

بیوشیمی آزمایشگاهی

تألیف :

دکتر سید محمد حسین میرمومنی و دکتر سیروس قربادی
اعضاء هیات علمی دانشگاه رازی

انتشارات دانشگاه رازی

۱۳۸۶

میرمؤمنی، محمدحسین	QP
بیوشیمی آزمایشگاهی/ تألیف محمدحسین میرمؤمنی، سیروس	۵۱۴/۲
قبادی، کرمانشاه: دانشگاه رازی، ۱۳۸۶.	۹م۹/
۱۲۵ص: جدول، مصور، (انتشارات دانشگاه رازی: ۱۲۰: زیست	
شناسی: ۱۲)	
ISBN: 978-964-9992-37-2	
۱. زیست شیمی - دستنامه های آزمایشگاهی. الف. قبادی، سیروس،	
نویسنده همکار، ب. عنوان.	



۱۲۰

انتشارات دانشگاه رازی

عنوان کتاب: بیوشیمی آزمایشگاهی
تألیف: دکتر محمد حسین میرمؤمنی - دکتر سیروس قبادی
ناشر: انتشارات دانشگاه رازی
لیتوگرافی و صفحه آرایی: کیا
چاپخانه: مسعود
قطع: وزیری
شمارگان: ۱۰۰۰
تاریخ و نوبت چاپ: ۱۳۸۶ - اول - کرمانشاه
قیمت: ۱۶۰۰ تومان
مراکز پخش: تهران: کتابیران ۰۲۱-۶۶۳۰۱۷۳۵ - دانشیران ۰۲۱-۶۶۳۱۶۱۷۶
کرمانشاه: مرکز چاپ و نشر ۰۸۳۱-۳۲۸۰۸۰۲
شابک: ۹۷۸-۹۶۴-۹۹۹۲-۳۷-۲ ISBN: 978-964-9992-37-2

(حق چاپ برای ناشر محفوظ است)

پیشگفتار

امروزه برای دانش پژوهان و دانشمندان اهمیت علم بیوشیمی روشن بوده و این علم پایه و اساس بسیاری از علوم دیگر می‌باشد. شناخت هرچه بیشتر این علم و آشنایی با تکنیک‌های مربوط به آن لزوم تألیف کتاب‌های مفید و مناسب را ایجاد نموده است. بر این اساس، سال‌ها فعالیت و تجربه اندوزی در آزمایشگاه بیوشیمی ما را بر آن داشت تا برای هر چه بهتر ارائه شدن آزمایشگاه بیوشیمی، کتاب حاضر را تألیف نماییم. این کتاب با توجه به سر فصل‌های مصوب شورای عالی انقلاب فرهنگی تهیه و تنظیم گردیده و شامل معرفی مطالب عمومی (از جمله طرز کار با وسایل آزمایشگاهی، ترازو ها و نحوه کار با آنها، تهیه محلول‌ها و) و همچنین معرفی تعداد دوازده جلسه آزمایش می‌باشد. واضح است که دانشجوی با مطالعه مطالب ارائه شده در هر جلسه آزمایشگاه، با تئوری آزمایش آشنا شده و با توضیحاتی که داده شده است، قادر به انجام آزمایش خواهد بود. در پایان نیز تعدادی تمرین (در ارتباط با تهیه محلول‌ها، pH متری، اسپکتروفتومتری، پلاریمتری و) آورده شده است که به درک بهتر مطالب مربوطه کمک می‌نماید. این کتاب قابل استفاده برای تمامی دانشجویان گروه‌های مختلف از جمله زیست‌شناسی، شیمی، پزشکی، کشاورزی، علوم آزمایشگاهی و غیره می‌باشد. امیدواریم که توانسته باشیم با تألیف این کتاب ضمن کمک به دانشجویان عزیز، سهم کوچکی در ادای وظیفه شغلی خود انجام داده باشیم. در خاتمه از آقای علی عباسی که در تنظیم مطالب و تایپ آنها زحمت زیادی متحمل شده‌اند و همچنین از خانم‌ها زهره امیری و ثریا شریفی قروه و آقای دکتر شهرام رنجبر که در ویراستاری این کتاب کمک شایانی نموده‌اند، کمال تشکر را داریم. همچنین بر خود واجب می‌دانیم که از مرکز چاپ و نشر دانشگاه رازی به خاطر اهتمام در چاپ و نشر این کتاب کمال تشکر را داشته باشیم. واضح است که این کتاب خالی از نقص نبوده و از تمامی عزیزان تقاضا داریم که موارد خطا و اشتباهات احتمالی را به ما گوشزد نموده تا در چاپ‌های بعدی مورد اصلاح قرار گیرد.

دکتر سید محمد حسین میرمؤمنی

دکتر سیروس قبادی

بهمن ۱۳۸۵ - دانشگاه رازی - کرمانشاه

فهرست مطالب

۱- مقدمه (اطلاعات عمومی آزمایشگاه).....	۱
۲- جلسه اول (تهیه محلول‌ها).....	۱۵
۳- جلسه دوم (تیتراسیون اسید ضعیف و اسید قوی توسط باز ضعیف و مقایسه رفتار آنها با یکدیگر).....	۲۷
۴- جلسه سوم (تیتراسیون اسیدهای آمینه).....	۴۵
۵- جلسه چهارم (اسپکتروفتومتری).....	۴۹
۷- جلسه پنجم (اندازه‌گیری گلوکز خون).....	۶۱
۸- جلسه ششم (اندازه‌گیری گلیسیرول خون).....	۶۹
۹- جلسه هفتم (واکنش‌های رنگی قندها).....	۷۳
۱۰- جلسه هشتم (آزمایش‌های اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها).....	۸۱
۱۱- جلسه نهم (پلاریمتری).....	۹۵
۱۲- جلسه دهم (الکتروفورز).....	۱۰۳
۱۳- جلسه یازدهم (اسپکتروفتومتری نشر شعله‌ای).....	۱۱۱
۱۴- جلسه دوازدهم (آزمایش‌های لیپیدها).....	۱۱۹
۱۵- تمرین‌ها.....	۱۲۷
۱۶- منابع.....	۱۳۵

مقدمه:

اطلاعات عمومی آزمایشگاه

خطرات آزمایشگاه:

۱- آتش سوزی و انفجار

مواد آلی از قبیل اترها، الکل ها، استون ها و در دمای آزمایشگاه به راحتی تبخیر شده و بخار آنها قابل اشتعال می باشد. از اینرو، دانشجویان در موقع کار با چنین موادی باید احتیاط کرده و نکات زیر را رعایت نمایند:

- الف- مواد قابل اشتعال در مکان های سرد نگهداری شوند (بهتر است اتاق ها دارای تهویه باشند).
- ب- مواد قابل اشتعال زمانی که مورد نیازند و به مقدار احتیاج آزمایش، به آزمایشگاه آورده شوند.
- ج- قبل از باز کردن درب ظروف مواد قابل اشتعال، هر گونه شعله ای را از اطراف ظرف دور نمایید.
- د- مرکز مواد قابل اشتعال را روی شعله نبرید.

۲- مواد شیمیایی سوزاننده و خورنده:

اسیدهای قوی:

تعدادی از اسیدهای معدنی مثل اسید سولفوریک، اسید کلریدریک و اسید نیتریک، اسیدهای قوی و خطرناکی می باشند و در هنگام استفاده از آنها باید نکات زیر را رعایت کرد:

- الف- موقع ریختن اسید از ظرفی به ظرف دیگر باید از تراوش آن به خارج ظرف جلوگیری نمود.
- ب- موقع رقیق نمودن یک اسید همیشه باید اسید را به آرامی به آب اضافه کرد. اگر ضمن رقیق نمودن اسید ظرف گرم شد، بهتر است قبل از افزودن مقادیر بعدی اسید مدتی صبر نمود تا ظرف سرد شود.

تذکر: هرگز به ظرف محتوی اسید آب اضافه نکنید.

بازهای قوی:

تعدادی از بازها مثل NaOH ، KOH ، NH_4OH بازهای قوی بوده و می توانند سبب تخریب بافت های بدن گردند، از اینرو هنگام استفاده از آنها باید به نکات زیر توجه نمود:

الف- بازهای قوی نباید در ظروف شیشه ای نگهداری شوند (بهتر است در ظروف پلاستیکی نگهداری کردند).

ب- هنگام رقیق کردن NaOH یا KOH ضمن رعایت اینکه این بازها باید به آهستگی به آب اضافه شوند باید مراقب بود تا ظرف خیلی گرم نشود.

ج- موقع باز نمودن درب ظرف آمونیاک باید مواظب بود که صورت بالای درب ظرف قرار نگرفته باشد.

سموم:

ترکیبات زیادی از قبیل سیانیدها، الکل‌های مختلف مثل الکل متیلیک، ترکیبات جیوه و غیره ترکیبات سمی می‌باشند. در موقع جا به جا نمودن و کار کردن با اینگونه مواد باید به موارد زیر توجه داشت:

الف - هرگز برای انتقال این مواد (محلول‌های سمی) از پی‌پت‌های معمولی استفاده نشود. بدین منظور می‌توان از پی‌پت‌های اتوماتیک یا پی‌پت‌های متصل به پوآر استفاده نمود.

ب - ظروف محتوی مواد سمی حتماً باید دارای برچسب باشند.

کمک‌های ساده اولیه در آزمایشگاه:

۱- سوختگی: محل سوختگی را باید با محلول اشباع اسید تانیک یا اسید پیکریک پوشانند.

۲- بریدگی: محل بریدگی را باید با مرکورکروم شستشو داد.

۳- ریختن اسید روی لباس: باید محلی را که اسید روی آن ریخته شده با محلول رقیق از NH_4OH و سپس آب مقطر خوب شست.

۴- ریختن قلیا روی لباس: باید محلی که باز روی آن ریخته شده را با محلول رقیق از اسید استیک و سپس آب مقطر خوب شست.

۵- ریختن اسید در چشم: باید چشم را ابتدا با مقدار زیادی آب و بعد با محلول بیکربنات سدیم رقیق و در آخر با آب مقطر شستشو داد.

۶- ریختن قلیا در چشم: ابتدا باید چشم را با مقدار زیادی آب و بدنال آن با اسید بوریک و در آخر با آب مقطر شستشو داد.

۷- آتش سوزی: باید آرامش خود را حفظ کرده و به طریقی که ممکن باشد آتش را مهار کرد.

نکاتی که رعایتشان جهت کار در آزمایشگاه ضروری است:

آمادگی جهت انجام آزمایش:

- ۱- هنگامی که دانشجویان در آزمایشگاه حضور دارند بایستی روپوش به تن داشته و دکمه های آن را ببندند. همچنین دانشجویان بایستی از خوردن و آشامیدن در آزمایشگاه اکیدا خودداری کنند.
- ۲- دانشجویان قبل از ورود به آزمایشگاه باید دستور کار آزمایش را مطالعه نموده باشند.
- ۳- هر دانشجو باید آزمایش ها را به صورت انفرادی انجام دهد مگر در مواردی که قید شود کار به صورت گروه های دو و یا چند نفری انجام شود. در پایان یا در ضمن انجام آزمایش راجع به آزمایش یا آزمایش ها بحث می شود و هر دانشجو موظف است در بحث شرکت نماید. شرکت فعال دانشجو دارای امتیاز بوده و در نمره آزمایشگاه او تاثیر خواهد داشت.
- ۴- تمیز بودن و با دقت کار کردن در آزمایشگاه حائز اهمیت است. گاهی اوقات از دانشجو جواب آزمایش یا آزمایش هایی خواسته می شود که بر حسب درست یا اشتباه بودن و دقیق یا غیردقیق کار کردن دانشجو به وی امتیاز داده خواهد شد که این امتیازها در ارزیابی نهایی کار دانشجو موثر خواهد بود.

معرف ها:

گرچه در بیشتر موارد لازم نیست که دانشجو تمام معرف ها را تهیه نماید ولی باید ترکیب و طرز تهیه معرف های مورد استفاده در هر آزمایش را بداند. بیشتر محلول های غلیظ اسید و یا باز که توسط کارخانه های سازنده ساخته می شوند در آزمایشگاه موجود هستند و در دسترس دانشجو می باشند. مشخصات بعضی از آنها در جدول زیر آمده است:

اسید یا باز	چگالی (در دمای آزمایشگاه) (g/ml)	نرمالیه تقریبی
H_2SO_4 غلیظ	۱/۸۴	۳۶/۴
HNO_3 غلیظ	۱/۴۲	۱۵/۷
HCl غلیظ	۱/۱۹	۱۲/۳
CH_3COOH گلاسیال	۱/۰۵	۱۷/۴
NH_4OH	۰/۹۰	۱۴/۸
NaOH اشباع	۱/۵۰	۱۸/۸

یادداشت‌ها:

در بعضی از آزمایش‌ها لازم است که نتایج را یادداشت و در مورد آنها بحث نمود. دانشجو باید نتایج را به صورت خلاصه و روشن با قید شماره و تاریخ آزمایش ثبت نماید.

گزارش کار آزمایشگاه:

در پایان آزمایش از دانشجو خواسته می‌شود که در مورد آزمایش یا آزمایش‌های انجام شده و نتایج گرفته شده گزارش دهد. چنین گزارشی باید شامل موارد زیر باشد:

- ۱- هدف از آزمایش
- ۲- اصول کلی آزمایش
- ۳- روش یا روش‌های مورد استفاده (بطور خلاصه)
- ۴- نتایج (در صورت لزوم ثبت آنها در جدول یا جدول‌ها)
- ۵- بحث و نتیجه‌گیری
- ۶- منابع خطا
- ۷- منابع مورد استفاده در تهیه گزارش کار

گزارش‌ها توسط مسئول آزمایشگاه جمع‌آوری شده و مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

معرفی چند ترکیب شیمیایی:

همان‌طور که می‌دانید مواد شیمیایی که امروزه در آزمایشگاه‌های مختلف از جمله شیمی، بیوشیمی، فیزیولوژی و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرند، بسیار متنوع بوده و هر روز هم بر تعداد آنها افزوده می‌گردد. شناخت و کاربرد همگی آنها در یک زمان برای دانشجویان رشته‌های زیست‌شناسی، پزشکی، علوم آزمایشگاهی و سایر رشته‌های پایه پزشکی مورد نیاز نمی‌باشد ولی اگر دانشجویان در هر آزمایشگاه با ترکیباتی که به‌کار می‌برند آشنا شوند و موارد استفاده و خطرات احتمالی آنها را خوب یاد بگیرند، در پایان دوره تحصیلات دانشگاهی خود تعداد نسبتاً زیادی از آنها را خواهند شناخت، از اینرو تعدادی از ترکیباتی که در طول ترم در آزمایش‌های مختلف آزمایشگاه بیوشیمی به‌کار برده می‌شوند معرفی شده و خطرات احتمالی و نحوه کاربرد آنها بیان خواهد شد.

۱- جیوه:

بسیار خطرناک است زیرا نسبتاً فرار بوده و به راحتی از طریق تماس با پوست و یا از طریق تنفس و نیز معده جذب می‌شود. مسمومیت شدید به وسیله این فلز و یا نمک‌هایش می‌تواند باعث خوردگی پوست، غشاهای مخاطی، سستی، استفراغ، شکم درد، اسهال خونی، تخریب کلیه و مرگ در مدت ۱۰ روز گردد. مسمومیت مزمن آن منجر به التهاب دهان، از دست دادن و لق شدن دندان‌ها، وارد شدن خسارت به کلیه‌ها، تشنج موضعی و دیگر تغییرات در خصوصیات فرد از جمله خارش و عصبانیت می‌گردد. در صورت مشاهده مسمومیت با جیوه و یا ترکیبات مربوط به آن باید سریعاً به پزشک مراجعه نمود.

۲- الکل متیلیک:

دارای اثرات تخریبی روی اعصاب بینایی می‌باشد و حتی مصرف مقادیر خیلی کم آن ممکن است منجر به صدمات و خسارات دائمی و کوری چشم شود.

۳- نیترات نقره:

تماس آن با پوست و یا مخاط بینی می‌تواند مضر بوده و باعث خارش شود. خوردن آن می‌تواند باعث تخریب معده و در نهایت موجب مرگ گردد.

۴- بنزن:

بنزن به صورت مایع بوده و نباید بطور معمول در آزمایشگاه در دسترس قرار داشته باشد. این مایع به سرعت مشتعل می‌شود. اگر خورده شود بسیار خطرناک و سمی است. همچنین اگر بخارات آن استنشاق شود مضر می‌باشد. اگر بخار یا مایع آن از طریق پوست نیز جذب شود زیان آور است. بنزن به عنوان یک ماده سرطان‌زا شناخته شده و در صورت تماس مکرر حتی در غلظت‌های بسیار کم می‌تواند سبب سرطان خون گردد. بهتر است هنگام کار با آن دستکش پوشیده و از ماسک چشم یا عینک استفاده نمود و کار با آن در زیر هود انجام شود. این مایع با آب مخلوط نمی‌شود، از اینرو باید از مصرف غیرضروری و ریختن بی‌جهت آن در ظرفشویی خودداری نمود. در صورتی که در آزمایشگاه ریخته شود باید فوراً تمام مراکز آتش را قطع کرده و با استفاده از محلول‌های پاک‌کننده و بکار بردن برس محل را شستشو داده تا بنزن بصورت امولسیون درآمده و پاک گردد. امولسیون آن را با مقدار بسیار زیاد آب باید شستشو داد و در صورتی که امولسیون در ظرفشویی ریخته شود بهتر است تا مدتی شیر آب باز بماند. در صورتی که بنزن در چشم، دهان و یا روی پوست ریخته

شود محل را با مقدار خیلی زیادی آب و صابون بشویید و در صورت احساس خطر سریعاً به پزشک مراجعه نمایید.

هشتم: اتانول:

بخارات و محلول های خیلی غلیظ آن خطرناک می باشد و جذب مقدار زیاد آن بوسیله پوست می تواند مسموم کننده باشد. این ماده سریعاً مشتعل می شود و هنگام استفاده بهتر است که از شعله و سطح های داغ دور نگهداشته شود. در صورت ریختن در آزمایشگاه یا روی پوست و یا در چشم و دهان محل را با مقدار زیادی آب شستشو دهید.

نهم: دی اتیل اتر:

به سرعت مشتعل می شود. نقطه اشتعال آن خیلی پایین است و در نتیجه مخلوط هوا و اتر به راحتی مشتعل می شود. این ماده نیز سمی بوده و اگر بخارات آن استنشاق شود و یا خورده شود می تواند باعث بیهوشی گردد. اگر تا مرحله خشک شدن تبخیر شود به واسطه حضور پراکسیدهای ناپایدار خطر انفجار دارد. برای آزمایشاتی که نیاز به تبخیر دارند فقط از دی اتیل اتر عاری از پراکسید استفاده نمایید (پراکسیدها را می توان توسط تکان دادن مایع با یک احیاء کننده مناسب مثل محلول سولفات آهن ۵٪ خارج نمود). حرارت دادن اتر بوسیله حمام آب گرم هنگامی که حجم اتر بکار رفته در استخراج به ۱۵٪ حجم اولیه تقلیل یافت را باید قطع نمود. هنگام استفاده باید تمام منابع حرارتی را خاموش نمود. بخارات غلیظ آن می تواند در امتداد میز کار تا فاصله دوری رفته و توسط شعله یا سطوح داغ مشتعل شود. در صورت ریختن اتر منابع حرارتی روشن را خاموش نموده و با استفاده از ماسک، دستکش، آب و پاک کننده محل را خوب شستشو دهید و تمام درها را باز بگذارید.

۷- اسید کلریدریک:

بخارات آن روی چشم ها دارای اثرات تحریک کننده بوده و سبب سوزش چشم و پوست می شود. اگر اسید غلیظ خورده شود خیلی سوزش آور و تحریک کننده است و اثر خوردگی دارد. برای از بین بردن، آن را با آب رقیق کرده و یا با کربنات سدیم خنثی کنید و سپس با آب جاری بشویید. اگر این اسید در محل کار ریخت، ابتدا دستکش بیوشید و از ماسک صورت استفاده کرده و در محل ریخته شدن اسید، کربنات سدیم بدون آب بریزید، سپس آب اضافه کرده و تمیز نمایید. محل را با آب جاری بشویید و محلول شستشو را به فاضلاب هدایت کنید. در صورتی که این ترکیب در چشم ریخت، آن را با آب خوب بشویید و در صورت احساس خطر فوراً به پزشک مراجعه نمایید. اگر اسید وارد دهان

شود، ابتدا با آب خوب شستشو داده و بعد از نوشیدن آب، شیر منیزیم بخورید و در صورت احساس خطر به پزشک مراجعه کنید. اگر اسید روی پوست ریخت، سریعاً با آب شستشو داده و با مخلوط گلیسرول و منیزیم مجاور نمایید.

۸- اسید سولفوریک (دودکننده یا اولئوم):

این ماده یک مایع ویسکوز دودکننده بوده و بی رنگ تا زرد رنگ است. مایع و بخارات این اسید بسیار زیان بخش بوده و باعث سوختن چشم و پوست می شود. اگر خورده شود، بسیار سوزش آور و تحریک کننده است. در آزمایشگاه های بدون هود تا حد امکان نباید مورد استفاده قرار گیرد. از اسید سولفوریک غلیظ خیلی خطرناک تر است و در موقع مصرف آن باید دستکش پوشیده و از ماسک صورت استفاده گردد. در ضمن باید از روپوش هایی از جنس PVC استفاده شود و کار با آن در زیر هود انجام گردد. در صورت آلودگی، مقدار زیادی آب به آهستگی اضافه نموده و با کربنات سدیم خنثی کنید و بعد با مقدار زیادی آب جاری بشویید. در صورت ریختن یا پاشیدن آن ابتدا ماسک صورت بزنید و دستکش و روپوش PVC بپوشید. روی محل ریخته شده کربنات سدیم بدون آب پخش کنید و با مقدار زیادی آب پاک کرده و سپس با آب جاری بشویید. در صورت تماس با چشم، بایستی چشم ها به خوبی شسته شده و مراقبت های پزشکی انجام شوند. در صورت وارد شدن اسید در دهان، با آب شسته و اگر خورده شود، آب و شیر منیزیم بنوشید و سریعاً به پزشک مراجعه نمایید. اگر روی پوست بدن ریخت، محل را با آب کاملاً شسته و پماد گلیسرول منیزیم بمالید. لباس های آلوده که دوباره قابل استفاده نیستند را بهتر است بسوزانید.

۹- پترولیوم اتر:

غلظت های بالای بخارات آن سبب مسمومیت می شود. مایع آن سبب سوزش پوست و چشم ها می گردد. اگر خورده شود خیلی زیان بخش است. به سرعت مشتعل می شود و باید موقع کار با آن از دستگاه های تهویه استفاده شود. چون این ماده چربی پوست را در خود حل می کند، در موقع کار با آن از دستکش استفاده کنید. اگر مقدار کمی از آن را به عنوان شستشودهنده ظروف بکار می برید باید آنرا توسط پاک کننده ها به صورت امولسیون درآورده و با آب شستشو دهید. اگر در محل کار ریخت، ابتدا تمام منابع حرارتی را خاموش کنید. از دستکش و ماسک صورت استفاده کرده، با آب و پاک کننده به صورت امولسیون درآورده و با آب جاری بشویید. همچنین می توان روی آن خاک ریخت و خاکروب آن را در یک فضای باز پخش کرد تا تبخیر گردد. اگر در چشم ریخت، سریعاً با آب بشویید و درخواست مراقبت های پزشکی نمایید. اگر مقدار زیادی از بخارات آن وارد شش ها شود، مصدوم را

از محل دور کرده، به او استراحت داده و وی را گرم نگهدارید. در صورت وارد شدن در دهان، ابتدا دهان را با آب خوب شسته و درخواست کمک‌های پزشکی نمایید. اگر روی پوست ریخت محل آن را فوراً با آب و صابون بشویید.

۱۰- اسید فسفریک:

سبب سوختن پوست و چشم‌ها می‌شود. اگر خورده شود سبب زیان‌های شدید داخلی می‌گردد. وقتی تا مرحله تجزیه شدن حرارت داده شود به سبب تولید اکسیدهای فسفر خطرناک می‌باشد. اگر در محلی ریخت از دستکش و ماسک برای تمیز کردن محل استفاده نمایید. روی قسمت پاشیده شده کربنات سدیم بدون آب ریخته و با آب فراوان مخلوط نموده و با آب جاری شستشو دهید. در صورت ریختن در چشم، دهان یا روی پوست مانند سایر اسیدها عمل نمایید.

۱۱- استون:

بخارات آن سبب سوزش و تحریک چشم‌ها، شش‌ها و پوست می‌شود. این ماده خواب‌آور است و اگر خورده شود برای کلیه‌ها و کبد زیان‌بخش است. سریعاً مشتعل می‌گردد و در موقع کار با آن دستگاه‌های تهویه را روشن نموده و هر گونه شعله را از محل کار خود دور کنید. در هنگام کار با آن، پوشیدن دستکش و عینک محافظ چشم توصیه می‌شود. برای از بین بردن آن از آب فراوان و جاری استفاده نمایید. اگر در محل کار ریخت، سریعاً تمام منابع شعله را خاموش کرده و درب‌ها را باز بگذارید و دستگاه‌های تهویه را روشن نمایید. محل را با آب خوب بشویید و محیط را ترک نمایید. اگر در چشم ریخت، آن را با آب خوب بشویید و در موارد بحرانی، درخواست مراقبت‌های پزشکی کنید. اگر در دهان ریخت، آن را با آب خوب بشویید و اگر خورده شود مقدار نسبتاً زیادی آب بیاشامید. در صورت ریختن روی پوست آن را خوب بشویید.

۱۲- پیریدین:

مایعی بی‌رنگ بوده که برای چشم‌ها و پوست زیان‌بخش است و اگر خورده شود خیلی مضر می‌باشد. بخارات آن برای چشم‌ها و شش‌ها مخصوصاً اگر مدت مدیدی در معرض آن باشند، زیان‌آور است. به سرعت مشتعل شده و فرار می‌باشد. موقع کار با آن منابع آتش‌زا را خاموش کنید. باید در زیر هود با آن کار کرد و برای از بین بردن مقادیر کم آن می‌توان از آب جاری استفاده نمود. در صورت پاشیدن یا ریختن آن، تمامی منابع حرارتی را خاموش کنید و آزمایشگاه را ترک نمایید. با استفاده از ماسک و دستکش محیط را خوب بشویید تا آلودگی از بین برود. محوطه‌ای که پیریدین در

آن ریخته شده است را به خوبی تهویه نمایید. در صورت ریختن در چشم، دهان و یا روی پوست محل را خوب بشویید.

۱۳- هیدروکسید سدیم:

به صورت جامد سفید رنگ است و در این حالت، خورنده پوست می باشد. وقتی جامد آن به آب اضافه شود، حرارت زیادی تولید می کند. محلول آن می تواند سبب سوختگی شدید گردد و برای چشم خیلی خطرناک است. از تماس آن با چشم و پوست اجتناب کنید. جامد یا محلول آن را در ظروف شیشه ای در سرباده ای نگهداری نکنید و مانند سایر بازهای قوی بهتر است در ظروف پلاستیکی نگهداری شود. برای از بین بردن آن از ماسک صورت و دستکش استفاده کنید. در حجم زیادی از آب حل کرده، خنثی نمایید و با آب فراوان بشویید. در صورت ریختن و پاشیدن در محیط از دستکش و محافظ چشم استفاده کرده و مواد ریخته شده را به یک سطل پلاستیکی بدون آب منتقل کنید. برای حفظ ایمنی بیشتر، آن را به یک محوطه وسیع تر منتقل نموده و در وهله اول با مقدار کمی آب و سپس با مقدار بیشتری آب شستشو دهید.

۱۴- آمونیاک:

آمونیاک اگر خورده شود، بسیار سمی می باشد. گاز و محلول آن باعث تحریک چشم ها شده و محلول آن باعث سوختگی پوست می گردد. در صورت ریختن در محیط، دستگاه های تهویه را روشن کنید و محل را با مقدار زیادی آب بشویید. در هنگام شستشو باید صورت و دست ها را بپوشانید.

۱۵- نین هیدرین:

بصورت کریستال های زرد رنگ می باشد. چون معمولاً بصورت اسپری در آزمایش ها بکار برده می شود و بخارات آن خطرناک و سمی است، در موقع کار با آن بخصوص در موقع اسپری کردن از هود استفاده نمایید.

وسایل شیشه ای

۱- مزور:

برای انتقال حجم معینی از یک محلول به ظرف دیگر استفاده می شود. در هنگام استفاده از آن جهت خواندن خط مینیسک (Meniscus = حد فاصل سطح محلول و هوا) باید دقت نمود تا حجم بیشتر یا کمتری برداشته نشود. از این وسیله به هیچ وجه برای انتقال حجم های دقیق نباید استفاده نمود.

۲- بشر:

از بشر برای حل نمودن برخی از اجسام که ابتدا باید بطور جداگانه تهیه و سپس با هم مخلوط شوند استفاده می شود. به علت گشاد بودن دهانه آن نمی تواند برای انتقال حجم های دقیق بکار رود. این ظروف از حجم ۵ میلی لیتر به بالا موجود می باشند.

۳- ارلن مایر:

استفاده از ارلن مایر زمانی صورت می گیرد که حجم زیادی از یک محلول باید تهیه گردد و کم و یا زیاد شدن حلال به مقدار جزئی تاثیر چندانی در نتیجه آزمایش نداشته باشد. از ارلن مایر در برخی آزمایش های تیتراسیون نیز استفاده می شود.

۴- بالن ژوژه:

به علت باریک بودن دهانه آن از جمله دقیق ترین ظروف آزمایشگاهی جهت تهیه محلول ها می باشد. از این ظروف به خصوص در تهیه استانداردها، محلول های نرمال، رقیق نمودن سرم استاندارد و نیز انتقال حجم معینی از یک محلول استفاده می شود. رعایت خط مینیسک اجباری و باید بطور بسیار دقیق انجام پذیرد. برای خواندن خط مینیسک در کلیه حالات بهتر است که ظرف محتوی محلول را از بالاترین قسمت آن بین دو انگشت سیابه و شست گرفته و بطور آزاد در مقابل چشم قرار داد. در این حالت سطح محلول به صورت افقی قرار گرفته و خطا در خواندن به حداقل خواهد رسید.

۵- شیشه های جای محلول:

بطری هایی رنگی یا سفید بوده که جهت نگهداری محلول ها بکار می روند. بهتر است از شیشه های رنگی جهت نگهداری محلول های مورد نیاز در بیوشیمی که اکثر آنها به نور حساس اند استفاده شود. این ظرف ها باید کاملاً تمیز و عاری از هر گونه مواد خارجی باشند.

۶- پی پت ها:

بطور معمول، پی پت ها از جنس بوروسیلیکات بوده و از مقدار بسیار جزئی مواد قلیایی می باشند، ساخته شده اند. پی پت های پیرکسی تا حدود ۶۰۰ درجه سانتی گراد نسبت به حرارت مقاوم می باشند. پی پت ها بر دو نوعند:

الف - پی پت های حجمی یا انتقال دهنده که برای نقل و انتقال حجم معینی از یک محلول بکار می روند و معمولاً در وسط و یا نزدیک انتهای پی پت دارای حباب می باشند.

ب- پی پت های مدرج یا درجه بندی شده که دونه‌اند: نوع سرولوژی که تا آخر پی پت مدرج است و نوع مور (Mohr) که درجه بندی آن قبل از نوک پی پت تمام می شود.

علایمی که روی پی پت ها دیده می شوند:

الف- درجه حرارت: معمولاً به صورت T_v دیده می شود و نشان دهنده این است که درجه بندی پی پت در آن درجه حرارت دقیق می باشد. معمولاً ΔT به میزان ± 5 درجه سانتی گراد قابل قبول می باشد. درجه حرارت مذکور بر حسب استفاده از آب می باشد.

ب- خط یا علامت مقدار حجم (برای مثال حجم ۲ میلی لیتر)

پ- دو حلقه که در قسمت بالای برخی از پی پت ها قرار دارد و مشخص می نماید که حجم مندرج روی پی پت با فوت کردن کامل می شود. این نوع پی پت ها بیشتر در حجم های ۰/۱ تا ۰/۲ میلی لیتر موجودند.

ت- کلاس A یا B: پی پت های نوع A از B دقیق تر می باشند.

ج- علامت TD و TC: این علائم بیشتر روی پی پت های نوع اول دیده می شوند.

TD (To Deliver): خارج کردن محلول با فوت کردن جهت کامل شدن حجم نهایی.

TC (To Contain): خارج کردن محلول با فوت کردن و شستن جدار پی پت با محلول حاصل.

امروزه پی پت هایی نظیر سمپلرهای اتوماتیک نیز ساخته شده است که فقط در نقل و انتقال حجم معینی از محلول مورد استفاده قرار می گیرند (بخصوص در مورد سرم). جهت استفاده از این سمپلرها، از سرسمپلرهای پلاستیکی (Tip) یکبار مصرف استفاده می شود.

۷- پوار:

وسیله ای پلاستیکی است که برای برداشتن محلول هایی که برای شخص آزمایش کننده خطرناک است بکار می رود و دارای سه تکه یا علامت می باشد. از این سه تکه، یکی برای خروج هوای پوار (۱) یا A، دومی جهت مکش (۲ یا B) و سومی جهت خروج مایع (۳ یا E) استفاده می شود.

طرز کار با پی پت ها:

برای برداشت محلول، ابتدا نوک پی پت را وارد محلول نموده و سپس مقداری از محلول مورد نظر را بالا بکشید. پی پت را خارج نموده و جدار پی پت را به دقت توسط دستمال یا گاز پاک (خشک) نمایید. مقدار اضافی را خالی کرده و سپس با رعایت کلیه نکاتی که ذکر شد نوک پی پت را به جدار ظرف بچسبانید تا مایع خارج گردد. اگر روی پی پت TC یا TD نوشته شده بود و یا دو حلقه داشت مطابق دستور فوق عمل نمایید.

تعیین دقت عمل یک پی پت (Pipette Calibration):

برای انجام این کار مطابق زیر عمل می شود (فرض نمایید پی پت مورد نظر یک پی پت ۰/۵ میلی لیتری باشد):

- ۱- پی پت را با ترازوی دقیق، توزین نمایید. (فرض اینکه وزن آن ۱۵/۳۶۵۰ گرم باشد).
- ۲- پی پت را تا نقطه صفر پر از آب مقطر و یا جیوه نموده و مجدداً توزین کنید (فرض اینکه وزن آن با آب ۱۵/۸۵۲۸ گرم باشد).
- ۳- این دو توزین را از یکدیگر کم نموده تا وزن آب موجود در پی پت بدست آید.

$$\text{وزن آب خروجی از پی پت} = ۱۵/۸۵۲۸ - ۱۵/۳۶۵۰ = ۰/۴۸۷۸$$

با توجه به جدول زیر، ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر در ۲۵ درجه سانتیگراد باید وزنی برابر با ۰/۴۹۸۰ گرم داشته باشد:

$$\frac{۰/۹۹۶۱}{۲} = ۰/۴۹۸۰$$

اما وزن بدست آمده از پی پت کمتر از این مقدار است. پس این پی پت دارای یک خطای منفی است که برابر است با:

$$\frac{۰/۴۸۹۰ - ۰/۴۸۷۸}{۰/۴۹۸۰} \times ۱۰۰ = \frac{۰/۰۱۰۲}{۰/۴۹۸۰} \times ۱۰۰ = ۲\%$$

در جدول زیر چگالی آب و جیوه در دماهای مختلف نشان داده شده است:

چگالی جیوه (g/ml)	چگالی آب (g/ml)	دما (°C)
۱۳/۵۴۷	۰/۹۹۷۲	۲۰
۱۳/۵۴۵	۰/۹۹۷۰	۲۱
۱۳/۵۴۳	۰/۹۹۶۸	۲۲
۱۳/۵۴۱	۰/۹۹۶۶	۲۳
۱۳/۵۳۹	۰/۹۹۶۴	۲۴
۱۳/۵۳۷	۰/۹۹۶۱	۲۵
۱۳/۵۳۴	۰/۹۹۵۹	۲۶
۱۳/۵۳۲	۰/۹۹۵۶	۲۷

شستشوی وسایل:

در حالات عادی کلیه وسایل شیشه‌ای بایستی ابتدا با آب معمولی و سپس با آب مقطر شستشو داده شوند. در مواردی که پی‌پت‌های کم حجم آزمایشگاهی مثل پی‌پت ۱/۱ و ۰/۲ میلی لیتری گرفتگی پیدا نمایند، می‌توان از محلول اسید سولفوکرومیک استفاده نمود.

روش تهیه محلول اسید سولفوکرومیک:

۱۴۰ g نمک سدیم یا پتاسیم دی کرومات را در ۱۰۰ ml آب مقطر حل کنید. از آنجایی که نمک سدیم دی کرومات حلالیت بیشتری از نمک پتاسیم آن در اسید دارد، بهتر است از سدیم دی کرومات استفاده نمایید. به این مخلوط، ۲ لیتر اسید سولفوریک غلیظ به آرامی اضافه کنید. ظرفی که اسید سولفوکرومیک را در آن تهیه می‌نمایید، بایستی در حمام آب سرد قرار داشته باشد و تمامی مراحل تهیه در زیر هود انجام گیرد.

پس از تهیه این محلول به مقدار کافی، وسایلی که باید مورد شستشو قرار گیرند را به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت در این محلول قرار داده و سپس با آب مقطر آبکشی کنید.

امروزه به خاطر سرطان‌زا بودن ترکیبات Cr(VI) و Cr(V) و نیز خطرات زیست محیطی آن، استفاده از اسید سولفوکرومیک توصیه نمی‌شود و می‌توان به جای آن از مخلوط $H_2SO_4-H_2O_2$ و یا KOH-EtOH استفاده نمود. همچنین می‌توان از محلول هیدروکسید آمونیوم ۱٪ و محلول اسید کلریدریک ۱٪ جهت شستشوی ظروف استفاده کرد. برای اینکار، ابتدا پی‌پت‌های کوچک را در هیدروکسید آمونیوم ۱٪ قرار داده و پس از شستشو با آب مقطر آنها را در اسید کلریدریک ۱٪ قرار دهید. سپس با آب مقطر حداقل شش بار آبکشی کنید.

در مواردی که اندازه‌گیری الکترولیت‌ها مطرح می‌باشد، ظروف شیشه‌ای مورد استفاده باید در محلول‌های زیر شسته شوند:

- ۱- برای اندازه‌گیری الکترولیت‌هایی مثل کلسیم، فسفر و کلرید، کلیه ظروف را باید با اسید نیتریک ۱۲٪ و یا اسید کلریدریک ۱۰٪ بخوبی شسته و سپس با آب مقطر آبکشی نمایید.
- ۲- برای اندازه‌گیری آهن، ظروف شیشه‌ای باید حداقل یک ساعت در اسید نیتریک ۱۲٪ قرار داده شوند و سپس با آب مقطر شستشو گردند.

۸-ترازو:

ترازوهای موجود در آزمایشگاه‌ها را به طور کلی به دو دسته می‌توان تقسیم کرد:

الف - ترازوهای معمولی

ب - ترازوهای حساس (آنالتیکال)

ترازوهای معمولی به صورت یک کفه‌ای یا دو کفه‌ای موجودند و کارکردن با آنها ساده بوده و احتیاج به مهارت خاصی ندارد ولی برای کار کردن با ترازوهای حساس ابتدا باید نحوه کار کردن با آنها را به خوبی یاد گرفت و سپس مورد استفاده قرار داد. قبل از هر چیز باید ترازوی حساس در مکانی که هیچگونه لغزش و حرکتی نداشته باشد قرار داده شده و با چرخاندن پیچ تراز، آن را در وضعیت تراز قرار داد. ترازوهای حساس خود به دو شکل مکانیکی و دیجیتالی در بازار موجود می‌باشند. کار کردن با ترازوهای دیجیتالی بسیار راحت است و در اینجا فقط طرز کار با ترازوهای حساس مکانیکی توضیح داده می‌شود. این گونه ترازوها معمولاً دارای یک ردیف شماره ثابت در سمت چپ برای تنظیم وزن بر حسب گرم و یک ردیف در سمت راست برای تنظیم وزن بر حسب میلی گرم و یک ردیف اعداد متحرک در وسط می‌باشند. برای توزین، ابتدا ترازو را در حالت تعادل قرارداده و با چرخاندن تکه‌های مربوطه تمام اعداد را روی صفحه در وضعیت صفر قرار دهید (ارقام متحرک دستگاه نیز باید صفر باشند). مطابق شکل:

۰۰	۰۰	۰۰
----	----	----

ظرف با یک تکه کاغذ را روی کفه قرار داده و با تنظیم پیچ‌های مربوط به گرم و میلی گرم، وزن ظرف را روی عدد ثابتی قرار دهید: مثلاً ۱/۶۵ گرم.

۰۰	۰۶	۶۵
----	----	----

فرض کنید می‌خواهید ۰/۷۶ گرم از ترکیبی کاملاً خشک را توزین نمایید، در این صورت وزن کل برابر است با:

$$۱/۶۵ + ۰/۷۶ = ۲/۴۱$$

برای این کار به کمک دو تکه مربوطه، دو عدد سمت راست ترازو را از ۶۵ به ۴۱ تغییر داده و بعد آنقدر از ترکیب مورد نظر را به کمک اسپاتول به کاغذ درون کفه بیفزایید تا عدد ۲ و یا به عبارت دیگر (۰۲) را روی صفحه متحرک دستگاه ببینید.

۰۰	۰۲	۴۱
----	----	----