

100 μm 宽的黑色和透明的线条(见图 5)。一个发光二极管发出一束光照到这玻璃标尺上,在玻璃板后面放置由 220 个线性、光敏二极管(平行于标尺线条)组成的阵列。二极管之间的距离是 20 μm ,所以 10 个二极管具有与标尺线条相同的间距。标尺的位移由二极管阵列测量,其分辨率为最小距离的十分之一,即 2 μm 。在二极管阵列中加上方波电压,使 5 个二极管发亮,另 5 个不发亮,依次排列,就建立了一个与标尺图案相同的图案。方波以频率 30kHz 来扫描阵列。如果标尺是静止的,阵列的输出信号不变。如果标尺移动,则标尺会显出长些或短些(取决于阵列上的波是同向还是反向扫描),在标尺与阵列上的波之间产生一种 Moire 效应,阵列的输出信号会改变,可在大范围内显示小范围的特点,这样可在位移测量中有很好的分辨率。

二极管阵列的输出信号是 22 组 10 个二极管的平均结果。由于光散射和频响限制,它是一个正弦波(不是方波)。它的零点代表在一定时间间隔内标尺的位移。利用高频率(20MHz)下测出的零点,内插一个 3175 的因子,测量标尺位移的分辨率为 200 μm /3175 等于 63nm。测量系统相对于 X 操纵杆或 Y 运动球形支架的旋转中心位置,使分辨率进一步提高为 3.5X 和 5.25X,因此直接位置测量系统的分辨率对于 X 为 18nm 和对于 Y

为 12nm。

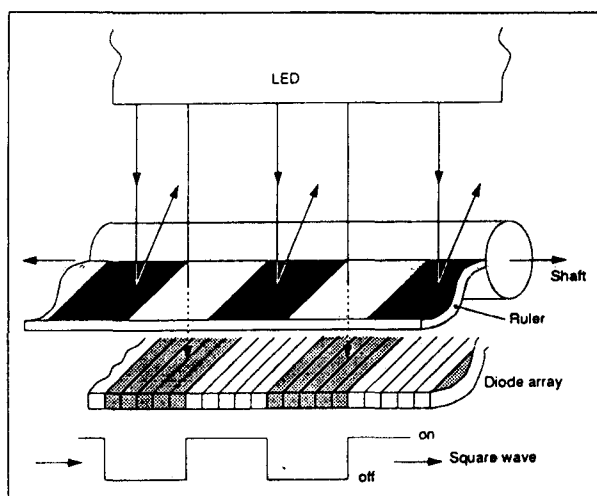


图 5 用于 Compu Stage X 和 Y 传动的直接位置测量系统

8.2 计算机控制

除手动控制外,显微镜还提供一系列对于 Compu Stage 的功能,可以充分利用由全计算机控制和直接位置测量所提供的灵活性。例如:设置对中高度;样品台重新设置;存储和调用 5-D 位置等功能。

(武邑)

CIA 法毛细管离子分析技术

林 玲

Waters 公司北京应用实验室

毛细管电泳技术(CE)是最近几年发展起来的一种新型分离技术。其原理是,电解液中带电化合物在电场作用下定向迁移来实现分离。毛细管电泳技术具有分离度高、分析速度快、操作简单等特点。在生化、药物及离子等分析领域具有广泛的应用。

1. 毛细管电泳的基本原理

毛细管电泳仪的基本组成如图1所示。熔融

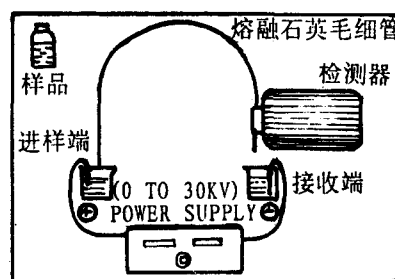


图 1 毛细管电泳仪的基本组成

石英毛细管的两端分别浸在含有电解液的贮液瓶中,毛细管内也充满同样的电解液。在毛细管的一端安装了在线检测器,被分析的样品可以用多种进样方式引入到毛细管的另一端。进样方式有:重力法、电迁移法、抽真空法。当样品被引入后,便开始在毛细管两端施加电压。带电组份在电场的作用下根据各自的荷质比向检测器方向定向迁移。各组份的迁移时间由下式决定:

$$t=L^2/\mu V \dots\dots\dots (1)$$

式中 t = 迁移时间; L = 毛细管长度; μ = 溶质总流速; V = 施加电压。

$$\mu = \mu_m + \mu_{osm} \dots\dots\dots (2)$$

从(1)式可见,当毛细管长度一定时,迁移时间与溶质总流速及施加电压成反比。从(2)式可见,溶质总流速 μ 由两个主要因素所决定:其一为溶质自身的电泳速度 μ_m ,它与溶质的荷质比或当量电导有关。在电场作用下,带负电荷的组份向正极迁移,带正电荷的组份向负极迁移。其二,由于石英毛细管内壁的硅醇基(Si-OH)在一定的pH值条件下会电离出大量的 H^+ ,它定向地向负极迁移,从而引起电渗流 μ_{osm} (Osmotic flow)。实际上在毛细管中溶质的迁移是由溶质的电泳速度 μ_m 和电渗流 μ_{osm} 决定的。对于大多数离子来说,电渗流大于电泳速度,因此不管溶质是正离子还是负离子均向负极迁移,中性分子的迁移完全取决于电渗流。

2. Waters 专利的毛细管离子分析技术 (CIA)

毛细管离子分析技术是毛细管电泳技术在离子分析中的特殊应用。在分析阴离子时,为了提高阴离子的分析速度,采用反转电源技术(即用负电源),使进样端为负,检测端为正,并在电解液中加入电渗流改性剂(OFM,一种阳离子表面活性剂),从而改变了电渗流的方向,以使阴离子快速分离。图2为毛细管离子分析基本原理。对于无机阴离子的分析,采用高淌度的具有紫外吸收的试剂作为电解液,保证了峰形的对称性及间接紫外检测的高灵敏度的影响。在阳离子分析时仍采用正电源配置,通过改变电解液的离子强度及pH值来改变分离的选择性,以185nm作为阳离子的检测波长可获得更高的检测灵敏度。

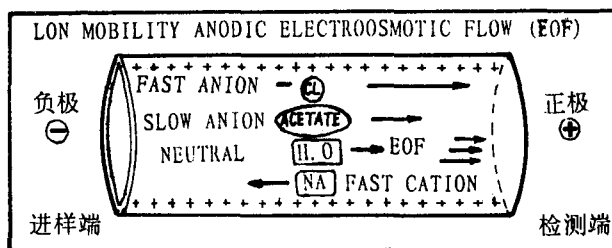


图2 毛细管离子分析基本原理

CIA法在阴阳离子分析中具有以下特点:

* 分离度高: CIA法对阴离子分析的理论塔板数可达几万到几十万,单位时间内峰容量大,可在数分钟内分析几十种无机、有机离子。在三分钟内可分离36种阴离子。

* 分析速度快: 对常见无机阴离子分析仅需5分钟,常见阳离子的分析仅需6分钟。

* 抗干扰性强: CIA技术与离子色谱技术具有完全不同的选择性。在离子色谱中阳离子及部分有机酸离子出峰在 F^- 之前,当 F^- 含量较低,阴离子含量较高时, F^- 峰会受到严重干扰,而在CIA法中大多数有机酸离子在 F^- 离子之后出峰,且与 F^- 的分离度很大,阳离子不出峰,即使 F^- 离子含量很低也不会受到干扰,可以准确地定性定量。

* 灵敏度高: 对低浓度的样品可采用在线浓缩的方法进样,检测灵敏度可达5ppb级。

* 分析成本低: 相对其它离子分析手段来说, CIA法可以说是最经济的,没有离子柱的消耗,不需要大量的缓冲液。

* 样品预处理简单: 由于没有离子交换性,怕柱超载、怕酸、怕碱的担心,可以利用毛细管电泳分离样品中浓度相差数百倍的离子组份,对样品中有机物不必预先除去,可直接进样。为防止样品中的机械颗粒堵塞毛细管,需将样品过滤,以除去颗粒。

1993年Waters公司特别推出专门适用于CIA法的毛细管离子分析仪,确保了CIA法结果的准确可靠性。由于Waters CIA法独特优势,现已被美国ASTM(美国试验材料学会)用作标准(ASTM-D19.05)。该标准适用于饮用水/废水中阴离子的分析。据悉,美国EPA的许多方法都

是参照 ASTM 的方法。因此, Waters 的 CIA 方法有可能成为 EPA 的标准方法。

毛细管离子分析技术是一种新型、高效、快速的离子分析技术, 可提供与离子色谱一致的分析结果。目前国内已有不少单位开始采用毛细管离

子分析技术分析水溶液样品中的各种离子, 并取得满意的结果。我们确信, CIA 法这一先进的离子分析技术将成为广大环保研究工作者得力的分析工具。

紫外照光装置

徐 军

中科院微生物所生物新技术中心

随着分子生物学的诞生改变了生物学领域各分支学科的传统进程, 也促进了生化分析方法(手段)的提高和改进。例如对琼脂糖电泳、聚丙烯酰胺凝胶电泳, TLC 板等的紫外照光观察, 倘若沿用传统的方法只能在暗房中进行。那么, 紫外线对面部皮肤特别是眼晶体的伤害是不言而喻的, 再加上暗房环境封闭、空间狭小的限制, 工作人员辛苦操作自不待言, 最不方便的表现在拍摄工作中, 固定照像机调整焦距时若稍有不慎会出现像机滑落砸坏滤光片或样品的事故、令人非常沮丧。

由于存在上述诸多不便, 八十年代国外一些公司生产出了既小巧又方便的紫外照光装置, 这些装置中透射光与反射光多数是分开的, 透射光仍需暗房, 仅在 Gel 上方增加了防护屏以阻断紫外线对面部皮肤、器官的伤害, 反射光则采用了桌上暗箱型, 可以不在暗房中而直接观察、拍摄照光结果。近年国外又出现了更加先进的影像处理系统, 例如美国生产的影像分析处理系统, 用 CCD 照像机和高质量的变焦镜头再包含一个特写镜头适配器, 以标准集成或动态集成方式及时地获得图像, 图像处理在屏幕上有各种选择, 如: 变焦、伪色等, 多重图像处理可以选择旋转、翻动、反向、本底校正等。计算机软件进行图像数据存储、分析、处理。这个系统的最大特点是操作方便、应用范围广泛、响应速度快、分辨率极高, 但价格相当昂贵。

中科院微生物所生物新技术中心于九三年研制出了国产新型照光装置。在研制中参考了国内

外同类仪器, 使该装置不但具有与国外仪器相同的功能、价格仅为其一成, 该装置特点是不用暗房、可以直接观察和拍摄照光结果, 在拍摄工作中照像机固定、调整焦距简单方便, 成像清晰、灵敏度高, 给使用者带来最大的愉悦。装置内含防护遮板、增加使用安全性, 密闭的空间遮断了外界光线, 防止内部紫外线之外漏, 由于空间宽阔($35 \times 35 \text{cm}^2$), 可以放置大型的 Gel。如果使用者有兴趣的话, 还能在暗箱中放置电泳槽, 做电泳监测。该装置透射照光与反射照光既可同机使用, 亦可分开作为单独的仪器使用, 在仪器右侧面板专设了一个切胶孔, 使用者切胶十分方便。光源部分内置反光装置, 使紫外光更加均匀。光源的设置长波(365.0nm)、短波(253.7nm)、透射照光、反射照光供随意选择。该装置还采用了高科技产品的电子镇流器、与旧式的电感式镇流器相比具有启动快、不闪烁、功率大、稳定节电等优点, 为荧光分析提供了纯净而强烈的紫外照光。目前, 微生物所几个研究室和所外部分科研单位已使用了这个产品, 实践说明了这种紫外照光装置确已成为科研工作者理想的仪器。

值得强调的是, 该装置在保养维修与购买方面, 与国外仪器相比具有及时与价廉的优势。

中科院微生物所生物新技术中心热忱的欢迎各科研、生产单位使用这台新型的紫外照光仪器, 同时也承担国内外各类型紫外照光仪和生化仪器设备的维修保养工作。