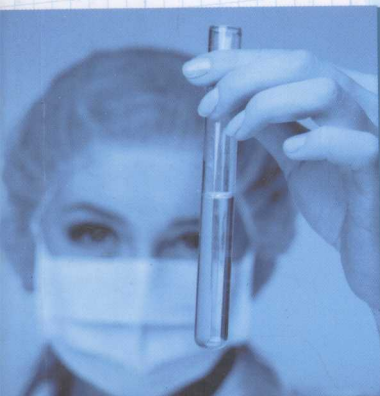




全国高等医药院校医学检验专业“十二五”规划教材

供医学检验等专业使用

李雅江 赵朝贤 ◆ 主编



临床生物化学检验实验

.....

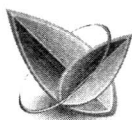
LINCHUANG SHENGWU HUAXUE JIANYAN SHIYAN

1-33



华中科技大学出版社

<http://www.hustp.com>



全国高等医药院校医学检验专业“十二五”规划教材

供医学检验等专业使用

临床生物化学检验实验

主 编 李雅江 赵朝贤

副主编 梅传忠 杨 溢 侯丽娟 王会岩

编 者 (以姓氏笔画为序)

马 雷	佳木斯大学
王会岩	吉林医药学院
李光荣	泸州医学院附属医院
李雅江	佳木斯大学
杨 溢	成都中医药大学
张 磊	吉林医药学院
张 霞	潍坊医学院
张利芳	包头医学院
武文娟	蚌埠医学院
赵朝贤	河北工程大学医学院
郝 娟	湖北中医药大学
侯丽娟	河北北方学院
陶华林	泸州医学院
高英英	佳木斯大学
梅传忠	蚌埠医学院
韩丽红	包头医学院
董青生	成都中医药大学



华中科技大学出版社

<http://www.hustp.com>

中国·武汉

内 容 简 介

本教材编写以生化检验技术内容为主线,共分14章,81个实验,每个实验包括实验目的、实验原理、器材与试剂、操作步骤、结果计算、参考区间、临床意义、注意事项、思考题。其中最后一章是临床生物化学检验的综合性设计性实验,可供学有余力的学生课外实验练习。所选实验项目内容新、技术全、代表性好、实用性强。

本教材可供医学检验专业五年制本科、四年制本科和三年制专科学生及成人教育的实验教学使用。

图书在版编目(CIP)数据

临床生物化学检验实验/李雅江,赵朝贤主编. —武汉:华中科技大学出版社,2013.9

ISBN 978-7-5609-9445-1

I. ①临… II. ①李… ②赵… III. ①生物化学-医学检验-实验-医学院校-教材 IV. ①R446.1-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 238130 号

临床生物化学检验实验

李雅江 赵朝贤 主编

策划编辑:柯其成

责任编辑:程 芳

封面设计:范翠璇

责任校对:张 琳

责任监印:周治超

出版发行:华中科技大学出版社(中国·武汉)

武昌喻家山 邮编:430074 电话:(027)81321915

录 排:华中科技大学惠友文印中心

印 刷:华中理工大学印刷厂

开 本:787mm×1092mm 1/16

印 张:16

字 数:382千字

版 次:2014年2月第1版第1次印刷

定 价:36.00元



本书若有印装质量问题,请向出版社营销中心调换
全国免费服务热线:400-6679-118 竭诚为您服务
版权所有 侵权必究

全国高等医药院校医学检验专业 “十二五”规划教材

编委会

主任委员 尹一兵 徐克前

委员(按姓氏笔画排序)

王庆林 湖南师范大学医学院
王晓娟 佛山科学技术学院医学院
尹一兵 重庆医科大学
刘永华 包头医学院
刘晓斌 延安大学医学院
权志博 陕西中医学院
邢 艳 川北医学院
阮 萍 绍兴文理学院医学院
吴俊英 蚌埠医学院
吴晓蔓 广州医科大学
张 展 郑州大学第三附属医院
李 艳 吉林医药学院
肖露露 南方医科大学南方医院
陈昌杰 蚌埠医学院

陈育民 河北工程大学医学院
郑 芳 武汉大学医学院
姜 儁 中山大学中山医学院
胡志坚 九江学院临床医学院
赵建宏 河北医科大学
夏 薇 北华大学
徐克前 中南大学湘雅医学院
贾天军 河北北方学院
陶元勇 潍坊医学院
陶华林 泸州医学院
高荣升 佳木斯大学检验医学院
梁 统 广东医学院
曾照芳 重庆医科大学

总序

ZONGXU

2011年《国家中长期教育改革和发展规划纲要(2010—2020年)》的颁发宣告新一轮医学教育改革的到来。教育部要求全面提高高等教育水平和人才培养质量,以更好满足我国经济社会发展和创新型国家建设的需要。近年来,随着科学技术的进步,大量先进仪器和技术的采用,医学检验也得到飞速发展。医学检验利用现代物理的、化学的、生物的技术和方法,为人类疾病的预防、诊断、治疗以及预后提供重要的信息。它在临床医学中发挥着越来越重要的作用。据统计,临床实验室提供的医学检验信息占患者全部诊疗信息的60%以上,因此医学检验已成为医疗的重要组成部分,被称为临床医学中的“侦察兵”。基于此,国家教育部2012年颁布的专业目录将医学检验专业人才培养定位于高水平医学检验技术人才的培养。

这些转变都要求教材的及时更新,以适应新形势下的教学要求和临床实践。但是已经出版的医学检验教材缺乏多样性、个性和特色,不适应新的教学计划、教学理念,与临床实践联系不够紧密。已出版的相关教材与新形势下的教学要求和人才培养不相适应的矛盾日益突出,因此,加强相关教材建设已成为各相关院校的目标和要求,新一轮教材建设迫在眉睫。

为了更好地适应医学检验专业的教学发展和需求,体现最新的教学理念,突出医学检验的特色,在认真、广泛调研的基础上,在医学检验专业教学指导委员会相关领导和专家的指导和支持下,华中科技大学出版社组织了全国40所医药院校的近200位老师编写了这套全国高等医药院校医学检验专业“十二五”规划教材。本套教材由国家级重点学科的教学团队引领,副教授及以上职称的老师占85%,教龄在20年以上的老师占70%。教材编写过程中,全体参编人员进行了充分的研讨,各参编单位高度重视并大力支持教材的编写工作,各主编及参编人员付出了辛勤的劳动,这确保了本套教材的编写质量。

本套教材充分反映了各院校的教学改革成果和研究成果,教材编写体系和内容均有所创新,在编写过程中重点突出以下特点。

(1) 教材定位准确,体现最新教学理念,反映最新教学成果,紧密联系最新的教学大纲和临床实践,注重基础理论和临床实践相结合,体现高素质复合人才培养的要求。

(2) 适应新世纪医学教育模式的要求,注重学生的临床实践技能、初步科研能力和创新能力的培养。突出实用性和针对性,以临床应用为导向,同时反映相关学科的前沿知识和发展趋势。

(3) 实验课程教材内容包括基础实验(基础知识、基本技能训练)、综合型实验、研究创新型实验(以问题为导向性的实验)等,所选实验项目内容新、代表性好、实用性强,反映新技术和新方法。



(4) 实现立体化建设,在推出传统纸质教材的同时,很多教程立体化开发各类配套电子出版物,打造为教学服务的共享资源包,为学校的课程建设服务。

本套教材得到了医学检验专业教学指导委员会相关领导专家和各院校的大力支持与高度关注,我们衷心希望这套教材能为高等医药院校医学检验教学及人才培养作出应有的贡献。我们也相信这套教材在使用过程中,通过教学实践的检验和实际问题的解决,能不断得到改进、完善和提高。

全国高等医药院校医学检验专业“十二五”规划教材

编写委员会

前言

QIANYAN

《临床生物化学检验实验》的编写宗旨是:进一步提升临床生物化学检验技术,进一步加强与临床的结合;从内容到形式都体现“更新、更精”;既能反映本学科的前沿知识和发展趋势,又能紧紧围绕人才培养目标的实际需要。本教材适用于医学检验专业五年制本科、四年制本科和三年制专科学学生及成人教育的实验教学使用。

本教材编写遵循医学检验专业培养目标,并适应新世纪医学教育模式的要求,注重学生的基本知识、基本临床实践技能和初步科研能力的培养,同时体现简洁、实用的指导思想。教材编写以生化检验技术内容为主线,共分 14 章,81 个实验,每个实验包括实验目的、实验原理、器材与试剂、操作步骤、结果计算、参考区间、临床意义、注意事项、思考题。实验内容力求与临床融合。其中最后一章是临床生物化学检验的综合性设计性实验,可供学有余力的学生课外实验练习。所选实验项目内容新、技术全、代表性好、实用性强,不仅能节省课时,还能提高实验效果。

在本教材编写过程中,得到了华中科技大学出版社的支持和指导,得到了佳木斯大学、河北工程大学医学院、蚌埠医学院、成都中医药大学、河北北方学院、吉林医药学院、泸州医学院、湖北中医药大学、包头医学院、潍坊医学院等全国十几所高等医药院校的热情关心和支持,同时得到检验医学界许多老教授的指点和帮助,在此一并表示真诚的谢意。尽管编委们都已尽了最大努力,但由于水平有限,书中难免存在疏漏和不当之处,恳请使用本教材的学生、老师、同行专家及广大读者们提出宝贵意见!

编 者

目录

MULU

第一章 临床生物化学实验室基本知识和基本技术	/ 1
第一节 临床生物化学实验室基本知识	/ 1
第二节 临床生物化学实验室基本技术	/ 7
第二章 血清蛋白质测定	/ 19
第一节 血清总蛋白测定	/ 19
第二节 血清清蛋白测定	/ 21
第三节 血清前清蛋白测定	/ 24
第四节 血清蛋白质电泳	/ 27
第三章 糖代谢紊乱的测定	/ 33
第一节 血清(浆)葡萄糖测定	/ 33
第二节 葡萄糖耐量试验	/ 37
第三节 糖化蛋白测定	/ 39
第四章 脂类代谢紊乱的测定	/ 44
第一节 血清(浆)脂类测定	/ 44
第二节 血清(浆)脂蛋白的测定	/ 49
第三节 载脂蛋白测定	/ 58
第五章 电解质测定及血气分析	/ 61
第一节 离子选择电极法测定血清电解质	/ 61
第二节 血清氯化物的测定	/ 66
第三节 血清总钙测定	/ 68
第四节 血清无机磷测定	/ 73
第五节 血清镁测定	/ 75
第六节 血气分析	/ 78
第六章 血清酶活性测定	/ 83
第一节 固定时间法测定血清酶活性	/ 83
第二节 连续监测法测定血清酶活性	/ 99
第七章 肝脏疾病的生物化学检验	/ 112
第一节 胆红素测定	/ 112
第二节 胆汁酸测定	/ 118
第三节 血液乙醇测定	/ 120
第四节 血浆氨测定	/ 122



第八章 肾脏疾病的生物化学检验	/ 126
第一节 血清尿素测定	/ 126
第二节 血清肌酐测定	/ 130
第三节 尿酸测定	/ 135
第四节 胱抑素 C 测定	/ 139
第五节 β_2 -微球蛋白测定	/ 140
第九章 心血管系统疾病的生物化学检验	/ 143
第一节 乳酸脱氢酶/肌酸激酶同工酶测定	/ 143
第二节 心血管系统疾病的其他生物化学检验	/ 148
第十章 常用治疗药物监测	/ 157
第一节 强心苷类药物浓度监测	/ 157
第二节 抗癫痫药物浓度监测	/ 159
第三节 免疫抑制药物浓度监测	/ 162
第四节 抗心律失常药物浓度监测	/ 164
第五节 抗哮喘药物浓度监测	/ 166
第六节 氨基糖苷类抗生素浓度监测	/ 169
第十一章 临床生化检验方法学和试剂盒质量评价试验	/ 171
第一节 临床生化检验方法学评价试验	/ 171
第二节 临床生物化学检验试剂盒质量评价试验	/ 184
第十二章 质量控制	/ 192
第一节 室内质量控制	/ 192
第二节 室间质量评价	/ 195
第十三章 生化分析仪的使用	/ 202
第一节 半自动生化分析仪的使用	/ 202
第二节 全自动生化分析仪的使用	/ 208
第十四章 临床生物化学检验的综合性、设计性实验	/ 214
第一节 综合性、设计性实验的基本思想和原理	/ 214
第二节 综合性、设计性实验的基本原则和方法	/ 215
第三节 临床生物化学检验综合性、设计性实验	/ 217
附录 常用临床生化检验参考区间	/ 238

第一章 临床生物化学实验室 基本知识和基本技术



第一节 临床生物化学实验室基本知识

一、生化实验室一般规则

1. 严肃、认真、积极、主动地上好实验课。保持实验室安静、整洁,穿戴好隔离衣,不得穿拖鞋、背心出入实验室。

2. 实验前根据实验计划,认真预习实验指导,了解实验目的、原理、操作、注意事项。实验后及时整理实验记录,处理数据,按要求完成实验报告。

3. 爱护实验器材,节约药品。第一次实验时要按实验器材清单进行清点,如有缺损应向准备室老师换取;清点完毕后签名,个人领用仪器应加锁保管,禁止私开他人仪器柜。在使用时如有破损,应填写破损单,经指导老师检查后到准备室换领,期终如数交还。如有损坏,按学校规定赔偿。对于贵重仪器,如生化分析仪、离心机等,使用前应熟悉使用方法,严禁随意开动。

4. 保持实验台整洁,试剂、实验器材应整齐按次序放置。实验完毕要按各类实验器材的清洗方法和要求进行清洗。固体废物如滤纸、玻璃纸、棉花、血块等不要倒入水池,以免堵塞下水管。一般废液可倒入水池冲走,但强酸强碱溶液必须用水大量稀释,以免腐蚀管道。

5. 注意防火,防事故。使用乙醚、苯、乙醇等易燃有机溶剂时,须远离火源,不能直接在电炉、酒精灯上加热。如有火险发生应先关电源;有机溶剂着火时,勿用水浇泼,以免扩大燃烧面积,可用砂土或灭火器灭火。凡强酸、强碱及有毒液体,勿用口吸,吸取此类物品的吸管不准乱甩,试管内容物加热时管口不要对着人,以免伤人。

6. 节约水电,一经用完随手关闭水门、电门。

二、临床生化检验的申请方式及检验流程

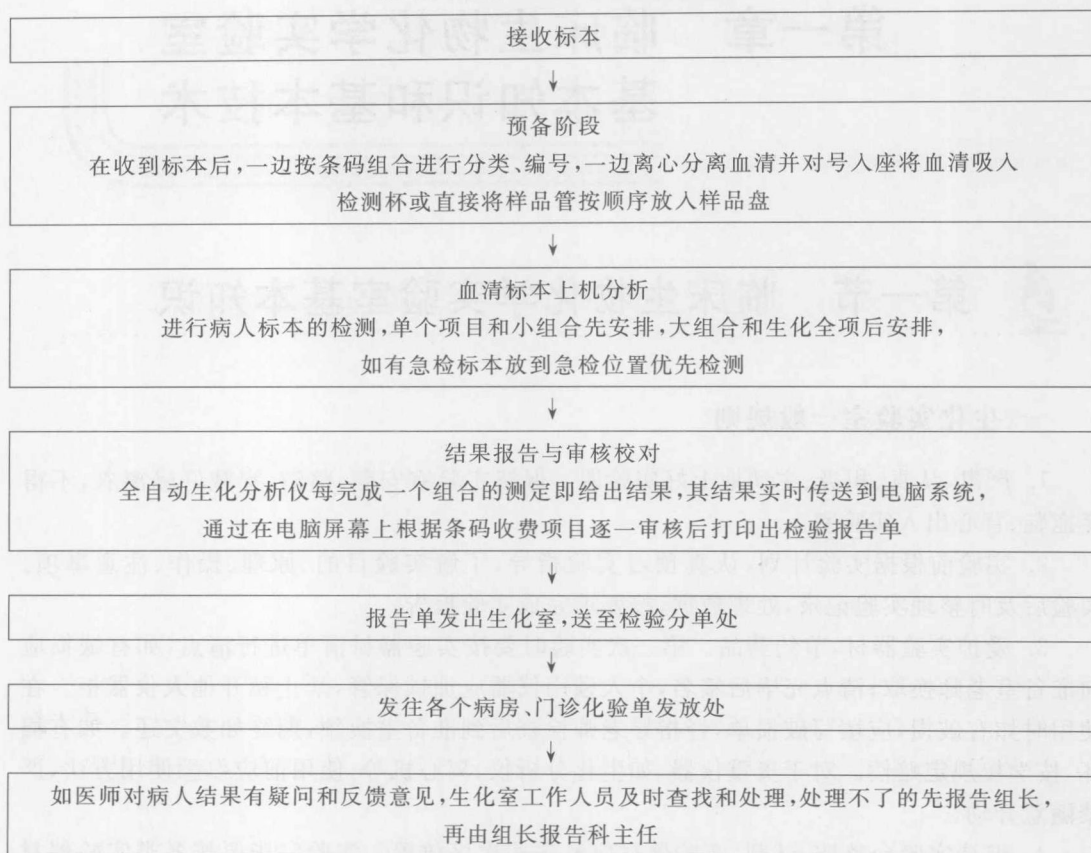
1. 临床生化检验的申请方式 检验申请单是医疗文件的重要组成部分,要求书写整洁、字迹清楚、术语确切、不得涂改。各项检查申请单由主治医师按规定逐项填写,眉栏项目不得遗漏,标明送检标本名称,送检标本上所贴号码应与申请单上号码一致。检验申请单应包括临床诊断、检查目的、申请日期,由医师签全名或盖印章。急诊或需紧急检查,应在申请单右上角注明“急”字。复查者应注明前次检查的编号和异常结果。对于电子检验



申请单,同样需要认真、详细地填写。

2. 临床生化检验的检验流程 以血清标本为例,其临床生化检验的检验流程见表1-1。

表 1-1 临床生化检验的检验流程



3. 检验单的报告

(1) 检验报告单的书写要求:①检验报告单应由主检化验员用蓝色或黑色圆珠笔填写(或打印);②填写时应认真核对检验原始记录,做到书写清晰、用语规范、数据完整准确、结论明确。

(2) 检验报告单(图 1-1)的书写内容:①检验报告单格式规范、统一,有书写制度;②报告单提供中文或中英文对照的检测项目名称,项目名称符合相关规定;③检验报告采用国际单位或权威学术机构推荐单位,并提供参考区间;④检验报告单包含充分的病人信息、标本类型、样本采集时间、结果报告时间;⑤有双签字(检验者和审核者)。

(3) 检验结果的报告时间能够满足临床诊疗的需求。例如:①临检常规项目 ≤ 30 min 出报告;②生化、免疫常规项目 ≤ 1 个工作日出报告;③微生物常规项目 ≤ 4 个工作日;④时限符合率 $\geq 90\%$ 。

三、实验室注意事项

临床生物化学检验实验室的特殊环境使得操作者经常面临一些安全隐患,包括各种污染和操作风险。例如在实验操作中常常使用易碎的玻璃器材和瓷质器皿,会用到以煤气、



是易燃物(如乙醚、丙酮、乙醇、苯、金属钠等)时,应避免靠近火焰。低沸点的有机溶剂禁止在火上直接加热,只能在水浴上利用回流冷凝管加热或蒸馏。③实验产生的废液应倒入指定容器内,尤其是强酸和强碱不能直接倒在水槽中,应由专人负责处理。④有毒物品应按实验室的规定办理审批手续后领取,使用时严格操作,用后妥善处理。

3. 消防安全 ①首次进入实验室开始实验前,应了解煤气总阀门、水阀门及电闸所在处。离开实验室时,一定要将室内检查一遍,将水、电、煤气的开关关好。②使用电器设备(如烘箱、恒温水浴、离心机、电炉等)时,严防触电。绝不可用湿手或在眼睛旁视时开关电闸和电器开关。操作前用试电笔检查电器设备是否漏电,凡是漏电的仪器,一律不能使用。③如果不慎倾出了相当量的易燃液体,则应立即关闭室内所有的火源和电加热器,开启窗户通风,用毛巾或抹布擦拭洒出的液体,并将液体拧到大的容器中,然后再倒入带塞的玻璃瓶中。④易燃和易爆炸物质的残渣(如金属钠、白磷、火柴头)不得倒入污物桶或水槽中,应收集在指定的容器内。实验中一旦发生火灾应保持镇静。首先立即切断室内一切火源和电源,然后根据具体情况正确地进行抢救和灭火。

四、玻璃仪器的清洗、使用与校正

(一) 玻璃仪器的清洗

1. 新购置的玻璃仪器 新购置的玻璃仪器都有游离碱存在,可先用合成洗涤剂刷洗,再用1%~2%盐酸浸泡2~6 h,除去游离碱,再用自来水冲洗,最后用蒸馏水冲洗几次,晾干或烘干备用。经过清洗之后的玻璃量器,其清洁与否的标志是当水面下降或上升时与器壁接触处形成正常的弯月面,水流出时器壁上无水珠附着。

2. 一般仪器 烧杯、试管、离心管等普通玻璃仪器可直接用毛刷蘸洗衣粉刷洗,然后用流水冲洗,最后用蒸馏水冲洗2~3次,倒置控干即可。

3. 容量仪器 凡不能用毛刷刷洗的玻璃器皿,如比色器皿、容量瓶、刻度吸管等,用自来水冲洗数次,再用蒸馏水冲洗2~3次晾干即可。如果仍然不干净,则须干燥后用铬酸洗液浸泡数小时,再用清水和蒸馏水冲洗。

4. 污染玻璃器皿的清洗 清洗污染过血、尿等标本的试管或吸管时,应先将其中所含试样倒入盛有2%次氯酸溶液的容器中,并用水冲洗2~3次后,浸泡在重铬酸清洁液中过夜,再用自来水和蒸馏水冲洗。一般的试管、量瓶、烧杯等,先倒掉试样后,用水冲洗2~3次,并用洗涤剂洗刷或浸泡,然后用自来水冲洗干净,再用蒸馏水冲洗1~2次,干燥后备用。吸管、滴管类器皿由于管口较细,用后可以放在盛有消毒液(如过氧乙酸)的玻璃筒内浸泡,次日取出,用流水冲洗,沥干后,浸泡在重铬酸清洁液中过夜,再用自来水和蒸馏水冲洗后干燥。

5. 玻璃量器的特殊处理方法

(1) 被石蜡、凡士林或其他油脂类污染的玻璃量器要单独洗涤,洗涤前,首先去油脂(将量器倒放于具有强吸水力的几层厚纸上,置于100℃烤箱中烘烤半小时,使油脂熔化后被厚纸吸收,再置于碱性溶液中煮沸趁热洗刷,即可去除油脂),然后再按一般洗涤要求进行。

(2) 被染料污染的玻璃量器,先用清水初步清洗,再置于重铬酸清洁液或稀盐酸中浸泡即可除去;如使用3%盐酸乙醇溶液,清洗效果更好。

(3) 盛过强酸、强碱及高浓度试剂的玻璃量器,倾去液体后,应先用自来水冲洗数次,再放在一起洗涤。

(4) 微量元素测定的一整套玻璃器皿应单独清洗,先以稀硝酸浸泡,再用去离子水冲洗。

6. 干燥 玻璃量器经洗涤清洁后,一般多在晾架上倒挂自然干燥,也可置烤箱中 80°C 以下烤干。洗净以后的滴定管、吸管等量出式量器对干燥要求并不十分严格,但对容量瓶等量入式量器必须予以干燥,否则会带来一定误差。

7. 几种洗涤液的配制和应用

(1) 重铬酸清洁液:此种清洁液配方较多,常用配方有:重铬酸钾 1000 g,加热水 2 L,搅拌使其溶解,待冷后,缓缓加入浓硫酸 10 L,加入硫酸时,速度不能过快,以免产生高热而使容器破裂,更不能把重铬酸钾水溶液加入硫酸中,以耐酸陶瓷缸为最佳容器。清洗时,将吸管、试管等玻璃器皿用耐酸塑料带扎紧后浸入,务必使管腔内注满清洁液。上述器皿浸泡时间应在 12 h 以上,然后取出,用流水冲洗干净,务必不让酸液有残留。比色器皿不能刷洗,应放在清洁液中浸泡 6 h 以上,此法清洁效果较好。清洁液的吸湿性极强,可吸收空气中的水分而变稀,平时使用后,应及时加盖。清洁液的颜色由棕黄色变为绿色,表示效力已降低,应重新配制。

(2) 乙二胺四乙酸二钠(EDTA- Na_2)清洁液:使用 50~100 g/L EDTA- Na_2 溶液,加热煮沸,可洗脱玻璃仪器内壁之白色沉淀物(钙、镁盐类)和不易溶解的重金属盐类。

(3) 草酸清洁液:可洗脱高锰酸钾痕迹,如在草酸溶液中加入少量硫酸,则效果更佳。

(4) 硫代硫酸钠清洁液:可除去碘液污染,稀酸性硫代硫酸钠溶液还可除去高锰酸钾污渍。

应根据玻璃器皿污染源的不同而选择合适的洗涤液。

(二) 玻璃仪器的使用

1. 量筒 量筒常用于要求不甚精确的液体测量。量筒的规格有 10 mL、25 mL、50 mL、100 mL、250 mL、500 mL、1000 mL 等多种;因为量筒的底座与筒身是焊接在一起的,所以不能用来量取温度过高的液体,更不能直接加热。

2. 容量瓶 容量瓶是一种较准确的容量仪器。容量瓶的规格有 10 mL、25 mL、50 mL、100 mL、250 mL、500 mL、1000 mL 等数种。用容量瓶配制溶液时,应先将固体试剂在烧杯中用溶剂溶解,再定量地转入容量瓶中,然后加溶剂稀释至标线。当溶剂加到快要接近标线时应停顿 30 s 左右,待瓶颈上部液体流下后,再小心逐滴加入,直至溶液的弯月面最低点与标线相切。然后,反复倒转摇动,使溶液充分混匀。容量瓶不能直接加热,洗净后也不能放入烤箱中烘烤,否则可使其容积发生改变。

(三) 玻璃仪器的校正

将待校正的玻璃仪器清洗干净并干燥,准确称量其质量,然后加入蒸馏水或去离子水至刻度线,再称重,并测量此时水的温度。两次的质量差即为仪器中水的质量,再用该温度时水的密度(表 1-2)除水的质量,就可得到待校正玻璃仪器的容积,重复三次求平均值。如果实测值与标准值间的差值在允许偏差范围内,则可直接使用;否则将真实值记录在瓶壁上,以备计算时校正用。



表 1-2 不同温度时的水密度

温度/℃	密度/(g/mL)	温度/℃	密度/(g/mL)	温度/℃	密度/(g/mL)
10	0.99839	17	0.99765	24	0.99639
11	0.99831	18	0.99750	25	0.99618
12	0.99823	19	0.99734	26	0.99594
13	0.99814	20	0.99718	27	0.99570
14	0.99804	21	0.99700	28	0.99545
15	0.99793	22	0.99680	29	0.99519
16	0.99780	23	0.99661	30	0.99492

五、各种加样器的使用与校正

1. 刻度吸管 刻度吸管有 0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、5.0 mL、10.0 mL 等规格。使用方法:使吸管的刻度面向自己,用拇指和中指握住吸管的上端部分,将吸管的下端插入液面下,用洗耳球吸入液体至需要刻度的标准线上 1~2 cm 处,将已充满液体的吸管移离液面,移到与视线在同一水平线上,然后小心松开上口,使液体缓慢地流下,使管内液体弯月面与所需标线相切。将吸管移到容器内,松开上口,使液体缓缓流出。

2. 微量可调移液器

(1) 用螺杆调整要求的容积,螺杆上刻痕对着本体上的刻线就是所需的容积。

(2) 在移液器下端安装一个一次性吸嘴,轻轻扭转一下以保证气密。

(3) 用拇指按移液器的顶头到感觉有阻力时保持不动,将移液器吸嘴垂直浸入样品液中。

(4) 释放移液器的顶头,使之缓慢地回复,禁止突然过快松开。

(5) 移液器吸嘴在样品液中停留 1~2 s,保证取样的应有容积全部吸入到吸嘴中。

(6) 从样品液中撤回吸嘴,将沾在吸嘴外表面的溶液用纱布或滤纸仔细地擦掉。注意不要接触到吸嘴孔。

(7) 排出样品溶液时,吸嘴对着接受容器的内侧面放置,慢慢地按动顶头,排出吸嘴中的所有溶液。

(8) 将吸嘴沿着容器壁向上滑动,小心地从容器中撤回移液管。

(9) 释放移液管的顶头,使其返回到开始位置。

(10) 按动去头杆,去掉已用过的吸嘴。

3. 加样器的校正 可参照玻璃仪器的校正,量取微量体积时,可用汞代替水。

六、试剂的配制注意事项与保存

1. 选用试剂应根据实验方法的要求及样品含量来决定。配制校准物的试剂须选用品级高的试剂;一般的定性检验可选用化学纯试剂。测定微量物质的样品时,应考虑其干扰因素,必须选用品级、纯度较高的试剂,如微量元素测定必须用优级纯试剂。一般来说,试剂纯度越高,试剂引起的误差就越小。但也不要过分强求这一点,否则会造成经济上不必要的损失或影响工作。

2. 所用试剂须有瓶签,应核对品级、纯度、含有成分的百分率和不纯物(杂质)的最高数据及化学分子式。

3. 观察试剂性状。使用前应观察试剂有无变质现象发生,有些化合物本身不稳定,经过长期储存亦能逐渐发生分解、氧化、还原、聚合、升华、蒸发、沉淀析出等变化。一旦出现混浊、沉淀、颜色改变等一般不再使用,应弃之。但有的可重新蒸馏纯化后再用。

4. 部分化学试剂在存放过程中会吸收空气中的水分,如果直接称量配制,显然是不准确的。使用前用适当的方法除去吸收的水分,使试剂恢复到吸潮前的状态,这一过程称为恒重。

5. 部分试剂在储存过程中会发生氧化、分解、聚合等反应,有些则因本身纯度不够,使其变得不符合使用要求,因而在使用前需对这些试剂进行一定的处理,使其纯度满足需要,此过程称为纯化。

6. 试剂的称重是决定所配试剂浓度准确与否的关键,称重必须准确。一般固体试剂称取,应用称量瓶、玻璃纸等盛试剂。一般不选用普通纸盛试剂,尤其是粗糙的纸。对易潮解、易挥发的试剂称量应迅速,校准物须用万分之一天平称取。

7. 试剂配制中的溶剂一般为蒸馏水,特殊试剂或非水溶剂的试剂应注明清楚。蒸馏水的水质即外观、pH 值、氯化物及硫酸盐等指标必须符合规定。配制一些特殊要求的试剂,最好选用超纯水或将所用的蒸馏水作特殊处理。试剂配好后要在试剂瓶上写明名称、浓度、配制时间,必要时可注明用途、用量。

8. 试剂的登记。实验室应建立试剂登记与双查双签制度,配制者应在试剂登记簿上登记配制试剂处方,处方应体现原试剂级别、浓度、pH 值、加入先后顺序、配制方法及配制总校准品量等,要求计算准确。固体试剂和液体试剂应以瓶签所注明的化学式、比重和百分数作为计算组成量的依据。配制总量应根据试剂工作量与试剂保存期限来确定。

9. 试剂的保存。为保证试剂质量,延长试剂有效期限,科学存放试剂至关重要。对于剧毒、麻醉、易燃、易爆、腐蚀品等试剂应由专人妥善保管;普通试剂应分类按顺序贮于干燥冷暗处;易挥发的试剂应严密封盖,必要时加蜡封口;需冷冻冷藏保存的试剂应根据瓶签上标示的储存温度分别置于冰箱冷冻冷藏保存;强酸、强碱应分别存放。



第二节 临床生物化学实验室基本技术

一、光谱分析技术

(一) 光谱分析技术的实验原理

光的本质是电磁波。不同的光,有不同的波长。肉眼可见的彩色光称为可见光,波长范围在 400~750 nm,小于 400 nm 的光线称为紫外线,大于 750 nm 的光线称为红外线。可见光区的电磁波,因波长不同而呈现不同的颜色,单色光并非单一波长的光,而是一定波长范围内的光,白光是各种单色光的混合,利用棱镜可将白光分成按波长顺序排列的各种单色光,这就是光谱。

光线通过透明溶液介质时,辐射的光一部分被吸收,一部分透过,因此光线射出溶液后



部分光减少。这种光的吸收和透过可用于物质的定性定量分析。吸光分析依据的是 Lambert 和 Beer 定律。

1. Lambert 定律 一束单色光通过某一特定浓度的透明溶液时,一部分的光被吸收,被吸收的光量与溶液厚度有一定比例关系。

$$I = I_0 e^{-aL} \quad (1-1)$$

式中: I_0 为入射光强度; I 为通过溶液后的光强度; L 为溶液的径长; e 为自然对数的底,即 2.718; a 为溶液的吸光率。

式(1-1)可改写为

$$\ln(I_0/I) = aL \quad (1-2)$$

将式(1-2)换算成常用对数式,即

$$\lg(I_0/I) = 0.4343aL$$

令

$$K = 0.4343a$$

则

$$\lg(I_0/I) = KL \quad (1-3)$$

校准品此处以 K 为吸光率。

2. Beer 定律 以溶液中溶质浓度变化代替溶液厚度的改变,光波的吸收与溶质浓度的改变有类同的关系。即一束单色光通过溶液时,光波被溶液吸收一部分,吸收的多少与溶液中溶质浓度有一定比例关系。依据 Lambert 定律中同样的推导,可得出下式。

$$\lg(I_0/I) = KC \quad (1-4)$$

式中: C 为溶液中溶质的浓度。

将 Lambert 定律和 Beer 定律合并,即式(1-3)和式(1-4)合并为

$$\lg(I_0/I) = KCL \quad (1-5)$$

令 $T = I/I_0$, $A = \lg(I_0/I)$, 则

$$A = KCL \quad (1-6)$$

式中: A 为吸光度; T 为透光度。

式(1-6)为 Lambert-Beer 定律的物理表示式,其含义为:一束单色光通过溶液后,光被吸收一部分,吸收的多少与溶液中溶质的浓度和溶液厚度成正比。

3. 计算

(1) 利用校准液计算测定物含量:实际测定过程中,用一已知浓度的测定物按测定管同样处理显色,读取吸光度,再根据式(1-6)计算,即

$$A_1 = K_1 C_1 L_1, \quad A_2 = K_2 C_2 L_2$$

式中: A_1 、 A_2 分别为已知浓度校准液和未知浓度测定管的吸光度; C_1 、 C_2 分别为已知浓度校准管和未知浓度测定管中测定物浓度。

因盛校准液和测定液的比色杯径长相同($L_1 = L_2$),故

$$A_1/(K_1 C_1) = A_2/(K_2 C_2) \quad (1-7)$$

因校准液和测定液中溶质为同一物,故 K 值相同,即

式(1-7)可换算成下式:

$$C_2 = (A_2/A_1) \times C_1 \quad (1-8)$$

(2) 利用标准曲线求测定物浓度:先配制一系列已知不同浓度的测定物溶液,按测定管同样方法处理显色,分别读取各管吸光度,以各管吸光度为纵坐标,各管溶液浓度为横坐