刺入消毒部位2~3 mm，让血自然流出。如血液不易流出，可在局部稍加压力，但勿用力挤压，以免血液稀释。用干棉球擦去第一滴血，收集第二、第三滴血。取血务求迅速准确，以防血液凝固。

（2）耳垂采血 操作同指尖采血。耳垂采血痛感较轻，且患者看不见操作，可减少恐惧，但有的患者耳垂小，不易流血，且冬天耳垂白细胞计数常增高。

毛细血管血的成分与动脉血接近，某些成分如血糖、血气分析指标等与静脉血差别较大。

（3）动脉采血 采血部位多选择股动脉，其它动脉如桡动脉、肱动脉也可采用。操作时令患者仰卧，两腿分开，在腹股沟下缘摸到明显搏动处，按常规消毒，以左手固定搏动处，右手持注射器，呈60°角度刺入，刺入动脉后血液自动涌入注射器。采够所需血量后拔出针头，用干棉球压迫止血10分钟。

#### （二）抗凝剂

1 草酸钾 临幊生化检验常用，但不适用于钾和钙的测定。草酸钾溶解度大，与血液混合后可很快与 $\text{Ca}^{2+}$ 结合生成草酸钙沉淀而抗凝。通常将草酸钾配成10%的溶液，分装于小瓶或