

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

Dipartimento di Scienze del Farmaco e della Salute

Corso di laurea in Scienze Farmaceutiche Applicate

Curriculum Tossicologia dell'Ambiente e degli Alimenti

Anno Accademico 2022/2023 - 2° anno

Quaderno di Laboratorio Analisi di Chimica Tossicologica I Prof Emanuele Amata

Nome:.....

Cognome:.....

Matricola:.....

Firma Studente

Firma Docente

Sicurezza

Il lavoro di laboratorio può essere pericoloso, come qualsiasi tipo di lavoro pratico. I peggiori pericoli minacciano gli occhi. Pertanto, è indispensabile indossare sempre gli **occhiali di sicurezza**.

Inoltre, è importante proteggersi anche da tutto l'ambiente circostante. Questo non significa che il laboratorio è un'area estremamente pericolosa! È più probabile avere un incidente a casa nella propria cucina, a causa delle poco caute precauzioni prese.

In ogni caso la migliore prevenzione è la *conoscenza*. Ad esempio, un chilogrammo di cianuro di potassio sul bancone non rappresenta alcun rischio, a condizione che non si provi a mangiarlo o venga l'idea di aggiungere dell'acido che causerebbe la liberazione del gas di acido cianidrico.

Pertanto, possiamo dire che:

- **Solidi e liquidi** rappresentano un rischio principalmente quando ingeriti. Ciò può accadere inconsapevolmente, ad es. a causa di mani contaminate.
- I **gas**, se tossici, costituiscono un problema più grave perché possono raggiungerci anche a distanza. In questo caso, l'unica area di lavoro sicura è la cappa.

I solventi organici sono spesso infiammabili e i loro vapori, in particolare quelli dell'etere dietilico, possono essere innescati in modo esplosivo dalla fiamma di un bunsen anche a pochi metri di distanza.

I rifiuti chimici non devono essere smaltiti nel lavandino ma negli appositi recipienti per lo smaltimento presenti in laboratorio. Gli acidi e le basi concentrati, in particolare H_2SO_4 , devono essere diluiti versandoli lentamente in un eccesso di acqua fredda (mai viceversa).

Prima di iniziare qualsiasi attività, accertarsi di avere capito scopo e finalità che l'esperimento si prefigge.

Vetreria

In laboratorio vengono utilizzati vari tipi di vetro con differenti caratteristiche.

Il cosiddetto **vetro comune** è vetro sodico-calcico la cui composizione tipica è: 71-75% in peso SiO_2 , 12-16% Na_2O 10-15% CaO e basse percentuali di altre sostanze, ad esempio agenti coloranti. Ha buone proprietà chimico fisiche. È idoneo per prodotti che generalmente sono sottoposti per breve periodo a contatto chimico e ad un limitato stress termico (es. pipette, provette). Uno dei suoi maggiori limiti è rappresentato dall'elevata espansione termica.

Il **vetro borosilicato** ha eccellenti proprietà chimico fisiche. Ha una composizione di: SiO_2 70-80% in peso, 7-13% B_2O_3 , 4-8% Na_2O e K_2O , e 2-7% Al_2O_3 . I più diffusi marchi registrati sono Pyrex e Duran ed è un vetro particolarmente indicato per applicazioni che richiedono una eccellente resistenza chimica e termica (inclusi stress termici). Per questa ragione è molto utilizzato nella fabbricazione di materiale per laboratorio chimico. Il vetro borosilicato è inerte rispetto a tutte le sostanze ad eccezione dell'acido fluoridrico, dell'acido fosforico a caldo e delle soluzioni alcaline a caldo. Tra questi il più pericoloso è l'acido fluoridrico, che attacca il vetro anche se presente in concentrazione di poche ppm. Acido fosforico e soluzioni alcaline diluite non creano problemi a freddo. Inoltre, il vetro borosilicato può essere utilizzato fino ad un massimo di 500°C (solo per brevi periodi), e si può lavorare tranquillamente fino a 230°C.

Generalmente il materiale in vetro, a meno che specificamente progettato per lo scopo, non deve essere utilizzato a pressioni diverse da quella atmosferica.

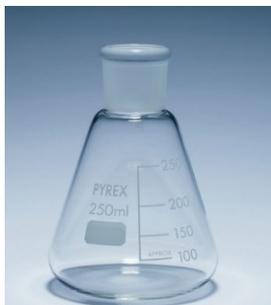
Gli oggetti in vetro più comuni in uso nei laboratori scientifici possono essere:

- a) **non graduati**: provette, becher, beute, palloni, imbuti, imbuti separatori, refrigeranti;
- b) **graduati**: cilindri graduati, pipette, matracci, burette (vetreria volumetrica).

Tali recipienti non sono realizzati con vetro termoresistente, pertanto non devono essere sottoposti a riscaldamento.

Beuta (o matraccio di Erlenmeyer)

Generalmente in vetro borosilicato, può essere quindi posta su piastre riscaldanti e Becco Bunsen. La forma tronco-conica e il collo permettono di agitarne il contenuto senza spanderlo e la rendono particolarmente adatta nei casi in cui si debba sottoporre un liquido ad ebollizione prolungata. Il collo può essere smerigliato per poterla chiudere con apposito tappo in vetro. Nel caso di collo non smerigliato si possono usare tappi in gomma o Parafilm[®] (pellicola di cera). Un tipo particolare di beuta è la beuta da vuoto (o codata), provvista di attacco laterale per un tubo da vuoto, che viene utilizzata nelle filtrazioni sottovuoto.



beuta con collo smerigliato



beuta con collo non smerigliato



beuta codata

Becher

È un contenitore di forma cilindrica con un beccuccio. Può avere capacità diverse. È adatto a svariati usi, dalla preparazione delle soluzioni fino al riscaldamento. Per chiuderli si possono usare vetrini da orologio quando caldi, altrimenti Parafilm®. Sono generalmente graduati ma non sono adatti per misurare quantità precise.



Pallone

I palloni sono recipienti di forma sferica e collo cilindrico dotato di un inserto smerigliato a conicità definita ed unificata, tale da potersi raccordare con altra vetreria dotata di conicità corrispondente. Il fondo dei palloni può essere tondo oppure piatto.

I palloni possono inoltre essere muniti di due o più colli, per l'inserimento di particolari strumenti quali termometri o agitatori meccanici.



Imbuto

Gli imbuto in vetro (o plastica) sono adoperati per il travaso dei liquidi. Possono avere gambo lungo o corto e diverso diametro. Gli imbuto per il travaso di polveri, invece, hanno il gambo corto e largo. L'imbuto Buckner in porcellana, con pareti cilindriche e con fondo forato viene usato per la filtrazione sottovuoto.



imbuto in vetro



imbuto in plastica



imbuto Buckner

Pipette pasteur

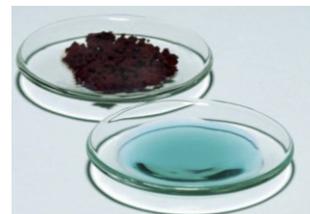
Possono essere in vetro o in plastica e vengono usate solo per prelievi necessari a prove qualitative. Il prelievo mediante pipetta pasteur viene eseguito con la tettarella.



Vetrino da orologio

Deve il suo nome alla particolare forma, la quale ne rende utile l'impiego quando sia necessario disporre, sul banco di lavoro, di piccole quantità di reagenti, liquidi o solidi.

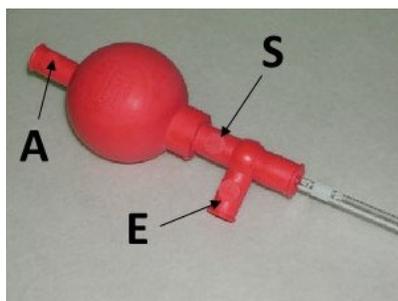
Possono inoltre servire come coperchi per becker contenenti liquidi in ebollizione, allo scopo di evitare schizzi



Pipette graduate e tarate

Le pipette graduate vengono utilizzate per il prelievo e l'erogazione di volumi variabili di liquidi (errore $\pm 0.05\%$).

Le pipette tarate sono usate per il prelievo e l'erogazione di volumi fissi di liquidi (errore $\pm 0.1\%$).



Per l'aspirazione e la successiva erogazione del liquido, queste pipette vengono usate insieme alla Propipetta, detta anche palla di Peleo.

Come adoperare la palla di Peleo: l'estremità superiore della pipetta viene inserita in prossimità della valvola S. Non spingere troppo in fondo, altrimenti la pipetta potrebbe rimanere bloccata. A questo punto, premere la valvola A tra pollice e indice, e schiacciare la palla di Peleo in modo da eliminare l'aria. Immergere la punta della pipetta nel serbatoio del liquido, e premendo la valvola S, lasciare aspirare il liquido appena sopra il segno di graduazione desiderato (fare attenzione a non far arrivare il liquido all'interno della palla!). Con la valvola E si fa defluire il liquido nel serbatoio desiderato

Matraccio

Il matraccio è un pallone a fondo piatto con collo lungo, sul quale viene indicato il livello del liquido da raggiungere perché il volume corrisponda esattamente alla capacità indicata. Si tratta di un contenitore tarato e costituisce un vero e proprio strumento di misura: viene usato per la preparazione di soluzioni a concentrazione nota (soluzioni titolate) e per diluire campioni ad un volume esatto. Possono essere chiusi con appositi tappi in vetro o in PTFE.

Il matraccio non è costruito in vetro da fuoco, non può quindi essere usato per il riscaldamento di soluzioni o liquidi di qualsiasi.



Cilindro

I cilindri fanno parte della categoria degli strumenti di misura, anche se le loro caratteristiche costruttive non consentono di ottenere gli stessi livelli di accuratezza e precisione garantite dai matracci tarati. Sono disponibili in differenti capacità.

Lettura del volume corretto

A causa della tensione superficiale, sia nel matraccio che nel cilindro, il liquido aderisce alla parete del recipiente; di conseguenza la superficie limite non è piana, ma curva (menisco); il fenomeno è tanto più evidente quanto più piccolo è il diametro.

Per l'acqua e le soluzioni acquose, il menisco è concavo. In questo caso, si deve leggere il volume nel punto più basso dello specchio del liquido: il punto più basso del menisco deve toccare l'angolo superiore della linea di graduazione.



Nel caso del mercurio, il menisco è convesso, cioè la parte centrale del liquido è più alta di quella a contatto col contenitore. In questo caso, si deve leggere il volume nel punto più alto dello specchio del liquido. In tal caso, il punto più alto del menisco deve toccare l'angolo inferiore della linea di graduazione.



Provette

La provetta o tubo da saggio consiste in un tubo di vetro chiuso ad un'estremità, di vario diametro e lunghezza. Al loro interno possono aver luogo reazioni di piccole quantità di sostanze sia a freddo che a caldo (alla fiamma con Becco Bunsen), in questo ultimo caso è opportuno utilizzare le apposite pinze in legno. Le provette chiuse con appositi tappi possono essere riposte negli appositi supporti da bancone



Agitatori a bacchetta

Bacchette realizzate in vetro pieno, vengono usate per miscelare soluzioni all'interno di becker e per travasare liquidi evitando scolamenti lungo le pareti del recipiente.



Imbuto separatore

L'imbuto separatore è un contenitore in vetro di forma conica chiuso in alto tramite un tappo di vetro smerigliato e nel gambo, costituito da un tubo solitamente lungo e stretto, è munito di rubinetto.

Viene utilizzato, nelle normali attività di laboratorio, per separare liquidi non miscibili (es. acqua e olio). Versando la miscela dei due liquidi nell'imbuto separatore si ottiene la loro separazione in virtù della loro diversa densità.

Il liquido a densità maggiore viene raccolto in un altro recipiente mentre quello a densità minore rimane nell'imbuto separatore.



Essiccatore

È un recipiente di vetro a parete robusta usato per essiccare sostanze solide o conservarle al riparo dall'umidità. Il coperchio può essere munito di una tubulatura con rubinetto che permette di fare il vuoto nel recipiente. Sul fondo dell'essiccatore, sotto una piastra forata di porcellana, si pone una sostanza igroscopica (per es. CaCl_2 o Na_2SO_4).

Il composto da essiccare viene sistemato sulla piastra forata di porcellana. Nel recipiente, chiuso con l'apposito coperchio, la sostanza igroscopica assorbe il vapore d'acqua presente nell'aria favorendo in questo modo l'evaporazione dell'acqua trattenuta dal solido.



Bottiglia di Ranver

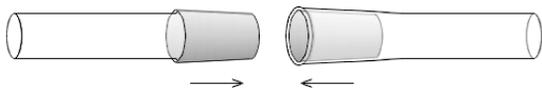
Provvista di pipetta contagocce (con tappo smerigliato) con tettarella per la conservazione e il dispensamento di liquidi.



Giunti per vetreria

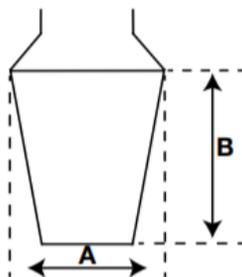
Con i giunti di vetro smerigliato è possibile montare e smontare rapidamente complesse apparecchiature usate in laboratorio per operazioni quali ad esempio distillazione e reflusso. In queste apparecchiature i vari componenti di vetreria sono montati in modo non permanente, formando un sistema a tenuta. I giunti di vetro smerigliato comunemente usati sono di due tipi: i giunti conici e quelli a sfera.

Giunti conici



I giunti conici consistono di una parte maschio e una femmina con conicità normalizzata 1:10.

Questo significa che il diametro del cono aumenta (o diminuisce) di una unità ogni 10 unità di lunghezza. A parte i tappi terminali, la maggior parte dei giunti conici sono cavi per permettere il passaggio di liquidi o gas. Ad esempio, si può connettere un pallone, un condensatore di Liebig e un gorgogliatore per scaldare a riflusso una miscela di reazione

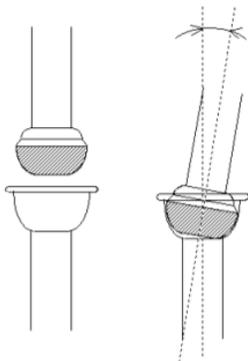


Ogni giunto conico è contraddistinto da due numeri:

- 1- diametro del maschio nel punto più largo (A)
- 2- lunghezza del maschio (B)

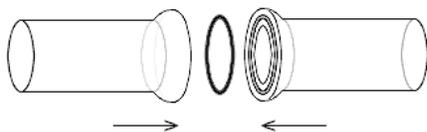
Per esempio, la coppia di numeri 29/32 significa che la larghezza superiore del giunto è di 29 mm e la sua lunghezza è di 32 mm. Essendo normalizzato si deduce che la larghezza inferiore è di circa 26 mm.

Giunti a sfera



In questo caso le parti terminali maschio e femmina hanno una superficie smerigliata sferica, forata in modo da permettere il passaggio di liquidi o gas. I giunti a sfera si usano quando è necessario assicurare un certo gioco alla giunzione, come ad esempio nel connettere una trappola fredda ad una linea da vuoto. Vengono inoltre impiegati nella vetreria sottoposta a pressioni maggiori di quella atmosferica proprio per la loro maggiore tenuta.

Giunti O-ring



La tenuta tra i due giunti di vetro è realizzata tramite O-ring. Questo giunto è più simmetrico, nel senso che le due parti da unire sono identiche: l'estremità è più spessa e ha una scanalatura circolare dove va ad inserirsi un o-ring di elastomero.

Le dimensioni dei giunti o-ring si basano sul diametro interno del giunto, e sono espresse in millimetri. Le due parti possono separarsi facilmente, e sono tenute assieme da pinze o morsetti. L'elastomero che costituisce l'o-ring è poco resistente ad alte temperature, e in tali casi sono preferibili altri tipi di giunto usando grasso adatto alle alte temperature.

Pulizia della vetreria

La pulizia della vetreria è fondamentale per la corretta riuscita delle esperienze. È necessario quindi pulire sempre la vetreria alla fine di ogni esperienza. Quindi, dopo aver riposto le sostanze nei contenitori adatti alla loro conservazione e aver conferito i rifiuti presso gli appositi contenitori di smaltimento, si può procedere al lavaggio. Bisogna prestare attenzione all'integrità della vetreria e ai giunti. Questi ultimi non vanno mai forzati e se sono grippati, si può provare a riscaldarli moderatamente. Non usare tappi di vetro con liquidi grippanti (es. NaOH).

Eliminare la vetreria che presenta anche minimi danneggiamenti o rotture.

Se i residui sono solubili in acqua è necessario procedere ad un primo lavaggio con acqua deionizzata, utilizzando eventualmente una spatolina, e versare il contenuto nell'apposito contenitore di smaltimento. Se i residui non sono solubili in acqua, procedere alla solubilizzazione dei residui con un po' di solvente (ad esempio acetone), e conferire il contenuto nell'apposito contenitore di smaltimento. Qualora si fosse impiegato solvente bisogna sciacquare nuovamente con acqua e conferire nell'apposito contenitore. In un secondo momento, si potrà procedere al lavaggio con detersivo, utilizzando eventualmente gli appositi scovolini, e poi al risciacquo con acqua corrente di rubinetto. Infine, risciacquare la vetreria con acqua distillata e lasciarla asciugare sotto la propria cappa.

Bisogna prestare particolare attenzione ai rubinetti e ai giunti, infatti questi prima di essere lavati vanno puliti con solvente per eliminare i residui di grasso.

Qualora il lavaggio con acqua e detersivo non siano sufficienti, si possono utilizzare opportuni reagenti chimici. Per esempio, si può utilizzare la miscela cromica (una soluzione di dicromato di potassio in acido solforico concentrato), l'acido nitrico concentrato o l'acqua regia (miscela di 3 parti di acido cloridrico concentrato con una parte di acido nitrico concentrato). Dopo aver effettuato il lavaggio sotto cappa, indossando gli opportuni DPI, si procede al risciacquo con acqua distillata.

Altra strumentazione di laboratorio

Le materie plastiche

In molti casi il vetro può essere sostituito con materiale in plastica che spesso permette una notevole riduzione dei costi. È importante però verificare che il tipo di plastica scelta non venga attaccata dalle sostanze con le quali verrà a contatto, per evitare di contaminare campioni e reagenti o di danneggiare l'oggetto in plastica; ad es.: molti tipi di plastica sono incompatibili con i solventi organici che ne provocano la dissoluzione.

La spruzzetta è un flacone di plastica (polietilene) flessibile con tappo a vite corredato di tubo rigido ricurvo e appuntito. Viene riempita di un liquido che viene trasferito per espulsione strizzando il flacone.



Spatole e pinzette

Generalmente in acciaio inox, ma anche in plastica. Si usano per prelevare piccole quantità di reagenti solidi e per manipolare oggetti di piccole dimensioni.



Porcellana

La porcellana trova il suo impiego ottimale ogniqualvolta si presenti la necessità di disporre di recipienti che debbano essere sottoposti a sollecitazioni termiche particolarmente intense.

La porcellana, a differenza del vetro, è in grado di sopportare la fiamma diretta e questo la rende particolarmente utile nelle operazioni di fusione, calcinazione, ecc.



capsule



mortaio



crogiolo

La porcellana dura non smaltata non viene intaccata dagli acidi, ad eccezione dell'acidi fluoridrico e fosforico concentrato.

Punto di Fusione: 1730 °C circa

Limite di impiego: 1400 °C (non smaltata), 1200 °C (smaltata)

Tubi

In laboratorio vengono usati tubi in diverso materiale: PVC, silicone, lattice, teflon, tygon. In relazione alle caratteristiche del materiale (resistenza agli agenti chimici, calore, resistenza alla lacerazione, ecc.) vengono usati per circolazione di liquidi e gas, pompe peristaltiche, pompe da vuoto ecc.



tubi in PVC



pinza di Mohr



pinza di Hoffman



raccordi per tubi

Pellicole sigillanti

Il Parafilm® è una pellicola di cera (poliolefine e cera paraffinica) impermeabile all'acqua, semitrasparente ed elastica (potere di stiramento = 200%). Si adatta a tutte le superfici, cilindri, provette, becher sigillandoli perfettamente. Non è resistente ad alcuni solventi organici, quali dietilere, cloroformio, carbonio tetracloruro, benzene, toluene. Ha un punto di fusione di 60 °C e un punto di infiammabilità di 301 °C.

Il nastro in Teflon® viene usato per garantire la tenuta dei giunti di vetro smerigliati e metallici



Parafilm

La bilancia elettronica

In generale tutte le bilance analitiche sono dotate della funzione di autotaratura con un peso campione incorporato e molto spesso della sottrazione elettronica della tara, mentre per le bilance tecniche si ricorre in prevalenza alla taratura manuale esterna con massa standard. Esistono modelli di bilance dotati di sensori di temperatura che provvedono automaticamente alla correzione della taratura non appena la temperatura ambiente esce da un intervallo di tempo prestabilito.

La maggior parte delle bilance dispone dell'azzeramento della tara a comando o della sua memorizzazione; molti modelli sono dotati di autodiagnosi al momento dell'accensione per la verifica del corretto funzionamento della bilancia



Le bilance analitiche sono suddivise a loro volta in quattro gruppi:

- macrobilance (leggibilità 0,1 mg),
- semimicrobilance (leggibilità 0,01 mg),
- microbilance (leggibilità 1 μg),
- ultramicrobilance (leggibilità 0,1 μg).

Nel linguaggio corrente le macro e le semimicro sono chiamate bilance analitiche, mentre le altre due microbilance.

Le bilance tecniche, per pesate di quantità relativamente grandi di campioni, non richiedono una grande risoluzione, ma un'alta capacità; hanno portate comprese tra 50 g e 60 kg con leggibilità tra 0,001 g e 1 g.

Uso e manutenzione della bilancia

La bilancia va manovrata con cautela e tenuta nello stato di massima pulizia. Al termine di ogni pesata, eventuali reagenti fuoriusciti dal contenitore in cui la pesata è stata eseguita devono essere rimossi, con apposito pennellino.

Si devono utilizzare recipienti perfettamente asciutti. In caso contrario la massa dell'oggetto diminuisce progressivamente in seguito a evaporazione, rendendo impossibile una pesata accurata e precisa. Si osserva il fenomeno opposto quando si pesano oggetti essiccati (per esempio in stufa). In questo caso si deve attendere la stabilizzazione igroscopica della superficie dell'oggetto.

Esecuzione della pesata

1. Aprire lo sportello della bilancia e porre una navicella in plastica o altro, a seconda delle indicazioni del singolo esperimento, pulito ed asciutto, sul piatto della bilancia.
2. Richiudere lo sportello e attendere che la massa visualizzata sul display si stabilizzi e poi azzerare premendo il pulsante di tara.
3. Aprire lo sportello e mettere nel contenitore la quantità desiderata di prodotto; richiudere lo sportello, lasciare stabilizzare e leggere la massa.
4. Aprire lo sportello e prelevare il contenitore. Richiudere lo sportello e riazzerare la bilancia.
5. Effettuare l'azzeramento per la tara e la lettura della massa del campione a sportelli della bilancia chiusi.

NOTA BENE:

ALL'INTERNO DEL LABORATORIO BISOGNA OBBLIGATORIAMENTE INDOSSARE CAMICE, OCCHIALI PROTETTIVI E GUANTI

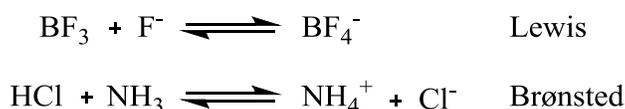
PRIMA DI UTILIZZARE QUALSIASI SOSTANZA BISOGNA LEGGERE ATTENTAMENTE LA SCHEDA DI SICUREZZA.

IN OGNI CONTENITORE DEVE ESSERE SEMPRE RIPORTATO IL NOME O LA FORMULA DELLA SOSTANZA CONTENUTA E LE FRASI DI PERICOLO H ASSOCIATE

Acidi e basi

La definizione di acido e base si è evoluta nel corso degli anni. Quella più recente e generale fu proposta nel 1923 da Lewis, che riconosce nella “coppia di elettroni” l’attore principale in una reazione acido-base. Così, un acido è una sostanza che può accettare una coppia di elettroni, mentre una base è una sostanza che può donare una coppia di elettroni, non impegnati in legami chimici. Specie chimiche come BF_3 , AlCl_3 , $\text{Al}(\text{OH})_3$, H^+ , Na^+ , SO_4^- , tutte strutture che presentano la possibilità di ospitare doppietti elettronici e pertanto definiti acidi di Lewis; NH_3 , OH^- , H_2O , Cl^- , rappresentano strutture con una coppia di elettroni disponibile per formare un legame e sono definite basi di Lewis.

La definizione di Brønsted e Lowry si basa invece sul trasferimento di protoni: gli acidi sono donatori di protoni, le basi sono accettori di protoni. Mentre le basi di Brønsted e Lewis sono identiche, il concetto di acido di Brønsted è limitato al singolo acido di Lewis H^+ . Due molecole che differiscono solo per un protone sono chiamate coppie acido-base coniugate, ad es. $\text{HCl}-\text{Cl}^-$, $\text{H}_2\text{O}-\text{OH}^-$. Le reazioni che avvengono tra un acido e una base vengono chiamate reazioni di neutralizzazione:



Queste reazioni possono avvenire in assenza di solventi, per esempio in fase gassosa ($\text{HCl} + \text{NH}_3$). Tra i solventi bisogna distinguere se il solvente prende parte alla reazione di neutralizzazione oppure se il solvente stesso può comportarsi da acido o da base, come nel caso dell’acqua. L’acqua può acquistare un protone durante la formazione di H_3O^+ (abbreviato come H^+) o perdere un protone quando forma OH^- . Il grado in cui gli acidi trasferiscono protoni all’acqua o le basi sottraggono protoni all’acqua, può essere descritto quantitativamente. Questo consente di classificare gli acidi e le basi di Brønsted sulla base della loro forza.

Acido		Base coniugata	
Acido perclorico	HClO_4	Ione perclorato	ClO_4^-
Acido iodidrico	HI	Ione ioduro	I^-
Acido bromidrico	HBr	Ione bromuro	Br^-
Acido cloridrico	HCl	Ione cloruro	Cl^-
Acido solforico	H_2SO_4	Ione solfato	SO_4^{2-}
Acido nitrico	HNO_3	Ione nitrato	NO_3^-
Ione idronio	H_3O^+	Acqua	H_2O
Ione idrogeno solfato	HSO_4^-	Ione solfato	SO_4^{2-}
Acido nitroso	HNO_2	Ione nitrito	NO_2^-
Acido acetico	CH_3COOH	Ione acetato	$\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^-$
Acido carbonico	H_2CO_3	Ione idrogeno carbonato	HCO_3^-
Ione ammonio	NH_4^+	Ammoniaca	NH_3
Ione idrogeno carbonato	HCO_3^-	Ione carbonato	CO_3^{2-}
Acqua	H_2O	Ione idrossido	OH^-
Metanolo	CH_3OH	Ione metossido	CH_3O^-
Ammoniaca		Ione ammido	NH_2^-

Oltre alla loro capacità di donare o accettare un protone, gli acidi e basi, specialmente nelle loro forme concentrate, mostrano alcune delle loro proprietà chimiche. Di seguito sono elencati gli acidi e le basi più importanti che sono venduti come soluzioni acquose, ad eccezione dell'acido solforico.

Acido/Base	% Peso/Volume	Densità	Concentrazione (mol l ⁻¹)
Hydrochloric acid (HCl)	37	1.19	12.08
Hydrofluoric acid (HF)	48	1.15	27.6
Nitric acid (HNO ₃)	65	1.40	14.5
Sulphuric acid (H ₂ SO ₄)	98	1.84	18.0
Ammonia (NH ₃)	27	0.90	14.3

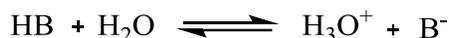
Attenzione: tutte queste sostanze sono molto caustiche.

Trasferimento di protoni in soluzione acquosa

Valori di pK, concetto di pH, acidi e basi forti, acidi e basi deboli

Gli acidi sono donatori di protoni, cioè sostanze in grado di trasferire uno o più protoni ad un accettore (una base). Inizialmente, per ragioni di semplicità, discuteremo di acidi con un solo protone: solo un protone deve essere trasferito.

Consideriamo l'equilibrio:



La legge dell'azione di massa per questa reazione può essere scritta come:

$$K' = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{B}^-]}{[\text{HB}][\text{H}_2\text{O}]}$$

dove:

HB = acido

B = base coniugata corrispondente

H₃O⁺ abbreviato come H⁺

[] = concentrazione o attività espressa come mol/L=M

K, K' = costanti

Se si considerano soluzioni acquose diluite, in cui le concentrazioni di H₃O⁺, HB e B sono minori di 1 M, la concentrazione dell'acqua nella soluzione può essere considerata costante.

In soluzioni acquose diluite, $[\text{H}_2\text{O}] = \text{costante}$, perché è di solito in grande eccesso.

Se $K' [\text{H}_2\text{O}] = K$, la legge dell'azione di massa può essere semplificata a

$$K = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{B}^-]}{[\text{HB}]}$$

Dalle definizioni di $\text{p}K = -\log K$ e $\text{pH} = -\log[\text{H}_3\text{O}^+]$, possiamo scrivere che:

$$\text{pH} = \text{p}K + \log \frac{[\text{B}^-]}{[\text{HB}]}$$

Acidi Forti

Un acido è tanto più forte quanto maggiore è la sua tendenza a donare protoni.



Maggiore è la forza dell'acido, più l'equilibrio sarà spostato a destra. Ad esempio, l'acido cloridrico HCl è un acido forte che, portato in acqua, forma una equivalente quantità di protoni H_3O^+ e una equivalente quantità di ioni cloruro. Le molecole di HCl, invece, non sono più rilevabili.

Per l'equilibrio sopra riportato è possibile scrivere una costante K

$$K = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{B}^-]}{[\text{HB}]}$$

che nel caso di acidi forti diventa piuttosto grande e di conseguenza, il valore di $\text{p}K$ piccolo: infatti gli acidi forti hanno piccoli valori di $\text{p}K$ (< 0).

Il valore di pH delle soluzioni acquose di acidi forti deriva direttamente dalla concentrazione di acido aggiunto, dal momento che per ogni HB si forma un nuovo H_3O^+ .

$$\text{pH} = -\log [\text{HB}]_{\text{aggiunto}}$$

dove

$[\text{HB}]_{\text{aggiunto}}$ è la concentrazione analitica dell'acido nel volume finale di liquido.

La concentrazione è data in mol L^{-1} .

Acidi Deboli

Per un acido debole, l'equilibrio



non è completamente spostato a destra. Solo una parte di protoni di HB aggiunti vengono trasferiti in acqua. Le specie H_3O^+ , B^- e HB sono presenti in concentrazioni simili, bilanciate da pK secondo l'equazione

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{B}^-]}{[\text{HB}]}$$

L'acido debole disciolto in acqua forma una concentrazione minore di ioni H_3O^+ , per cui il pH è più alto di quello di una soluzione di acido forte alla stessa concentrazione. Un caso particolare di acido debole è l'acqua, che, secondo l'equazione



trasferisce un protone ad un'altra molecola di acqua. Le legge dell'azione di massa applicata a questa reazione diventa

$$[\text{H}_3\text{O}^+] [\text{OH}^-] = K_w$$

dove

$$K_w = 10^{-14} \text{ M}^2 \text{ a } 20 \text{ }^\circ\text{C, } 101.3 \text{ kPa}$$

$$\text{p}K_w = -\log K_w = 14$$

In acqua pura, questo processo dà luogo alla formazione di uguali quantità di ioni H_3O^+ e OH^-

$$[\text{H}_3\text{O}^+] [\text{OH}^-] = [\text{H}_3\text{O}^+]^2 = 10^{-14} \text{ M}^2$$

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = 10^{-7} \text{ M}$$

$$\text{pH} = 7$$

Preparazione soluzioni di acidi e basi

DATA.....

Materiale necessario

- | | |
|--|---------------------------|
| 1. Matracci + tappo | 13. Tettarelle gomma |
| 2. Provette 16x150 mm | 14. Pipette pasteur |
| 3. Bacchetta vetro | 15. Becker 250 mL |
| 4. Acqua deionizzata (spruzzetta) | 16. Palla di peleo |
| 5. Acido cloridrico 37% | 17. Etichette adesive |
| 6. Sodio idrossido | 18. Pennarelli indelebili |
| 7. Navicella per pesata | 19. Schede di sicurezza |
| 8. Pipette graduate | 20. Vortex |
| 9. Spatola acciaio | 21. Bilancia analitica |
| 10. Contenitori ambrati con tettarella | 22. Bottiglia ambrata |
| 11. Imbuto | 23. Acido Fosforico |
| 12. Acido Solforico | 24. Acido Acetico |

Preparazione soluzione HCl 1M (20 mL)

1. Svolgere i calcoli e determinare la quantità di HCl necessaria

Riportare i calcoli in questo box (recuperare le informazioni necessarie direttamente dalla bottiglia sotto cappa laterale)

2. Consultare la scheda di sicurezza e ricercare **frasi di pericolo H** dell'acido cloridrico
3. **NOTA: L'ACIDO CLORIDRICO È ESTREMAMENTE CORROSIVO, MANEGGIARLO CON MOLTA ATTENZIONE. OLTRE ALLE PROTEZIONI GIÀ IN DOTAZIONE USARE I GUANTI ANTIACIDO**
4. In un becker versare circa 5 mL di acqua deionizzata con la spruzzetta e utilizzando la pipetta graduata da 5 mL posta sotto la cappa centrale, aggiungere HCl necessario (in base ai calcoli)
5. Agitare con l'ausilio di una bacchetta di vetro

6. In un matraccio da 20 mL, versare il contenuto del becher (acqua + HCl)
7. Lavare il becker e la bacchetta con piccoli volumi di acqua deionizzata e trasferire il contenuto nel matraccio
8. Portare a volume (fino al menisco) con acqua deionizzata usando la pipetta pasteur. Chiudere e agitare nuovamente
9. La soluzione è pronta. Lasciarla nel matraccio e riportare in questo con un pennarello indelebile HCl e le **frasi di pericolo H** associate
10. Misurare il pH della soluzione tramite cartina tornasole (usare la bacchetta di vetro per prelevare qualche goccia di soluzione)

Preparazione soluzione NaOH 1N (50 mL)

1. Svolgere i calcoli e determinare la quantità di NaOH necessaria

In questo box riportare i calcoli.

2. Consultare la scheda di sicurezza e ricercare **frasi di pericolo H**
3. Utilizzando il becker da 50 mL e una spatola prelevare dalla confezione di Sodio idrossido la quantità necessaria utilizzando la bilancia analitica
4. Trasferire il becker sotto la cappa personale
5. Aggiungere al sodio idrossido circa 20 mL di acqua deionizzata e agitare. Durante la fase di solubilizzazione si svolgerà calore. Una volta terminata la fase di solubilizzazione, attendere che la soluzione si raffreddi, quindi trasferire il contenuto del becker nel matraccio da 50 mL usando la pipetta pasteur o la bacchetta di vetro e l'imbuto di vetro
6. Lavare il becker con due aliquote da 5 mL di acqua deionizzata e trasferire il contenuto nel matraccio
7. Portare a volume con acqua deionizzata usando la pipetta pasteur e misurare il pH tramite cartina tornasole (usare la bacchetta di vetro per prelevare qualche goccia di soluzione)
8. La soluzione è pronta. Lasciarla nel matraccio e riportare in questo con un pennarello indelebile NaOH e le **frasi di pericolo H** associate.

Preparazione soluzione H_3PO_4 10mM (50 mL)

In questo box riportare i calcoli.

1. Consultare la scheda di sicurezza e ricercare **frasi di pericolo H** dell'acido fosforico
2. Utilizzando il becker da 50 mL e una pipetta pasteur prelevare dalla confezione di acido fosforico la quantità necessaria utilizzando la bilancia analitica
3. Trasferire il becker sotto la cappa personale
4. Aggiungere all'acido fosforico circa 20 mL di acqua deionizzata e agitare. Trasferire il contenuto del becker nel matraccio da 50 mL usando bacchetta di vetro e l'imbuto di vetro
5. Lavare il becker, l'imbuto e la bacchetta con diverse aliquote di acqua deionizzata e trasferire il contenuto nel matraccio
6. Portare a volume con acqua deionizzata prima usando la spruzzetta e poi la pipetta pasteur e misurare il pH tramite cartina tornasole (usare la bacchetta di vetro per prelevare qualche goccia di soluzione)
7. La soluzione è pronta. Lasciarla nel matraccio e riportare in questo con un pennarello indelebile H_3PO_4 e le **frasi di pericolo H** associate.

Preparazione soluzione di CH_3COOH 0.1 M (100 mL)

In questo box riportare i calcoli.

1. Consultare la scheda di sicurezza e ricercare **frasi di pericolo H** dell'acido acetico
2. Utilizzando il becker da 50 mL e una pipetta pasteur prelevare dalla confezione di acido acetico la quantità necessaria utilizzando la pipetta graduata
3. Trasferire il becker sotto la cappa personale
4. Aggiungere all'acido acetico circa 20 mL di acqua deionizzata e agitare. Trasferire il contenuto del becker nel matraccio da 100 mL usando bacchetta di vetro e l'imbuto di vetro

5. Lavare il becker, l'imbutto e la bacchetta con diverse aliquote di acqua deionizzata e trasferire il contenuto nel matraccio
6. Portare a volume con acqua deionizzata prima usando la spruzzetta e poi la pipetta pasteur e misurare il pH tramite cartina tornasole (usare la bacchetta di vetro per prelevare qualche goccia di soluzione)
7. La soluzione è pronta. Lasciarla nel matraccio e riportare in questo con un pennarello indelebile CH_3COOH e le **frasi di pericolo H** associate.

Preparazione soluzione H_2SO_4 0.1M (50 mL)

In questo box riportare i calcoli

8. Consultare la scheda di sicurezza e ricercare **frasi di pericolo H** dell'acido solforico
9. Preparare un'etichetta riportando nome del reattivo (acido solforico) e le **frasi di pericolo H** che trovate nella scheda di sicurezza e applicare questa etichetta alla bottiglia ambrata
10. **NOTA: L'ACIDO SOLFORICO È ESTREMAMENTE CORROSIVO, MANEGGIARLO CON MOLTA ATTENZIONE. OLTRE ALLE PROTEZIONI GIÀ IN DOTAZIONE USARE I GUANTI ANTIACIDO.**
11. Riempire la bottiglia ambrata con H_2SO_4 utilizzando una pipetta graduata da 10 mL e trasportare la bottiglia sotto la cappa personale utilizzando l'apposita vaschetta
12. In un matraccio da 50 mL, versare circa 10 mL di acqua deionizzata con la spruzzetta
13. Aggiungere l'acido solforico necessario (in base ai calcoli) usando la pipetta graduata
14. Chiudere il tappo del matraccio e agitare
15. Dopo un minuto circa portare a volume (fino al disco) con acqua deionizzata usando la spruzzetta prima e la pipetta pasteur dopo. Chiudere e agitare nuovamente
16. La soluzione è pronta. Lasciarla nel matraccio e riportare in questo con un pennarello indelebile H_2SO_4 e le **frasi di pericolo H** associate
17. Misurare il pH della soluzione tramite cartina tornasole (usare la bacchetta di vetro per prelevare qualche goccia di soluzione)

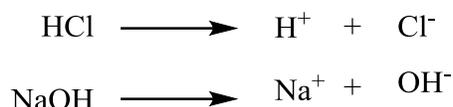
Preparazione tamponi a uno e due componenti

DATA.....

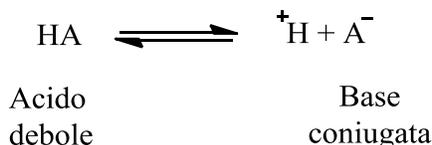
Preparazione di Tamponi al valore di pH desiderato

Un sistema tampone è una miscela di un acido debole o una base debole e il suo sale coniugato (acido/base coniugata o base/acido coniugato) che consente alle soluzioni di resistere a grandi cambiamenti di pH dopo l'aggiunta di piccole quantità di ioni idrogeno (H^+) o ioni idrossido (OH^-). Cosa significa questo? Un tampone aiuta a mantenere un pH quasi costante dopo l'aggiunta di piccole quantità di H^+ o OH^- ad una soluzione.

Nella definizione di un sistema tampone, va osservato che si fa riferimento ad acidi e basi deboli. Qual è la differenza tra un acido debole e un acido forte o una base debole e una forte? Acidi forti (ad esempio, HCl) e basi (ad esempio, NaOH) si ionizzano completamente in acqua:



Molti acidi e basi comunque non subiscono una completa ionizzazione in acqua. Questi composti sono quindi chiamati acidi e basi deboli. Molti acidi e basi organiche sono deboli. Gli acidi deboli non si dissociano completamente in acqua. La dissociazione di un acido debole è descritta dalla seguente equazione.

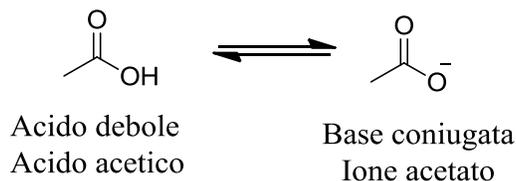


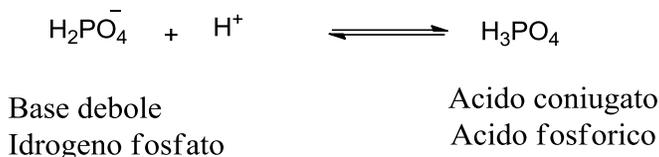
La base coniugata è quindi il prodotto della deprotonazione dell'acido debole.

La definizione di Bronsted-Lowry di acido e base è:

- Acido, un donatore di H^+
- Base, un accettore di H^+

Nel sistema acido/base descritto sopra, l'acido debole ha un H^+ in più della base coniugata, mentre la base coniugata ha un H^+ in meno del suo acido coniugato.





Si può analizzare la forza di un acido debole. Questo significa che la quantità di ioni H^+ rilasciata può essere determinata. Per fare questo, si può utilizzare l'espressione riportata di seguito.

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

Dove K_a è definita la costante di dissociazione

Più grande è il valore della K_a più forte è l'acido. Siccome il valore della K_a può variare in un range molto ampio, essi sono generalmente espressi come logaritmo negativo.

$$\text{pKa} = -\log K_a$$

Lo ione idrogeno è uno dei più importanti nei sistemi biologici. La concentrazione di questo ione influenza molti processi cellulari. Per esempio, la struttura e le funzioni di molte macromolecole biologiche e le velocità di molte reazioni biochimiche, sono fortemente influenzate da $[\text{H}^+]$. La scala del pH viene quindi utilizzata come metodo per esprimere la concentrazione degli ioni idrogeno.

Il pH viene definito come il logaritmo negativo della concentrazione degli ioni idrogeno:

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

L'equazione di Henderson-Hasselbalch permette di correlare pH, pKa e tamponi:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log [\text{A}^-]/[\text{HA}]$$

Se si esamina la dissociazione dell'acido acetico, l'equazione di Henderson-Hasselbalch diventa:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log [\text{CH}_3\text{COO}^-]/[\text{CH}_3\text{COOH}]$$

L'equazione di Henderson-Hasselbalch può essere usata per determinare se una soluzione acquosa di un sistema acido/base coniugata sta funzionando da tampone **perfetto**. Se la concentrazione dell'acido debole è uguale a quella della sua base coniugata, il rapporto tra questi due componenti è uno. Quando questo succede, poiché il log di 1 è 0, l'equazione di Henderson-Hasselbalch si riduce a:

$$\text{pH} = \text{pKa}$$

Quando il pH di una soluzione è uguale al pKa del gruppo che ionizza, la soluzione sta funzionando alla sua massima capacità tampone. Una soluzione acquosa di un sistema acido/base coniugato funziona come un **buon** tampone quando il rapporto tra base coniugata e acido va da 1/10 a 10/1. Se sostituiamo questi rapporti nell'equazione di Henderson-Hasselbalch, si vede come questa soluzione funziona come un **buon** tampone quando il pH della soluzione è vicino ad una unità di pH dal suo pKa:

$$\text{pH} = \text{pKa} \pm 1$$

poiché il log di (1/10) è -0.999 e il log di (10/1) è +0.999

Come usare l'equazione di Henderson-Hasselbalch

Preparazione Sistema a due componenti (Esempio)

In questo caso l'acido debole e la sua base coniugata sono aggiunti separatamente. Come si preparano 10 mL di un tampone fosfato 0.01 M a pH 7.40, da una soluzione madre 0.10 M di KH_2PO_4 e 0.25 M di K_2HPO_4 ? pK_a del $\text{KH}_2\text{PO}_4 = 7.20$.

1 Usiamo l'equazione di Henderson-Hasselbalch per trovare il rapporto A^-/HA

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log [\text{A}^-]/[\text{HA}]$$

$$7.40 = 7.20 + \log [\text{A}^-]/[\text{HA}]$$

$$0.20 = \log [\text{A}^-]/[\text{HA}] \quad 10^{0.2}$$

$$1.584893192 = [\text{A}^-]/[\text{HA}]$$

NOTA: siccome $[\text{A}^-]/[\text{HA}] = 1.584893192$, si può affermare che $[\text{A}^-]/[\text{HA}] = 1.584893192/1$. Quindi $[\text{A}^-] = 1.584893192$ e $[\text{HA}] = 1$

2 Calcolare la frazione decimale (parte/totale) di ciascun componente del tampone.

$$\text{A}^- = 1.584893192 / (1 + 1.584893192) = 1.584893192 / 2.584893192 = 0.61313682$$

$$\text{HA} = 1 / (1 + 1.584893192) = 1 / 2.584893192 = 0.38686318$$

3 Troviamo la Molarità (M) di ciascun componente del tampone semplicemente moltiplicando la molarità del tampone per la frazione decimale di ciascun componente.

$$M_{\text{A}^-} = 0.01 \text{ M} \times 0.61313682 = 0.006131368 \text{ M}$$

$$M_{\text{HA}} = 0.01 \text{ M} \times 0.38686318 = 0.0038686318 \text{ M}$$

4 Calcola le moli di ciascun componente nel tampone. Moli = Molarità x Litri del tampone

$$\text{moli}_{\text{A}^-} = 0.006131368 \text{ M} \times 0.01 \text{ L} = 6.131 \times 10^{-5} \text{ moli}$$

$$\text{moli}_{\text{HA}} = 0.0038686318 \text{ M} \times 0.01 \text{ L} = 3.869 \times 10^{-5} \text{ moli}$$

5 Calcolare il volume di ogni soluzione madre richiesto per preparare il tampone

$$L_{\text{A}^-} = 6.131 \times 10^{-5} \text{ moli} / 0.25 \text{ M} = 2.452 \times 10^{-4} \text{ L} = 245 \mu\text{L}$$

$$L_{\text{HA}} = 3.869 \times 10^{-5} \text{ moli} / 0.10 \text{ M} = 3.869 \times 10^{-4} \text{ L} = 387 \mu\text{L}$$

6 Per preparare questo tampone, bisogna usare pipette graduate per misurare e trasferire ogni componente in un matraccio da 10 mL, quindi portare a volume con acqua usando la pipetta pasteur.

Preparazione sistema tampone a singolo componente (Esempio)

Ciò significa che un componente della coppia acido/base coniugata sarà generata *in situ* (in soluzione). Nell'esempio che segue, la base coniugata sarà generata dalla reazione tra l'acido debole (acido acetico) e la base forte (sodio idrossido). Come prepareresti 10 ml di un tampone acetato 0.02M, pH 4.30, da una soluzione madre di acido acetico (HAc) 0.05M e di NaOH 0.05M? $pK_{a_{\text{acido acetico}}} = 4.76$.

- 1 Usa l'equazione di Henderson Hasselbalch per trovare il rapporto di A^-/HA .

$$pH = pK_a + \log [A^-]/[HA]$$

$$4.30 = 4.76 + \log [A^-]/[HA]$$

$$-0.46 = \log [A^-]/[HA] \qquad 10^{-0.46}$$

$$0.34673685 = [A^-]/[HA]$$

- 2 Calcolare la frazione decimale (parti/totale) di ciascun componente tampone.

$$A^- = 0.34673685 / (1 + 0.34673685) = 0.34673685 / 1.34673685 = 0.257464441$$

$$HA = 1.00 / 1.34673685 = 0.742535559$$

- 3 Trova la molarità (M) di ciascun componente nel tampone moltiplicando semplicemente la molarità del tampone dalla frazione decimale di ciascun componente.

$$M_{A^-} = 0.02 \text{ M} \times 0.257464441 = 0.005149289 = 5.15 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$M_{HA} = 0.02 \text{ M} \times 0.742535559 = 0.014850711 = 1.49 \times 10^{-2} \text{ M}$$

- 4 Calcola le moli di ciascun componente nel tampone. Moli = Molarità x Litri del tampone

$$\text{moli}_{A^-} = 0.005149289 \text{ M} \times 0.01 \text{ L} = 5.14929 \times 10^{-5} \text{ moli}$$

$$\text{moli}_{HA} = 0.014850711 \text{ M} \times 0.01 \text{ L} = 1.48507147 \times 10^{-4} \text{ moli}$$

- 5 Note: dal momento che questo tampone è preparato dalla reazione di un acido debole (HAc) con una base forte (NaOH), devi determinare le moli totali del componente acido debole necessarie affinché la base coniugata sia generata *in situ*.

Moli totali = 5.15×10^{-5} moli NaOH + 1.49×10^{-4} moli HAc = **2.00×10^{-4} moli HAc**. Questa somma indica che, sebbene nel tampone sono necessarie solo 1.49×10^{-4} moli di HA, un'aggiunta di 5.15×10^{-5} moli è necessaria per generare la base coniugata *in situ*.

- 6 Calcola il volume di ciascuna soluzione madre richiesta per preparare il tampone

Litri della soluzione madre = moli della soluzione tampone / Molarità della soluzione madre

$$L_{A^-} = 5.14929 \times 10^{-5} \text{ moli} / 0.05 \text{ M} = 1.03 \times 10^{-3} \text{ L di NaOH} = 1.0 \text{ mL}$$

$$L_{HA} = 2.00 \times 10^{-4} \text{ moli} / 0.05 \text{ M} = 4.00 \times 10^{-3} \text{ L di CH}_3\text{COOH} = 4.0 \text{ mL}$$

- 7 Per preparare questo tampone, si deve utilizzare una pipetta graduata o per misurare e trasferire ciascun componente in un matraccio da 10mL e portare a volume la soluzione con acqua.

Preparazione tampone ad un componente. Tampone fosfato, 0.3 M, pH 2.5 (100 mL)

Materiale necessario

1. Sodio idrossido Soluzione 1M
2. Acido fosforico
3. Becker 100 mL e 250 mL
4. Pipette pasteur
5. Matracci da 20 e 100 mL

Procedure sperimentale:

1. Svolgere i calcoli per preparare 100 mL 0.3 M di tampone fosfato pH 2.5, $pK_{a_{HA}}=2.12$

Spazio riservato ai calcoli

2. In un becker da 100 ml, pesare usando la bilancia analitica H_3PO_4 utilizzando una pipetta pasteur
3. Aggiungere circa 30 ml di acqua deionizzata all'acido fosforico
4. Lavare il becker, l'imbuto e la bacchetta con diverse aliquote di acqua deionizzata e trasferire il contenuto nel matraccio
5. Aggiungere la quantità di soluzione di NaOH necessaria per formare il tampone e porta a volume usando la pipetta pasteur
6. Utilizzando la cartina tornasole misurare il pH del tampone preparato

Preparazione tampone a due componenti

1. Potassio monoidrogeno fosfato
2. Potassio diidrogeno fosfato

Procedure sperimentale:

1. Preparare 100 mL di tampone fosfato 0.4M, pH 7.4 (pKa per l'acido debole = 7.2).

Riporta di seguito i calcoli per la preparazione del tampone

Per la preparazione di questo tampone la procedura deve essere sviluppata dallo studente. Riporta di seguito i vari step della procedura

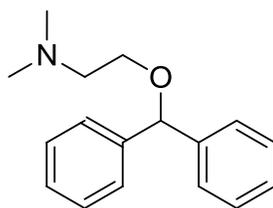
Saggi colorimetrici di riconoscimento

DATA.....

Materiale necessario

- | | |
|--|------------------------------------|
| 1. Matraccio 100 mL (numero 2) + tappo | 12. Diphenhydramine |
| 2. Provette 16x150 mm | 13. Provette graduate |
| 3. Bacchetta vetro | 14. Ferro cloruro |
| 4. Acqua deionizzata (spruzzetta) | 15. Acido salicilico |
| 5. Navicella per pesata | 16. Becker 250 mL |
| 6. Pipetta graduata 10 mL | 17. Palla di peleo |
| 7. Spatola acciaio | 18. Etichette adesive |
| 8. Tettarelle gomma | 19. Pennarelli indelebili |
| 9. Pipette pasteur | 20. Schede di sicurezza (Numero 5) |
| 10. Vetrino d'orologio | 21. Acido solforico |
| 11. Reattivo di Mandelin | 22. Bilancia analitica |

Diphenhydramine (Mandelin's test; Acido solforico)



Mandelin's test

- In un piccolo vetrino d'orologio porre una punta di spatola di **Diphenhydramine**
- Consultare la scheda di sicurezza del reattivo di Mandelin e prendere nota delle **frasi di pericolo H** associate
- NOTA: IL REATTIVO DI MANDELIN È ESTREMAMENTE CORROSIVO (ACIDO SOLFORICO), MANEGGIARLO CON MOLTA ATTENZIONE. USARE I GUANTI ANTIACIDO
- Aggiungere alla sostanza una goccia di reattivo di Mandelin prelevandolo tramite una pipetta pasteur.
- Osservare e prendere nota della colorazione
- Consultare la monografia della sostanza nel Clarke's Analysis of Drugs and Poisons Volume II

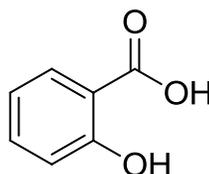
Colorazione Ottenuta

Test Acido solforico

1. In un piccolo vetrino d'orologio porre una punta di spatola di Diphenhydramine
2. Consultare la scheda di sicurezza dell'acido solforico e prendere nota delle **frasi di pericolo H** associate
3. **NOTA: L'ACIDO SOLFORICO È ESTREMAMENTE CORROSIVO, MANEGGIARLO CON MOLTA ATTENZIONE. USARE I GUANTI ANTIACIDO**
4. Aggiungere alla sostanza una goccia di acido solforico usando una pipetta pasteur
5. Osservare e prendere nota della colorazione
6. Consultare la monografia della sostanza nel Clarke's Analysis of Drugs and Poisons Volume II
7. **Prima di iniziare un nuovo saggio pulire la vetreria utilizzata**

Colorazione Ottenuta

Acido salicilico (Cloruro ferrico)



Saggio Cloruro ferrico

Preparazione soluzione cloruro ferrico 5% w/v in acqua distillata (5 mL)

1. Svolgere i calcoli e determinare la quantità di FeCl_3 necessaria

Riportare in questo box i calcoli

2. Utilizzando un becker da 100 o 50 mL e una **SPATOLA IN PLASTICA** (FeCl_3 **corrode il metallo**), pesare la quantità necessaria utilizzando la bilancia analitica, prelevando FeCl_3 dalla confezione
3. Aggiungere 5 mL di acqua distillata (usare il cilindro graduato per misurarla)
4. Agitare fino a dissoluzione

5. La soluzione è pronta. Lasciarla nel becker e riportare in questa con un pennarello indelebile FeCl_3 e le **frasi di pericolo H** associate

Svolgimento saggio

6. In un piccolo vetrino d'orologio porre una punta di spatola di acido salicilico (pochi mg)
7. Aggiungere alla sostanza alcune gocce della soluzione di FeCl_3 usando una pipetta pasteur
8. Osservare e prendere nota della colorazione
9. Consultare la monografia della sostanza nel Clarke's Analysis of Drugs and Poisons Volume II
10. Completato il test riportare nel vetrino acido salicilico + FeCl_3 usando il pennarello

Colorazione Ottenuta

Aspirina da urina: estrazione liquido-liquido e saggio colorimetrico

DATA.....

Materiale necessario

- | | |
|---|--|
| 1. Etile acetato | 9. Potassio idrossido o sodio idrossido soluzione 1M |
| 2. Acetonitrile | 10. Vortex |
| 3. Cicloesano | 11. Centrifuga |
| 4. Lana di vetro | 12. Provetta plastica con tappo a vite |
| 5. Pipette pasteur | 13. Provette vetro |
| 6. Campione biologico urina in provetta di plastica con tappo a vite 2.0 mL | 14. Ferro cloruro |
| 7. Acido cloridrico soluzione 1M | 15. Bagno di sabbia |
| 8. Tampone fosfato 0.3 M pH 2.5 | |

Riportare le Strutture dei tre solventi		
Etile acetato	Acetonitrile	Cicloesano

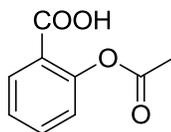
Procedura

1. Aggiungere al campione biologico (2 mL) 2 mL di tampone fosfato 0.3 M a pH 2.5
2. Vortex o agitare per 1 minuto
3. Aggiungere 3 mL di etile acetato
4. Vortex o agitare per circa 1 minuti
5. Bilanciare (**CHIEDERE AL DOCENTE DI ILLUSTRARE IL PROCESSO DI BILANCIAMENTO DELLA CENTRIFUGA**) e centrifugare per 5 minuti a 3000 giri
6. Prelevare la fase organica (Etile acetato) superiore tramite pipetta pasteur (**densità.....**), quindi in una seconda pipetta pasteur con lana di vetro bagnata con etile acetato filtrare la fase organica in una provetta di plastica con tappo a vite
7. Evaporare il contenuto della seconda provetta con tappo a vite (fase organica, etile acetato) a secco sotto corrente d'azoto
8. Avrete ottenuto un estratto secco
9. Aggiungere 2 mL di acetonitrile (**densità.....**)
10. Aggiungere 2 mL di cicloesano (**densità.....**)
11. Vortex per 2 minuti
12. Bilanciare e centrifugare per 5 minuti a 3000 giri
13. Prelevare lo strato superiore di cicloesano e scartarlo

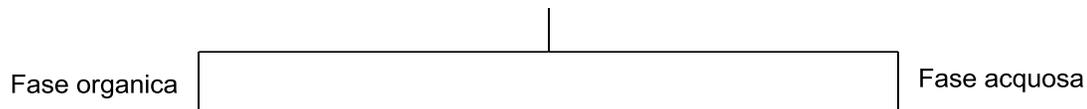
14. Prelevare con una pipetta pasteur lo strato inferiore di acetonitrile e trasferirlo in una provetta di vetro (16x75mm, provetta corta con fondo tondo). Se necessario lavare la provetta con una piccola quantità di acetonitrile per assicurarsi di avere recuperato tutta la soluzione estratta.
15. Evaporare la fase organica inferiore (acetonitrile) a secco sotto corrente d'azoto
16. L'aspirina (acido acetilsalicilico) è stata estratta.
17. Conservare una puntina di spatola di estratto secco di aspirina in una eppendorf per utilizzarla in successive analisi. La restante parte utilizzarla per il saggio di riconoscimento.
18. Eseguire saggio di riconoscimento cloruro ferrico. **NOTA BENE: L'ASPIRINA DEVE ESSERE PRIMA IDROLIZZATA**
19. Solubilizza il campione in un minimo volume di una soluzione NaOH o KOH 1M
20. Riscalda in bagno di sabbia per 2 minuti circa
21. Aggiungi HCl 1M per portare il pH a valori acidi in modo da evitare la precipitazione di $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (controlla che il pH sia acido tramite la cartina tornasole e la bacchetta)
22. Esegui quindi il saggio con cloruro ferrico (vedi precedente esperienza)
23. Esegui nuovamente il saggio usando aspirina standard senza eseguire l'idrolisi e dopo idrolisi.

Colorazione Ottenuta dopo idrolisi del campione	Colorazione Ottenuta usando aspirina standard	Colorazione Ottenuta usando aspirina idrolizzata

Completare lo schema estrattivo dell'aspirina ($pK_a = 3.5$) spiegando chimicamente i passaggi



In campione biologico



Estrazione Imipramina da sangue: estrazione liquido-liquido e saggio colorimetrico

DATA.....

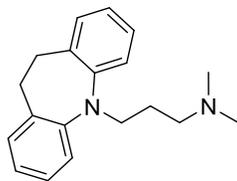
Materiale necessario

1. Cloruro di sodio
2. Sodio borato
3. Clorobutano
4. Sodio idrossido soluzione 1M
5. Acido solforico soluzione 0.1M
6. Tampone fosfato 0.4 M pH 7.4.
7. 1mL di campione biologico sangue (già nella provetta con tappo a vite)

Procedura

1. Al campione biologico, aggiungere 0.75 g di cloruro di sodio (per evitare la formazione di emulsioni, salting-out)
2. Vortex o agitare
3. **Preparare una soluzione satura di sodio borato**, misurare il pH con la cartina tornasole e aggiungere 2 mL di questa soluzione di sodio borato satura al campione biologico. Agitare al Vortex
4. Aggiungere 4 mL di clorobutano, agitare al vortex e centrifugare per 10 minuti a 3000 giri
5. Prelevare la fase organica tramite pipetta pasteur, quindi in una seconda pipetta pasteur con filtro di lana di vetro bagnato con clorobutano filtrare la fase organica in provetta con tappo a vite
6. La fase acquosa può essere scartata poiché abbiamo estratto la imipramina in solvente organico
7. Aggiungere 1.5 mL di H₂SO₄ 0.1 M alla fase organica, agitare al vortex, bilanciare e centrifugare per 5 minuti a 3000 giri
8. Prelevare la fase acquosa dalla provetta con tappo a vite e riporla in una seconda provetta con tappo a vite filtrandola con pipetta pasteur con filtro lana di vetro bagnato con acqua distillata
9. Aggiungere 0.25 mL di tampone fosfato 0.4 M (pH 7.4) e NaOH 1M a gocce fino a raggiungere pH 8-9 massimo (valutare con cartina tornasole)
10. Aggiungere 2.5 mL di clorobutano, Vortex, quindi centrifugare per 5 minuti a 3000 giri
11. Estrazione fase organica in provetta in vetro tramite pipetta pasteur riempita con lana di vetro bagnata con clorobutano
12. Evaporare a secco tramite corrente d'azoto sotto cappa laterale
13. Conservare una puntina di spatola di estratto secco di aspirina in una eppendorf per utilizzarla in successive analisi. La restante parte utilizzarla per il saggio di riconoscimento.
14. Eseguire il Mandelin's test aggiungendo qualche goccia d'acqua prima di aggiungere reattivo di Mandelin (colore blu).

Completare lo schema estrattivo della imipramina spiegando chimicamente i passaggi



In campione biologico

Fase organica

Fase acquosa

Estrazione di Difenidramina dal sangue: estrazione in fase solida e saggio colorimetrico

DATA.....

Materiale necessario

- | | | | |
|---|--------------------------------------|----|---|
| 1 | Campione biologico sangue 1 mL | 9 | SPE Bond Elut Certify Large Reservoir Capacity (LRC) Cartridges |
| 2 | Tampone fosfato 0.4 M a pH 7.4 | 10 | Metanolo |
| 3 | Vortex | 11 | Acido fosforico 10 mM |
| 4 | Centrifuga | 12 | Acido acetico 0.1 M |
| 5 | Pipette pasteur | 13 | Eppendorf |
| 6 | Provette con tappo a vite | 14 | Trietilammina |
| 7 | Lana di vetro | 15 | Reduced-pressure manifold |
| 8 | Cilindro graduato o pipetta graduata | | |

Procedura

1. In una provetta con tappo a vite, preparare 10 mL di una soluzione di MeOH 99.5% e 0.5% di trietilammina (v/v)

Riportare i calcoli per la preparazione della soluzione in questo box

2. Portare sotto cappa personale la provetta con tappo a vite contenente 1 mL di campione biologico sangue
3. Aggiungere 3 mL di tampone fosfato 0.4 M a pH 7.4
4. Vortex per omogeneizzare il campione
5. Centrifugare per 5 minuti a 4000 giri
6. Recuperare la soluzione (lasciare nella provetta il pellet di materiale depositato) e filtrarla in una seconda provetta con tappo a vite tramite pipetta pasteur con lana di vetro bagnata con tampone fosfato 0.4 M a pH 7.4
7. Assicurarci che la soluzione sia quanto più limpida possibile altrimenti eseguire una seconda filtrazione (**NOTA BENE: se la soluzione non è limpida intaserà la cartuccia inficiando il processo di estrazione**)
8. Inserire una provetta nuova con tappo a vite senza tappo all'interno del reduced-pressure manifold
9. Chiudere il coperchio del reduced-pressure manifold
10. Assicurarci che il rubinetto dei reduced-pressure manifold sia chiuso
11. Inserire la SPE nel reduced-pressure manifold (modello Bond Elut Certify Large Reservoir Capacity (LRC) Cartridges 300 mg, 10 mL)
12. Aggiungere alla colonna 3 mL di MeOH per condizionarla. A questo punto aprire la valvola che collega la SPE con il manifold facendo attenzione che ci sia una provetta di raccolta dentro il manifold (fare attenzione a non seccare la colonna)

13. Ripetere il condizionamento con 3 mL di tampone fosfato 0.4 M a pH 7.4 (fare attenzione a non seccare la colonna). Raccogliere l'eluato nella stessa provetta del metanolo
14. Aprire il manifold ed estrarre la provetta, quindi svuotare il contenuto nell'apposito bidone rifiuti quindi rimettere la provetta nel manifold
15. Caricare la colonna con il campione facendo attenzione che il rubinetto sia chiuso
16. Aprire il rubinetto e scaricare tutto il campione nella provetta appena inserita (velocità di eluizione bassa circa 1mL/min) (soluzione colore rosso)
17. Lavare la colonna con 3 mL acqua per eliminare le proteine ed evita la formazione di precipitati quando si eluiranno solventi
18. Cambiare il pH per eliminare dalla colonna le sostanze acide e neutre eluendo 1 mL di acido fosforico 10 mM, 0.5 mL di acido acetico 0.1 M quindi alle fine eluire 1 mL di metanolo
19. Inserire una nuova provetta in **VETRO** all'interno del reduced-pressure manifold
20. Eluire con 3 mL di una miscela di MeOH 99.5% e 0.5% di trietilammina a bassa velocità di flusso (~0.5 mL/min)
21. Evaporare il solvente sotto corrente d'azoto (cappa laterale).
22. Conservare una puntina di spatola di estratto secco di aspirina in una eppendorf per utilizzarla in successive analisi. La restante parte va suddivisa in due diverse provette in **VETRO** per il saggio di riconoscimento.
23. Eseguire i saggi di riconoscimento con il Mandelin's reagent e con l'acido solforico.

Mandelin's test	Saggio acido solforico

Completare lo schema estrattivo della Difenidramina spiegando chimicamente i passaggi



In campione biologico

Eluato

Fase solida

Cromatografia su strato sottile (TLC)

DATA.....

Materiale necessario

- | | |
|--|--------------------------------|
| 1. Caffaina | 9. Ammonio idrossido soluzione |
| 2. Benzocaina | 10. Acetone |
| 3. Ketoprofene | 11. Eppendorf |
| 4. Imipramina cloridrato | 12. Lastrine |
| 5. Etile acetato | 13. Etanolo |
| 6. Metanolo | 14. Capillari |
| 7. Camera TLC | 15. Aspirina |
| 8. Cilindro graduato o la pipetta graduata | |

Preparazione standard

- In tre diverse eppendorf solubilizzare separatamente una puntina di spatola (pochi mg) di ogni standard (caffaina, benzocaina, ketoprofene) in un piccolo volume di etanolo. Con il pennarello riportare una sigla della sostanza disciolta sulla eppendorf.

Preparazione Sistema cromatografico

Sistema per TLC	Fase stazionaria (Lastrina)	Fase mobile 10 ml
TE	Gel di silice GF ₂₅₄ , con spessore 250 µm su supporto di alluminio	Etilacetato–metanolo–ammonio idrossido soluzione (85:10:5) (v:v:v)
TL	Gel di silice GF ₂₅₄ , con spessore 250 µm su supporto di alluminio, immerso in una soluzione 0.1 M di KOH in metanolo e seccata (fase stazionaria modificata)	Acetone
TF	Gel di silice GF ₂₅₄ , con spessore 250 µm su supporto di alluminio	Etilacetato

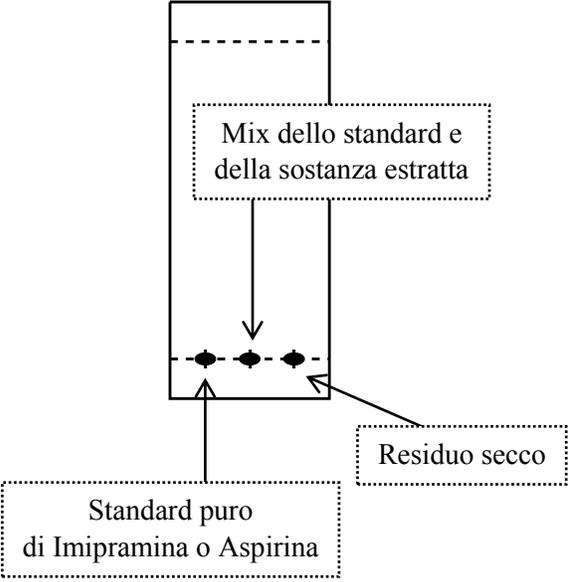
- Preparazione fase stazionaria modificata sistema TL. In una lastrina standard segnare con la matita una linea continua a circa 1.5 cm dal fondo, sulla linea disegnare tre puntini e sotto i puntini il nome della sostanza. Immergere la lastrina e lasciarla circa 20 secondi in una soluzione di KOH 0.1 M in MeOH (La soluzione è sotto la cappa laterale). Sotto cappa, estrarre la lastrina e lasciare asciugare sotto cappa. Le fasi stazionarie (lastrine) degli altri sistemi (TE, TF) non hanno bisogno di modifiche.
- In una camera per TLC usando il cilindro graduato o la pipetta graduata preparare le camere circa 10 minuti prima dello sviluppo della lastrina. Il volume da usare è 10 mL per ogni camera.

Esecuzione TLC con sostanze standard

1. Preparare la lastrina cromatografica 10x4 cm (circa). Segnare con la matita una linea a circa 1.5 cm dal fondo. Sulla linea disegnare tre piccoli puntini opportunamente distanziati. Riportare sotto il puntino il nome della sostanza.
2. Con il capillare prelevare il campione precedentemente solubilizzato nella eppendorf e depositarlo sul puntino corrispondente. In ogni lastrina si devono depositare tre diversi campioni. Una volta depositati i tre campioni, guardare alla lampada UV se le tre macchie sono visibili.
3. Evaporare il solvente della semina lasciando qualche istante sotto cappa.
4. Mettere la lastrina nella camera e chiudere il coperchio.
5. Dopo l'eluizione (il fronte del solvente deve arrivare a circa 1 cm dal margine superiore della lastrina) estrarre la lastrina e segnare il fronte del solvente con la matita.
6. Evaporare il solvente lasciando la lastrina sotto la cappa.
7. Visualizzare la lastrina alla lampada UV e segnare le macchie con la matita.
8. Calcolare l' R_f delle sostanze e riportare i dati nella tabella riportata di seguito.

	R_f calcolati		
	TE	TL	TF
Caffeina			
Benzocaina			
Ketoprofene			

TLC degli estratti secchi

Illustrazione preparazione TLC per residuo secco da estrazione [Imipramina (TE), Aspirina (TF), o Difendramina (TE)] 	Riportare i risultati della TLC
	Imipramina
	Aspirina
	Difendramina