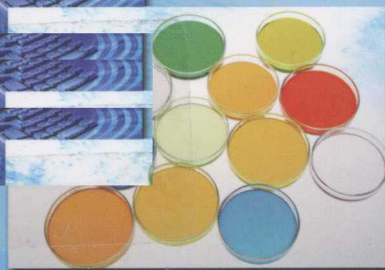



全国高等院校医学实验教学规划教材

生物化学与分子生物学 实验指导

张志珍 刘勇军 主编

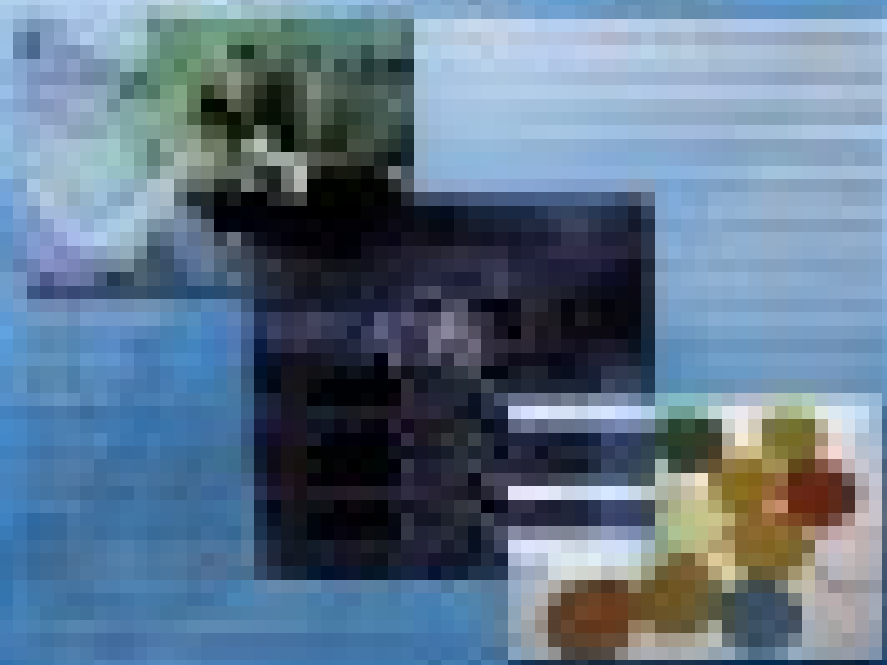


 科学出版社
www.sciencep.com

全国高等院校生物学专业规划教材

生物化学与分子生物学 实验指导

张永成 刘凤平 主编



北京人民教育出版社

全国高等院校医学实验教学规划教材

生物化学与分子生物学 实验指导

主 编 张志珍 刘勇军
编 者 (按姓氏笔画排序)
马卫列(广东医学院)
兰柳波(广东医学院)
刘勇军(广东医学院)
刘新光(广东医学院)
杨生生(第二军医大学)
张志珍(广东医学院)
陈维春(广东医学院)
郑 芳(武汉大学医学院)¹⁾₂₎
侯 敢(广东医学院)
钱海利(中国医学科学院)
唐旭东(广东医学院)
梁爱玲(广东医学院)
谭佑铭(上海交通大学医学院).....

科 学 出 版 社

北 京

· 版权所有 侵权必究 ·

举报电话:010-64030229;010-64034315;13501151303(打假办)

内 容 简 介

本书编写参照了建设国家级实验教学示范中心要求的实验教学模式,将实验项目分成基本实验操作、基础训练型实验、综合提高型实验及研究应用型实验四个板块,分别介绍了21项实验内容。在实验内容的选取上,既考虑到生物化学与分子生物学学科本身的要求,又力求贴近临床医学实践和医学科研相关知识,在深度和难度上遵循从易到难、从基础生物化学到分子生物学的逐渐过渡。这种安排能较好地使初学者打好实验操作基础、逐步提高操作技能、熟练掌握生物化学与分子生物学所要求实验技能,并拥有初步科研能力。

本书可以作为高等医学院校各专业的生物化学与分子生物学实验教材,各校可根据实际情况进行取舍;也可以作为研究生实验教材或科研人员参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

生物化学与分子生物学实验指导 / 张志珍, 刘勇军主编. —北京: 科学出版社, 2010. 8 ...

(全国高等院校医学实验教学规划教材)

ISBN 978-7-03-028589-8

I. 生… II. ①张… ②刘… III. ①生物化学-实验-医学院校-教学参考资料、②分子生物学-实验-医学院校-教学参考资料 IV. ①Q5-33 ②Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 158734 号

策划编辑:周万颢 李国红 / 责任编辑:周万颢 李国红 / 责任校对:桂伟利

责任印制:刘士平 / 封面设计:黄超

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

明辉印装有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2010年8月第一版 开本:787×1092 1/16

2010年8月第一次印刷 印张:7

印数:1—5 000 字数:155 000

定价:16.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《全国高等院校医学实验教学规划教材》 编写指导委员会

主任	丁元林				
副主任	施建明				
委员	刘仿	唐湘涓	吴斌	李果明	黄培春
	苏汝好	唐焕文	贾振斌	庄海旗	
总策划	刘仿				
秘书	徐美奕	林华胜	余海波		

总 序

随着 21 世纪经济与社会的发展,科学技术既向纵深发展、不断分化,又互相渗透、不断融合;同时,新兴学科与边缘学科的兴起、新技术的应用、信息量的剧增,对医学的发展产生了重大而深远的影响,这些必将促进医学教育的全面改革。实验教学作为高等教育的重要组成部分,是学生实践能力和创新能力培养的重要途径,其重要性已受到越来越广泛的关注。

目前,传统实验教学模式仍占主导地位,存在不少弊端和不足:以学科为基础构建的课程体系,忽略了生命科学的整体性、系统性;学科体系繁多,相互孤立,学科间联系不够;实验室分散,功能单一,设备重复购置,资源浪费,效率低下,调配困难;实验教学内容陈旧,手段落后,方式老化,实验内容以验证理论为主,缺少现代医学实验内容;医学生学习的积极性、主动性不强。这些明显滞后于现代医学的发展,影响教学质量,不利于大学生创新意识和实践能力的培养,难以培养出高素质、创新型的医学人才。如何改革传统的实验教学体系,培养具有创新精神、知识面广、动手能力强的新型医学人才,已成为当务之急。教育部、卫生部《关于加强医学教育工作,提高医学教育质量的若干意见》(教高〔2009〕4号)明确提出“高等学校要积极创新医学实践教学体系,加强实践能力培养平台的建设。积极推进实验内容和实验模式的改革,提高学生分析问题和解决问题的能力”,进一步明确了医学实验教学的重要性和改革的必要性。根据教育部文件精神,要对传统医学实验教学模式进行改革,最大限度地整合有限资源,优化重组教学实验室,依托相关学科优势,与学科建设相结合,构建开放共享的实验教学中心,力求突出和贯彻执行教育部提出的“三基”、“五性”和注重实用性的要求,以培养学生的探索精神、科学思维、实践能力和创新能力。构建新型的医学实验教学体系,要求我们从根本上改变实验教学依附于理论教学的理念,理论教学与实验教学要统筹协调,既有机结合又相对独立,建立起以能力培养为主线,分层次、多模块、相互衔接的实验教学体系。

以教学内容和课程体系改革为核心、培养高素质、创新型人才为目标,科学整合实验教学内容,打破既往学科框架,按新构建的科学体系,编写适合创新性实验教学体系的配套实验教材已显非常迫切。在科学出版社的大力支持下,《全国高等院校医学实验教学规划教材》编委会以广东医学院为主体,协同重庆医科大学、中山大学等全国 33 所高等医药院校相关专业的 167 名专家、教授共同编写了这套实验教学系列教材。全系列教材共 26 本,分别是《医学物理学实验》、《医用基础化学实验》、《医用有机化学实验》、《系统解剖学实验》、《医学机能学实验教程》、《病原生物学与医学免疫学实验》、《生物化学与分子生物学实

验指导》、《病理学实习指南》、《计算机应用基础上机与学习指导》、《预防医学实习指导》、《卫生统计学实习指导》、《流行病学实习指导》、《临床营养学实习指导》、《营养与食品卫生学实习指导》、《毒理学基础实验指导》、《环境卫生与职业卫生学实习指导》、《健康评估实验指导》、《护理学基础实验指导》、《内科护理学实验指导》、《外科护理学实验指导》、《妇产科护理学实验指导》、《儿科护理学实验指导》、《药理学实验教程》、《药学实验指导》、《临床免疫学检验实验》、《核医学实验教程》。

本系列实验教学规划教材是按照教育部国家级实验教学示范中心的要求组织策划,根据专业培养要求,结合专家们多年实验教学经验,并在调研当前高校医药实验室建设的实际情况基础上编写而成,充分体现了各学科优势和专业特色,突出创新性。同时借鉴国外同类实验教材的编写模式,力求做到体系创新、理念创新。全套教材贯彻了先进的教育理念和教学指导思想,把握了各学科的总体框架和发展趋势,坚持了理论与实验结合、基础与临床结合、经典与现代结合、教学与科研结合,注重对学生探索精神、科学思维、实践能力的培养,我们深信这套教材必将成为精品。

本系列实验规划教材编写对象以本科、专科临床医学专业为主,兼顾预防、基础、口腔、麻醉、影像、药学、中药学、检验、护理、法医、心理、生物医学工程、卫生管理、医学信息等专业需求,涵盖全部医学生的医学实验教学。各层次学生可按照本专业培养特点和要求,通过对不同板块的必选实验项目和自选实验项目相结合修选实验课程学分。

由于医学实验教学模式尚存在地区和校际间的差异,加上我们的认识深度和编写水平有限,本系列教材在编写过程中难免存在偏颇之处,敬请广大医学教育专家谅解,欢迎同行们提出宝贵意见。

《全国高等院校医学实验教学规划教材》编写指导委员会

2010年6月

前 言

《生物化学与分子生物学》实验教学是高等医学教育的重要组成部分,是提高学生基本实验操作及实验技能的主要手段,是培养学生养成独立分析问题、解决问题能力的重要途径,是学生后续专业技能学习与提高的必要基础,因此为适应生物化学与分子生物学教学要求,为配合科学出版社《生物化学》(案例版,第2版)理论教材教学,结合生物化学与分子生物学教学实践的实际情况,组织编写了这本实验教材。

本教材共分为四章。第一章是基本实验操作,重点介绍了生物化学与分子生物学实验的基本实验操作、动物实验的基本操作技术;第二章为基本训练型实验,主要以实验训练为目的,以经长期教学实践,证明对医学院校学生理解医学各学科理论体系有很好辅助作用的实验项目为主要内容;第三章是综合提高型实验,主要是进一步提高学生实验技能、提高自我解决问题的能力;第四章为研究应用型实验,主要是检验学生分析问题、解决问题及综合能力,通过这章实验训练,有助于提高医学院校学生灵活自如应用实验来解决具体问题的能力。

本教材的编写均由长期从事《生物化学与分子生物学》实验教学的中青年教师执笔,他们有着较为丰富的实验教学经验,能与时俱进地更新实验教学理念、手段及内容,将他们的教学感受及经验有机地融入教材,能帮助学生更容易地掌握实验要点,以规范学生的操作。虽然本教材编写的实验数量不多,但力求将每个实验写透彻,同时还通过增加与实验相关的上、下游知识,增加学生学习兴趣点,对理论教材是一个有益的补充。

本教材不仅适合医学院校各专业本科学生使用,也可供研究生、相关专业的科研、教学及技术人员参考。

由于编者水平有限,时间紧,教材中不当或错误之处恳请同行专家和使用 者批评指正,以便再版时修正完善。

张志珍 刘勇军
2010年5月于东莞

目 录

第一章 基本实验操作	(1)
实验一 基本实验操作	(1)
实验二 动物实验的基本操作技术	(11)
第二章 基础训练型实验	(15)
实验三 凝胶过滤法分离蛋白质	(15)
实验四 考马斯亮蓝染色法测定蛋白质浓度	(20)
实验五 醋酸纤维素薄膜电泳分离血清蛋白质	(24)
实验六 Hanes 作图法测定兔血红细胞过氧化氢酶 K_m 值	(29)
实验七 血清总胆固醇浓度测定	(34)
实验八 血清丙氨酸氨基转移酶和天冬氨酸氨基转移酶活性测定(赖氏法)	(38)
实验九 改良 J-G 法测定血清胆红素	(43)
实验十 血清葡萄糖浓度测定	(48)
第三章 综合提高型实验	(54)
实验十一 小鼠肝组织 DNA 的提取及鉴定	(54)
实验十二 TRIzol 试剂法提取总 RNA	(59)
实验十三 质粒 DNA 的转化	(63)
实验十四 质粒 DNA 的制备	(68)
实验十五 DNA 的限制性内切酶酶切分析	(72)
实验十六 RT-PCR	(77)
实验十七 外源基因在大肠埃希菌中的诱导表达	(84)
实验十八 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质	(89)
实验十九 免疫印迹检测	(94)
第四章 研究应用型实验	(99)
实验二十 实验讨论课	(99)
实验二十一 文献综述训练	(100)
参考文献	(102)

本章着重介绍和生物化学与分子生物学密切相关的基本实验操作、常用仪器使用及基本动物实验操作。主要介绍刻度吸量管及微量加样器的使用方法,讲解 UV2100 型紫外可见光分光光度计的基本原理及使用方法;动物实验基本操作。此外,生物化学与分子生物学实验中还会用到的仪器包括:离心机、恒温水浴箱、恒温箱、超净工作台、恒温空气摇床、微波炉、电泳仪、凝胶成像仪、紫外透射仪等,将在每一个具体实验中加以介绍。

实验一 基本实验操作

【实验目的】

1. 学习实验报告的书写。
2. 学会刻度吸量管、微量加样器和分光光度计的使用。

【实验器材】

各种量程刻度的吸量管、微量加样器和 UV 2100 型紫外可见光分光光度计。

【实验操作】

一、实验报告书写要求

生物化学与分子生物学实验是在生物化学与分子生物学理论及有关理论指导下的实践。实验目的在于经过实践掌握科学观察的基本方法和技能,培养科学思维、分析判断及解决实际问题的能力,培养尊重科学事实和真理的学风和科学态度。当然,通过实验还可加深和扩大对生物化学与分子生物学理论的认识。

为了达到实验的目的,要求学生在实验前进行预习,通过预习对实验的内容、目的要求、基本原理、基本操作及注意事项有初步的了解;要求学生在实验中合理组织安排时间,严肃认真地进行操作,细致观察各种变化并如实做好实验结果的记录;还要求学生在操作结束后认真进行计算分析,写好实验报告。实验报告书写按照科研论文撰写要素要求,基本格式包括:实验目的、实验原理、实验仪器与试剂、操作步骤、实验结果与结论和实验讨论等。

判断实验报告书写好坏的根本标准:让没有做过这个实验的读者按照实验报告所提供的信息可以很好地重复做出实验报告者的实验结果,这就是好的实验报告。

(一) 实验目的

每一个具体实验都有一个明确的目的,也就是通过做这个实验,可以学会哪些操作、得到哪些训练、掌握哪些知识等,这些都是明确、具体的。因此,实验目的应该用简洁明了的

语言进行表达,不要照搬照抄实验指导的原话,最好用自己的语言进行归纳和总结。

(二) 实验原理

实验原理是指实验通过什么样的一个科学道理来达到实验目的,所以首先要分清我们所做实验是定性实验还是定量实验,其次说清楚定性与定量的道理,力求简洁明了能让读者容易理解;可用反应方程式、简单示意图、列表或流程图表示,最重要是能将实验原理阐述清楚,让读者容易理解。

(三) 实验器材与试剂

每个实验都用到的一般玻璃仪器、刻度吸管或微量加样器等不要求描述与记录,主要是记录每个实验所要使用的主要仪器或比较特殊的不常见仪器,这些仪器可以是一些较大型、较贵重的分析仪器,也可以是比较特殊的玻璃仪器,例如提取肝脏中的 DNA 实验所使用的玻璃匀浆器等,同时对记录的仪器需注明型号、厂家及厂地。

要求记录的试剂也应该是每个实验所要使用的主要试剂或比较特殊的试剂,试剂级别若没有特别注明的话,一般是分析纯试剂,如果用到一些特殊级别试剂需特别注明,同时标明试剂的货号、厂家及厂地。

(四) 操作步骤

操作步骤的记录要遵循“及时、如实记录”原则。操作步骤是实验报告中较为重要的部分,读者能否重复作者的实验结果,在很大程度上取决于操作步骤的完整性和真实性。这部分记录常见的不足之处:①记录用词不规范,口语化严重,不够简洁。②记录不及时,不是实验过程中的记录,而是做完实验后的回忆记录,这样会造成错记或漏记。③照抄实验指导中的步骤,而没有客观记录每一个细节。实验指导中经常会出现一些像“室温静置 5~10 分钟”这样的用语,放在指导中是可以,表示室温下静止放置 5 分钟至 10 分钟均可,但作为实验记录,室温静止放置只允许是某个具体的时间,不能是一个时间范围。所有这些不足都与及时如实原则相悖。那么操作步骤如何记录才能做得比较好呢?首先,实验过程中养成随身携带记录本的习惯,随时记录关键数据,如时间、体积、温度、离心转速和时间等;其次,在理解实验指导操作步骤的基础上,归纳总结用自己的语言简洁地记录实验过程的每一步。此外,这部分还须注明哪些操作容易出错与如何避免、哪些操作是要注意安全等注意事项。

(五) 实验结果与结论

有很多初学者,分不清结果与结论,这可能是由于这两者联系紧密而造成的。结果是可以从实验中直接得到的原始数据或图表、实验现象;结论是必须通过分析、计算实验结果才能得到的带有结论性的描述。例如,用分光光度法测定某物质浓度,结果就是测定各管的吸光度,结论应该是:用分光光度法测定某样品中某物质浓度是 $\times\times\times\text{mmol/L}$ 。

实验结果的记录应遵循客观真实原则,也就是说,实验结果是通过实验过程得到的数据、图表或现象,是客观的,不是凭空想像或杜撰的;而且实验结果是真实的,不能篡改,是多少就是多少,不能随意修改实验结果。实验课就是培养尊重科学事实、真理的学风和科学态度,医学本身就是一门实验科学,还不是真正的科学,所以有许多的假说或争论需要用

实验来验证,如果实验结果随意篡改,那么实验就失去了存在的意义。

实验结论的推导应该符合逻辑、计算正确,与实验目的相呼应。所以,实验结论内容应该简洁明确,如需要进行推导的结论,应用简洁语言写出推导过程。

(六) 实验讨论

实验讨论部分是最能体现实验者专业理论知识、实验观察能力、分析问题及解决问题能力的精华部分。一篇实验报告、一篇科研论文写得水平高低与讨论部分密切相关。所以,实验讨论对整个实验报告是非常重要的部分,也是实验者提高实验能力的重要方面。

初学者经常遇到的问题就是讨论不知道写些什么?回答这个问题前,我们先了解科研论文讨论都写哪些内容。

科研论文的讨论一般从实验目的开始,为探讨……分析了……得到了……用简单几句话从目的过渡到实验结果;然后,对结果进行陈述,阐述如何得到自己的结论;接着将自己的结论与文献的相关结论进行比较,哪些文献是支持自己的结论,哪些文献是与自己的结论相对立,并需要简明扼要地说明其中的原因;再接着,要指出自己论文中存在的主要不足,分析造成不足的主要原因是什么,可能的话应写出如何避免;最后对自己的论文作一个适当的评价,这个评价要与论文的结论相呼应。

实验报告的讨论部分其实与科研论文的讨论思路大致是相同的,只是在讨论自己的结论时,一般很少与文献作比较,可与同时做实验的其他实验者的结论进行比较,分析相同或不同的原因。另外,实验报告的讨论部分还可对整个实验过程中的任何一个环节进行讨论与分析,可以写出对实验的感受和印象,也可以写实验者认为最值得注意的地方等,所以实验报告的讨论比科研论文的讨论范围更广。

刚开始写讨论会遇到不知写什么的问题,就像小学生开始学写作文一样,好像没有内容可写,但坚持下去,慢慢地可写的内容就多了。写不好没有关系,坚持写,每次实验都认真写,认真体会和感受,经过几次实验后,就会发现自己的讨论有进步了,越写越好。实验报告最好在做完实验后及时书写,这样对实验的印象感受还比较深,写讨论会容易一些。

二、常用仪器使用

(一) 刻度吸量管的使用

在刻度吸量管广泛使用前,量取液体时经常使用移液管。移液管是一种量出式仪器,只用来测量它所放出溶液的体积。它是一根中间有一膨大部分的细长玻璃管,其下端为尖嘴状,上端管颈处刻有一条标线,是所移取的准确体积的标志,每根管的体积是固定的。常用的移液管有 5ml、10ml、25ml 和 50ml 等规格,由于每根移液管体积是固定的,使用就受到限制,目前实验室常用的是刻度吸量管,它是一种具有连续刻度的直形玻璃管,下端呈尖形,简称为吸量管,见图 1-1。常用的吸量管有 0.1ml、0.2ml、0.5ml、1ml、2ml、5ml 和 10ml 等规格,每种规格均是指其最大量程,可在最小量程与最大量程之间量取所需液体。吸量管最小刻度通常是最大量程的 1%。这里只介绍吸量管的使用方法及注意事项。

1. 选择 使用前应根据所要量取的液体体积,选择适当量程的吸量管,其最大量程最好等于或稍大于取液量,同时必须看清楚吸量管的刻度读数,以免弄错,有些吸量管的刻度

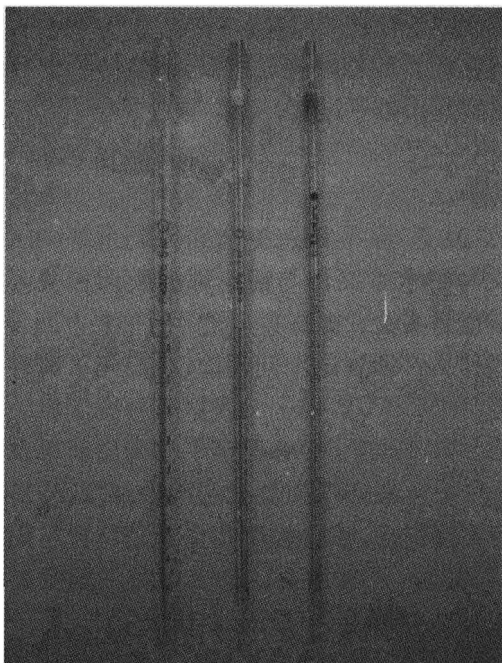


图 1-1 三种规格刻度吸量管
左为 5.0ml; 中为 1.0ml; 右为 0.5ml

是从上往下标的, 还有些是从下往上标的。

2. 持管与持洗耳球 持管与持毛笔方法非常相似, 只是拿毛笔是持在笔的下段。保持住持毛笔的手式, 将手移到笔的最上末端, 同时将无名指和小指移到与中指同侧, 就成了持吸量管的推荐手式。具体来说, 用拇指及中指持住吸量管的上末端, 无名指及小指自然顺着中指靠在管的同侧, 中指、无名指和小指同侧与拇指形成对立, 这样可拿稳吸量管, 同时还可左右转动管, 再用食指堵住管口, 左右转动吸量管, 此时会有少量空气从食指与管口的空隙中进入, 这样就可以控制液面下降速度, 刻度数字要对着实验者, 见图 1-2A。切忌用大拇指堵住管口, 控制流量, 见图 1-2B。

持管要领: 手式正确、持管自然放松、掌心不与管接触, 留有较大空隙; 持管手一定要干燥, 否则手湿不易控制液面下降速度。

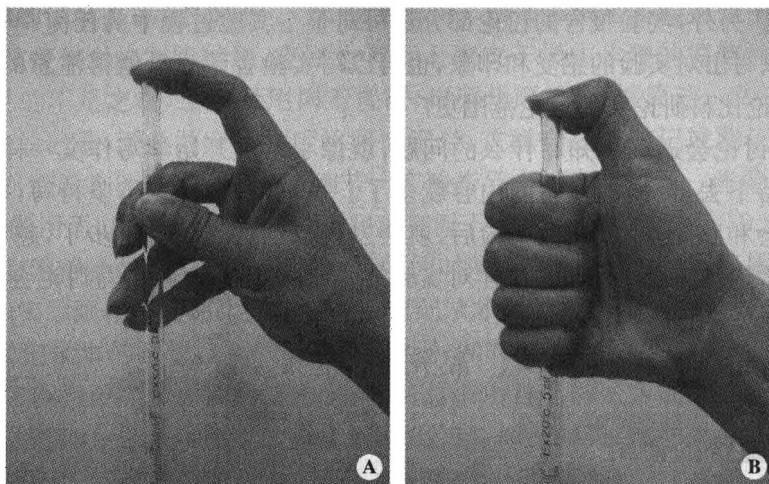


图 1-2 持刻度吸量管推荐手式与常见错误手式
A. 推荐手式; B. 常见错误手式

持洗耳球手式与持管手式是一致的, 中指、无名指和小指与拇指分别位于球的两侧, 拿住球, 食指压住球的顶端, 主要通过食指、拇指、中指及无名指从上方和侧面挤压洗耳球, 见图 1-3A。

持球要领: 手式正确、持球自然放松, 掌心不与球面接触。常见错误: 用拇指放在球的顶端, 只用拇指从上方挤压洗耳球, 见图 1-3B。

持管与持球之间还有一个细节, 经常会被提及: 是左手持管, 还是左手持球, 其实现在一般不再强调左右手的区分了。首先, 左右手是对称的, 管和球也是对称的, 所以左手持

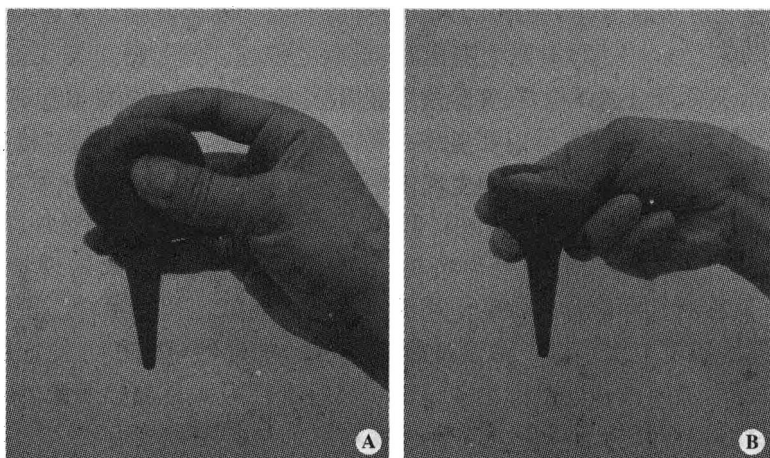


图 1-3 持吸耳球推荐手式与常见错误手式

A. 推荐手式; B. 常见错误手式

管,还是右手持管都没有区别;其次,现在教学过程中更注重学生个性发展和人性化了,不再强迫学生改掉左、右手使用习惯。其实使用刻度吸量管有一个根本原则:不管是用左手还是用右手持管,只要能准确、自如地量取所需体积的液体即可。

3. 量取溶液 左手或右手持洗耳球,将吸量管的尖端插入所量取试剂液面下 1cm 处。根据所需要量取体积的多少,决定挤压洗耳球程度,量取体积多挤压程度大,反之就小;用洗耳球下端出口对准吸量管上端口,缓慢放松捏球手指,将液体慢慢吸上,眼睛注视上升液面;当液面上升至所需刻度以上,且低于吸量管上端口时立即用持吸量管手的食指按紧管口。

4. 调准刻度 吸量管从溶液中取出后(如标准溶液或黏性较大的液体)都必须用吸水纸将吸管尖端外部溶液擦干。主要通过持管手的中指、无名指与拇指转动吸量管,食指轻压在管口,控制液面下降速度,使液面缓慢下降至所需刻度时(此时,液体弯月面底部、刻度和视线在同一水平面上),持管手的食指立即按紧吸量管上端口,同时停止转动吸量管,使液体不再流出。

5. 放出溶液 将吸量管转移至盛放所取溶液的容器内,如是锥形瓶,应使锥形瓶倾斜 30° ,使吸管尖端接触容器内壁,但不能插入容器内原有液体中,以免污染吸量管。松开持管手食指,使液体自然流出。放液后吸管尖端残留的液体是吹出或不吹出,则视选用吸量管种类而定。

附:吸量管的“吹”与“不吹”

吸量管是实验室常用必备玻璃仪器,其操作有着“吹”与“不吹”之分。吸量管一般标有:“快”、“A”、“B”、“吹”四种符号,“快”或者“B”表示液体放完后,再等 3 秒钟,转移的液体量就达到标明的液体体积了。标注“A”的吸量管一般都很贵,精确度高些,液体转移放完之后,需要再等待 15 秒钟才能使吸量管离开容器壁。“吹”的意思是:等放液结束,需要用洗耳球把吸量管尖端残存的液柱吹到容器里,才能达到目标体积。这段液柱一般可达 0.1~0.3ml,如果不吹,体积误差就太大了。“A”管很少有带“吹”的,带“吹”的一般都是标“B”或“快”的吸量管。

(二) 微量加样器

微量加样器,又称微量加样枪,在实验室中被简称“枪”。与微量加样器配套使用的塑料锥状管,称为吸头,英文称为“Tip”,所以实验室中称之为 Tip 头,也可以称为“枪尖”或“枪头”。微量加样器最早出现于 1956 年,由德国生理化学研究所的科学家 Schmitzger 发明。1958 年,德国 Eppendorf 公司开始生产按钮式微量加样器,成为世界上第一家生产微量加样器的公司。

微量加样器发展到今天,加样更为精确,品种多种多样,加样的物理学原理有两种:①使用空气垫(又称活塞冲程)加样;②使用无空气垫的活塞正移动加样。不同原理的微量加样器有其不同的特定应用范围。活塞冲程(空气垫)加样器可以很方便地用于固定或可调体积液体的加样,加样体积的范围为 1~10ml。一次性吸头是加样系统的一个重要组成部分,其形状、材料特性及与加样器的吻合程度均对加样的准确度有很大的影响。活塞正移动加样器可以用于具有高蒸气压的、高黏稠度及密度大于 $2.0\text{g}/\text{cm}^3$ 、易产生气溶胶的液体。活塞正移动加样器的吸头一般由厂家配套生产,不能使用通常的吸头或不同厂家的吸头。此外,还有多通道加样器、电子加样器和电子分配器等,它们的工作原理与上述相同。多通道加样器通常为 8 通道或 12 通道,与 $8\times 12=96$ 孔微孔板一致。多通道加样器的使用不但可减少实验操作人员的加样操作次数,而且可提高加样的精密度。电子加样器和电子分配器为半自动加样系统,电子加样器具有很高的加样重复性,应用范围广。

根据微量加样器最大量程不同,常见加样器有 $3\mu\text{l}$ 、 $20\mu\text{l}$ 、 $200\mu\text{l}$ 、 $1000\mu\text{l}$ 和 $5000\mu\text{l}$ 等;与之配套的吸头分别为: $10\mu\text{l}$ 、 $20\mu\text{l}$ 、 $200\mu\text{l}$ 、 $1000\mu\text{l}$ 和 $5000\mu\text{l}$ 等。一般而言,吸头的颜色分别代表不同的体积, $10\mu\text{l}$ 和 $20\mu\text{l}$ 的吸头通常是白色的, $200\mu\text{l}$ 吸头是黄色的, $1000\mu\text{l}$ 和 $5000\mu\text{l}$ 吸头是蓝色或白色的。

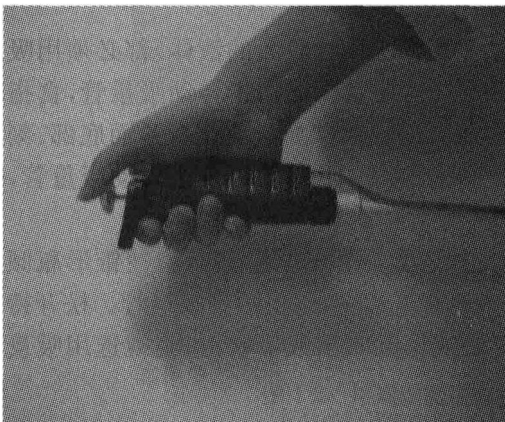


图 1-4 正确握微量加样器的方法

按钮,不能超出刻度范围。

3. 选择合适的吸头 将配套的吸头装在加样器套筒上,稍加扭转压紧,使吸头套紧。否则,移取的液体将少于设定的体积,或者液体会往下滴。

4. 取液 吸液手握移液器,大拇指按下按钮至第一停点(图 1-5A),将加样器垂直浸入溶液 2~3mm,然后缓慢平稳地松开拇指,慢慢吸入液体(图 1-5B)。停留 1 秒或待液面不再上升,然后将吸头提离液面。用吸水纸抹去吸嘴外面可能黏附的液滴,小心勿触及吸头口。

5. 判断 目测吸入的液体体积是否合理,这需要有一定的使用经验。

1. 选择量程合适的加样器 加样器只能在特定量程范围内准确移取液体,使用时,如超出最低或最大量程的液体,会损坏加样器并导致计量不准。最大量程一般标在活塞柄上,最小量程通常是最大量程的 1/10,但 $1000\mu\text{l}$ 加样器最小量程通常是 $100\sim 200\mu\text{l}$, $5000\mu\text{l}$ 加样器最小量程通常是 $1000\mu\text{l}$ 。握加样器方法见图 1-4。

2. 设定容量值 有些加样器通过旋转按钮设置容量,有些则通过刻度显示,刻度调节系统由 3 个数字组成,从上而下表示最大量程的前 3 位数,调节到所需体积刻度。注意使用旋

6. 放液 将吸头口贴到容器内壁并保持 $10^{\circ}\sim 40^{\circ}$ 倾斜, 平稳地把按钮压到第一停点, 停 1~2 秒后(图 1-5C), 继续按压到第二停点, 排出残余液体(图 1-5D)。松开按钮, 同时提起加样器(图 1-5E)。如果 1 次排液未排尽, 可以重复 1~2 次, 直至排尽残余液体。

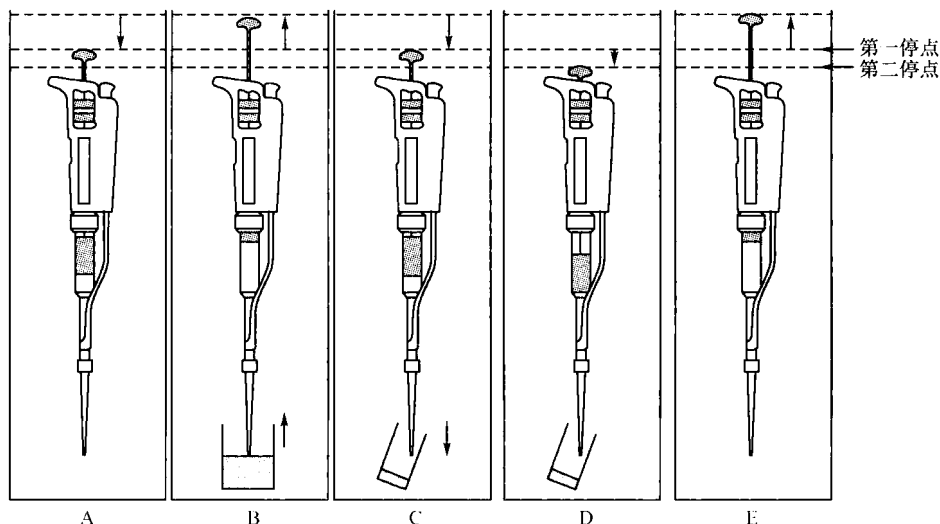


图 1-5 微量加样器量取溶液过程

A. 准备取液, 活塞按钮压到第一停点; B. 正在取液, 拇指慢慢松开活塞按钮, 让溶液慢慢上升; C. 放液, 拇指慢慢往下压活塞按钮, 溶液慢慢滴下, 一直按到第一停点; D. 排尽吸头尖端残留溶液, 如果活塞压到第一停点时, 仍有残留溶液没有被排尽, 此时应再加大拇指下压力, 将活塞按钮压至第二停点将残留溶液排尽, 有时仍可能有残留溶液, 可重复 C、D 两个步骤直至溶液排尽; E. 排完溶液后, 加样器活塞回到自然状态, 完成取液

7. 弃吸头 按弹射器除去吸头, 也可以用手将不用的吸头取下(只有改用不同样本液体时才需更换吸头)。

8. 使用注意事项

(1) 必须根据设计容量选用适当型号的移液器, 调整的读数不得超过其标称的容量范围, 否则使螺旋拧出壳体造成计数结构损坏。

(2) 吸取不同类型的溶液应更换吸嘴, 以防止溶液之间的交叉污染。

(3) 新吸头在使用前应吸、排溶液几次, 浸渍吸头以消除误差。

(4) 加样器吸液后严禁倒置、平放, 以免溶液流入内腔, 损坏活塞。

(5) 加样器使用完毕, 要将旋钮调到其最大量程刻度, 否则时间久了会使内腔的弹簧变形, 影响加样器寿命。

(6) 长时间不用或刚从箱中取出的新加样器应轻轻用手将推动按钮上下按压几次, 再进行正常使用。

(三) 紫外可见分光光度计

UV 2100 型紫外可见分光光度计采用低杂散光, 高分辨率的单光束光路结构, 仪器具有良好的稳定性、重现性。应用最新微处理芯片, 使操作更为快速、便捷, 并且具有自动校准 $0\%T$ 和 $100\%T$ 等控制功能及各种方法的数据处理功能。配有并行口, 可直接连接打印机, 打印实验数据; 还有标准 RS-232(串口)通信接口, 可通过 UNICO 用户应用软件和普通的装有 Microsoft Windows 系统的个人计算机联机, 进行实验测试和数据处理。

UV 2100 型紫外可见分光光度计有透光度(TRANSMITTANCE)、吸光度(ABSORBANCE)、已知标准样品的浓度值(CONCENTRATION)或斜率(FACTOR)测量样品浓度等测量方式,可根据需要选择合适的测量方式。该光度计设有开机自检功能,自检后波长自动停在 546nm,测量方式自动设定在透射率方式(T),并自动调 100%T 和 0%T,见图 1-6。

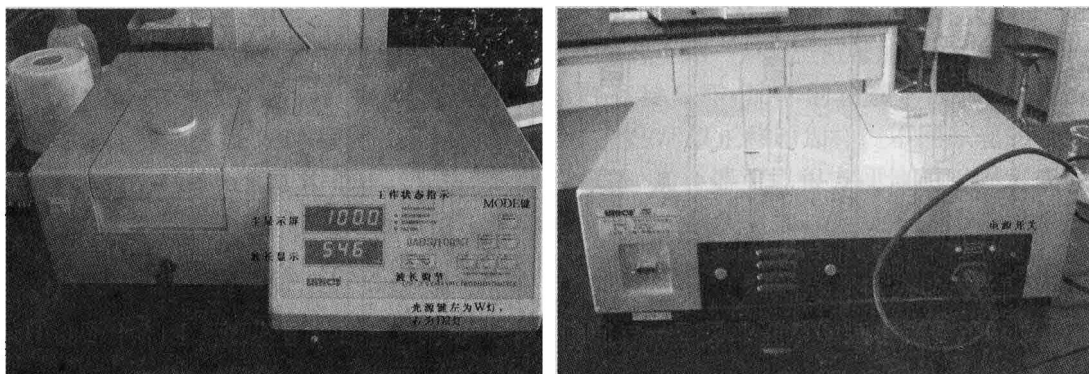


图 1-6 UV 2100 型紫外可见分光光度计
左图为前面板;右图为后面板

在开机前,需先确认仪器样品室内是否有物品挡在光路上,光路上有阻挡物将影响仪器自检甚至造成仪器故障。

1. 操作步骤

(1) 连接仪器电源线,确保仪器供电电源有良好的接地性能,然后开机预热。一般的分析仪器在使用前都要提前预热,目的是让仪器处在一个相对稳定的工作状态,而仪器工作状态稳定是精确测定的前提。首先,仪器会先行自检,自检完毕,显示器显示“546nm 100.0”(图 1-6);其次,根据测定波长选择所需光源(可见光用“W”灯,紫外光用“D2”灯,W 代表钨灯,D2 代表氘灯)。关闭暂时不需要的光源,主要是节省光源灯的使用时间,延长其使用寿命;最后让仪器继续处于开机状态,预热时间一般为 15~30 分钟。

(2) 按“MODE”键选择所需工作模式:仪器有透光度(T)、吸光度(A)、已知标准样品浓度值方式(C)和已知标准样品斜率(F)方式,一般常用吸光度模式。

(3) 根据具体实验要求,选择合适测定波长,每个实验均会给出测定波长。

(4) 按“WAVELENGTH”下面的“^”或“V”键,设置所需测定波长,此时,显示主屏上会出现“BLA”字样,每次更改测定波长时,都会出现“BLA”字样提醒操作者,接下来应该调整吸光度为 0,透光度为 100%,否则仪器将不会继续工作。

(5) 打开样品室盖,将装有参比液的比色皿插入最外侧比色杯槽位中,依次将装有待测液或标准液比色皿插入第二、第三和第四槽位中;然后合上比色室盖,将比色拉杆推放到第一槽位,此时仪器光路正对着参比液比色皿,按“0A/100%T”键,显示屏出现“BLA —”,表示仪器正在将参比液吸光度调为 0,透光度调为 100%,此时不要按仪器上任何键。

(6) 待主屏显示为“0.000”或是“-0.000”时,表示调零过程已完成,将比色拉杆拉至二号比色皿位,第一个被测样品正对着入光路,此时液晶屏显示被测样品的吸光度,待读数稳定后,记录吸光度。同样方法分别测定第二、第三个样品吸光度。

(7) 测定完毕,取出比色杯,自来水洗净后用蒸馏水冲洗两次,倒置于比色皿架上晾干;合上比色室盖,关闭仪器电源开关,拔下电源插头;用抹布擦净仪器上可能有的污渍。