



دستورالعمل کار در

آزمایشگاه‌های

زیست‌شناسی

دکتر شایسته سپهر



مقررات ایمنی زیستی (Biosafety Level 1)

در هر سطح آزمایشگاه با ۳ نوع ماده در تماسیم: بیولوژیکی، فیزیکی و شیمیایی
مقررات ایمنی زیستی ۱ برای کار با عوامل ناشناخته و یا عواملی که حداقل میزان خطر برای افراد آزمایشگاه و محیط دارند، وضع شده است.

- آزمایشگاه از سایر بخش‌های ساختمان که محل عبور و مرور است جدا نشده است.
- کارهای آزمایشگاهی عموماً بر روی میزها انجام می‌گیرد.
- معمولاً از وسایل و دستگاه‌های خاصی (نظیر هودهای بیولوژیک) استفاده نمی‌شود.
- کارکنان آزمایشگاه تحت آموزش‌های خاصی در ارتباط با آزمایش‌های انجام شده قرار می‌گیرند و همگی با نظارت یک فرد که در زمینه میکروبیولوژی یا یکی از علوم مرتبطه تخصص دارد، هدایت می‌شوند.

مقررات ایمنی زیستی ۲ (Biosafety Level 2)

مقررات ایمنی زیستی ۲ مشابه با نوع ۱ بوده و برای آزمایشگاه‌هایی است که با عوامل نسبتاً خطرناک کار می‌شود.

- کارکنان آزمایشگاه برای حمل عوامل بیماری‌زا آموزش‌های خاصی را گذرانده‌اند.
- حضور در آزمایشگاه محدود بوده و فقط در هنگام انجام کار می‌باشد.
- اگر کار آزمایشگاهی همراه با تولید آئروسل‌های آلوده در محیط باشد، باید در زیر هود انجام گیرد.

مقررات ایمنی زیستی ۳ (Biosafety Level 3)

مقررات ایمنی زیستی ۳ برای آزمایشگاه‌های پزشکی، تشخیصی، آموزشی، تحقیقاتی یا تولید است که در آنها با

عوامل بیماری‌زا خطرناکی که می‌توانند مرگ‌بار نیز باشند کار می‌شود. علاوه بر مقررات ایمنی سطوح ۱ و ۲:

- کارکنان آزمایشگاه تحت آموزش‌های خاصی در زمینه نحوه حمل عوامل بیماری‌زا و مرگ‌آور قرار می‌گیرند.
- کارکنان آزمایشگاه تحت هدایت فردی که تجربه کار با عوامل خطرناک را دارد، کار می‌کنند.
- تمام مراحل کار با عوامل آلوده‌کننده زیر هود انجام می‌گیرد و افراد باید پوشش‌های محافظتی مناسب را در حین انجام کار داشته باشند.
- آزمایشگاه دارای طراحی خاصی است.

مقررات ایمنی زیستی ۴ (Biosafety Level 4)



مقررات ایمنی زیستی ۴ برای آزمایشگاه‌هایی که با عوامل مرگ‌بار نظیر ویروس ایدز و هپاتیت کار می‌شود، وضع شده است. علاوه بر مقررات ایمنی سطوح ۱ و ۲ و ۳:

- کارکنان آزمایشگاه از لباس‌ها و پوشش‌های خاصی استفاده می‌کنند.
- جهت آلودگی‌زدایی از وسایل و مواد از یک اتوکلاو با دو درب که یک درب آن داخل آزمایشگاه و درب دیگر آن در خارج است، استفاده می‌شود. مواد آلوده پس از آلودگی‌زدایی از درب دیگر خارج می‌شوند.
- تهویه‌ی آزمایشگاه توسط فیلترهای خاصی صورت می‌گیرد.
- کارکنان آزمایشگاه پیش از خروج جهت آلودگی‌زدایی با مواد شیمیایی خاصی دوش می‌گیرند.
- ❖ برای هر کدام از ۴ سطح ایمنی بالا مثالی برای مواد بیولوژیکی، شیمیایی و فیزیکی نام ببرید.

از آنجاییکه در آزمایشگاه‌های سایت شرقی مقررات ایمنی زیستی سطح ۲ اجرا می‌شود، این سطح ایمنی به تفصیل شرح داده می‌شود.

مقررات ایمنی زیستی ۲

- این نوع از آزمایشگاه‌ها برای کار با عوامل نسبتاً خطرناک طراحی شده‌است. علاوه بر مقررات سطح ایمنی زیستی ۱:
- افرادی که در آزمایشگاه کار می‌کنند باید نسبت به نحوه‌ی حمل و نقل عامل پاتوژنیک آموزش ببینند.
 - حضور در آزمایشگاه فقط در مواقع کار است.
 - اگر روش کار مورد استفاده همراه با تولید آئروسول‌های آلوده باشد، باید در زیر هودهای ایمنی بیولوژی و یا در زیر سایر هودهای فیزیکی کار شود.

عملیات پیشگیری از آلودگی‌های میکروبی

- حضور در آزمایشگاه فقط در موقع انجام کار و زیر نظر مسئول آزمایشگاه باشد.
- سطوح کار، هر روز یک مرتبه آلودگی‌زدایی شود.
- تمام پسماندهای مایع یا جامد قبل از دور ریختن آلودگی‌زدایی شوند.
- از دستگاه‌های Pipeting مکانیکی استفاده شود. Pipeting با دهان اکیدا ممنوع است.
- خوردن، نوشیدن، سیگار کشیدن و استفاده از هرگونه وسیله‌ی آرایشی در محیط ممنوع است. مواد خوراکی فقط در کابینت‌ها یا یخچال‌های مخصوص مواد غذایی که در خارج از آزمایشگاه می‌باشند، نگهداری شوند.
- افراد باید دست‌های خود را پس از حمل مواد و قبل از ترک آزمایشگاه با استفاده از ماده‌ی ضدعفونی بشویند.
- باید تلاش زیاد در جهت حداقل تولید آئروسول صورت گیرد.

عملیات ویژه



- مواد آلوده‌ای که جهت آلودگی‌زدایی به مکان دور از آزمایشگاه برده می‌شوند، باید در ظروف با دوام قرار گرفته و قبل از خروج از آزمایشگاه درب آن بسته شود.
- با توجه به اینکه تعدادی از آلودگی‌ها برای بعضی از افراد معمولاً خطرناک می‌باشد، ورود افراد به آزمایشگاه و کار آنها در آزمایشگاه با تشخیص مسئول آزمایشگاه می‌باشد.
- هرگاه عوامل عفونی جهت استفاده در آزمایشگاه نیاز به تدارکات خاصی مانند واکسیناسیون داشته باشد، باید علایم اختلال‌دهنده بر روی در آزمایشگاه نصب گردد، علایم اختلال‌دهنده باید نوع عفونت، نام مسئول آزمایشگاه، نام فرد استفاده‌کننده و تجهیزات خاص وارد شده به آزمایشگاه را نشان دهد.
- در هنگام حضور در آزمایشگاه باید روپوش آزمایشگاه و چکمه پوشیده شود، قبل از خروج از آزمایشگاه، پوشاک نامبرده را از تن درآورده و در آزمایشگاه گذاشته شود. در صورت آلودگی، روپوش تمیز پوشیده و پوشاک آلوده، آلودگی‌زدایی شود.
- حیواناتی که در کار پژوهشی در نظر گرفته نشده‌اند، حق ورود به آزمایشگاه را ندارند.
- باید دقت کافی جهت اجتناب از آلودگی پوستی با مواد عفونی صورت بگیرد. در هنگام حمل و نقل حیوانات آلوده و هنگام تماس پوست با مواد عفونی حتماً از دستکش استفاده کنید.
- تمام پسماندهای آزمایشگاه و حیوانخانه باید قبل از خروج، آلودگی‌زدایی شوند.
- سوزن‌ها و سرنگ‌های زیرجلدی فقط برای تزریق یا خالی کردن مایعات از حیوانات آزمایشگاهی استفاده شود. برای تزریق یا خالی کردن مایعات عفونی از سرنگ‌های متصل شده به سوزن یا سرنگ یکبار مصرف استفاده شود و باید دقت کافی هنگام استفاده از سرنگ و سوزن صورت گیرد تا از خود تلقیحی اجتناب گردد. نباید سوزن را پس از استفاده خم کرد، شکست یا در غلاف سوزن قرار داد. سوزن و سرنگ باید سریعاً در ظرف مخصوص ظروف تیز و برنده قرار گیرند و آلودگی‌زدایی شوند (ترجیحاً با اتوکلاو).
- ریخته شدن مواد آلوده و سوانح باید سریعاً به مسئول آزمایشگاه گزارش شود. کمک‌های اولیه، مراقبت و درمان باید بدون در برداشتن هزینه برای افراد صورت گیرد. گزارش سوانح باید ثبت شده و حداقل برای ۴۰ سال بایگانی گردد.
- افرادی که با مواد عفونت‌زای انسانی کار می‌کنند، باید نمونه‌های سرم آنها جمع‌آوری و نگهداری شود. هر پنج سال و یا پس از در معرض آلودگی قرار گرفتن نمونه‌ی سرم تهیه شود.
- داشتن حداقل یک تاریخچه‌ی پزشکی از کارمندان ضروری است.

هودهای بیولوژیک

- هودهای بیولوژیک دسته I و یا II یا سایر تجهیزات فردی مناسب در موارد زیر استفاده شود:



- (۱) در صورتیکه در مراحل کار ذرات آئروسل آلوده تولید می‌شود، باید از این کابینت‌ها استفاده شود.
- (۲) در صورتیکه غلظت‌های بالا یا حجم‌های بزرگ از عوامل عفونی و یا DNA نوترکیب استفاده می‌شود، در صورتیکه درب ظروف آنها خوب بسته شده باشد می‌توان در هوای آزاد آزمایشگاه استفاده کرد ولی اگر ظروف بدون درب باشند، کار فقط در هودهای بیولوژیک مجاز می‌باشد.

مقررات ایمنی کار با مواد بیولوژیک

- مقررات ایمنی کار با سیستم میزبانی *E.coli*
 - E.coli* K12 از مرسوم‌ترین سیستم‌های مورد استفاده در آزمایش‌های مهندسی ژنتیک می‌باشد. در صورتیکه از این باکتری به عنوان میزبان پلاسمیدهای غیر قابل انتقال استفاده گردد، ایمنی سطح I برای کار با باکتری فوق در آزمایشگاه کفایت که نکات کلیدی آن به صورت زیر است:
 - ۱- کار با میزبان فوق روی میزهای معمولی آزمایشگاه و کنار شعله امکان‌پذیر است.
 - ۲- سطوح کاری روزی یکبار و بعد از هر بار کار با این میزبان باید ضدعفونی گردد. عمل ضدعفونی کردن توسط ساوون ۱۰٪ یا وایتکس صورت می‌گیرد.
 - ۳- در هنگام کار با باکتری فوق، ظرف حاوی ساوون ۱۰٪ را برای انتقال تیوب‌ها و سرسمپلرهای آلوده بکار برید.
 - ۴- بعد از ضدعفونی کردن موارد آلوده و حذف ساوون وسایل آلوده اتوکلاو شوند.
 - ۵- پپیت کردن محلول باکتری توسط سمپلرها صورت گیرد.
 - ۶- بعد از کار با ارگانیزم‌های فوق شستشوی دست‌ها حتما انجام شود. برای این کار صابون مایع و شستشوی ۲۰ ثانیه کافی به نظر می‌رسد.
 - در صورتیکه از این میزبان برای تولید مواد توکسیک مضر برای انسان و یا کلون‌سازی ژنوم‌های ویروسی استفاده گردد، در اینصورت ایمنی زیستی سطح II به صورت زیر رعایت گردد:
 - (۱) دسترسی به عامل فوق محدود گردد و توسط علائم هشداردهنده مشخص گردد.
 - (۲) کار با میزبان فوق در زیر هودهای بیولوژیک I و II صورت گیرد.
 - (۳) لباس‌های مخصوص کار در آزمایشگاه نظیر روپوش، باید هنگام ترک آزمایشگاه تعویض گردد.



۴) در هنگام کار با این موجود از دستکش استفاده گردد و از آلودگی پوست با ارگانیزم‌های حاوی مولکول‌های DNA نو ترکیب جلوگیری به عمل آورده شود.

۵) تمامی ضایعات ناشی از کارهای آزمایشگاهی قبل از دفع توسط مواد ضد عفونی کننده ساو لن و اتوکلاو حذف شود.

۶) آلودگی‌های اتفاقی یا پاشیده شدن ارگانیزم‌های آلوده کننده یا حاوی DNA نو ترکیب به سرعت به مقامات مسئول گزارش داده شود و برای رفع آلودگی آن اقدام گردد.

ایمنی کار با نمونه‌های دارای DNA نو ترکیب

اسیدهای نوکلئیک که در مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی مورد استفاده قرار می‌گیرند را می‌توان به صورت زیر دسته بندی کرد:

۱) اسیدهای نوکلئیک با ساختار DNA

- cDNA ژنوم های RNA ویروسی

- پلاسمیدها

- ترانسپوزون‌ها

- ناقل‌های مصنوعی

- واکسن‌های DNA

۲) اسیدهای نوکلئیک با ساختار RNA

- آنتی‌سنس RNA

- ریبوزیم‌ها

- واکسن‌های RNA

- ناقل‌های RNA ویروسی

۳) RNA-DNA هیبریدها

رها سازی اسیدهای نوکلئیک در محیط از روش‌های مختلفی صورت می‌گیرد:

۱- زباله‌های میکروارگانیزم‌های تراریخت

۲- زباله‌های کشت سلولی و محصولات گیاهی تراریخت

۳- زباله‌های جانوران تراریخت



۴- غذای مهندسی شده

۵- نسوج گیاهی مهندسی شده نظیر کتان

۶- گرد و غبار و دانه‌ی گرده محصولات مهندسی شده

اسیدهای نوکلئیک در محیط‌های طبیعی قدرت بقا داشته، در ضمن بعضی از انواع آنها قادر به انتقال از یک ارگانیسم به ارگانیسم دیگر می‌باشند. اسیدهای نوکلئیک می‌توانند خطرات احتمالی را به صورت زیر داشته باشند:

۱) ایجاد شوک توکسیک در زمان استفاده از ناقل‌های ویروسی

۲) واکنش ایمونولوژیکی در زمان استفاده از ناقل‌های ویروسی

۳) ایجاد واکنش‌های اتوایمن توسط DNA دورشته‌ای و RNA

۴) تولید ویروس‌های نو ترکیب بیماری‌زا

۵) ایجاد موتاسیون (Insertion Mutagenesis)

۶) Insertion oncogenesis

۷) آلودگی ژنتیکی سلول‌های زایشی

بسته به نوع کار پژوهشی با اسیدهای نوکلئیک مقررات ایمنی اعمال خواهد شد که مجری پروژه‌های تحقیقاتی ملزم به آموزش نکات ایمنی اختصاصی کار خویش می‌باشند.

مقررات کلی ایمنی زیستی در سطح آزمایشگاه‌های مرکز (ایمنی زیستی II) برای کار با DNA به صورت زیر می‌باشد:

۱- پوشیدن روپوش آزمایشگاه و دستکش در حین کار با نمونه‌های DNA ضروری است.

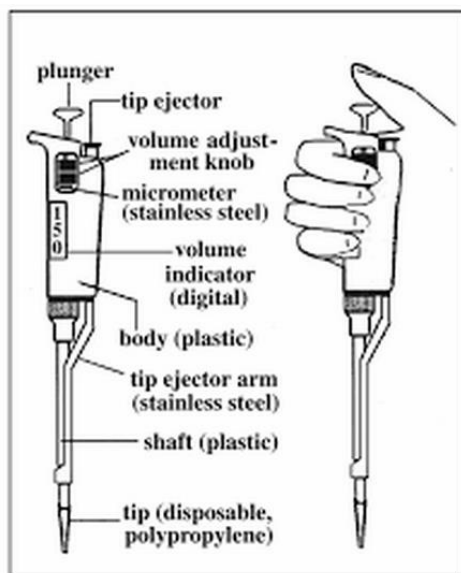
۲- زباله‌های آلوده به DNA باید از زباله‌های غیر آلوده جدا شده و زباله‌های آلوده در نهایت اتوکلاو شوند.

۳- از ریختن محلول‌های آلوده به DNA در سینک‌های ظرفشویی به شدت خودداری گردد.

۴- در صورت آلوده شدن سطوح آزمایشگاه با DNA نو ترکیب، سطوح توسط اسید رقیق شسته شده و پس از شستشوی اسید با آب، ضد عفونی کردن سطوح با الکل صورت گیرد.

۵- پیشنهاد می‌شود که قبل از کار با DNA، سطوح آزمایشگاهی توسط پوشش‌های دو قسمتی (پلاستیک-بخش قابل نفوذ رویی)، پوشیده گردد و در انتهای کار جمع شده و اتوکلاو شود.

مسلماً رعایت نکات ذکر شده می‌تواند احتمال وقوع خطر را به حداقل رساند.



وسایل آزمایشگاهی

سمپلر (میکروپیپت)

برای برداشتن حجم مورد نظر خود توسط سمپلر به نکات زیر توجه فرمایید:

- (۱) سمپلر را به آرامی و با دقت بر روی حجم مورد نظر تنظیم کنید.
- (۲) تیپ (سرسمپلر) با به سمپلر متصل نمایید به طوریکه از جایگیری درست و محکم مطمئن باشید.
- (۳) دکمه عملکرد را تا اولین ایست (First stop) آن فشار دهید.
- (۴) نوک تیپ را درست زیر سطح مایع (۲-۳ mm) قرار دهید و دکمه‌ی عملکرد را به آرامی و بطور یکنواخت آزاد کنید. سمپلر را در طی کشیدن مایع عمود نگه دارید. در مورد مایعاتی که ویسکوزیته و دانسیته آنها با آب متفاوت می‌باشد بهتر است که با پر و خالی کردن تیپ، بیرون آنرا با آن مایع مرطوب نمایید.
- (۵) سرتیپ را به دقت از درون مایع بیرون آورده به کناره‌ی درون ظرف بکشید تا مقادیر اضافی به جدار بیرونی آن باقی نماند.



- ۶) مایع کشیده شده با فشار آرام دکمه‌ی عملکرد تا اولین ایست خارج می‌شود. پس از توقف کوتاهی در اولین ایست، دکمه‌ی عملکرد را تا دومین نقطه‌ی ایست فشار دهید تا از تخلیه‌ی کامل آن مطمئن شوید.
- ۷) هرگز از سمپلر در خارج از محدوده‌ی مشخص شده برای آن استفاده نکنید.
- ۸) پیشنهاد می‌شود که در هنگام عدم استفاده از سمپلر آن را در وضعیت عمودی نگه دارید.
- ۹) برای تمیز کردن سمپلر از آب یا اتانول ۷۰٪ و یک پارچه‌ی نرم یا دستمال بدون پرز استفاده کنید. پیشنهاد می‌شود که محل اتصال تیپ به سمپلر به طور منظم تمیز شود.
- ۱۰) هرگز برای پاک کردن سطوح خارجی سمپلر از موادی نظیر گزلیول یا سایر حلالهای مواد پلاستیکی استفاده نکنید.
- ۱۱) مراقب باشید هنگام برداشتن مواد شیمیایی تنها تیپ با آنها تماس یابد و خود سمپلر آلوده نشود.
- ۱۲) مایع نباید وارد سمپلر شود. بنابراین هرگز هنگامی که تیپ حاوی مایع می‌باشد، آنرا سر و ته یا به طور افقی نگه ندارید.
- ۱۳) همیشه حجم کشیده شده توسط سمپلر را با چشم کنترل کنید تا مطمئن شوید حجم مورد نظر شما کشیده شده است.
- ۱۴) در هنگام کشیدن مواد با چگالی بالا مثل گلیسرول و تریتون، علاوه بر رعایت آرامش در کار، همیشه پس از آزادی کامل دکمه عملکرد نوک تیپ را تا چند لحظه در مایع نگه دارید تا حجم مورد نظر شما به طور کامل کشیده شود. در صورتیکه نیاز به برداشتن حجم‌های بیشتری از این مواد باشد، می‌توان برای سهولت کار، سرتیپ را چید. این مورد برای برداشتن سوسپانسیون‌هایی مثل سوسپانسیون سلولی نیز صادق است.
- ۱۵) تا حد امکان از کشیدن مواد خورنده مثل اسید و بازهای قوی با استفاده از سمپلر خودداری کنید، زیرا بخارات این مواد باعث خوردگی و زنگ زدن فنر سمپلر می‌شود. بهتر است در این موارد از پیپت‌های شیشه‌ای استفاده شود. در صورت اجتناب‌ناپذیر بودن استفاده از سمپلر برای این مواد، پیشنهاد می‌شود که پس از اتمام کار سمپلر باز شده، پیستون و اجزای درونی آن شسته و تمیز گردد.
- ۱۶) در صورت آلوده شدن سمپلر به خون و فراورده‌های آن یا سوسپانسیون میکروبی، اگر سمپلر قابل اتوکلاو باشد، از این روش استفاده کنید. در غیر اینصورت قسمت آلوده را با دقت از سمپلر جدا کرده و به مدت یک ساعت در ساوین ۱۰٪ و پس از شستشو با آب به مدت ۱۰ دقیقه در SDS ۱۰٪ و پس از شستشوی مجدد با آب به مدت ۱۰ دقیقه در الکل ۷۰٪ قرار دهید. در نهایت وسیله را با مقادیر فراوانی آب شستشو داده و در هوا خشک کنید.

آزمون کالیبراسیون سمپلر:

- ۱) به دقت تیپ را به سر سمپلر متصل نمایید.
- ۲) تیپ را با کشیدن آب مقطر به اندازه حجمی ۵ برابر حجم مورد نظر مرطوب کنید.



۳) به دقت حجم مورد نظر از آب مقطر را کشیده، در هنگام کار سمپلر را عمود نگه دارید.

۴) آب مقطر کشیده شده را روی یک کاغذ ضد آب یا ظرفی که روی ترازو صفر شده است، خالی کنید و وزن آنرا بخوانید. اینکار را حداقل ده بار انجام دهید و نتیجه هر بار را ثبت کنید (توزین باید در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد صورت گیرد).

۵) نتایج را با محدوده‌ی حجم مجاز کالیبراسیون مربوطه مقایسه کنید. اگر متوسط ۱۰ بار خواندن درون محدوده‌ی مجاز باشد، سمپلر آماده‌ی استفاده است (خطای حدود ۱٪ قابل اغماض و مربوط به خطای دستگاه است) اگر نتایج خارج از محدوده باشد، نیاز به کالیبراسیون مجدد می‌باشد.

وسایل شیشه‌ای:

- از گذاشتن وسایل شیشه‌ای درجه بندی شده‌ای که به منظور حجم‌سنجی‌های دقیق به کار می‌رود در آون (فور) خودداری کنید. زیرا گرم و سرد شدن‌های متوالی از دقت درجه بندی آنها می‌کاهد.
- از نوشتن یادداشت روی درجه‌بندی‌ها اجتناب کنید زیرا ممکن است هنگام پاک کردن یادداشت‌ها درجه بندی‌ها نیز پاک شوند.
- پس از اتمام کار ظرف مورد نظر را با روش مناسب کاملاً تمیز نموده و یادداشت روی آنرا پاک کنید.
- برای شستشوی ظروف شیشه‌ای از اسفنج یا پارچه‌ی نرم استفاده کنید تا روی آنها شکاف یا خشی ایجاد نشود.
- هنگامیکه در نظر دارید از یک ظرف شیشه‌ای تحت شرایط خلا استفاده کنید یا آنرا حرارت دهید، از سالم و بدون ترک بودن آن اطمینان حاصل کنید، در غیر اینصورت خطرات جدی شما و اطرافیانتان را تهدید خواهد کرد.
- برای شستشوی ظروف خیلی کثیف باید از خیساندن شبانه در محلول اسید کرومیک استفاده شود.
- اگر احتمال می‌دهید یک ظرف شکسته و یا ترک خورده قابل تعمیر است با رعایت نکات ایمنی آنرا به بخش شیشه‌گری منتقل کنید و در غیر اینصورت آنرا در ظروف مخصوص اجسام نوک تیز و برنده قرار دهید.

ویال:



- قبل از شروع کار از سالم بودن (سوراخ نبودن) و تمیز بودن ویال اطمینان حاصل کنید.
- سعی کنید در هر آزمایش از ویال مناسب آن کار استفاده کنید.
- در هنگام کار خصوصا در مورد مواد سمی و فرار و خطرناکی مثل فنل از محکم بودن و عدم نشت در ویال مطمئن شوید.
- برای باز کردن در ویال از روش مناسبی استفاده کنید تا محتویات آن یکباره به بیرون پاشیده نشود.
- در هنگام استفاده از ظروف یکبار مصرف مثل ویال، فالكون، پلیت و ... به جنس پلیمر سازنده آن توجه داشته باشید. برخی از آنها مثل پلی پروپیلن (Polypropylene) قابل اتوکلاو کردن هستند و برخی دیگر مثل پلی اتیلن (Polyethylene) را نمی‌توان اتوکلاو کرد. ضمناً این ظروف نسبت به تمامی مواد مقاوم نبوده و با برخی از آنها واکنش می‌دهد. برای مثال پلی کربنات‌ها نسبت به انواع الکل‌ها مقاوم نیستند.

pH متر

pH هر محلول با بدست آوردن لگاریتم غلظت یون هیدرونیوم و تغییر

علامت آن بدست می‌آید.

انواع الکتروده:

از نظر نوع عملکرد مورد انتظار و ساختمان الکترودها بسیار متنوعند. در

جدول زیر نوع کاربرد برخی الکترودها خلاصه شده است:



نمونه مورد آزمون	نوع الکتروده
نمونه بیولوژیکی، پروتئین‌ها، بافر مثل تریس	کالومل یا Double Junction
نمونه‌های دارویی	کالومل یا Double Junction



اسید هیدروفلوریک	الکتروُد آنتیموان یا HF
آب آشامیدنی	الکتروُد نقره یا Single Junction
پساب	Double Junction
محلول‌های با فلزات سنگین	Double Junction
نمونه‌های خاک	Double Junction یا الکتروُد خاک
pH بالاتر از ۹ و یون Na	حباب شیشه ای یا Amber یا Ag/AgCl
نمونه‌های نیمه جامد	نوک‌های نیزه‌ای، Ag/AgCl

الکترودهای Single Junction کاربردهای عمومی دارند اما الکترودهای Double Junction جهت تعیین pH محلول‌های ویسکوز یا محلول‌های دارای سولفیدها، فلزات سنگین یا Tris بافر به کار می‌روند. الکتروُد مرجع نقره استفاده‌های عمومی دارد و گستره‌ی دمایی تا ۸۰ درجه سانتیگراد را در بر می‌گیرد. الکتروُد کالومل در مواردی که محلول‌های مورد آزمون با یون‌های نقره واکنش داده و موجب انسداد Junction می‌شوند، کاربرد دارد.

خطاهای pH متر

- ۱- خطای قلیایی: در محلول‌های با pH=9 یا بزرگتر بعضی از غشاهای شیشه‌ای نه تنها تغییرات غلظت یون هیدروژن بلکه تغییرات غلظت یون‌های فلزات قلیایی (مثل Na^+ و K^+) را نیز نشان می‌دهد. خطای pH در pHهای بالا، منفی است و قرائت‌ها کمتر از مقدار واقعی هستند. تمام کاتیون‌های تک بار کم و بیش خطای قلیایی پیش می‌آورند.
- ۲- خطای اسیدی: الکتروُد شیشه‌ای در محلول‌های با pH کمتر از ۵/۰ خطایی نشان می‌دهند که علامت آن در جهت مخالف خطای قلیایی است. در اینجا قرائت‌ها زیاده‌تر از مقدار واقعی است.



۳- آب‌زدایی: خشک کردن الکتروود باعث عملکرد ناپایدار و خطا می‌گردد.

۴- خطا در محلول‌های غیر بافری خنثی: تعادل بین سطح الکتروود و اینگونه محلول‌ها به کندی صورت می‌گیرد. برای رفع این خطا باید تا برقراری تعادل (چند دقیقه) صبر نمود.

۵- خطا در pH بافر استاندارد: عدم دقت در تهیه‌ی بافر استاندارد، یا تغییر ترکیب آن در اثر نگهداری طولانی مدت و یا فساد آن توسط باکتری در اندازه‌گیری pH خطا ایجاد می‌نماید.

موارد احتیاط

(۱) هیچ‌گاه دستگاه pH متر را پس از اتمام کار خاموش نکنید.

(۲) هرگز الکتروود را حتی در حد کمتر از یک دقیقه کاملاً خشک نکنید.

(۳) بعد از اتمام کار از قرار گرفتن کامل الکتروود در ویال حاوی KCl اشباع مطمئن شوید.

(۴) در صورت عدم دسترسی به KCl اشباع هرگز الکتروود را در آب مقطر قرار ندهید. در این حالت نخست از محلول استاندارد $pH=4$ و در درجه بعدی از آب لوله‌کشی استفاده نمایید.

(۵) از یکنواخت بودن محلول مورد بررسی اطمینان حاصل نمایید. در صورت لزوم از کاغذ صافی برای جدا کردن ذرات معلق بهره‌گیرید.

(۶) از تنظیم pH محلول‌های محیط کشت همراه با آگار جامد یا ذوب شده اکیدا خودداری نمایید.

(۷) pH های بالاتر از ۱۲ و پایین‌تر از ۳ دارای خطای قلیایی و اسیدی است. در pH های فوق alarm دستگاه فعال خواهد شد. با شنیدن بوق دستگاه به سرعت الکتروود را از محلول خارج ساخته و با آب مقطر بشویید. قبل از اینکه مجدداً الکتروود را در محلول قرار دهید حتماً با کمک NaOH غلیظ و HCl با نرمالیتی‌ی بالا pH را به محدوده ی ۱۲-۳ نزدیک نمایید.

(۸) مشخصات محلول و pH آن را به همراه تاریخ و نام خود در دفتر دستگاه ثبت نمایید.

ترازو:



برای تهیه مواد و محلول‌های مربوط به آزمایش نیاز به توزین دقیق موادی است که مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به محدوده‌ی وزن ترازو، دو ترازو در آزمایشگاه وجود دارد، ترازوی غیرحساس که تا حد 0.01 گرم و ترازوی حساس که تا 0.01 میلی گرم را وزن می‌کند.

محدوده‌ی وزن ترازو:

در هنگام توزین به محدوده‌ی وزن ترازو دقت کنید. برای توزین وزن‌های بیش از 1 گرم از ترازوی غیر حساس و برای توزین وزن‌های کمتر از 0.01 گرم از ترازوی غیرحساس استفاده کنید.

انتخاب موقعیت مناسب ترازو:

- سطحی که ترازو روی آن قرار می‌گیرد بایستی تا حد ممکن افقی باشد.
- مکان قرارگیری ترازو در معرض نور مستقیم خورشید نباشد.
- تغییرات درجه حرارت در این مکان گسترده نباشد.
- در معرض جریان شدید هوا قرار نگیرد.

تراز کردن ترازو:

بعد از هر جابه‌جایی بایستی ترازو را تراز کرد. در سطح ترازو دو دایره‌ی متحدالمرکز است (در مورد ترازوهای این مرکز این قسمت در ترازوی حساس در جلو و در مورد ترازوی غیرحساس در عقب ترازو) قرار دارد. در حالت بالانس دایره کوچک (حباب) باید در وسط دایره بزرگ‌تر قرار گیرد که این عمل توسط پیچ‌های بالانس (در زیر پایه‌های ترازو) صورت می‌گیرد.

طرز جابه‌جا کردن ترازو:

دو دست خویش را در جلو و عقب ترازو جای دهید و آنرا جابه‌جا کنید (یعنی از سمت عقب و سمت کلید ReZero)

جابه‌جایی نباید از دو پهلوی ترازو صورت گیرد. قابل ذکر است در برخی از ترازوها ابتدا باید قفل شوند و سپس جابه‌جا شوند.

نظافت ترازو:



بعد از هر توزین بایستی صفحه توزین ترازو پاک شود و حتی الامکان اطمینان داشت که بین کفه‌ی ترازو و کفه‌ی نگهدارنده ماده‌ای ریخته نشده باشد، زیرا وجود هر نوع جسم خارجی بسیار کوچک منجر به خطای ترازو در خواندن وزن می‌گردد. استفاده از حلال‌های آلی نظیر اتانول برای تمیز کردن ترازو توصیه نمی‌شود، برای پاک کردن ترازو از آب و شوینده‌ها استفاده کنید.

کالیبراسیون ترازو:

قبل از استفاده از ترازو برای اولین بار یا هر چند مدت یکبار ترازو بایستی کالیبره شود.

(۱) کلید **Control Bar** تا صفحه نمایش روشن شود، با ادامه فشار نشانه **Cal** - ظاهر می‌شود.

(۲) برای کالیبره کردن وزنه‌ای متناسب محدوده‌ی حساسیت ترازو انتخاب می‌شود. وزنه را روی ترازو قرار دهید، وزن وزنه روی صفحه نمایش ظاهر می‌شود.

(۳) فوراً وزنه را بردارید و بعد از برداشتن وزنه (...) ظاهر می‌شود.

(۴) زمانی که صفر روی صفحه‌ی نمایش مشخص شود، ترازو کالیبره شده است.

نکات ایمنی کار با دستگاه سانتریفیوژ:

(۱) لوله‌های مقابل هم به طور دقیق بالانس وزنی شده باشند. خصوصاً هنگامیکه با دستگاه اولتراسانتریفیوژ کار می‌شود در حد میلی گرم نیز بایستی لوله‌ها بالانس گردند.

(۲) متقارن کردن لوله‌ها در روتور بسیار مهم است.

(۳) پس از هر بار سانتریفیوژ کنترل دستگاه از نظر احتمال آلودگی امری ضروری است.

(۴) انتخاب سنجیده دستگاه و روتور مناسب بر اساس شرایط کار (از نظر سرعت، زمان، دما، حجم و تعداد نمونه)

(۵) شرایط برای تبدیل **g (RCF)** به **rpm** یا بالعکس در منوی دستگاه وجود دارد.

(۶) بسته به نوع حلالی که استفاده می‌شود و دور سانتریفیوژ مورد نظر، توجه به جنس لوله ضروری است.

(۷) در صورت شنیدن صدای نامتعارف از دستگاه، سریعاً سرعت را به صفر رسانده و به بالانس وزنی لوله‌ها توجه فرمایید.



۸) در ابتدای Setting یک دستگاه سانتریفیوژ، تراز دستگاه بایستی بطور دقیق انجام شود و فاصله از دیوارهای مجاور نیز بسیار حایز اهمیت است.

۹) در هنگام روشن بودن سانتریفیوژهای یخچال دار، چون کمپرسور در حال کار است، درب دستگاه حتما بسته باشد.

۱۰) در دستگاه‌هایی که Accel و Decel قابل تنظیم نیستند، کاربر باید به آرامی سرعت را بالا ببرد.

۱۱) تا زمانی که سانتریفیوژ به rpm مورد نظر نرسیده است، کنار دستگاه بمانید و در صورت ایجاد صدای غیرعادی یا هرگونه اشکال دیگر در دستگاه، فوراً دکمه Stop را بزنید.

۱۲) سانتریفیوژ نباید در محیط دارای خطر یا اشتعال کار کند.

۱۳) لطفاً هرگز دستگاه سانتریفیوژ رومیزی را از محل خود تکان ندهید.

۱۴) اگر به خاطر قطع شدن برق و یا هرگونه اشکال دیگر، درب میکروپیوژ قفل شده و نمونه‌ها داخل سانتریفیوژ جا مانده باشد، باید قفل آن به طور مکانیکی باز شود که برای این منظور با کارشناس تماس بگیرید.

۱۵) اگر مایع وارد روتور یا bucket اولترا سانتریفیوژ می‌شود، آنرا فوراً خارج کنید. برای اینکار فقط عوامل تمیز کننده

خشکی و Disinfectant ها مثل اتانول ۷۰ درصد باید استفاده شود. پس از تمیز کردن آنرا با آب مقطر شسته و

کاملاً خشک کنید. به طور خاص مایعات قلیایی و محلول‌های غلیظ سالیان، اجسام Anodized aluminium را

مورد حمله قرار می‌دهند و نباید برای این سانتریفیوژ استفاده شود.

۱۶) در صورت آلودگی یا شکستن لوله‌ها در سانتریفیوژ مسئول دستگاه را آگاه سازید.

۱۷) برای تبدیل rpm و g در سانتریفیوژ به یکدیگر از فرمول زیر استفاده کنید.

$$g = RCF = 1.12r(RPM/1000)^2 \quad (18)$$

شعاع روتور بر حسب سانتیمتر = r

RCF=Relative centrifugal Force

اتوکلاو



اتوکلاو دستگاهی است که با استفاده از بخار آب تحت فشار عمل استریلیزاسیون را انجام می‌دهد. در هنگام کار با این دستگاه به نکات زیر توجه نمایید:

- (۱) بهتر است جهت جلوگیری از تشکیل رسوب در دستگاه اتوکلاو، از آب مقطر استفاده کنید.
- (۲) سطح آب درون دستگاه نباید از انتهای پایین دیگ بالاتر رود.
- (۳) پیچ‌های درب را باید کاملاً محکم بست. برای این منظور باید پیچ‌های روبروی هم بسته شود تا درب دستگاه به طور یکنواخت محکم شده و بخار آب از آن خارج نشود.
- (۴) استفاده از دماهای بیشتر از میزان لازم و مدت زمان طولانی‌تر تفاوتی در نتیجه‌ی حاصل ندارد. بهتر است از دما و زمانیکه طبق دستورالعمل لازم است پیروی گردد. به طور معمول برای استریلیزاسیون محلول‌ها و تیپ‌ها و ویال‌های کار با DNA ۲۰ دقیقه دمای ۱۲۱ درجه کافی است. برای وسایل و مواد کار با RNA ۴۵ دقیقه دمای ۱۲۱ درجه و در صورت اطمینان بیشتر تکرار این برنامه کافیت.
- (۵) ظروف دارای محلول را نباید پر کرد و حداقل یک سوم ظرف باید خالی باشد.
- (۶) درب ظروف مخصوصاً آنهایی که حاوی محلول هستند را کاملاً نبندید، بلکه مقداری آنرا شل نموده تا بخار آب ایجاد شده از آن خارج گردد.
- (۷) پس از اتمام زمان لازم برای استریل کردن نمونه‌ها، جهت باز کردن درب دستگاه به صورت زیر عمل کنید:
 - منبع حرارت را خاموش کنید و دریچه‌ی خروج بخار را باز نمایید (دریچه خروج بخار را آهسته باز کنید. مخصوصاً اگر محلول داخل اتوکلاو دارید این عمل خیلی به آهستگی باید انجام گیرد) تا فشار داخل دستگاه به صفر برسد و پس از آن درب دستگاه را باز نمایید.

انکوباتور

- (۱) هنگامیکه درجه حرارت انکوباتور بر روی ۳۷ درجه تنظیم می‌باشد درجه‌ی حرارت محیطی نباید از ۳۳ درجه بیشتر باشد.

از گذاشتن مواد فرار یا قابل اشتعال (اتر، بنزن، الکل، پروپان) در انکوباتور خودداری کنید.



- ۲) از آب تقطیر شده یا خالص برای پر کردن محفظه‌ی آب جهت رطوبت استفاده کنید.
- ۳) استفاده از سولفات مس و یا ساولن برای جلوگیری از رشد قارچها و کپک ها در آب داخل انکوباتور مناسب است.
- ۴) ظروف کشت سلول یا پلیت‌های باکتری‌ها را با فاصله از یکدیگر قرار دهید تا جریان هوا به خوبی صورت گیرد، اگر فاصله‌ی این ظروف کم باشد تعدیل دما و گاز CO_2 در بین آنها به خوبی صورت نمی‌گیرد.
- ۵) همیشه مراقب باشید که درب داخل انکوباتور خوب بسته شده باشد.
- ۶) قبل از برداشتن فلاسک‌های کشت سلول یا پلیت‌ها از دستکش‌های لاتکس استفاده نموده و حتما دست‌ها را ضدعفونی کنید.
- ۷) برای تمیز کردن دستگاه از ریختن آب روی آن خودداری کنید.
- ۸) هنگامیکه می‌خواهید انکوباتور را تمیز کنید از برس، اسید، بنزن، تینر استفاده نکنید، این عمل باعث از بین رفتن رنگ دستگاه و صدمه به پوشش آن می‌شود. همچنین قسمت‌های پلاستیکی ممکن است دچار تغییر شکل شود. هیچوقت از مواد شیمیایی فرار مانند بنزن در قسمت‌های پلاستیکی استفاده نکنید، مواد دترجنت بهترین انتخاب برای شستشوی دستگاه می‌باشند.
- ۹) برای تمیز کردن داخل دستگاه از محلول سدیم کلراید یا محلول‌های هالوژن‌دار استفاده نکنید که باعث خوردگی دیواره‌ی دستگاه می‌شود.
- ۱۰) از محلول‌های قلیایی یا اسیدی قوی استفاده نکنید.
- ۱۱) سنسور CO_2 در انکوباتورهای کشت سلولی تحت تاثیر میزان رطوبت بوده و پایین آمدن رطوبت باعث بالا رفتن میزان گاز CO_2 در دستگاه می‌شود. تمیز نمودن مرتب سنسور با الکل ۷۰ درصد یا ایزوپروپیل الکل ضروری است.
- ۱۲) هنگام استفاده از الکل جهت تمیز کردن داخل انکوباتور دقت لازم را به عمل آورید. به ویژه اگر انکوباتور با الکل در درجه حرارت‌های بالا تمیز شود در این شرایط الکل بخار شده و تمام فضای داخل انکوباتور را فراگرفته و ممکن است خطر انفجار روی دهد بنابراین تمام الکل باقی مانده را به خوبی پاک کنید.



۱۳) برای جلوگیری از آلودگی در انکوباتورها، قفسه‌ها و دیواره‌ی دستگاه همواره باید خشک باشد. در اثر بازماندن درب دستگاه به مدت طولانی رطوبت موجود در انکوباتور به صورت قطرات آب درآمد و این قطرات روی قفسه و دیواره‌ها باعث رشد باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها می‌شود. در این موارد آب موجود را کاملاً خشک کنید و محل را به خوبی ضدعفونی کنید و به خصوص اگر مقداری از محیط کشت روی قفسه یا داخل انکوباتور ریخته‌است. به همین خاطر بیش از اندازه فلاسک‌های کشت را با محیط پر نکنید زیرا در اثر تکان خوردن این محیط‌ها داخل انکوباتور ریخته و محل مناسبی را جهت رشد عوامل آلوده‌کننده بوجود می‌آورد.

۱۴) در صورت دیدن آلودگی در فلاسک‌های کشت بلافاصله تمام کشت‌ها را خارج نموده و داخل انکوباتور را به خوبی با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی نمایید. قفسه‌ها را نیز می‌توانید داخل فور قرار دهید تا استریل گردد.

۱۵) تعویض به موقع ظرف آب دستگاه، در انکوباتورهای کشت سلولی بسیار ضروری است.

هودهای میکروبی و کشت سلول:

- ۱) مطمئن شوید که محیط داخل هود از کار قبلی تمیز شده است. برای اطمینان بیشتر یکبار دیگر به طور کامل داخل هود را با الکل ۷۰ درصد با دستمال بدون کرک پاک کنید.
- ۲) به مدت حداقل ۱۵ دقیقه چراغ UV داخل هود را روشن نمایید (مرطوب بودن سطح داخل هود با الکل اثر اشعه را بیشتر می‌کند. این نکته بسیار دارای اهمیت است که اثر UV در هنگامیکه چراغ داخل هود خاموش بوده، موثرتر است. همچنین در اتاق‌های کشت در هنگام استفاده از UV محیط کاملاً باید تاریک باشد)
- ۳) بعد از خاموش کردن چراغ UV هود را روشن نموده و ۵ دقیقه صبر کنید.
- ۴) باید توجه داشت که برای جلوگیری از آلودگی در هود شاید به یک تکنیک بسیار دقیق آسپتیک خوب نیاز است، نه کاملاً به یک عملکرد معجزه آسای هود.
- ۵) اعتماد به عمل فیلتراسیون هوا در جهت عملکرد موثر هودها کمی قابل تامل است و همیشه درصدی از خطا وجود دارد. بنابراین این هودها هرگز نمی‌توانند به طور کامل و ۱۰۰٪ موثر بوده ولی می‌تواند احتمال آلودگی را به میزان



بسیار زیادی کاهش دهند. در نتیجه وجود هوای تمیز با تهویه مناسب در اتاق یا آزمایشگاهی که این هودها کار گذاشته شده‌اند و سایر تمهیداتی نظیر استفاده صحیح، کنترل و تعویض به موقع فیلترها و جلوگیری از انتشار و پخش گرد و غبار در آزمایشگاه از عواملی است که می‌تواند ضریب اطمینان عملکرد هودها را بالا ببرد.

۶) جهت رسیدن به حداکثر راندمان کاری و اطمینان مستمر از عملکرد یک هود، کنترل مرتب آن بسته به شرایط استفاده، تعداد استفاده‌کننده‌ها لازم و ضروری است.

۷) هودهای مذکور باید در محلی ایزوله و جدا از سایر قسمت‌های آزمایشگاه و جریان‌های شدید هوایی کار گذاشته شوند (دور از درها و پنجره‌ها، هواکش‌ها، خنک‌کننده‌ها و همچنین به دور از رفت و آمدهای زیاد کارکنان)

۸) برنامه‌های مدون تمیز کردن و ضدعفونی کردن هود از موارد بسیار ضروری است.

۹) جهت جلوگیری از هرگونه از رفت و آمدهای اضافی در هنگام کار، وسایل و مواد مورد احتیاج را قبلاً در اتاق کشت و در کنار هود آماده نمایید.

۱۰) از جمع کردن وسایل در زیر هود برای جلوگیری از ایجاد اختلال در جریان‌های خودداری کنید.

۱۱) تمام وسایلی که لازم است به داخل هود برده شود باید با الکل ضدعفونی شوند و به خوبی با یک دستمال تمام سطوح وسایل و ظروف با الکل تمیز گردند.

۱۲) هرگز از وسایلی که مربوط به اتاق کشت نمی‌باشد، استفاده نکنید. همچنین وسایل اختصاصی مربوط به اتاق کشت را نیز برای کارهای دیگر به کار نبرید.

۱۳) از کار کردن همزمان با نفر دیگر در مواقع غیر ضروری خودداری کنید. تعداد عاملین بیشتر نیاز به وسایل بیشتر بوده و باعث اختلال در جریان هوایی می‌شود.

۱۴) ناحیه مجاز در زیر هودها ۱۰ سانتی متر پس از منفذها مکش هوا در جلوی هود است.

۱۵) از انجام حرکات سریع و ناگهانی دست‌ها در داخل هود جلوگیری کنید.

۱۶) پوشیدن دستکش‌های لاتکس در هنگام کار ضروری است؛ زیرا می‌توانید به راحتی این دستکش‌ها را به علت نداشتن خلل و فرج با الکل ضدعفونی کنید و متعاقباً الکل برای دست‌ها نیز ضرورتی به دنبال نخواهد داشت.



۱۷) در صورت ریخته شدن مواد و محیط‌های کشت حتما ناحیه مزبور را بلافاصله با دستمال آغشته به الکل خوب تمیز و پاک کنید.

۱۸) پس از اتمام کار تمام فضای داخل و سطوح را با الکل ۷۰٪ تمیز کنید.

۱۹) در مواقعی که از هود استفاده نمی‌کنید حتما درب پایین هود را ببندید. بسته بودن درب اتاق کشت هم بسیار مهم است.

۲۰) جدا نمودن هودها برای فعالیت‌های مختلف بسیار ضروری است.

۲۱) در مواردی که با مواد توکسیک کار می‌کنید استفاده از عمل تدخین یا دودزایی با یکی از مواد ضدعفونی کننده مانند فرمالین مناسب است.

۲۲) روپوش آزمایشگاهی باید از جنسی باشد که از خود فیبرهای کمتری را آزاد کند تا وارد هود نشود.

۲۳) به دلیل استفاده از انواع رده‌های سلولی در کشت سلول که ممکن است میزبان طبیعی یا آلوده به میکروارگانیسم‌های خطرناک باشد حتما وسایل مصرفی و زباله‌های باقی مانده محیط یا Reagent را به طور جداگانه اتوکلاو نماید و از انباشته شدن آنها در اتاق کشت خودداری کنید.

هودهای شیمیایی:

- ۱) در ابتدا برنامه‌ی کاری خود را تنظیم نموده و تمام وسایلی که مورد نیاز است در هود قبل از شروع کار قرار دهید.
- ۲) خوب کار کردن هود بستگی به سرعت جریان هوا در داخل هود دارد و فاکتورهای مختلفی در سرعت هوای قسمت جلوی هود و داخل آن موثر است.
- ۳) مطمئن باشید که هود در جای مناسب و به دور از جریانات هوا قرار گرفته است.
- ۴) درب جلوی خود را همیشه در پایین‌ترین سطح خود نگه دارید که در این صورت بهترین محافظت در برابر خارج شدن هوای داخل هود به بیرون است.
- ۵) تمامی وسایل غیرلازم و شیشه‌های حاوی مواد شیمیایی را از درون هود خارج نموده و در قفسه‌های تعبیه شده در قسمت پایین هود قرار دهید. نگهداری و ذخیره‌سازی شیشه‌ها در زیر هود باعث تجمع بخارات سمی و اختلال در



جریان‌ات طبیعی هود ایجاد می‌شود. البته ممکن است هودها را فقط برای ذخیره مواد در نظر بگیرند که به طور مدام تولید بخارات سمی می‌نمایند.

۶) به خاطر داشته باشید که در هر زمان از انجام حرکات سریع در زیر هود خودداری نمایید. زیرا باعث اختلال در جریان هوا داخل هود می‌شود.

۷) وسایل مورد نیاز به گونه‌ای درون هود قرار دهید که محل‌های جریان هوا را مسدود نکرده باشد و همچنین از قسمت انتهایی هود که محل خروج هوا بوده، به دور باشند.

۸) حداکثر ۸ سانتی‌متر از داخل لبه‌ی هود به بعد کار نمایید و در هنگام استفاده از مواد شیمیایی و یا وزن کردن آنها دست‌ها در حد امکان در آخرین وضعیت در داخل خود قرار دهید.

۹) در مواقعی که اطمینان کامل به کارایی مناسب هود ندارید، می‌توانید با یک تکه یخ خشک هود را مورد امتحان قرار دهید. در این حالت درب جلوی هود را در پایین‌ترین وضعیت خود قرار دهید. هنگامیکه بخارات متصاعد شده از یخ خشک کمتر در محوطه‌ی داخلی هود پخش و بیشتر به طرف مجاری خروج هوا حرکت کند می‌توانید از کارایی هود مطمئن باشید.

مواد شیمیایی

مواد شیمیایی موجود در آزمایشگاه به سه حالت جامد، گاز و مایع وجود دارند.

هر کدام از حالات فوق آثار مختلفی بر فیزیولوژی موجود زنده دارند.

الف) مواد شیمیایی به حالت گازی، بخار و یا ذرات معلق وجود دارند که از راه تنفس وارد ریه‌ها می‌شوند و آثار فیزیولوژیک خود را به صورت زیر ظاهر می‌کنند:

۱) مواد التهاب‌آور و محرک (مثل آمونیاک و اسید هیدروکلریک)

۲) مواد خفگی‌آور (ساده مثل دی‌اکسید کربن، شیمیایی مثل مونواکسید کربن، اسید سیانیدریک)



۳) مواد بیهوش کننده و مخدر (مثل اتانول و دی اتیل اتر)

۴) سموم سیستمیک (متانول، فنول ها، بنزن ها، کربن دی سولفید)

۵) ذرات معلق (آزبست و سیلیس)

ب) مواد شیمیایی مایع نیز به اشکال زیر آثار خود را بر فیزیولوژی موجود زنده بروز می دهند:

۱) حلال های آلی نظیر استون، کلروفرم، سیکلو هگزان، دی اتیل اتر، دی متیل سولفو کساید، اتانول، هگزان، متانول، تولوئن، متیل کلراید و ... که علاوه بر اشتعال پذیری آثار مسموم کننده دارند و برخی نیز خاصیت سرطان زایی و نابارو کنندگی نشان می دهند.

۲) معرف های معدنی محلول مانند اسید سولفوریک، اسید هیدروکلریدریک، آمونیاک، آب اکسیژنه و ... این ترکیبات همگی سوزاننده و برخی خورنده می باشند و هر کدام اثر فیزیولوژیکی متفاوتی دارند.

ج) مواد شیمیایی جامد نیز می توانند باعث مسمومیت و یا آثار دیگر شوند.

طبق قوانین مصوب جامعه ی سلطنتی شیمی بریتانیا مواد شیمیایی از لحاظ سمیت و زیان به یکی از ۴ دسته زیر تقسیم می شود:

۱) مواد با زیان بسیار زیاد: شامل مواد سرطان زا، جهش زا یا مسموم کننده در تولید مثل و حساسیت زهای تنفسی

۲) مواد با زیان زیاد: مواد بسیار سمی، مواد سوزاننده و حساسیت زهای پوستی

۳) مواد با زیان متوسط: مواد مضر، مواد محرک و سوزش آور

۴) مواد با زیان کم: موادی که به عنوان مواد خطرناک شناخته نمی شوند.

به منظور دستیابی به ایمنی بیشتر در آزمایشگاه عوامل چندی را میتوان مد نظر داشت از جمله:

الف) آموزش افراد نسبت به نوع مواد شیمیایی مورد تماس و مصرف و نیز ویژگی های آنها به صورت کلی و تدریجی

ب) تجهیز آزمایشگاه به وسایل و مواد ضروری مورد نیاز سوانح و آموزش کاربرد صحیح آن

ج) آموزش کمک های اولیه

د) تهیه دستورالعمل های مدون ایمنی

کلروفرم:



کلروفرم ماده سرطان‌زاست و سمیت تنفسی آن زیاد و سمیت پوستی آن کم است. علائم مسمومیت با کلروفرم شامل: تهوع، سرگیجه، خواب‌آلودگی، کاهش سطح هوشیاری می‌باشد.

احتیاط لازم و کمک‌های اولیه:

در صورت پاشیده شدن به چشم، چشم را با آب فراوان به مدت حداقل ۱۵ دقیقه بشویید.

در صورت آغشته شدن پوست، فوراً آنرا با آب و صابون بشویید و اگر لباس به کلروفرم آغشته باشد، آنرا عوض کنید.

در صورت بروز علائم مسمومیت با کلروفرم که معمولاً به علت تنفس آن به وجود می‌آید فرد را فوراً به هوای آزاد رسانده و در صورت اشکال تنفسی کمک‌های اولیه را اجرا نمایید.

در مواردی که مقداری کلروفرم بطور اتفاقی خورده شود باید فرد آسیب دیده را در صورتی که کاملاً هوشیار باشد وادار به استفراغ کرد.

موارد نشت ماده در محیط آزمایشگاه یا ریختن اتفاقی ماده به مقدار زیاد:

افراد باید محوطه اطراف را به سرعت ترک کنند و تهویه مناسب برقرار شود. افرادی که مسئول تمیز کردن ماده هستند حتماً باید ماسک تنفسی و پوشش مناسب داشته باشند.

اکریل آمید:

این ماده به شدت نورو‌توکسین است و از راه پوست و تنفس به سرعت جذب می‌شود. اکریل‌آمید بر تولیدمثل اثر سوء دارد و ممکن است سبب بروز ناهنجاری‌هایی در جنین شود. همچنین امکان دارد سرطان‌زا باشد. علائم مسمومیت با اکریل‌آمید عبارتند از: منگی و گیجی، سوزن سوزن شدن، ضعف، عدم تعادل در راه رفتن، اختلال تکلم و لرز

کمک‌های اولیه:

برای محلول‌سازی و توزین پودر اکریل‌آمید حتماً زیر هود شیمیایی با استفاده از دستکش و ماسک کار شود.

در صورت تماس محلول یا پودر با پوست محل تماس را با آب فراوان و صابون به مدت ۱۵ دقیقه شستشو دهید. مسئول ایمنی را در جریان قرار دهید.



هنگام کار با محلول اکریل آمید حتما دستکش لاتکس بپوشید. بهتر است دستکش به صورت دولایه استفاده شود.

در صورت خورده شدن اتفاقی محلول فرد را وادار به استفراغ کنید و در اسرع وقت به مرکز فوریت‌های پزشکی برسانید.

در صورت تنفس ذرات اکریل آمید فرد را به فضای آزاد برسانید و او را به مرکز فوریت‌های پزشکی انتقال دهید.

هنگام ریختن ژل محل کار خود را روزنامه یا لایه‌ی جذب کننده (مانند دستمال کاغذی) بپوشانید.

گیره‌ها، شیشه‌ها و spacerهای ژل را بعد از استفاده کاملاً بشویید.

ژل غیر قابل استفاده را بعد از بستن کامل، با استفاده از دستکش در کیسه‌ای جداگانه قرار داده و بعد دور بریزید (اکریل آید

به صورت ژل کاملاً بسته شده و اثر سمی کمتری دارد)

بهتر است به جای پودر محلول‌های آماده خریداری و مصرف شوند.

مرکاپتواتانول:

این ماده سمی بوده و از راه تنفس و پوست جذب می‌شود. علایم مسمومیت ناشی از مرکاپتواتانول عبارتند از :

گیجی، لرز، گرفتگی گلو، سردرد، تهوع و استفراغ

احتیاط‌های لازم و کمک‌های اولیه:

در صورت آلودگی چشم یا پوست محل را ۱۵ دقیقه با آب فراوان شستشو دهید.

هنگام بروز مسمومیت از راه تنفس فرد را به هوای آزاد انتقال دهید و به مسئول ایمنی اطلاع دهید.

زیر هود شیمیایی و با استفاده از دستکش و عینک محافظ با ۲- مرکاپتواتانول کار کنید.

اتیدیوم بروماید:

این ماده موتاژن و سرطان‌زا است. از طریق پوست، چشم و دستگاه تنفسی می‌تواند نفوذ کند.

احتیاط‌های لازم و کمک‌های اولیه:

- هنگام کار با اتیدیوم بروماید از دستکش‌های پلاستیکی و عینک‌های محافظ و ماسک استفاده کرد.

- توزین اتیدیوم بروماید حتماً باید در مکان بسته و بدون جریان شدید هوا با استفاده از ماسک و دستکش دولایه انجام

شود.



- زباله‌های آلوده به اتیدیوم بروماید، بافرها و ژل‌های آلوده به طور مجزا دفع شود.
- دستکش و سایر لوازم آلوده به اتیدیوم بروماید را هرگز از اتاق UV خارج نکنید.
- در صورتیکه لباس یا پوست به اتیدیوم بروماید آغشته شود، باید فوراً لباس آلوده را از تن خارج کرد و پوست را با مقدار فراوان آب و صابون شستشو داد.
- در صورت آلوده شدن چشم باید آنرا با آب فراوان به مدت حداقل ۱۵ دقیقه شستشو داد.
- در صورت بروز هر حادثه‌ای در حین کار با اتیدیوم بروماید مسئول آزمایشگاه را در جریان قرار دهید.

فنل:

فنل ماده‌ای سمی و فرار است که از راه پوست و استنشاق بخارات آن وارد بدن می‌شود. فنل به شدت سوزاننده است. سوختگی‌های ناشی از فنل به سبب خاصیت بی‌حس‌کنندگی موضعی علیرغم وسعت آسیب و عمق سوختگی ممکن است درد چندانی نداشته باشد. فنل و بخارات آن آتش‌گیر است. علائم مسمومیت با فنل عبارتست از: درد شکم، سرگیجه، سردرد، تهوع و استفراغ، تپش قلب، و سرانجام کما و مرگ. در صورتیکه فنل روی پوست بریزد، سوختگی‌های شدید بدون درد ایجاد می‌کند. مناطقی که فنل به آنها رسیده باشد، رنگ پریده می‌شود. سوختگی ۲۵٪ از سطح بدن با فنل می‌تواند کشنده باشد.

کمک‌های اولیه:

- فردی که با بخار فنل مسموم شده باشد فوراً باید از محل دور گردد و به فضای آزاد رسانید تا به راحتی تنفس کند و در صورت نیاز تنفس مصنوعی انجام گیرد.
- در صورت ریختن اتفاقی فنل لباس آلوده به فنل باید فوراً از تن خارج شده و محل تماس با مقدار زیاد آب شستشو داده شود. شستشو باید آنقدر ادامه یابد تا رنگ پوست محل آسیب دیده از حالت رنگ پریده به صورتی کم رنگ تغییر کند.
- در صورت پاشیده شدن اتفاقی فنل به چشم فرد آسیب دیده پس از شستشوی چشم به چشم پزشک مراجعه نماید.



- نکته‌ی مهم اینکه در صورت بروز هر کدام از موارد فوق پس از اقدام اولیه فرد آسیب‌دیده باید به مراکز فوریت‌های پزشکی منتقل شود.

نکات عملی کار با فنل در آزمایشگاه:

- به دلیل انتشار بخارات سمی فنل در هوا، عمل اشباع و موازنه کردن این ماده و نیز استفاده از آن برای استخراج DNA و RNA حتما باید زیر هود شیمیایی با تهویه‌ی مناسب انجام گیرد.
- هنگام کار با این ماده حتی‌الامکان از روپوش آزمایشگاه و دستکش محافظ (حداقل لاتکس) و در صورت امکان از عینک محافظ، پیش‌بند و کفش‌های پوشیده استفاده کرد.
- هنگام کار با فنل باید از هر نوع منبع اشتعال دور باشیم.
- جهت رفع آلودگی فنل از هوای محیط کار باید با حوله‌ی مرطوب (برای جلوگیری از ایجاد جرقه) هوای آغشته به فنل را از فضا بیرون کنیم.
- برای به حداقل رساندن میزان آلودگی در محیط کار بهتر است که مقادیر کم این محلول از تیوب‌ها به ظرف مخصوص پسماند فنل تخلیه نشود؛ بلکه لوله پلاستیکی (تیوب) یا شیشه‌ی محتوی فنل به داخل ظرف انداخته شود.
- در صورت آلودگی محیط کار (سطح میز یا زمین) با محلول فنل باید:
 - (۱) هر نوع منبع اشتعال را از محیط دور کرد.
 - (۲) فضای آلوده را هر چه سریعتر تهویه کرد.
 - (۳) جهت خنثی کردن فنل از آهک خشک و یا جوش شیرین (محلول‌های قلیایی ضعیف) استفاده نمود.
 - (۴) چون فنل بسیار در آب محلول است، می‌توان سطح آلوده را با مقدار فراوان آب شستشو داد.

از نکات قابل توجه آنست که در چیدمان مواد شیمیایی در آزمایشگاه باید نهایت دقت بعمل آید. مثلا ترکیبات شیمیایی مایع و فرار در زیر هودهای شیمیایی با تهویه مناسب قرار گرفته و در قفسه‌های عمومی از چیدن ترکیباتی که سریع وارد بر هم کنش با سایر مواد می‌شوند، کاملا اجتناب نمود. همچنین پوستره‌های نشان‌دهنده علایم هشداردهنده‌ی مواد شیمیایی در



مکان‌های مناسب و در معرض دید افراد نصب شود. همچنین افراد باید جهت دفع مواد شیمیایی بسیار زیان‌آور، آموزش دیده و تجهیزات و امکانات ضروری در آزمایشگاه‌ها برای این امور اختصاص یابد.

چند نکته ایمنی در کار با مواد شیمیایی

- ✓ هیچ‌گاه در آزمایشگاه به تنهایی کار نکنید (مگر با اطلاع سرپرست)
- ✓ هیچ‌گاه کیف و وسایل شخصی خود را در محیط آزمایشگاه نگذارید.
- ✓ به مقررات و قواعد نگهداری مواد شیمیایی مختلف دقت کنید.
- ✓ قبل از شروع کار با مواد به خواص و خطرات آن آشنا شوید.
- ✓ قبل از توزین یا برداشتن یک ماده برچسب ایمنی آنرا مطالعه کنید.
- ✓ هیچگاه ماده‌ای را مستقیم با دست برندارید.
- ✓ در شکستن و خرد کردن مواد جامد تمرین و دقت کافی به عمل آورید، ممکن است پاشیدن و پرتاب شدن ذرات جامد به صورت شما یا اطراف و خطر انفجار شما را تهدید کند.
- ✓ از مزه کردن و چشیدن هر نوع ماده خودداری کنید.
- ✓ از برداشتن مایعات با pipette توسط دهان خودداری کنید.
- ✓ از هود و دستکش و ماسک برای کار با مواد خورنده یا سمی استفاده کنید.
- ✓ هیچ‌گاه یک حلال یا مایع اشتعال‌پذیر را روی شعله قرار ندهید.
- ✓ هیچ‌گاه اسیدها، قلیاها، مایعات سمی و یا اشتعال‌پذیر را در دستشویی خالی نکنید.



F+



- ✓ به شدت اشتعال‌زا
- ✓ باید در دمای زیر صفر نگهداری شود.
- ✓ مثل: هیدورژن، کربن دی‌سولفید، دی‌اتیل اتر، بوتان، پروپان، استیلن

F



- ✓ اشتعال‌زا
- ✓ نگهداری در دمای زیر ۲۱ درجه سانتی‌گراد
- ✓ مثل اتانول، استن، گازوئیل، هگزامین، متانول

- ✓ قابل انفجارها موادی هستند که مقدار زیادی انرژی به شکل گرما، نور و فشاری که ناشی از انبساط مولکول‌های هوا است در یک دوره‌ی زمانی خیلی کوتاه آزاد می‌کنند.
- ✓ واکنش‌دهندگان با آب، با آب واکنش می‌دهند و ممکن است منفجر شده یا مقدار زیادی گاز قابل اشتعال آزاد کنند، مانند سدیم.
- ✓ واکنش‌دهندگان ناپایدار، موادی هستند که هنگام مواجهه با شوک، حرارت یا فشار می‌توانند به سهولت با مواد دیگر واکنش دهند یا واکنش خودبه‌خودی داشته‌باشند مانند پراکسیدها، استن، نیتروگلیسرین، پیکریک اسید و TNT



- ✓ اکسیدکننده‌ها: موادی که سوختن مواد دیگر را طی واکنش یا تغییر شیمیایی تسهیل می‌کنند.
- ✓ پراکسیدکننده‌های آلی: شامل اکسیژن و مواد فعال دیگر مثل پراکسیدهای قوی.



T

سمی: شکل مجمله و دو استخوان متقاطع در زیر آن علامتی است که برای قرن‌ها از آن استفاده می‌شده است. امروزه این علامت برای شناساندن مواد خطرناکی که سمی هستند به کار برده می‌شود.

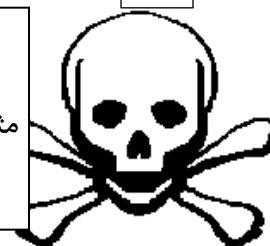
مثل: TNT، نیتروگلیسرین، کربن دی‌سولفید، متانول، آمونیاک



T+

بسیار سمی: تماس با بدن به هر شکلی محدود باید شود.

مثل: نیکوتین، مونواکسید کربن، فسفر سفید، پروسیک اسید



این علامت برای شناساندن موادی که خورنده هستند به کار برده می‌شود. مواد خورنده در محل تماس با پوست و چشم باعث سوختگی و تخریب بافت‌ها می‌شوند.





این علامت برای شناساندن موادی که فعالیت رادیواکتیو دارند به کار برده می‌شود



این علامت برای شناساندن مواد خطرناک بیولوژیکی (مانند باکتری‌ها، ویروس‌ها، ...) به کار برده می‌شود.



شستشوی ظروف شیشه‌ای

پس از اتمام کار درپوش ظروف شیشه‌ای را بردارید. باقیماندن درپوش برای مدت طولانی می‌تواند سبب چسبیدن درپوش به آن شود. سعی در خارج کردن درپوش چسبیده با شدت و قدرت می‌تواند سبب شکستن ظرف شیشه‌ای گردد. روی ظرف نوع محلول را مشخص کنید؛ زیرا لازم است بدانید که ماده‌ی موجود در چه حلالی محلول است تا با آن شسته شود. مواد قابل حل در آب شسته می‌شود. ظروف حاوی اسیدها و بازهای قوی را ابتدا باید با مقدار زیادی آب شیر شست و سپس با آب مقطر آب‌کشی نمود.

تشخیص تمیزی ظروف شیشه‌ای:

این ظروف نباید حاوی رسوب و یا چرب باشد. برای اطمینان از تمیزی آنها میتوان آب مقطر را داخل آنها ریخته و خالی کنید. اگر آب به صورت قطره قطره در بدنه ظرف دیده شود، ظرف چرب بوده و باید چربی‌زدایی شود. برای اینکار از آب و صابون رقیق شده استفاده میکنیم. ظرف را از آن پر کرده و پس از چند ساعت با لوله‌شور تمیز داخل ظرف را شسته و سپس با آب شیر و بعد آن با آب مقطر می‌شوئیم و به طور وارونه در محیط آزمایشگاه خشک می‌کنیم.

در مورد ظروفی که رسوب دارد یا چربی آنها تمیز نمی‌شود، باید از سایر محلول‌های تمیز کننده استفاده شود.

در صورتیکه داخل ظرف آغشته به مواد روغن‌دار یا سموم آفات گیاهی و جانوری باشد، باید آنرا با استن ۱۰۰٪ شسته و سپس با آب مقطر آبکشی کرد.



به طور کلی شستشوی ظروف به طرق زیر انجام می‌شود:

- (۱) هر ظرفی را ابتدا باید ۳ تا ۴ بار با حلال مناسب شست. بهتر است که ظرف‌ها بدون استفاده از وسیله‌ای شسته شود.
- (۲) اگر باقیمانده‌ی مواد به دیواره داخلی ظرف چسبیده باشد، می‌توان با استفاده از یک برس (لوله‌شور و یا اسکاچ نرم) همراه با آب داغ و صابون، جسم خارجی را تمیز کرد و سپس با آب مقطر آب‌کشی نمود.
- (۳) اگر محلول داخل ظرف اسید و یا باز قوی باشد باید شستشو در زیر هود انجام شود.
- (۴) تا از ایمنی محلول مطمئن نشدید، آنرا داخل فاضلاب نریزید. در چنین مواردی باید محلول داخل ظرف را در یک گالون مخصوص ریخته و تا زمان خنثی کردن آن ماده را نگهداری کنید و یا به محل‌های مخصوص دفع مواد شیمیایی یا بیولوژیکی تحویل دهید.
- (۵) خشک کردن ظروف و جابه‌جایی آنها: از خشک کردن ظروف با حوله‌ی کاغذی و یا پارچه‌ای اجتناب کنید.
- (۶) از جریان هوا و یا هر چیزی که سبب چسباندن ذرات ریز به داخل ظرف شود، امتناع کنید. بهترین راه خشک کردن ظروف قرار دادن آنها در جاذب‌رطوبت و در هوا می‌باشد.
- (۷) اگر سریعاً به ظرفی نیاز دارید و ماده‌ی داخل ظرف قابل حل در آب است و یا ماده‌ی داخل ظرف بر ترکیب بعدی شما تاثیری ندارد، می‌توان آنرا با کمی آب شسته و با تکان دادن ظرف برای گرفتن آب اضافی از آن ظرف استفاده کنید. (خیس بودن ظرف نباید بر آزمایش بعدی شما تاثیری داشته باشد؛ در اینصورت استفاده از چنین ظرفی بلامانع خواهد بود)
- (۸) در صورتیکه نگران تغییر غلظت هستید، ظرف خیس را با کمی محلول مورد نظر ۲ تا ۳ بار بشویید. (هر بار با ۲ تا ۳ میلی لیتر) سپس آنرا در ظرف بریزید.
- (۹) یا اینکه می‌توانید با استون داخل ظرف را بشویید زیرا استن سریع بخار شده و ظرف خشک می‌شود (البته با توجه به گرانی مواد بهتر است از این روش استفاده نشود).
- (۱۰) تا زمانی که ظرف کاملاً خشک نشده است، برچسب بر روی آن نچسبانید و تا زمان استفاده هیچ جسم خارجی را درون ظرف قرار ندهید؛ زیرا ممکن است بر آزمایش بعدی شما تاثیر بگذارد.



(۱۱) در صورتیکه ظرف آغشته به ماده‌ای چسبنده باشد می‌توان به طریق زیر آنرا تمیز نمود:

- ابتدا ۳ بار با محلول آبی کلرید سدیم یا یک دترژنت رقیق ظرف را شسته و آب‌کشی نمود و سپس ۲ بار آب مقطر زده؛ اگر آب شستشوی بیرون ریخته شده شفاف نباشد مجدداً روش فوق تکرار می‌شود.
- اگر باز هم ظرف تمیز نشود در زیر هود داخل ظرف را با کمی اسید کلریدریک غلیظ و یا سایر محلول‌های اسید و بازی شستشو می‌دهیم. سپس آنرا با آب شیر شسته و آب مقطر می‌زنیم. اگر آب خارج شده از ظرف پس از ۳ بار شستشو هنوز اسیدی باشد؛ آنقدر شستشو را ادامه می‌دهیم که pH آب خارج شده معادل pH آب مقطر باشد (برای سنجش از کاغذ pH سنج استفاده کنید).

- برای تمیز کردن بورت و پیپت و یا فلاسک می‌توان آنها را به مدت یک شبانه‌روز در آب و صابون گرم خیساند و برای از بین بردن مواد چسبیده به دیوار داخلی آنها، از یک لوله شور نرم استفاده کرد و سپس با آب شیر و در نهایت با آب مقطر آب‌کشی نمود. در آزمایشاتی که یون‌ها مزاحم هستند، ظروف را با آب مقطر دیونیزه آب‌کشی کنید.

نکات قابل توجه:

قبل از استفاده از ظرف باید ظرف کاملاً در هوا خشک شود.

اگر قبل از خشک شدن مایلید از ظرف استفاده کنید آنرا با اتانول یا استن شسته تا آب آن خارج شود.

از دستمال کاغذی یا پارچه‌های الیاف‌دار استفاده نکنید؛ زیرا الیاف به جا مانده می‌تواند در کار شما تداخل ایجاد کند.

برای از بین بردن مواد چسبیده شده داخل ظروف استفاده از دترژنت (صابون یا سایر مواد شوینده) و اسید الزامیست. از این مواد برای شستشوی ظروف شیشه‌ای، پلاستیکی و فلزی استفاده کنید (در مورد ظروف فلزی از اسید استفاده نمی‌شود).

نکات ایمنی قابل توجه:

وقتی که با مواد سمی کار می‌کنید استفاده از روش‌های سالم‌سازی مربوطه و داشتن آمادگی لازم ضروریست.

- در موارد اورژانس دسترسی به تلفن و جعبه کمک‌های اولیه ضروریست.

- استفاده از روپوش آزمایشگاهی، دستکش و عینک در ضمن کار با آنها لازم است.



- مشورت با مسئولین آزمایشگاه قبل از استفاده از چنین موادی الزامیست.

مواد لازم جهت شستشو:

(۱) مواد شوینده‌ی بدون فسفات (ابتدا ماده شوینده رقیق شود)

(۲) اسیدها و بازها (بهتر است ایرانی و یا صنعتی استفاده شود)

(۳) استن و الکل اتیلیک ایرانی

(۴) آب مقطر

تهیه محلول های لازم برای شستشو

(۱) محلول اسید کلریدریک HCl ۱۰٪: ۱۰۰ میلی لیتر از اسید به ۹۰۰ میلی لیتر آب مقطر در زیر هود شیمیایی

اضافه کرده و آنرا در ظرف شیشه‌ای با درب محکم نگه دارید. باید توجه داشته باشید که معمولاً اسید کلریدریک

۳۷٪ می‌باشد و اکثراً بدون توجه به آن محلول فوق را آماده می‌کنیم. حجم اسید تهیه شده با توجه به میزان

استفاده می‌باشد.

(۲) محلول نسبتاً اشباع سولفوکرومیک (دی کرومات پتاسیم در اسید سولفوریک غلیظ): در یک ارلن ۵۰۰ میلی لیتری

که مقاوم به حرارت نیز باشد، ۱۰ گرم دی کرومات پتاسیم ریخته و حدود ۱۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه

می‌کنیم تا خمیری شکل شود، سپس به آرامی اسید سولفوریک غلیظ اضافه نموده و ظرف را به آرامی چرخانده و

آنقدر اسید اضافه می‌کنیم تا کاملاً حل شود. سپس حجم کلی را با اسید به ۱۰۰ می‌رسانیم. (اسید باعث داغ شدن

بیش از حد ظرف می‌گردد بنابراین باید با احتیاط عمل شود). این محلول قرمز رنگ بوده و پس از خنک شدن آنرا

در بطری دربسته نگه دارید (در زیر هود این مراحل انجام شود). با افزودن آن به آب مقطر محلول ۱۰٪ تهیه

کرده و ظروف را در آن می‌خیسانیم که مدت زمان آن بستگی به میزان رسوب از یک شبانه روز تا ۱ هفته تغییر

می‌کند. این محلول تا زمانی که به رنگ زرد نیامده، قابل استفاده است.



۳) محلول الکلی KOH: ۱۰ گرم هیدروکسید پتاسیم را در ۲۵ میلی لیتر آب حل کرده و سپس با الکل به ۱۰۰ می‌رسانیم. این محلول به شدت خورنده بوده و ترکیب خطرناکیست بنابراین در استفاده از آن باید دقت شود و در صورت تماس با پوست فوراً با آب فراوان شسته شود.

شستشوی بورت و پیپت:

برای شستشوی ظروفی مانند بورت و پیپت آنها را از محلول پرکرده و پس از چند ساعت خالی نموده و سپس با آب تمیز چند بار شستشو می‌دهیم و در نهایت با آب مقطر پر و خالی می‌کنیم. در مورد پیپت‌ها آنها را در استوانه‌ای بلند حاوی تمیز کننده قرار می‌دهیم و پس از چند ساعت (بستگی به میزان آلودگی) از محلول خارج نموده و با آب شیر و آب مقطر می‌شوئیم. بهتر است پیپت‌ها و بالون‌ها با آب گرم شسته نشود و یا در حرارت خشک نگردد زیرا گرما سبب تغییر حجم آنها می‌شود.

۴) اسید نیتریک: ابتدا اسید ۱ نرمال را تهیه کرده و مقداری از آنرا داخل ظرف مورد نظر می‌ریزیم (مقدار به اندازه‌ای باید باشد که پس از چرخاندن محلول داخل ظرف کل ظرف با آن آغشته شود). پس از ۲ تا ۳ دقیقه یا بیشتر بسته به اندازه ظرف و میزان آلودگی آن، ظرف را در سینک ظرف‌شویی خالی نموده و شیر آب را باز می‌گذاریم. شستشوی داخل ظرف با آب تا زمانی انجام می‌گیرد تا مطمئن شویم اسید داخل ظرف وجود ندارد. برای اطمینان از کاغذ pH استفاده می‌کنیم. pH آب مقطر بین ۵ و ۶ است. اگر کمتر باشد باید شستشو را ادامه دهیم و در نهایت ظرف را در هوا خشک می‌کنیم.

آب مقطر:

یکی از حلال‌های مورد استفاده در تمام شستشوها آب مقطر می‌باشد. لذا اطمینان از سالم بودن آب مقطرگیری یکی از موارد قابل توجه است. دستگاه آب‌مقطرگیری باید بر اساس آب مقطر مورد نظر باشد که می‌تواند به صورت آب مقطرگیری معمولی یا دیونیزه باشد.



چگونگی تهیه محلول‌های مورد نیاز:

هر محلول حاوی ۲ جز است: ۱- حلال (آبی یا آلی) ۲- ماده‌ی حل شده (جامد یا مایع)
و اما مشخصه‌ی مهم هر محلول میزان ماده‌ی حل شده (گرم) در حجم خاصی از محلول است که به آن غلظت می‌گویند.

این حجم خاص محلول می‌تواند ۱۰۰ باشد که به آن درصد می‌گویند که به صورت وزنی یا حجمی بیان می‌شود.
یا به جای ۱۰۰، ۱۰۰۰ یا یک لیتر می‌تواند باشد که به صورت گرم در لیتر و یا مولاریته و نرمالیت بیان می‌شود.
مولاریته چیست؟ تعداد ملکول‌های ماده‌ی حل شده در یک لیتر است که با تقسیم وزن ماده‌ی حل شده بر جرم ملکولی به دست می‌آید (یا به صورت $MW = \text{جرم ملکولی}$ و یا به صورت $FW = \text{جرم فرمولی}$ روی ظرف محتوی ماده نوشته شده است).

$$\text{Mol} = m/M(FW \text{ or } MW)$$

مثال:

۱- در صورتیکه جرم ملکولی نمک طعام ۵۸/۵ باشد برای تهیه ۴۰ میلی‌لیتر محلول ۲٪ آن، چه مقدار از نمک را باید برداریم؟

$$2\text{gr}/100 = X \text{ gr}/40 \quad X = (40 \times 2)/100 \quad X = 0.8 \text{ gr}$$

۳- برای تهیه‌ی ۴۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ مولار آن چند گرم لازم است؟

$$1\text{mol}/1000\text{ml} = X \text{ mol}/40\text{ml} \quad 1000 X = 40 \quad X = 40/1000$$

$$X = 0.04\text{ml}/1.58\text{gr} = 0.04\text{mol}/X \text{ gr} \quad X = (1.58 \times 0.04)/1 \quad X = 0.0632\text{gr}$$

نرمالیت چیست؟ تعداد اکی والان‌های ماده حل شده در محلول است.

اکی والان چیست؟ مقداری از ملکول گرم یک ماده است که حاوی یک H (در مورد اسیدها) و یا یک OH

در مورد بازها می‌باشد. تعداد H یا OH را ظرفیت مینامند و به n نشان می‌دهند.



رابطه جرم مولکولی، ظرفیت و اکی والان

$$N = MW / EW \quad EW = MW / n \quad MW = EW \times n$$

مثال:

وزن ملکولی اسید سولفوریک ۹۸ گرم است. این ملکول حاوی ۲ هیدروژن است بنابراین اکی والان گرم آن

می‌شود $EW = 98 / 2 = 49$ و یا ظرفیت می‌شود: $n = 98 / 49 = 2$ یا جرم ملکولی می‌شود:

$$MW = 2 \times 49 = 98$$

محاسبه نرمالیت (N) اسیدهای تجاری:

مثال: اسید کلریدریک خالص نبوده و ۳۵٪ یا ۳۷٪ است (اگر ۱۰۰٪ هم باشد به همین طریق عمل می‌شود)

در این مثال نرمالیت اسید ۳۷٪ را با چگالی (وزن یک لیتر آن بر حسب کیلوگرم) ۱/۱۹ و جرم ملکولی

۳۶/۴۶ چقدر است؟ (چگالی در واقع مجموع وزن خالص و ناخالص است)

ابتدا باید وزن خالص در یک لیتر را بدست آورده و سپس تعداد اکی والان گرم موجود را محاسبه نمود.

$$1L = 1.19kg = 1.19 \times 1000 \text{ gr} \quad 37\text{gr net}/100 = X \text{ gr}/1.19 \times 1000/100$$

$$X = 37 \times 1.19 \times 10 \quad N = X / EW(MW/n) \quad 36.46/1 = 36.46$$

$$N = 37 \times 1 \times 10 / 36.46 \quad N = 12.06$$

به همین روش میتوان مولاریته‌ی مواد شیمیایی محلول را با چگالی مشخص محاسبه کرد.

نکته مهم و قابل توجه

اگر در تهیه غلظت ماده‌ی مورد نظر اشتباهی رخ دهد (بعد از به حجم رساندن) می‌توان آنرا تصحیح کرد:

۱- اگر غلیظ‌تر باشد با استفاده از فرمول $N_1 V_1 = N_2 V_2$ غلظت لازم را تهیه می‌کنیم.

۲- اگر رقیق‌تر باشد و آنرا به حجم نیز رسانده باشیم، نمی‌توان کمبود غلظت را با افزایش ماده‌ی مورد نظر

بدست آوریم مگر اینکه حجم را افزایش دهیم و مقداری متناسب با حجم جدید اضافه کنیم تا غلظت



تغییر نکند و یا از محلول غلیظ آن ماده استفاده شود که معمولاً زمانیکه بخواهیم از ۲ محلول با غلظت

متفاوت محلولی بین ایندو غلظت تهیه کنیم.

مثال ۱: برای تهیه ۱۰۰ میلی لیتر محلول ۰/۴ مولار چه مقدار محلول ۰/۶ مولار باید به ۵۰ محلول ۰/۲ مولار اضافه نمود؟

$$(50 \times 0.2) + (X \times 0.6) = 100 \times 0.4, 10 + 0.6 X = 40, 0.6 X = 40 - 10, X = 30 / 0.6 = 50 \text{ ml}$$

مثال ۲: برای تبدیل ۵۰ میلی لیتر محلول ۰/۲ مولار چه مقدار از محلول ۶ مولار لازم است؟

$$N_1 V_1 = N_2 V_2 \quad (50 \times 0.2) + X \times 6 = (50 + X) \times 2 \quad 10 + 6 X = 100 + 2 X \quad 6 X - 2 X = 100 - 10$$

$$4 X = 90 \quad X = 90 / 4 = 22.5 \text{ ml}$$

شرایط استفاده از دستگاهها:

❖ به منظور فراهم شدن شرایط استفاده‌ی دائمی دانشجویان عضو سایت شرقی از دستگاه‌ها حتی در عدم حضور

کارشناس، هر دستگاهی در آزمایشگاه‌ها به افرادی مسئول سپرده شده است.

❖ برای استفاده از دستگاه‌های خاص که شامل دستگاه‌هایی غیر از ترازو، pH متر و هیتراستیپر می‌باشد؛ باید از روز قبل

وقت گرفته و با کارشناس هماهنگی صورت گیرد تا کارشناس با مسئول دستگاه‌ها هماهنگ نماید.

❖ در صورتیکه فرد به دلایلی از استفاده‌ی دستگاه می‌خواهد انصراف دهد، از روز قبل اطلاع دهد تا نفر بعدی جایگزین

گردد و یا اینکه در زمان کار متوجه شد به مدت زمان بیشتر از موعد مقرر شده به دستگاه نیاز دارد، به کارشناس

اطلاع دهد و باید توجه کند که فرد بعدی که وقت گرفته و زمان‌بندی انجام داده در الویت است و باید با او هماهنگ

شود. پس در ابتدای کار با دستگاه‌ها، زمان‌بندی درست از ضروریات استفاده از دستگاه‌هاست.

❖ در مدت زمان استفاده علاوه بر اینکه وقت گرفته شده است، باید فرد اسم خود و جزئیات تنظیمات دستگاه را در

دفترچه تعبیه شده‌ی کنار دستگاه‌ها یادداشت نماید.

❖ هر فردی موظف است بعد از اتمام کار با دستگاه آنرا تمیز و با الکل ۷۰٪ رفع آلودگی بنماید. در صورتیکه فردی در

شروع کار با دستگاه، متوجه بی نظمی و آلودگی شد حتماً به کارشناس در همان لحظه اطلاع دهد.



❖ در صورتیکه که دستگاه با اشکال مواجه شد، مسئول دستگاه حتماً به کارشناس به صورت حضوری یا تماس تلفنی در همان لحظه اطلاع دهد.

❖ افراد عضو سایت شرقی که از دستگاه آزمایشگاه دیگر می‌خواهند استفاده کنند؛ باید مجوز کتبی که توسط اساتید راهنمایان تنظیم می‌گردد و مورد تایید استاد مربوطه آزمایشگاه قرار می‌گیرد را داشته باشند و به کارشناس ارائه دهند تا کارشناس با مسئول دستگاه مربوطه هماهنگ نماید.

❖ دانشجویان جدید ورود عضو سایت شرقی برای اولین بار با هر دستگاهی که می‌خواهند کار کنند باید با هماهنگی کارشناس و نظارت او و مسئول دستگاه باشد. برای بار دوم و سوم نیز کار با دستگاه حتماً با هماهنگی کارشناس و نظارت مسئول دستگاه صورت گیرد. دفعات بعد تنها اطلاع رسانی طبق موارد شرح داده شده در بند های بالا کافی می‌باشد.

نظافت:

❖ به منظور ایجاد شرایط مناسب و هماهنگی در امور آزمایشگاه‌ها و ایجاد نظم نیاز است تا فردی به عنوان شهردار بیا سوپروایزر آزمایشگاه به صورت فصلی انتخاب گردد.

❖ شهردار ماهانه موظف است پس از اتمام کار آزمایشگاه محدوده‌های کاری افراد را که قبلاً تعیین شده است بررسی و در صورت مشاهده بی نظمی (عدم شستن ظروف - خاموش نکردن دستگاه‌ها و ...) مراتب را به کارشناس اطلاع دهد.

❖ محدوده‌ی کاری هر فرد مشخص می‌باشد. لطفاً از گذاشتن هر گونه وسیله خارج از محدوده خودداری شود و در پایان هر روز افراد پس از اتمام کار محدوده خود را مرتب نمایند.

❖ لطفاً پس از استفاده از ظروف عمومی، آن‌ها را شسته و درب آن‌ها را با فویل بسته و در قفسه مخصوص خود قرار دهید.

❖ محدوده هر دستگاه مشخص می‌باشد به منظور جلوگیری از انتشار آلودگی فقط در محدوده دستگاه کار کنید.



- ❖ هر فرد موظف است هفته ای دوبار بنچ کاری خود را تمیز نماید.
- ❖ هر ماده و محلولی بدون برچسب تهیه شده با مشخصات کامل در یخچال و فریزر دور انداخته می شود.
- ❖ قرار دادن کفش و دمپایی ها در کمد های تعبیه شده از ضروریات است.
- ❖ آخرین فرد قبل از خروج از آزمایشگاه موظف است موارد زیر را چک نماید:
- ❖ خاموش بودن کولرها - خارج بودن پریز دستگاه ها - چک کردن درب فریزر و یخچال - بسته بودن شیر کپسول گاز - خاموش بودن انکوباتور و فور خالی