

自动移液工作站挥发性液体反向移液方案

发布日期：2026 年 10 月 20 日

适用仪器：自动移液工作站

1 方法概述

1.1 摘要

本方案基于自动移液工作站，针对无水乙醇易挥发特性开发反向移液方法。先吸过量液体、再排出设定体积，以降低挥发与液面波动引起的移液误差，适用于分子生物学、基因组学等实验中挥发性的样本处理与体系构建。目前暂无该类液体专属限值，本方案参考 GB/T 41812—2022 预设验收指标，称重法验证容量偏倚在 $\pm 5\%$ 以内，满足本场景的移液使用需求。该结论仅适用于特定条件，出厂性能以纯水正向移液检定为准。

1.2 应用背景

乙醇是分子生物学实验中广泛使用的有机溶剂，具有易挥发、表面张力低的特点。常规正向移液时吸头内壁挂液与蒸发会引起体积偏差；反向移液以留存在吸头内的残液抵消偏差，吸液体积大于分液体积，分液仅输出设定体积，多余残液排入废液位。本方案以无水乙醇为例，给出反向移液功能的完整使用过程，包括软件初始化、耗材库建模、单板与高通量模板创建到程序执行与称重验证的全过程。

2 仪器与试剂

2.1 仪器与耗材

仪器：自动移液工作站；电子天平（分度值 0.01 g）。

耗材：200 μL 无裙边 PCR 板、96 孔 PCR 适配器、150 mL 平底储液槽、200 μL 吸头及吸头盒、废料槽等；第三方螺旋盖式微量离心管可直接插入配套适配器（管底与孔底贴合、管盖朝上），经定位测试确认尺寸匹配、吸液针可触及管底（图 1）。

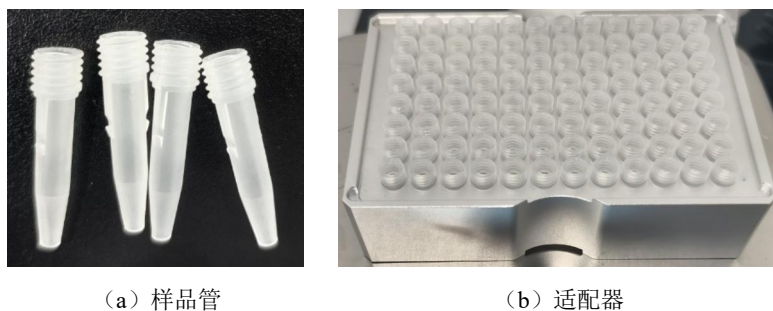


图 1 第三方提供的样品管 (a) 与适配图 (b)

2.2 试剂

无水乙醇（分析纯）。乙醇易挥发，应尽快使用、避免长期敞口；储液槽加液量应保证吸头充分浸入液面，建议不少于槽容积的 1/2。乙醇为易燃品（闪点约 13 $^{\circ}\text{C}$ ），实验区应远离火源、保持通风、防静电。

3 实验方法

3.1 仪器初始化

将仪器置于平稳台面，接通电源，启动“移液工作站”软件进入主界面（图 2）。操作顺序：确认托盘无杂物→蓝牙连接→点击“开机”点亮模块→点击“校零”完成初始化，校零图标点亮后方可编程与运行。



图 2 移液工作站软件主界面



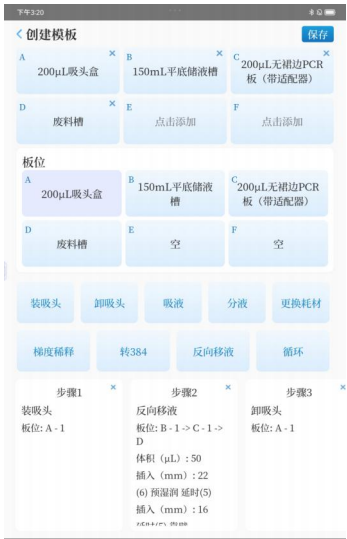
图 3 耗材修改参数（以 200 μ L 无裙边 PCR 板（带适配器）为例）

3.2 耗材库建立

进入“耗材库”核对参数（200 μ L 吸头盒、150 mL 平底储液槽、200 μ L 无裙边 PCR 板（带适配器）），已有直接选用，否则点击“添加/编辑”按实际尺寸录入（图 3）。【注意】模型参数（行、列、高度、深度等）必须与实物一致，否则可能造成吸头与孔板碰撞或插入深度错误。

3.3 基础模板创建（单板反向移液）

进入“模板库”点击“添加”，依次添加 A-吸头盒、B-储液槽、C-PCR 板（带适配器）、D-废料槽。参数分吸液、分液、排废液三阶段：按“装吸头→反向移液→卸吸头”三步添加（以整板转移、每孔 50 μ L 为例）：A-1 位装载吸头→自 B-1 槽吸液并分液至 C-1 板→残液排入废料槽→返回 A-1 卸吸头（图 4）。



(a) 模板详情



(b) 参数设置

图 4 创建模板详情 (a) 与反向移液参数设置界面 (b)

核对步骤显示区后，保存命名，点击“执行”运行（图 5）。



图 5 “乙醇-反向移液”程序

3.4 高通量模板创建（多板+更换耗材+循环）

样品量多需连续分装多块板时，可用 6 个板位一次布置多块目标板，并借助“更换耗材”中途换料、“循环”实现多轮重复（图 6）。例：板位布局：A-吸头盒，B-储液槽（盛装无水乙醇），C、D、E-200 µL 无裙边 PCR 板（带适配器），F-废料槽；程序步骤：A-1 位装载吸头→反向移液，依次自 B-1 槽吸液并分液至 C-1、D-1、E-1 板→残液排入 F。



（a）步骤 1~3

（b）步骤 4~6

图 6 高通量模板详情

“更换耗材”勾选需换的板位（A~F 全部），程序运行至该步骤时自动暂停，按屏幕提示换料后继续；“循环”设起始步骤、结束步骤、循环次数，例：程序按“步骤 2→步骤 5”自动重复（图 7）。



图 7 更换耗材设置 (a) 与循环步骤设置 (b)

【注意】循环次数×每轮板数即为单次运行总板数，需结合储液槽、废料槽容量与吸头数量设定；更换耗材时须按屏幕提示完成后再继续。

3.5 程序执行与称重验证

以单板反向移液为例，选中模板点击“执行”，程序自动运行（图 8），可随时“暂停”或“急停”。称重验证：将一块 PCR 板（带适配器）置于天平记录 m_1 ，程序结束后再称量得 m_2 ，按 4.1 节公式算实际转移体积与相对偏差。



图 8 模板程序执行过程示意图

4 结果与讨论

4.1 计算公式

理论转移体积： $V_{\text{理论}} = n \times V$ (n 为孔数， V 为每孔设定体积)

实际转移体积： $V_{\text{实际}} = (m_2 - m_1) / \rho$

相对偏差： $\delta = (V_{\text{实际}} - V_{\text{理论}}) / V_{\text{理论}} \times 100\%$

平均转移体积： $\bar{V} = (V_1 + V_2 + \dots + V_i) / n$

标准差： $SD = \sqrt{[\Sigma(V_i - \bar{V})^2 / (n - 1)]}$

变异系数： $CV\% = (SD / \bar{V}) \times 100\%$

式中： m_1 、 m_2 为转移前、后板（含适配器）质量，g； ρ 为无水乙醇密度（25 °C，约 0.7849 g/mL）； V_i 为第 i 次实测实际转移体积，mL； n 为重复次数； $\bar{V}$ 为平均转移体积，mL。

4.2 测试结果

表 1 反向移液法转移无水乙醇测试结果

项目	200 μL PCR 板			第三方样品管		
	重复 1	重复 2	重复 3	重复 1	重复 2	重复 3
理论转移体积 $V_{\text{理论}}$ (μL)	4800 $\mu\text{L} = 50 \mu\text{L}/\text{孔} \times 96 \text{孔}$					
转移前质量 m_1 (g)	286.72	286.68	285.15	307.59	300.32	300.32
转移后质量 m_2 (g)	290.62	290.63	289.07	311.53	304.18	304.24
增重 Δm (g)	3.90	3.95	3.92	3.94	3.86	3.92
实际转移体积 $V_{\text{实际}}$ (mL)	4.97	5.03	4.99	5.02	4.92	4.99
相对偏差 δ	3.52%	4.84%	4.05%	4.58%	2.45%	4.05%
平均转移体积 $\bar{V}$ (mL)	5.00			4.98		
SD	0.03			0.05		
CV%	0.64			1.07		

4.3 结果分析

整板转移无水乙醇（50 $\mu\text{L}/\text{孔} \times 96 \text{孔}$ ，理论总量 4800 μL ），分别以 200 μL PCR 板和第三方样品管接收，各重复 3 次，称重法测定并按 $\rho = 0.7849 \text{ g/mL}$ （25 $^{\circ}\text{C}$ ）换算。结果显示，6 次测定相对偏差 δ 为 +2.45%~+4.84%（均 < 5%）；变异系数 CV% 为 0.64%~1.07%。需注意上述判定以液温 25 $^{\circ}\text{C}$ 、试剂未吸湿为前提。在有限实验样本量下（每组重复次数为 3 次），两组接收容器测试结果未观察到明显差异。

自动化液体处理标准的移液误差限值以纯水为基准介质，不宜套用于无水乙醇等易挥发有机溶剂；本方法的精度不等同于纯水正向移液的标称性能。 $\pm 5\%$ 容量偏倚为方法开发的内部验收阈值，不属法规或国标强制要求。温湿度、试剂吸湿挥发、液面下降、吸头批次差异均会影响准确度，更换实验条件时需重新确认方法。

实验相对偏差均为正值、实测体积略高于理论值，可能原因：①分液时吸头内预留的过量液体在靠壁分液与延时中沿外壁或孔壁流入接收孔；②以固定密度换算体积，温度偏离 25 $^{\circ}\text{C}$ 或试剂实际密度与参考值有差异；③电子天平分度值（ $d = 0.01 \text{ g}$ ）对整板增重分辨能力有限；④适配器与孔板位置、液面波动、插入深度等随机因素叠加。建议后续实测试剂密度、记录液温、增加重复次数与单孔体积进一步确认。

5 方案特点与优势

5.1 反向移液方法优势

预留残液：多吸的液体补偿挥发与排出残留，分液体积不受液体物理特性影响；预湿润：移液前用待移液体润湿吸头内壁，减少吸附与蒸发影响，降低首次分液偏差；延时加靠壁：分液后延时稳定吸头内液体、缓冲压力波动，吸头贴壁避免气泡、降低管壁残留；废液可控：多余液体定向排入废料槽（或无污染风险时回收至储液槽），避免污染台面。

5.2 仪器设备优势

96 通道一次完成整板转移，配合多板位与循环编程，单次运行可连续处理多块板，效率较手动单道移液器显著提升；“更换耗材”使设备在多轮任务间自动暂停提醒换料，人机协作即可完成

连续分装，无需全程值守；图形化编程、参数化配置，模板可保存复用，保证批间一致性与结果可追溯；平板可拆下外置使用，工作站可放入安全柜内，灵活操作与生物安全兼得；移液速度、靠壁、延时等参数可按液体特性灵活设定，适配高粘度、易挥发等液体。

5.3 关键操作要点

耗材模型与实际摆放必须一致：板位、耗材类型与“耗材库”参数逐一对应。

吸液插入深度需保证吸头充分浸入液面；分液插入深度不得超过孔板深度并配合靠壁。

转移高粘度或挥发性液体时预湿润与延时不可省略。

高通量运行前核算三类容量：储液槽加液量 $\geq$ 单轮用量 $\times$ 循环次数，废料槽容量 $\geq$ 残液总量，吸头数量与循环次数匹配。

执行前确认已校零；运行异常立即急停，按提示移除耗材并复位校零后再继续。

乙醇为易燃品，实验区远离火源、保持通风，废液集中回收。

6 结论

本方案基于自动移液工作站的反向移液功能，建立了无水乙醇向 96 孔 PCR 板微升级自动转移的标准化流程，涵盖初始化、耗材库建模、单板与高通量模板编程及称重验证。结果表明该方法准确度与精密度满足要求，高通量程序单次运行可完成多块微孔板分装，具有编程简便、通量高、重复性好、废液可控等特点，可推广至核酸沉淀洗涤、试剂分装等易挥发液体的自动化移液场景。

7 免责声明

本方案为实验室特定条件下的测试示例，仅作参考，不构成产品性能承诺。目前尚无针对易挥发有机溶剂反向移液的法定精度限值； $\pm 5\%$ 容量偏倚为方法开发预设验收指标，并非标准强制要求。实际准确度受耗材、温度、湿度、试剂状态、操作与设备维护等多重因素影响，用户应结合自身条件完成方法学确认。本方案不可替代仪器官方说明书，设备最终性能以出厂检验报告为准。乙醇属易燃品，请遵守实验室安全管理规范。

8 参考文献

[1] 《自动移液工作站使用说明书》（V2.0.0）

[2] GB/T 41812-2022 自动移液工作站性能检测通则[S].

[3] JJG 646-2006 移液器检定规程[S].

[4] ISO 8655-10:2024 Piston-operated volumetric apparatus — Part 10: User guide and suitability requirements[S].

本文档为通用技术方案，具体仪器操作请参考对应设备说明书。