

微量生物化学实验

彭偉堂編著

上海科学技术出版社

微量生物化学实验

彭偉堂編著

上海科学技术出版社

內 容 提 要

采用微量生物化学实验方法,来代替一般经典分析方法,可以节省大量样品、试剂,缩短操作时间,也有利于学者提高操作技术水平。

本书所载实验及其编排次序,与各高等院校一般生物化学教学大纲所列实验内容相一致,并几乎已全部包括高等院校学生所需进行的生化实验项目。

本书可供高等院校学生作实验教材,也可供生化科研工作者和医院生化检验人员参考。

微量生物化学实验

彭 偉 堂 編 著

上海科学技术出版社出版 (上海瑞金二路450号)

上海市书刊出版业营业许可证出 093 号

商务印书馆上海厂印刷 新华书店上海发行所发行

开本 650×1168 1/32 印张 10 8/32 插页 1 排版字数 270,000

1964年8月第1版 1964年8月第1次印刷

印数 1-4,500

统一书号 13119·562 定价(科六) 1.60元

序 言

微量分析与經典分析比較，具有許多优点；除适于微量样品，节省大量試剂，縮短实验時間及提高技术水平外，还可养成学生精細准确操作的优良习惯与严肃认真的科学态度。为此，作者历年來尽力嘗試修改經典分析方法为微量分析方法，一方面广泛搜集文献資料，一方面通过教学实践进行改进，現將一些行之有效的方法，搜集成册。

本书所列实验，絕大部分均經作者多次反复驗証，效果良好。內容的選擇，基本上适合高等院校生物化学教学大綱的要求；因此，对一般高等院校学生所需要进行的生化实验項目，几乎已全部包括在內，各院校可根据自己教学大綱的要求，作适当的選擇。此外，还加入一些較大型的实验，供生化专业学生及科研工作者的参考。这些实验，在目录上均注星标，对一般学生，不強調要求。在編写次序上，也尽可能与高等院校生物化学的讲课次序吻合，使理論与实践密切結合，以加强基本理論与基本知識的学习。由于近年来生化科学技术的发展，因此本书对各种层析法，瓦(Warburg)氏呼吸仪的使用及紙上电泳等近代技术，均作比較詳細的介紹。

本书对每一实验，均先介紹实验原理，列出需用仪器与試剂，并詳尽地描述操作过程；遇有特殊事項需要补充时，另加附注，使学生即在沒有教师的帮助下，也能独立完成每一实验課程。

由于作者水平所限，难免有不周与錯誤之处，敬希广大讀者賜予指示与批評。

作 者

目 录

第一章 生物化学实验

常用仪器1

一、容量器1

I. 器皿的洗涤1

II. 量器的使用1

III. 量器的校准3

二、电动离心机5

三、比色计6

I. 基本原理6

II. 常用的符号及名词9

III. 目光比色计10

IV. 光电比色计14

第二章 糖类24

一、糖类的颜色反应24

I. 莫 (Molisch) 氏反应25

II. 塞 (Seliwanoff) 氏反应26

III. 托 (Tollen) 氏反应27

IV. 拜 (Bial) 氏反应28

二、糖类的还原性29

I. 班 (Benedict) 氏反应29

II. 巴 (Barfoed) 氏反应30

III. 半乳糖的粘液酸试验31

三、醛糖与酮糖的互变32

四、脎的生成34

五、葡萄糖的发酵作用36

六、多糖的性质38

I. 多糖与碘的反应39

II. 多糖的水解40

七、糖未知物的鉴定41

八、糖类的定量42

I. 旋光计定糖法42

II. 夏、薛、哈三氏还原法43

*III. 糖元的定量45

第三章 脂类48

一、脂肪的物理性质48

I. 脂肪的溶解度48

II. 脂肪的熔点和凝固点49

二、脂肪的化学性质50

I. 脂肪的皂化作用50

II. 肥皂的分离51

III. 脂肪酸的分离52

IV. 肥皂液的表面张力53

V. 脂肪酸的卤化作用54

VI. 甘油的丙烯醛试验55

三、磷脂55

I. 粗卵磷脂的制备56

II. 卵磷脂的检验57

四、胆固醇59

I. 胆固醇的提取59

II. Liebermann-Burchard 氏检验法60

五、脂肪的定量61

I. 皂化值61

II. 碘值	63
III. 酸价	65
IV. 索(Soxhlet)氏粗脂 肪定量法	66
第四章 蛋白质及核酸	68
一、蛋白质的呈色反应	68
I. 双缩脲反应	69
II. 黄色反应	70
III. 米倫 (Millon) 氏反应	72
IV. Hopkins-Cole 氏法	73
V. 苯駢环三酮戊烴反应	74
VI. 蛋白质中硫的反应	75
VII. 亚硝基亚铁 氰酸盐反 应	76
二、蛋白质的变性和沉淀	76
I. 蛋白质的盐析作用	77
II. 用乙醇沉淀蛋白质	79
III. 用重金属沉淀蛋白质	80
IV. 用生物碱试剂沉淀蛋 白质	81
V. 用无机酸沉淀蛋白质	82
VI. 加热沉淀蛋白质	83
三、蛋白质的两性反应和等 电点的测定	84
I. 蛋白质的两性反应	85
II. 酪蛋白等电点的测定	86
四、氨基酸的甲醛滴定	87
五、氨基酸的紙上层析法	89
六、微量凱 (Kjeldahl) 氏 测氮法	94
七、核蛋白的提取、水解及 鉴定	97
*八、組織中核酸含量的測定	100

*九、用离子交换层析法分离 核苷酸	104
第五章 酶	111
一、温度对脲酶活性的影响	111
二、pH 对脲酶活性的影响	113
三、酶的激动剂与抑制剂	114
四、基质濃度对酶活性的 影响	116
五、酶的特异性	117
六、酶元的激活	118
七、尿液中淀粉酶活性的測 定	119
第六章 維生素	123
一、維生素的顏色反应	123
I. 維生素 A 的定性	123
II. 維生素 B ₁ 的定性	124
二、类胡蘿卜素的吸附层 析法	125
三、还原維生素 C 的測定	127
*四、总維生素 C 的測定	129
*五、維生素 A 的測定	132
*六、胡蘿卜素的測定	134
*七、維生素 B ₁ 的測定——螢 光法	137
*八、維生素 B ₂ 的測定——微 生物法	142
第七章 生物氧化	147
一、細胞色素体系及其抑 制	147
二、琥珀酸脫氫酶的作用及 其抑制(竞争性抑制)	149
三、乳酸脫氫酶及其輔酶的	

作用	151
四、过氧化氢酶的作用	152
五、过氧化物酶的作用	153
*六、血液中过氧化氢酶活性的测定	155
*七、血液中谷胱甘肽的测定	156
八、瓦(Warburg)氏压力計(或呼吸仪)的使用法	160
第八章 糖类代謝	167
一、胰淀粉酶对淀粉的消化	167
二、肝糖元的提取与定性	168
三、肌糖元的酵解作用	170
四、血糖的测定	172
I. “真正的”葡萄糖比色测定法	173
II. Hegedorn-Jensen 氏血糖测定法	175
五、胰岛素对血糖浓度的影响	179
六、肾上腺素对血糖浓度的影响	180
*七、血中乳酸的测定	181
*八、血中丙酮酸的测定	184
第九章 脂类代謝	186
一、胰脂酶对脂肪的消化	187
二、胆汁酸的反应	187
I. 培(Pettenkofer)氏反应	188
II. 表面張力法	188
三、尿中酮体的定性	189

四、血浆中总胆固醇的测定	190
*五、血浆中胆固醇酯的测定	192
*六、血清脂质总量的测定	194
七、血清脂肪酶活性的测定	196
第十章 蛋白质及核酸代謝	199
一、胃蛋白酶对蛋白质的消化	200
二、胰蛋白酶对蛋白质的消化	201
三、胃液中游离盐酸的檢驗	202
剛果紅試紙法	203
Töpfer 氏指示剂法	203
Gunzberg 氏试剂法	203
四、胃液中乳酸的檢驗	203
五、胃液中游离盐酸及总酸度的测定	204
六、胆汁色素的反应	206
Gmelin 氏試法	207
滤紙試法	207
Huppert-Salkowski 氏試法	207
七、氨基移換作用	207
*八、血清谷氨酸草酰乙酸氨基移換酶活性的测定	210
九、肝脏精氨酸酶的作用	213
十、血中非蛋白氮的测定	215
*十一、血中氨基酸的测定	217
十二、尿中总氮的测定	220

十三、尿中尿素的測定	221
十四、尿中尿酸的測定	224
十五、尿中肌酐的測定	225
十六、尿中氨的測定	227
十七、高蛋白膳食及低蛋白 膳食对尿中各种非 蛋白含氮物质排出 量的影响	229
第十一章 无机盐代謝	232
一、血清中鈣的測定	232
二、血清中无机磷的測定	235
三、血清中碱性磷酸酶活性 的測定	237
四、血浆中氯化物的測定	239
*五、血浆中鈉的測定	241
*六、血浆中鉀的測定	244
第十二章 血液	249
一、微量血液的鉴定	249
I. 联苯胺法	249
II. 愈創木脂法	250
III. 血晶的鉴定	251
IV. 氫合血紅蛋白的結晶	252
二、血紅蛋白及其衍生物的 分光分析	253
三、血中血紅蛋白的測定	255
四、血清蛋白质的測定	257
五、血清蛋白质的紙上电泳	260
六、血液中尿素氮的測定	264
七、血液中尿酸的測定	266
八、血液中肌酐的測定	268
*九、血液中肌酸的測定	270
十、凡登白氏定性試驗	271

十一、血浆的緩冲作用	273
十二、凝血酶元時間的測定	274
十三、血浆二氧化碳結合量 的測定	276
第十三章 尿	284
一、尿液的物理檢驗	285
I. 尿比重的測定	285
II. 尿色的檢查	286
III. 尿透明度的檢查	287
IV. 尿嗅的檢查	287
V. 尿的反应	288
二、尿中可滴定酸度的測定	288
三、尿藍母的檢驗	290
四、尿糖的定性	291
五、尿糖的定量	292
六、尿中蛋白质的定性	294
I. 加热与醋酸法	294
II. 濃硝酸法(Heller 氏反 应)	295
III. 磺柳酸法	296
七、尿中蛋白质的定量—— Esbaech 氏法	297
八、尿中尿胆素元的檢驗	297
九、尿中尿胆素的檢驗	299
附录	300
一、試剂制备法	300
二、标准緩冲溶液制备法	314
三、各种指示剂的顏色变化 及其有效 pH 範圍	317
四、常用酸碱的强度	317
五、国际原子量表(1956年)	318

第一章 生物化学实验常用仪器

一、容量器

溶液体积的精密测量是容量分析中的一项重要操作。一般地说,容量分析的误差较大于重量分析,而容积测量的误差,又是容量分析中主要误差之一。

容量分析常用的准确量器有量瓶、吸管及滴定管。要达到容积测量的准确,一方面要使用校准过的量器;另一方面要正确地准备和使用这些量器。下面先叙述量器的准备和使用方法,然后再说明量器的校正方法。

I. 器皿的洗涤

一般的玻璃仪器如烧杯、锥形瓶、试管等,可先用自来水冲洗,次用毛刷磨上肥皂,将器皿内外(特别是内壁)细心刷洗,务使多生泡沫,再用自来水将肥皂冲洗干净,最后用少量蒸馏水将器皿内部冲洗2~3次,倒置于洁净处待干。

对不便使用毛刷的器皿如吸管、滴定管、量瓶等,可先用自来水冲洗,再用清洁洗液(参阅试剂制备1)浸渍数小时,再用自来水冲洗干净,最后用少量蒸馏水冲洗2~3次。凡洗净的玻璃器皿,不应在器壁上带有水珠,否则表示尚未干净,应再依法重洗。

II. 量器的使用

1. 量瓶 要求准确配制一定浓度的溶液时,必须使用量瓶。瓶颈上的刻度,表示量瓶的装量。例如当我们准确配制100毫升的1%葡萄糖液时,可取一个100毫升容量的量瓶,放入已准确称取的纯葡萄糖1克,加蒸馏水入瓶内使葡萄糖完全溶解,最后用

水恰加至刻度,混勻后即可使用。

2. 吸管 通常生化實驗使用的吸管有刻度吸管、移液吸管及奧氏吸管 3 种:

(1) 刻度吸管: 刻度吸管有刻度到尖端的和刻度不到尖端的;有讀数从上而下的及讀数从下而上的。用前須看清楚,以免錯誤。要將所量取的液体全部从刻度到尖端的吸管放出时,須將最后在管内余留的少量液体也一并吹出;不过尖端的刻度,均不大准确,故吸滿一管分成数部分使用时,其尖端部分不宜使用。如使用刻度不到尖端的吸管,只要將液体放至下端最后的刻度为止,不应吹出最后留在管端的少量液体。刻度吸管虽然准确度較差,但使用方便,可按其刻度排出一定容量的液体,容量的使用范围也較大,故目前还有一定应用价值。

(2) 移液吸管: 此种吸管的中部有一圓柱状空泡,其固定傾出容量已經檢定,准确度比刻度吸管大。当將所量取的液体放出时,只須在最后一將吸管尖端触及受器内壁約半分钟即可,吸管尖端所余留的少量液体,可任其留于吸管内,不必吹出。

(3) 奧氏吸管: 此种吸管有一相当大的卵形空球及一短小的出口。在所有吸管中,以它的准确度最大。其固定傾出容量已經檢定,当將所量取的液体放出时,管尖所余留的少量液体,必須用口吹出,使一并流入受器内,方达到其固定的容量。此种吸管每单位容积的管内壁面积較小,故溶液粘附于管内壁的量亦較少,因此比較准确,特別是在血液化学分析上,最为常用。

不論使用上述哪一种吸管,都是以食指堵住吸管的上孔;当从液体取出后,均須先用滤紙將管的外壁稍为抹干(特別是吸取粘性大的液体,更需如此);而放出所需要液体的体积后,均須使管下端輕触受器的内壁。

3. 滴定管 滴定管是进行滴定时准确量度溶液体积的量器。常用滴定管的容量为 10~50 毫升,精密刻度至 0.10 毫升,在最小刻度之間可以估計讀出 0.01 毫升,因此讀数可以达到小数点后第 2 位。对于滴定量少的精密測定,須要采用微量滴定管,其精

密刻度刻至 0.01 毫升，在最小刻度之間可以估計讀到 0.001 毫升，因此讀數可以达到小数点后第 3 位。由滴定管流出液体的体积，可由滴定前后管内液面讀数之差来计算。

滴定管的閥門有两种：一种是玻璃活塞；一种是装在橡皮管中的玻璃小球；使用后者时，可用手捏玻璃球处的橡皮管，使形成一条窄縫，液体即沿窄縫流出。玻璃活塞滴定管不适用于碱性溶液，因活塞易被碱液腐蝕而粘住，使活塞不能轉动，但如在用后馬上进行洗滌，亦未尝不可；对于能腐蝕橡皮的液体如 KMnO_4 、 I_2 、 AgNO_3 等，則必須采用玻璃活塞滴定管。

滴定管在使用前，必須洗滌干淨，然后将玻璃活塞和塞套擦干，在活塞上涂上一薄层凡士林（注意凡士林不能涂得太多而把活塞小孔堵塞；也不能涂得太少，以免活塞不能潤滑地轉动，甚或漏水）。抹好油的活塞应当是潤滑而透明的。活塞装入塞套后，用橡皮圈扎好，以防脫落，然后装满蒸餾水，檢查活塞是否漏水，轉动是否灵活。

在装入标准溶液前，先用少量溶液洗滌滴定管 2~3 次，以免溶液的濃度被管内殘余水分所稀釋。溶液最好从原瓶直接注入滴定管，即必須保証标准溶液在轉移过程中濃度决不改变。

滴定管的刻度表示卸量，装入溶液后，应使尖端部分亦充滿液体，放卸液体时須緩而均匀，速度不能太快，更不应成液柱流下，以免液体来不及自管壁流下而致讀数不正确。当放卸一定的溶液后，須將尖端輕触受器內壁，使悬而不下的一滴溶液亦一并滴入。

滴定完毕后用水冲洗滴定管，然后装满蒸餾水并套上玻璃試管，以防尘埃落入。

III. 量器的校准

目前我国出产的精密容量器通常都符合規定的容許誤差（表 1），因此在一般的分析工作中毋須进行校准，只有在准确度要求很高的分析工作中，才需要檢驗和校准所用量器的容积。檢驗和校准的方法是称量充滿該量器（或由量器流出）的水的重量，然后根

据在該温度时水的密度来計算量器容納(或放出)的容积。

表 1 量器的容許誤差

滴定管或吸管		量 瓶	
容积(毫升)	容許誤差(毫升)	容积(毫升)	容許誤差(毫升)
5	± 0.01	50	± 0.05
10	± 0.02	100	± 0.08
25	± 0.025	200	± 0.10
50	± 0.05	500	± 0.15
100	± 0.08	1000	± 0.30

1. 量瓶的校准 在洁淨干燥并已称重的量瓶中装入蒸餾水恰至刻度处,仔細用滤紙片吸干瓶頸內壁和瓶外的水滴,然后放在适当的天平上称重(校准 250 毫升量瓶时,应称至 0.01 克;校准 1000 毫升量瓶时只須称至 0.05 克),求得水的重量,除以該温度时水的密度(表 2),即得該量瓶的真实容积。

表 2 水的 密 度

温 度 (°C)	密度(克/毫升)	温 度 (°C)	密度(克/毫升)
9	0.99876	20	0.99717
10	0.99868	21	0.99696
11	0.99858	22	0.99669
12	0.99846	23	0.99651
13	0.99834	24	0.99626
14	0.99821	25	0.99601
15	0.99807	26	0.99575
16	0.99791	27	0.99548
17	0.99774	28	0.99520
18	0.99756	29	0.99491
19	0.99737	30	0.99461

2. 吸管的校准 取干洁的吸管,吸取蒸餾水至刻度处,慢慢放入已称重而帶塞的小錐瓶中,在天平上称其重量。根据水重及該温度时水的密度,即可計算出該吸管放出液的真实体积。

3. 滴定管的校准 在洁淨的滴定管中装入蒸餾水至“0”刻

度处。放出一段水(例如 2 或 5 毫升)于已称重的带塞锥形瓶中,在
天平上称其重量。再放出一段水于同一锥形瓶中,再称其重量。如
此逐段放出和称重,直至到最后刻度为止。各段水重除以实验温
度时水的密度,即可算出每段放出液体的真实体积。

校准上述任何一种量器时,必须严格遵守它们的使用规则。

二、电动离心机

离心机的性能是利用强大的离心力以达到加速两相分离的目的。
在一般实验室内,最常用于将固体从液体中分开或将两种互
不相混的液体分开。

一种离心机所发出的离心力,可从下列方程式计算出来:

$$F = \frac{4N^2\pi^2r}{g}$$

F = 离心力(单位为地心引力)

N = 离心机每秒钟的旋转数

r = 半径(单位为厘米)

$g = 980.6$

例如某一离心机,其半径为 15 厘米,每秒钟的旋转数为 80
(即 480 r. p. m.), 将数字代入上述方程式,即求得该离心机大约
可发出 4000 倍地心引力的离心力。

将沉淀与母液分开,不外离心与过滤两法。二者各有其优点;
至于用哪一法适宜,须视实验情况而定。一般来说,如沉淀非常粘
稠或沉淀颗粒很小而易通过滤纸者,则用离心法比过滤法快速而
完全;沉淀量多而疏松或沉淀量少而又需求其量者,仍以用离心法
为宜。至于将乳液中各相分离,则除用离心法外,别无他法。

使用电动离心机时,必须严格遵守下列操作规程:

(1) 离心前须先将样品与离心管连同金属套管在天平上平
衡,务使双方重量相等,否则当离心机快速转动时甚易受损。

(2) 双方平衡后,放在离心机转盘的相对两端。

(3) 先开启电开关, 然后緩慢轉动速度調节器, 徐徐增加速度。

(4) 离心時間到达后, 应先逐步下降速度, 然后关闭电开关。

三、比 色 計

生物体内許多化学成分, 含量一般甚微, 使采用重量分析法受到很大的限制。因此在一般生化实验中, 多采用容量分析法或比色分析法; 其中以比色分析法尤为常用。

比色分析具有特殊的优越性; 例如测定物质一般不需预先分离, 这样就大大簡化了操作手續, 縮短实验時間, 同时其微量限度又远远超出了重量分析及容量分析的范围。通常一个量相当少的物质或体积較小的溶液就够作一个测定, 大大减少試剂的消耗或生物样品的用量。

比色分析的基本操作手續是将被测定的物质, 加上适当試剂, 使变为顏色溶液(测定液), 同时利用同样試剂在同样条件下作用于一定量的已知物质, 使产生相同性质的顏色溶液(标准液), 然后以此标准液与测定液比色, 即可求出测定物质在样品中的含量。

比色分析所用的仪器称为比色計。一般实验室内所用的比色計有两种: 一种是目光比色計, 另一种是光电比色計。

I. 比色分析的基本原理

比色分析的基本原理主要是根据两条著名的基本定律: 一为郎伯氏定律〔或称波格 (Bouguer) 氏定律〕; 一为比尔氏定律。现分述于下:

1. 郎伯 (Lambert) 氏定律 一束单色光在通过一溶液后, 由于溶液吸收了一部分光能, 使光的强度减低; 若溶液的濃度不变, 則溶液的厚度愈大 (或者说光在溶液中所經的路程愈长), 光綫強度的减低也愈显著 (图 1)。

若 I_0 = 光綫通过溶液前的强度

I = 光綫通过溶液后的
强度

l = 溶液的厚度

則

$$-\frac{dI}{dl} \propto I,$$

$$-\frac{dI}{dl} = kI \text{ 或 } \frac{dI}{I} = -kdl,$$

$$\int \frac{dI}{I} = -\int kdl,$$

$$\ln I = -kl + C,$$

当

$$l=0, \quad I=I_0, \quad \therefore \ln I_0 = C;$$

$$\therefore \ln I = -kl + \ln I_0,$$

$$\therefore \ln \frac{I_0}{I} = kl$$

或

$$\frac{I}{I_0} = e^{-kl}$$

若将自然对数改为以 10 为底的对数;

$$\frac{I}{I_0} = 10^{-k_1 l}, \quad k_1 = \frac{k}{2.303}$$

或

$$\frac{I_0}{I} = 10^{k_1 l}; \quad \log \frac{I_0}{I} = k_1 l$$

k_1 是一个常数, 可因光綫的波长、溶液的性质及溶液的濃度而异。

这种关系称为郎伯氏定律, 在数学上称为递减指数函数; 即光能为溶液所吸收之量, 可因光綫通过溶液的厚度的增加而增加, 但两者的改变并不成正比, 而是按照更复杂的关系而改变。为了闡明这种关系, 假設将顏色溶液分成許多等厚的薄层, 例如每层厚度 1 厘米, 并假定光的照射强度为 100 单位。根据这个定律, 每一物质层不管光照射在层上的强度如何, 将吸收一定量通过的光。現

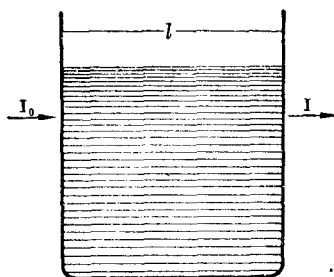


图 1 光綫通过溶液的变化

在假设每层吸收的光为射入该层光的 50%，则可获得以下一系列的结果：第 1 层从 100 个单位中吸收了 50 个单位，余剩的 50 个单位在第 2 层又丢失一半，而在第 3 层则射入了 25 个单位，其中有 12.5 个单位被吸收，以下的一层将有 6.25 个单位被吸收并依此类推。因此不论什么时候，我们都看不到射入光线达到全部被吸收的情况，这种情形，正如图 2 所示。

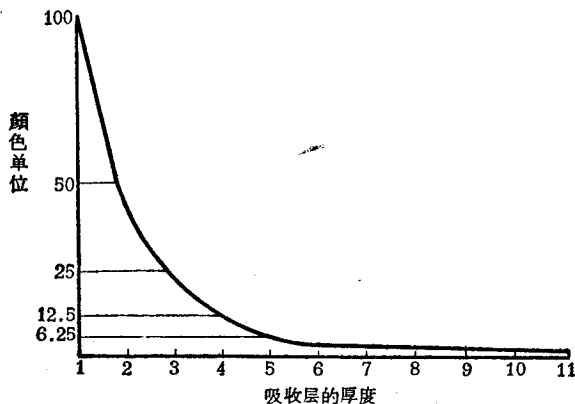


图 2 光被溶液吸收的情况

2. 比尔(Beer)氏定律 一束单色光通过一溶液后，光线的强度就要减低；若溶液的厚度不变（即光在溶液中所经过的路程不变），则溶液的浓度愈大，光线强度的减低也愈显著。

按照以上的推算，两者的关系可用以下算式来表示：

$$\log \frac{I_0}{I} = k_2 C; \text{ 或 } \frac{I_0}{I} = 10^{k_2 C}$$

C 代表溶液的浓度； k_2 为一常数，其值可因光线的波长、溶液的性质及溶液的厚度而异。

这种关系称为比尔氏定律。

将上述两条定律合并起来，则成

$$\log \frac{I_0}{I} = KCl; \text{ 或 } \frac{I_0}{I} = 10^{KCl}$$

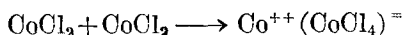
K 是一常数，可因光线的波长及溶液的性质而异。这种关系，

合称为郎伯-比尔(Lambert-Beer)氏定律,或波格-比尔(Bouguer-Beer)氏定律。

虽然所有的溶液均符合郎伯氏定律,但并非所有的溶液均符合比尔氏定律。不遵守比尔氏定律的因素,可归纳如下:

(1) 物质的解离: 有色物质常在溶液中解离成相应的离子,这些离子可能有别种颜色或完全无色。如离子的颜色与分子的颜色不同,则当解离时即将发现颜色的改变,而引起对比尔氏定律的某种误差。

(2) 形成络合物: 有些物质在浓的溶液中可形成络合物。例如:



氯化钴在很浓的溶液中呈蓝色,在稀溶液中呈玫瑰色,这是由于形成络合物的结果而使吸收光谱发生改变。

(3) 盐差: 电解质可将有色物质的电子层发生变形,而引起颜色性质的改变,故在有色物质溶液中,若有其他电解质的存在,有时可引起很大的误差。

(4) 氢离子浓度的影响: 很多有色物质的显色随氢离子浓度的改变而改变,因此在不同 pH 值的溶液中,虽然溶液的浓度相同,但常呈现不同的颜色。

此外,由于所生成物质的化学成分发生改变时,也可引起颜色的不稳定或颜色随搁置时间而改变。例如胆固醇与硫酸和醋酸酐反应所得到的物质或维生素 A 与三氯化锑溶液反应所得到的物质都是不稳定的化合物,因而可引起比尔氏定律的误差。

II. 比色分析中常用的符号及名词

$$\log \frac{I_0}{I} = KCl$$

I_0 = 进入溶液前光的强度(或入射光的强度)

I = 通过溶液后光的强度(或透过光的强度)

C = 溶液的浓度(单位: 毫克/毫升)

l = 光在溶液中所经过的距离,即溶液的厚度(单位: 厘米)