UNITE

* Volumetria e pesate

Al termine della lezione lo studente sarà in grado di:

- ✓ **Riconoscere e classificare la vetreria volumetrica** (classe A/AS/B, strumenti per contenere vs erogare).
- ✓ **Eseguire correttamente misure di massa e volume** usando bilance, matracci, pipette, cilindri.
- ✓ **Calcolare e utilizzare le principali espressioni di concentrazione** (molarità, molalità, percentuali m/V, m/m, V/V).
- ✓ **Progettare e preparare soluzioni (da solido e per diluizione)** applicando le relazioni $M = n/V$, $n = m/MM$, e la formula di diluizione $M_{conc}V_{conc} = M_{dil}V_{dil}$.
- ✓ **Individuare le principali fonti di errore** nelle misure volumetriche e nelle pesate e ridurle con buone pratiche.

PREPARAZIONE DELLE SOLUZIONI

CONCENTRAZIONE: quantità di una sostanza contenuta in un determinato volume o in una determinata massa (miscele omogenee, costituite da un solvente e da uno o più soluti);

COME PREPARLE:

Adoperiamo un contenitore ed una bilancia:

1. la vaschetta scelta (o becher) è posizionata sul piatto della **bilancia**, si esegue l'azzeramento dello strumento (**tara**); in seguito, si introdurrà il soluto da pesare, utilizzando una spatola o un cucchiaio in plastica o metallo, in base alle caratteristiche chimico-fisiche della sostanza;
2. si aggiunge il solvente (acqua bidistillata), o una soluzione tampone già preparata;
3. si posizionerà il becher su un agitatore magnetico, inserendo una adatta ancoretta affinché la soluzione risulti omogenea;
4. quando il soluto sarà totalmente sciolto, si aggiusterà il pH se necessario e, solo dopo, la soluzione sarà portata a volume, trasferendola in un **pallone volumetrico** (o **matraccio**);
5. Il matraccio sarà adeguatamente sigillato con una pellicola di cera o con un tappo, così da poterlo capovolgere fino al completo mescolamento della miscela.

*Come indicare la concentrazione di una soluzione

- L'unità di misura maggiormente utilizzata è la **MOLARITÀ (M):** una soluzione 1 M contiene 1 mole (mol) di soluto in 1 litro (L) di soluzione;

esempio: 1 litro di una soluzione 1 M di cloruro di sodio (NaCl) contiene 1 mole di sale, mentre 0,3 litri della stessa soluzione contengono 0,3 moli di sale.

$$M = n/V \qquad (1)$$

M: molarità; n: numero di moli;V: il volume espresso in litri.

- La massa di 1 mole di sostanza espressa in grammi (**massa molare**) equivale numericamente alla sua massa molecolare (**MM**), la massa in grammi necessaria per ottenere la M desiderata è:

$$n = m/MM \qquad (2)$$

n = quantità di sostanza (espressa in mol), m = massa (espressa in gr), MM= massa molare (espressa in g/mol).

* *Esempio*

In che modo si possono preparare 200 mL di glicina (MM = 75,07 g/mol) 0,2 M in acqua?

* **PROCEDIMENTO**:

1. inizialmente ricaviamo le moli necessarie convertendo il volume in litri e applicando l' **equazione (1)**:

$$V = 200\ mL = 0{,}2\ L$$

$$n = M \times V = 0{,}2\ M \times 0{,}2\ L = 0{,}04\ mol$$

2. Ottenute le moli, calcoliamo i grammi di glicina necessari utilizzando l'**equazione (2)**:

$$m = n \times MM = 0{,}04\ mol \times 75{,}07\ g/mol = 3\ g$$

* **SOLUZIONE:**

Si devono sciogliere 3 g di glicina in acqua e portare il volume finale a 200 mL.

La concentrazione può essere anche espressa come molalità o concentrazione molale; una concentrazione 1 molale (1 m) si riferisce ad 1 mole di soluto in 1 Kg di solvente.

* *Esempio*

Come si può calcolare la molalità di una soluzione costituita da 50 g di etanolo (C_2H_5OH, MM = 46,7 g/mol) in 400 g di acqua?

* **PROCEDIMENTO**:

1. Applicare l'equazione 2 e ricavare il numero di moli contenute in 50 g di C_2H_5OH:

$$n = m : MM = 50\ g : 46{,}7\ g/mol = 1{,}1\ mol$$

2. Dividere il numero di moli ottenute per la massa di acqua per ottenere la molalità

$$\text{Molalità} = n : m = 1{,}1\ mol : 0{,}4\ kg = 2{,}67\ m$$

* **SOLUZIONE:** la molalità della soluzione è 2,67 m

È possibile utilizzare anche altre espressioni di concentrazione, come le percentuali:

A) % MASSA/VOLUME
si riferisce ai grammi di soluto sciolti in 100 millilitri di soluzione

% *m*/V = (massa di soluto in g)/(volume di soluzione in mL) x 100 (3)

B) % MASSA/MASSA
si riferisce ai grammi di soluto sciolti in 100 grammi di soluzione

% *m/m* = (massa di soluto in g)/(massa di soluzione in g) x 100 (4)

C) % VOLUME/VOLUME
si riferisce ai millilitri di soluzione del soluto sciolti in 100 millilitri di soluzione

% V/V = (volume di soluto in mL)/(volume di soluzione in mL) x 100 (5)

ESEMPIO: Qual è la concentrazione percentuale in massa su volume (% *m*/V) di una soluzione composta da 3 g di albumina in 150 mL di tampone?

PROCEDIMENTO: Si applica l'EQ. 4,3:

% **m**/V = (m_{soluto} : $V_{soluzione}$) x 100 = (3 g : 150 mL) x 100 = 2%

SOLUZIONE: La percentuale di albumina nella soluzione è 2% *m*/V

SOLUZIONE DILUITE

- Soluzioni molto concentrate vengono chiamate **soluzioni madre (*stock solution*)**
- In una soluzione diluita, il numero di moli di soluto resta invariato: il numero di moli contenute nella soluzione concentrata (mol conc) è uguale a quelle presenti nella soluzione diluita (mol dil):

$$n_{conc} = n_{dil}$$

sappiamo che:

$$n_{conc} = M_{conc} \times V_{conc}$$

$$n_{dil} = M_{dil} \times V_{dil}$$

Da cui:

$$M_{conc} \times V_{conc} = M_{dil} \times V_{dil} \qquad (6)$$

M_{conc}: molarità iniziale della soluzione prima della diluizione,
M_{dil}: molarità finale della soluzione dopo della diluizione,
V_{conc}: volume iniziale della soluzione prima della diluizione
V_{dil}: volume finale della soluzione dopo la diluizione.

- Nel caso occorra mescolare più soluzioni a concentrazione nota. La molarità della nuova soluzione sarà data dalla somma delle moli delle soluzioni utilizzate diviso il volume totale della soluzione finale, ovvero:

$$M = (n_a + n_b)/(V_a + V_b) \qquad (7)$$

n_a: numero di moli della soluzione a,
n_b: numero di moli della soluzione b,
V_a: volume della soluzione a,
V_b: volume della soluzione b.

NB: *quando si preparano le diluizioni di acidi o basi forti, è necessario porre attenzione, perché esse reagiscono con l'acqua, con conseguente improvviso aumento della temperatura e rischio di schizzi fortemente corrosivi; quindi, è necessario aggiungere il soluto (acido o base) all'acqua e non viceversa, infatti, esso, più denso del liquido, si sposta sul fondo del recipiente e il calore sviluppato si smaltirà attraverso l'acqua.*

CLASSIFICAZIONE DELLA VETRERIA

La vetreria è formata da recipienti atti a contenere o fornire quantità limitate di sostanza. I contenitori vengono suddivisi in due grandi categorie:

- **non graduati**, come **provette, beute, imbuti separatori, becher;**
- **graduati**, come **cilindri, pipette e matracci,** anche detti **strumenti volumetrici**, perché sono stati calibrati con precisione dalla casa produttrice.

- La vetreria può essere fabbricata impiegando il tipico vetro comune chiamato soda-lime, oppure il borosilicato (Boro 3.3), maggiormente adoperato, indicato con il nome commerciale di Pyrex® o Schott-Duran®; quest'ultimo è altamente resistente a sbalzi di temperatura, shock termici e prodotti chimici;

- Per la certificazione della qualità, come stabilito delle normative europee DIN (*Deutsches Institut für Normung*) ed ISO (*International Standard Organization*), gli strumenti volumetrici devono riportare le lettere A, AS o B a seconda che si tratti di vetreria di classe A, AS o B

ZANICHELLI

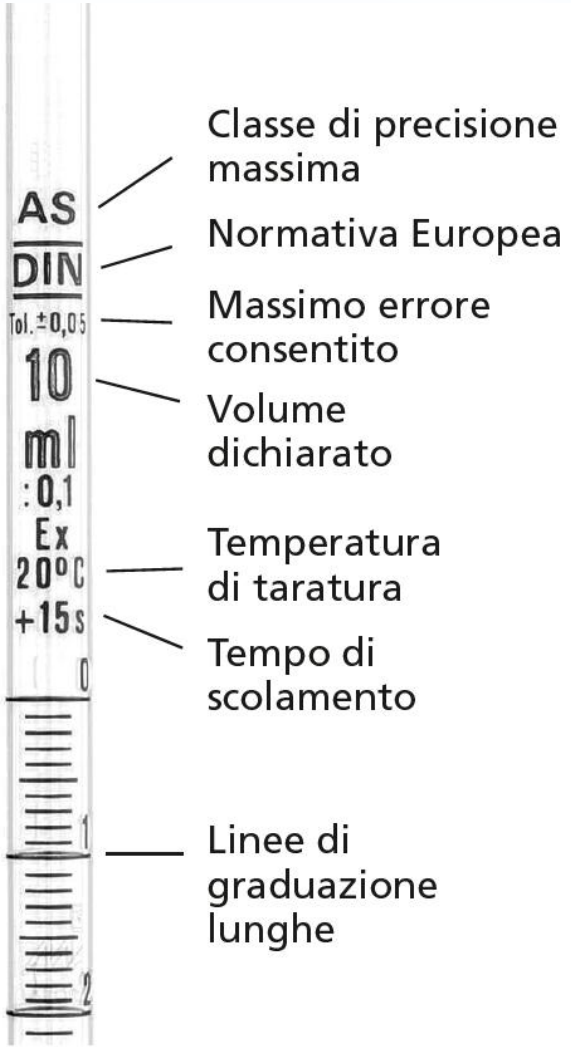


Figura 4.1
Esempio di informazioni presenti su uno strumento di misura, in questo caso una pipetta sierologica.

- GLI STRUMENTI VOLUMETRICI DI CLASSE A E AS SONO CALIBRATI PER SCOLAMENTO ovvero per erogare liquido e il volume trasferito è sempre inferiore a quello contenuto al suo interno; la causa è il sottile strato di liquido che bagna la superficie interna del contenitore. Durante la loro calibrazione, i tempi di scolamento e di attesa sono valutati in base alla classe di appartenenza dello strumento volumetrico;

- Gli strumenti volumetrici di classe B sono disponibili in vetro o in plastica e i limiti di errore sono doppi rispetto a quelli di classe A/AS (per i quali non è specificato il tempo di scolamento);

- Ogni strumento di misura volumetrico è calibrato individualmente e la taratura è eseguita con acqua bidistillata, pesando la quantità di liquido erogato.

il volume di una massa liquida varia con la temperatura per cui tutte le attrezzature volumetriche sono calibrate, per convenzione, alla temperatura di 20° C (gli errori attribuiti alla temperatura di utilizzo sono inferiori ai limiti di errore consentiti dalle normative).

Tabella 4.1 **Limiti di errore per gli strumenti volumetrici, suddivisi nelle classi di precisione: massima per la classe A e AS (quest'ultima usata per il dosaggio veloce con pipette e burette), con un limite di errore doppio per la classe B.**

Volume (mL)	Limiti di errore	
	Classe A e AS (± mL)	Classe B (± mL)
0,5	0,005	0,010
1	0,008	0,015
2	0,010	0,020
5	0,015	0,030
10	0,020	0,040
20	0,030	0,060
25	0,030	0,060
50	0,050	0,100
100	0,080	0,150

Tabella 4.2 **Massa di 1 mL di acqua bidistillata misurata a diverse temperature.**

Temperatura (°C)	Massa di 1 mL (g)
15	0,9979
20	0,9972
25	0,9961
30	0,9948

ZANICHELLI

MODI PER MISURARE IL VOLUME E LA MASSA

- ✓ **Matraccio tarato o pallone volumetrico**
- ✓ **Cilindri graduati**
- ✓ **Becher o bicchieri**
- ✓ **Beute o matracci di Erlenmeyer**
- ✓ **Pipette**: pipette sierologiche, pipette di Mohr, pipette tarate o volumetriche, burette, pipette Pasteur, propipette o pipettatori, pipette a camera d'aria o micropipette monocanale
- ✓ **Bilance: tecnica e analitica**. Le caratteristiche principali di una bilancia sono la sensibilità e la portata. Le bilance tecniche sono sensibili al centesimo di grammo, mentre quelle analitiche lo sono al decimo del milligrammo. La bilancia tecnica è generalmente usata per misure di tipo preparativo, nelle quali un errore di 0,05 grammi è accettabile; quella analitica è uno strumento più sensibile e misura la massa di un oggetto con una precisione di 0,00005 g (0,05 mg). La bilancia deve essere messa in bolla tramite i piedini di livellamento regolabili con le viti. Quelle analitiche hanno anche due sportelli laterali scorrevoli che, una volta chiusi, consentono di eseguire la misura evitando oscillazioni del peso dovute allo spostamento dell'aria.

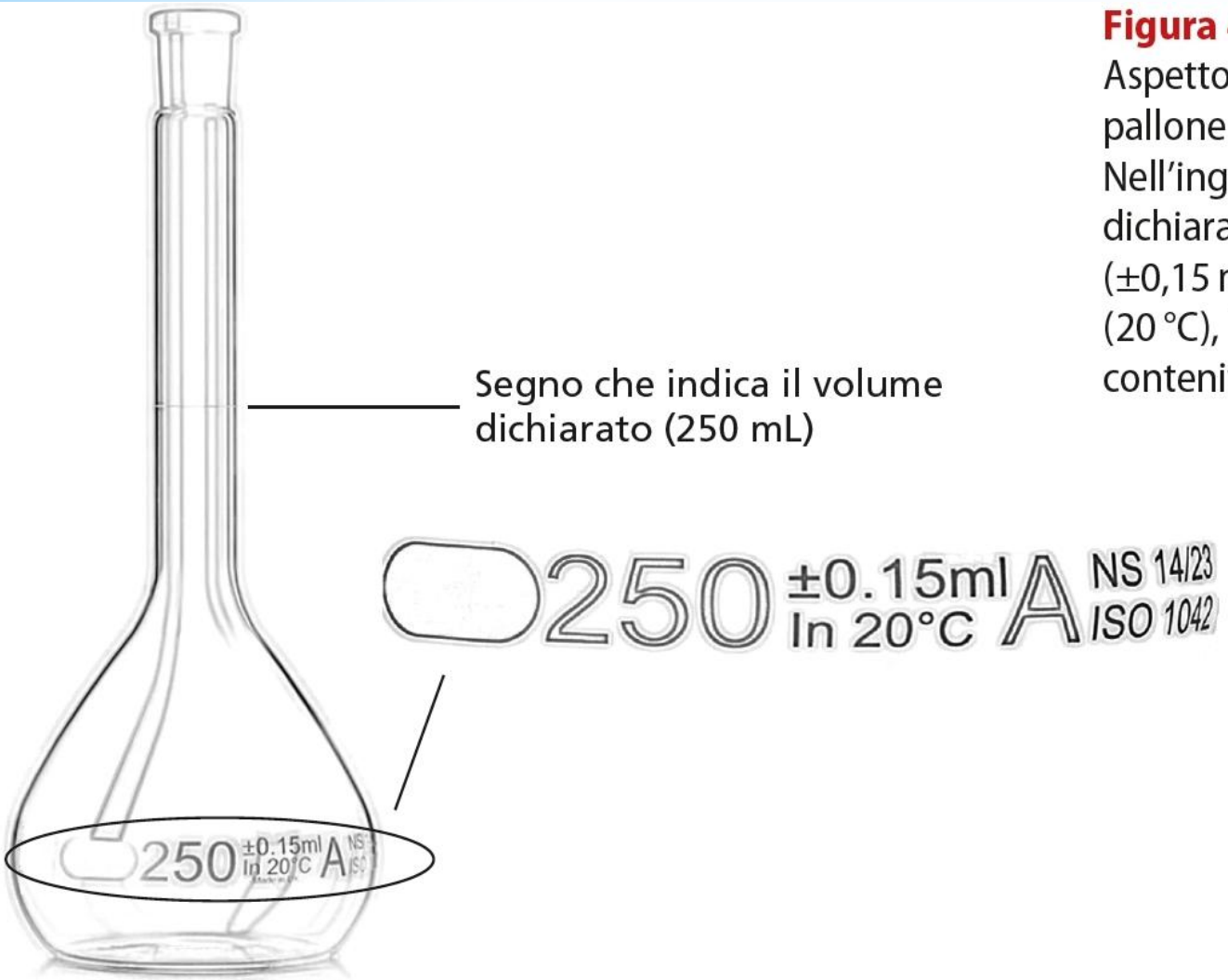
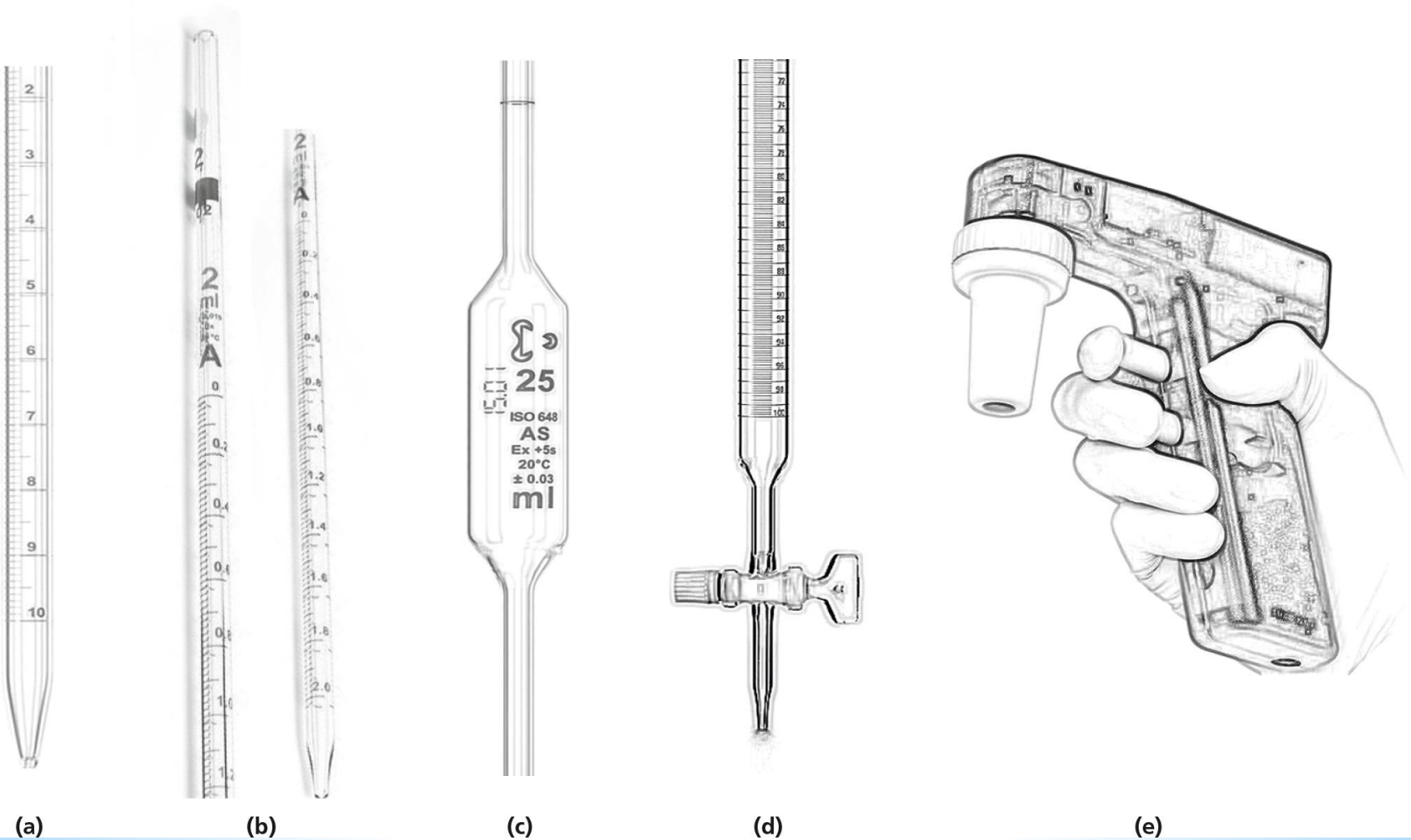


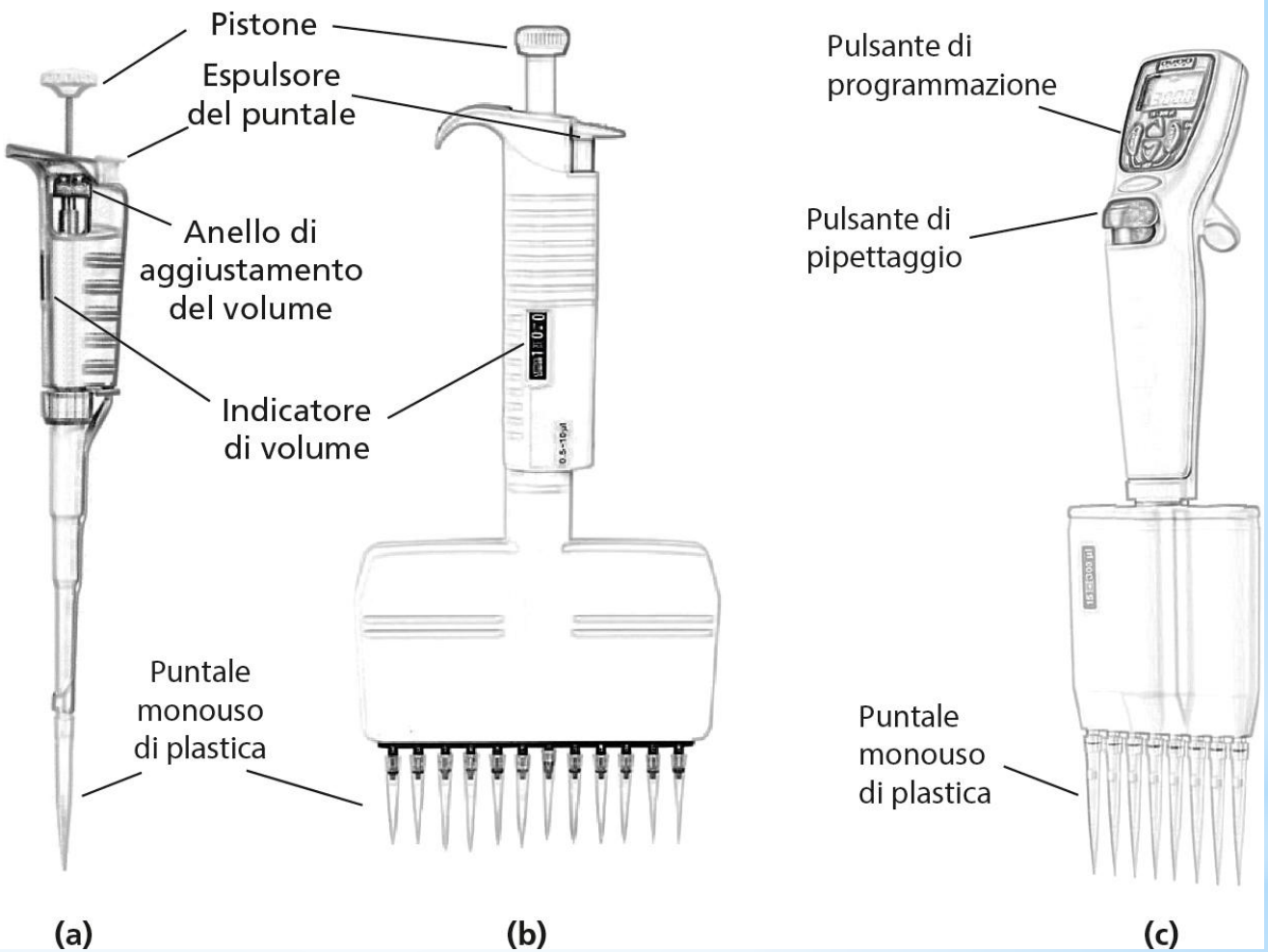
Figura 4.2
Aspetto generale di un matraccio o pallone volumetrico.
Nell'ingrandimento: il volume dichiarato (250 mL), l'errore consentito (±0,15 mL), la temperatura di taratura (20 °C), la classe a cui appartiene il contenitore (A) e le normative ISO.

Figura 4.3
Pipettatore e vari tipi di pipette usate in laboratorio: (**a**) pipetta sierologica, (**b**) pipetta di Mohr, (**c**) pipetta tarata, (**d**) buretta, (**e**) pipettatore automatico.



(a) (b) (c) (d) (e)

Figura 4.4
Tipi di micropipetta: (**a**) monocanale, (**b**) multicanale e (**c**) multicanale elettronica.



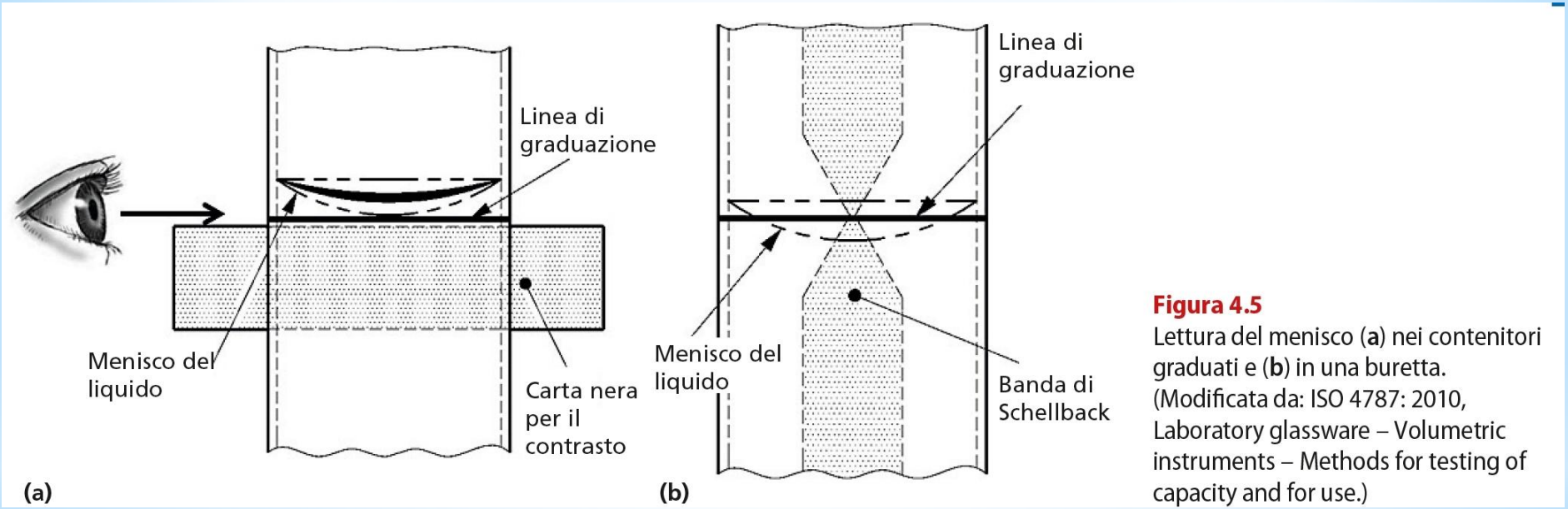


Figura 4.5
Lettura del menisco (**a**) nei contenitori graduati e (**b**) in una buretta. (Modificata da: ISO 4787: 2010, Laboratory glassware – Volumetric instruments – Methods for testing of capacity and for use.)

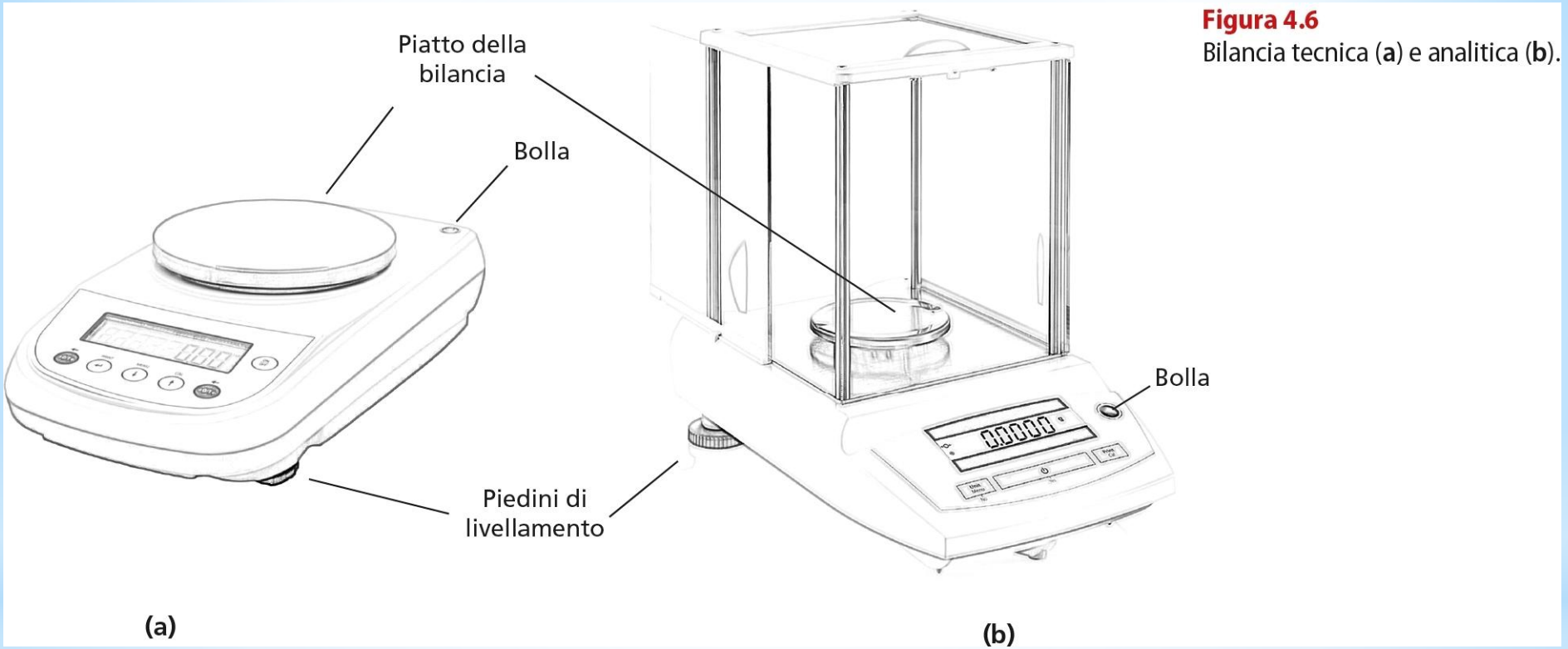


Figura 4.6
Bilancia tecnica (**a**) e analitica (**b**).

CONCETTI CHIAVE

Vetreria volumetrica
Strumenti graduati (pipette, burette, cilindri, matracci) tarati per misurare volumi con precisione definita, classificati in classi A/AS/B in base al limite di errore.

Molarità (M)
Numero di moli di soluto contenute in 1 litro di soluzione: $M = n/V$, con $n = m/MM$; è l'unità di concentrazione più usata in biochimica.

Molalità (m)
Numero di moli di soluto per 1 kg di solvente, indipendente dalla temperatura perché riferita a massa e non a volume.

Percentuali (m/V, m/m, V/V)

1. m/V: grammi di soluto in 100 mL di soluzione.
2. m/m: grammi di soluto in 100 g di soluzione.
3. V/V: mL di soluto in 100 mL di soluzione.

Diluizioni
Nelle diluizioni il numero di moli di soluto rimane costante: $M_{conc}V_{conc} = M_{dil}V_{dil}$;si parte da una soluzione madre per ottenere soluzioni più diluite.

Pesata corretta
Uso di bilancia tecnica o analitica in funzione della precisione richiesta, azzeramento (tara), bilancia in bolla, protezione da correnti d'aria nelle misure più sensibili.

Esercizi

Preparazione di una soluzione molare da solido

Devi preparare 250 mL di una soluzione 0,1 M di NaCl (MM = 58,44 g/mol).

1. Calcola le moli di NaCl necessarie.
2. Calcola i grammi di NaCl da pesare.
3. Descrivi sinteticamente i passaggi di laboratorio (pesata, dissoluzione, portare a volume).

Esercizio sulla molalità

Una soluzione contiene 40 g di glucosio (MM ≈ 180 g/mol) disciolti in 200 g di acqua.

1. Calcola le moli di glucosio.
2. Calcola la molalità della soluzione (mol/kg di solvente).

Percentuale massa/volume (m/V)

In un becher sono sciolti 5 g di albumina in 250 mL di tampone.

1. Calcola la concentrazione percentuale m/V.
2. Spiega il significato del valore ottenuto (quanti g per 100 mL).

Diluizione da soluzione madre

Disponi di una soluzione madre di acido acetico 2,0 M e devi ottenere 100 mL di soluzione 0,5 M.

1. Usa la relazione $M_{conc}V_{conc} = M_{dil}V_{dil}$ per calcolare il volume di soluzione madre da prelevare.
2. Descrivi come esegui la diluizione in matraccio volumetrico.
3. Ricorda la regola di sicurezza nella diluizione di acidi