

SCHEDA LABORATORIO SCIENTIFICO n. 11

TITOLO: CHIMICA BIOORGANICA – BIOORGANIC CHEMISTRY

Responsabile: ANTONIO FIORENTINO

Settori Scientifico-Disciplinari di riferimento:

CHIM/06

RADoR: BRIGIDA D'ABROSCA, ANTONIO FIORENTINO, MONICA SCOGNAMIGLIO

Tipologia: CHIMICO

Gruppi afferenti: CHIMICA, STRUTTURA E BIOATTIVITÀ DI SOSTANZE ORGANICHE NATURALI

LOCALIZZAZIONE E DESCRIZIONE

- piano seminterrato del corpo A del DiSTABiF (locale 148.1)
- superficie: 46 m²; volume 169 m³
- n. 8 postazioni di lavoro

ATTIVITÀ SVOLTE NEL LABORATORIO

- Preparazione di estratti organici
- Separazione cromatografica su scala analitica o preparativa di metaboliti secondari da estratti organici
- Modifiche chimiche di gruppi funzionali di sostanze naturali

RELAZIONE SINTETICA DESCRITTIVA DEL CICLO DI LAVORO E DELLE MODALITÀ OPERATIVE

1. Preparazione di estratti organici

Estrazione per macerazione

Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite.

- Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio e mascherina).
- Preparare tutta la componente di vetreria necessaria al processo (falconi in vetro borosilicato, beker, beute, etc.)
- Preparare il campione liofilizzato da estrarre, polverizzarlo in mortaio e pesarlo su bilancia analitica.
- Trasferire il liofilizzato in un flacone e aggiungere il solvente estraente.
- Conservare i flaconi al buio in armadi idonei per il tempo descritto dal protocollo
- Filtrare la soluzione e poi rimuovere il solvente con l'utilizzo di un evaporatore rotante, in modo da ottenere una polvere o un olio, a seconda delle caratteristiche chimico-fisiche del prodotto.
- Lavare tutta la vetreria e riposizionarla negli armadi.

Estrazione per infusione

Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite.

- Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio e mascherina).

- Preparare tutta la componente di vetreria necessaria al processo (flaconi in vetro borosilicato, beker, beute, etc.)
- Preparare il campione liofilizzato da estrarre, polverizzarlo in mortaio e pesarlo su bilancia analitica.
- Trasferire il liofilizzato in una beuta pirex e aggiungere il solvente estraente (acqua o soluzione idroalcolica)
- Riscaldare il preparato su una piastra riscaldante fino alla temperatura prevista di protocollo
- Togliere la beuta dalla piastra e attendere che la temperatura raggiunga quella ambiente.
- Filtrare la soluzione e poi rimuovere il solvente con l'utilizzo di un evaporatore rotante, in modo da ottenere una polvere o un olio, a seconda delle caratteristiche chimico-fisiche del prodotto.
- Lavare tutta la vetreria e riposizionarla negli armadi.

Estrazione assistita da ultrasuoni

Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite.

- Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio e mascherina).
- Preparare tutta la componente necessaria al processo (provette tipo Falcon, flaconi in vetro borosilicato, beker, beute, etc.)
- Preparare il campione liofilizzato da estrarre, polverizzarlo in mortaio e pesarlo su bilancia analitica.
- Trasferire il liofilizzato nelle provette tipo falcon (per estrazioni con acqua o soluzioni idroalcoliche) o in provettoni in borosilicato (per estrazioni con solventi organici)
- Estrarre mediante ultrasuoni con una soluzione idroalcolica o con altri solventi organici per un'ora
- Centrifugare e filtrare la soluzione e poi rimuovere il solvente con l'utilizzo di un evaporatore rotante, in modo da ottenere una polvere o un olio, a seconda delle caratteristiche chimico-fisiche del prodotto.
- Lavare tutta la vetreria e riposizionarla negli armadi.

Estrazione in Soxhlet

Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite.

- Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio e mascherina).
- Preparare tutta la componente necessaria al processo (estrattore Soxhlet, condensatori, palloni in vetro borosilicato, becher, beute, etc.)
- Preparare il campione liofilizzato da estrarre, polverizzarlo in mortaio e pesarlo su bilancia analitica.
- Trasferire il liofilizzato nell'estrattore Soxhlet e aggiungere il solvente estraente descritto nel protocollo. Montare l'estrattore su un pallone di grandezza idonea contenente il solvente estraente e montare il condensatore collegato ad un sistema di refrigerazione.
- Accendere la piastra e estrarre per il tempo descritto dal protocollo.
- Raffreddare la soluzione, filtrare la soluzione e poi rimuovere il solvente con l'utilizzo di un evaporatore rotante, in modo da ottenere una polvere o un olio, a seconda delle caratteristiche chimico-fisiche del prodotto.

- Lavare tutta la vetreria e riposizionarla negli armadi.

Estrazione in discontinuo

Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite.

- Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio e mascherina).
- Preparare tutta la componente di vetreria necessaria al processo (imbuto separatore, anello di sostegno, beute etc.)
- Preparare il campione che viene solubilizzato, si consideri che la soluzione da separare sia costituita da un soluto e da un diluente, così chiamato per evitare confusione con il solvente.
- Procedere all'aggiunta della soluzione estraente in modo che vi sia il passaggio del campione nella soluzione estraente. Ripetere la procedura più volte, come definito nel protocollo seguito.
- Lavare la soluzione estraente con soluzioni differenti a seconda del protocollo.
- Procedere alla rimozione delle tracce acquose con l'ausilio di un anidrificante
- Filtrare la soluzione e poi rimuovere il solvente con l'utilizzo di un evaporatore rotante, in modo da ottenere una polvere o un olio, a seconda delle caratteristiche chimico-fisiche del prodotto.
- Lavare tutta la vetreria e riposizionarla negli armadi.

Estrazione in fase solida

Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite.

- Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio e mascherina).
- Preparare tutta la componente di vetreria necessaria al processo (imbuto separatore, anello di sostegno, beute etc.)
- Equilibrare la cartuccia viene equilibrata con un solvente per bagnare il sorbente.
- Far percolare attraverso la fase solida la soluzione di carico contenente l'analita. Idealmente, l'analita e alcune impurità vengono trattenute sul sorbente.
- Lavare il sorbente per rimuovere le impurità.
- Raccogliere l'analita durante questa fase di eluizione.
- rimuovere il solvente con l'utilizzo di un evaporatore rotante, in modo da ottenere una polvere o un olio, a seconda delle caratteristiche chimico-fisiche del prodotto.
- Lavare tutta la vetreria e riposizionarla negli armadi.

2. Separazione cromatografica su scala analitica o preparativa di metaboliti secondari da estratti organici

Cromatografia TLC analitica

Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite.

- Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio e mascherina).
- Preparare tutta la componente di vetreria necessaria al processo (Camera cromatografica, capillari, cilindro etc.)
- Tagliare una lastra cromatografica in base al numero di campioni da analizzare
- Sciogliere i campioni in una qualità di solvente idoneo che consente di ottenere una concentrazione di circa 1-3 mg in 0,5 ml di solvente. La soluzione ottenuta deve essere omogenea.

- Seminare una goccia di soluzione in un punto della lastra cromatografica a circa 1 cm dal fondo, con l'aiuto di un capillare di vetro
- Preparare la soluzione eluente
- Tagliare un foglio di carta da filtro delle dimensioni adeguate e inserirlo nella camera cromatografica
- Aggiungere il solvente e attendere qualche minuto che bagni per capillarità il foglio di carta assorbente
- Inserire la lastra nella camera cromatografica e far eluire fino ad 1 cm circa dal bordo superiore
- Togliere la lastra dalla soluzione eluente e asciugare sotto cappa con l'aiuto di un fon tenendo il vetro della cappa abbassato
- Osservare la lastra alla luce UV
- Carbonizzare la lastra con una soluzione di acido acetico – acido solforico -acqua

Cromatografia su colonna

Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite.

- Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio e mascherina).
- Scegliere le dimensioni della colonna cromatografica in base al quantitativo di campione da separare.
- Scegliere la fase mobile in base alla solubilità del campione.
- Se la colonna non possiede già un setto poroso, inserire ovatta sul fondo della colonna con una bacchetta di vetro.
- Pesare rapidamente i grammi di SiO_2 (fase stazionaria) in una beuta e miscelarli accuratamente con il solvente prescelto (fase mobile).
- Tenendo chiuso il rubinetto, versare nella colonna la sospensione di gel di silice (SiO_2) servendosi di un imbuto.
- Far fluire l'eccesso di solvente dalla colonna lasciando un sottile strato di solvente (ricordarsi di riversarlo nel cilindro e calcolare il volume morto) sulla silice.
- Chiudere la colonna e aggiungere, con una pipetta, la soluzione del campione sulla silice facendola scorrere lungo le pareti per un caricamento omogeneo.
- Aprire la colonna e far adsorbire dalla fase stazionaria questa soluzione.
- Lavare il pallone con il solvente, prelevare con la pipetta e lavare con questi le pareti della colonna
- Far adsorbire dalla fase stazionaria questa soluzione e subito dopo aggiungere lentamente lungo le pareti il solvente fino alla sommità della colonna.
- Far fluire l'eluente attraverso la colonna e raccogliere frazioni successive e numerate in diverse provette
- Mantenere il livello alto del solvente nella colonna aggiungendo solvente in piccoli volumi fino all'eluizione completa della banda colorata del primo prodotto.
- Raccogliere tutte le frazioni ritenute necessarie (servendosi di TLC per verificare l'effettiva presenza del prodotto)
- Fermare la colonna.
- Assicurarsi della presenza del prodotto mediante TLC, riunire le provette che lo contengono in un pallone tarato e se necessario isolare anche gli altri prodotti eseguendo le stesse operazioni.
- Portare a secco i palloni al rotavapor e pesare dopo completo allontanamento del solvente.

3. Modifiche chimiche di gruppi funzionali di sostanze naturali

Lavorare sotto cappa chimica e indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio).

Le sostanze organiche sono modificate tramite sintesi in soluzione e successivamente purificate tramite cromatografia su colonna.

Protocollo utilizzo bilancia analitica

Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite dal costruttore.

- Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio)
- Assicurarsi che lo strumento sia "in bolla" come indicato dal sistema in caso contrario mette mediante i piedi regolabili con viti; la bolla d'aria della livella deve trovarsi dentro la zona s
- Accendere lo strumento ed attendere la corretta accensione del display.
- Assicurarsi della pulizia della zona di pesata, procedere ad eventuale taratura dello str assicurandosi che la bilancia si sia stabilizzata al corretto peso visualizzato sul display (i misura). L'oggetto della pesata deve sempre essere messo in posizione centrale al piatto. Ne un contenitore di raccolta, si deve poi procedere all'azzeramento schiacciando il tasto tara
- Procedere alle pesate e assicurandosi che il valore di pesata raccolto sia quello alla corretta strumento.
- Una volta ultimate le pesate, procedere allo spegnimento dello strumento e alla sua contaminazioni o errori di pesata futuri.

LISTA DELLE ATTREZZATURE PRESENTI:

1. Bilancia tecnica	n. 1
2. Bilance analitiche	n. 2
3. Compressore	
4. Lampada UV	n. 1
5. Piastre riscaldanti/agitanti	n. 2
6. Pompe a membrana da vuoto	n. 3
7. Reactivap	
8. Rotavapor	n. 2
9. Sistema di refrigerazione Chiller	n. 1
10. Stufa	n.1

LISTA DEI DISPOSITIVI DI PROTEZIONE GENERALE (DPG):

1. Cappa chimica	n. 2
2. Cappa chimica per distillazione	n. 1
3. Armadio per liquidi infiammabili	n. 1

LISTA DEI DISPOSITIVI DI PROTEZIONE INDIVIDUALI (DPI) AD USO PERSONALE DEGLI OPERATORI:

- Camice antiacido
- Occhiali di protezione
- Guanti in nitrile e in lattice (varie misure)
- Visiera
- Guanti per autoclave
- Mascherine a carbone attivo per acidi/solventi

Categorie ISI WEB di riferimento:

Categorie ERC di riferimento:

- ✓ PE5_17 Organic chemistry
- ✓ PE4_2 Spectroscopic and spectrometric techniques
- ✓ PE4_5 Analytical chemistry
- ✓ PE4_7 Chemical instrumentation
- ✓ PE4_9 Method development in chemistry
- ✓ PE5_18 Molecular chemistry
- ✓ LS1_10 Structural biology (NMR)
- ✓ LS2_4 Metabolomics
- ✓ LS9_6 Food sciences

Rifiuti Prodotti:

- **Liquidi Alogenati** (Codice 07.01.03) descrizione: Solventi organici alogenati, soluzioni di lavaggio e acque madri. Lo smaltimento viene effettuato con taniche chiuse e sigillate che presentano l'opportuna etichetta che ne indica il contenuto e classe di pericolo. Una volta sigillate ed etichettate vengono portate nell'apposito magazzino temporaneo di smaltimento rifiuti, collocandole nella propria sezione del magazzino dopo aver compilato la relativa scheda deposito temporaneo di rifiuti speciali pericolosi, firmata dal RAdoR.
- **Liquidi non Alogenati** (Codice 07.01.04) descrizione: Solventi organici non alogenati, soluzioni di lavaggio, acque madri. Lo smaltimento viene effettuato con taniche chiuse e sigillate che presentano l'opportuna etichetta che ne indica il contenuto e classe di pericolo. Una volta sigillate ed etichettate vengono portate nell'apposito magazzino temporaneo di smaltimento rifiuti, collocandole nella propria sezione del magazzino dopo aver compilato la relativa scheda deposito temporaneo di rifiuti speciali pericolosi, firmata dal RAdoR.
- **Rifiuti Solidi Contaminati** (Codice 16.05.06) descrizione: Imballaggi di laboratorio chimicamente contaminati (Guanti, Falcon, Eppendorf e Pasteur).
Lo smaltimento viene effettuato in contenitori chiusi e sigillati che presentano l'opportuna etichetta che ne indica il contenuto e classe di pericolo. Una volta sigillate ed etichettate vengono portate nell'apposito magazzino temporaneo di smaltimento rifiuti, collocandole nella propria sezione del magazzino dopo aver compilato la relativa scheda deposito temporaneo di rifiuti speciali pericolosi, firmata dal RAdoR.
- **Imballaggi** (Codice 15.01.10) descrizione: Flacons solventi vuoti chimicamente contaminati. Lo smaltimento viene effettuato in contenitori chiusi e sigillati che presentano l'opportuna etichetta che ne indica il contenuto e classe di pericolo. Una volta sigillate ed etichettate vengono portate nell'apposito magazzino temporaneo di smaltimento rifiuti, collocandole nella propria sezione del magazzino dopo aver compilato la relativa scheda deposito temporaneo di rifiuti speciali pericolosi, firmata dal RAdoR.
In caso di bottiglie in vetro contenenti solventi bassobollenti si effettua bonifica e riciclo del contenitore e smaltimento in isola ecologica.

[SCHEDE DI SICUREZZA](#)