

高等农林院校实验实训教材
国家园艺实验教学示范中心资助



YUANYI ZHIWU ZUZHI PEIYANG
SHIYAN ZHIDAO

园艺植物组织培养 实验指导

徐凌飞 主编

西北农林科技大学出版社

高等农林院校实验实训教材
国家园艺实验教学示范中心资助

YUANYI ZHIWU ZUZHI PEIYANG
SHIYAN ZHIDAO

园艺植物组织培养 实验指导

徐凌飞 主编

参 编 黄 炜 王志刚
张 静 王 飞

西北农林科技大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

园艺植物组织培养实验指导 / 徐凌飞主编. —杨凌:西北农林科技大学出版社, 2017.8
ISBN 978-7-5683-0346-0

I. ①园… II. ①徐… III. ①园林植物—组织培养—实验—高等学校—教学参考资料
IV. ①S680.1—33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 208284 号

园艺植物组织培养实验指导

徐凌飞 主编

出版发行	西北农林科技大学出版社	
地 址	陕西杨凌杨武路 3 号	邮 编:712100
电 话	总编室:029—87093105	发行部:87093302
电子邮箱	press0809@163.com	
印 刷	北京京华虎彩印刷有限公司	
版 次	2017 年 8 月第 1 版	
印 次	2017 年 8 月第 1 次	
开 本	787 mm×1092 mm	1/16
印 张	3.5	
字 数	80 千字	

ISBN 978-7-5683-0346-0

定价:10.00 元

本书如有印装质量问题,请与本社联系

前言

Preface

植物组织培养是在科学实验和生产实践中不断发展起来的新型学科,是实验技术性较强的学科之一。植物组织培养实验是教学中的中心和关键环节。课程组在 2005 年编写的《园艺植物组织培养实验指导书》基础上,及时补充更新知识,重新编著《园艺植物组织培养实验指导》。通过设置基础性实验、综合性实验以及设计性实验,使学生由浅入深、系统全面地掌握植物组织培养学的基本原理与方法,培养学生动手能力、科学思维能力以及科研能力。

全书包括十五个实验。其中,实验一、实验三、实验四和实验五由徐凌飞老师编写;实验二由张静老师编写;实验六、实验七、实验八、实验九和实验十由黄炜老师编写;实验十一由王志刚老师编写;实验十二、实验十三、实验十四和实验十五由王飞老师编写。

由于编者水平有限,书中错误和不足之处在所难免,恳请同行专家和读者不吝赐教。

编 者

2017 年 7 月

目录

CONTENTS

实验一	植物组织培养实验室的功能布局与规划设计	(1)
实验二	植物组织培养实验室基本仪器和设备操作使用	(6)
实验三	基本培养基和激素母液的配制与保存	(14)
实验四	培养基的配制和灭菌	(17)
实验五	无菌操作技术(接种)	(20)
实验六	继代培养与分化培养	(23)
实验七	植物无菌材料的培养	(25)
实验八	园艺植物无菌苗培养设计	(28)
实验九	无菌试管苗的生根培养	(30)
实验十	组培苗的驯化、移栽	(32)
实验十一	园艺植物茎尖培养脱毒技术	(35)
实验十二	园艺植物花粉或花药培养	(37)
实验十三	园艺植物的遗传转化	(39)
实验十四	园艺植物胚胎培养	(42)
实验十五	离体培养材料的形态观察	(44)

实验一 植物组织培养实验室的功能布局与规划设计

一、实验目的

1. 了解植物组织培养实验室的布局与规划要求。
2. 了解植物组织培养实验室的组成部分及其功能。

二、实验原理

植物组织培养要求的培养条件非常严格,是在无菌条件下对植物的组织、器官和细胞进行离体培养。培养条件既要达到无菌操作、无菌培养的要求,又要满足培养材料生长发育需要的适宜温度、光照和湿度等。为确保组织培养工作的顺利进行,必须要做好植物组织培养实验室的功能布局与规划设计。实验室的功能布局与规划设计有两个要求:一是要达到植物组织培养的培养条件要求;二是要按照组织培养的培养基制备、接种、培养和驯化炼苗等工作程序和实验室的功能,将整个环节安排成一条连续的生产线,做到合理、科学、有序、方便。通常根据实验室的工作性质和生产规模来设计实验室的大小。如用于教学、科研和小规模生产的,面积较小;进行大规模工厂化生产的,面积较大,也常称为“组培工厂”。但不论是实验室还是组培工厂,其建造要求、结构和功能基本相同,只是规模大小不同。

组织培养实验室是开展植物组织培养操作的场所,由执行不同功能的分室组成,一般包括准备室、接种室、培养室、驯化室和辅助室五部分。

三、实验步骤

1. 准备室

准备室一般由洗涤室、药品室、称量室、培养基配制室和灭菌室组成。准备室主要用于器械的清洗、干燥,药品的称量、配制,培养基的配制、灭菌以及培养材料从田间采集后的初步处理等。室内布局要求科学、严谨、整洁、舒畅。如果房间较多,可将培养器皿单分在另一间室内进行洗涤。如果培养基的制备和器皿的清洗是在同一个房间内进行,应特别注意不要使洗涤工作干扰培养基的制备,严禁肥皂水溅入培养基内。可以在两个区域之间竖立一块挡板,或者将清洗时间和配制培养基时间错开。

准备室的主要设备及用具有以下几种。

①实验台:其高度应适合站立工作,一般为 6~8 张实验台。

②冰箱:用于贮存易变质或常温下易分解的化学药品以及植物材料和各种母液。

③天平:用来称量大量元素、琼脂、蔗糖等。放置天平的地方要平衡和保持干燥,避免接触腐蚀性药品和水汽,称量精密度为 0.1~0.000 1 g。

④无离子水发生器或自动双重纯水蒸馏器:用于制备无离子水或双重纯水。

⑤酸度计(pH计):培养基配制时测定和调整培养基的 pH 值。

⑥电炉等加热器具:用于加热溶解生化试剂以及固体培养基配制时所需的琼脂。

⑦防尘橱和搁架:用于放置药品、贮存干净的器皿等。

⑧干燥箱:用于棉塞、器皿等干热灭菌及器皿烘干。

⑨洗涤用水槽:水槽应较大,最好是内贴白瓷砖。

⑩高压灭菌锅:按样式大小可分为小型手提式、中型立式和大型卧式等。手提式方便、快捷,但大量灭菌效率不高。大型卧式适合规模化生产,但一次灭菌所需时间较长。高压蒸汽灭菌适应于培养基、蒸馏水和各种用具的灭菌消毒等,一般在 121°C 、控温 $15\sim 40\text{ min}$ 后即可切断电源,缓慢降压至读数为 0 时方可取出灭菌物。

⑪过滤灭菌器:用于加热易分解、易丧失活性的生化试剂的灭菌。常用的规格为直径小于或等于 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 的滤膜。

⑫低速台式离心机:用于分离、洗涤培养细胞(团)及原生质体,一般转速为 $2\ 000\sim 4\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

⑬摇床:常用来进行细胞悬浮培养,分为水平往复式和回旋式两种,振荡速度因培养材料和培养目的的不同而不同,一般为 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

⑭倒置显微镜:多用于剥离植物茎尖和隔瓶观察、记录外植体及悬浮培养物(细胞团、原生质体等)的生长情况。

⑮培养器皿:各种不同类型的容器都可以用来培养植物材料,容器大小和形状的选择主要从培养物的生长情况来考虑。在一般的组织培养中,常要用到各种规格的玻璃试管、三角瓶、玻璃瓶,其中试管以口径 $20\sim 30\text{ mm}$,长度以 100 、 150 、 200 mm 较为常用。三角瓶规格多为 $50\sim 300\text{ mL}$ 。广口玻璃瓶操作方便,又可叠摞起来,瓶壁较三角瓶厚实,清洗时损坏率小,在快速繁殖时被广泛采用。现在很多实验室已经改用耐高温的聚丙烯容器取代玻璃培养容器。因为塑料容器大多质轻、透明,不宜破碎,多为长方盒形,不但培养的植株数目多,而且能一层层地叠摞起来,节约空间。试管或细口瓶的封口多用棉塞,有时在棉塞外层还要再包上一层纱布。三角瓶或广口瓶的封口通常采用牛皮纸或封口膜,并用线绳或橡皮筋扎紧。容器的数量取决于生产的规模,可以根据无菌操作的人数、每天的工作量和植物的培养周期进行预算。

2. 接种室

接种室又称无菌操作室,在这里要进行材料的消毒接种以及无菌材料的继代培养等,它是植物组织培养研究或生产工作中最关键的部分。

(1) 接种室的一般要求

由于接种室关系到培养物的污染率和接种工作的效率等重要指标,所以要求与外界有良好的隔离性能。面积易小不易大,如放置一台超净工作台只需 $7\sim 8\text{ m}^2$,2 台超净台 $10\sim 12\text{ m}^2$ 即足够。接种室的天花板及四壁尽可能光洁,不宜积染灰尘,并易于清洁和消毒。无菌室要干爽安静、清洁明亮,并在适当的位置吊装紫外灯,以进行室内照射灭菌。接种室应安装推拉门,平时将门窗关闭,以减少空气流动,保持与外界相对的隔离状态,减少尘埃与微生物的侵入。另外,接种室外应留有 2 m^2 的缓冲间,以便于进入接种室前在此更换鞋衣。

(2) 超净工作台

接种室的主要设备是超净工作台,是无菌操作的核心设备。超净台由三相电机作鼓风动力,功率 145~260 W 左右,工作电压 380 V。可将空气通过由特制的微孔泡沫塑料片层叠合组成的“超级滤清器”后吹送出来,形成连续不断的无尘无菌的超净空气流。通过这一过滤,大于 $0.3\ \mu\text{m}$ 的尘埃、真菌和细菌孢子就被除去了。而且由于超净空气保持了 $24\sim 30\ \text{m/min}$ 的流速,这样就足够防止因附近空气侵扰而引起的污染。工作台正面的金属网罩内是超级滤清器,用以阻拦大颗粒尘埃,应定期检查、拆洗或更换。如使用年久,尘粒堵塞,风速减小,不能保持正常工作时,应及时更换。超净台进风口在背面或正面的下方,进风口以外,如有漏气孔隙,应采取贴胶布等方法堵严。超净台的安放应避免进风罩对着开敞的门或窗,以延长滤清器的使用寿命。

(3) 无菌操作器具

每个超净台上需配备酒精灯 1 盏,25 cm 长的医用镊子 2 把,4 号解剖刀柄 2~4 把,21~23 号刀片若干,不同形状的解剖剪各 1~2 把,如平的、膝状的、弧形的等。广口瓶或三角瓶几个,用于存放 70% 和 95% 酒精以备镊子、刀、剪等的浸泡。

(4) 小搁架

用于置放高压灭菌后,等待接种的培养瓶。尺寸设计方面建议采用高 100 cm、宽 50 cm、长 120 cm 的规格,并分为 4 层。存放的瓶子一般够 20 万以下生产规模接种一周用即可。

接种室还可以备一些常用的无菌水(经高压灭菌的蒸馏水)、消毒灭菌药剂(如 0.1% 升汞等)和一些用于新材料表面灭菌和清洗的烧杯等。为了尽可能保持接种室的无菌状态,室内应力求简洁,凡与本室无直接关系的物品一律不能放入。

(5) 接种室的消毒

为了减少接种过程的污染,保持干净相对的无菌环境,定期用福尔马林(40% 甲醛)加少量高锰酸钾进行密闭熏蒸,比例为 1 g 高锰酸钾加入 10 mL 甲醛。每次密闭熏蒸 24 h 以上,工作人员进入工作前应通风换气 20 min。一般在接种前采用 20~30 min 的紫外灯照射消毒。再用 70% 酒精定期喷雾,使灰尘沉降。

3. 培养室

培养室实际上是小型人工气候室。不管外界是酷暑还是寒冬,为了植物一年四季都能正常生长,培养室必须提供植物适宜生长的温度、光照和空气湿度。

(1) 培养室的设计要求

培养室的温度要求常年保持在 $25\pm 1^\circ\text{C}$ 左右。因此房屋的构造上应具有良好的保温隔热性能。培养室应尽量安排在楼层较高处,以利于采光。如果是专为组织培养设计的新建筑,则应最大限度地增加房间的采光面积,安装落地式双层大玻璃窗,并在窗外设置防止阳光直射的半透明瓦楞板,其宽度和数目应根据当地的纬度、日照时数等综合考虑。屋内四壁和顶部最好涂成白色,地面也应选浅色素材,最好是白水泥白石水磨石面,以增强反光,提高室内亮度。

(2) 培养室的主要设备与用具

① 培养架和灯光:在培养室中,装有培养物的培养瓶通常是被整齐地安放在若干个培养

架上以便其生长发育成完整的植株。培养架的数量由生产规模来定,年产4万~10万苗需培养架4~6个,年产10万~20万,约需8~10个。架子的高度可以根据培养室的高度来定,以充分利用空间。一般架子总高200 cm,共设6层,每30 cm一层,宽度以60 cm为宜。视培养物的需光程度,每层架上安装1~3盏日光灯,灯管距架子边缘15 cm,两灯之间相距30 cm,每层架可放置100 mL三角瓶8~10行,每行20瓶,总计160~200瓶。每盏灯的两侧各2~3行瓶子,据实地测定,在灯管距隔板16 cm处,第一排瓶子前光强度为1 400~1 600 lx,第一排瓶子之后为1 000 lx,第二排瓶子之后为800 lx,适应大多数培养物生长。某些需强光的植物可将灯管放到距隔板5~6 cm处,这时光照强度可以提高到2 400~3 000 lx,但因灯管距培养物太近,要留心培养物受温度的影响。对于阴生植物或耐弱光的植物,可将每层架子交错开亮一盏灯。培养架的安放应纵向对着窗户,以避免第一排架子光线过强,而第二、三排架子光线太弱。纵向排列可使全室光线分布比较均匀。

②空调机:空调机能有效地调节室温,所以培养室温度的管理一般都采用空调机进行自动控制。空调机的功率要根据房间面积的大小确定,同时要考虑培养室内许多灯管的发热量以及房间的保温条件。

③温度湿度计和计时继电器:温度和湿度的观察可借助温度湿度计,一目了然,便于记录和管理。计时继电器可自动控制人工补光时间,以节约用电,方便管理。

④培养箱:用于少量植物材料的培养。根据培养植物材料、培养目的的不同,可分为光照培养、暗培养两种类型,每种类型又有可调湿和不可调湿两种规格。有条件的话,还可采用全自动的调温、调湿、控光的人工气候箱来进行植物组织培养和试管苗快繁。

4. 驯化室

驯化室主要用于试管苗炼苗,提高移栽成活率。试管苗从异养(混合营养)型向自养型转变,由无菌、恒温、高湿、弱光向有菌、变温、低湿、强光等转变,环境条件差异巨大,使试管苗生理上不适应,因此直接移植田间,很难成活。故在移栽前将试管苗移入驯化室,通过光照、温度、肥水等措施调控,使试管苗在生理、形态和组织上发生相应变化,适应自然环境条件,有利于试管苗移栽成活。

驯化室应具有一定的控温、保湿、遮阴条件,一般要求温度在15~25℃,相对空气湿度在70%以上,避免强光。普通温室或塑料大棚经过适当的改造均可使用,室内配有迷雾装置、遮阳网、防虫网、移植床、营养钵及移栽基质等。

5. 辅助室

(1) 储藏室

储藏室用于暂时不用的器皿、用具等的存放。储藏室最好设在楼房低层背阴处,便于物品搬运和存放,房间有良好的通风条件。

(2) 观察记录室

观察记录室也称细胞学实验室,是对培养物的生长情况及实验结果进行观察、记录的场所。室内应有固定的水磨石台面,用于放置显微镜、解剖镜、显微照相等仪器,最好还应有一套制片和细胞学染色设备,以便进行制片或染色观察。室内应安静、清洁、明亮、保证仪器不震动、不受潮。

(3) 分析室

分析室也称生化分析实验室, 主要对细胞培养的产物进行取样检查分析。实验室配置高速离心机、高压液相色谱、氨基酸成分分析仪、毛细管电泳仪等分析设备。要求实验室环境条件与观察记录室相同。

(4) 温室或大棚

温室或大棚主要用于试管苗移栽, 为试管苗移植大田创造一个过渡环境。温室或大棚应有可调控温度、光照和湿度等的设备。温室或大棚经过适当的改造也可作为驯化室使用。

参考文献

- [1] 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2002.
- [2] 潘瑞炽. 植物组织培养[M]. 广州: 广东高等教育出版社, 2000.
- [3] 孙敬三, 桂耀林. 植物细胞工程实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 1995.
- [4] 巩振辉, 申书兴. 植物组织培养[M]. 2 版. 北京: 化学工业出版社, 2013.

实验二 植物组织培养实验室基本仪器和设备操作使用

一、实验目的

1. 了解植物组织培养实验室基本仪器和设备。
2. 掌握植物组织培养实验室基本仪器和设备的操作使用方法。

二、实验原理和操作使用

1. 天平

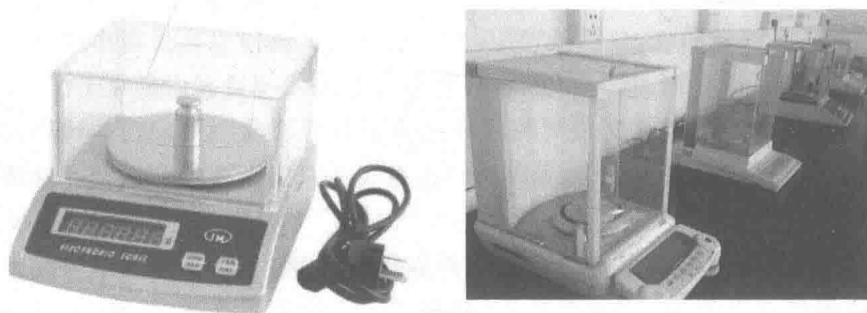


图 2-1 电子天平

(1)原理:电子天平是直接用数字显示被称物质量,采用电磁力与被测物体的重力相平衡的原理来测量的仪表。特点是称量准确可靠、显示快速清晰,并且具有自动检测系统和简便的自动校准装置。另外还有超载保护等装置。

(2)用途:用于实验室称重和作精密衡量分析测定。

(3)使用方法:

①检查并调整天平至水平位置。

②事先检查电源电压是否匹配(必要时配置稳压器),按仪器要求通电预热至所需时间。

③预热足够时间后打开天平开关,天平则自动进行灵敏度及零点调节。待稳定标志显示后,可进行正式称量。

④称量时将洁净称量瓶或称量纸置于秤盘上,关上侧门,轻按一下去皮键,天平将自动校对零点,然后逐渐加入待称物质,直到所需重量为止。

⑤被称物质的重量为显示屏左下角出现“→”标志时显示屏所显示的实际数值。

⑥记录读数,如连接有电脑或打印机,可按保存键或打印键完成。

⑦称量结束应及时除去称量瓶(纸),用软毛刷清理干净天平,关上侧门,切断电源,并做

好使用情况登记。

2. 高压灭菌锅

(1)原理:高压灭菌锅采用高压湿热灭菌法,在一个密闭的容器中利用饱和水蒸气、沸水或流通蒸汽进行灭菌,由于蒸汽不能逸出,水的沸点随压力增加而提高,因而增加了蒸汽的穿透力,容易使蛋白质变性或凝固,可以在较短的时间内达到灭菌目的。所以该法的灭菌效率比干热灭菌法高。

(2)用途:用于培养基、生理盐水、废弃物、采样器、纱布、衣物的灭菌。

(3)使用方法:实验中常用的有自控式和非自控高压蒸汽灭菌锅,种类有手提式、立式、卧式3种,其结构和工作原理相同。

I. 手提式高压蒸汽灭菌锅(YXQG02型)

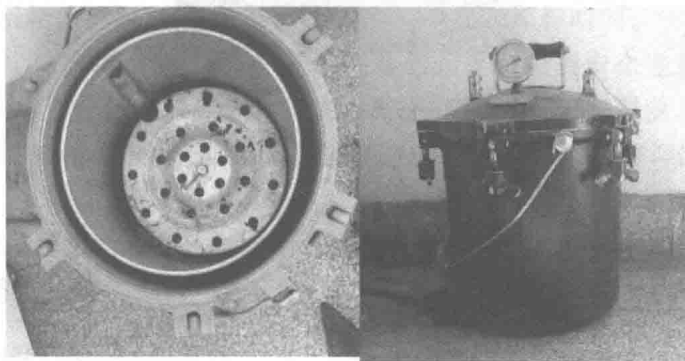


图 2-2 手提式高压蒸汽灭菌锅(YXQG02型)

①消毒准备。取出内桶,将待灭菌物品置于桶内搁架上,物品放置时应使其间留有一定间隙,不可堆压过紧,以免妨碍蒸汽穿透,影响灭菌效果。同时,物品不可堆放太高,以免堵塞安全阀和压力表。

②加水。向器内加入 3.5~4.0 L 蒸馏水。为避免电热管产生水垢,要求使用蒸馏水。加入后放入内桶。

③器盖开启。器盖合上时,必须将盖上放气软管插入内桶的软管架内,然后将器身周边 6 个锁紧螺栓竖起并旋紧于器盖上。在旋紧螺母时,应对边对称旋紧;开启时,将蝶形螺母松开,即可取下器盖。注意:开启器盖时,应观察压力表指针。待到“0”位后,才能松开螺栓。器内有压力时,不得进行开启操作。

④消毒与灭菌。锁紧器盖后,将电源插头插入器身底部插座内并接通电源开始加热,这时将放汽阀手柄起直,将器内空气排出,待放气阀因水沸腾而排放一定量蒸汽时,将手柄扳平,器内压力逐渐升高,当锅内温度为 121℃,压力为 0.105 MPa 时,保持 15~20 min 进行灭菌。

⑤取出物品。灭菌完毕后,立即切断电源,将放气阀手柄直立竖起,排放器内蒸汽,待器内蒸汽放尽,压力表指针降到“0”位后,即可开启器盖,将物品取出,并将其摊开,以利于干燥。切不可将其闷置于器内,否则物品将吸湿回潮。

II. 卧式高压蒸汽灭菌锅

①检查橡皮圈是否套紧,然后打开放气阀、关闭安全阀(始终是关闭)。

②检查锅内水是否充足(加蒸馏水,不能加自来水或其他液体,水要没过导热管,否则将

导热管内渡的特殊膜烧坏)。



图 2-3 卧式高压蒸汽灭菌锅

③放入待灭样品,盖上盖并旋紧。注意要对称旋紧螺丝,防止漏气。设定温度:121℃;时间:15~30 min。

④排除冷空气(10~20 min)后关闭放气阀(升温到排汽且有连续水蒸气喷出 2 min 后再关闭,否则会出现压力达到但实际温度低的现象,使灭菌不彻底。注意不得一直开着排气阀灭菌)。

⑤灭菌时间到达后关闭电源。

⑥压力降到 0.05 MPa 后,可排气,待压力降到内外相等时可打开灭菌盖。

III. 自控高压灭菌锅(TOMY-SX 型)

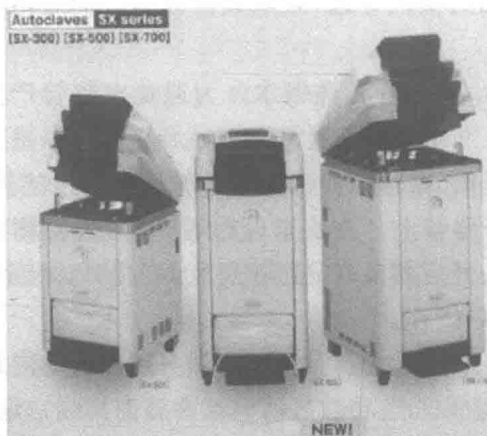


图 2-4 自控高压灭菌锅(TOMY-SX 型)

①插上电源,打开电源开关。

②确认“低水位”显示灯为熄灭状态,否则应补水(加水请用蒸馏水)至合适位置,一般以没过隔板为宜。

③打开灭菌器盖(脚踏盖锁解除踏板,向下按灭菌盖的把手后,再轻轻上提



放入待灭菌物→按下“灭菌”键,选定灭菌运行→按“温度”、“时间”(一般为 121℃, 20 min)、“排气量”、“冷却风扇”键→设定各相应参数。

④确认“盖”显示灯、“回收瓶”显示灯(回收瓶的水位应在最低水位和最高水位之间)、

“低水位”显示灯  为熄灭状态,否则不能运行。应盖好灭菌器盖,安装好回收瓶。然后按下“START”键运行。

⑤保温时间设定。运行中  灭灯时(盖盖后未按“START”键前),持续按功能键

 2 秒后,“温度”显示部位闪亮为[F01],按“START”键,“时间”显示部位闪亮,按时间设定键,显示所希望的保温时间,按“START”键,确定保温时间。

⑥运行结束后,按“STOP”键。灭菌室内温度达到灭菌器盖安全连锁装置解除温度时,“STOP”显示灯闪亮,仅当压力表指示为“0 MPa”时,方可打开灭菌器盖。

⑦打开灭菌器盖→取出物品→关闭灭菌器盖→切断电源。

另外,此仪器还备有冷却装置,按冷却扇键  打开风扇,按上下键  以调节风速。灭菌降温降压时使用。

3. 超净工作台

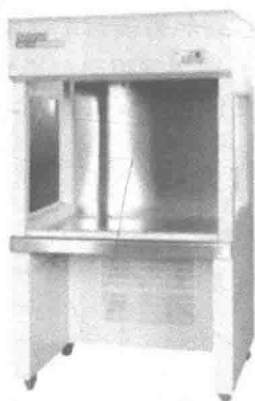


图 2-5 垂直单向流超净工作台

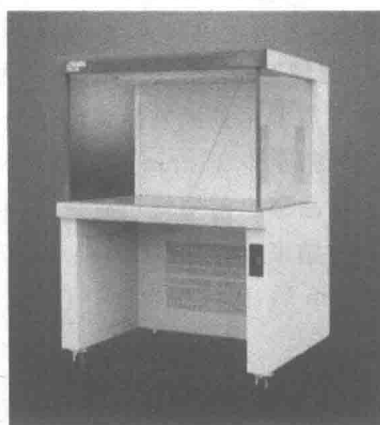


图 2-6 水平单向流超净工作台

(1)原理:超净工作台是一种提供局部无尘无菌的空气净化设备。室内空气经预过滤器过滤,由离心风机压入静压箱,再经高效空气过滤器过滤后从出风面吹出,形成连续不断的无尘无菌的超净空气层流,即所谓“高效的特殊空气”(除去了大于 0.3 μm 的尘埃、真菌和细菌孢子等)。洁净气流以均匀的断面风速流经工作区,从而形成高洁净度的工作环境。

超净工作台分为两种:一种是垂直流的超净工作台,即工作区域的空气流动方向是垂直的;另一种是水平流,即空气是水平流过工作区域的。一般多见的是垂直流的超净工作台。

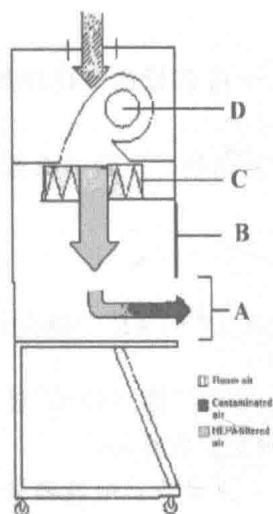


图 2-7 垂直流超净台工作原理示意图

A. 出风口 B. 玻璃移门 C. 高效空气过滤器 D. 风机

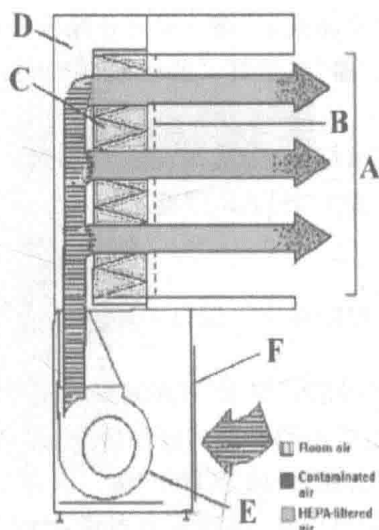


图 2-8 水平流超净工作台工作原理示意图

A. 出风面 B. 出风网板 C. 高效空气过滤器 D. 箱体 E. 风机 F. 预过滤器

用途:提供局部高洁净度无尘环境,用于各类动植物的无菌操作、保护昂贵的样本不会受到污染,以及防止危险的样品泄露到周围环境中。

(2)使用方法

- ①开风机前将紫外灯打开 30 min 以上。
- ②关紫外灯,之后开风机 15 min,打开日光灯。
- ③用 75%酒精对超净工作台的内表面进行消毒擦拭。
- ④将实验中需要用到的物品集中用消毒剂擦拭后放在台面相应位置上。
- ⑤将继续运行至少 15 min 来完成“净化”过程。
- ⑥将台内物品移出前应使用有效的消毒剂擦拭。
- ⑦每天实验结束后,对超净工作台的内壁和台面进行擦拭。
- ⑧等待 5 min 后,关闭前窗,关灯,关风机,紫外灯照射 30 min。

4. 酸度计



图 2-9 酸度计(pH计)

(1)原理:酸度计是利用化学上原电池的原理工作的。原电池的两个电极间的电动势不仅与电极的自身属性有关,还与溶液里的氢离子的浓度有关。这样,电动势又和氢离子的浓

度有一个对应关系。而酸度度量的就是氢离子的浓度,如 pH。

(2)用途:用于取样测定水溶液的酸度(pH 值)和测量电极电位(mV 值)。

(3)使用方法(以 PB-20 型酸度计为例):

①将 pH 玻璃电极与 ATC 和 INPUT 输入孔连接上主机,使仪器处于待测状态。

②接通仪器电源,仪器先进行显示屏测试,持续时间很短,然后进入下一次测试状态中。

③按 pH/mV 键,直至显示屏上出现相应的测量方式(pH,mV 或相对 mV)。

④重复按 SETUP 键,直至显示屏上出现“Clear Buffers”并按 Enter 键清除已有缓冲液,选择实验者所需的缓冲组。

⑤把 pH 玻璃电极浸入第一种标准液中。

⑥按 Standardize 校准键,pH 计识别出缓冲液并将闪烁显示缓冲液值。待数值稳定后,测量值被存储起来。或通过按 Enter 键确认,存储当前的缓冲液。

⑦用蒸馏水彻底洗净电极,并用滤纸吸干电极表面的水珠。

⑧把 pH 玻璃电极浸入第二种标准液中,搅拌溶液并等到电极处于稳定状态。

⑨按 Standardize 键,仪器识别出缓冲液,并在显示屏幕显示出第 1 和第 2 个缓冲值。校正完成后显示电极是完好的(Good Electrode)还是有故障的(Electrode Error)。此外,还显示电极斜率(mV/pH),斜率范围为 90%~105%。

⑩用蒸馏水彻底洗净电极,并用滤纸吸干电极表面的水珠。

把 pH 电极浸入待测样品中并搅拌溶液,待显示屏出现 S 时即可读数。

附:(一)功能键介绍

(1)pH/mV 键用于 pH 和 mV 测量方式的更换。

(2)Standardize 键用于进行各种缓冲液的校正。

(3)Setup 键用于清除缓冲液,调出电极校准数据或选择自动识别缓冲液。

(二)复合电极的使用和保养

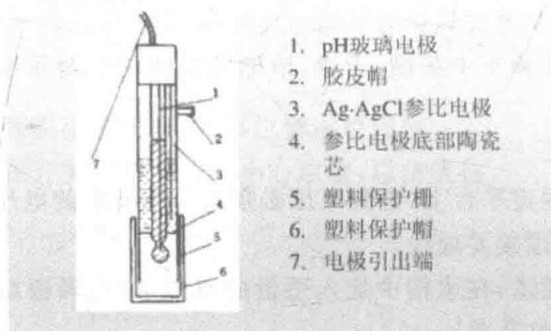


图 2-10 复合电极结构图

目前大多数的实验室使用的电极都是复合电极,其优点是:使用方便,不受氧化性或还原性物质的影响,且平衡速度较快。使用时,将电极加液口上所套的橡胶套和下端的橡皮套全取下,以保持电极内氯化钾溶液的液压差。下面简单介绍下电极的使用与维护。

(1)复合电极在第一次使用前,应在纯水或 $3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钾溶液中浸泡 24 h 以上活化。

(2)复合电极不用时,可充分浸泡在 $3\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钾溶液中。 $\text{pH}=7.0$ 或 4.0 的缓冲液可用作短时间保存。切忌用洗涤液或其他吸水性试剂浸洗。

(3)使用前,检查玻璃电极前端的球泡。正常情况下,电极应该透明而无裂纹;球泡内要充满溶液,不能有气泡存在。

(4)测量浓度较大的溶液时,尽量缩短测量时间,用后仔细清洗,防止被测液黏附在电极上而污染电极。

(5)清洗电极后,不要用滤纸擦拭玻璃膜,而应用滤纸吸干,避免损坏玻璃薄膜并防止交叉污染,影响测量精度。

(6)测量中注意电极的银—氯化银内参比电极应浸入到球泡内氯化物缓冲溶液中,避免电计显示部分出现数字乱跳现象。使用时,注意将电极轻轻甩几下。

(7)电极不能用于测定强酸、强碱或其他腐蚀性溶液。

(8)严禁在脱水性介质如无水乙醇、重铬酸钾等溶液中使用。

5. 水浴锅

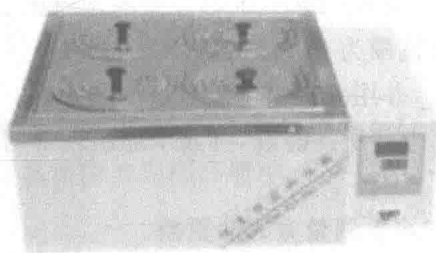


图 2-11 恒温水浴锅

(1)原理:传感器将水槽内水的温度转换为电阻值,经过集成放大器的放大、比较后,输出控制信号,以有效地控制电加热管的平均加热功率,使水槽内的水保持恒温。

(2)用途:主要用于实验室中蒸馏、干燥、浓缩及温渍化学药品或生物制品,也可用于恒温加热和其他温度试验。

(3)使用方法:

①水浴锅应平放在固定平台上,电源电压必须与本箱要求的电压相符,电源插座要采用三孔安全插座,使用前必须接妥地线。

②实验前根据实验要求,在水槽中加入适量的蒸馏水(至隔板或更高些)。然后将实验器皿放置在搁架上,并盖好孔盖。

③接通电源,将电源开关置于“ON”端,将温度“设定—测量”开关拨向“测量”端,绿灯亮,电源正常加热,然后按所需温度转动温度设定旋钮,进行温度的设定,此时“LED”显示设定的温度值,当设定温度高于水槽水温时仪器开始加热。绿灯亮,加热器开始加热,红灯亮时加热器停止加热,红绿灯交替跳动表示进入恒温状态。若需改变温度,随时转设定旋钮,使用时,“LED”显示的温度就是实际所需温度。

④将温度“设定—测量”开关拨向“测量”端,系统自动测量水槽内试剂温度,此时,“LED”显示的温度就是实际所需温度。