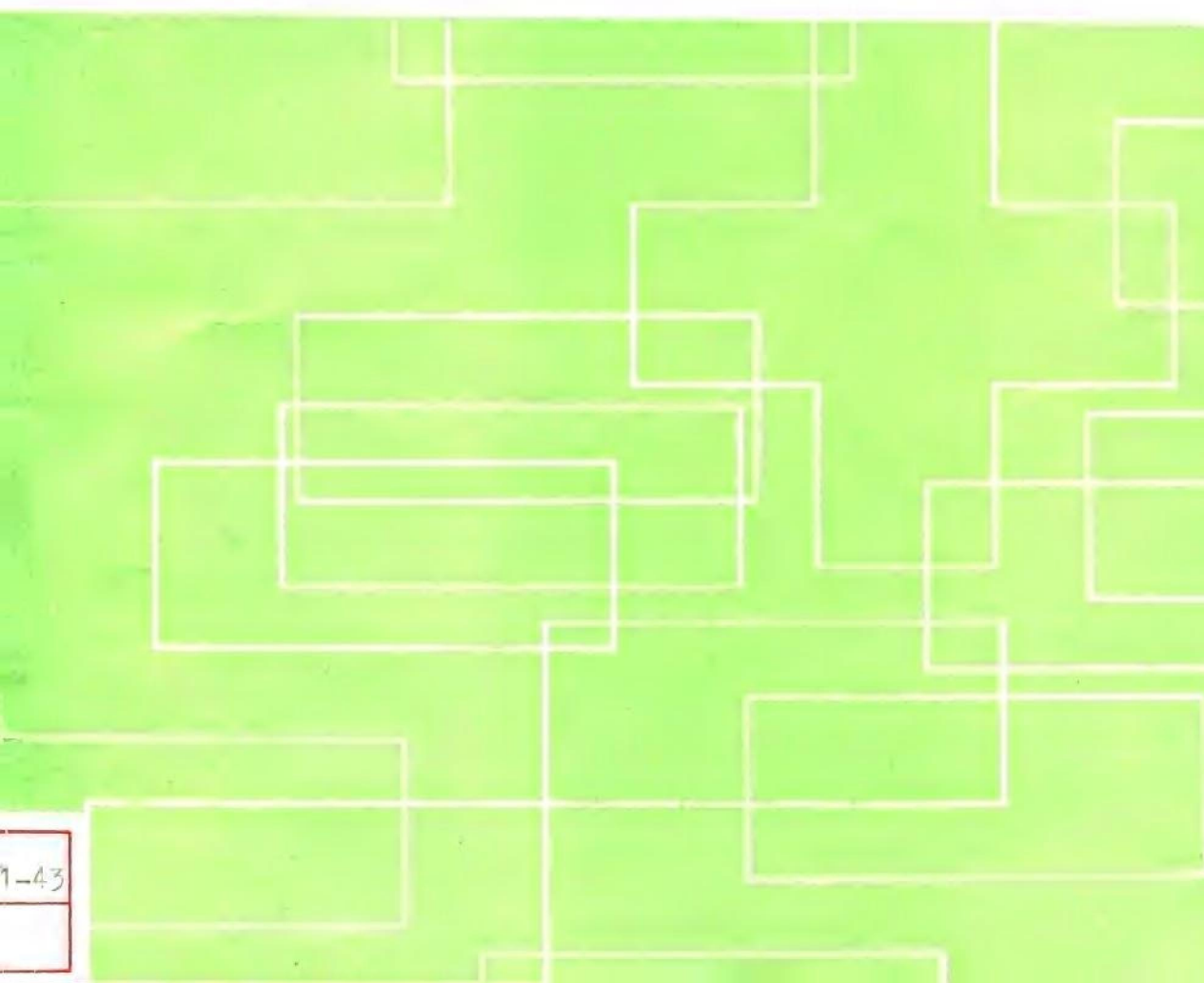


高等医药院校教材(供临床医学类医学检验专业用)

# 生物化学 检验技术

陈惠黎 主编

人 民 卫 生 出 版 社



高等医药院校教材

(供临床医学类检验专业用)

# 生物化学检验技术

陈惠黎 主编

王继贵 陆明廉

陈惠黎 倪赞明 编著

曹式芳 程务本



A0002677

人民卫生出版社



(京)新登字081号

**生物化学检验技术**

陈惠黎 主编

人民卫生出版社出版  
(北京市崇文区天坛西里10号)

北京市卫顺印刷厂印刷  
新华书店北京发行所发行

787×1092毫米16开本 21±印张 480千字  
1990年5月第1版 1993年3月第1版第4次印刷  
印数: 10 931—12 150  
ISBN 7-117-00170-4/R 171 定价: 5.60元



## 前 言

生物化学检验是医学检验的一个重要组成部份。除临床检验三大常规外，生物化学检验已成为任务最忙、项目最多的检验领域。它是将化学的原理和技术应用于生物体液成分的测定，为临床提供客观的诊断依据，并为监测疾病的发展和治疗效果提供可靠的指标。因此生物化学检验既是生物化学的一个分支，又属于临床医学、特别是诊断学的范畴，可认为是化学在临床上的应用，故在国外采用“临床化学”这一名称。

生物化学检验不但需要无机化学、有机化学、分析化学和生物化学等化学知识为基础，又和数学、物理学、电子学、生物学、免疫学等学科有密切的联系。它与临床生物化学有所不同，后者是利用生物化学的理论和技术研究疾病发生的生物化学障碍，探讨疾病的生物化学机制。

生物化学检验是一门年轻的学科，至今不过数十年的历史。开始仅是一些化学家及生理学家开发了体液生物化学的测定技术，如血糖、肌酐、蛋白质的比色测定等，项目简单，方法烦琐，多系手工操作。50年代以来，由于基础科学，包括物理学、电子学和化学的飞跃发展，新型的分析仪器层出不穷，大大地推动了生物化学检验的发展。例如从目比色计发展到可见光比色计，再到紫外分光光度计及荧光光度计，使过去无法测定的许多化合物得以测定。层析技术已从简单的纸层析发展成各种类型的柱层析，包括先进的气相层析、高效液相层析和亲和层析等；电泳则由纸电泳发展成凝胶电泳、双相电泳、等电聚焦电泳等，使性质类似而过去无法分离的化合物得以分离。又由于免疫学和同位素的原理和技术引入到生物化学检验，诸如放射酶学、放射免疫和酶标免疫等方法，使生物化学检验的测定向高灵敏、超微量和特异性发展。60年代中期，各种生物化学自动分析仪相继问世，可在1小时内将上百个样品测定20个项目以上。而且很多仪器，如光度计、层析仪都和电子计算机联用，明显地减轻了检验人员的繁重劳动，也减少了因手工操作和人工计算引起的误差，提高了测定的精确度。80年代以来，各种生物化学测定，如血糖、尿素、肌酐、蛋白质等干片法的出现，又使生物化学检验从离不开试剂溶液的“湿生化”过渡到不需要水的“干生化”，使废液垃圾的体积又大大降低，测定也更方便快速，这又是一个质的飞跃。

酶学的研究成果有力地推动了生物化学检验的发展，不但表现在诊断酶学的测定项目日趋增多，为肝胆疾病，心肌梗塞，肌肉、骨骼等疾患的诊断提供了灵敏可靠的指标。更重要的是已发现和提纯了不少工具酶，可用于测定体液中的许多成份以及其他酶的活力，开辟了酶学分析法的新技术，如血糖、胆固醇、甘油三酯等，由于酶学分析法取代了过去的化学分析，使测定的灵敏度和正确性都大大提高，而且为这些项目的自动分析奠定了基础。

分子生物学的发展也为生物化学检验输入了新的“血液”，采用核酸分子杂交技术使生物化学检验的样品已不单限于血液、尿液等液体成分，而扩大至以细胞内核酸为测定对象，并且样品的来源也不仅限于出生后的病人，而扩大至母体内的胎儿。采用羊水细胞进行先天性代谢疾病的胎内诊断，已成为生物化学检验中一个崭新的领域，此外，核

酸分子杂交技术还可应用于病毒和原虫等微生物的检测。

本教材的主要内容是介绍生物化学检验中常用技术和方法的原理及其评价,不涉及各项生化测定的临床意义,后者在《临床生物化学》教材中详细介绍;也不叙述有关测定的操作步骤及详细计算,故使用本教材的学校应另外选用或自编实验教材,以与本书配合。

本教材分为三篇。第一篇为生化检验的基本技术,共7章,包括光谱、电化学、层析、电泳、离心和核酸分子杂交,前4章属仪器分析的内容,随后两章都是生物化学测定的常用或重要技术,最后一章是生物化学检验中的自动化,介绍自动生物化学分析仪的种类的工作原理。本篇有关仪器结构的叙述均较精简,主要是使学生便于理解测定方法的原理,从应用的角度来叙述,有别于“医学检验仪器学”,后者以讲授仪器结构的有关理论为主。第二篇主要介绍生物化学检验中的一些酶学知识,计4章,包括酶活力测定中的一些理论问题,生物化学检验中的酶动力学、酶学分析以及同工酶的分离和鉴定,这些基本理论知识是一位高级检验人员所应该掌握的,而基础生物化学的知识又是本篇内容的重要基础。第三篇是常用生物化学检验项目的方法原理及其评价,共9章,每个项目都介绍几种方法并给予优缺点的比较,由于篇幅的限制,本篇不可能包罗所有生物化学测定项目。例如本篇不设无机离子测定的专章而将其插入第二章电化学内一并介绍。体液酶中有关同工酶的内容则插入第十一章中叙述等。同样,每章所述及的内容也不可能全部囊括,例如个别血浆球蛋白、大多数个别氨基酸、国内测定不多的血清酶以及作为血脂一部分的脂肪酸和其产物酮体的测定等均被省略,以使本书重点突出,便于学生学习和掌握。

本教材主要供全国高等医药院校医学检验专业本科生使用,但也可作为专科学生的选用教材,对从事生物化学检验的广大专业人员来说,本教材也可作为理论进修的参考书籍。

由于过去国内没有同样的教材可以借鉴,国外训练医学检验人员的课程设置又和国内不同,因此国外《临床化学》的教材体系并不完全适用于我国国情,本教材可以说是国内第一本有关生物化学检验技术又着重于理论的教材,编者的经验不足,水平有限,故本教材难免有错误或不足之处,希望读者予以批评指正。

陈 惠 黎

1988年11月

# 目 录

## 第一篇 生物化学检验基本技术

|                         |                            |
|-------------------------|----------------------------|
| <b>第一章 光谱技术</b> .....1  | <b>法</b> ..... 25          |
| 第一节 分子的能级和分子光谱.....1    | 一、原子吸收光谱法.....25           |
| 第二节 可见、紫外吸收光谱法 .....2   | (一) 基本原理.....26            |
| 一、可见、紫外吸收光谱 .....2      | (二) 定量关系和测定方法.....27       |
| (一) 电子跃迁和吸收带 .....2     | (三) 应用.....28              |
| (二) 吸收光谱和溶剂效应 .....3    | 二、火焰发射光谱法.....28           |
| 二、光吸收的基本定律——Lamber-Beer | (一) 定量关系.....29            |
| 定律 .....5               | (二) 干扰与消除.....29           |
| (一) Lamber-Beer定律的表达    | (三) 应用.....30              |
| 式 .....5                | <b>第二章 电化学分析技术</b> .....32 |
| (二) 吸光系数 .....5         | 第一节 离子选择电极分析法 .....32      |
| (三) 偏离 Beer定律的因素 .....6 | 一、离子选择电极分析法的基本原理           |
| 三、比色法 .....7            | 和分类.....32                 |
| (一) 有色溶液对不同波长光线的吸       | (一) 离子选择电极的基本原理.....32     |
| 收 .....7                | (二) 离子选择电极的分类.....33       |
| (二) 显色反应及其条件 .....7     | 二、基本的离子选择电极.....33         |
| (三) 比色方法和光电比色计 .....8   | (一) 晶体电极.....33            |
| 四、紫外分光光度法.....12        | (二) 非晶体电极.....34           |
| (一) 单组分的测定.....12       | 三、敏化的离子选择电极.....35         |
| (二) 多组分混合物的测定.....13    | (一) 气敏电极.....35            |
| (三) 紫外分光光度计.....16      | (二) 酶电极.....36             |
| 五、应用.....17             | 四、离子选择电极的性能.....37         |
| 第三节 比浊法和散射测浊法 .....18   | (一) 电极的响应范围及检测下限.....37    |
| 一、定量原理.....18           | (二) 电极的选择性.....37          |
| 二、影响散射光强度的因素.....19     | (三) 响应斜率和转换系数.....38       |
| 三、仪器简介.....19           | (四) 电极寿命.....38            |
| 四、应用.....19             | 五、参比电极.....38              |
| 五、测定时注意点.....20         | (一) 甘汞电极.....38            |
| 第四节 分子荧光光谱法.....21      | (二) 银-氯化银电极 .....39        |
| 一、分子的激发光谱和荧光光谱.....21   | 六、离子选择电极法的测量仪器.....39      |
| 二、定量关系和测定方法.....22      | 七、离子选择电极的定量方法.....40       |
| 三、影响荧光强度的因素.....22      | (一) 标准曲线法.....40           |
| 四、光电荧光计和荧光分光光度计.....22  | (二) 标准比较法.....40           |
| 五、应用.....23             | (三) 标准加入法.....41           |
| 六、测定时注意点.....24         | 八、离子选择电极分析方法的误差.....41     |
| 第五节 原子吸收和火焰发射光谱         | (一) 电位的测量.....41           |

|                        |    |                            |    |
|------------------------|----|----------------------------|----|
| (二) 溶液的 pH 值·····      | 42 | (一) 分离度·····               | 54 |
| (三) 温度·····            | 42 | (二) 柱选择性·····              | 55 |
| (四) 滞后效应·····          | 42 | (三) 柱效·····                | 56 |
| 九、离子选择电极法的应用实例·····    | 42 | (四) 影响分离度的因素·····          | 57 |
| (一) 血清中钠的含量测定·····     | 42 | 四、层析法的特点·····              | 57 |
| (二) 血清中钾的含量测定·····     | 42 | 第二节 纸层析法及薄层层析法 ····        | 58 |
| 第二节 阳极溶出伏安法·····       | 43 | 一、基本原理·····                | 58 |
| 一、电解过程·····            | 44 | 二、影响 $R_f$ 值的因素·····       | 59 |
| (一) 分解电位·····          | 44 | (一) 物质的化学结构·····           | 59 |
| (二) 超电位·····           | 45 | (二) 流动相对 $R_f$ 值的影响·····   | 59 |
| 二、极谱分析简介·····          | 45 | (三) pH 值对 $R_f$ 值的影响 ····· | 59 |
| (一) 极谱仪与极谱图·····       | 45 | (四) 温度的影响·····             | 59 |
| (二) 极谱分析的干扰因素及其消除····· | 46 | (五) 纸质的影响·····             | 59 |
| 三、阳极溶出法的基本原理·····      | 47 | (六) 展开方式的影响·····           | 59 |
| (一) 预电解——富集·····       | 47 | 三、纸层析法的实验技术·····           | 60 |
| (二) 休止期·····           | 48 | (一) 样品的预处理·····            | 60 |
| (三) 溶出过程·····          | 48 | (二) 滤纸的选择·····             | 60 |
| 四、阳极溶出法的工作电极·····      | 48 | (三) 点样·····                | 60 |
| (一) 悬汞电极·····          | 48 | (四) 展开剂的选择·····            | 60 |
| (二) 汞膜电极·····          | 48 | (五) 展开·····                | 62 |
| 五、定量方法·····            | 49 | (六) 显色定位·····              | 62 |
| (一) 标准曲线法·····         | 49 | (七) 定性分析·····              | 62 |
| (二) 标准加入法·····         | 49 | (八) 定量分析·····              | 63 |
| (三) 比较标准法·····         | 49 | 四、反相层析法·····               | 63 |
| 六、应用实例·····            | 49 | 五、薄层层析法的实验技术·····          | 64 |
| (一) 血清中铜的测定·····       | 49 | (一) 固定相与流动相及其选择·····       | 64 |
| (二) 血清中锌的测定·····       | 50 | (二) 薄层层析法操作技术·····         | 64 |
| 第三章 层析技术 ·····         | 51 | (三) 薄层层析法的定性及定量·····       | 65 |
| 第一节 概论 ·····           | 51 | (四) 应用·····                | 65 |
| 一、层析法的分类·····          | 52 | 第三节 离子交换层析法·····           | 65 |
| (一) 按两相所处的状态分类·····    | 52 | 一、离子交换剂·····               | 65 |
| (二) 按层析的原理分类·····      | 52 | (一) 离子交换树脂·····            | 65 |
| (三) 按操作形式不同分类·····     | 52 | (二) 离子交换纤维素·····           | 66 |
| 二、层析法中常用的术语·····       | 52 | 二、离子交换过程·····              | 66 |
| (一) 流出曲线和层析图·····      | 52 | 三、离子交换层析技术·····            | 67 |
| (二) 层析峰·····           | 52 | (一) 离子交换剂的选择·····          | 67 |
| (三) 基线·····            | 53 | (二) 交换剂的处理、再生与转型·····      | 67 |
| (四) 保留值·····           | 53 | (三) 柱的选择·····              | 67 |
| (五) 峰高和峰面积·····        | 53 | (四) 装柱及加样·····             | 67 |
| (六) 层析峰区域宽度·····       | 53 | (五) 洗脱与梯度洗脱·····           | 68 |
| 三、层析法的基本理论·····        | 54 | 四、离子交换层析的应用·····           | 69 |
|                        |    | 第四节 凝胶层析法 ·····            | 69 |

|                            |    |                  |     |
|----------------------------|----|------------------|-----|
| 一、基本原理                     | 69 | (二) 配基           | 88  |
| 二、凝胶的种类和性能                 | 70 | (三) 配基的固相化       | 88  |
| (一) 葡聚糖凝胶                  | 70 | 三、亲和层析分离         | 91  |
| (二) 聚丙烯酰胺凝胶                | 71 | (一) 装柱和平衡        | 91  |
| (三) 琼脂糖凝胶                  | 72 | (二) 亲和吸附或亲和结合    | 91  |
| (四) 混合性凝胶                  | 73 | (三) 亲和物洗脱        | 91  |
| 三、凝胶层析中应注意的几个问题            | 74 | (四) 再生           | 92  |
| (一) 柱直径与长度                 | 74 | <b>第四章 电泳技术</b>  | 93  |
| (二) 凝胶的选择                  | 74 | 第一节 基本原理和影响电泳迁移  |     |
| (三) 静水压、 $V_0$ 和 $V_i$ 的比值 | 74 | 率的因素             | 93  |
| (四) 样品的浓度和体积               | 74 | 一、基本原理           | 93  |
| 四、凝胶层析的应用                  | 75 | 二、影响电泳迁移率的因素     | 94  |
| (一) 去盐                     | 75 | (一) 电场强度         | 94  |
| (二) 高分子溶液的浓缩               | 75 | (二) 溶液的pH值       | 94  |
| (三) 用于分离提纯                 | 75 | (三) 溶液的离子强度      | 94  |
| (四) 用于测定高分子物质的分子           |    | (四) 电渗           | 95  |
| 量                          | 75 | 第二节 区带电泳技术       | 95  |
| 第五节 气相层析法                  | 76 | 一、滤纸电泳           | 96  |
| 一、气相层析的一般流程                | 76 | 二、薄层电泳           | 96  |
| 二、层析柱                      | 76 | (一) 醋酸纤维素薄膜电泳    | 96  |
| (一) 固定液                    | 76 | (二) 硅胶、氧化铝等的薄层电泳 | 97  |
| (二) 载体                     | 78 | 三、凝胶电泳           | 97  |
| 三、检测器                      | 79 | (一) 琼脂或琼脂糖凝胶电泳   | 97  |
| 四、样品的衍生化                   | 80 | (二) 淀粉凝胶电泳       | 97  |
| (一) 硅烷化法                   | 80 | (三) 聚丙烯酰胺凝胶电泳    | 98  |
| (二) 瞬时甲基化                  | 80 | 第三节 几种电泳新技术      | 102 |
| 五、程序升温技术                   | 80 | 一、等电聚焦电泳         | 102 |
| 六、定性和定量分析方法                | 80 | (一) 基本原理         | 102 |
| (一) 定性分析                   | 80 | (二) 两性电解质载体及支持介质 | 103 |
| (二) 定量分析                   | 81 | 二、转移电泳           | 104 |
| 第六节 高效液相层析法                | 84 | <b>第五章 离心技术</b>  | 106 |
| 一、概述                       | 84 | 第一节 离心理论         | 106 |
| 二、高效液相层析仪                  | 84 | 一、离心分离的原理        | 106 |
| 三、高效液相层析法的类型及其应用           | 85 | (一) 离心力          | 106 |
| (一) 液固吸附层析法                | 85 | (二) 重力           | 106 |
| (二) 液液分配层析法                | 85 | (三) 介质的摩擦阻力      | 107 |
| (三) 离子交换层析法                | 86 | (四) 浮力           | 107 |
| (四) 梯度洗脱                   | 87 | 二、沉降系数           | 108 |
| 第七节 亲和层析法                  | 87 | 三、相对离心力和离心时间     | 108 |
| 一、概述                       | 87 | 四、离心机和转子的种类      | 109 |
| 二、吸附剂的制备                   | 88 | 第二节 离心分离的种类      | 109 |
| (一) 基质                     | 88 | 一、差速离心法          | 110 |



|                        |            |
|------------------------|------------|
| 二、密度梯度离心法 .....        | 110        |
| (一) 速度区带离心法 .....      | 110        |
| (二) 预制梯度等密度离心法 .....   | 113        |
| (三) 自成梯度等密度离心法 .....   | 113        |
| 三、离心法中转子及离心管的选择 .....  | 114        |
| (一) 离心转子的选择 .....      | 114        |
| (二) 离心管的种类和性能 .....    | 114        |
| <b>第六章 核酸分子杂交技术及其应</b> |            |
| <b>用 .....</b>         | <b>117</b> |
| 第一节 核酸分子杂交技术 .....     | 117        |
| 一、核酸杂交的结构基础 .....      | 117        |
| 二、核酸分子杂交的重要材料 .....    | 117        |
| (一) 样品核酸 .....         | 117        |
| (二) 限制性核酸内切酶 .....     | 117        |
| (三) 探针 .....           | 118        |
| 三、几种常用的核酸分子杂交技术 .....  | 120        |
| (一) Southern印迹技术 ..... | 120        |
| (二) Northern印迹技术 ..... | 122        |
| (三) 斑点杂交 .....         | 122        |
| (四) 原位杂交 .....         | 122        |
| 第二节 核酸分子杂交在遗传病诊        |            |
| 断中应用 .....             | 122        |
| 一、基因诊断基本原理 .....       | 123        |
| 二、人体细胞DNA提取、纯化与纯度      |            |
| 鉴定 .....               | 123        |
| 三、DNA 分析方法 .....       | 123        |
| (一) 直接法 .....          | 123        |
| (二) 间接法 .....          | 125        |
| 第三节 核酸分子杂交技术在检测病毒      |            |
| 及寄生虫感染中的应              |            |

|                            |            |
|----------------------------|------------|
| 用 .....                    | 127        |
| 一、病毒的检测 .....              | 127        |
| (一) 病毒核酸的提取 .....          | 127        |
| (二) 病毒核酸的检测 .....          | 128        |
| 二、寄生虫感染的检测 .....           | 128        |
| <b>第七章 生化检验中的自动化 .....</b> | <b>129</b> |
| 第一节 自动生化分析仪的种类 .....       | 129        |
| 一、按反应装置的结构分类 .....         | 129        |
| (一) 流动式自动生化分析仪 .....       | 129        |
| (二) 分立式自动生化分析仪 .....       | 129        |
| 二、按同时可测项目分类 .....          | 130        |
| 三、按仪器的复杂程度和功能分类 .....      | 130        |
| 四、按测定程序可否改变分类 .....        | 130        |
| 第二节 自动生化分析仪的结构特点           |            |
| 和工作原理 .....                | 131        |
| 一、流动式生化分析仪 .....           | 131        |
| (一) 空气分段系统 .....           | 131        |
| (二) 流动注入的非分段系统 .....       | 133        |
| (三) 间歇非分段系统 .....          | 134        |
| 二、分立式自动生化分析仪 .....         | 134        |
| (一) 典型分立式分析仪 .....         | 134        |
| (二) 袋式自动生化分析仪 .....        | 135        |
| (三) 离心式自动生化分析仪 .....       | 135        |
| 第三节 各类自动生化分析仪的功能           |            |
| 特点和选用 .....                | 136        |
| 一、自动化程度 .....              | 137        |
| 二、分析效率 .....               | 137        |
| 三、工作范围 .....               | 138        |
| 四、准确度及其它 .....             | 138        |

## 第二篇 生物化学检验中的酶学知识

|                        |            |
|------------------------|------------|
| <b>第八章 酶活力测定的一些理论问</b> |            |
| <b>题 .....</b>         | <b>139</b> |
| 第一节 酶活力测定的基本知识 .....   | 139        |
| 一、酶促反应的时间进程 .....      | 140        |
| (一) 酶促反应的两个阶段 .....    | 140        |
| (二) 酶反应进程曲线和酶浓度曲       |            |
| 线 .....                | 141        |
| 二、按反应时间分类的酶活力测定方       |            |
| 法 .....                | 141        |

|                    |     |
|--------------------|-----|
| (一) 定时法 .....      | 142 |
| (二) 连续监测法 .....    | 142 |
| (三) 平衡法 .....      | 143 |
| 三、酶活力的表示法和计算 ..... | 143 |
| (一) 酶单位 .....      | 143 |
| (二) 酶活力单位的计算 ..... | 144 |
| 第二节 影响酶活力测定的一些技    |     |
| 术因素 .....          | 147 |
| 一、样品处理的影响 .....    | 147 |

|                                                   |     |                                                          |     |
|---------------------------------------------------|-----|----------------------------------------------------------|-----|
| (一) 溶血 .....                                      | 147 | 三、底物抑制和产物抑制 .....                                        | 176 |
| (二) 抗凝剂 .....                                     | 147 | (一) 底物抑制 .....                                           | 176 |
| (三) 样品储存 .....                                    | 147 | (二) 产物抑制 .....                                           | 177 |
| (四) 样品稀释 .....                                    | 148 | <b>第十章 酶学分析</b> .....                                    | 179 |
| 二、测定条件的影响 .....                                   | 148 | 第一节 工具酶 .....                                            | 179 |
| (一) 温度 .....                                      | 148 | 一、工具酶的概念 .....                                           | 179 |
| (二) pH .....                                      | 150 | 二、常用工具酶及指示反应 .....                                       | 180 |
| (三) 缓冲剂 .....                                     | 150 | (一) NAD(P) <sup>+</sup> 或NAD(P)H偶联的<br>脱氢酶及其指示反应 .....   | 180 |
| <b>第九章 生物化学检验中的酶动力</b><br><b>学</b> .....          | 152 | (二) 偶联H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 的工具酶及其指示反<br>应 ..... | 181 |
| 第一节 基本动力学 .....                                   | 152 | 三、工具酶的质量要求 .....                                         | 183 |
| 一、概说 .....                                        | 152 | 第二节 酶学分析的类型 .....                                        | 184 |
| 二、米孟氏动力学公式 .....                                  | 153 | 一、代谢物浓度的酶学分析 .....                                       | 184 |
| (一) 根据快速平衡学说推导 .....                              | 153 | (一) 终点法 .....                                            | 184 |
| (二) 根据恒态学说推导 .....                                | 154 | (二) 动力学法 .....                                           | 186 |
| 三、动力学参数的意义和应用 .....                               | 155 | 二、酶活力测定的酶学分析 .....                                       | 187 |
| (一) K <sub>m</sub> .....                          | 155 | (一) 偶联反应的基本动力学 .....                                     | 187 |
| (二) V <sub>m</sub> 和k <sub>cat</sub> 的意义 .....    | 156 | (二) 工具酶用量的计算 .....                                       | 188 |
| 四、K <sub>m</sub> 和V <sub>m</sub> 的求取 .....        | 157 | 第三节 固相酶 .....                                            | 190 |
| (一) 双倒数作图法 .....                                  | 157 | 一、固相酶的概念及特点 .....                                        | 190 |
| (二) 其他作图法 .....                                   | 158 | 二、固相化方法概述 .....                                          | 190 |
| 第二节 双底物动力学 .....                                  | 158 | (一) 吸附法 .....                                            | 190 |
| 一、双底物反应机制的分类 .....                                | 158 | (二) 包埋法 .....                                            | 190 |
| (一) 顺序机制 .....                                    | 158 | (三) 载体共价结合法 .....                                        | 190 |
| (二) 乒乓机制 .....                                    | 159 | (四) 酶分子间共价交联 .....                                       | 190 |
| 二、双底物动力学公式及参数的求取 .....                            | 160 | 三、固相酶的性质 .....                                           | 191 |
| (一) 动力学公式 .....                                   | 160 | (一) 反应专一性 .....                                          | 191 |
| (二) 动力学参数的求取 .....                                | 164 | (二) 最适温度和最适pH .....                                      | 191 |
| 三、双底物动力学公式在酶活力测定中<br>的应用 .....                    | 165 | (三) 底物亲和性 .....                                          | 191 |
| (一) 计算v/V <sub>m</sub> .....                      | 165 | 四、固相酶在生化检验中的应用 .....                                     | 191 |
| (二) 求取一定的v/V <sub>m</sub> 时两种底物的<br>浓度和最佳比例 ..... | 166 | (一) 固相酶柱 .....                                           | 191 |
| 第三节 可逆抑制作用动力学 .....                               | 168 | (二) 固相酶管 .....                                           | 192 |
| 一、同位抑制作用的主要动力学类型 .....                            | 168 | (三) 固相酶膜 .....                                           | 192 |
| (一) 竞争性抑制 .....                                   | 168 | <b>第十一章 同工酶的分离与鉴定</b> .....                              | 193 |
| (二) 反竞争性抑制 .....                                  | 169 | 第一节 同工酶的概念 .....                                         | 193 |
| (三) 非竞争性抑制 .....                                  | 171 | 一、酶的多种分子形式和同工酶的定<br>义 .....                              | 193 |
| (四) 混合性抑制 .....                                   | 173 | 二、同工酶的分类 .....                                           | 193 |
| 二、抑制常数的求取 .....                                   | 174 | (一) 原级同工酶 .....                                          | 193 |
| (一) Dixon作图法 .....                                | 174 | (二) 同一基因不同 mRNA 的同工                                      |     |
| (二) 二次作图法 .....                                   | 175 |                                                          |     |

|                   |     |                     |     |
|-------------------|-----|---------------------|-----|
| 酶 .....           | 195 | (一) 免疫抑制法 .....     | 202 |
| (三) 次生性同工酶 .....  | 195 | (二) 免疫沉淀法 .....     | 202 |
| 第二节 同工酶分离鉴定的常用方   |     | (三) 免疫测定酶蛋白法 .....  | 203 |
| 法 .....           | 196 | 四、动力学法 .....        | 204 |
| 一、电泳法 .....       | 196 | (一) 利用不同型同工酶对底物的专一性 |     |
| (一) 区带电泳法 .....   | 196 | 和亲和性不同 .....        | 204 |
| (二) 等电聚焦电泳 .....  | 201 | (二) 利用某型同工酶特异性抑制    |     |
| 二、层析法 .....       | 201 | 剂 .....             | 204 |
| (一) 离子交换层析法 ..... | 201 | (三) 联合利用同工酶的不同最适 pH |     |
| (二) 亲和层析法 .....   | 201 | 和不同底物 $K_m$ .....   | 205 |
| (三) 凝胶层析法 .....   | 201 | (四) 评价 .....        | 205 |
| (四) 评价 .....      | 201 | 五、热失活法 .....        | 205 |
| 三、免疫学法 .....      | 202 |                     |     |

### 第三篇 常用生物化学检验的原理和评价

|                     |     |                      |     |
|---------------------|-----|----------------------|-----|
| 第十二章 血液蛋白质的测定 ..... | 207 | (一) TBA 法 .....      | 216 |
| 第一节 血清总蛋白、白蛋白、球蛋    |     | (二) NBT法 .....       | 216 |
| 白测定 .....           | 207 | (三) 亲和层析法 .....      | 216 |
| 一、总蛋白测定 .....       | 207 | 第五节 血浆游离血红蛋白 .....   | 216 |
| (一) 双缩脲法 .....      | 208 | 第十三章 氨基酸及其代谢产物的测     |     |
| (二) 酚试剂法 .....      | 208 | 定 .....              | 218 |
| (三) 紫外分光光度法 .....   | 209 | 第一节 氨基酸测定 .....      | 218 |
| (四) 染料结合法 .....     | 209 | 一、氨基酸总量的测定 .....     | 218 |
| (五) 比浊法 .....       | 210 | (一) 比色法 .....        | 218 |
| (六) 折光测定法 .....     | 210 | (二) 滴定法 .....        | 218 |
| 二、白蛋白测定 .....       | 210 | 二、氨基酸分别测定 .....      | 219 |
| (一) 盐析法 .....       | 210 | (一) 层析法分离体液氨基酸 ..... | 219 |
| (二) 染料结合法 .....     | 211 | (二) 个别氨基酸及其代谢物的测     |     |
| 三、球蛋白测定 .....       | 211 | 定 .....              | 222 |
| 第二节 纤维蛋白原测定 .....   | 212 | 第二节 尿素氮测定 .....      | 225 |
| 一、凝血酶法 .....        | 212 | 一、二乙酰一肟法(直接法) .....  | 225 |
| 二、盐析法 .....         | 212 | 二、尿素酶法(间接法) .....    | 226 |
| 三、比浊法 .....         | 212 | (一) 纳氏试剂显色法 .....    | 226 |
| 第三节 粘蛋白的测定 .....    | 212 | (二) 酚-次氯酸盐显色法 .....  | 226 |
| 第四节 糖化血红蛋白和血浆蛋白     |     | (三) 酶联法 .....        | 226 |
| 的测定 .....           | 213 | (四) 干片定量法 .....      | 227 |
| 一、糖化血红蛋白的测定 .....   | 213 | 第三节 尿酸测定 .....       | 228 |
| (一) 比色法 .....       | 214 | 一、氧化还原法 .....        | 228 |
| (二) 电泳及等电聚焦法 .....  | 214 | (一) 磷钨酸法 .....       | 228 |
| (三) 离子交换层析法 .....   | 214 | (二) 杂菲铁法 .....       | 229 |
| (四) 亲和层析法 .....     | 215 | 二、尿酸酶法 .....         | 229 |
| 二、糖化血浆蛋白的测定 .....   | 215 | (一) 紫外分光法 .....      | 229 |

|                              |     |                              |     |
|------------------------------|-----|------------------------------|-----|
| (二) 酶联比色法 .....              | 229 | 化铁法 .....                    | 250 |
| (三) 酶联-紫外分光法 .....           | 230 | 二、丁酰硫代胆碱法 .....              | 250 |
| 第四节 肌酐与肌酸测定 .....            | 231 | 第七节 磷酸酶测定 .....              | 251 |
| 一、肌酐测定 .....                 | 231 | 一、碱性磷酸酶 .....                | 251 |
| (一) Jaffe 反应法 .....          | 231 | (一) $\beta$ -甘油磷酸钠法 .....    | 252 |
| (二) 酶联法 .....                | 232 | (二) 磷酸苯二钠法 .....             | 252 |
| 二、肌酸测定 .....                 | 233 | (三) 磷酸对-硝基酚法 .....           | 253 |
| (一) Jaffe 反应法 .....          | 233 | (四) 磷酸百里酚酞法 .....            | 254 |
| (二) 酶联法 .....                | 233 | 二、酸性磷酸酶 .....                | 255 |
| 第五节 血氨测定 .....               | 233 | 第八节 5'-核苷酸酶测定 .....          | 256 |
| 一、纳氏试剂显色法 .....              | 233 | 一、测磷酸盐法 .....                | 256 |
| 二、酚-次氯酸盐显色法 .....            | 234 | 二、测腺苷法 .....                 | 257 |
| 三、酶法 .....                   | 234 | 第九节 $\alpha$ -淀粉酶测定 .....    | 257 |
| <b>第十四章 体液酶测定</b> .....      | 236 | 一、淀粉酶测定法的原理 .....            | 258 |
| 第一节 乳酸脱氢酶的测定 .....           | 236 | (一) 碘淀粉比色法 .....             | 258 |
| 一、LDH测定法的原理 .....            | 237 | (二) 小分子糖产物测定法 .....          | 258 |
| (一) 比色法 .....                | 237 | (三) 染色淀粉法 .....              | 259 |
| (二) 分光光度法 .....              | 237 | 二、淀粉酶底物和测定法的评价 .....         | 260 |
| 二、LDH测定法的评价 .....            | 237 | (一) 底物问题 .....               | 260 |
| 第二节 $\gamma$ -谷氨酰转移酶测定 ..... | 238 | (二) 测定法的评价 .....             | 260 |
| 一、 $\alpha$ -萘胺定时比色法 .....   | 238 | <b>第十五章 糖类及其代谢产物的测</b>       |     |
| 二、对-硝基苯胺连续监测法 .....          | 239 | 定 .....                      | 262 |
| 第三节 转氨酶测定 .....              | 240 | 第一节 葡萄糖的测定 .....             | 262 |
| 一、转氨酶测定的原理 .....             | 240 | 一、无机化学试剂法 .....              | 262 |
| (一) 谷草转氨酶 .....              | 240 | (一) 氧化亚铜法 .....              | 262 |
| (二) 谷丙转氨酶 .....              | 241 | (二) 铁氰化钾法 .....              | 263 |
| 二、转氨酶测定法的评价 .....            | 242 | 二、邻甲苯胺法 .....                | 264 |
| (一) 比色法的评价 .....             | 242 | 三、葡萄糖氧化酶法 .....              | 265 |
| (二) 酶联-紫外连续监测法的评价 .....      | 243 | (一) 氧速率法 .....               | 265 |
| 第四节 肌酸激酶测定 .....             | 244 | (二) 偶联比色法 .....              | 266 |
| 一、比色法 .....                  | 245 | 四、己糖激酶法 .....                | 266 |
| (一) 利用顺向反应 .....             | 245 | 五、固相酶多层干片法 .....             | 267 |
| (二) 利用逆向反应 .....             | 245 | 第二节 乳酸测定 .....               | 267 |
| 二、紫外分光光度法 .....              | 246 | 一、Barker与Summerson法 .....    | 267 |
| 三、荧光法 .....                  | 247 | 二、乳酸脱氢酶法 .....               | 268 |
| 第五节 脂肪酶测定 .....              | 247 | 第三节 丙酮酸测定 .....              | 268 |
| 一、滴定法 .....                  | 248 | 一、比色法 .....                  | 268 |
| 二、比浊法 .....                  | 248 | 二、乳酸脱氢酶法 .....               | 269 |
| 第六节 胆碱酯酶测定 .....             | 248 | 第四节 D-木糖测定 .....             | 269 |
| 一、以乙酰胆碱为底物 .....             | 249 | <b>第十六章 血脂和血浆脂蛋白测定</b> ..... | 271 |
| (一) 指示剂测 pH 法 .....          | 249 | 第一节 血清总胆固醇及胆固醇酯              |     |
| (二) 剩余底物测定法——羟胺三氯            |     |                              |     |

|                         |     |                                     |     |
|-------------------------|-----|-------------------------------------|-----|
| 测定 .....                | 271 | 应 .....                             | 290 |
| 一、血清总胆固醇测定 .....        | 271 | (二) 尿或粪中胆素原的欧氏反应测                   |     |
| (一) 化学试剂显色法 .....       | 271 | 定法 .....                            | 290 |
| (二) 酶分析法 .....          | 273 | 第三节 肝对染料的排泄试验 .....                 | 291 |
| 二、血清胆固醇酯测定 .....        | 274 | 一、磺溴酞钠滞留试验 .....                    | 291 |
| 三、血清总胆固醇的正常参考值 .....    | 275 | (一) BSP的测定方法 .....                  | 292 |
| 第二节 血清高密度脂蛋白胆固醇         |     | (二) 作磺溴酞钠滞留试验时的注                    |     |
| 测定 .....                | 275 | 意事项 .....                           | 292 |
| 第三节 血清甘油三酯测定 .....      | 277 | 二、靛青绿滞留试验 .....                     | 293 |
| 一、化学试剂法 .....           | 277 | <b>第十八章 血pH测定与血气分析</b> .....        | 294 |
| (一) 甘油三酯的溶剂提取 .....     | 277 | 第一节 血pH和CO <sub>2</sub> 分压测定 .....  | 294 |
| (二) 甲醛的测定方法 .....       | 277 | 一、基本理论 .....                        | 294 |
| 二、酶分析法 .....            | 279 | 二、血pH电位测定法 .....                    | 295 |
| (一) 甘油激酶法 .....         | 279 | (一) 原理 .....                        | 295 |
| (二) 直接测定甘油法 .....       | 208 | (二) 方法 .....                        | 296 |
| 三、血清甘油三酯的正常参考范围 .....   | 208 | (三) 血PH的正常参考范围 .....                | 296 |
| 第四节 血清载脂蛋白测定 .....      | 281 | 三、血Pco <sub>2</sub> 测定 .....        | 296 |
| 一、测定方法 .....            | 281 | (一) 原理 .....                        | 296 |
| (一) 电泳法 .....           | 281 | (二) 方法 .....                        | 296 |
| (二) 免疫法 .....           | 282 | (三) 血Pco <sub>2</sub> 的正常参考范围 ..... | 298 |
| 二、载脂蛋白免疫分析法中存在的问        |     | 四、派生引出的参数 .....                     | 298 |
| 题 .....                 | 282 | (一) 血浆实际碳酸氢盐 .....                  | 228 |
| (一) 抗原问题 .....          | 282 | (二) 血浆标准碳酸氢盐 .....                  | 298 |
| (二) 抗体问题 .....          | 283 | (三) 血浆CO <sub>2</sub> 总量 .....      | 298 |
| (三) 参考标准问题 .....        | 283 | (四) 缓冲碱 .....                       | 298 |
| <b>第十七章 卟啉及其前体、胆色素以</b> |     | (五) 碱超或碱欠 .....                     | 299 |
| <b>及肝排泄性染料的测</b>        |     | 第二节 血浆二氧化碳测定法 .....                 | 299 |
| <b>定</b> .....          | 284 | 一、血浆碳酸氢盐滴定法 .....                   | 299 |
| 第一节 卟啉及其前体的测定 .....     | 284 | 二、血浆CO <sub>2</sub> 总量测定量气法 .....   | 299 |
| 一、卟啉的测定方法 .....         | 285 | 第三节 血氧测定 .....                      | 300 |
| (一) 过筛定性测定法 .....       | 285 | 一、血氧分压测定 .....                      | 301 |
| (二) 定量测定法 .....         | 285 | (一) 原理 .....                        | 301 |
| 二、卟啉前体的测定 .....         | 286 | (二) 方法 .....                        | 301 |
| (一) 尿中卟胆原过筛试验 .....     | 286 | 二、血氧饱和度测定 .....                     | 302 |
| (二) ALA和卟胆原的定量测定 .....  | 287 | 三、P <sub>50</sub> 测定 .....          | 303 |
| 第二节 胆红素及其代谢产物测          |     | 四、血氧含量与氧结合量测定——量气                   |     |
| 定 .....                 | 288 | 法 .....                             | 304 |
| 一、胆红素测定 .....           | 288 | <b>第十九章 激素及其代谢产物的测</b>              |     |
| (一) 重氮反应法 .....         | 288 | <b>定</b> .....                      | 306 |
| (二) 分光光度法 .....         | 289 | 第一节 肾上腺髓质及其代谢产物                     |     |
| 二、胆素原及胆素化合物测定 .....     | 290 | 的测定 .....                           | 306 |
| (一) 胆素原或胆素化合物的显色反       |     | 一、血浆儿茶酚胺的测定 .....                   | 306 |

|                                          |     |
|------------------------------------------|-----|
| (一) 荧光测定法 .....                          | 306 |
| (二) 放射酶学测定法 .....                        | 308 |
| 二、尿液中儿茶酚胺及其代谢产物的测定 .....                 | 308 |
| (一) 变肾上腺素 (ME) 和3-去甲变肾上腺素 (NME) 测定 ..... | 309 |
| (二) vMA 的测定 .....                        | 309 |
| 第二节 肾上腺皮质激素测定 .....                      | 310 |
| 一、血浆皮质醇荧光测定 .....                        | 310 |
| 二、尿液皮质类固醇测定 .....                        | 311 |
| (一) 尿液17-羟类固醇测定 .....                    | 311 |
| (二) 尿液17-酮类固醇的测定 .....                   | 311 |
| (三) 尿液17-生酮类固醇的测定 .....                  | 312 |
| 第三节 甲状腺激素的测定 .....                       | 313 |
| 一、竞争性蛋白结合分析法 .....                       | 313 |
| (一) 原理 .....                             | 313 |
| (二) 一些影响因素 .....                         | 313 |
| 二、放射免疫分析法 .....                          | 314 |
| (一) 抗体的制备及专一性 .....                      | 314 |
| (二) 抗原的标记 .....                          | 314 |
| (三) 测定中的一些问题 .....                       | 314 |
| (四) 正常参考范围 .....                         | 315 |
| 三、非同位素免疫分析法 .....                        | 315 |
| 四、游离甲状腺激素浓度测定 .....                      | 316 |
| (一) 间接法 .....                            | 316 |
| (二) 直接法 .....                            | 317 |
| 第四节 蛋白质和肽类激素测定 .....                     | 317 |
| 一、生物学测定法 .....                           | 138 |

|                                 |            |
|---------------------------------|------------|
| 二、放射免疫分析法 .....                 | 318        |
| 三、放射受体分析法 .....                 | 318        |
| (一) 基本原理 .....                  | 318        |
| (二) 测定中的一些问题 .....              | 319        |
| (三) Scatchard作图法 .....          | 319        |
| 四、免疫放射分析法 .....                 | 320        |
| <b>第二十章 临床生物化学检验的质量控制 .....</b> | <b>322</b> |
| 第一节 与质控有关的若干名词 .....            | 322        |
| 一、除误差以外的若干重要名词 .....            | 322        |
| 二、误差 .....                      | 323        |
| 第二节 质控材料和质控图的使用 .....           | 323        |
| 一、质控材料 .....                    | 323        |
| (一) 第一参考物质 .....                | 323        |
| (二) 第二参考物质 .....                | 324        |
| (三) 质控物质 .....                  | 324        |
| 二、质控图及其使用 .....                 | 324        |
| (一) Levy-Jenning质控图 .....       | 324        |
| (二) Westgard质控处理规则 .....        | 326        |
| (三) 分析失控时的处理 .....              | 326        |
| 第三节 临床生化检验的室内质量评价 .....         | 327        |
| 一、室内质量评价的组织形式 .....             | 327        |
| 二、室内质量评价的步骤和统计方法 .....          | 327        |
| (一) 室内质量评价活动的具体步骤 .....         | 327        |
| (二) 室内质量评价结果的统计方法 .....         | 327        |

# 第一篇 生物化学检验基本技术

## 第一章 光谱技术

光谱技术是根据物质吸收或发射辐射能而建立起来的一类分析方法。它具有灵敏度高,测定简便、快速,试样不被破坏等优点,是一种最常用的生化测定技术。光谱技术主要包括火焰发射光谱法和原子吸收光谱法,可见、紫外吸收光谱法,红外吸收光谱法和拉曼光谱法,荧光法以及浊度法等等。其中有些方法侧重于物质的定量测定,有些侧重于物质的定性及其结构分析。本章将介绍侧重于物质定量测定的方法,即可见、紫外吸收光谱法,荧光法和浊度法。

### 第一节 分子的能级和分子光谱

光是一种高速传播的电磁辐射,它具有波、粒两象性。在光谱分析中,常用的波长单位有微米( $\mu\text{m}$ )、纳米( $\text{nm}$ )和埃( $\text{\AA}$ );而常用的能量单位有焦耳(J)、卡(cal)和电子伏特(eV)等。波长愈短的光,其能量愈大。物质分子通过吸收或发射一定波长即一定能量的光而产生分子光谱,同时改变了本身的能量。

分子的总能量为电子跃迁运动、原子间的振动和分子转动等能量的总和,即:

$$E_{\text{分子}} = E_{\text{电子}} + E_{\text{振动}} + E_{\text{转动}} + \dots$$

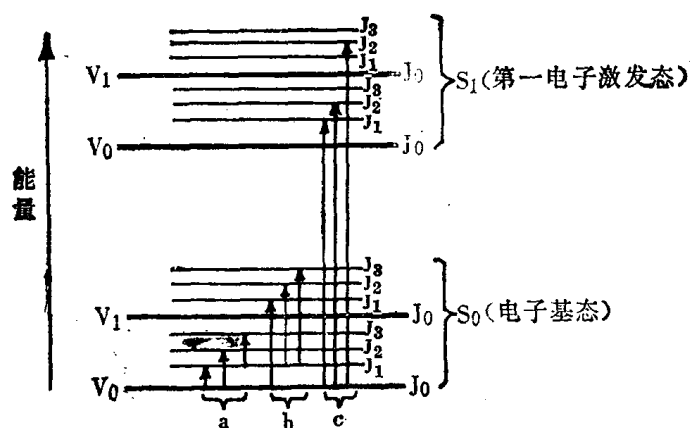


图 1-1 分子的能级和能级跃迁

图 1-1 是分子的能级示意图,它是由电子能级 ( $S=0,1,2,\dots$ )、振动能级 ( $V=0,1,2,3,\dots$ )和转动能级 ( $J=0,1,2,3,\dots$ )所组成。分子的最低电子能级  $S_0$  叫做基态,在室温下,多数分子处于基态。当辐射通过某些物质分子时,分子将吸收与其内能变化相对应的波长或频率,而由基态跃迁到较高的电子能态,这种跃迁称为激发,而分子本身成为激发态分子,这种因物质分子对辐射的选择性吸收而得到的光谱,称为吸收光谱。处于较高能态的分子(或称激发态分子)是不稳定的,当其返回基态时,便发射出相应的光谱,称分子发射光谱。若激发态分子先通过和其他分子(如溶剂分子)的碰撞,把

吸收的部分能量转变为热能，即通过无辐射跃迁过渡到能量较低的激发态，然后再以辐射形式跃迁到基态，或者直接以辐射形式跃迁到基态，通过这种方式获得的光谱，即称为荧光光谱，它是属于发射光谱的一种形式。

分子从一个能级跃迁至另一个能级的过程中，按下式吸收或发射一定能量的辐射。

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h\nu$$

若  $E_2$  的能量大于  $E_1$ ，分子吸收光子的能量恰为  $h\nu$  时，从  $E_1$  跃迁至  $E_2$ ，产生光的吸收；若分子从  $E_2$  跃迁至  $E_1$ ，就会发射出能量为  $h\nu$  的辐射。因此光的吸收或发射都是量子化的。

在分子能级中，电子能级间的间隔，即能量差最大，而转动能级间的能量差最小。分子外层电子跃迁所需辐射的波长约为  $60\text{nm} \sim 1.25\mu\text{m}$ ，其相应能量约为  $20 \sim 1\text{eV}$ 。其主要部分处于可见、紫外光谱区，故它的吸收光谱称可见、紫外吸收光谱，或称电子光谱。在电子能级跃迁的同时，伴有振动能级和转动能级的改变，因此以电子跃迁为基础的可见、紫外吸收光谱和荧光光谱都具有带状特征，在光谱图上出现一个或几个宽吸收带。

## 第二节 可见、紫外吸收光谱法

可见、紫外吸收光谱法 (Visible and ultraviolet spectrophotometry) 是根据物质分子对于  $200\text{nm} \sim 700\text{nm}$  光区电磁辐射的吸收特性进行分析的方法。其特点是：

1. 灵敏度可达  $10^{-4} \sim 10^{-7}\text{g/ml}$ ，能测定生物试样中的微量物质。
2. 选择性较强，由于组分的分子结构不同，它们的吸收光谱也不同，因此只要选择适当的分离步骤和测定条件，就能进行生物试样中的单组分或多组分的测定。
3. 精密度和准确度较高。定量测定的精密度一般为  $0.5\%$ ，若在性能较好并经调试过的仪器上测定，精密度可提高至  $0.2\%$ ，相对误差可减少至  $1 \sim 2\%$ 。
4. 仪器设备简单，操作易掌握。

### 一、可见、紫外吸收光谱

#### (一) 电子跃迁和吸收带

化合物的可见、紫外吸收光谱主要是由分子中价电子的跃迁而产生的。分子中的价电子有成键的  $\sigma$  键电子与  $\pi$  键电子，还可以有未成键的  $n$  电子。当化合物分子吸收一定的辐射能  $h\nu$  后，这些电子将从基态跃迁至能级较高的激发态，即由成键或非键轨道跃迁至反键轨道 (常用\*表示)，产生所谓的  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 、 $n \rightarrow \sigma^*$ 、 $n \rightarrow \pi^*$  和  $\pi \rightarrow \pi^*$  等四种不同类型的跃迁。实现  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  跃迁所需的能量很高，在  $200\text{nm}$  以下的远紫外区才会产生吸收，超出了可见、紫外吸收光谱所涉及的波长范围，而后三种跃迁的吸收波长位置、产生的吸收带及强度和常见发生基团见表 1-1。

有机化合物分子结构中有  $n \rightarrow \pi^*$  或  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁的不饱和基团称发色团 (chromophore)。常见的发色团有  $\text{>C=C<}$ 、 $\text{—C}\equiv\text{C—}$ 、 $\text{>C=O}$ 、 $\text{>C=O}$ 、 $\text{—C}\begin{smallmatrix} \text{O} \\ \diagup \end{smallmatrix}\text{—OH}$ 、 $\text{>C=N—}$  等。与发色团或与饱和烃相连能使吸收峰向长波长移动的带有杂原子的饱和基团，如  $\text{—OH}$ 、 $\text{—OR}$ 、 $\text{—NH}_2$ 、 $\text{X}$  等，称作助色团 (auxochrome)。使



表 1-1 电子跃迁类型及其特点

| 跃迁类型<br>特点 | $n \rightarrow \pi^*$                      | $\pi \rightarrow \pi^*$ | $n \rightarrow \sigma^*$               |
|------------|--------------------------------------------|-------------------------|----------------------------------------|
| 波长位置       | 近紫外区长波长一侧                                  | 200nm附近                 | 200nm附近                                |
| 吸收带名称      | R带                                         | 共轭双键产生K带, 苯环产生B带        | —                                      |
| 吸收强度       | 弱吸收                                        | K带强吸收, B带弱吸收            | 中强吸收                                   |
| 常见基团       | $>C=O$ 、 $-CN$ 、 $-NO$ 、 $NO_2$ 、 $-N=N$ 等 | 双键或三键                   | $-OH$ 、 $-OR$ 、 $-SR$ 、 $-NR_2$ 卤素原子X等 |

吸收峰向长波长移动的现象称深色移动 (bathochromic shift) 或红移 (red shift), 而吸收强度增加的现象称吸收增强效应或浓色效应 (hyperchromic effect)。与深色移动和吸收增强效应相反的现象分别称作浅色移动 (hypochromic shift) 或蓝移 (blue shift) 和吸收减弱效应或淡色效应 (hypochromic effect)。

## (二) 吸收光谱和溶剂效应

电子跃迁的吸收波长和吸收强度 (简称吸光度) 可用仪器测定, 在 200nm~760nm 范围内绘制或扫描得到一条以波长 ( $\lambda$ ) 为横坐标, 吸光度 ( $A$ ) 为纵坐标的吸收曲线, 称可见、紫外吸收光谱, 如图 1-2 所示。

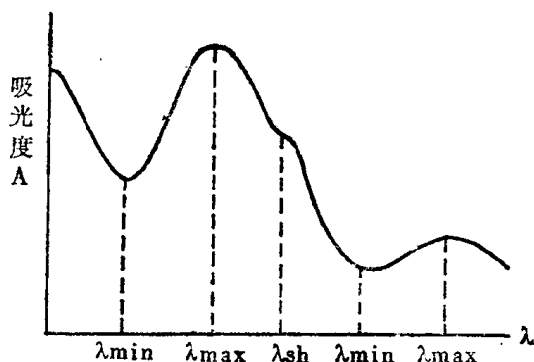


图 1-2 可见、紫外吸收光谱示意图

在吸收曲线上的峰称吸收峰, 其对应的波长称最大吸收波长, 用  $\lambda_{max}$  表示; 吸收曲线上的谷所对应的波长称最小吸收波长, 用  $\lambda_{min}$  表示; 有时在吸收峰的旁边出现一个小的曲折, 称为肩峰 (shoulder peak), 其波长用  $\lambda_{sh}$  表示; 在吸收曲线的波长最短一端, 吸收相当大, 但不成峰形的部分, 称为末端吸收 (end absorption)。

化合物在溶液中的可见、紫外吸收光谱受溶剂的影响, 会发生吸收峰位置和吸收强度的变化。溶质在非极性溶剂如己烷中得到的光谱接近于它的气态光谱。但改用极性溶剂, 由于极性溶剂和溶质间形成氢键, 使基态和激发态的电子能级发生程度不等的降低, 结果  $n \rightarrow \pi^*$  和  $\pi \rightarrow \pi^*$  的吸收带发生迁移。如图 1-3 所示, 在极性溶剂中, 实现  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁所需的能量  $\Delta E_{极}$  比在非极性溶剂中的  $\Delta E_{非}$  要大, 因此 R 带短移; 但实现  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁所需的能量  $\Delta E_{极}$  比  $\Delta E_{非}$  要小, 因此 K 带长移。溶剂除了影响溶质