



国家示范性高等职业院校建设计划资助项目

生物制品检验技术

实训指导

SHENGWU ZHIPIN JIANYAN JISHU
SHIXUN ZHIDAO

主编 ◎ 冷晓红



黄河出版传媒集团
宁夏人民教育出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物制品检验技术实训指导/冷晓红主编. —银川:
宁夏人民教育出版社, 2010. 5
ISBN 978-7-80764-255-8

I. ①生… II. ①冷… III. ①生物制品—检验—高等
学校: 技术学校—教学参考资料 IV. ①TQ464

中国版本图书馆CIP数据核字 (2010) 第045404号

生物制品检验技术实训指导

冷晓红 主编

责任编辑 吴 阳

装帧设计 宁夏画报实业有限公司

责任印制 刘 佳

黄河出版传媒集团 出版发行
宁夏人民教育出版社

地 址 银川市北京东路139号出版大厦 (750001)

网 址 www.nxcbn.com

网上书店 www.hh-book.com

电子信箱 nxhhsz@yahoo.cn

邮购电话 0951-5014294

经 销 全国新华书店

印刷装订 宁夏华地彩色印刷厂

开本 787mm × 1092mm 1/16 印张 6.25 字数 120千

印刷委托书号 (宁) 0004315 印数 500册

版次 2010年3月第1版 印次 2010年3月第1次印刷

书号 ISBN 978-7-80764-255-8/G · 1190

定 价 11.00元

版权所有 翻印必究

宁夏职业技术学院国家示范性
高职院校建设项目教材编写委员会

主 任

张怀斌 撒承贤

副主任

孔 斌

委 员

任全录 赵晓瑞 任 杰 李慧云 马锦才
詹发荣 冷晓红 徐 军 张 敏 殷正行

编委会办公室主任

孔 斌

编委会办公室副主任

任全录 吴轶勤 李 强



前言

宁夏职业技术学院于 2007 年被国家教育部、财政部确定为国家一百所示范性高等职业院校立项建设单位。项目实施以来,学院以专业建设为龙头,围绕自治区经济发展战略定位。按照“专业对接市场、课程对接能力、质量对接需求”的理念,有针对性地设置和调整专业。积极实践工学结合、校企合作人才培养模式改革和课程体系改革。以“开放、合作、包容、共赢”为原则,与区域内近二百家企业实施校企合作、人才共育。在工作过程系统化的课程体系建构和工学结合专业课程建设中,以设备、工作对象、案例、典型产品等为载体,组织教学内容,实施教学,取得了一批标志性成果。为了推广在课程建设中取得的成效,决定编辑出版部分教材和实训指导书。

特别感谢合作企业给予学校的大力支持。由于编者水平所限和时间仓促,书中难免有不妥之处,恳请业内专家和广大读者指正。

宁夏职业技术学院国家示范性
高职院校建设项目教材编写委员会
2010 年 3 月 18 日

目录

CONTENTS

生物制品检验的基础知识	001
实训项目	005
实训项目一 生物制品检验的基本程序	005
实训项目二 维生素 B2 的杂质检查	006
实训项目三 维生素 B2 的紫外鉴别和含量测定	010
实训项目四 红霉素 A 组分的测定	015
实训项目五 维生素 B12 有关物质的测定	020
实训项目六 盐酸四环素旋光度的测定	024
实训项目七 L- 赖氨酸盐酸盐的含量测定	028
实训项目八 谷氨酸钠中间体 -L 谷氨酸的含量测定	032
实训项目九 维生素 B2 片重量差异的检查	036
实训项目十 盐酸四环素胶囊溶出度检查	040
实训项目十一 泰乐菌素的质量检测	044
实训项目十二 L- 赖氨酸盐酸盐的质量检测	049
实训项目十三 维生素 B12 的质量检测	055
附录	060
附录一 AUW220D 型电子天平操作规程	060
附录二 AB204-N 型电子天平操作规程	062
附录三 YRT-3 型熔点仪操作规程	063
附录四 2WA-J 阿贝折射仪操作规程	066
附录五 WXG-4 圆盘旋光仪操作规程	068
附录六 PHS-25 型酸度计操作规程	070
附录七 DHG-9101-1S 型电热恒温鼓风干燥箱操作规程	073
附录八 DHG-9101-2S 型电热恒温鼓风干燥箱操作规程	075

目录

CONTENTS

附录九 TU1901 紫外 – 可见分光光度计操作规程	077
附录十 752 型紫外光栅分光光度计操作规程	080
附录十一 IR200 型傅里叶变换红外光谱仪操作规程	082
附录十二 气相色谱仪载气钢瓶的使用操作规程	084
附录十三 GC-14B 型岛津气相色谱仪操作规程	085
附录十四 Agilent1100 液相基本操作规程	088
附录十五 SX2 – 4 – 10 型箱式电阻炉操作规程	092
参考文献	093
后记	094

生物制品检验的基础知识

一、实训目的

生物制品检验技术是生物技术与应用及相关专业教学计划中设置的主要专业课程之一,是根据生物制品理化性质及其结构,研究生物制品及其各种制剂的组成、真伪鉴别、纯度检查、有效成分含量测定的一门综合性应用学科,在生物制品的研制、生产、供应和使用等过程中担负着重要的质量控制任务。同时,生物制品检验技术又是一门实践性很强的方法学科。生物制品检验技术实训是运用各种科学的方法、分析技术,研究和检验生物制品质量,进行生物制品质量标准的制定以及分析方法评价的实践性课程,是生物制品检验技术课程教学中不可缺少的组成部分,是整个教学过程中的一个重要环节。

生物制品检验技术实训教程旨在培养学生熟练的分析操作技能,理论联系实际的学风,严谨、科学的工作作风和对事业的高度责任心。通过基本操作训练,使学生能综合运用所学的化学、生物、药学的知识,掌握解决生物制品质量问题的规律和方法,获得较强的从事生物制品质量控制工作的能力,正确掌握生物制品检验技术常用法定方法及规范化操作技术,熟悉常用分析仪器的正确使用,为从事生物制品质量研究与检验等工作奠定坚实的基础。

二、实训要求

生物制品检验技术实训课是培养学生掌握基本操作技能的重要教学环节。掌握基本技能的关键在于“三严”,即严肃的态度、严密的方法和严格的要求。因此,要求学生珍惜实训训练机会,在实训过程中勤动手、勤思考。为提高实训课教学效率,必须做到如下几点:

1. 课前做好预习

明确该次实训的目的和要求,弄清原理及操作要点,熟知实训中必须注意的事项、实训的顺序、所需的仪器及必要的准备。每次实训课应有准备地接受指导教师的提问。要准备一个实训记录本,在对生物制品进行分析时,应将全部数据准确及时地用钢笔或签字笔记录于记录本上,绝不允许记于小纸条上或实训讲义上甚

至手掌上。原始记录是实训报告的组成部分,尊重实训原始记录是必要的科学作风,绝不允许将记录本内任何数据擅自涂改,如系写错,仅能以钢笔签字笔将写错处划去(但要求能看清原来数据),再重写一次。绝不允许伪造或估计一个数据,两次结果不能做依据时,应重新测定一次。实训完毕,应写出实训报告,并根据检验结果作出明确的结论。

2.在实训中切实严格遵守操作规程,按教师的指导注意基本的规范操作与实训现象的观察分析。

3.实训课不得随便旷课或相互调课,实训期间不得擅自离开实训室,有急事必须经指导教师同意后方可离开。

4.实训时应避免试剂污染,试剂瓶盖错盖,或不随手加盖的现象发生。当不慎发生试剂污染时,应抱负责的态度及时处理。

5.爱护公物,移物归位,节约水电,公用试剂或仪器用后应及时归位并洗净,破损仪器要及时登记。

6.实训期间应确保安全,以防止火灾、爆炸等事故发生。

7.实训完毕做好各自实训台的清洁工作,值日生应做好实训室的卫生清洁工作和检查水、电、门、窗等安全事宜。

三、实训室安全规定

在实训中,经常使用各种化学药品和仪器设备,以及水、电,还会经常遇到高温、低温、高压、真空、高频和带有辐射源的实训条件及仪器,若缺乏必要的安全防护知识,会造成生命和财产的巨大损失。因此实训室必须按环境(Environment)、健康(Health)、安全(Safety,缩写 EHS)的要求,加强安全管理。

1.一般规定

(1)穿着规定 进入实训室,必须按规定穿戴必要的工作服。进行危害物质、挥发性有机溶剂、特定化学物质或其他环保局所列管制性化学物质等化学物品操作实训或研究,必须要穿戴防护器具(防护口罩、防护手套、防护眼镜)。需将长发及松散衣服妥善固定,禁止穿凉鞋或者脚部暴露的鞋子进行实训操作,要穿着球鞋或者其他更有保护性的鞋子(能防滑、防静电、防止实训溶液溅伤)。操作高温的实训,必须戴防高温手套。

(2)饮食规定 严禁在实训室内吃东西、喝饮料、嚼口香糖、化妆、吃药等行为。使用化学物品后需先洗净双手方能进食。食物禁止储藏在储有化学物品的冰箱、冰柜或者储藏柜中。

(3)操作规定 使用挥发性有机溶剂、强酸强碱性、高腐蚀性、有毒性的物品应在通风柜或者吸风口下方进行操作。有机溶剂,固体化学物品,酸、碱化合物均需分开存放,挥发性的化学物品需密闭保存,如果有条件的话,需要置于有抽气装置的物品柜中。避免一人在实训室做危险实训。请将废弃溶液、药品或者试剂、废弃物标示清楚,并于指定位置存放。试剂、药品使用后的废液或者废弃物严禁倒入水槽或水沟,应收集于专用容器中。

(4)用电安全规定 实训室内电气设备的安装和使用管理,必须符合安全用电管理规定。实训室内不得使用明火取暖,严禁抽烟。必须使用明火实训的场所,须经批准后,才能使用。手上有水或潮湿请勿接触电器用品或电器设备,严禁使用水槽旁的电器插座(防止漏电或感电)。

(5)压力容器安全规定 气瓶应专瓶专用,不能随意改装其他种类的气体。气瓶内气体不可用尽,以防倒灌。开启气门时应站在气压表的一侧,不准将头或身体对准气瓶总阀,以防万一阀门或气压表冲出伤人。

(6)环境卫生 实训室应注重环境卫生,并须保持整洁。为减少尘埃飞扬,洒扫工作应于课前或课后进行。有盖垃圾桶应常清除消毒以保持环境清洁。垃圾清除及处理必须合乎卫生要求,应在指定处所倾倒,不得任意倾倒、堆积影响环境卫生。凡有毒性或易燃之垃圾废物,均应特别处理,以防火灾或有害人体健康。垃圾或废物不得堆积于操作地区或办公室内。窗面及照明器具透光部分均需保持清洁。保持所有走廊、楼梯通行无阻。油类或化学物溢到地面或工作台时应立即擦拭冲洗干净。工业消防用水应与饮用水区分并分别放于一定处所。

2.安全防护

(1)防火 防止煤气管、煤气灯漏气,使用煤气后一定要把阀门关好。乙醚、酒精、丙酮、二硫化碳、苯等有机溶剂易燃,切不可倒入下水道,以免集聚引起火灾。要注意金属钠、钾、铝粉、电石、黄磷以及金属氢化物的使用和存放,尤其不宜与水直接接触。万一着火,应冷静判断情况,采取适当措施灭火。可根据不同情况,选用水、沙、泡沫、 CO_2 或 CCl_4 灭火器灭火。

(2)防爆措施 化学药品的爆炸分为支链爆炸和热爆炸。氢、乙烯、乙炔、苯、乙醇、乙醚、丙酮、乙酸乙酯、一氧化碳、水煤气和氨气等可燃性气体与空气混合至爆炸极限,一旦有热源诱发,极易发生支链爆炸;氧化物、高氯酸盐、叠氮铅、乙炔铜、三硝基甲苯等易爆物质,受震或受热可能发生热爆炸。防止支链爆炸,主要是防止可燃性气体或蒸气散失在室内空气中,保持室内通风良好。当大量使用可燃性气体时,应严禁使用明火和可能产生电火花的电器。预防热爆炸,强氧化剂和强

还原剂必须分开存放,使用时轻拿轻放,远离热源。

(3)防灼伤 除了高温以外,液氮、强酸、强碱、强氧化剂、溴、磷、钠、钾、苯酚、醋酸等物质都会灼伤皮肤;应注意不要让皮肤与之接触,尤其防止溅入眼中。

(4)防辐射 化学实训室的辐射,主要是指 x- 射线,长期反复接受 x-射线照射,会导致疲倦、记忆力减退、头痛、白血球降低等。防护的方法就是避免身体各部位(尤其是头部)直接受到 x- 射线照射,操作时需要屏蔽,屏蔽物常用铅、铅玻璃等。

3.“三废”处理

(1)废气 产生少量有毒气体的实训应在通风橱内进行。通过排风设备将少量毒气排到室外。产生大量有毒气体的实训必须具备吸收或处理装置。

(2)废渣 少量有毒的废渣应送交环保部门处理,焚烧或者深埋。

(3)废液 对于废酸液,可先用耐酸塑料网纱或玻璃纤维过滤,然后加碱中和,调 pH6 ~ 8 后可排出,少量废渣埋于地下。对于剧毒废液,必须采取相应的措施,消除毒害作用后再进行处理。实训室内大量使用的冷凝用水,无污染可直接排放。洗刷产生的废水,污染不大,可排入下水道。酸、碱、盐水溶液用后均倒入酸、碱盐污水桶,经中和后排入下水道。有机溶剂回收于废有机溶剂桶中,加盖密封。重金属离子用沉淀法等集中处理。

实训项目

实训项目一 生物制品检验的基本程序

【实训目标】

- 1.熟悉实训室安全管理、试药管理、留样观察管理等基本知识
- 2.了解检验中心的基本布局及常见的检验设备

【能力目标】

- 1.实训室安全管理、试药管理、留样观察管理等基本知识
- 2.观察实训室的基本布局
- 3.观察实训室常见的检验仪器和设备

【学习任务】

- 1.参观前应认真复习第一章的有关内容,并做好参观前的准备工作
- 2.参观时应结合所学过的内容认真观察,认真倾听指导教师的讲解,并作参观笔记
- 3.参观后,组织讨论,并写出参观体会

实训项目二 维生素 B₂ 的杂质检查

【实训目标】

- 1.熟悉一般杂质检查的项目和意义
- 2.掌握一般杂质检查原理与方法
- 3.掌握杂质限度试验的概念及其计算

【实训器材】

1.试药

维生素 B₂、氢氧化钠滴定液(0.01mol/L)、盐酸滴定液(0.01mol/L)、纯化水、无乙醇三氯甲烷

2.仪器

电子天平(万分之一),紫外-可见分光光度仪,干燥烘箱,马弗炉,0.1mL、0.5mL、1mL 刻度吸管,瓷坩埚,称量瓶

【实训指导】

1.酸碱度

原理:维生素 B₂ 为两性化合物,可溶于酸和碱。饱和水溶液的 pH 为 6。

测定步骤:取本品 0.5g,加水 25mL,煮沸 2 分钟,放冷,滤过,取滤液 10mL,加酚酞指示剂 0.05mL 与氢氧化钠滴定液(0.01mol/L)0.4mL,显橙色,再加盐酸滴定液(0.01mol/L)0.5mL,显黄色,再加甲基红溶液(取甲基红 50mg,加 0.1mol/L 氢氧化钠溶液 1.86mL 与乙醇 50mL 的混合液溶解,加水稀释至 100mL,即得)0.15mL,显橙色。

2.感光黄素

原理:维生素 B₂ 对光线极不稳定,易分解为感光黄素(光化黄),感光黄素溶于三氯甲烷中于 444nm 波长处有吸收,而维生素 B₂ 无此反应。

测定步骤:取本品 25mg,加无乙醇三氯甲烷 10mL,振摇 5 分钟,滤过,滤液在 444nm 的波长处测定,吸收度不得过 0.016。

3.干燥失重

原理:干燥失重是指物质在规定的条件下,经干燥后所减失的重量。主要包括

水分、结晶水及其他挥发性物质。基于物质的性质、热稳定性、含水情况以及其中水分分离的难易程度,干燥失重法分为常压恒温干燥、减压恒温干燥和干燥剂干燥法。本品采用的是常压恒温干燥法。

测定步骤:取本品 0.5g,置与供试品同样条件下干燥至恒重的扁形称量瓶中,平铺在扁形称量瓶中,厚度不可超过 5mm,精密称定,放入烘箱中在 105℃干燥至恒重(连续两次干燥的重量差异在 0.3mg 以下)。进行干燥时,应将瓶盖取下,置称量瓶旁;取出时,须将称量瓶盖好。置烘箱内干燥的供试品,应在干燥后取出置干燥器中放冷至室温,然后称定重量。减失重量不得过 1.0%。

$$\text{计算: 干燥失重} = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

式中: W_0 为称量瓶的重量

W_1 为供试品与称量瓶的重量

W_2 为干燥后供试品与称量瓶的重量

4. 炽灼残渣

原理: 炽灼残渣检查是测定物质中无机杂质的总量。维生素 B_2 为有机物质,经低温炭化,再加硫酸湿润,低温加热至硫酸蒸气除尽后,于高温 700℃ ~ 800℃ 炽灼至完全灰化,使有机物质破坏分解变为挥发性物质逸出,非挥发性无机杂质成为硫酸盐。

测定步骤:取干净、干燥的瓷坩埚 2 个,炽灼至恒重,放于硅胶干燥器中。称取供试品 1.0g,置于已炽灼至恒重的坩埚中,精密称定质量,缓缓炽灼至完全炭化,放冷。加硫酸 0.5 ~ 1mL 使湿润,低温加热至硫酸蒸气除尽后,在 700℃ ~ 800℃ 炽灼使完全灰化,移置干燥器内,放冷至室温,精密称定后,再在 700℃ ~ 800℃ 炽灼至恒重,残渣质量不得过 0.2%。

$$\text{计算: 炽灼残渣} = \frac{(R + W_0) - W_0}{W} \times 100\%$$

式中: W_0 为坩埚的重量

W 为供试品的重量

R 为炽灼后残渣的重量

【实训报告】

将实验结果记录在实训报告上。

附:维生素 B₂ 的杂质检查实训报告

姓名:					学号:					实训日期:					
实训项目: 维生素 B ₂ 的杂质检查															
样品名称:				来源:				批号:				室温:		湿度:	
数据记录:															
检查项目				现象及数据				限量(计算)				结果			
酸碱度															
感光黄素															
干燥失重															
炽灼残渣															
结论:															
检验人:										复核人:					

【思考题】

- 1.简述维生素 B₂ 的杂质检查项目有哪些。
- 2.维生素 B₂ 的杂质检查过程中有哪些注意事项？
- 3.讨论本次实验的体会。（从操作熟练程度、实验经验、专业知识、职业道德等方面讨论）

实训项目三 维生素 B₂ 的紫外鉴别和含量测定

【实训目标】

- 1.具备正确使用紫外分光光度计对生物制品进行鉴别和含量测定的能力
- 2.掌握维生素 B₂ 紫外分光光度法的测定原理及操作要点
- 3.掌握维生素 B₂ 紫外分光光度法测定含量的计算方法

【实训器材】

1.试药

维生素 B₂、冰醋酸、1.4%醋酸钠溶液、纯化水

2.仪器

电子天平,紫外-可见分光光度仪,250mL 烧杯,1mL、10mL 刻度吸管,500mL 量瓶,100mL 量筒,瓷坩埚,称量瓶

【实训指导】

1.维生素 B₂ 的紫外鉴别

原理: 由于在维生素 B₂ 的分子中具有二氢苯并蝶啶-2,4 二酮大共轭体系, 所以具有特征的紫外吸收。利用这一性质可以对维生素 B₂ 进行鉴别。维生素 B₂ 的最大吸收波长在 267nm、375nm 与 444nm 处。

测定步骤: 避光操作。取本品约 75mg, 精密称定, 置烧杯中, 加冰醋酸 1mL 与水 75mL, 加热溶解后, 加水稀释, 放冷, 移至 500mL 量瓶中, 再加水稀释至刻度, 摇匀; 精密量取 10mL, 置 500mL 量瓶中, 加 1.4%醋酸钠溶液 7mL, 并用水稀释至刻度, 照紫外-可见分光光度法(《中国药典》2005 年版二部附录 IV A) 测定, 在 267nm、375nm 与 444nm 的波长处应有最大吸收。375nm 波长处的吸光度与 267nm 波长处的吸光度的比值应为 0.31 ~ 0.33; 444nm 波长处的吸光度与 267nm 波长处的吸光度的比值应为 0.36 ~ 0.39。

2.维生素 B₂ 含量测定

原理: 维生素 B₂ 的分子中具有二氢苯并蝶啶-2,4 二酮大共轭体系, 所以具有特征的紫外吸收。可在 444nm 处测定吸光度, 进行含量测定。《中国药典》、《中国

兽药典》2005 年版收载的维生素 B₂ 及其制剂均采用本法测定含量。

测定方法：避光操作。取本品约 75mg，精密称定，置烧杯中，加冰醋酸 1mL 与水 75mL，加热溶解后，加水稀释，放冷，移至 500mL 量瓶中，再加水稀释至刻度，摇匀；精密量取 10mL，置 100mL 量瓶中，加 1.4% 醋酸钠溶液 7mL，并用水稀释至刻度，摇匀，照紫外 - 可见分光光度法，在 444nm 的波长处测定吸光度，按 C₁₇H₂₀N₄O₆ 的吸收系数(E_{1%}^{1cm})₃₂₃ 计算，即得。

$$\text{计算：百分含量} = \frac{A}{E \times 100} \times \frac{D}{W} \times 100\%$$

式中：A 为吸光度

D 为供试品的稀释倍数

W 为称取维生素 B₂ 的质量 mg

【实训报告】

将实验结果记录在实训报告上。