内部资料

妥善保管

中国科学院成都生物所

实验室安全操作规程汇编

（2020年版）

二〇二〇年十月

为加强和规范实验室安全管理工作，保障科研工作有序开展，促进研究所可持续发展，按照国家安全工作的法律、法规和标准以及中国科学院安全工作的有关规定，结合研究所科研工作实际，特定印发《中国科学院成都生物研究所实验室安全操作规程》，自印发之日起正式实施。

全所职工、学生开展科学试验研究须遵循安全操作规程。同时，研究所安全工作委员会将根据有关政策变化及时补充调整操作规程内容。

本汇编内容得到全所研究领域各类实验室有关人员的大力支持，并借鉴和参考了部分行业与院内兄弟单位的管理经验，在此一并表示衷心的感谢。

中国科学院成都生物研究所

目 录

[实验室安全总则 1](#_Toc55313188)

[一、典型化学实验安全管理与操作规程 13](#_Toc55313189)

[氧化实验安全操作规程 14](#_Toc55313190)

[还原实验安全操作规程 16](#_Toc55313191)

[硝化实验安全操作规程 18](#_Toc55313192)

[催化实验安全操作规程 19](#_Toc55313193)

[裂化实验安全操作规程 20](#_Toc55313194)

[氯化实验安全操作规程 21](#_Toc55313195)

[重氮化实验安全操作规程 23](#_Toc55313196)

[烷基化实验安全操作规程 24](#_Toc55313197)

[磺化实验安全操作规程 26](#_Toc55313198)

[氢化实验安全操作规程 27](#_Toc55313199)

[二、微生物实验安全管理与操作规程 28](#_Toc55313200)

[微生物实验安全管理规程 29](#_Toc55313201)

[无菌实验安全操作规程 30](#_Toc55313202)

[离位加氢甲烷化沼气提纯实验安全操作规程 32](#_Toc55313203)

[硝化菌剂实验安全规程 33](#_Toc55313204)

[湿法消解安全操作规程 34](#_Toc55313205)

[三、分子生物学实验安全管理与操作规程 35](#_Toc55313206)

[酶切和连接反应体系配制实验安全操作规程 36](#_Toc55313207)

[PCR反应实验安全操作规程 37](#_Toc55313208)

[核酸电泳实验安全操作规程 39](#_Toc55313209)

[**植物无菌培养室管理安全规程** 40](#_Toc55313210)

[四、两栖爬行类野生动物安全管理与操作规程 41](#_Toc55313211)

[野生动物实验安全管理规程 42](#_Toc55313212)

[两栖类野生动物实验安全操作规程 44](#_Toc55313213)

[爬行类野生动物实验安全操作规程 49](#_Toc55313214)

# 实验室安全总则

为正常开展科研工作，减少和防止实验安全事故发生，保障员工的人身安全和研究所财产安全，特制定本实验室安全操作规程。

**一、实验室的安全**

1．实验室应保持有人监管的状态；严禁闲杂人员、受酒精影响人员、未成年人等与实验工作无关的人员进入实验室。

2．严禁携带宠物进入实验室。

3．实验区域内严禁吸烟、动用明火；严禁在实验室内进食、饮水；严禁用实验器皿盛装食物。

4．实验人员应经过严格的技能、安全培训和考核，合格后方可进入实验室开展工作。

5．严格按要求穿戴劳动防护用品，禁止穿拖鞋、短裤、背心等皮肤裸露服装进入实验室。

6．实验人员应熟悉应急物资（如灭火器、急救箱等）的存放位置和使用方法；严禁损坏、遮挡、挪用应急物资，堵塞消防通道，紧急情况使用应急物资后应及时报告主管部门。

7．实验前应对实验所使用的仪器、设备、试剂等进行安全检查；实验室仪器、设备、试剂应标识清楚、有效，安全警示标志规范齐全。

8．严格按照相关实验安全操作规程进行实验操作和其他工作。

9．严禁将试剂、仪器私自带出实验室；严禁独自操作危险试验或涉及危险化学品的试验。

10．实验过程中，严禁实验人员脱岗。

**二、实验前准备**

设计实验方案、了解所有药品的性质，熟悉仪器、设备的性能及操作方法及安全事项，分析可能发生的反应和原理；检查仪器设备的工作状态，并正确稳妥地放置；对实验进行预习准备，掌握实验操作流程，制定实验步骤；分析评价可能发生的安全风险并制订相应的控制措施，对急剧放热、放气的实验应制订应急处置措施。

**三、实验室的用电安全**

**（一）电气设备**

1.购置的电气设备应符合国家安全标准要求。

2.电气设备应具有符合规定的铭牌或标志，以满足安装、使用和维护的要求。

3.电气设备的安装、维修、拆除等应由持有效电工证件的专业人员进行。

4.电气设备以及电气线路的周围应留有足够的安全通道和工作空间，且不应堆放易燃、易爆和腐蚀性物品。

5.需要连续工作的电气设备应有安全可靠的安全保障措施(如漏电保护器、超温报警断电保护等)，做好相关的安全标志。

6.电气设备金属外壳要可靠接地。大型仪器设备要根据其性能做好相应的专用接地保护。

7.电气设备停止工作时要关闭开关并切断电源。电气设备发生故障或突遇停电时，要关闭开关并切断电源，确保恢复供电时的安全。

8.用电部门或工作人员应在实验室配电箱、插排和插头处分别标识最大允许用电负荷，以便使用者了解。掌握所使用的电气设备的额定功率，插排侧标识所用设备用电负荷，严禁超负荷用电。

9.有特殊需求的电气设备，要根据实际情况设置必要的发电装置或UPS电源等措施，以防不确定停电造成损失。同时要对UPS电源进行定期检查，如电压等参数。

10.电气设备可能触及的带电部分（含零线）严禁裸露。

**（二）电热设备（含带加热功能设备）**

1．操作人员应熟悉所用电热设备性能、供电电压、功率、最高使用温度和电热设备操作规程。

2.使用部门应制定电热设备安全操作规程，并在明显的位置张贴。

3.电热设备停止工作时必须关闭并切断加热回路电源。

4.电热设备应设置可靠的温度控制器和超温报警断电保护。

5.利用电热设备进行实验前，应对所使用的各类危险物质和实验条件进行安全风险评估，并采取安全可靠措施后方可进行。

6.严禁将温控仪、接线板、纸张、化学品等放置在电热设备上。

7.具有赤热表面的电热设备附近不应放置可燃物和危险化学品。

8.电热设备的摆放应考虑周围的安全，不得放置在电源配电箱（盘）下，并与气瓶、药品柜、木柜、可燃物质等至少应保持5米的间距，或采取相应的密闭、隔离等措施。放在木制实验台或木地板上的电热设备必须衬垫可靠隔热材料。

9.电热设备用热电偶应按规定进行定期检验，确保温度传感器正常。

**四、实验室承压设备使用安全**

**（一）承压设备**

1．使用者在使用承压设备前应认真阅读设备安全使用说明书，对其相关部件及安全附件进行确认，落实相关安全操作规程，操作规程至少包括操作工艺参数（工作压力、最高工作温度或最低工作温度）、岗位操作方法(操作程序和注意事项）、运行中可能出现的异常现象和防治措施、以及紧急情况的处置。

2．承压设备初次使用或停用三个月以上重新启用，使用部门应采取安全措施对设备进行耐压性和气密性检验，达到安全条件后方可使用。

3.承压设备应在本体上标注设计压力、设计温度和容积。

4.承压设备应在设计使用寿命内使用，设计使用寿命不明确的、按照20年进行管理。

**（二）压力容器使用**

1．压力容器使用部门应定期对压力表、安全阀等安全附件进行定期检定、校验，爆破片应在使用期限内使用。

2．压力容器使用部门每月对所使用的压力容器进行月度检查，并记录检查情况。检查内容包括压力容器连接部位有无裂纹、变形、过热泄漏等缺陷，压力容器外表面有无腐蚀、脱漆，压力容器相邻管道与构件有无异常等。

3．压力容器不得进行改装。

4．高压灭菌锅等快开门式压力容器的安全联锁装置应齐备有效，当快开门达到预定关闭部位、方能升压运行，当内部压力完全释放、方能打开快开门。

**五、实验室高压气瓶使用安全**

1．使用气体前，应识别其特性和危险性，并固定。

2．不得使用大于40℃任何热源对气瓶加热。气瓶的温度不应超过45℃。

3．瓶嘴冻结只能用温水（40℃以下）缓开，气瓶嘴漏气或出现故障应采取安全措施并及时报告气瓶供应单位进行处理，严禁私自拆卸修理。

4．气瓶内气体严禁用尽，必须留有规定的压力，永久气体气瓶的剩余压力应不小于0.05MPa （0.5公斤），液化气体气瓶应留有不少于0.5～1.0%规定充装量的剩余气体。

5．气瓶必须专瓶专用，严禁私自改变气瓶内所充气体品种。

6．不得私自改装气瓶或私自配制混合气。

7．不应对气瓶内的气体重新加压，不应将气体从一个气瓶倒入到另一个气瓶中。

8．使用气瓶必须安装专用减压阀，以便气体在管道系统内传输的额定压力低于气瓶的额定压力。危险性气体由气瓶间至用气点采用管线长距离输送时，必须安装减压阀并实行双阀控制。停止用气时，必须关闭气瓶（源）总阀。

9．使用气体时，气瓶的输出阀和减压器的瓶阀手轮或扳手应安置在气瓶输出阀上，便于出现危险时快速关闭气阀。

10.使用气瓶时应缓慢打开气瓶阀门。阀门过快打开调压器受到压缩变热可能会导致爆炸。

11．使用气瓶部门应根据使用空间场所的情况，控制气体使用量，根据用气情况设置必要的气体报警装置和通风设施等，并定期对其安全状态及性能进行检查。

12.超过设计使用年限的气瓶不得擅自处理，应交由气瓶定期检验机构对报废气瓶进行破坏性处理。

**六、危险化学试剂使用安全**

1．使用化学危险品时，应根据使用情况领取最少数量。实验室领用的化学危险品必须指定专人保管，存放地点必须符合安全要求。并应配备适用的消防器材和防护用品。在可能发生化学灼伤的地方应设有常备水源和必要的中和剂。

2．使用（储存）化学品应有标识和安全标签，操作人员应掌握相应安全技术知识。对储存的化学危险品应定期检查。安全标签若脱落或损坏，经检查确认后应及时补贴，确保安全。性质相互抵触或灭火方法不同的药品，不可共同存放。对所保管的化学危险品，应定期核对帐物，必须做到帐物相符，禁止物品流失。

3．根据消防有关规定，实验室内做实验剩余的化学危险品总量不得超过当日用量的20%（同种试剂，最大量约10L）；暂贮药品总储量每室不得超过50Kg（易燃试剂不得超过20L）；在实验室内严禁超量存放易燃、易爆等化学危险品，更不能存放与实验无关的易燃、易爆的危险品。化学品需要转移或分装到其他容器应标明其内容。严禁实验室既是实验场所，又是危险品储藏室的现象。

4．实验室存放易燃、易爆气体钢瓶不准与明火同室，和电源插座、开关也必须要保持至少大于2米以上的距离，门口应有醒目禁火标志。使用有毒的气体钢瓶应备有专用防毒面具，放置明处，并制定防泄漏的应急措施。气体钢瓶停用时要关好气阀。

5．实验室应备有必要的防火灭火专用器材。除此以外，凡使用易燃、易爆物品的实验室还必须备有防火石棉布，放于明处。经常对有关人员进行工作安全使用化学品的教育和培训，掌握必要的应急处理方法和自救措施。

6．对剧毒、易制毒、易爆危险药品的管理与使用，必须严格执行国务院2011年第591号令《危险化学品安全管理条例》及《成都生物所危险化学品管理规定》等法规。

7．领用剧毒、易制毒、易爆危险药品必须是本所在册人员，必须经课题负责人签字，报部门与研究所综合办有关领导审核同意后，实行“五双”制度管理，如不按上述规定，危险品管理人员有权拒发。

8．领用易制毒、易爆危险药品必须双人使用，用多少，领多少，并做好应急预案和详细使用记录。一般情况下，实验室不得存放。

如有特殊情况要将该药品保存在实验室，必须具备安全储存条件，并实行双人、双锁暂时保管。实验结束后，若还有余量，必须进行无害化处理。

9．严格执行剧毒、易制毒、易爆危险药品的管理制度。严禁把剧毒、易制毒、易爆危险药品带出实验室。

**七、实验过程中加热、干燥、冷凝等的安全**

1．实验操作过程中，注意防范意外事故发生，尽量避免明火加热。如若必须使用酒精灯的情况，在酒精灯快烧尽、灯火还没熄灭时，严禁注入燃料；酒精灯熄灭时，要用灯帽罩，不要用口吹，防止发生意外；不用一个酒精灯来点燃另一个，以免酒精溢出，引起燃烧；点燃的火柴用完后立即熄灭，不得乱扔。加热或倾倒液体时，切勿俯视容器，以防液滴飞溅造成伤害。在器具中放加热药品时，必须放置平稳，瓶口或管口禁止对人。给试管加热时，切勿将管口对着自己或他人，以免药品喷出伤人。加热时要不停地摇晃，以防止因上下温度不均发生沸腾而引起的烫伤。

2．蒸馏时冷凝水应在开始蒸馏前就进入冷凝管，待水流稳定后方可加热。在整个蒸馏过程中，冷凝水应保持畅通，使蒸汽充分冷却。在蒸馏过程中严禁脱离岗位。取下正在沸腾的溶液时，应用瓶夹先轻摇动以后取下，以免溅出伤人。

3．对于易挥发及易燃性有机溶剂进行加热排除时，应在水浴锅、油浴锅或严密的电热器板上缓慢进行，严禁用火焰或电炉直接加热，严禁在无排风的烘箱中烘烤排除有机溶剂。

4．一切可燃和有腐蚀性气体放出的物质严禁放入烘箱内，不应将烘干的物质直接放在烘箱或滤纸上，应放在容器中，所烘的物品不应过挤，以免碰撞箱内温度调节设备，在箱内外温差较大时，不能突然打开箱门，否则，易使玻璃仪器破裂。

**八、实验操作的安全**

1．禁止用手直接接触化学药品和危险性物质，禁止用口或鼻嗅的方法鉴别物质。如工作需要，必须嗅闻时，可用手微微扇风，头部应在侧面，并保持一定距离。用移液管吸取有毒或腐蚀性液体时，管尖必须插入液面以下，防止夹带空气使液体冲出，用橡皮吸球吸取，禁止用嘴代替吸球。

2．使用玻璃仪器时，要按操作规程，轻拿轻放，以免破损，造成伤害；禁止使用玻璃仪器盛装对玻璃有腐蚀的试剂；禁止对非加热用的玻璃仪器进行加热；对于存在锋利断面的玻璃仪器，应采用烧圆或磨圆的方式进行处理后再使用；玻璃管与胶管、胶塞等拆装时，手上应垫棉布，用水润湿玻璃管后再行拆装，以免玻璃管折断扎伤。使用打孔器或用小刀割胶塞、胶管等材料时，要谨慎操作，以防割伤。

3．不得在电炉、高温炉、烘箱等易产生电火花的电器旁或通风不良处贮存、使用、操作有机溶剂及有毒、刺激性试剂。在移动、开启大瓶液体药品时，不能将瓶直接放在水泥地板上，应使用隔热护具轻拿轻放，最好用橡皮布或草垫垫好，严禁锤砸，敲打，以防破裂。

4．开启易挥发、有刺激性试剂的试剂瓶时，不得将瓶口对着自己或他人脸部，宜在通风橱中进行。夏季或室温较高时开启易挥发性试剂前先将试剂瓶在冷水里浸一段时间，应经冷却后方可开启。

5．蒸汽灭菌锅等带压容器应严格按操作规程操作，严禁带压开启，高压气体、钢瓶应稳固放置并加防护，严禁碰撞、敲击、泄漏。开启高压气瓶时，应缓慢，并不得将出口对人。

6．配制使用有毒、有刺激、易燃、易爆试剂及洗液等腐蚀性液体及有产生刺激性气味或有毒气体的实验，应在通风橱内进行，并戴好防护工具，防止药水溅出，灼伤或吸入。对反应中产生的有害气体应按规定处理，以免污染环境，影响健康。当室内发生易燃易爆气体大量泄漏的危险情况时，应立即停止动用明火，停止能产生火花的工作，立即关闭阀门，打开门窗，加快通风。

7．冰箱内不得存放无盖无标记的试药试剂，电热器具用后即关，严禁在冰箱或电热器具上贮存加工私人物品。

8．浓酸、浓碱具有强烈的腐蚀性，用时要特别小心切勿使其溅在衣服或皮肤上。稀释浓酸（特别是浓硫酸），必须在硬质耐热烧杯或锥形瓶中进行，只能将浓硫酸慢慢注入水中，边倒边搅拌，温度过高时，应冷却或降温后再继续进行，严禁将水倒入硫酸中。废酸应倒入酸缸，但不要往酸缸里倾倒碱液，以免酸碱中和放出大量的热而发生危险。

9．不要任意混合各种化学药品，混合各种化学药品前尽可能考虑到可能的各种反应，以免发生意外事故。

10．领出库房的试剂由领用人对其安全负责。使用药品试剂时，应仔细核对品名、规格、以免发生差错，取用完毕应立即盖紧塞子或按原样封口，放置原处保存。易挥发、盛放有毒、有害气体的瓶口应密封。所有药品、样品必须贴有醒目的标签，注明名称浓度、配制时间以及有效日期等，标签字迹要清楚。绝对不要在容器内装入与标签不相符的物品。

11．使用氢气时，要严禁烟火，点燃氢气前必须检查氢气的纯度。使用易燃、易爆试剂一定要远离火源。

12．使用气瓶应严格执行气瓶安全操作规程。

13．观察反应现象，留意仪器设备有无漏气、碎裂、飞温、压力急剧升高，判断反应是否正常进行。

14．实验过程中，试剂瓶、盛装试剂的容器使用后必须及时加盖密封；实验过程产生的废弃物应严格按照相关规定进行分类、收集、标记和转运。

15．仪器，仪表和装置应定置摆放，妥善管理，做好防尘、防震、防高温，坚持用前检查，用后整理。对各类校验设备应定期进行检查和维护保养，并对运行状态正确标识。校验设备合格证标签，不得外借使用。

**九、实验结束**

1．实验剩余的药品既不能放回原瓶，也不能随意丢弃，要放回指定的容器内。实验中产生的废液不得倾倒入下水道中，应分类倾入指定废液桶。

2．实验室所有药品、试剂、用具、器皿等定位放置，使用后必须放回原处或回库保存。

3．应整理好桌面，溶液、试剂和仪器应放回规定地点。装过强腐蚀性、可燃性、有毒或易爆物品的器皿，应由操作者亲手洗净。关好水、电、气及门窗，确认安全后，把手洗净后再离开实验室。

**十、消防安全与应急处置**

**（一）消防安全**

1．工作人员应懂得火灾的危险性、预防措施、扑救方法和逃生方法；会报警、会使用灭火器材、会灭初期火、会逃生。

最常用干粉灭火器的使用方法：拔掉保险销，喷嘴对准火焰根部，握紧把手进行扫射；逃生过程中不得乘坐电梯，由疏散楼梯逃生等。

2．工作人员应熟悉消防设施放置位置，严禁挪用、损坏、阻挡消防设施，保证其安全使用。

3.走廊、楼梯、安全出口等禁止堆积和摆放妨碍消防通道的杂物和设备。

4．实验室、办公室和库房等部位不得堆放空纸箱等易燃物。

5.实验室要明确房间安全责任人。

6．使用明火的部位要清理周边可燃、易燃物品及承压设备。

7.高温及易起静电的仪器设备周边不得放置易燃物品。

8．正确识别消防安全标志，如安全出口、疏散指示等。

9．实验结束后立即关闭气源和电器开关，熄灭火源，清除可燃易燃物质。

10.实验室布局要充分考虑空间和正常通道，便于检修和疏散。

11.实验室应在醒目位置张贴各项实验安全操作规程。

**（二）应急处置**

１．实验室内配备灭火器，工作人员及学生须熟练掌握使用时机及方法。

２．电线及电器设备起火时，必须先切断电源，再用干粉灭火机灭火，并及时通知所安全管理部门。绝不能用水或泡沫灭火机来扑灭燃烧的电线与电器，以免因水或灭火机喷出的药液导电而造成灭火人员的触电事故。

３．化学试剂着火，除一般非危险品可用通常的灭火方法外，属于危险品的火灾，应根据它们的理化特性，采取不同的灭火方法，否则起不到灭火的作用，反而会造成更大的火灾或人身事故。

４．如在实验过程中，实验人员的衣装着火时，应立即用浸水的物品蒙在着火者身上，使之不能与空气或其它氧化剂接触而窒息灭火。切不可慌忙跑动，避免气流流动，使火情增大，造成更大伤害。

５．在实验过程中，小范围起火时，立即用湿抹布（或灭火毯）扑灭明火，并及时切断电源，关闭可燃性气体阀门。对范围较大的火情立即用消防砂或干粉灭火器扑救，并及时通报所安全管理部门。

6．对烧伤者，在隔断热源后，应尽量使其呼吸畅通，然后小心除去伤者创面及周围的衣物、皮带、饰品、鞋等。对粘在创面的衣物等，应先用冷水降温后，再慢慢地除去，处理后立即就医。

7．当遇到严重烫伤或烧伤病人时，应用敷料（如清洁的布料等）遮盖伤处，立即送往医院救治。

# 一、典型化学实验安全管理与操作规程

## **氧化实验安全操作规程**

氧化，一般指物质在氧化剂的作用下，由低化学价态转化为高化学价态的过程。如氨氧化制硝酸、甲苯氧化制苯甲酸、乙烯氧化制环氧乙烷等。

**【危险性及防护】**

一、氧化反应需要加热，但反应过程又是放热反应，特别是催化气相反应，一般都是在250～600℃的高温下进行，这些反应热如不及时移去，将会使温度迅速升高甚至发生爆炸。

二、有的氧化，如氨、乙烯和甲醇蒸气在空中的氧化，其物料配比接近于爆炸下限，倘若配比失调，温度控制不当，极易爆炸起火。

三、被氧化的物质大部分是易燃易爆物质。如乙烯氧化制取环氧乙烷中，乙烯是易燃气体，爆炸极限为2．7％～34％，自燃点为450℃；甲苯氧化制取苯甲酸中，甲苯是易燃液体，其蒸气易与空气形成爆炸性混合物，爆炸极限为1．2％～7％；甲醇氧化制取甲醛中，甲醇是易燃液体，其蒸气与空气的爆炸极限是6％～36.5％。

四、氧化剂具有很大的火灾危险性。如氯酸钾，高锰酸钾、铬酸酐等都属于氧化剂，如遇高温或受撞击、摩擦以及与有机物、酸类接触，皆能引起着火爆炸；有机过氧化物不仅具有很强的氧化性，而且大部分是易燃物质，有的对温度特别敏感，遇高温则爆炸。

五、氧化过程中还可能生成危险性较大的过氧化物，如乙醛氧化生产醋酸的过程中有过醋酸生成，过醋酸是有机过氧化物，性质极度不稳定，受高温、摩擦或撞击便会分解或燃烧。

六、氧化过程中如以空气或氧气作氧化剂时，反应物料的配比(可燃气体和空气的混合比例)应严格控制在爆炸范围之外。空气进入反应器之前，应经过气体净化装置，消除空气中的灰尘、水汽、油污以及可使催化剂活性降低或中毒的杂质，以保持催化剂的活性，减少着火和爆炸的危险。

七、氧化反应接触器有卧式和立式两种，内部填装有催化剂。一般多采用立式，因为这种形式催化剂装卸方便，而且安全。在催化氧化过程中，对于放热反应，应控制适宜的温度、流量，防止超温、超压和混合气处于爆炸范围之内。

八、为了防止接触器发生爆炸或着火时危及人身和设备安全，在反应器前和管道上应安装阻火器，以阻止火焰蔓延，防止回火，使着火不致影响其他系统。为了防止接触器发生爆炸，接触器应有泄压装置，并尽可能采用自动控制或调节以及报警联锁装置。

九、使用硝酸、高锰酸钾等氧化剂时，要严格控制加料速度，防止多加、错加，固体氧化剂应粉碎后使用，最好呈溶液状态使用，反应中要不间断搅拌，严格控制反应温度，决不许超过被氧化物质的自燃点。

十、使用氧化剂氧化无机物时，如使用氯酸钾氧化生成铁蓝颜料，应控制产品烘干温度不超过其着火点，在烘干之前应用清水洗涤产品，将氧化剂彻底除净，以防止未完全反应的氯酸钾引起已烘干的物料起火。有些有机化合物的氧化，特别是在高温下的氧化，在设备及管道内可能产生焦状物，应及时清除，以防自燃。

十一、氧化反应使用的原料及产品，应按有关危化品的管理规定，采取相应的防火措施，如隔离存放、远离火源、避免高温和日晒、防止摩擦和撞击等。如是电介质的易燃液体或气体，应安装除静电的装置。

十二、在设备中宜设置氮气、水蒸气灭火装置，以便能及时扑灭火灾。

## **还原实验安全操作规程**

还原，一般指物质在还原剂的作用下，由高化学价态转化为低化学价态的过程。如硝基苯在盐酸溶液中被铁粉还原成苯胺、邻硝基苯甲醚在碱性溶液中被锌粉还原成邻氨基苯甲醚、使用保险粉、硼氢化钾、氢化锂铝等还原剂进行还原等。

**【危险性及防护】**

一、无论是利用初生态还原，还是用催化剂把氢气活化后还原，都有氢气存在(氢气的爆炸极限为4％—75％)，特别是催化加氢还原，大都在加热、加压条件下进行，如果操作失误或因设备缺陷有氢气泄漏，极易与空气形成爆炸性混合物，如遇着火源即会爆炸。所以，在操作过程中要严格控制温度、压力和流量；实验室内的电气设备必须符合防爆要求。电线及电线接线盒不宜在实验室顶部敷设安装；实验室通风要好，应采用轻质屋顶、设置天窗或风帽，以使氢气及时逸出；反应中产生的氢气可用排气管导出实验室，并高于屋脊2m以上，经过阻火器向外排放；加压反应的设备应配备安全阀，反应中产生压力的设备要装设爆破片；安装氢气检测和报警装置。

二、还原反应中所使用的催化剂雷氏镍吸潮后在空气中有自燃危险，即使没有着火源存在，也能使氢气和空气的混合物引燃形成着火爆炸。因此，当用它们来活化氢气进行还原反应时，必须先用氮气置换反应器内的全部空气，并经过测定证实含氧量降到标准后，才可通人氢气；反应结束后应先用氮气把反应器内的氢气置换干净，才可打开孔盖出料，以免外界空气与反应器内的氢气相遇，在雷氏镍自燃的情况下发生着火爆炸，雷氏镍应当储存于酒精中，钯碳回收时应用酒精及清水充分洗涤，过滤抽真空时不得抽得太干，以免氧化着火。

三、固体还原剂保险粉、硼氢化钾、氢化铝锂等都是遇湿易燃危化品，其中保险粉遇水发热，在潮湿空气中能分解析出硫，硫蒸气受热具有自燃的危险，且保险粉本身受热到190℃也有分解爆炸的危险；硼氢化钾(钠)在潮湿空气中能自燃，遇水或酸即分解放出大量氢气，同时产生高热，可使氢气着火而引起爆炸事故；氢化锂铝是遇湿危险的还原剂，务必要妥善保管，防止受潮。保险粉用于溶解使用时，要严格控制温度，可以在开动搅拌的情况下，将保险粉分批加入水中，待溶解后再与有机物接触反应；当使用硼氢化钠(钾)作还原剂时，在工艺过程中调解酸、碱度时要特别注意，防止加酸过快、过多。前面所述的还原剂，遇氧化剂会猛烈发生反应，产生大量热量，具有着火爆炸的危险，故不得与氧化剂混存。

四、还原反应的中间体，特别是硝基化合物还原反应的中间体，亦有一定的火灾危险，例如，在邻硝基苯甲醚还原为邻氨基苯甲醚的过程中，产生氧化偶氮苯甲醚，该中间体受热到150℃能自燃。苯胺在生产中如果反应条件控制不好，可生成爆炸危险性很大的环己胺。所以在反应操作中一定要严格控制各种反应参数和反应条件。

五、采用新技术,使用危险性小、还原效率高的新型还原剂代替火灾危险性大的还原剂。例如采用硫化钠代替铁粉还原，可以避免氢气产生，同时还可消除铁泥堆积的问题。

## **硝化实验安全操作规程**

硝化通常是指在有机化合物分子中引入硝基(—NO2)，取代氢原子而生成硝基化合物的反应。如甲苯硝化生产梯恩梯(TNT)、苯硝化制取硝基苯、甘油硝化制取硝化甘油等。

**【危险性及防护】**

一、硝化是一个放热反应，引入一个硝基要放热152．2～153 kJ／mol，所以硝化需要降温条件下进行。在硝化反应中，倘若稍有疏忽，如中途搅拌停止、冷却水供应不良、加料速度过快等，都会使温度猛增、混酸氧化能力加强，并有多硝基物生成，容易引起着火和爆炸事故。

二、硝化剂具有氧化性，常用硝化剂浓硝酸、硝酸、浓硫酸、发烟硫酸、混合酸等都具有较强的氧化性、吸水性和腐蚀性。它们与油脂、有机物，特别是不饱和的有机化合物接触即能引起燃烧；在制备硝化剂时，若温度过高或落入少量水，会促使硝酸的大量分解和蒸发，不仅会导致设备的强烈腐蚀，还可造成爆炸事故。

三、被硝化的物质大多易燃，如苯、甲苯、甘油(丙三醇)、脱酯棉等，不仅易燃，有的还兼有毒性，如使用或储存管理不当，很易造成火灾。

四、硝化产品大都有着火爆炸的危险性，特别是多硝基化合物和硝酸酯，受热、摩擦、撞击或接触着火源，极易发生爆炸或着火。

## **催化实验安全操作规程**

催化反应是在催化剂的作用下所进行的化学反应。例如氮和氢合成氨，由二氧化硫和氧合成三氧化硫，由乙烷和氧合成环氧乙烷等都是属于催化反应。

**【危险性及防护】**

一、反应操作 在催化过程中若催化剂选择的不正确或加入不适量，易形成局部反应激烈；另外，由于催化大多需在一定温度下进行，若散热不良、温度控制不好等，很容易发生超温爆炸或着火事故。

二、催化产物 在催化过程中有的产生氯化氢，氯化氢有腐蚀和中毒危险；有的产生硫化氢，则中毒危险更大，且硫化氢在空气中的爆炸极限较宽(4．3％～45．5％)，生产过程中还有爆炸危险；有的催化过程产生氢气，着火爆炸的危险更大，尤其在高压下，氢的腐蚀作用可使金属高压容器脆化，从而造成破坏性事故。

三、原料气 原料气中某种能与催化剂发生反应的杂质含量增加，可能成为爆炸危险物，这是非常危险的。例如，在乙烯催化氧化合成乙醛的反应中，由于催化剂体系中常含有大量的亚铜盐，若原料气中含乙炔过高，则乙炔就会与亚铜盐反应生成乙炔铜。乙炔铜为红色沉淀，是一种极敏感的爆炸物，自燃点在260～270℃之间，干燥状态下极易爆炸，在空气作用下易氧化成暗黑色，并易于起火。

## **裂化实验安全操作规程**

裂化有时又称裂解，是指有机化合物在高温下分子发生分解的反应过程。裂化可分为热裂化、催化裂化、加氢裂化三种类型。

**【危险性及防护】**

一、热裂化

热裂化在高温高压下进行，装置内的油品温度一般超过其自燃点，若漏出油品会立即起火；热裂化过程中产生大量的裂化气，且有大量气体分馏设备，若漏出气体，会形成爆炸性气体混合物，遇加热炉等明火，有发生爆炸的危险。在炼油厂各装置中，热裂化装置发生的火灾次数是较多的。

二、催化裂化

催化裂化一般在较高温度(460～520℃)和0．1～0．2MPa压力下进行，火灾危险性较大。若操作不当，再生器内的空气和火焰进入反应器中会引起恶性爆炸。U形管上的小设备和小阀门较多，易漏油着火。在催化裂化过程中还会产生易燃的裂化气，以及在烧焦活化催化剂不正常时，还可能出现可燃的一氧化碳气体。

三、加氢裂化

由于加氢裂化使用大量氢气，而且反应温度和压力都较高，在高压下钢与氢气接触，钢材内的碳分子易被氢气所夺取，使碳钢硬度增大而降低强度，产生氢脆，如设备或管道检查或更换不及时，就会在高压(10～15MPa)下发生设备爆炸。另外，加氢是强烈的放热反应，反应器必须通冷氢以控制温度。因此，要加强对设备的检查，定期更换管道、设备，防止氢脆造成事故；加热炉要平稳操作，防止设备局部过热，防止加热炉的炉管烧穿或者高温管线、反应器漏气而引起着火。

## **氯化实验安全操作规程**

以氯原子取代有机化合物中氢原子的过程称为氯化。如由甲烷制甲烷氯化物、苯氯化制氯苯等。常用的氯化剂有：液态或气态氯、气态氯化氢和各种浓度的盐酸、磷酸氯(三氯氧化磷)、三氯化磷(用来制造有机酸的酰氯)、硫酰氯(二氯硫酰)、次氯酸酯等。

**【危险性及防护】**

一、氯化反应的火灾危险性主要决定于被氯化物质的性质及反应过程的条件。反应过程中所用的原料大多是有机易燃物和强氧化剂，如甲烷、乙烷、苯、酒精、天然气、甲苯、液氯等。实验过程中，同样具有爆炸危险，应严格控制各种着火源，电气设备应符合防火防爆要求。

二、氯化反应中最常用的氯化剂是液态或气态的氯。氯气本身毒性较大，氧化性极强，储存压力较高，一旦泄漏是很危险的。所以贮罐中的液氯在进入氯化器使用之前，必须先进人蒸发器使其气化。在一般情况下不准把储存氯气的气瓶或槽车当贮罐使用，因为这样有可能使被氯化的有机物质倒流进气瓶或槽车引起爆炸。对于一般氯化器应装设氯气缓冲罐，防止氯气断流或压力减小时形成倒流。

三、氯化反应是一个放热过程，尤其在较高温度下进行氯化，反应更为剧烈。例如在环氧氯丙烷生产中，丙烯需预热至3000℃左右进行氯化，反应温度可升至500℃，在这样高的温度下，如果物料泄漏就会造成着火或引起爆炸。因此，一般氯化反应设备必须有良好的冷却系统，并严格控制氯气的流量，以免因流量过快，温度剧升而引起事故。

四、氯化反应易生成氯化氢气体，相关设施、设备必须防腐蚀、且保持密封。利用氯化氢气体易溶于水的特性，按要求，须增设吸收和冷却装置，除去尾气中氯化氢。

五、Cl2有刺激性气体，强烈毒性，腐蚀性，助燃。钢瓶阀门经常检查，防止腐蚀损坏，与乙醚，H2、乙炔等混合形成爆炸性物质。Cl2钢瓶不得放在楼梯和通风吸气口等场所。发生泄漏时应佩隔离式呼吸器进入，关闭阀门或堵塞漏洞，不得将水直接喷在泄漏的钢瓶上。

## **重氮化实验安全操作规程**

重氮化是使芳伯胺变为重氮盐的反应。通常是把含芳胺的有机化合物在酸性介质中与亚硝酸钠作用，使其中的胺基(－NH2)转变为重氮基(－N＝N－)的化学反应。如二硝基重氮酚的制取等。

**【危险性及防护】**

一、重氮化反应的主要火灾危险性在于所产生的重氮盐，如重氮盐酸盐(C6H5N2Cl)、重氮硫酸盐(C6H5N2H504)，特别是含有硝基的重氮盐，如重氮二硝基苯酚[(NO2)2N2C6H2OH]等，它们在温度稍高或光的作用下，即易分解，有的甚至在室温时亦能分解。一般每升高10℃，分解速度加快两倍。在干燥状态下，有些重氮盐不稳定，活力大，受热或摩擦、撞击能分解爆炸。含重氮盐的溶液若洒落在地上、蒸汽管道上，干燥后亦能引起着火或爆炸。在酸性介质中，有些金属如铁、铜、锌等能促使重氮化合物激烈地分解，甚至引起爆炸。

二、作为重氮剂的芳胺化合物都是可燃有机物质，在一定条件下也有着火和爆炸的危险。

三、重氮化生产过程所使用的亚硝酸钠是无机氧化剂，于175℃时分解能与有机物反应发生着火或爆炸。亚硝酸钠并非氧化剂，所以当遇到比其氧化性强的氧化剂时，又具有还原性，故遇到氯酸钾、高锰酸钾、硝酸铵等强氧化剂时，有发生着火或爆炸的可能。

四、在重氮化的生产过程中，若反应温度过高、亚硝酸钠的投料过快或过量，均会增加亚硝酸的浓度，加速物料的分解，产生大量的氧化氮气体，有引起着火爆炸的危险。

## **烷基化实验安全操作规程**

烷基化(亦称烃化)，是在有机化合物中的氮、氧、碳等原子上引入烷基R—的化学反应。引入的烷基有甲基(－CH3)、乙基(－C2H5)、丙基(－C3H7)、丁基(－C4H9)等。烷基化常用烯烃、卤化烃、醇等能在有机化合物分子中的碳、氧、氮等原子上引入烷基的物质作烷基化剂。

**【危险性及防护】**

一、被烷基化的物质大都具有着火爆炸危险。如苯是甲类液体，闪点－11℃，爆炸极限1．5％～9．5％；苯胺是丙类液体，闪点71℃，爆炸极限1．3％～4．2％。

二、烷基化剂一般比被烷基化物质的火灾危险性要大。如丙烯是易燃气体，爆炸极限2％～11％；甲醇是甲类液体，闪点7℃，爆炸极限6％～36．5％；十二烯是乙类液体，闪点35℃，自燃点220℃。

三、烷基化过程所用的催化剂反应活性强。如三氯化铝是忌湿物品，有强烈的腐蚀性，遇水或水蒸汽分解放热，放出氯化氢气体，有时能引起爆炸，若接触可燃物，则易着火；三氯化磷是腐蚀性忌湿液体，遇水或乙醇剧烈分解，放出大量的热和氯化氢气体，有极强的腐蚀性和刺激性，有毒，遇水及酸(主要是硝酸、醋酸)发热、冒烟，有发生起火爆炸的危险。

四、烷基化反应都是在加热条件下进行，如果原料、催化剂、烷基化剂等加料次序颠倒、速度过快或者搅拌中断停止，就会发生剧烈反应，引起跑料，造成着火或爆炸事故。

五、烷基化的产品亦有一定的火灾危险。如异丙苯是乙类液体，闪点35．5℃，自燃点434℃，爆炸极限0．68％～4．2％；二甲基苯胺是丙类液体，闪点61℃，自燃点371℃；烷基苯是丙类液体，闪点127℃。

## **磺化实验安全操作规程**

磺化是在有机化合物分子中引入磺(酸)基(－SO3H)的反应。常用的磺化剂有发烟硫酸、亚硫酸钠、亚硫酸钾、三氧化硫等。如用硝基苯与发烟硫酸生产间氨基苯磺酸钠，卤代烷与亚硫酸钠在高温加压条件下生成磺酸盐等均属磺化反应。

**【危险性及防护】**

一、三氧化硫是氧化剂，遇比硝基苯易燃的物质时会很快引起着火；另外，三氧化硫的腐蚀性很弱，但遇水则生成硫酸，同时会放出大量的热，使反应温度升高，不仅会造成沸溢或使磺化反应导致燃烧反应而起火或爆炸，还会因硫酸具有很强的腐蚀性，增加了对设备的腐蚀破坏。

二、由于生产所用原料苯、硝基苯、氯苯等都是可燃物，而磺化剂浓硫酸、发烟硫酸(三氧化硫)、氯磺酸都是氧化性物质，且有的是强氧化剂，所以二者相互作用的条件下进行磺化反应是十分危险的，因为已经具备了可燃物与氧化剂作用发生放热反应的燃烧条件。这种磺化反应若投料顺序颠倒、投料速度过快、搅拌不良、冷却效果不佳等，都有可能造成反应温度升高，使磺化反应变为燃烧反应，引起着火或爆炸事故。

三、磺化反应是放热反应，若在反应过程中得不到有效地冷却和良好的搅拌，都有可能引起反应温度超高，以至发生事故。

## **氢化实验安全操作规程**

氢化是有机化合物与氢分子的反应，常用实验中，氢化一般有如下两种类型：不饱和键的氢化、脱去某些保护基团（又称氢解）。在氢化反应中，高压可以增加氢在溶剂中的溶解度从而提高反应速度。氢压对反应速度的影响可以是线性的，也可以是二次方的，甚至更强烈的影响。催化剂在氢化反应中起着重要的作用，大部分氢化都是在催化剂的催化下才得以完成的。催化剂有过渡金属、过渡金属盐类、过渡金属和配体生成的络合物等

**【危险性及防护】**

除上文提到的氢脆现象外，氢化过程还具有如下危险性：

一、强放热反应，反应器必须采取足够的降温措施，以控制温度。

二、反应物氢气爆炸极限极宽，应当积极预防泄露，以防发生爆炸。

三、反应中所使用的催化剂如雷氏镍等吸潮后在空气中有自燃危险，即使没有着火源存在，也能使氢气和空气的混合物引燃形成着火爆炸。

四、H2无色无味。极易燃易爆，爆极限4~75%，比空气轻，泄漏后聚集在屋顶不易排出，与卤素剧烈反应。一般不宜储存在普通实验室中，因需要必须在普通实验室使用时，宜安排在顶层，需保持良好通风，控制室内气瓶数量，氢气瓶与明火和电器保持10m以上距离，可燃气瓶间距20m以上，发生泄漏时，切断火源切断气源，迅速撤离，应急人员佩呼吸器进入。

# 二、微生物实验安全管理与操作规程

## **微生物实验安全管理规程**

微生物实验，指通过菌种分离、接种、培育、小试、中试等手段，筛选出对人类有益的微生物的过程。

**【危险性及防护】**

一、严禁在本实验室开展生物危害等级二级以上的微生物实验。

二、分离及接种实验中，微生物样品需用容器盛放，尽量不直接暴露接触环境；接种后接种针、移液枪头等器具材料需灼烧或高压蒸汽灭菌后清洗或按规定丢弃处理。

三、微生物培养过程尽量避免暴露污染，过程中产生的废气废水废渣按有关规定无害化处理后，按规定处置；摇瓶培养瓶注意保持间距，避免振摇过程中碰撞破碎污染。

四、超净工作室（台）内不得放置与无菌实验无关物品，实验开展前进行灭菌消杀，关闭紫外灯后方可进行实验操作。

五、实验常用化玻耗材按需进行高压蒸汽灭菌，使用后按需清洗或按规定妥善处置。

六、有毒害气体产生时，须在通风柜内操作，并尽可能密闭化。

七、发酵罐使用前，仔细检查所有组件的线路完好性，管路及罐体气密性，发现老化部件及时更换维修；蒸汽灭菌及火环、火球操作需由两个以上专业人员同时参与，严禁单人操作；对于高产泡发酵及大通气发酵，排气管路需配置缓冲瓶，防止喷罐造成环境污染；废弃发酵液需先经无害化处理，严禁直接向下水道等环境排放；发酵全过程原则上需安排值守人员，出现异常及时上报处置。

八、实验人员操作完成后，清理台面及器具，用75%乙醇喷施或擦拭台面，用肥皂或带杀菌功能洗手液仔细清洗暴露肌肤。

## **无菌实验安全操作规程**

培养环境中的所有物体表面（包括人体上接触的皮肤）、空气中，除了培养基上有要培养的微生物，没有杂菌存在的实验操作。

**【规程及防护】**

一、无菌操作间每天都要用0.2 %新洁尔灭拖洗地面一次（专用拖布），紫外线照射30 min以上。

二、超净工作台内不得放置与无菌实验无关物品，实验开展前用75%乙醇喷施或擦拭台面，打开紫外灯消杀20 min以上，微开阻隔门，开启通风5 min，关闭紫外灯后方可进行实验操作。

三、需要带入超净工作台的器械、工具和耗材等物品，均应包扎严密。

四、实验用酒精灯装液不得超过2/3，不得少于1/4，严禁带火加液；点燃酒精灯需用火柴或打火机，严禁使用另一酒精灯引燃；熄灭酒精灯应使用专用灯盖，严禁用嘴吹灭；酒精灯使用过程中周围严禁堆放纱布、纸张等易燃物，不得随意垫高、倾斜使用酒精灯；接种操作合理规范，灼烧操作谨慎避免烫伤。

五、分离及接种实验中，微生物样品需用容器盛放，尽量不直接暴露接触环境；接种后接种针、移液枪头等器具材料需灼烧或高压蒸汽灭菌后清洗或按规定丢弃处理。

六、如有菌液洒在台面上或地面上，应立即用75 %乙醇喷洒并用专用纸巾擦拭干净。

七、实验人员操作完成后，清理台面及器具，用75%乙醇喷施或擦拭台面，用肥皂或带杀菌功能洗手液仔细清洗暴露肌肤。

八、微生物培养过程尽量避免暴露污染，培养过程中产生的废气废水废渣严禁直接排入环境，需严格按有关规定无害化处理后，按规定处置。

九、摇瓶培养瓶注意保持间距，避免振摇过程中碰撞破碎污染。

十、无菌操作间应保持整洁，严禁堆放杂物，饮食和吸烟，以防污染。

## **离位加氢甲烷化沼气提纯实验安全操作规程**

是指在一定比例的甲烷、氢气和二氧化碳气体由反应器底部通入，经微生物作用后，从反应器顶部排除提纯后的沼气实验过程。

**【危险性及防护】**

一、甲烷、氢气和二氧化碳气体均储备于高压钢瓶，高压钢瓶须用链条固定以免倒地。

二、高压气瓶通过减压阀与反应器相连，实验过程需反复检查确保其不漏气，通气压力限制在0.5 MPa内。必须严格按照规定的操作压力、温度条件使用，不得在超温、超压和超负荷下运行。变动温度、压力控制指标，报请领导批准，方可变动。

三、高压气瓶与气体管路相连的接口处，安装报警装置，以实时监测气体泄漏。

四、实验反应尾气通过气袋收集，经完全燃烧去除甲烷和氢气后排放于大气中。

五、实验人员每天严格按照早、中、晚三次检查反应器运行状态，包括进出口气体管路是否发生堵塞，温度控制是否正常以及反应器内压力是否正常等。高压气瓶内部有压力时，不得对主要受压元件进行任何修理和紧固工作。

六、实验室安装排气扇，保证实验室良好通风。

## **硝化菌剂实验安全规程**

硝化菌剂主要用于氨氮废水生物处理同步制备消化菌剂的小试、中试研究。设备包括玻璃箱体（1.2米\*1.5米）、电控制柜、水泵、电动阀、风机等。

**【规程及防护】**

一、接通电源前应清理好工作现场，确保所有部件安装到位，仔细检查各种开关位置是否正确、灵活，安全装置是否齐全可靠。

二、设备风机为110V交流电单独供应，其余部件由控制柜220V交流电供应。设备旋钮开关默认向右为开，在自动运行时，将“手动-关-自动”旋钮旋至“自动”，此时指示灯为绿色。两个进料计量泵开关应处于“开”，指示灯为黄色。

三、设备运行参数已经设置调试好，只需每天检查设备各部件是否正常运行，如风机、水泵、液位器等。MBR膜抽滤极限压力为-0.08MPa，若超过此数值，应当对设备MBR膜进行维护。

四、启动设备前，确保原料充足，进水、排水通畅。当原料不足一天的消耗时，应及时补充，一般补充原料间隔为2至4天。

五、如设备故障时，判断故障原因，修理维护设备时，应首先切断电源。

六、实验后的剩余菌液等应及时进行灭菌处理，不随意丢弃，并采用消毒液等清洗有关容器。

## **湿法消解安全操作规程**

本实验从事土壤、植物的湿法消解，用于测定重金属和蛋白质含量，主要实验过程为：在消煮管中依次加入酸，在高温环境下破坏复杂的土壤、植物结构，最后制成澄清、透明、适于仪器检测的水溶液。

**【危险性及防护】**

一、消解所用的盐酸、硝酸、氢氟酸都是强酸，极具腐蚀性、刺激性，可致人体灼伤，挥发性酸形成的酸雾可能造成呼吸系统的伤害。因此，消解过程必须在通风效果良好的通风橱内进行，且保持通风橱门关闭。

二、操作者需要身着工作服，佩戴防护面罩，加酸液时戴上耐酸手套，取、放消煮管时还需要在耐酸手套外加棉质隔热手套。

三、土壤样品需要使用氢氟酸，必须使用聚四氟乙烯管及配套的逸气盖，严禁使用玻璃消煮管及漏斗。

四、加酸时保持移液器垂直，确保消煮管内液体温度低于50℃，严禁向正在加热的消煮管中加酸。加酸完毕后立即取掉移液器枪头，严禁枪头内含酸液时平放或悬挂移液器。

五、如加酸后反应剧烈，液体沸腾、溢出，则立即降温，待停止沸腾后再取出消煮管。

六、操作完成后按照规定倾倒废液及腐蚀性溶液，严禁随意抛弃，防止发生意外。

# 三、分子生物学实验安全管理与操作规程

## **酶切和连接反应体系配制实验安全操作规程**

酶切和连接反应体系是利用限制性核酸内切酶切割DNA和利用DNA连接酶连接DNA的DNA重组过程，成功的酶切和有效的连接为后续的外源基因进入宿主细胞进行表达提供了有效的实验材料。

**【规程及防护】**

一、新购工具酶及其buffer，4000rpm离心5min后，垂直放置在离心管架中，置于-20℃冰箱中保存。

二、配制反应体系时，反应buffer需完全溶解后吸取。

三、如果酶液沾在壁上或管盖上，需先离心后置于冰上，取样时开盖。

四、加样次序：无菌水-buffer-样品-酶；酶管垂直放于冰上吸取，取酶用小量程移液枪（≤10μL）配10μL枪头，沿管壁接触液面取样，酶液多时尽量不伸入底部，避免枪头外壁沾上酶液。

## **PCR反应实验安全操作规程**

PCR(聚合酶链式反应) 聚合酶链式反应是一种用于放大扩增特定的DNA片段的分子生物学技术，它可看作是生物体外的特殊DNA复制。PCR利用DNA双链分子在体外94-98°高温时变性会变成单链，低温(经常是60°C左右)时引物与单链按碱基互补配对的原则结合，再调温度至DNA聚合酶最适反应温度(72°C左右)，DNA聚合酶沿着磷酸到五碳糖(5'-3')的方向合成互补链。基于聚合酶制造的PCR仪实际就是一个温控设备，能在变性温度，复性温度，延伸温度之间很好地进行控制。

**【规程和防护】**

一、Taq酶保存在甘油溶液中，粘度高。

二、新购买的Taq酶及其buffer，4000rpm离心5min后，垂直放置在离心管盒（架）中，置于-20℃冰箱中保存。

三、PCR反应体系配制与PCR反应必须在不同房间进行，避免气溶胶污染而出现假阳性。并且反应体系配制所用移液枪，必须与PCR反应完成后电泳加样枪分开。

四、配制反应体系时，buffer需完全溶解后吸取。

五、如果酶液沾在壁上或管盖上，需先离心后至于冰上，取样时开盖。酶管垂直放于冰上吸取，取酶用小量程移液枪（≤10μL）配10μL枪头，沿管壁接触液面取样，酶液多时尽量不伸入底部，避免枪头外壁沾上酶液。

六、一批样品扩增加样次序，无菌水-buffer-dNTP-酶，移液枪轻轻吹打混合均匀，分装，分别加不同引物和DNA模板。

七、吸取不同试剂时，需更换枪头。

八、 PCR反应在PCR仪上进行，完成后电泳检测。

## **核酸电泳实验安全操作规程**

带电荷的物质在电场中的趋向运动称为电泳。核酸电泳是进行核酸研究的重要手段，是核酸探针、核酸扩增和序列分析等技术所不可或缺的组成部分。核酸电泳通常在琼脂糖凝胶或聚丙烯酰胺凝胶中进行，浓度不同的琼脂糖和聚丙烯酰胺可形成分子筛网孔大小不同的凝胶，可用于分离不同分子量的核酸片段。

**【规程和防护】**

一、电泳系统需与PCR反应体系配制分开，可与PCR仪放置在同一房间。

二、电泳槽定期清洗，电泳缓冲液定期更换。

三、DNA电泳槽与RNA电泳槽分开。RNA电泳需特殊处理，见分子生物学实验手册。

四、核酸检测染料，用Tanon™ 核酸染料（10000×水溶液）替换有毒的溴化乙锭（EB）。

五、聚丙烯酰胺凝胶制胶时加入核酸染料Tanon™，若是琼脂糖则在胶加热溶解后加入染料，每10mL琼脂糖胶溶液中加入1μL染料，按照常规方法进行电泳。电泳后沥干缓冲液，直接GDS凝胶成像系统观察拍照，或进行样品胶回收。

六、完成后须清洁凝胶成像系统。

## **植物无菌培养室管理安全规程**

对接种到培养瓶等器皿中的植物离体材料进行控制条件下的培养的场所。能够控制光照和温度，并保持相对的无菌环境。

**【规程和防护】**

一、植物组织培养室只允许植物无菌培养使用，其他开放培养材料一律不得入内。

二、使用期间自觉整理好培养材料。

三、保持培养室干净环境，保持地面干净。

四、每次转接过程中，新转接的培养瓶放回培养架时，需用75%酒精拭擦培养架台面后，放置培养瓶。

五、培养架上不允许放任何污染物。一旦出现污染，要及时取出，不要在培养室内打开污染器皿。

六、每天检查培养室空调运行情况和室内温度。

七、非本实验室人员请尽量减少培养室使用空间。如需较大空间请及早告知商讨。

八、定期臭氧发生器进行房间灭菌。

# 四、两栖爬行类野生动物安全管理与操作规程

## **野生动物实验安全管理规程**

**一、 动物安全**

1．新进野生动物应做好消毒后放置观察区饲养观测，持续两周无异常后方可放入饲养区。

2．活食种源要从有资质的机构引进，保证种源健康；活食养殖区和野生动物饲养区分开，

3．确保动物养殖密度适当，增加场地空气流通；增加防护隔离，避免野生动物之间的交叉接触。

4．加强卫生消毒工作，每周消毒2-3次；对饲养所使用的工具也要定期开展清洗消毒，建立消毒台账，做好消毒记录。

5．做好动物排泄物、垫材、饲料类残渣、活食养殖培养基废料的消毒与集中处理。

6．发现死亡个体，要及时进行无害化处置（野生动物立即制作成标本，小白鼠尸体密封冻存后交由具有资质机构统一处理，其它活食消毒后丢弃）；发现大量非正常死亡情况，要及时报告。

7．严禁任何形式的动物交易活动，如科研需要交换或赠与动物，需报领域主任批准，并做好运输过程的隔离防护。

8．进出饲养房均需检查门锁是否按要求锁闭，进出随手关门，检查饲养箱（缸）有无破损、漏水，箱盖是否紧闭。

**二、人身安全**

1．应常备所需的基本急救物品，如棉花、纱布、胶布、医用酒精、碘伏，可根据实际情况随带血清等。

2．饲养人员要强化自身防护，避免近距离接触野生动物，直接接触动物务必戴上口罩和手套；对于有攻击性的动物，如毒蛇、成体大鲵等，必须使用专用工具捕捉，并在饲养箱（池）醒目处张贴“内有毒蛇，危险！”，“内有成体大鲵，危险！”等字样的字条，并保持字迹清晰完整。

3．检查过滤器等水中电器时务必停电操作，避免触电。

4．动物咬伤应向主管或直属上级报告。如伤口不大，可直接进行适当处理，如感身体不适，应在接受适当治疗与防治后即刻送往医院进行诊治；如有较大伤口或任何毒蛇咬伤，保持镇定，用清水冲洗伤口，避免剧烈运动并及时就医。

5．落实门禁制度，实行封闭管理，不得随意进出，做好出入人员登记。

6．谢绝访客或参观活动。

## **两栖类野生动物实验安全操作规程**

**一、蝌蚪饲养**

1．饲养温度：26-28℃（水温）(加热棒或空调控温或人工气候室)；

2．饲养环境：蝌蚪饲养于大饲养盒（420×300×230mm）的曝气水，同时充氧，密度约80只/15L水，降低密度有利于蝌蚪生长。

3．饲喂：

1. 蝌蚪前期不需喂食，蝌蚪出膜平游后，喂煮熟的鸡蛋黄（蛋黄用密网过滤后，取上部悬浊液，不要吸到下面的沉淀），大约喂2-3天；
2. 用螺旋藻藻粉加入烧杯中，加水搅拌均匀后倒入蝌蚪饲养盒中，以水变的微绿为宜，每天注意观察水的颜色，如果变得较清澈，再按上述方法加入藻粉；
3. 同时辅以进口饲料（用机器碾磨成粉末状，取适量倒入碾钵，再加水将其碾磨搅拌均匀，沉淀后，取上部悬浊液，不要吸到下面的沉淀）和丰年虾。每个盒子2-3滴管，实际根据盒内蝌蚪数调整。

**每日饲养流程：**每天早上统计死亡蝌蚪数，并捞出；将比较脏的蝌蚪饲养盒换水，一般换1/3-1/2（每周换一次水）。如果遇到某一盒蝌蚪死亡数目较多，在对应饲养盒中加入7ppm的CuSO4，0.5-1小时后，将蝌蚪全部捞出，换水。然后按照上述要求投喂蝌蚪。

**注意事项：**

1. 蝌蚪在变态发育开始时S28-31较容易死亡，注意观察（适当减少饲养密度并增加换水频率）；
2. 如果蝌蚪出现大批浮头的现象，说明蝌蚪可能缺氧需要换水；
3. 如饲养盒沉淀较多过脏，应舀出1/3的上层清水，并将蝌蚪捞出，清洗干净，必要时用二氧化氯浸泡，消毒；
4. 蝌蚪编号在产卵日期及组号后面加上F1与亲本区分开。
   1. **成蛙及幼蛙饲养**

1．所有野外的蛙进动物房之前先用0.5mg/L的二氧化氯处理30min；

2．饲养温度：24-28℃（气温）；

3．饲养环境：饰纹姬蛙饲养于透气的透明盒中（透明盒中布置中密度海绵，石子，加少量水）(33\*22\*15cm)；

4．饲喂：

幼蛙喂跳虫，一只幼蛙10-15跳虫，将跳虫倒入培养皿中，将培养皿倾斜放置，以方便跳虫爬出，利于幼蛙捕食；

5．成蛙喂果蝇，一只成蛙每次饲喂约5-10只果蝇，观察进食情况。

**注意事项：**

小蛙很小且颜色与土颜色接近，经常栖息于泥土内。在喂食换土的时候注意不要把小蛙倒了。

**三、饰纹姬蛙的繁殖**

1．繁殖盒的布置：石头或海绵，曝气水（约1cm）；

2．饰纹姬蛙的选取：在实验前一天的晚上选择合适的亲本放在繁殖盒中为催产用。雌、雄蛙按照下述性别特征进行鉴别：个体较大、腹部大，下颌和肚皮颜色较为接近，肚子较软，可看到黑色成熟卵子的为雌蛙；个体较小、下颌颜色较黑且松弛，肚子较硬，且靠近泄殖孔偏红色，有两条白色细线的为性成熟的雄蛙；

3． 饰纹姬蛙的预处理：用酒精消过毒的1ml注射器吸取配好的促黄体激素释放激素类似物LHRH-A（Luteinizing Hormone Releasing Hormone A）溶液（浓度3μ/ml），按照0.3μ/g的剂量注射（从后端背部淋巴结或者腹腔皮下注射）。将催产后的亲本（雌蛙和雄蛙）放入准备好的饲养盒里过夜（尽量保证在28℃的饲养温度）。

**四、胚胎观察和培养**

将已产卵的蛙移除，将受精卵收集到装有曝气水（26-28℃）的培养皿中，并记录产卵产卵总数、受精数、出膜数等，待蝌蚪出膜后放入蝌蚪饲养盒饲养。

**五、幼蛙及成蛙饵料动物的饲养**

**1. 果蝇的饲养：**

（1）培养基配置：

|  |  |
| --- | --- |
|  | 玉米培养基 |
| 水 | 3800-4100ml |
| 葡萄糖 | 189g |
| 蔗糖 | 98g |
| 琼脂 | 34g |
| 玉米粉 | 240g |
| 酵母 | 90g |
| 对羟基苯甲酸乙酯 | 4.5g |

1. 取1L的水，水开后加入称量好是蔗糖和葡萄糖熬到完全融化；
2. 水开后加入称量好的琼脂（取水将琼脂调成糊状）；
3. 取另一半水将玉米粉调成糊状，加入到锅中中搅拌煮成糊状，完全开透后关火冷却到30度左右（不太烫手即可）；
4. 冷却后加入预调好的酵母；
5. 加入4.5g对羟基苯甲酸乙酯搅拌(对羟基苯甲酸乙酯4.5g使用45ml的无水乙醇融化）；
6. 分装入奶茶杯子，大约4cm高，盖上盖子中间放上一层超薄无纺布（透气）；

25℃是果蝇最适生长温度，此温度下果蝇活力强；30℃以上的高温则可能致死；在10~20℃环境中生活周期延长：低于10℃则可能影响生活力。利用此特性可调节果蝇生长，控制群体大小。不需要光照。原种培养每2~4周换一次培养基。

（2）果蝇收集

1. 一杯果蝇可收集4-5次，每次可收约80-200只，收集方法如下：
2. 准备纯水1L倒入准备好的盒子里
3. 把果蝇倒入水中，果蝇短时间在水中不会死亡
4. 可以直接使用漏勺舀出直接喂哇
5. 可以收集第二次喂蛙，使用漏勺把果蝇捞出放置在奶茶杯里，捞完后盖上盖子放置在4度冰箱约3-5分钟果蝇不在活跃后。使用厨房纸巾把残留水分吸干净。同时更换一个干净的杯子，如果蝇多可以再杯子里撒一点蛙用维生素粉保持干燥，最后盖上盖子，盖子中间放置一层低密度无纺布和纸巾。保存果蝇杯子倒放。

**2. 跳虫的饲养**

（1）材料：秸秆，南瓜，土豆，柚子皮等各种容易腐烂的水果，高活性酵母，糖，树叶，树枝，稻草。

（2）饲养方法

湿润的泥土打底作为腐殖层，放入树根或者枝丫，树根上放置切好的土豆或者南瓜（1CM），还可放入烂水果橘子皮，最后铺上树叶或者稻草，在铺设撒酵母粉，酵母粉最好撒在食物上面（图示如下）。

|  |
| --- |
| 收集时在放置厚土豆或者南瓜 |
| 酵母 |
| 树叶、稻草、秸秆（少量铺垫） |
| 酵母 |
| 南瓜、各种食物 |
| 树枝、树根、秸秆 |
| 泥土 |

（3）收集方法

切半个生土豆放入盒子中等待5-10分钟取出放入纸杯可取得跳虫。

**注意事项 ：**

1. 在饲养过程中，前期每天观察跳虫活动情况。后面一周管理一次根据情况增加食物稻草和秸秆。可以根据需求调节。
2. 跳虫不需要光照，22-28度都适合跳虫生长，湿度控制在40-60%左右。

**六、爪蟾的饲喂**

爪蟾蝌蚪的饲喂方式和饰纹姬蛙蝌蚪一致。每日给每只爪蟾成体饲喂约10g的红线虫。

## **爬行类野生动物实验安全操作规程**

**一、有毒蛇类的实验室和饲养室必须是常锁的，未经管理员允许任何人不得擅自入内。即使获准入内，但有以下情况者禁止进入蛇类饲养室和实验室：**

1. 对蛇有恐惧心理者请勿入内；

2. 有高血压、心脏病等突发疾病者请勿入内；

3. 自感身体不适（如头晕、疲劳等）者请勿入内；

4. 饮酒后不得入内。

**二、饲养室日常安全**

1. 进入前检查门锁是否按要求锁闭；

2. 每日进出饲养室需检查饲养箱有无破损，箱盖是否紧闭；

3. 严禁赤手抓取毒蛇；

4. 有毒蛇类作业必须二人以上；

5. 注意观察毒蛇是否处于警戒状态；

6. 注意保持安全距离；

7. 发现蛇逃离饲养箱时，不可惊慌，不宜做出剧烈动作；

8. 发现蛇失踪，请及时电话通知主管人员，同时撤离受影响区域。

**三、标准实验操作**

1. 所有人员必须经过培训、见习后方可进行蛇类试验；

2. 打开养蛇箱前请先准备相关工具，如：蛇钩、蛇叉、蛇钳等；

3. 开箱时注意手指处于箱盖外部，尽量使箱盖作为蛇与人之间的屏障；动作要缓慢；

4. 使用喷壶对蛇箱内部加湿时，注意保持安全距离，建议戴上加厚型（或防穿刺）手套操作；

5. 工具使用方法请咨询管理员。

**四、蛇伤处理与自救**

1. 保持镇定，第一时间以自制抽血器将毒血吸出；

2. 用清水和高锰酸钾溶液清洗伤口；

3. 及时电话通知管理员；

4. 伤口周边肌肉注射利多卡因+胰岛白酶，可起到封闭蛇毒和止痛的效果；

5. 严重时注射相应抗蛇毒血清，注射前需要先进行皮试；

6. 及时就医。

**五、药品器械和工具**

1. 药品器械摆放整齐，位置固定，使用后放回原处；

2. 定期检查药品数量效期，及时补充；

3. 定期检查操作器械工作状况；及时维修；

4. 爱护饲养器械和实验设备，定期维护。