



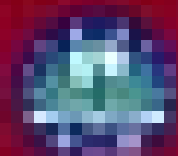
云南省普通高等学校“十二五”规划教材
高等学校实验教学示范中心系列规划教材

植物生理学综合性和设计性实验教程

李忠光 龚 明 编著



华中科技大学出版社
<http://www.hustp.com>



普通高等教育“十一五”国家级规划教材
普通高等教育生物科学专业教材

植物生理学综合性和 设计性实验教程

张其成 主编 张其成 副主编

清华大学出版社
Tsinghua University Press

植物生理学综合性和设计性实验教程

李忠光 龚 明 编著

华中科技大学出版社

中国·武汉

内 容 提 要

本书主要介绍植物生理学实验基础、植物生理学综合性和设计性实验概述,以及热激诱导的玉米幼苗耐热性观察及其生理生化机制、气孔运动中的信号交谈、烟草悬浮细胞培养体系的建立和原生质体培养及高等植物叶绿体及其色素等实验技术,将 54 个基础性实验通过不同的主题串联成综合性实验,并附有 42 个设计性实验选题。

本书介绍的这些实验方法,既可以独立开设基础性实验,也可以围绕相关主题开设综合性和设计性实验。本书可作为高等院校生物科学、应用生物科学、生物技术等本科生教材与相关学科教学和研究人员参考书。

图书在版编目(CIP)数据

植物生理学综合性和设计性实验教程/李忠光,龚明编著. —武汉:华中科技大学出版社,2013. 12
ISBN 978-7-5609-9516-8

I. ①植… II. ①李… ②龚… III. ①植物生理学-实验-高等学校-教材 IV. ①Q945-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 287034 号

植物生理学综合性和设计性实验教程

李忠光 龚 明 编著

策划编辑:王新华

责任编辑:程 芳 熊 彦

封面设计:李 嫒

责任校对:邹 东

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:武汉科源印刷设计有限公司

开 本:710mm×1000mm 1/16

印 张:11

字 数:230 千字

版 次:2014 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

定 价:26.00 元



华中出版

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

前 言

植物生理学是研究植物生命活动规律及与环境相互关系的科学,是生物学领域中实验性较强的学科。在深化高等教育改革的今天,对实验教学提出了更高层次的要求,教学目标从传统的“验证理论,培养动手能力和多种实验技能”向“培养创新思维、创新能力和科研能力”转变。但长期以来,植物生理学实验多以验证理论和培养基本实验技能的验证性实验为主,培养学生综合能力与创新能力的综合性和设计性实验较少,在一定程度上制约了学生能力的提高。为适应 21 世纪我国高等教育改革和发展的需要,培养具有创新能力和实践能力的生物学教学与研究人才,多年来,针对我校植物生理学实验课程的培养目标和学科特点,我们把科研成果转化为综合性和设计性实验内容,在植物生理学实验教学中进行了综合性和设计性实验教学改革与实践,研究成果分别在 2008 年和 2009 年获得云南师范大学教学成果一等奖和云南省教学成果二等奖。在此基础上,通过参阅国内外相关课程的最新研究成果,编写了本书。

本书在介绍“植物生理学实验基础”和“植物生理学综合性和设计性实验概述”的基础上,以植物逆境生理章节中“热激诱导的玉米幼苗耐热性观察及其生理生化机制”、水分代谢和信号传导章节中“气孔运动中的信号交谈”、植物生长发育章节中“烟草悬浮细胞培养体系的建立和原生质体培养”和光合作用章节中“高等植物叶绿体及其色素”四条主线为线索,将植物生理学中的 54 个基础性实验通过不同的主题串联成综合性实验,每个综合性实验后都配有不同的设计性实验选题。这些实验方法,既可以独立开设基础性实验,也可以围绕相关主题开设综合性和设计性实验。本书是既体现综合性和设计性,又具有灵活性的实验教材。本书可作为高等院校生物科学、应用生物科学、生物技术等本科生教材与相关学科教学和研究人员的参考书。

鉴于编者的水平有限,编写时间较仓促,本教程难免有不足之处,敬请读者和专家指正。

编 者

2013 年 10 月

目 录

第 1 章 植物生理学实验基础	(1)
1.1 植物生理学实验守则	(1)
1.2 植物生理学实验中常用仪器使用方法简介	(2)
1.3 化学试剂规格的划分及配制方法	(23)
1.4 实验材料的采集、处理与保存	(25)
1.5 实验数据的处理	(28)
第 2 章 植物生理学综合性和设计性实验概述	(31)
2.1 综合性和设计性实验的概念与特点	(31)
2.2 开设综合性和设计性实验的意义	(31)
2.3 综合性和设计性实验选题引导	(32)
2.4 综合性和设计性实验方案确立与实施	(33)
2.5 综合性和设计性实验的教学方法	(33)
2.6 综合性和设计性实验的考核方法	(34)
2.7 综合性和设计性实验科技论文写作方法简介	(36)
第 3 章 热激诱导的玉米幼苗耐热性观察及其生理生化机制	(48)
3.1 实验背景	(48)
3.2 实验目的	(48)
3.3 植物材料的培养和处理	(49)
实验 1 种子发芽率的测定(红墨水染色法和 TTC 法)	(49)
实验 2 种子的萌发和幼苗伤害率与存活率的测定	(50)
3.4 热激对玉米幼苗耐热性的影响	(51)
实验 3 组织活力的测定(TTC 法)	(51)
实验 4 细胞质膜透性的检测(电导仪法)	(52)
实验 5 生物膜过氧化程度的鉴定(丙二醛法)	(53)
3.5 抗氧化系统在热激诱导玉米幼苗耐热性形成中的作用	(55)
实验 6 过氧化氢酶(CAT)活性的测定(紫外吸收法)	(55)
实验 7 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定(NBT 法)	(56)
实验 8 抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定(紫外吸收法)	(58)
实验 9 过氧化物酶(GPX)活性的测定(愈创木酚法)	(59)
实验 10 谷胱甘肽还原酶(GR)活性的测定(紫外吸收法)	(60)

实验 11	抗坏血酸(AsA/DHA)含量的测定(比色法)	(61)
实验 12	谷胱甘肽(GSH/GSSG)含量的测定(比色法)	(62)
实验 13	硫化氢(H ₂ S)含量的测定	(64)
3.6	渗透调节物质在热激诱导玉米幼苗耐热性形成中的作用	(66)
实验 14	脯氨酸(Pro)含量的测定(比色法)	(67)
实验 15	甜菜碱含量的测定(比色法)	(68)
实验 16	可溶性糖含量的测定	(69)
3.7	热激蛋白在热激诱导玉米幼苗耐热性形成中的作用	(73)
实验 17	可溶性蛋白含量的测定(考马斯亮蓝法)	(74)
实验 18	热稳定蛋白(含热激蛋白)含量的测定(考马斯亮蓝法)	(75)
实验 19	热激蛋白相对分子质量的测定 (SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法)	(77)
3.8	玉米幼苗在热激及其后的恢复和高温胁迫过程中活性氧水平的变化 ..	(79)
实验 20	过氧化氢含量的测定	(79)
实验 21	超氧阴离子自由基产生速率的测定	(84)
实验 22	一氧化氮(NO)含量的测定	(87)
3.9	玉米幼苗在热激及其后的高温胁迫和恢复过程中钙调素活性的变化 ..	(88)
实验 23	磷酸二酯酶的提取和活性测定	(88)
实验 24	玉米幼苗中 CaM 活性的测定	(89)
3.10	玉米幼苗在热激及其后的恢复和高温胁迫过程中 质膜 NADPH 氧化酶和 H ⁺ -ATPase 活性的变化	(91)
实验 25	质膜微囊泡的分离和纯化	(91)
实验 26	质膜 NADPH 氧化酶活性的测定(XTT 比色法)	(93)
实验 27	质膜 H ⁺ -ATPase 活性的测定	(94)
3.11	玉米幼苗在热激及其后的恢复和高温胁迫过程中呼吸速率的变化	(95)
实验 28	用光合蒸腾作用测定系统测定植物呼吸速率	(95)
3.12	玉米幼苗在热激及其后的恢复和高温胁迫过程中水分状况的变化	(97)
实验 29	植物组织水势和渗透势的测定	(97)
实验 30	植物组织中自由水和束缚水含量的测定	(102)
3.13	玉米幼苗在热激及其后的恢复和高温胁迫过程中 苯丙氨酸解氨酶和脂氧合酶活性的变化	(104)
实验 31	苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定	(104)
实验 32	脂氧合酶(LOX)活性的测定	(105)
3.14	玉米幼苗在热激及其后的恢复和高温胁迫 过程中 ABA 水平的变化	(106)
实验 33	酶联免疫吸附测定法测定脱落酸含量	(106)

3.15 本章设计性实验选题	(109)
第4章 气孔运动中的信号交谈	(115)
4.1 实验背景	(115)
4.2 实验目的	(115)
4.3 实验材料的培养和处理	(115)
4.4 光照和钾离子对气孔开度的影响	(115)
实验 34 光照对气孔开度的影响	(115)
实验 35 钾离子对气孔开度的影响	(116)
4.5 钙信使系统对气孔运动的影响	(117)
实验 36 Ca^{2+} 对气孔开度的影响	(117)
实验 37 CaM 对气孔开度的影响	(118)
4.6 活性氧对气孔运动的影响	(119)
实验 38 H_2O_2 对气孔运动的影响	(119)
实验 39 NO 对气孔运动的影响	(119)
4.7 植物激素对气孔运动的影响	(120)
实验 40 ABA 对气孔运动的影响	(120)
实验 41 茉莉酸(JA)和水杨酸(SA)对气孔运动的影响	(121)
实验 42 硫化氢(H_2S)对气孔运动的影响	(122)
4.8 本章设计性实验选题	(122)
第5章 烟草悬浮细胞培养体系的建立和原生质体培养	(125)
5.1 实验背景	(125)
5.2 实验目的	(125)
5.3 烟草植株的培养	(125)
5.4 愈伤组织的诱导和悬浮培养细胞体系的建立	(126)
实验 43 愈伤组织的诱导	(126)
实验 44 愈伤组织继代培养和悬浮培养细胞体系的建立	(129)
实验 45 悬浮培养细胞存活率的测定(显微计数法)	(130)
实验 46 悬浮培养细胞存活率的测定(分光光度法)	(131)
实验 47 悬浮培养细胞活力的测定(TTC 法)	(132)
实验 48 悬浮培养细胞渗透势的测定(质壁分离法)	(132)
实验 49 原生质体培养与融合	(133)
实验 50 原生质体活力的测定(FDA 染色法)	(135)
5.5 本章设计性实验选题	(136)
第6章 高等植物叶绿体及其色素	(139)
6.1 实验背景	(139)
6.2 实验目的	(139)

6.3 叶绿体色素理化性质及含量的测定	(139)
实验 51 光合色素的提取和理化性质	(139)
实验 52 光合色素的吸收光谱的测定	(141)
实验 53 光合色素含量的测定	(142)
实验 54 叶绿体光诱导荧光强度的测定	(144)
6.4 本章设计性实验选题	(146)
附录	(148)
附录 A 硫酸铵饱和度常用表	(148)
附录 B 实验中常用酸、碱的相对密度和浓度的关系	(150)
附录 C 常用固态酸、碱、盐的物质的量浓度配制参考表	(150)
附录 D 常用有机溶剂及其主要性质	(151)
附录 E 常用酸、碱指示剂	(153)
附录 F 标准计量单位	(154)
附录 G 常见的植物生长调节物质及其主要性质	(156)
附录 H 植物激素与生长调节剂在农业生产中的应用	(157)
附录 I 维生素及其主要性质	(159)
附录 J 常用缓冲溶液的配制	(160)
参考文献	(165)

第1章 植物生理学实验基础

1.1 植物生理学实验守则

(1) 进入实验室必须穿着实验工作服,严禁赤脚、穿拖鞋。

(2) 对于基础性实验,实验前应认真预习,弄清实验目的、原理、方法及步骤,根据实验要求,做好预习报告;对于综合性和设计性实验,实验前要写好设计方案,熟悉实验实施过程中所涉及的试剂的配制方法和设备的使用方法;按时进入实验室,接受教师检查,预习和设计方案未完成者,不得做实验。

(3) 尊敬师长,团结同学;实验室内禁止打闹、喧哗,保持安静的学习、研究环境。

(4) 不准在实验室内留宿,严禁在实验室内生火做饭、进餐、吃零食和贮藏食物及化妆品。

(5) 未经实验室管理者同意,任何人不得将实验室内物品、设备、药品带出实验室。实验开始前,实验教师必须将实验用具向学生交代清楚,实验结束后如数清点收回,遗失或损坏者必须填写报损单,交实验教师签字,并按学校、学院有关规章制度进行赔偿。

(6) 未经实验室管理者或实验教师同意,不得在实验室上网、私自拷贝教师课件和动用实验室任何物品、设备、药品等;学生上实验课时,严禁动用除当次实验教学需要以外的任何物品及设备。

(7) 保持实验室内地面、台面、桌面及设备表面的整洁卫生,严禁随手乱涂、乱画、乱扔废物及纸屑;每次实验结束后,值日生负责打扫、清洗,将垃圾倒入垃圾箱。

(8) 实验室内严禁吸烟,严禁电炉、火柴、蜡烛等明火与醇、苯、汽油、煤气等易燃易爆物品接触,严禁用电炉、酒精炉(灯)取暖,严防火灾。

(9) 使用酸、碱、乙醚、氰化物、砷化物等有毒致伤性化学物品时,应严格遵守实验操作规程及有关安全管理规定,违反者必须对一切后果负责。

(10) 严格按实验操作规范操作,违反操作规程等造成仪器设备损坏或丢失时,当事人均应赔偿。

(11) 违反本规则的教师和学生,管理人员有权向学院或实验教学中心投诉;同时,教师和学生也有权向学院或实验教学中心投诉违反本规则的管理人员。学院或实验教学中心查明情况后,根据违规的情节轻重给予相应的处罚或处分。

1.2 植物生理学实验中常用仪器使用方法简介

1.2.1 移液管的使用

(1) 检查移液管的管口和尖嘴有无破损,若有破损则不能使用。

(2) 洗净移液管 用自来水淋洗后,用铬酸洗液浸泡,操作方法如下:用右手拿移液管上端合适位置,食指靠近管上口,中指和无名指张开,握住移液管外侧,拇指在中指和无名指中间位置握在移液管内侧,小指自然放松;左手拿洗耳球,持握拳式,将洗耳球握在掌中,尖口向下,握紧洗耳球,排出球内空气,将洗耳球尖口插入或紧接在移液管上口,注意不能漏气。慢慢松开左手手指,将洗涤液慢慢吸入管内,直至刻度线以上部分,移开洗耳球,迅速用右手食指堵住移液管上口,等待片刻后,将洗涤液放回原瓶。并用自来水冲洗至移液管内、外壁不挂水珠,再用蒸馏水洗涤 3 次,控干水备用。

(3) 吸取溶液 摇匀待吸溶液,将待吸溶液倒一小部分于一洗净并干燥的小烧杯中,用滤纸将清洗过的移液管尖端内外的水分吸干,并插入小烧杯中吸取溶液,当吸至移液管容量的 $\frac{1}{3}$ 时,立即用右手食指按住管口,取出,横持并转动移液管,使溶液流遍全管内壁,将溶液从下端尖口处排入废液杯内。如此操作,润洗 3~4 次后即可吸取溶液。

将用待吸液润洗过的移液管插入待吸液液面下 1~2 cm 处,用洗耳球按上述操作方法吸取溶液(注意移液管插入溶液不能太深,并要边吸边往下插入,始终保持此深度)。当管内液面上升至标线以上 1~2 cm 处时,迅速用右手食指堵住管口(此时若溶液下落至标线以下,应重新吸取),将移液管提出待吸液液面,并使管尖端接触待吸液容器内壁,片刻后提起,用滤纸擦干移液管下端黏附的少量溶液。(在移动移液管时,应将移液管保持垂直,不能倾斜。)

(4) 调节液面 左手另取一干净小烧杯,将移液管管尖紧靠小烧杯内壁,小烧杯保持倾斜,使移液管保持垂直,刻度线和视线保持水平(左手不能接触移液管)。稍稍松开食指(可微微转动移液管),使管内溶液慢慢从下口流出,液面将至刻度线时,按紧右手食指,停顿片刻,再按上法将溶液的弯月面底线放至与标线上缘相切为止,立即用食指压紧管口。将尖口处紧靠烧杯内壁,向烧杯口移动少许,去掉尖口处的液滴。将移液管小心移至承接溶液的容器中。

(5) 放出溶液 将移液管直立,接受器倾斜,管下端紧靠接受器内壁,放开食指,让溶液沿接受器内壁流下,管内溶液流完后,保持放液状态停留 15 s,将移液管尖端在接受器靠点处靠壁前后小距离滑动几下(或将移液管尖端靠接受器内壁旋转一周),移走移液管(残留在管尖内壁处的少量溶液,不可用外力强使其流出,因校准移液管时,已考虑了尖端内壁处保留溶液的体积。除在管身上标有“吹”字的,可用洗耳

球吹出外,其余的不允许吹出)。

(6) 洗净移液管,放置在移液管架上。

吸量管的使用方法与移液管相似。

1.2.2 滴定管的使用

1. 酸式滴定管的使用

(1) 涂凡士林 在使用一支新的或较长时间不使用的和使用了较长时间的酸式滴定管时,常会因玻璃活塞闭合不好或转动不灵活,实验中出现漏液和操作困难等问题。因此,必须涂抹凡士林,具体方法如下:将滴定管放在平台上,取下活塞,用滤纸片擦干活塞、活塞孔和活塞槽。用手指在活塞两端沿圆周各涂上一层薄薄的凡士林,然后将活塞直插入活塞槽中,向同一方向转动活塞,直至活塞和活塞槽内的凡士林全部透明为止。此时,在活塞孔内应无凡士林(若有,说明凡士林涂得太多;若转动不灵活,说明凡士林涂得太少),并剪一小乳胶圈套在活塞尾部的凹槽内,防止活塞掉落损坏。

(2) 试漏 检查活塞处是否漏水,方法是:将活塞关闭,充满水至一定刻度,擦干滴定管外壁,把滴定管直立夹在滴定管架上静置 10 min,观察液面是否下降,滴定管下管口是否有液珠,活塞两端缝隙中是否渗水(用干的滤纸在活塞槽两端贴紧活塞擦拭并察看滤纸是否潮湿,若潮湿,说明渗水)。若不漏水,将活塞转动 180°,静置 2 min,按前述方法察看是否漏水,若不漏水且活塞转动灵活,说明涂油成功。否则,应再擦干活塞,重新操作,直至不漏水为止。

(3) 洗涤 酸式滴定管的外侧可用洗衣粉或洗洁精涮洗,管内无明显油污或不太脏的滴定管可直接用自来水冲洗,或用洗涤剂泡洗,但不可用去污粉刷洗,以免划伤内壁,影响体积的准确测量。若有油污不易洗净,可用铬酸洗液洗涤。洗涤时将酸式滴定管内的水尽量除去,关闭活塞,倒入 10~15 mL 洗液于滴定管中,两手横持滴定管,边转动边向管口倾斜,直至洗液布满全管内壁为止,立起后打开活塞,将洗液放回原瓶中。如果滴定管油垢较严重,将铬酸洗液充满滴定管,浸泡十几分钟或更长时间,甚至用温热洗液浸泡一段时间。放出洗液后,先用自来水冲洗,再用蒸馏水淋洗 3~4 次,洗净的滴定管其内壁应完全被水润湿而不挂水珠。倒尽水并将滴定管倒置夹在滴定台上。

(4) 装溶液和赶气泡 准备好滴定管后即可装入标准滴定溶液。装标准滴定溶液之前应将试剂瓶中的标准滴定溶液摇匀,使凝结在试剂瓶内壁的水珠混入溶液,为了除去滴定管内残留的水分,确保标准滴定溶液的浓度不变,应先用此标准滴定溶液淋洗滴定管内壁 3 次以上,每次用约 10 mL 标准滴定溶液,从下口放出少量(约 1/3)以洗涤尖嘴部分,然后关闭活塞横持滴定管并慢慢转动,使溶液与管壁处处接触,将溶液从管口倒出弃去,但不要打开活塞,以防活塞上的油脂冲入管内。尽量将管内溶液倒完后再进行下次洗涤,方法相同,但润洗液要从管尖处放出(不能从管口放出),

如此洗涤 3 次后,即可装入标准滴定溶液。

(5) 调零 加入标准滴定溶液至“0”刻度线以上,然后转动(打开)活塞使溶液迅速冲出,排出下端存留的气泡,再调节液面至“0”刻度线稍上方(如溶液不足,可以补充),夹在滴定台上静置约 1 min,再调至“0”刻度线处,读数时,手持在“0”刻度线以上部位,保持滴定管竖直,“0”刻度线和视线保持水平,慢慢转动活塞,放出溶液,使弯月面下缘刚好和“0”刻度线上缘相切。调好零点后,将滴定管夹在滴定台上备用。

(6) 滴定 滴定一般在锥形瓶中进行,有时也可在烧杯中进行。滴定操作时左手握持滴定管的活塞,右手摇动锥形瓶,使用酸式滴定管操作时,左手的大拇指从滴定管内侧,放在活塞上中部,食指和中指从滴定管外侧,放在活塞下面两端,手腕向外略弯曲(以防手心碰到活塞尾部而使活塞松动漏液),以控制活塞。滴定时转动活塞,控制溶液的流出速度,要求能熟练做到:①逐滴放出溶液;②只放出一滴溶液;③使溶液成悬而未滴的状态,即滴加半滴溶液。

滴定前,观察液面是否在“0”刻度线,若滴定管内的液面不在“0”刻度线,则记下该读数(为滴定管初读数),若在“0”刻度线,也做记录,最好能调在“0”刻度线,这样可提高读数的准确性。用干燥、洁净的小烧杯的内壁碰一下悬在滴定管尖端的液滴(此操作一定要进行,管尖外的液滴是滴定管有效体积之外的,否则将产生误差)。

滴定时,应使滴定管管尖部分插入锥形瓶口(或烧杯口)下 1~2 cm 处,滴定速度不能太快,以每秒 3~4 滴为宜,或呈不连续液滴状落下,但不能呈连续直线状下落。边滴边摇动锥形瓶(滴入烧杯中时应用玻璃棒搅拌),摇动锥形瓶时应按同一方向旋转摇动(不可左右或前后振动,否则溶液会溅出);锥形瓶口应尽量不动,防止碰坏滴定管。在滴定时,标准滴定溶液应直接落入锥形瓶或烧杯中的溶液中,不可沿锥形瓶壁往下流动,否则会附着在瓶壁上没有及时和试液发生反应,而使滴定过量。临近终点时,应逐滴加入,然后半滴加入,将溶液悬挂在滴定管尖端,用锥形瓶的内壁靠下,用少量蒸馏水冲下(建议:不要过多地用蒸馏水进行冲洗,以防水中的杂质影响实验结果),然后摇动锥形瓶,观察终点是否已到(为便于观察,可在锥形瓶下放一块白瓷板),如终点未到,继续靠加半滴标准滴定溶液,直至终点到达。

(7) 读数 由于水溶液的表面张力的作用,滴定管中的液面呈弯月形,无色水溶液的弯月面比较清晰,有色溶液的弯月面清晰程度较差,因此,两种情况的读数方法稍有不同。

为了正确读数,应遵守下列规则:①注入溶液或放出溶液后,需等待 30 s~1 min 后才能读数(使附着在内壁上的溶液流下);②应用拇指和食指拿住滴定管的上端(液面上方适当位置)使滴定管保持竖直后读数;③对于无色溶液或浅色溶液,应读取弯月面下缘实线的最低点,读数时视线应与弯月面下缘实线的最低点相切,即视线与弯月面下缘实线的最低点在同一水平面上,初读数和终读数应用同一标准,颜色较深的有色溶液则读上线;④有一种蓝线衬背的滴定管,它的读数方法与上述不同,无色溶

液有两个弯月面相交于滴定管蓝线的某一点,读数时视线应与此点在同一水平面上,对有色溶液读数方法与上述普通滴定管相同;⑤滴定时,最好每次都从“0”刻度线开始,这样可减少测量误差,读数必须准确到 0.01 mL;⑥为了协助读数,可采用读数卡,这种方法有利于初学者练习读数,读数卡可用黑纸(涂有黑长方形(约 3 cm×1.5 cm)的白纸制成),读数时,将读数卡放在滴定管背后,使黑色部分在弯月面下约 1 mm 处,此时即可看到弯月面的反射层成为黑色,然后读此黑色弯月面下缘的最低点。

2. 碱式滴定管的使用

(1) 准备 选择一直径合适、圆滑的玻璃珠,置于长度适中、管内径合适的乳胶管中,连接管尖和管身。

(2) 试漏 装蒸馏水至一定刻度线,擦干滴定管外壁,吸去管尖处的液滴。把滴定管直立夹在滴定管架上,静置 5 min,观察液面是否下降,滴定管下管口是否有液珠,若漏水,则应调换乳胶管中的玻璃珠,选择一个大小合适且比较圆滑的配上再试。玻璃珠太小或不圆滑都可能漏水,太大则操作不方便。

(3) 洗涤 同酸式滴定管,但要注意,铬酸洗液不能直接接触乳胶管,否则乳胶管容易变硬损坏。可将乳胶管连同尖嘴部分一起拔下,滴定管下端套上一个滴瓶胶帽,然后装入洗液洗涤;也可将碱式滴定管的尖嘴部分取下,乳胶管还留在滴定管上,将滴定管倒立于装有洗液的器皿中,固定在滴定管架上,连接到水压真空泵上,打开水龙头,轻捏玻璃珠,待洗液徐徐上升至接近乳胶管处即停止,让洗液浸泡一段时间后,拆开抽气管,将洗液放回原瓶中,用自来水冲洗滴定管,再用蒸馏水淋洗 3~4 次,擦干水倒置夹在滴定台上备用。

(4) 装溶液和赶气泡 装溶液方法同酸式滴定管,赶气泡方法和酸式滴定管不同,碱式滴定管的赶气泡方法是将乳胶管向上弯曲,管尖要高于玻璃珠一定位置,玻璃珠下方的乳胶管应圆滑,必要时可倾斜滴定管,用力捏挤玻璃珠侧上方乳胶管,使溶液从尖嘴喷出,以排出气泡。碱式滴定管中的气泡一般藏在玻璃珠附近,必须对光检查乳胶管内气泡是否完全赶尽。

(5) 调零 赶尽气泡后再调节液面至“0”刻度线稍上方处,夹在滴台上静置约 1 min(若溶液不足可补加),再调整液面至刚好在“0”刻度线处,记下初读数。

装标准溶液时应从容器内直接将标准溶液倒入滴定管中,不能用小烧杯或漏斗等其他容器中转,以免浓度改变。

(6) 滴定 使用碱式滴定管进行滴定操作时,左手的拇指在前,食指在后,在乳胶管中玻璃珠的一侧(建议在外侧)中间稍偏上处捏挤,使乳胶管与玻璃珠之间形成一条缝隙,溶液即可流出。但注意不能捏挤玻璃珠下方的乳胶管,否则松开手指后,有空气从管尖进入形成气泡,导致误差。通过改变捏挤的缝隙大小,来控制滴定速度。其他要求同酸式滴定管。

(7) 读数 同酸式滴定管。

1.2.3 微量加样器的使用

1. 设定容量值

加样器容量计读数由三到四位数字组成(显示所转移液体容量),读数精确到小数点后一位,从上(最大有效数字)到下(最小有效数字)读取。利用底部刻度可将容量调节到更精确的分度。转动加样器的调节环设定所需容量。

2. 吸液

首先选择一支合适的吸头安放在加样器套筒上,稍加扭转压紧吸头使之与套筒间无空气间隙。未装吸头的加样器绝不可用来吸取任何液体。

标准吸液步骤如下:

- (1) 把按钮压至第一停点。
- (2) 垂直握持加样器,使吸头浸入液体中,浸入液体深度视型号而定。
- (3) 缓慢、平稳地松开按钮,吸液体。等 1 s,然后将吸头提离液面。用吸纸抹去吸嘴外面可能附着的液滴。注意勿触及吸头口。

3. 放液

- (1) 将吸头口贴到容器内壁并保持 $10^{\circ}\sim 40^{\circ}$ 倾斜。
- (2) 平稳地把按钮压到第一停点。等 1 s 后再把按钮压至第二停点以排出剩余液体。
- (3) 压住按钮,同时提起加样器,使吸头贴容器壁擦过。
- (4) 松开按钮。
- (5) 按吸头弹射器除去吸头(只有改用不同液体时才需更换吸头)。

4. 预洗

当装上一个新吸头(或改变吸取的容量值)时应预洗吸头,方法是先吸入一次液体并将之排回原容器中。

预洗新吸头能有效提高移液的精确度和重现性。这是因为第一次吸取的液体会在吸头内壁形成液膜,导致计量误差。而同一吸头在连续操作时液膜相对保持不变,故第二次吸液时误差即可消除。

5. 致密及黏稠液体的吸取

对于密度低于水的液体,可将容量计的读数调到低于所需值来进行补偿。

排放致密或黏稠液体时,宜在第一停点多等 1~2 s 再压到第二停点。

对密度高、黏稠度大或挥发性的液体,推荐使用活塞正移动加样器或吸液时把按钮压至第二停点,放液时压到第一停点。

6. 加样器吸头

加样器吸头是整个移液系统的重要组成部分,对其基本要求是,有高机械稳定性、热力学和化学稳定性,且纯度高,生产过程纯净,无有机或化学物质(如染料)和重金属污染。选择环口密封良好、壁薄和嘴口尖细的吸头,将使得在加样时,吸头的安

装或卸脱更加容易。吸头管壁有弹性,加样吸液时不会产生旋涡,这样加样的精度就更高。吸头嘴口无毛刺,表面光洁平滑,可避免液体滞留外壁引起误差。吸头应与加样器上吸头套筒密封完好,可防止由于空气泄漏而造成加样误差。此外,吸头还应有液体容积刻度线。最后,吸头应可在 121 °C 下消毒 20 min。

如果在使用加样器加样中,想绝对避免样品与样品、样品与加样器或样品与操作人员之间的污染,建议使用 Diamond 带滤芯吸头。Diamond 带滤芯吸头可以经高温消毒,其内置滤芯不会损坏。

7. 注意事项

实验室基本上以使用连续可调式加样器为主。在使用连续可调式加样器时应注意以下几点,以使加样器发挥最佳性能。

- (1) 取液之前,所取液体应在室温(15~25 °C)平衡。
- (2) 操作时要慢和稳。
- (3) 在取样加样过程中应注意移液吸头不能触及其他物品,以免被污染;移液吸头盒(架子)、废液瓶、所取试剂及加样的样品管应摆放合理,以方便操作、避免污染为原则。
- (4) 连续可调式加样器在使用完毕后应置于加样器架上,远离潮湿及腐蚀性物质。
- (5) 吸头浸入液体深度要合适,吸液过程中尽量保持不变。
- (6) 改吸不同液体、样品或试剂前要换新吸头。
- (7) 发现吸头内有残液时必须更换。
- (8) 新吸头使用前应先预测。
- (9) 为防止液体进入加样器套筒内,必须注意以下几点。
 - ①压放按钮时保持平稳;
 - ②加样器不得倒转;
 - ③吸头中有液体时不可将加样器平放;
 - ④P5000 及 P10ML 加样器一定要加滤芯。
- (10) 勿用油脂等润滑活塞或密封圈。
- (11) 不可把容量计数调超其适用范围。
- (12) 液体温度与室温有异时,应将吸头预洗多次再用。
- (13) 移液温度不得超过 70 °C。
- (14) 移取了酸或有腐蚀蒸气的溶液后,最好拆下套筒,用蒸馏水清洗活塞及密封圈。

8. 故障排除

工作中如发现加样器漏气或计量不准,其可能原因及解决方法如下。

- (1) 套筒螺帽松动:用手拧紧螺帽。
- (2) 套筒刮花或破裂:卸下弹射器,检查套筒。P2、P10 或 P20 加样器套筒破损时,活塞也可能变形。安装套筒时应用手拧紧螺帽。
- (3) 活塞或密封圈受化学腐蚀:更换活塞和密封圈。用蒸馏水洗涤套筒内壁。

发现套筒内有液体,可依下法清洁:卸下弹射器,拧下螺帽并用蒸馏水洗涤套筒、活塞、密封圈及 O 形环,待完全干燥后重新组装。如发现 P5000 及 P10ML 滤芯变湿必须更换。需要时,可将套筒、螺帽和弹射器在 121 °C 消毒 20 min。注意密封圈及 O 形环不能高温消毒。

(4) 发现吸液时有气泡:①将液体排回原容器;②检查吸头浸入液体深度是否合适;③更慢地吸入液体,如仍有气泡应更换吸头。

凡是更换了活塞或操作杆的加样器需进行全面调校。

1.2.4 828 酸度计的使用

Orion 828 型 pH 测定仪是基于微处理器的耐久易用测试仪,将其与复合 pH 电极联合电极联合使用,是可靠的基本 pH 测量系统。此系统对有多个使用者的繁忙实验室或工厂环境最为理想。自动标定、自动温度补偿和诊断性辅助操作代码等先进的功能使 pH 值的测量简单易行。

1. 仪器使用

(1) 接通电源 通过电源应接器将测试仪插入合格的墙壁插座。整个显示屏(所有的信号)将显示 2 s。一旦完成所有电源接通步骤,测试仪便自动进入测试方式。

(2) 仪器检查步骤(建议在仪器第一次使用前或当仪器出现故障时进行此项检查步骤,本步骤用来核实测试仪器运作是否正常)如下。

①将短路盖连接到电极输入孔;②将线应接器牢固地插入测试仪线应接器的输入孔内,然后连接到适当的墙壁插座,快速按下确定键(按住 3 s)以启动自检;③当“0”出现在显示屏下部时,按每个键一次,每次按键都有一个数字显示出来;④当自检完毕后,测试仪将自动进入测量方式;⑤如果在自检过程中发现问题,按辅助操作代码进行(具体参阅说明书)。

(3) 设置方式 按设置键直到设置指示灯亮以选择设置方式,这个方式用于设定、更改或查看测试仪的操作参数(改变参数需按确定键才有效)。当处于设置方式时,确定键用于上下滚动菜单而不改变参数,或用于将新参数输入测试仪的存储器。滚动键用于改变每个功能的设置。可随时按设置键以退出设置方式。

以下参数可在设置方式下获得:①斜率:电极存储器中的斜率将被显示出来。在 pH 方式下,该数值是以理论斜率的百分比来显示的,仪器的自动设置值为 100%,在 ISE 方式下,该数值是以 mV/10 倍浓度来显示的,仪器的自动设置值为 59.2 mV/10 倍浓度,此功能仅为显示之用,此数值在设置菜单内不能改变,如果要改变斜率值,必须进行至少一次两点标定,或在一点 pH 标定时设置斜率。按确定键继续下面的菜单功能。②人工缓冲溶液选择:当输入人工缓冲溶液选择后,显示屏上出现 STD“57 d”或 SET“5SE7”,按滚动键可改变数值。当显示所希望的设置时,按确定键。如果选择了 STD,标定只能在标准缓冲溶液(pH 4.0、6.86、9.18)内进行。如果选择了