

高职高专生物制药技术类专业实训教材

GAOZHI GAOZHUAN SHENGWU ZHIYAO JISHULEI ZHUANYE SHIXUN JIAOCAI

生物分离纯化实践技术

SHENGWU FENLI CHUNHUA SHIJIAN JISHU

王雅洁 主编



东南大学出版社
SOUTHEAST UNIVERSITY PRESS

高职高专生物制药类专业实训教材

生物分离 纯化实践技术



(供生物制药技术、生物技术、生物工程及相关专业使用)

主 编 王雅洁(安徽医学高等专科学校)

主 审 宋小平(安徽医学高等专科学校)

 东南大学出版社
SOUTHEAST UNIVERSITY PRESS

· 南京 ·

图书在版编目(CIP)数据

生物分离纯化实践技术/王雅洁主编. —南京:
东南大学出版社, 2016. 1

ISBN 978-7-5641-6214-6

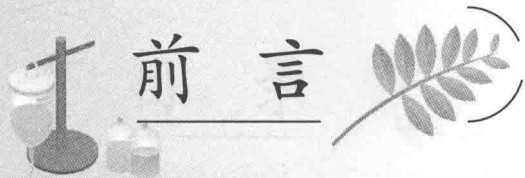
I. ①生… II. ①王… III. ①生物工程-分离②生物
工程-提纯 IV. ①Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 306264 号

生物分离纯化实践技术

出版发行 东南大学出版社
出版人 江建中
社 址 南京市四牌楼 2 号
邮 编 210096
经 销 江苏省新华书店
印 刷 南京工大印务有限公司
开 本 787 mm×1 092 mm 1/16
印 张 7.5
字 数 189 千字
版 印 次 2016 年 1 月第 1 版 2016 年 1 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978-7-5641-6214-6
定 价 20.00 元

* 本社图书若有印装质量问题,请直接与营销部联系,电话:025-83791830。



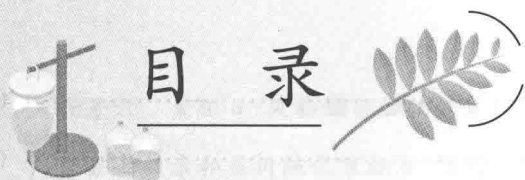
前言

本书分为3个部分:第一部分是进行生物分离纯化实验实训的目的和基本要求;第二部分是单元操作技能训练实验,包括预处理和固液分离、有效成分提取、固相析出、膜分离、层析、浓缩和干燥技术,有20个实验;第三部分是综合实训项目,包括蛋白质、氨基酸、抗生素和多糖产品的提取分离实训项目,共有5个综合实训项目、21个工作任务。

从生物材料中提取、分离、纯化目标产物的过程是生物产品加工的下游技术,对产品的收率和质量都有至关重要的作用,在整个生物产品的生产总成本中所占比例也较高。因为生物产品的性质特点和待分离纯化的原料不同,提纯的工艺差别很大,所以我们设计了两个部分来帮助同学们学习,分步骤进行训练。通过本书第二部分的单元操作技能训练实验,让同学们在学习相关理论知识的基础上,熟练操作这些单元操作技术,对涉及的主要设备要求知道结构、学会操作,能进行简单的维护保养。在此基础上,再进入第三部分的学习。学习过程中先让同学们自学该产品分离纯化的常用方法,再利用第二部分的单元操作技能,进行综合性实训项目。在这个过程中,让同学们综合运用基本单元操作技能进行不同产品的提纯,强化了同学们的知识技能运用能力,同时培养了同学们分析问题的能力和团队协作能力。

为了让本书适应行业发展需要并且符合高职高专的教育特点,我们参照了很多有关书籍和文献,邀请了很多生物技术和生物制药企业中从事下游加工技术的技术人员共同制定实验项目、选择生物产品,并结合自己的教学和实践经验编撰了本书。编写过程中,得到南京金斯瑞科技有限公司朱戩老师和合肥工业大学李光伟老师的宝贵意见和建议,在此表示由衷的感谢。由于编者水平和时间的限制,书中难免有不妥之处,敬请广大师生和读者批评指正。

安徽医学高等专科学校 王雅洁



第一部分 生物分离纯化实验实训基本要求	(1)
一、实验实训目的	(1)
二、实验实训基本要求	(1)
第二部分 生物分离纯化单元操作技术训练	(4)
第一章 预处理与固液分离技术	(4)
实验一 离心法收集酵母菌	(4)
实验二 超声波法破碎酵母细胞	(6)
实验三 酶法破碎大肠杆菌	(12)
实验四 差速离心法分离叶绿体和线粒体	(13)
第二章 提取技术	(16)
实验一 青霉素的萃取与萃取率的计算	(16)
实验二 CO ₂ 超临界萃取大豆油	(17)
实验三 双水相萃取分离植物蛋白酶	(18)
实验四 超声波法提取茶多酚	(23)
第三章 固相析出分离技术	(26)
实验一 丙酮沉淀法提纯植物蛋白	(26)
实验二 盐析法分离卵清蛋白	(33)

实验三	等电点法分离乳蛋白质	(34)
实验四	重结晶法制备甘草酸	(36)
第四章	膜分离技术	(38)
实验一	蛋白质溶液透析	(38)
实验二	中空纤维超滤膜法浓缩料液	(40)
第五章	层析技术	(44)
实验一	自动液相层析仪使用练习	(44)
实验二	凝胶层析法脱盐	(46)
实验三	吸附层析分离葛根素	(49)
实验四	离子交换法提取溶菌酶	(52)
第六章	浓缩与干燥技术	(56)
实验一	真空蒸发浓缩	(56)
实验二	牛奶冷冻干燥	(57)
第三部分	生物分离纯化综合实训	(60)
第一章	蛋白质分离纯化实训	(60)
知识准备	(60)
实训项目一	超氧化物歧化酶的分离纯化与测活	(62)
任务一	试剂配制和其他准备	(63)
任务二	大蒜 SOD 的提取分离	(64)
任务三	大蒜 SOD 的测活和纯化效果评价	(65)
实训项目二	重组淀粉酶的分离纯化	(68)
任务一	重组 α -淀粉酶的表达	(69)
任务二	重组大肠杆菌细胞收集和破碎	(70)
任务三	SDS-PAGE 检测重组 α -淀粉酶	(71)
任务四	重组 α -淀粉酶酶活测定	(72)
任务五	硫酸铵分级盐析初步纯化重组 α -淀粉酶	(74)

任务六	重组 α -淀粉酶包涵体的复性	(76)
任务七	亲和层析纯化重组 α -淀粉酶	(77)
任务八	重组 α -淀粉酶的冷冻干燥	(79)
第二章	氨基酸分离纯化实训	(81)
知识准备		(81)
实训项目	谷氨酸的分离纯化	(83)
任务一	离子交换树脂的预处理	(86)
任务二	膜法除发酵液菌体	(86)
任务三	离子交换法回收谷氨酸	(88)
第三章	抗生素分离纯化实训	(91)
知识准备		(91)
实训项目	青霉素的分离纯化仿真实训	(93)
任务一	发酵液的预处理	(95)
任务二	萃取法提取青霉素	(96)
任务三	青霉素的精制操作	(99)
第四章	多糖分离纯化实训	(102)
知识准备		(102)
实训项目	香菇多糖的分离纯化	(103)
任务一	香菇多糖提取液制备	(105)
任务二	香菇多糖初步除杂	(105)
任务三	凝胶柱层析法纯化香菇多糖	(106)
任务四	香菇多糖分析检测	(108)
参考文献		(110)



第一部分 生物分离纯化实验实训基本要求

一、实验实训目的

生物分离纯化过程中涉及的技术比较多,包括细胞破碎、有效成分提取、离心分离、沉淀、膜分离、色谱技术等。分离纯化单元操作技术训练的目的是让同学们通过单元操作练习,熟练完成上述分离纯化技术的操作。要求同学们能够独立配制需要的试剂,注意贮存条件和贮存期限;能够完成所需设备的安装和调试,会正确使用该设备并学会清洁、维护保养;能熟练完成操作,知道该技术的提纯原理,掌握技术要领;培养同学们的动手能力。

在掌握单元操作技能的基础上,通过综合实训项目让同学们利用单元操作技术分离典型的生物产品。要求同学们知道典型的生物活性成分,比如蛋白质、氨基酸、抗生素、多糖、核酸的性质,了解常见生物活性成分的作用原理和应用,学会常见生物活性成分的分离纯化流程;能读懂生物产品的分离纯化工艺流程,知道每个步骤的分离原理,会分析各个步骤的控制要点,完成整个工艺操作;分析目的产物的性质,能选择合适的方法对原料、中间产品和产品中的有效成分进行检测;能根据检测结果,对分离纯化流程进行评价;培养同学们的知识运用能力,及分析问题、解决问题的能力。

二、实验实训基本要求

1. 进入实验实训室的要求

(1) 按照要求穿合适的工作服或防护服进入实验实训室;严禁穿露脚趾的拖鞋进入实验实训室,女生将长头发束起。

(2) 按照教师要求在指定时间到达指定实验实训室。

(3) 按照要求准备记录本和其他与实验实训相关的用品后进入实验实训室,与实验实训无关的物品禁止带入实验实训室。

(4) 安全准入:应经过相应的安全培训,掌握安全知识、防护技能和必要急救措施,考核合格方可进入实验实训室;禁止私自带外人进入实验实训室。

2. 操作守则

(1) 操作前学生应按照要求认真预习相关理论知识,操作前仔细学习指导教师的示教

操作。

(2) 实验实训过程中,未经教师批准不得任意离开,尽量减少不必要的走动,若有特殊情况发生应及时向指导教师汇报。

(3) 严格按照指导教师的要求进行操作,严格按照标准操作规程操作设备,不得擅自使用与本实验实训无关的试剂或仪器;设备操作前,确保已经认真阅读标准操作规程或说明书,了解了设备的性能;操作过程中,做到爱护设备仪器、节省试剂。

(4) 分组项目操作过程中,按照组内成员的分工共同完成实训过程,严禁中途调整小组成员。组员之间应通力合作,共同完成实训过程。若意见不同时,应通过协商选择合适的方法,必要时可请指导教师参与讨论。

(5) 安全操作:按照实验实训室相关规则,安全用电,注意防火、防爆;操作过程涉及易挥发、腐蚀性、含生物因子等危险因子的,应采取必要的防护措施,必要时在通风橱、洁净工作台、生物安全柜等设备中操作;注意设备使用安全,使用前按照要求检查设备,确保双手干燥才能操作设备,仪器故障时及时切断电源;严禁进食、喝水、吸烟、化妆、处理隐形眼镜;若有潜在危害性的材料或试剂溢出或泼洒后应立即根据溢出物或泼洒物的性质进行处理、清除污染,并第一时间告诉指导教师。

3. 离开实验实训室的要求

(1) 操作结束后,整理台面,清扫实验实训场地。按照要求填写实验实训开出记录、仪器设备使用登记表。

(2) 操作台面应整洁,试剂和仪器设备的摆放应符合相关要求,用具已经清洗干净,并经教师确认后才能离开。

(3) 严禁将固体培养基、菌液、棉球、碎纸片等易引起堵塞和污染的物品丢进水池,必须按照要求进行处理。

(4) 离开的安全要求:毒性、易燃、易挥发、含生物因子或存在其他潜在危害性的试剂和材料应经相应措施进行处理后方可丢弃;严禁未经批准将实验实训材料、试剂等带出实验实训室;已经污染的记录本、报告等纸质材料应经相应处理,经教师确认后才能带出实验实训室;双手清洗干净后方可离开实验实训室,严禁穿着实验实训防护服进入食堂进食,已经污染的防护服应按照要求处理。

4. 实验实训记录和报告要求

(1) 操作时应认真观察,及时、正确记录实验实训所用材料、操作过程、现象和数据结果等;过程记录和结果记录经教师确认后方可离开。

(2) 使用不易擦去、不易褪色的钢笔、圆珠笔或中性笔填写,严禁使用易褪色的纯蓝墨水笔或易擦铅笔;字迹应清晰可辨认。

(3) 实验实训原理、步骤的记录应简洁明了,记录应采用规范的专业术语、计量单位及外文符号;实验实训条件的记录应翔实,使用材料和仪器设备、试剂应完整记录,比如实验实训材料及来源、设备仪器型号和规格、试剂规格浓度等都应如实记录,保证按照记录能重复该过程。



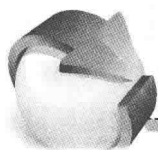
(4) 严禁实验实训结束后补过程或数据,严禁凭记忆记录过程或数据,严禁将过程和结果记录于实训报告之外的地方。

(5) 严禁撕毁记录,严禁任意涂改记录;需要改写记录,应用一条线或两条线划去原记录并在旁重写,应保证原字迹清晰可辨,必要时签字并注明修改原因。

(6) 表格填写时,不得留有空格,无内容用“—”表示,不得用“、”表示内容重复。

(7) 实验实训之后,应尽早结合实训过程和理论知识,对结果进行分析、总结,认真评价操作或流程。

第二部分 生物分离纯化单元 操作技术训练



第一章 预处理与固液分离技术

实验一 离心法收集酵母菌

【实验目标】

- (1) 掌握离心分离技术的原理和应用。
- (2) 能熟练完成从发酵液中获取酵母菌的操作流程。
- (3) 熟悉离心机的结构,能熟练使用并正确维护离心机。

【实验原理】

在离心力的作用下,不同物质因为形状、大小等差别会以不同的速率进行沉降。离心分离技术就是利用该原理,可以对悬浮液、乳浊液进行物质的分离、浓缩和提纯。离心设备按照作用方式分为斜角式、平抛式、管式等,按照转速分为低速离心机、高速离心机和超高速离心机,可配备冷冻装置。

离心方法有沉淀离心、差速离心和密度梯度离心。沉淀离心指选用一种离心速度,使悬浮于溶液中的悬浮颗粒在离心力的作用下完全沉淀下来,常用于发酵液和提取液等的固液分离。差速离心是逐渐增加离心速度或低速和高速交替进行离心的分离方法,离心后将上清液与沉淀分开得到第一部分沉淀,上清液加大转速离心,分离出第二部分沉淀,如此往复加通过高转速逐级分离出所需要的物质。密度梯度离心也称区带离心法,是将样品加在惰性梯度介质中进行离心沉降或沉降平衡,在一定离心力下把颗粒分配到梯度中某些特定位置上,形成不同区带的分离方法。本实验用沉淀离心法,将酵母发酵液中的酵母菌沉淀下来。

【实验材料】

保藏的酵母菌。



主要试剂: YPD 液体培养基(酵母提取物 1.0 g, 蛋白胨 2.0 g, 葡萄糖 2.0 g, 定容至 100 ml); 生理盐水。

主要设备: 冷冻离心机; 电子天平; 灭菌锅; 超净工作台; 恒温摇床。

【操作步骤】

1. 培养基的配制和灭菌

配制 YPD 液体培养基和生理盐水, 包扎后进行灭菌。YPD 液体培养基含葡萄糖, 115 °C 灭菌 30 min, 其他试剂和材料 121 °C 灭菌 20 min。培养基 37 °C 培养 24 h 进行无菌检查, 合格后方可使用。

2. 发酵培养

在超净工作台上, 将保藏的酵母菌接种到上述 YPD 液体培养基中, 30 °C 培养 24~30 h, 得酵母菌发酵液。

3. 发酵液固液分离

将得到的酵母菌发酵液装入离心管内, 6 000 r/min、4 °C 离心 20 min。离心结束后取出离心管, 小心倾倒上清液, 沉淀即为酵母菌。注意离心机的正确操作。上清液经过灭菌处理后方可倾倒。

4. 洗涤酵母细胞

向得到的酵母菌沉淀中加入适量灭菌生理盐水, 将沉淀重悬于生理盐水中混合均匀, 6 000 r/min、4 °C、离心 20 min。注意离心机的正确操作和维护。

小心倾倒上清液, 沉淀即为洗涤后的酵母菌。上清液经过灭菌处理后方可倾倒。

【技能训练: 离心机的使用和维护】

1. 准备

阅读离心机使用说明书或标准操作规程, 了解所配备转头各自的最高允许转速、使用累积期限, 了解其温度控制范围、预设运行的最长控制时间和对称放置的两个离心管之间的重量差异限值。查阅设备使用登记表, 了解离心机的使用情况。

2. 离心机安装检查

根据实验条件选择合适转头, 仔细检查确保无老化、锈蚀、变形等现象, 将其正确安装在转轴上, 拧紧。再次检查离心机安放是否平稳, 转轴是否牢固, 润滑是否良好, 离心腔内有无异物, 缸盖能否锁紧等。

根据离心机、转头和所选转速等因素, 选择合适的离心管, 仔细检查离心管, 确定无裂痕、无损伤、无变形、无老化等现象后方可使用。排除安全隐患, 确认设备正常后方可操作。

3. 空转

若离心机长时间未用, 应进行空载运转。密切观察空载运转情况是否正常, 在无异常时方可进行下述离心操作。

4. 装液和调平

将待离心样品装入离心管内, 装载样品时不宜过满。将离心管在天平上精密平衡离心

管和其内容物,对称放置的两个离心管之间的重量差异不得超过该离心机说明书所规定的范围。

5. 离心

将样品放入转头中,盖上盖子。设定转速、温度和时间等离心参数,确认参数后开始离心。待离心结束且离心机完全停止转动后,打开缸盖取出离心管。

注意:离心过程中不得随意离开,应随时观察离心机上的仪表是否正常工作,如有异常声音应立即停机检查,及时排除故障;离心过程若发现异常情况应立即按“Stop”键;离心时严禁开盖,严禁用手停止转头。

6. 清洁保养

冷冻离心机使用过程中离心机内会形成凝霜,离心机使用完毕,要待凝霜溶化后及时清除离心机内水滴、污物及碎玻璃渣等异物,擦净离心腔、转轴。转头是离心机中须重点保护的部件,拆卸和搬动转头时注意防止碰撞。平时,应做好离心机的防潮、防过冷、防过热、防腐蚀药品污染,延长使用寿命。

实验二 超声波法破碎酵母细胞

【实验目标】

- (1) 掌握超声波破碎技术的原理和应用。
- (2) 能熟练完成大肠杆菌细胞破碎的过程,用合适的方法对破碎效果进行检查。
- (3) 熟悉超声破碎仪的结构,能熟练使用并正确维护。

【实验原理】

利用频率为 15~20 kHz 以上的超声波,在较高输出功率下,因为空穴作用可以将介质中的悬浮细胞进行破碎。破碎效果与介质离子强度、细胞浓度、细胞种类、超声波强度频率、破碎功率和破碎时间等因素有关。一般来说,杆菌较球菌易破碎,革兰阴性菌较革兰阳性菌易破碎,对酵母菌的破碎效果较差。本实验利用 JY92-2D 超声波粉碎机对酵母细胞进行破碎,为了提高破碎效果,需要经过多次的超声处理。

超声破碎过程中会产生较多的热量,提取热稳定性较差的胞内产物时尤其需要注意此问题。所以,超声破碎前一般将细胞悬液进行预冷,在冰水浴中进行破碎,并采用间歇破碎。超声破碎法一般不适用于大规模生产,常用于 1~400 ml 小体积料液的处理。需要注意的是,部分目标产物会因为超声波产生的自由基而失活,该类物质的提取谨慎选用超声波法。

【实验材料】

酵母发酵液;碎冰;血细胞计数板。

主要试剂:细胞破碎缓冲液(0.05 mol/L, pH 为 4.7 的乙酸-乙酸钠缓冲液);75%乙醇。

主要设备:漩涡混合仪;超声波细胞破碎仪;高速冷冻离心机;电子显微镜;紫光-可见分光光度计。



【操作步骤】

1. 制备酵母悬液

配制适量细胞破碎缓冲液,置于冰浴中预冷。酵母发酵液固液分离后,用预冷的细胞破碎缓冲液洗涤3次,再向洗涤后的菌体沉淀中加入适量预冷的细胞破碎缓冲液。利用漩涡混合仪将菌体重悬于该缓冲液中混合均匀,冰浴中放置待用。

2. 细胞超声法破碎

酵母悬液留样1 ml作为样品1。其他悬液置于大塑料试管或烧杯内,将其置于冰浴中,按照破碎功率300 W、破碎工作时间5 s、间歇时间5 s的破碎条件,全程破碎10 min,取样1 ml作为样品2。相同条件再分别继续破碎10 min后,取样得到样品3。一般情况下,破碎液应立即进行固液分离和后面的提纯,防止目标产物被破坏,若需短期存放应置于冰水浴中或冰箱4℃冷藏。

3. 破碎效果检查

(1) 计数法:分别取样品1、2、3适当稀释,用血细胞计数板在显微镜下进行计数。并分别观察不同样品中是否有酵母细胞,观察其形态,进行比较。

(2) 分光光度法:分别取样品1、2、3在10 000 r/min、4℃离心20 min,通过测定上清液蛋白浓度评价破碎效果。

【技能拓展:缓冲液的配制】

【实验材料】

主要试剂:标准缓冲液(pH为6.86、pH为9.18、pH为4.00);电极保护液(3 mol/L KCl);蒸馏水。

主要设备:酸度计;温度计。

【操作步骤】

在进行药物提取分离工作或其他生物制药工艺研究时,常常要用到缓冲液来维持研究体系的酸碱度。比如提取酶的溶液体系的pH变化可能使酶活性下降甚至完全失活。所以要学会配制缓冲溶液。缓冲溶液的配制有以下几种方法:

1. 计算法

根据缓冲对的pK值和配制缓冲液的pH值(及要求的缓冲液总浓度),就能按公式计算[盐]和[酸]的量。

2. 查表法

经查表便可计算出所用试剂的比例和用量。

例如:配制100 ml 0.2 mol/L pH为4.6的乙酸钠-乙酸缓冲液,可以查下表。经查表、计算得到所需两种溶液的量,按计算结果称好药品,放于烧杯中,加少量蒸馏水溶解,转移入50 ml容量瓶,加蒸馏水至刻度,摇匀,便得所需的缓冲液。某些试剂,必须标定配成准确的浓度才能进行。

表 2-1 乙酸-乙酸钠缓冲液(0.2 mol/L)

pH (18 °C)	0.2 mol/L NaAc(ml)	0.2 mol/L HAc(ml)	pH (18 °C)	0.2 mol/L NaAc(ml)	0.2 mol/L HAc(ml)
2.6	0.75	9.25	4.8	5.90	4.10
3.8	1.20	8.80	5.0	7.00	3.00
4.0	1.80	8.20	5.2	7.90	2.10
4.2	2.65	7.35	5.4	8.60	1.40
4.4	3.70	6.30	5.6	9.10	0.90
4.6	4.90	5.10	5.8	9.40	0.60

3. 调节 pH 法

例如:配制 0.05 mol/L pH 为 4.7 的乙酸-乙酸钠缓冲液。先分别配制 0.05 mol/L 的乙酸钠溶液和乙酸溶液,然后用一种溶液调节另一种溶液,并用 pH 计测定混合溶液的 pH 至 4.7。

【技能训练: pH 计的使用维护】

1. 配制标准缓冲液

根据需要,配制 pH 为 6.86 的定位标准缓冲液,pH 为 4.00 或 9.18 的斜率校正标准缓冲液。斜率校正缓冲液根据待测液的酸碱性来选择,若待测液呈酸性,选用 pH 为 4.00 的标准缓冲液;若待测液呈碱性,选用 pH 为 9.18 的标准缓冲液。

2. 安装与检查

按照要求安装 pH 计,并检查电极。若电极未被保护液浸泡,则应该先将电极在电极保护液(3 mol/L KCl)中浸泡数小时。

3. pH 计校正



图 2-1 pH 计操作面板和按键

(1) 温度校正:先用温度计测定室温并记录。按“模式”显示温度后,按上下箭头至显示值为室温后,按“确认”。按键切换模式使屏幕显示为 pH 值。

(2) 定位校正:探头用蒸馏水清洗后吸干水分,再用定位标准缓冲液润洗 3 次,然后浸没到定位标准缓冲液中。待稳定后,按“定位”键上下箭头使数值显示“6.86”,按“确认”。



(3) 斜率校正:探头用蒸馏水清洗后吸干水分,再用斜率校正标准缓冲液润洗 3 次,然后浸没到斜率校正标准缓冲液中。待稳定后,按键“上下箭头”使数值显示“4.00”或“9.18”,按“确认”。

4. 测定待测液 pH

探头用蒸馏水清洗后吸干水分,再用待测液润洗 3 次,然后浸没到待测液中,待稳定后读数。

5. 电极维护

校正之后的 pH 计,若使用频繁一般在 24 h 内不需要重复校正。使用结束后将电极用蒸馏水清洗后吸干水分,浸泡在电极保护液中。保持电极安装在 pH 计上,保持 pH 计通电状态。使用之前只需将电极从保护液中取出,用蒸馏水清洗后吸干水分可直接使用。但是,校正之后的 pH 计若测量过过酸($\text{pH} < 2$)或过碱($\text{pH} > 12$)的溶液,或温度变化较大,或更换电极,应重新进行校正。

若 24 h 之内不再使用 pH 计,用蒸馏水清洗电极,吸干水分后将电极浸泡在电极保护液中,拆下放入保护盒中。

【技能训练:超声波细胞粉碎机的使用与维护】

【实验材料】

待破碎料液(微生物或动、植物细胞悬液)

主要试剂:75%乙醇;蒸馏水。

主要设备:超声波细胞粉碎机。

【操作步骤】

1. 超声破碎仪安装

把与变幅杆(超声探头)相连的换能器放入隔音箱顶部的专用插孔内,然后把电源线连接在主机后面的电源输入接口,并连接好主机电源线。检查确认仪器面板上变幅杆选择开关是否与所用的变幅杆型号一致。

2. 清洗变幅杆

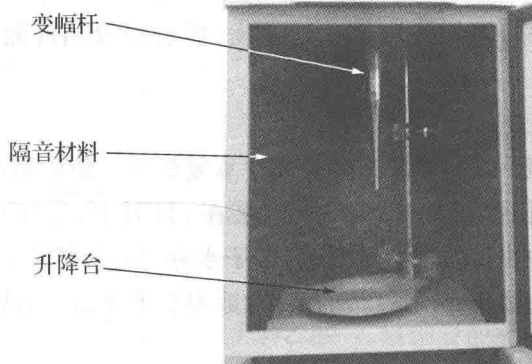
先用 75%乙醇清洗变幅杆末端,再用蒸馏水多次冲洗变幅杆末端,然后擦干。

3. 固定待破碎样品

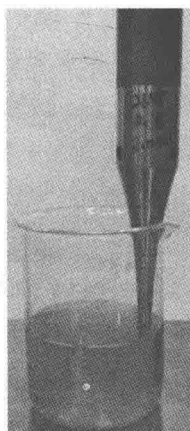
根据样品的量选择合适的容器,固定升降台和十字架,将样品置于冰浴中。样品位置调整应保证变幅杆末端位于样品中心位置,变幅杆不能贴壁,如图 2-2 中图 D 所示为正确位置。液体应该有一定高度,变幅杆末端离容器底部距离应大于 30 mm,样品量少时变幅杆末端距容器底部 5~10 mm,插入待破碎样品 15 mm 左右。

4. 设定破碎参数

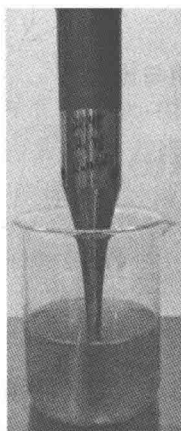
打开电源开关。设置破碎功率、破碎工作时间、间歇时间、全程破碎时间。每次破碎时间尽量不超过 5 s,间隔时间一般不少于破碎时间。



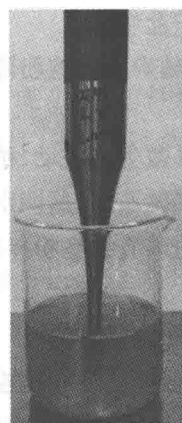
A图(超声室结构)



B图(变幅杆贴壁)



C图(变幅杆触底)



D图(变幅杆正确位置)

图 2-2 超声破碎

5. 破碎细胞

按照上述设定的参数破碎细胞,当破碎液清亮时停止破碎,拿出样品。

破碎过程中应注意观察响声是否正常;注意破碎过程中由于冰的融化导致的液面变化,保证冰水浴中碎冰未完全融化且冰浴液面高于破碎样品液面,变幅杆始终位于破碎样品中心位置且距容器底部距离合适;若出现探头贴壁或位置变化,应及时调整,以保证破碎效果;破碎过程中产生少量泡沫属正常现象,但泡沫过多会影响破碎效果,所以应尽量减少泡沫产生;若冰水浴正常且样品温度升高,应暂停破碎,延长间歇时间再进行破碎;若产生黑色沉淀,应暂停破碎,降低破碎功率再进行破碎。

6. 设备维护

关闭设备后,先用 75%乙醇清洗变幅杆末端,再用蒸馏水冲洗,然后擦干。盖上防尘罩,填