



Corso di Laboratorio di chimica e biochimica

STB

a.a. 2019/2020

Modulo 1: Docente F.Guida

milenaguida@gmail.com

Giugno 2020

Lunedì	Martedì	Mercoledì	Giovedì	Venerdì	Sabato	Domenica
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10 Milena e	11 Milena e	12	13	14
	Milena e	Milena e...				
15	16	17 Milena e	18 Marco e	19	20	21
	Milena e	Marco e				
22	23	24 Marco e	25 Marco e	26	27	28
	Marco e	Marco e				
29	30					
	Fede e					

©MichelZbinden.com

Luglio 2020

Lunedì	Martedì	Mercoledì	Giovedì	Venerdì	Sabato	Domenica
		1 Fede e	2 Fede e	3	4	5
		Fede e				
6	7	8 Fede e	9 Paolo e	10	11	12
	Fede e	Paolo e				
13	14	15 Paolo e	16 Paolo e	17	18	19
	Paolo e	Paolo e				
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31		
		<small>www.michelzbinden.com</small>				
		©Calendari Michel Zbinden / 4117				

Mart pome 9 giugno, T1

- 1.Cisilotto Alessia
- 2.Rizzetto Nicole
- 3.Jark Gaia Valeria
- 4.Giada D'Ambrosio
- 5.Maschio Silvio
- 6.Miatton Alessandra
- 7.Paoluzzi Alberto
- 8.Simon Francesca
- 9.Sofia Giulianini
- 10.Marta Faruzzo
- 11.Greta Bressan
- 12.Leonardo Genero

Giov matt 11 giugno, T4

- 1.Alice Rossi
- 2.Alice Racanati
- 3.Moira Lajic
- 4.Arianna Stefan
- 5.Lucia Camerlenghi
- 6.Lucrezia Perissutti
- 7.Illaria Cecconi
- 8.Diego Curtarello
- 9.Manuel-Martin Zamuda
- 10.Andrea Fabris
- 11.Aurora Baratto
- 12.Soggia Niccolò

Mer matt 10 giugno, T2

- 1.Grandis Cacciapaglia Davide
- 2.Zanette Giulio
- 3.Cotic Simon
- 4.Giovanni Luca Sciabbarrasi
- 5.Michael Venturini
- 6.Illaria Cossu
- 7.Valentina Rossi
- 8.Giaretta Rekha
- 9.Zorzetto Irene
- 10.Zanatta Illaria
- 11.Perrone Nicole
- 12.Giada Bon

Martedì pome 16 giugno, T5

- 1.Lorenzo Bergamo
- 2.Nugnes Giuseppina
- 3.Alessandra Agosto
- 4.Elisabetta Dal Grande
- 5.Rachele Ortolan
- 6.Caterina Da Rodda
- 7.Leonardo Michelin
- 8.Puglisi Morgana
- 9.Ylenia gradito
- 10.Marianna Di Centa
- 11.Gilda Degrassi
- 12.Elisona Shyti

Merc pome 10 giugno, T3

- 1.Sara Roncarà
- 2.Luca Pecalli
- 3.Camilla Dalla Verde
- 4.Alberto Tezza
- 5.Pietro Markezic
- 6.Marco Borzacchiello
- 7.David Palatinsky
- 8.Federico Ruoso

- 9.Alessandro Michelin
- 10.Marco Conz
- 11.Laura Silli

Mer matt 17 giugno, T6

- 1.Alessio Pizzignach

- 2.Arianna Zanon
- 3.Samantha Perfler
- 4.Sofia Fiorino
- 5.Elena Guerra
- 6.Della Libera Gabriele
- 7.Rupil Giada
- 8.Alex Zadro
- 9.Eleonora Francescato
- 10.Maso Alessia
- 11.Plazzotta Giovanni

Orari di laboratorio esperienza 1:

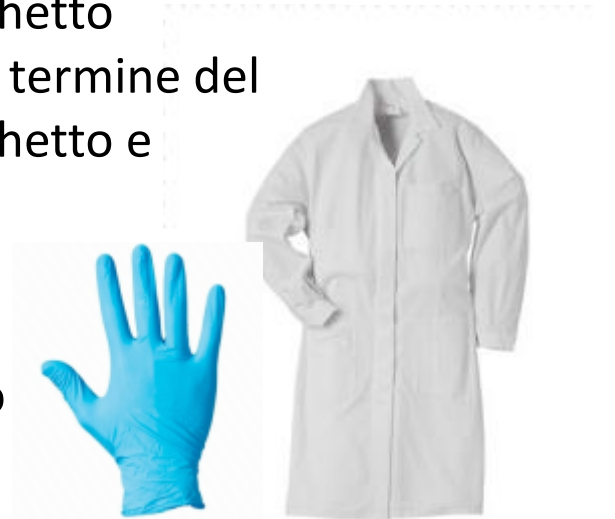
Turno 1	9 giugno	14.30 - 18.30
Turno 2	10 giugno	9.30 - 13.30
Turno 3	10 giugno	14.30 – 18.30

GUIDA

Turno 4	11 giugno	9.30- 13.30
Turno 5	16 giugno	15.00 – 19.00
Turno 6	17 giugno	9.30 - 13.30

SICUREZZA IN LABORATORIO per emergenza Covid-19

- Utilizzare il **gel lavamani** posto appena fuori la porta del laboratorio.
- Ingresso regolato: **2 persone alla volta rispettando la distanza di sicurezza.**
- Dirigersi **nell'aula didattica.**
- Riporre i propri effetti personali in un sacchetto e lasciarlo in aula.
- Indossare il **camice usa e getta**, non buttare il sacchetto protettivo ma aggiungere etichetta con il nome. Al termine del proprio turno ciascun camice verrà messo nel sacchetto e riposto sugli appositi scaffali.
- Indossare **guanti e mascherina**
- Recarsi **in laboratorio** alla postazione indicata dal docente **solo con il foglio del protocollo, telefono e una penna.**
- **Non scambiare materiale con i colleghi**



SICUREZZA IN LABORATORIO per emergenza Covid-19



UNA VOLTA FINITO ciascuno studente deve:

- Buttare le eppendorf utilizzate negli appositi contenitori
- **pulire** la propria **vetreria**
- **Pulire con soluzione disinfettante** tutte le strumentazioni ad uso promiscuo (es. **micropipette, propipettatori, pHmetro**)
- **igienizzare il proprio bancone** utilizzando soluzione idroalcolica e carta, che va poi smaltita nei contenitori dei rifiuti indifferenziati.
- Riporre il camice nella busta con il proprio nome e poi sullo scaffale
- smaltire i guanti monouso negli appositi bidoni per i rifiuti indifferenziati
- recuperare i propri effetti personali ed uscire nell'atrio mantenendo le **distanze di sicurezza**.

SICUREZZA IN LABORATORIO

- **Eliminare in modo corretto i rifiuti** chimici, biologici e radioattivi, solidi e liquidi prodotti nei laboratori



ESERCITAZIONE1

1) Soluzioni e diluizioni:

Obiettivi: acquisire esperienza nella preparazione di soluzioni a concentrazione nota e successive diluizioni

Strumentazione: imparare l'utilizzo di micropipette e propipettatori.

2)Preparazione di due soluzioni tampone.

Obiettivi: acquisire esperienza nella preparazione di soluzioni tampone a diversi pH

Strumentazione: imparare l'utilizzo del pHmetro.

Misure anti covid-19:

- due studenti occupanti lo stesso bancone seguiranno il protocollo in maniera differenziata: uno inizierà dalle soluzioni e diluizioni, mentre l'altro inizierà le pesate per preparare le soluzioni tampone.

VETRERIA di LABORATORIO



- **Becher**



- **Bottiglie**

PLASTICHERIA di LABORATORIO



- spruzzette



- Provette "Falcon" da 50 o 15 ml



- Provette "Eppendorf"



- Portaprovette

1) Soluzioni e diluizioni

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 μ M EDTA e ampicillina 50 μ g/ml. Indicare la strumentazione da utilizzare per il prelievo dei volumi ed i calcoli necessari.

- Qual è il volume finale della soluzione da preparare?

In base a questo scelgo il contenitore adatto: eppendorf, falcon da 15 /50 ecc...

- Ho soluzioni già pronte o devo pesare?
- Posso effettuare diluizioni?
- Che formule uso per i calcoli?
- Stare attenti alle unità di misura

$$C_{iniz} / C_{fin} = \text{fattore di diluizione}$$

$$V \text{ (da prelevare)} = V_{fin} / \text{fattore di diluizione}$$

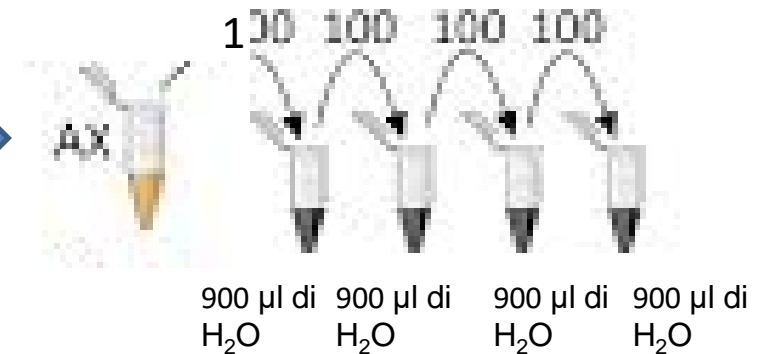
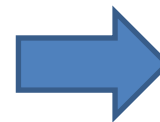
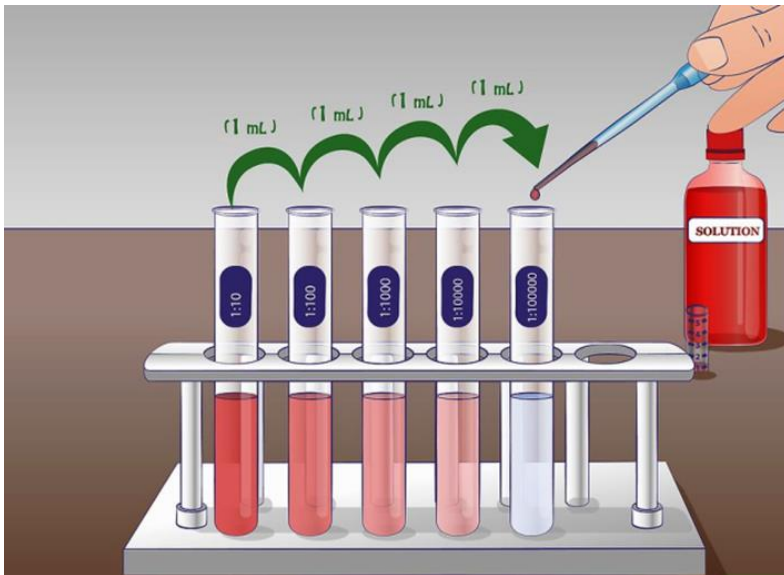
1) Soluzioni e diluizioni.

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.

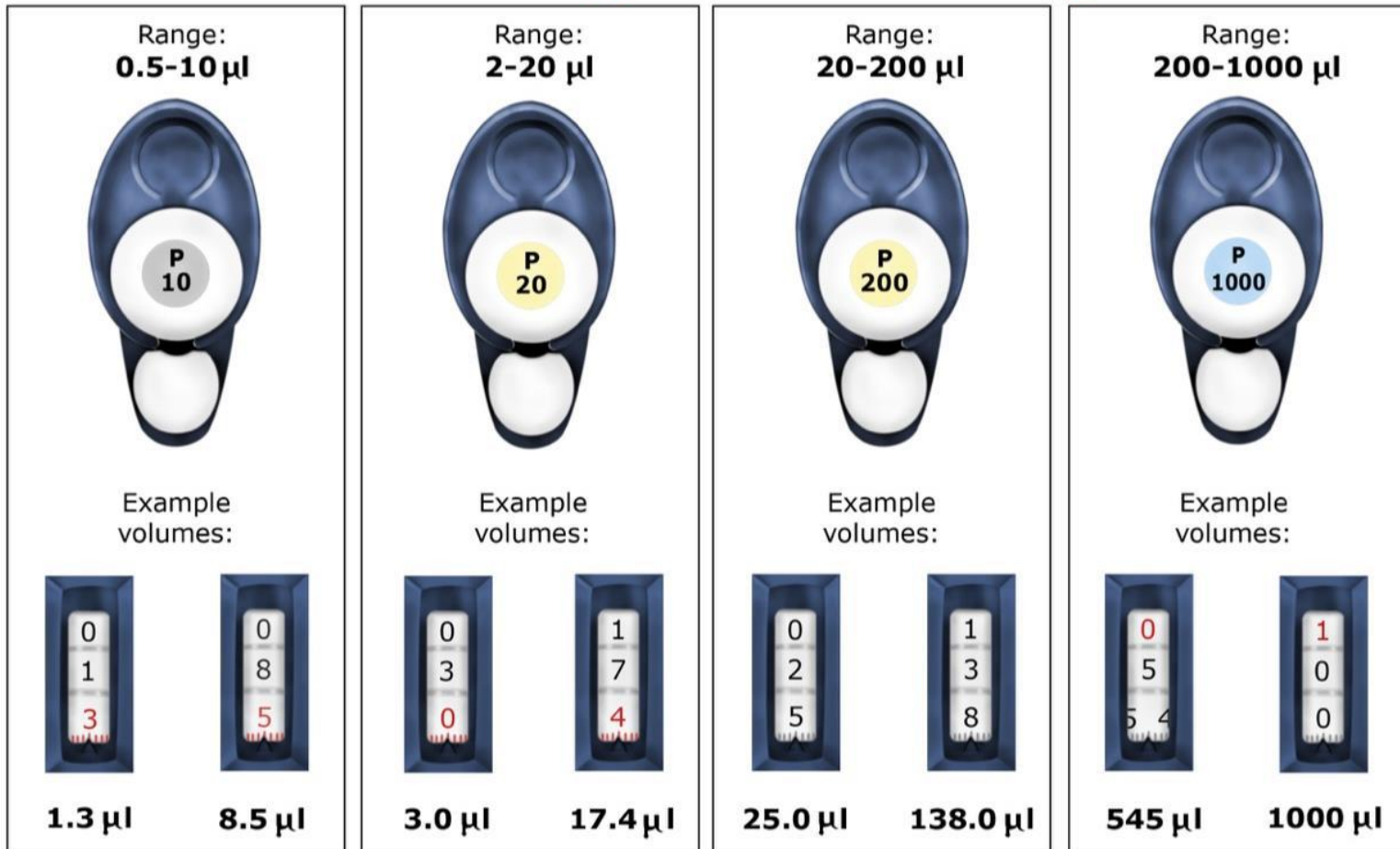
$C_{iniz} / C_{fin} = \text{fatt. di dil. in questo caso SEMPRE 10}$

$V \text{ (da prelevare)} = V_{fin} / \text{fatt. di dil.} \rightarrow 1000 / 10 = 100 \mu\text{l}$



Micropipette

NEVER crank the micropipets above or below their ranges!!



The red number indicates decimal on P10 and P20. The P1000 should show a red **1** ONLY when the other numbers are 0 (in other words, set at 1000 μl).

Always hold the micropipet in a **vertical position** when there is fluid in the tip.

Micropipette



- Si setta il display
- Si appoggia sull'apposito puntale
- Si preme il pistone fino alla prima resistenza



- Si preleva il liquido rilasciando piano il pistone, per non creare bolle



- Si preme fino alla prima resistenza per rilasciare il liquido nella eppendorf
- Se nel puntale rimane qualche piccola gocciolina si può premere ancora fino alla seconda resistenza

1) Soluzioni e diluizioni

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.

- Qual è il volume finale della soluzione da preparare?

In base a questo scelgo il contenitore adatto: eppendorf, falcon da 15 /50 ecc...

- Ho soluzioni già pronte o devo pesare?
- Posso effettuare diluizioni?
- Che formule uso per i calcoli?
- Stare attenti alle unità di misura

NB: la P1000 può prelevare al max 1 ml, fare più prelievi comporta un aumento dell'errore! Esistono i propipettatori .

$$C_{iniz} / C_{fin} = \text{fattore di diluizione}$$

$$V \text{ (da prelevare)} = V_{fin} / \text{fattore di diluizione}$$

Propipettatori e pipette sierologiche



2) Preparazione di due soluzioni tampone.

Obiettivi: acquisire esperienza nella preparazione di soluzioni tampone a diversi pH

Strumentazione: imparare l'utilizzo del pHmetro

- TAMPONE GLICINA a pH 2.5
- TAMPONE FOSFATO a pH 8



PREPARAZIONE DI UNA SOLUZIONE TAMPONE

1.5

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.

PREPARAZIONE DI UNA SOLUZIONE TAMPONE

Strumentazione di base:



Bilancia tecnica: sensibilità di 0,01g, pesa cioè il centesimo di grammo.

- Piccoli strumenti utili per la pesata: **Navicelle** e **spatoline**

Misure anti covid-19:

- pesare uno alla volta, non creare fila davanti alla bilancia.
- pulire la bilancia con la soluzione disinfettante
- pulire le spatoline prima con acqua, poi con la soluzione disinfettante.

PREPARAZIONE DI UNA SOLUZIONE TAMPONE



Agitatore magnetico: inserire l'ancoretta magnetica nel becher contenente la soluzione da sciogliere. Azionare l'agitatore magnetico.



pHmetro

Misure anti covid-19:

- Agitatore magnetico e pHmetro sono in comune: pulire dopo l'utilizzo con la soluzione disinfettante.

Utilizzo del pHmetro:

CALIBRAZIONE con soluzioni a pH 7 e a pH4



- 1) Lavare accuratamente la punta dell'elettrodo
- 2) Inserire l'elettrodo nella soluzione di calibrazione a pH 7.00 fino alla stabilizzazione
- 3) Sollevare l'elettrodo e lavarlo abbondantemente con acqua distillata
- 4) Inserire l'elettrodo nella soluzione di calibrazione a pH 4.00 fino alla stabilizzazione
- 5) Nel momento della calibrazione, lasciare l'elettrodo immerso per un tempo sufficiente affinché la lettura si stabilizzi
- 6) Se la calibrazione è OK, risciacquare l'elettrodo con acqua distillata e iniziare le misure

PREPARAZIONE DI UNA SOLUZIONE TAMPONE

1.4

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

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

Pesare nel becher NaH_2PO_4 e scioglierlo in un volume inferiore a 125 ml di acqua distillata. Misurare il pH di partenza. Portare a pH=8 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.

$$\text{pH} = \text{pK}_{\text{a}} + \log \frac{[\text{A}^-]_{\text{iniziale}}}{[\text{HA}]_{\text{iniziale}}}$$

Equazione di Henderson Hasselbalch



moli iniz - X X X

PROTOCOLLO:

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

ESERCITAZIONE 1: Soluzioni, diluizioni, pH e soluzioni tampone

Obiettivi: acquisire esperienza nella preparazione di soluzioni a concentrazioni note e successive diluizioni, nella preparazione di soluzioni tampone e nella misurazione del pH.
Strumentazione: Impostare l'ufficio di ~~colocazione~~ e ~~colocazione~~, e l'ufficio del ~~plombato~~.

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 μ M EDTA e ampicillina 50 μ 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/v) 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 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 NaH_2PO_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 ~~teoricamente~~ a volume con acqua distillata. Trasferire la soluzione tampone nell'apposita bottiglia.

1.5
PREPARAZIONE DI 200 ml di TAMPONE GLICINA a pH 2.5.
Glicina PM=75
 $\text{pK}_a1=2,3$; $\text{pK}_a2=9,8$

Sciogliere 3g di glicina in acqua distillata rimanendo al di sotto di 200 ml. Verificare il pH misurando con il ~~plombato~~. 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 ~~blanco~~ da 50 ml.

NB: Fare tutti i calcoli necessari, scrivere anche tutto il materiale occorrente!

SICUREZZA IN LABORATORIO per emergenza Covid-19



UNA VOLTA FINITO ciascuno studente deve:

- Buttare le eppendorf utilizzate negli appositi contenitori
- **Pulire** esternamente con **soluzione disinfettante** e riporre sull'apposito scaffale la **bottiglia** contenente il tampone fosfato con il proprio nome
- **pulire** la propria **vetreria**
- **Pulire con soluzione disinfettante** tutte le strumentazioni ad uso promiscuo (es. **micropipette, propipettatori, pHmetro**)
- **igienizzare il proprio bancone** utilizzando soluzione idroalcolica e carta, che va poi smaltita nei contenitori dei rifiuti indifferenziati.
- Riporre il camice nella busta con il proprio nome e poi sullo scaffale
- smaltire i guanti monouso negli appositi bidoni per i rifiuti indifferenziati
- recuperare i propri effetti personali ed uscire nell'atrio mantenendo le **distanze di sicurezza**.