

血液和尿的化学检验 光电比色定量法



人民衛生出版社

和尿的化 檢驗

光電比色定量法

李 維 鈞 編

人民衛生出版社

一九五九年·北京

內容提要

随着我国卫生事业的迅速发展，医学检验中微量試驗法的应用已受到普遍重視，因而光电比色定量法已日益被广泛地采用。本书較系统地叙述了光电比色法的原理及其在医学检验上的具体应用。

內容共分三章：第一章对光电比色定量法作了較全面的叙述；第二章介紹了光电比色仪器各組成部分的性質，以及各种类型光电比色仪器的构造和原理等；第三章分别叙述了血液和尿中各种化学成分的光电比色定量方法，凡三十項，簡明而具体，并附原理及正常值，切合实用。

本书适合于医学检验工作者应用光电比色定量法时参考之用。

血液和尿的化学检验光电比色定量法

開本：850×1168/32 印版：6 1/2 字数：170 千字

李維鈞 編

人民衛生出版社出版

(北京審刊出版業營業許可證出字第〇四六號)

·北京崇文區萬子胡同三十六號·

人民衛生出版社印刷厂印刷

新华书店科技发行所发行·各地新华书店經售

統一書號：14048·1952

定 價： 1.10 元

1959年9月第1版—第1次印刷

(北京版)印數：1—3,000

序　　言

在医学研究和治疗中，医学检验占有重要的地位，对疾病的诊断以及观察病程的发展成为不可缺少的武器。在我国广大的医院中，已经广泛地采用光电比色定量方法来进行化学检验工作。这本书较系统地介绍了血液和尿中化学成分光电比色定量的方法，也许对医学检验工作的同志有所帮助。

在第一章里，对光电比色定量法的理论、定量方法和产生误差的原因等做了较全面而扼要的叙述，这样能对这种定量方法有全面的了解并在具体工作中有所遵循。第二章较详细地介绍了光电比色仪器各组成部分的性能、维护方法，以及各种类型光电比色仪器的构造、原理和操作要点等。如果对这些有较深入的了解，在具体工作中就会对光电比色仪器的操作、检修和维护等方面有所裨益。以上两章主要是参考仪器分析方面的书籍编写的。第三章所叙血液和尿中各种化学成分的光电比色定量方法，是以尽量符合医院实际应用和检验工作特点的原则而选择的。大部分操作方法选自斋藤正行所著“光电比色計による臨床化学検査”第七版；方法的原理，主要参考我所能查到的该书内所列的文献和 G. E. Delory 所著“Photoelectric Methods in Clinical Biochemistry”(1949)编写而成。

由于编者学识有限，且本书系在较短时间内编成，因此其中缺点和错误一定难免，诚恳地希望先辈和同志们予以批评和指正。

李維鈞 1959年4月

目 录

第一章 光电比色定量法概論	1
一、比色定量法簡史	1
二、光电比色定量法的基本理論	2
三、光电比色定量方法	9
(一)計算法	10
(二)标准工作曲綫法	10
四、光电比色定量法的誤差	12
(一)化学操作	13
(二)呈色反应速度和顏色的稳定性	13
(三)溫度	13
(四)濃度	14
(五)其他物质的影响	14
(六)測量誤差和仪器誤差	15
第二章 光电比色仪器	16
一、光电比色仪器概論	16
(一)直讀法	17
(二)示差法	17
(三)补偿法(零位法)	17
二、光电比色仪器各組成部分的性質	18
(一)光源	18
(二)滤光板和单色光器	19
(三)比色管(比色液槽)	24
(四)光电池和光电管	25
(五)电流計	32
(六)光电流调节装置和补偿器	34
三、光电比色計	36
(一)单光电池光电比色計	36
(二)双光电池光电比色計	40
1.示差式光电比色計(40) 2.补偿式光电比色計(42)	
四、光电分光光度計	49

(一)貝克曼 DU 型分光光度計	50
(二)73型光电分光光度計	52
(三)柯耳曼初級6型分光光度計	54
第三章 血液和尿中化学成分光电比色定量法	57
操作方法概述	57
一、葡萄糖	58
(一)福林(Folin)-吳宪二氏法	58
(二)苏莫杰(Somogyi)-乃勤逊(Nelson)二氏法	60
(三)福林(Folin)-馬尔路斯(Malmros)二氏法	62
(四)碳酸鈉法	65
二、淀粉酶	66
(一)碘-淀粉法	66
(二)测定还原糖法	68
三、乳酸	69
(一)对苯二酚法	69
(二)对苯基苯酚法	71
四、丙酇酸	73
2,4二硝基苯阱法	73
五、胆固醇	76
醋酸鉀法	76
A. 胆固醇总量(76) B. 胆固醇酯(77)	
六、酮体	80
二硝基苯阱法	80
七、氨基酸氮	82
(一)銅絡盐法	82
(二)萘醣碳酸鈉法	86
八、脲(尿素)氮	88
(一)脲酶-奈斯勒(Nessler)氏試剂法	88
(二)二乙醯-肟法	90
九、非蛋白氮	92
(一)奈斯勒氏試剂法	92
(二)次亞溴酸鈉法	95
十、氮总量	97
奈斯勒氏試剂法	97

十一、蛋白質	100
(一)奈斯勒氏試劑法	100
A.蛋白質总量(100) B.清蛋白(100) C.球蛋白(102)	
D.纖維蛋白原(102)	
(二)二縮脲試劑法	104
A.蛋白質总量(105) B.清蛋白(106) C.球蛋白(106)	
D.纖維蛋白原(107) E.蛋白質各類別(108)	
(三)酚試劑法	111
A 蛋白質总量(111) B.清蛋白(112) C.球蛋白(113)	
D.纖維蛋白原(113)	
(四)紙上電泳法	114
蛋白質各類別	114
十二、血紅蛋白	117
(一)氯化高鐵血紅蛋白法	117
(二)硷性正鈦血紅素法	119
十三、黃疸指數	121
麥林格拉特(Meulengracht)氏法	121
十四、胆紅素	121
(一)艾文林(Evelyn)-馬勞(Malloy)二氏法	122
(二)拉巴泡特(Rappaport)氏法	124
(三)哈里遜(Harrison)氏法	126
十五、尿酸	127
(一)氯化鈉-脲法	127
(二)甘油-矽酸鈉法	131
十六、肌酸酐、肌酸	132
(一)二硝基苯甲酸法	133
A.肌酸酐(133) B.肌酸(134)	
(二)硷性苦味酸法	137
A.肌酸酐(137) B.肌酸(138)	
十七、尿藍母	140
麝香草酚法	140
十八、抗坏血酸	142
(一)2,6-二氯酚靛酚鈉法	143
(二)2,4-二硝基苯肼法	145

十九、磷化合物	148
氨基萘酚磷酸法	148
A.无机磷(150) B.类脂磷(151) C.磷总量(152) D.酸可溶性磷总量(153)	
二十、酸性及碱性磷酸酶	154
(一)卜丹斯基(Bodansky)氏法	154
(二)金(King)-阿姆斯屈(Armstrong)二氏法	157
(三)希諾瓦拉(Shinowara)-琼斯(Jones)-莱因哈特(Reinhart)三氏法	160
二十一、氯化物	162
碘酸银法	162
二十二、硫化合物	164
N-(1茶)-乙烯二胺法	164
A.无机硫(或硫酸基)(166) B.硫酸基总量(168) C.硫酸酯的硫酸基(169) D.硫总量(170) E.中性硫(171)	
二十三、氯离子浓度(pH)	172
酚红法	172
二十四、氨	176
康维(Conway)氏小皿扩散法	176
二十五、铁	180
I. 血液铁总量	180
硫酸亚铁钾法	180
II. 铁(非血红蛋白铁)	183
(一) α , α' -二吡啶法	183
(二) 酸二氮杂菲法	185
二十六、铜	186
二乙基代氨基二甲硫基醋酸钠法	186
二十七、钙	189
磷酸钠法	189
二十八、镁	191
钛黄法	191
二十九、钠	193
醋酸轴酸锌法	193
三十、钾	196
(一) 氯化胆碱-亚铁氰化钾法	197
(二) 硫代硫酸铵法	199

第一章 光电比色定量法概論

一、比色定量法簡史

根据光綫透過不同濃度的呈色溶液，來比較透過光綫的强度的比色方法进行定量分析，这是很早就被应用的一种定量分析方法。早在 1729 年包盖尔(Bouguer)氏就提出了包盖尔氏定律(組成相同的呈色溶液，如液层厚度相等时，则色的强度相同)，以后于 1760 年郎貝特(Lambert) 氏又提出与其相近似的郎貝特氏定律(濃度相同的呈色溶液，色的强度与液层的厚度成比例)，在 1852 年贝尔(Beer)氏发表了贝尔氏定律(液层厚度相等时，色的强度与呈色溶液的濃度成比例)。以后杜包斯克(Duboscq) 氏及奈斯勒(Nessler)氏等就将这方面的理論，开始应用到定量分析化学領域中来，至今已有一百余年的历史了。杜包斯克氏在 1854 年提出他所設計的比色計，就是我們所熟知的杜包斯克比色計。从这以后，利用呈色反应依据比較溶液顏色强度的方法，进行比色定量分析方面的研究获得了巨大的进展。在 1873 年維洛特(Vierordt) 氏首先应用分光光度計，以光度法进行比色定量分析。光度法不象比色法那样比較呈色溶液顏色的强度，而是测定呈色溶液的透光度或消光度。从这以后，光度法的发展較迅速：1874 年俄国物理学家恩·格·叶高洛夫(H. Г. Еропов)氏首先将光电效应应用于比色分析工作中，他所設計的光电光度計就是現代光电比色計的雛型；1894 年出現了浦夫立許(Pulfrich)光度計；1911 年出現了貝尔格(Berg)光电比色計；1941 年出現了貝克曼(Beckman) DU 型分光光度計；近些年又出現自动記錄的分光光度計和示波器分光光度計。由于仪器的不断进步，光度法的灵敏度和准确度也不断提高，所以它的应用范围也不断的在扩大。

比色定量分析法很早就在医学化学檢驗中应用。由于医学化
学檢驗工作性質的要求，多是以同样的測定方法多次重复地将檢

驗材料进行测定；为了节省時間和劳动力，要求同时能够处理多份的檢驗材料和迅速地得出测定結果，因此测定操作必須簡易，并且测定值具有必要的准确度。另外，作为檢驗材料的体液（如血液、脑脊髓液等）采取量不能太多，故要求测定用的檢驗材料尽可能的少量；而檢驗材料中被測物质的含量又甚微小，故要求微量定量分析。光电比色定量法正是最适用于含量 $1-10^{-4}\%$ 之範圍的微量定量，并且具有操作簡易、迅速及准确度高等特点，尤其对微量复杂的有机化合物的定量分析更显得优越。因此光电比色定量法在医学化学檢驗中应用甚广。在我国各医院中早已普遍应用杜包斯克比色計进行医学化学檢驗工作，但应用光电比色定量法的目前还不够普遍，其原因主要是由于缺乏这方面的設備所致。目測比色計的主要缺点是应用白光作为光源；由于白光不是严密遵守郎貝特-貝爾氏定律，故能产生誤差，而且人的視覺对顏色的觀察亦会产生很大的主觀誤差。如果应用单色光作为光源，以光电池代替視覺器官的光电比色計，就能避免这些缺点。故无论从理論上或方法上来看光电比色計，都优于目測比色計。且光电比色計和光电分光光度計国内已能生产，有的光电比色計可以使用交流和直流兩种电源，即使在无交流电源的地方也可以应用。因此，光电比色定量法将在我国各医院的医学化学檢驗工作中被日益普遍地应用，是可以預料的。

二、光电比色定量法的基本理論

当光綫通过介质时，有选择性部分地为介质所吸收，即不同波长的光綫被吸收的程度不同。一般來講，无色透明体对可見光綫波长範圍內的光綫吸收較少，而对紫外綫和紅外綫的吸收显著；有色透明体对可見光綫表現着明显的選擇性吸收。被介质分子所吸收的輻射能轉变为分子內能，然后再轉变为其他形式的能量，这就是光綫被吸收的原因。分子吸收的情况較为复杂，其所吸收的能量，除了供改变电子运动状态的电子易位能外，还可能用来改变分子的振动状态和轉动状态所需的能量。上述分子的几种运动状态改变时皆伴随有能量的变化，若从較低能級状态升至較高能級状

态时，必须吸收相当于这两状态能量的差值的能量，这能量主要是由辐射能来获得。电子易位时所吸收的辐射能是可见光綫和紫外綫(波长400—750m μ 的辐射称为可见光綫；波长50—400m μ 的辐射称为紫外綫)。因为辐射能的大小与辐射的波长成反比，由于各种物质分子的电子易位时所需要辐射能的大小不同，故呈现选择性的吸收。光电比色仪器(光电比色計、光电分光光度計)就是测量介质对光綫吸收多少的仪器。

当光綫通过均一而透明的介质时，有一部分光綫在介质表面反射，一部分被介质所吸收，其余的则透过介质。今假定照射的光綫强度为 I_0 ，反射的光綫强度为 I_r ，被吸收的光綫强度为 I_a ，透过的光綫强度为 I ，这些数值之間有下式之关系：

$$I_0 = I_r + I_a + I$$

如以一个空白去校正反射的光綫，則反射光綫的損失可以不計。或在一系列測定中都用同一液槽，被反射光綫的強度是不變的，故由於反射而引起的誤差互相抵消。所以上式可以簡化如下：

$$I_0 = I_a + I$$

光線通过呈色溶液时，液层越厚或溶液呈色物质的濃度越大时，则透过溶液光線的强度减弱的就越大。可是透过光線强度的減弱，不但与溶液的濃度和液层的厚度有关，也和照射溶液的光線强度有关。照射溶液的光線的强度越大，则透过光線的强度就越大。在一定的液层厚度和一定的濃度，由溶液所透过的光線强度与照射光線强度成正比。今将光線强度为 I_0 的单色光線照射在 l 厚的液层上，溶液的濃度为 C ，透过光線的强度为 I ，则照射光線强度、透过光線强度与液层厚度、溶液的濃度之間有下述量的关系。依郎貝特氏定律，在濃度一定单色光通过溶液时，其透過光線的强度与通过液层之厚度的增加成指数函数的減少，即：

式中之K为与照射光綫的波长及吸收光綫物质的性质相关的常数。依贝尔氏定律，在液层厚度一定单色光通过溶液时，其透过光綫的强度与吸收光綫物质之浓度的增加成指数函数的减少，即：

式中之 K' 为与照射光线的波长及吸收光线物质的性质相关的常数。将(1)(2)两式合并，则：

式中之 ϵ 称消光系数，为与照射光线的强度、液层的厚度及溶液的浓度无关而与照射光线的波长及吸收光线物质的性质有关的常数，任何物质的吸收光线的能力可以用消光系数充分地表征出来。今将(3)式之指数式改写成对数式，则：

式中之 I/I_0 称透光度 (Transmittancy) 以 T 来表示, 即 $T = I/I_0$, 通常以其百分率来表示称为透光率, 即 $T\% = T \times 100$ 。透光度或透光率是表示光綫透过情况的量度, 而表示光綫吸收情况的量度有时用吸收度或吸收率, 即 $1 - T = A$ 称吸收度, 其百分率称吸收率, 即 $A\% = (1 - T) \times 100$ 。透光率和吸收率間的关系是互相对应地增减。例如: 当 $T\%$ 为 100 时则 $A\%$ 为零; 当 $T\%$ 为 30 时则其 $A\%$ 为 70。将(4)式变形可写成下式:

式中之 $\log \frac{I_0}{I}$ 称消光度(Extinction)或称光密度(Optical Density)，以 E 来表示，即 $E = \log \frac{I_0}{I}$ ，消光度也是表示光綫被吸收情况的量度。可将(5)式写成下式：

$$E = \log \frac{I_0}{I} = -\log T = 2 - \log(T\%) = \text{e.c.l.} \dots \dots \dots \quad (6)$$

由(6)式可以看出：(1)消光度与溶液浓度、液层厚度成正比，而透光度的对数值与溶液浓度、液层厚度成反比，此关系即为郎贝特-贝尔氏定律，为比色定量法的理论基础；(2)消光系数为单位浓度、单

位液层厚度的消光度, 即 $\epsilon = \frac{E}{c \cdot l}$ 。

在实际上，光电比色仪器所用的液槽厚度是恒定的，即液层厚度是常数，在一系列测定中都用同样厚度的液槽，所以液层厚度就可以不必考虑。由于 $I = k \cdot e \cdot k' = e'$ ，则(6)式可以简化如下：

$$E = \log \frac{I_0}{I} = -\log T = 2 - \log(T\%) = e' \cdot c \dots \dots \dots (7)$$

由(7)式可以看出：溶液的消光度与溶液浓度是成直线性的正比关系（贝尔氏定律）。如果以横轴表示溶液浓度、以纵轴表示消光度，画出浓度和消光度关系的直角坐标图象，就会得到通过原点的直线，而此直线的斜率决定于溶液的吸光系数，这图象的直线性关系是比色定量法的必要条件。从这图象就可以确定比色定量法的基本定律是否能应用于被测定的溶液。如果不是直线性，就说明不遵守比色定量法的基本定律，这种情况是常见的。影响贝尔氏定律失效的因素很多，是很复杂的，在第四节中再详加讨论。

光电比色仪器实际就是光度计，利用光电池将光线的强度成比例地转化为电流的强度，故测量电流的强度就可以知道光线的强度。将光线的强度为 I_0 和 I 的光线分别照射在光电池上，产生的光电流相应地各为 i_0 和 i ，由于光电池产生的光电流与照射光线的强度成正比的关系，则：

$$\frac{I_0}{I} = \frac{i_0}{i}$$

将此关系代入(7)式内，则：

$$E = \log \frac{i_0}{i} = -\log T = 2 - \log(T\%) = e' \cdot c \dots \dots \dots (8)$$

上式即为光电比色定量法理论根据的方程式。光电比色仪器是采用二次测量法：先使光源光线透过空白溶液（用蒸馏水代替被检试料，经与被检试料完全相同的分析操作过程所得的溶液；通常简便地只用蒸馏水作为空白溶液），其透过后的光线强度作为照射光线的强度 I_0 ，其所产生的光电流即为 i_0 ，用调节装置（如电阻、光阑、光源位置等）调节使 $i_0 = 1$ 或 $i_0 = 100$ ；然后使光源光线透过被测定的溶液，其透过后的光线强度作为透过光线强度 I ，其所产生的光电流即为 i 。根据透光度的定义：

$$\frac{i}{I_0} = \frac{i}{i_0} = T \dots \dots \dots \quad (9)$$

由于人为的规定,使 $i_0=1$,代入(9)式中则得:

i=T

这样就可以由光电比色仪器的标度尺上直接得出被测定溶液的透光度。如果人为的规定,使 $i_0=100$,代入(9)式中则得:

$$j = T \times 100 = T\%$$

这样就可以由光电比色仪器的标度尺上直接得出被测定溶液的透光率。在直读式和示差式光电比色仪器的电流计上的透光度标度尺或透光率标度尺是均匀的标度，由透光度标度值或透光率标度值，根据(8)式 $E = -\log T = 2 - \log (T\%)$ 就可以换算出相应的消光度的值，这样就得到不均匀的消光度标度尺。在消光度标度尺上消光度标度值的递增顺序，恰好与透光度标度尺或透光率标度尺相反，在消光度最小值 $E=0$ 的地方就是透光度最大值 $T=1$ 或透光率最大值 $T\% = 100$ (如图1所示)。在补偿式光电比色仪器，电流计供指零用，而透光度、消光度标度尺是在补偿器上，故由调节补偿器来抵消电流使电流计指针指零，在标度尺上就可以得出透光度或消光度的值。如在光电比色仪器上仅有任何一种标度尺时，可依(8)式透光度、透光率和消光度的关系进行换算，或由表1 透光率和消光度换算表，就可以直接查出另一种标度值。

消光度($E = -\log T = 2 - \log T\%$)

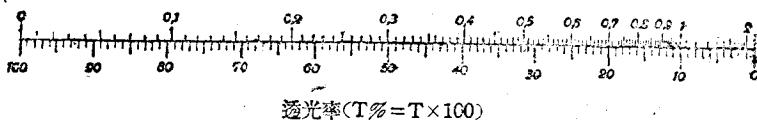


图 1 消光度和透光率标度尺

应用光电比色仪器就可以测出不同浓度的呈色溶液的消光度、透光度、透光率，再依(8)式消光度、透光度、透光率与浓度间的关系，就能够进行定量。

表 1 透光率和消光度换算表

T%	E	差	T%	E	差	T%	E	差
100	0.000	+4	63	0.201	+7	43	0.367	+5
99	0.004	+5	62	0.208	+7	42.5	0.372	+5
98	0.009	+4	61	0.215	+7	42	0.377	+5
97	0.013	+5	60	0.222	+4	41.5	0.382	+5
96	0.018	+4	59.5	0.226	+3	41	0.387	+6
95	0.022	+5	59	0.229	+4	40.5	0.393	+5
94	0.027	+5	58.5	0.233	+4	40	0.398	+2
93	0.032	+4	58	0.237	+3	39.8	0.400	+2
92	0.036	+5	57.5	0.240	+4	39.6	0.402	+3
91	0.041	+5	57	0.244	+4	39.4	0.405	+2
90	0.046	+5	56.5	0.248	+4	39.2	0.407	+2
89	0.051	+5	56	0.252	+4	39	0.409	+2
88	0.056	+5	55.5	0.256	+4	38.8	0.411	+2
87	0.061	+5	55	0.260	+4	38.6	0.413	+3
86	0.066	+5	54.5	0.264	+4	38.4	0.416	+2
85	0.071	+5	54	0.268	+4	38.2	0.418	+2
84	0.076	+5	53.5	0.272	+4	38	0.420	+3
83	0.081	+5	53	0.276	+4	37.8	0.423	+2
82	0.086	+6	52.5	0.280	+4	37.6	0.425	+2
81	0.092	+5	52	0.284	+4	37.4	0.427	+3
80	0.097	+5	51.5	0.288	+4	37.2	0.430	+3
79	0.102	+6	51	0.292	+5	37	0.432	+2
78	0.108	+6	50.5	0.297	+4	36.8	0.434	+3
77	0.114	+5	50	0.301	+4	36.6	0.437	+2
76	0.119	+6	49.5	0.305	+5	36.4	0.439	+2
75	0.125	+6	49	0.310	+4	36.2	0.441	+3
74	0.131	+6	48.5	0.314	+5	36	0.444	+2
73	0.137	+6	48	0.319	+4	35.8	0.446	+3
72	0.143	+6	47.5	0.323	+5	35.6	0.449	+2
71	0.149	+6	47	0.328	+5	35.4	0.451	+3
70	0.155	+6	46.5	0.333	+4	35.2	0.454	+2
69	0.161	+7	46	0.337	+5	35	0.456	+2
68	0.168	+6	45.5	0.342	+5	34.8	0.458	+3
67	0.174	+7	45	0.347	+5	34.6	0.461	+2
66	0.181	+6	44.5	0.352	+5	34.4	0.463	+3
65	0.187	+7	44	0.357	+5	34.2	0.466	+3
64	0.194	+7	43.5	0.362	+5	34	0.469	+2

T%	E	差	T%	E	差	T%	E	差
33.8	0.471	+3	26.2	0.582	+3	19.3	0.714	+3
33.6	0.474	+3	26	0.585	+3	19.2	0.717	+2
33.4	0.477	+3	25.8	0.588	+4	19.1	0.719	+2
33.2	0.480	+2	25.6	0.592	+3	19	0.721	+3
33	0.482	+2	25.4	0.595	+4	18.9	0.724	+2
32.8	0.484	+3	25.2	0.599	+3	18.8	0.726	+2
32.6	0.487	+3	25	0.602	+4	18.7	0.728	+3
32.4	0.490	+2	24.8	0.606	+3	18.6	0.731	+2
32.2	0.492	+3	24.6	0.609	+4	18.5	0.733	+2
32	0.495	+3	24.4	0.613	+3	18.4	0.735	+3
31.8	0.498	+2	24.2	0.616	+4	18.3	0.738	+2
31.6	0.500	+3	24	0.620	+3	18.2	0.740	+2
31.4	0.503	+3	23.8	0.623	+4	18.1	0.742	+3
31.2	0.506	+3	23.6	0.627	+4	18	0.745	+2
31	0.509	+2	23.4	0.631	+4	17.9	0.747	+3
30.8	0.511	+3	23.2	0.635	+3	17.8	0.750	+2
30.6	0.514	+3	23	0.638	+4	17.7	0.752	+3
30.4	0.517	+3	22.8	0.642	+4	17.2	0.755	+2
30.2	0.520	+3	22.6	0.646	+4	17.6	0.757	+3
30	0.523	+3	22.4	0.650	+4	17.5	0.760	+2
29.8	0.526	+3	22.2	0.654	+4	17.4	0.762	+2
29.6	0.529	+3	22	0.658	+4	17.3	0.765	+3
29.4	0.532	+3	21.8	0.662	+4	17.1	0.767	+3
29.2	0.535	+3	21.6	0.666	+4	17	0.770	+2
29	0.538	+3	21.4	0.670	+4	16.9	0.772	+3
28.8	0.541	+3	21.2	0.674	+4	16.8	0.775	+2
28.6	0.544	+3	21	0.678	+4	16.7	0.777	+3
28.4	0.547	+3	20.8	0.682	+4	16.6	0.780	+3
28.2	0.550	+2	20.6	0.686	+4	16.5	0.783	+2
28	0.552	+4	20.4	0.690	+5	16.4	0.785	+3
27.8	0.556	+3	20.2	0.695	+4	16.3	0.788	+3
27.6	0.559	+3	20	0.699	+2	16.2	0.791	+2
27.4	0.562	+3	19.9	0.701	+2	16.1	0.793	+3
27.2	0.565	+4	19.8	0.703	+3	16	0.796	+3
27	0.569	+3	19.7	0.706	+2	15.9	0.799	+2
26.8	0.572	+3	19.6	0.708	+2	15.8	0.801	+3
26.6	0.575	+3	19.5	0.710	+2	15.7	0.804	+3
26.4	0.578	+4	19.4	0.712	+2	15.6	0.807	+3

T%	E	差	T%	E	差	T%	E	差
15.5	0.810	+3	12.3	0.910	+4	9.1	1.041	+5
15.4	0.813	+2	12.2	0.914	+3	9	1.046	+5
15.3	0.815	+3	12.1	0.917	+4	8.9	1.051	+5
15.2	0.818	+3	12	0.921	+4	8.8	1.056	+5
15.1	0.821	+3	11.9	0.925	+3	8.7	1.061	+5
15	0.824	+3	11.8	0.928	+4	8.6	1.066	+5
14.9	0.827	+3	11.7	0.932	+4	8.5	1.071	+5
14.8	0.830	+3	11.6	0.936	+3	8.4	1.076	+5
14.7	0.833	+3	11.5	0.939	+4	8.3	1.081	+5
14.6	0.836	+3	11.4	0.943	+4	8.2	1.086	+6
14.5	0.839	+3	11.3	0.947	+4	8.1	1.092	+5
14.4	0.842	+3	11.2	0.951	+4	8	1.097	+5
14.3	0.845	+3	11.1	0.955	+4	7.9	1.102	+6
14.2	0.848	+3	11	0.959	+4	7.8	1.108	+6
14.1	0.851	+3	10.9	0.963	+4	7.7	1.114	+5
14	0.854	+3	10.8	0.967	+4	7.6	1.119	+6
13.9	0.857	+3	10.7	0.971	+4	7.5	1.125	+6
13.8	0.860	+3	10.6	0.975	+4	7.4	1.131	+6
13.7	0.863	+4	10.5	0.979	+4	7.3	1.137	+6
13.6	0.867	+3	10.4	0.983	+4	7.2	1.143	+6
13.5	0.870	+3	10.3	0.987	+4	7.1	1.149	+6
13.4	0.873	+3	10.2	0.991	+5	7	1.155	+6
13.3	0.876	+3	10.1	0.996	+4	6.9	1.161	+7
13.2	0.879	+4	10	1.000	+4	6.8	1.168	+6
13.1	0.883	+3	9.9	1.004	+5	6.7	1.174	+7
13	0.886	+3	9.8	1.009	+4	6.6	1.181	+6
12.9	0.889	+4	9.7	1.013	+5	6.5	1.187	+7
12.8	0.893	+3	9.6	1.018	+4	6.4	1.194	+7
12.7	0.896	+4	9.5	1.022	+5	6.3	1.201	+7
12.6	0.900	+3	9.4	1.027	+5	6.2	1.208	+7
12.5	0.903	+4	9.3	1.032	+4	6.1	1.215	+7
12.4	0.907	+3	9.2	1.036	+5	6	1.222	+7

三、光电比色定量方法

有色的被测物质的溶液或经过呈色反应使被测物质呈色的溶液，应用光电比色仪器测定其消光度或透光度，依此求出被测物质