

**Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Biologiche– A. A. 2019-20**  
**Laboratorio di Biochimica**

***ESERCITAZIONE 1: Soluzioni, diluizioni, pH e soluzioni tampone***

<p><b>Obiettivi:</b> acquisire esperienza nella preparazione di soluzioni a concentrazione nota e successive diluizioni, nella preparazione di soluzioni tampone e nella misurazione del pH.</p> <p><b>Strumentazione:</b> imparare l'utilizzo di micropipette e propipettatori e l'utilizzo del pHmetro.</p>
---

1.1.

Avendo a disposizione: lisozima (20 mg/ml) EDTA (10 mM), glucosio al 2%(w/v) e ampicillina (5mg/ml), preparare 1 ml di una soluzione di lisozima 1 mg/ml contenente 0,01% glucosio, 50  $\mu$ M EDTA e ampicillina 50  $\mu$ g/ml. Indicare la strumentazione da utilizzare per il prelievo dei volumi ed i calcoli necessari.

1.2.

Diluire in maniera seriale la soluzione blu assegnata in modo da ottenere alla fine 1 ml della stessa ad una diluizione 1:10000. Descrivere brevemente il procedimento.

### 1.3

Avendo a disposizione PBS 5X, saccarosio al 10%(w/vol) ed NaCl 100 mM, preparare 15 ml di PBS 1X contenente 1% di saccarosio e 10 mM NaCl. Riportare i calcoli necessari per la preparazione della soluzione e indicare il tipo di attrezzature da utilizzare per il prelievo dei volumi.

### 1.4

PREPARAZIONE DI 200 ml di TAMPONE GLICINA a pH 2.5.

Glicina PM=75

pKa1=2.3 ; pKa2=9.8

Sciogliere 3g di glicina in acqua distillata rimanendo al di sotto di 200 ml. Verificare il pH misurando con il pHmetro. Regolare il pH aggiungendo HCl 2 M lentamente 1 ml alla volta. Portare la soluzione al volume finale di 200 ml con acqua distillata. Trasferire 40 ml della soluzione preparata in un tubo falcon da 50 ml.

1.5

PREPARAZIONE di 125 ml di TAMPONE FOSFATO 0,2M a pH 8.

(PM di  $\text{NaH}_2\text{PO}_4=120$ ;  $\text{pK}_{a2}=7,2$ )

Pesare nel becher  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  e scioglierlo in un volume inferiore a 125 ml di acqua distillata. Misurare il pH di partenza. Portare a pH8 utilizzando NaOH 5M. Verificare il volume di NaOH utilizzato e confrontarlo con quello teorico. portare a volume con acqua distillata. Trasferire la soluzione tampone nell'apposita bottiglia.