

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TERAMO
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA VETERINARIA

C.I. “ FISICA, CHIMICA E PROPEDEUTICA BIOCHIMICA” (10 CFU)
(I ANNO)

MODULI “ELEMENTI DI CHIMICA E MOLECOLE BIOLOGICHE” (3 CFU)
E “BIOLOGIA MOLECOLARE” (3 CFU)
DOCENTE: ROBERTO GIACOMINELLI STUFFLER

ATTIVITÀ DIDATTICO-PRATICA SU

“VOLUMETRIA E PESATE CON PREPARAZIONE
DI SOLUZIONI TAMPONE”

Roberto Giacominielli Stuffer

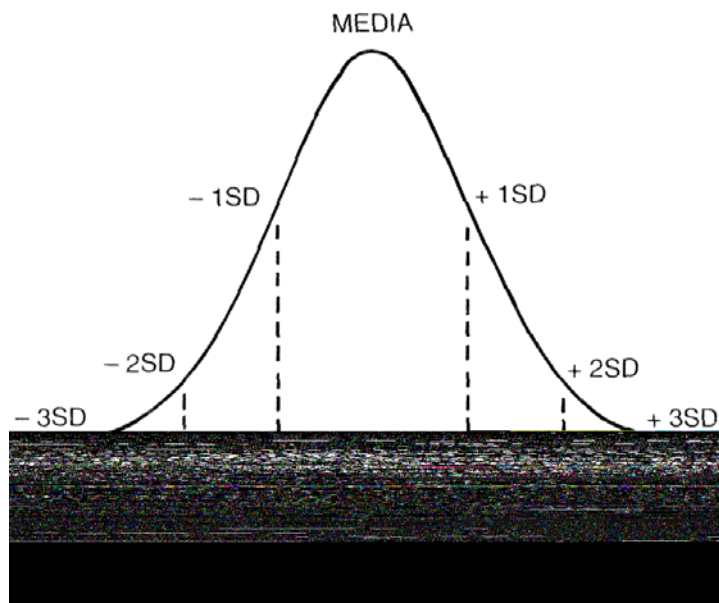
**L'ATTENDIBILITA' E' LA
QUALITA' CHE CARATTERIZZA
UN RISULTATO O UN METODO
ANALITICO**

L'ATTENDIBILITA' E LA PRECISIONE

Lo scopo della misura di qualunque grandezza (chimica, fisica, chimica-fisica o biochimica) è quello di ottenere un valore (valore analitico) che rappresenti una stima, quanto più possibile fedele, del valore vero.

ATTENDIBILITA' ➔ È la qualità che caratterizza un risultato o un metodo analitico. Essa è determinata da fattori quali la precisione, l'accuratezza, la sensibilità e la specificità.

PRECISIONE ➔ Viene definita come la concordanza fra i risultati di una serie di misure distinte (repliche) ottenute con lo stesso metodo su uno stesso campione. La DS (deviazione standard) indica l'imprecisione (dispersione o variabilità analitica).

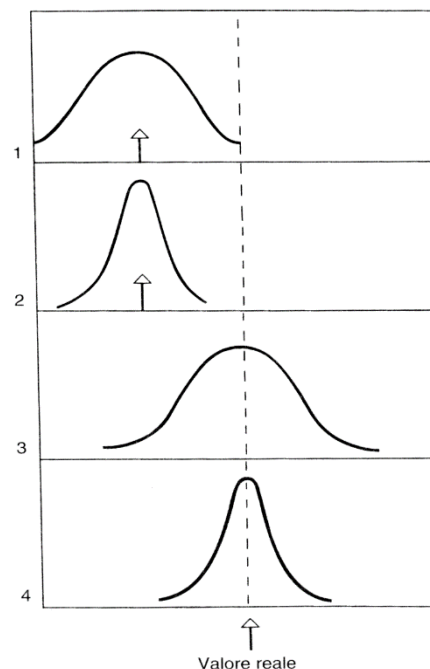
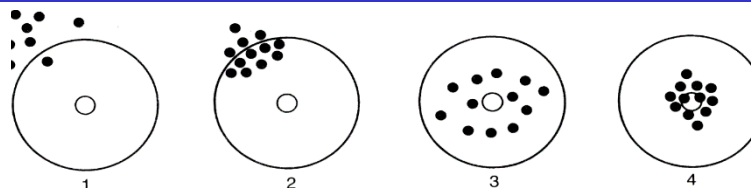


L'ACCURATEZZA E LA SPECIFICITA'

ACCURATEZZA ➔ In una serie di repliche della stessa analisi, essa è il grado di concordanza tra il valore medio trovato e il valore vero. L'inaccuratezza è calcolata come differenza tra il valore medio sperimentale e il valore vero.

SPECIFICITA' ➔ Proprietà del metodo di dosare solo e interamente la sostanza studiata senza subire interferenze positive o negative da parte di altre sostanze. Non ha valore numerico.

- 1 = metodo impreciso e inaccurato
- 2 = metodo preciso ma inaccurato
- 3 = metodo impreciso ma accurato
- 4 = metodo preciso e accurato



LA SENSIBILITA' ANALITICA E IL LIMITE DI RIVELABILITA'

SENSIBILITA' ANALITICA ➔ è l'attitudine del metodo a dosare piccole quantità del componente studiato, non ha un valore numerico.

LIMITE DI RIVELABILITA' ➔ è la più piccola quantità di sostanza che il metodo riesce a dosare, cioè a distinguere rispetto al bianco;
dal punto di vista strumentale può essere definito anche come il rapporto tra il segnale analitico e il segnale o rumore di fondo (noise).

MODI PER INDICARE LA CONCENTRAZIONE DI UNA SOLUZIONE

LE CONCENTRAZIONI DEI SOLUTI IN SOLUZIONE POSSONO ESSERE ESPRESSE IN DIVERSI MODI:

% (PESO / VOLUME) si riferisce al soluto in grammi / 100 ml di solvente,

% (PESO / PESO) si riferisce ai grammi di soluto / 100 grammi di solvente,

% (VOLUME / VOLUME) si riferisce agli ml di soluzione del soluto / 100 ml di soluzione del solvente;

le miscele di solventi possono anche essere indicate come RAPPORTI VOL/VOL/VOL come 4:1:1, in cui i numeri indicano i volumi relativi di ciascun solvente.

LA MOLARITA'

LA MOLARITA' (moli per litro) è l'espressione di concentrazione più utile per i calcoli biochimici e indica il numero di moli di soluto in 1 litro di soluzione;

l'abbreviazione per molarità è M.

LA MOLE (peso molecolare espresso in grammi) è una quantità, il suo simbolo è mol;

quindi, 1,0 L di una soluzione 1M contiene 1 mole di soluto, mentre 0,5 litri di una soluzione 1M contengono 0,5 moli di soluto.

**AUSILI MATERIALI PER LA
MISURAZIONE DELLE MASSE E
DEI VOLUMI**

LE BILANCE

BILANCIA ANALITICA

Tipo di bilancia di precisione, impiegata soprattutto in chimica analitica quantitativa per misure accurate, in grado di rilevare masse fino a 10 microgrammi.

BILANCIA TECNICA

Tipo di bilancia impiegata per misure di peso che non necessitano di particolare precisione, quando la quantità da prendere è dell'ordine dei grammi.

AUSILI MATERIALI PER LA MISURAZIONE DELLE MASSE

LE SPATOLE di varie dimensioni, in base alla quantità da prendere, in plastica o metallo, in base alle caratteristiche fisico-chimiche della sostanza in esame,

I CUCCHIAI in plastica o metallo,

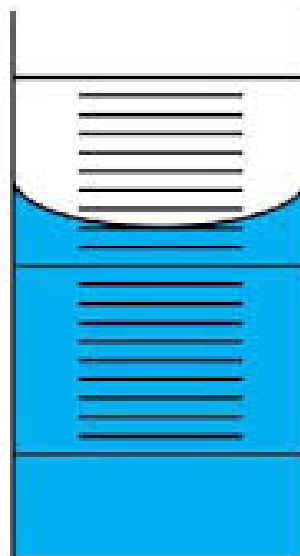
LE VASCHE (O NAVETTE) di materiale leggero;
ricordarsi di fare la tara prima della determinazione.

PER LA MISURAZIONE DEL VOLUME SONO UTILIZZATI:

I PALLONI VOLUMETRICI da 1 ml a parecchi litri, sono molto accurati,

I CILINDRI GRADUATI hanno minore accuratezza, ma permettono la misura di frazioni del volume totale;

si deve allineare la parte inferiore del menisco del liquido con il segno.



Cilindro graduato

PER IL TRASFERIMENTO DI LIQUIDI OCCORRONO:

LE PIPETTE DI VETRO (O DI PLASTICA) per volumi da 1 a 25 ml,

I MICROPIPETTATORI per volumi da 0,001 a 1 ml.

UN MICROPIPETTATORE E' COMPOSTO DA:

un pistone,

un espulsore del puntale,

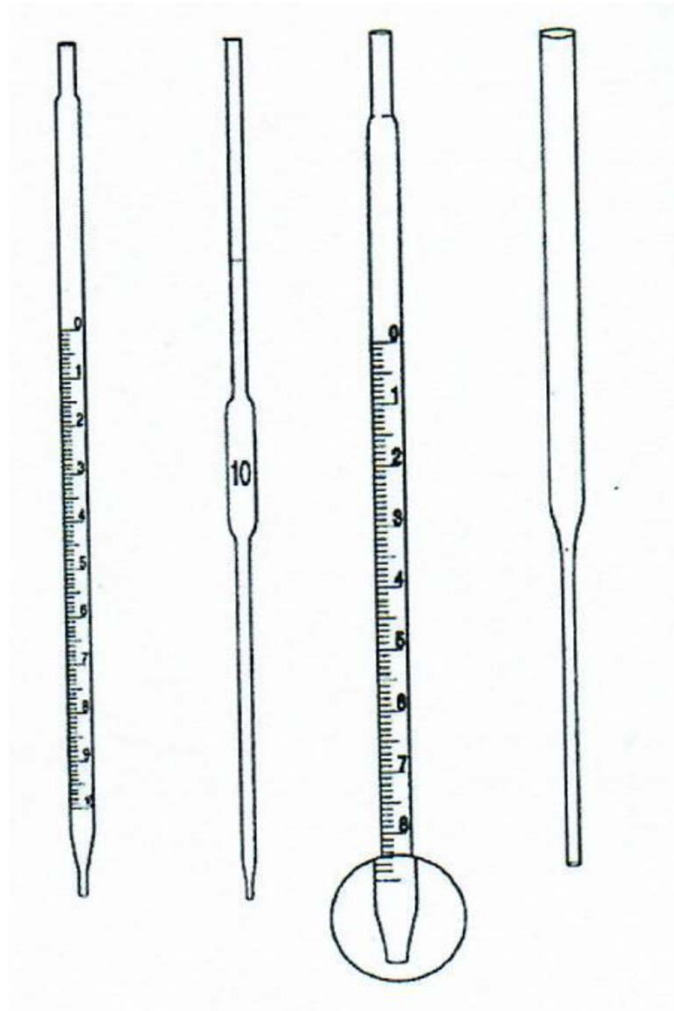
un anello di aggiustamento del volume,

un indicatore di volume;

essi hanno puntali monouso.

VARI TIPI DI PIPETTE USATE IN LABORATORIO

Da sinistra a destra MOHR, VOLUMETRICA, SEROLOGICA e PASTEUR, la MOHR presenta uno spazio morto, mentre la SEROLOGICA è graduata fino alla punta.



PER IL TRASFERIMENTO DI LIQUIDI OCCORRONO:

IL RIEMPITORE DI GOMMA A BULBO, che serve ad aspirare e trasferire liquidi con la pipetta,

ha tre valvole marcate: A, S, E (aspirazione, suzione, evacuazione);

LA TETTARELLA DI GOMMA, che serve a trasferire liquidi con la PIPETTA PASTEUR,

questa pipetta viene utilizzata quando non è necessario trasferire un'esatta quantità di volume;

LE PIPETTE PASTEUR USATE sono eliminate nella scatola designata per i vetri rotti.

IMPORTANTE: evitare le contaminazioni.

INDICAZIONI DA SEGUIRE

Usando i MICROPIPETTATORI si incontrano varie fonti di errore, sono spesso INACCURATI perché possono essere stati lasciati cadere o rovinati in altro modo, devono essere ISPEZIONATI e RICALIBRATI spesso, se lo strumento GOCCIOLA va messo da parte.

Durante un ESPERIMENTO, per diminuire l'inaccuratezza è consigliabile condurre tutte le misurazioni con un singolo strumento;

in questo modo i volumi potranno essere tutti inaccurati, ma, sperabilmente, RIPRODUCIBILI e INACCURATI in modo proporzionale.

Il liquido non deve rimanere ADESO all'esterno del puntale,

è importante il COMPLETO RIMESCOLAMENTO delle soluzioni sia per i volumi piccoli, sia per quelli grandi;

durante un esperimento è importante la stretta osservanza dei TEMPI.

II PIACCAMETRO

Esso è un potenziometro per la misura del pH,

é costituito da un elettrodo in vetro, che è selettivamente sensibile agli ioni di H^+ e insensibile a Na^+ , K^+ e altri cationi;

il segnale che arriva all'elettrodo viene confrontato con il segnale generato da una soluzione, nel pHmetro, di cui è noto il pH.

COME USARLO

- 1) Rimuovere l'elettrodo dalla soluzione di mantenimento,
- 2) sciacquarlo abbondantemente con una spruzzetta (contenente acqua),
- 3) procedere alla misura del pH della soluzione,
- 4) finita la lettura, sciacquarlo abbondantemente con la spruzzetta,
- 5) metterlo nella soluzione di mantenimento.

COME PREPARARE UNA SOLUZIONE TAMPONE

PREPARAZIONE DI UNA SOLUZIONE A MOLARITA' DEFINITA

Si pesa la quantità di soluto desiderata usando una bilancia,
successivamente si scioglie il soluto nel solvente, in genere acqua o un tampone,
dopo che il soluto è completamente sciolto, si raggiunge il pH desiderato (se necessario),
Infine si porta la soluzione al volume finale per ottenere la concentrazione desiderata.

PREPARAZIONE DEL TAMPONE GLICINATO DI SODIO [0,2M] a pH 8

Si ricava il numero di moli necessarie convertendo il volume in litri e applicando la seguente equazione: $M = \frac{n}{V}$

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

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

Ottenute le moli, si calcolano i grammi di glicina necessari utilizzando la seguente equazione: $n = \frac{m}{MM}$

$$m = n \times MM = 0,04 \text{ mol} \times 75,07 \text{ g/mol} = 3 \text{ g} \quad \text{Glicina (P.M. 75,07)}$$

Si fa la tara del beaker,

in esso si pesa la quantità di glicina desiderata, utilizzando un cucchiaino o una spatola,

si aggiunge il solvente (acqua), senza portare la soluzione al volume finale,

si utilizza un agitatore magnetico e un'ancoretta per favorire il passaggio della glicina in soluzione,

quando il soluto è completamente sciolto, si porta la soluzione a pH 8 con NaOH,

infine, essa si trasferisce in un cilindro graduato e si porta al volume finale per ottenere la concentrazione desiderata.