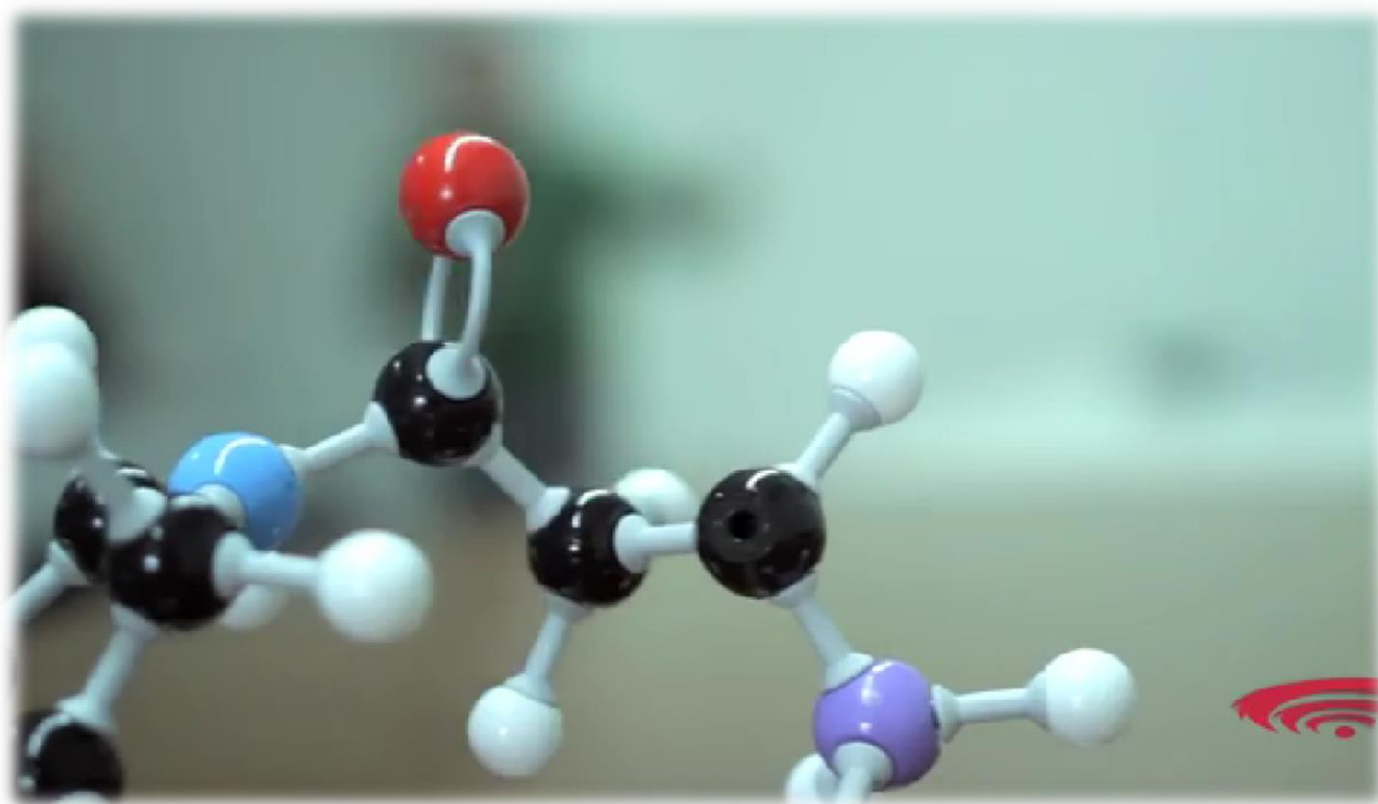


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ



# ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ



**ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΟΝΤΟΠΙΔΗΣ**  
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΚΑΡΔΙΤΣΑ  
2016



Εικόνα εξωφύλλου:

Στιγμιότυπο από το εργαστήριο στα  
πλαίσια της παρουσίασης του προγράμματος:  
**ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΚΕΝΤΡΩΝ ΑΡΙΣΤΕΙΑΣ  
ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΤΟΥ ΠΘ.**

Το Υπουργείο Παιδείας και Θρησκευμάτων, Πολιτισμού και Αθλητισμού  
αναγνώρισε τη δράση Ακαδημαϊκής και Επιστημονικής Αριστείας  
στο Τμήμα της Κτηνιατρικής:  
Βραβεύοντας τον Αναπληρωτή Καθηγητή Γεώργιο Κοντοπίδη, πάνω στην:

***“Αναγνώριση αριστείας στη  
στοχευμένη ανάπτυξη φαρμακευτικών ουσιών”***

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περιεχόμενα	3
Εισαγωγικό μάθημα – Εργαστήρια Βιοχημείας	4
<b>Ασφάλεια και Κανόνες Εργαστηρίου</b>	6
Σχέδιο παρουσίασης των εργασιών των φοιτητών	8
<b>Χημικά αντιδραστήρια και γυάλινα σκεύη</b>	9
Διεθνή σύμβολα κινδύνου	14
<b>Επίπεδα Βιοασφάλειας – Μέθοδοι Απολύμανσης</b>	16
<b>Εισαγωγή στην Εργαστηριακή Διαδικασία</b>	27
<b>Συνήθειες Εργαστηριακοί Υπολογισμοί</b>	30
Σχέδιο ευθύνης οργάνων εργαστηρίου ανά ομάδα	32
<i>1<sup>η</sup> Άσκηση</i>	
<b>Παρασκευή Διαλυμάτων</b>	35
<i>2<sup>η</sup> Άσκηση</i>	
<b>Προσδιορισμός pH Διαλυμάτων</b>	38
<i>3<sup>η</sup> Άσκηση</i>	
<b>Παρασκευή και χρήση Ρυθμιστικών Διαλυμάτων</b>	42
<i>4<sup>η</sup> Άσκηση</i>	
<b>Ογκομετρική Ανάλυση (εξουδετέρωση οξέος από βάση)</b>	50
<i>5<sup>η</sup> Άσκηση</i>	
<b>Ρυθμιστική Ικανότητα Ζωοτροφής (Buffer Capacity)</b>	54
<i>6<sup>η</sup> Άσκηση</i>	
<b>Προσδιορισμός Χλωριούχων σε Ζωοτροφή</b>	58
<i>7<sup>η</sup> Άσκηση</i>	
<b>Ποσοτικός Προσδιορισμός Ασκορβικού Οξέος</b>	63
<i>8<sup>η</sup> Άσκηση</i>	
<b>Ιονικές Ιδιότητες Αμινοξέων</b>	67
<i>9<sup>η</sup> Άσκηση</i>	
<b>Φασματοφωτομετρικές μέθοδοι προσδιορισμού</b>	72
<i>10<sup>η</sup> Άσκηση</i>	
<b>Φωτομετρικός Προσδιορισμός Ιχνοστοιχείων με Βιολογική Σημασία</b>	77
<i>11<sup>η</sup> Άσκηση</i>	
<b>Προσδιορισμός BOD αποβλήτων</b>	82
<b>Παράρτημα - Α</b>	
Χρήση Ηλεκτρονικού Πεχάμετρου	90
<b>Παράρτημα - Β</b>	
ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ – ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ	91
ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΣΤΕΡΕΟΥ/ΥΓΡΟΥ - ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ	98
<b>Παράρτημα – Γ</b>	
ΦΡΟΝΤΙΣΤΗΡΙΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ	106
Βιβλιογραφία	113
Ευχαριστήρια	114

## Εισαγωγικό μάθημα - Εργαστήρια Βιοχημείας

### Βασικοί στόχοι εργαστηρίου Βιοχημείας για την Κτηνιατρική Επιστήμη

Εκπαίδευση φοιτητών ώστε να φτάσουν σε ένα επαρκές για Κτηνιάτρους επίπεδο για προετοιμασία για το επόμενο στάδιο 2<sup>ο</sup> και 3<sup>ο</sup> έτος (διαφορετικά επίπεδα πρακτικής και θεωρητικής γνώσης εισακτέων)

Ιδιαιτερότητες Κτηνιάτρου σε σχέση με γιατρό (Ζωοτεχνία, διατροφή, Υγιεινή Τροφίμων)

Εξοικείωση με εργαστήρια, βασικές τεχνικές με σκοπό την επάρκεια για παρασκευή ενός διαλύματος και απλό προσδιορισμό ουσίας.

Η βασικές γνώσεις διαφορετικές και συνεχεία του λυκείου για να κατανοήσει διατροφή, φυσιολογία, Βιοχημεία και τα λοιπά (σε αυτό συμβάλουν και αλλά βασικά μαθήματα όπως Φυσική, οικολογία κτλ)

### Βασικοί Κανόνες εργαστηρίου των Γενικών Αρχών Βιοχημείας

Προσέλευση σε ακριβή ώρα!! (πχ.09.00)

Είναι απαραίτητο για να γίνει η εισαγωγή στην άσκηση της ημέρας, οι καταγραφές των φοιτητών/τριών, οι ερωτήσεις και η παράδοση των εργασιών της προηγούμενης άσκησης ...

αλλιώς δεν θα ολοκληρωθεί το εργαστήριο που διαρκεί δύο ώρες!

Παράδοση της εργασίας (αποτελέσματα και επεξεργασία) προηγούμενης άσκησης

Αλλιώς το προσωπικό επιφορτίζεται με επιπλέον εργασία την επόμενη εβδομάδα. Στην εργασία αναγράφεται ημερομηνία άσκησης, ημερομηνία παράδοσης, άτομα που έλαβαν μέρος και φυσικά απαντήσεις, επεξεργασία δεδομένων άσκησης

Τα αντιδραστήρια είναι μετρημένα, δυσεύρετα, ακριβά

και δεν προλαβαίνουμε να ετοιμάσουμε καινούργια (σε 20 λεπτά) εάν τα καταστρέψετε ή τα χρησιμοποιήσετε λάθος. Συνεχίζετε δανειζόμενοι δεδομένα από την διπλανή ομάδα

Τα σκευή είναι μετρημένα, δυσεύρετα, ακριβά

και δεν μπορούμε να βρούμε καινούργια (σε 20 λεπτά) εάν τα καταστρέψετε ή τα χρησιμοποιήσετε λάθος.

Συνεχίζεται δανειζόμενοι δεδομένα ή σκευή από την διπλανή ομάδα.

## **Συμβουλές προετοιμασίας για το εργαστηριακό μάθημα**

Ξυπνητήρι στις 08.00

Διάβασμα 10-15 λεπτά (στο λεωφορείο) διαδικασία άσκησης, βήματα, τι κάνουμε με τι σειρά το κάνουμε.

Βοηθάει να μην καταστρέφετε αντιδραστήρια.

Βοηθάει να παίρνετε επιπλέον βαθμό απαντώντας σε ερωτήσεις

Βοηθάει να τελειώνετε την άσκηση στον ακριβή χρόνο που σας δίνετε

Βοηθάει να μην βιάζεστε και καταστρέφετε τα σκεύη

Βοηθάει να κατανοείτε καλύτερα τι κάνετε

Συνεργασία ομάδας.

Είναι πάρα πολύ δύσκολο να τελειώσουν κάποιες από τις ασκήσεις με ένα μόνο άτομο. Απαιτείται συνεργασία. Κάποιος/α να κάνει υπολογισμούς, κάποιος/α να παρακολουθεί μετρήσεις και να καταγραφεί αποτελέσματα, κάποιος/α να χειρίζεται όργανο ή σκεύος

## **ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ**

Κατά την παραμονή αλλά και καθ' όλη τη διάρκεια της άσκησης σε ένα βιοχημικό εργαστήριο ακολουθείται η τήρηση των παρακάτω κανόνων ασφάλειας:

- Δεν εργάζεται κανείς μόνος του στο εργαστήριο. Η παρουσία του υπεύθυνου είναι απαραίτητη.
- Χρησιμοποιείται πάντοτε εργαστηριακή ποδιά.
- Απαγορεύεται αυστηρά το κάπνισμα μέσα στον εργαστηριακό χώρο.
- Αποφεύγεται η οποιαδήποτε επαφή χημικών αντιδραστηρίων με το δέρμα (χέρια, πρόσωπο κλπ. )
- Δεν δοκιμάζονται γευστικά τα αντιδραστήρια.
- Απαγορεύεται ο αυτοσχεδιασμός με άγνωστα αντιδραστήρια ξένα προς το αντικείμενο της εκάστοτε πειραματικής άσκησης.
- Τα αναφλέξιμα υγρά (αλκοόλες, αιθέρας, βενζόλιο κλπ.) θερμαίνονται σε ειδικά υδρόλουτρα ή ελαιόλουτρα και ποτέ σε γυμνή φλόγα.
- Τα οξέα αραιώνονται με προσθήκη οξέος σε νερό και ποτέ αντίστροφα.
- Οι φιάλες των αντιδραστηρίων δεν απομακρύνονται από τη θέση τους. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ποσότητες αντιδραστηρίων μεγαλύτερες από αυτές που αναφέρει η οδηγία της άσκησης.
- Δεν εισπνέονται άμεσα από τα δοχεία αντιδραστηρίων ατμοί ή αέρια αντιδραστήρια. Όταν αυτό χρειασθεί μετακινήστε το χέρι σας από το στόμιο προς τη μύτη, μεταφέροντας έτσι μικρή ποσότητα ατμών ή αερίου.
- Τυχόν προβλήματα ή ατυχήματα γνωστοποιούνται έγκαιρα στον υπεύθυνο.
- Μετά το τέλος της εργασίας και πριν την απομάκρυνση από το εργαστήριο πλένονται καλά τα χέρια και το πρόσωπο.

## ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

- Έγκαιρη προσέλευση στο εργαστήριο. Το πείραμα ξεκινά **το αργότερο 10 λεπτά** μετά την καθορισμένη ώρα προσέλευσης στο εργαστήριο.
- Προετοιμασία της εργαστηριακής άσκησης πριν την εκτέλεσή της (προετοιμασία στο σπίτι). Θα γίνεται εξέταση του βαθμού κατανόησης της ασκήσεως από τους διδάσκοντες με ερωτήσεις.
- Παράδοση (γραπτώς) της προηγούμενης άσκησης που πραγματοποιήθηκε, πριν από την εκτέλεση της νέας άσκησης (μη παράδοση θα βαθμολογείτε αρνητικά).
- Αποφεύγονται οι άσκοπες μετακινήσεις και η δημιουργία θορύβου.
- Στο χώρο του εργαστηρίου απαγορεύεται αυστηρά η λήψη τροφής.
- Μιλάτε χαμηλόφωνα και απευθύνεστε στους υπεύθυνους του εργαστηρίου για οποιοδήποτε πρόβλημα στην πορεία της άσκησης. Συνεργαστείτε επίσης, με τα μέλη της ομάδας σας για τυχόν διευκρινήσεις.
- Μετά το τέλος της εργασίας καθαρίζονται οι εργαστηριακοί πάγκοι. Τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν καθαρίζονται και τοποθετούνται στις θέσεις τους.
- Φοιτητές χωρίς ποδιά, δεν μπορούν να μετέχουν σε πειραματικές εργασίες.
- Η παράδοση των αντιδραστηρίων και των σκευών – οργάνων απαραίτητων για την άσκηση γίνεται στην αρχή του εργαστηρίου. Καταστροφή ή μη δόκιμη χρήση τους, βαραίνει την ομάδα των φοιτητών και δεν αντικαθίσταται.
- Όλα τα σκεύη θα καθαρίζονται στον εργαστηριακό σας πάγκο. Όλα τα απόβλητα θα συλλέγονται σε ένα ποτήρι ζέσεως.

**ΓΕΝΙΚΟ ΣΧΕΔΙΟ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ ΤΩΝ ΦΟΙΤΗΤΩΝ**

<b>Αριθμός άσκησης :</b>	<b>Τίτλος Άσκησης:</b>
<b>Ημερομηνία άσκησης:</b>	<b>Ημερομηνία παράδοσης:</b>
<b>Ομάδα:</b> <b>(ονόματα μελών ομάδας και υπογραφές)</b>	



## ΧΗΜΙΚΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΓΥΑΛΙΝΑ ΣΚΕΥΗ

**Χημικά αντιδραστήρια** είναι οι διάφορες χημικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στο εργαστήριο για τη διεξαγωγή των πειραμάτων. Οι ουσίες αυτές είναι είτε ανόργανες είτε οργανικές και τα χαρακτηριστικά τους διακρίνονται στην επιγραφή (ετικέτα), που υπάρχει σε κάθε φιάλη ή δοχείο του χημικού αντιδραστήριου (Σχήμα 1).

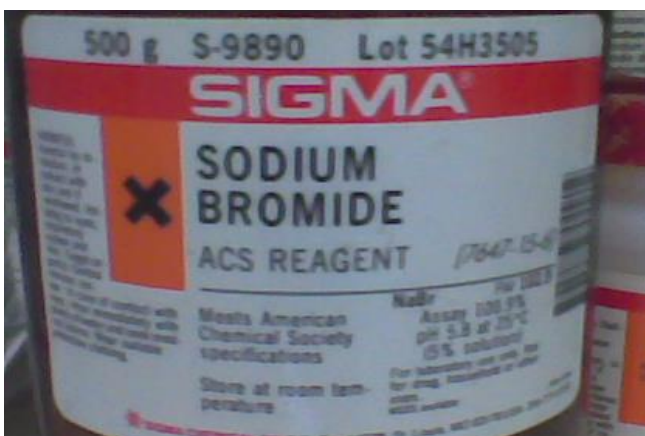
**Στην επιγραφή** αυτή αναφέρονται συνήθως στοιχεία που αφορούν το όνομα του χημικού αντιδραστήριου, το χημικό του τύπο, το μοριακό του βάρος και το βαθμό καθαρότητας του. Όταν το περιεχόμενο αντιδραστήριο βρίσκεται σε μορφή διαλύματος αναφέρεται ακόμη η περιεκτικότητά του καθώς και το ειδικό του βάρος. Επίσης όταν πρόκειται για υγρές ουσίες αναφέρονται το ειδικό βάρος και το σημείο ζέσεως του αντιδραστήριου.

*Η επιγραφή της φιάλης διαβάζεται προσεκτικά πριν τη χρήση των αντιδραστηρίων.*

### ΣΗΜΑΝΣΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ

Η **σήμανση** των χημικών ουσιών στοχεύει στην ενημέρωση των χρηστών σχετικά με τους κινδύνους από τα χημικά αντιδραστήρια και τον ασφαλή χειρισμό τους. Οι ετικέτες των χημικών ουσιών πρέπει να δείχνουν με ευκρίνεια:

- το όνομα της χημικής ουσίας
- το όνομα, τη διεύθυνση και το τηλέφωνο του παρασκευαστή ή/και του εισαγωγέα
- το σύμβολο επικινδυνότητας της χημικής ουσίας
- τις φράσεις κινδύνου και προστασίας
- την ποσότητα που περιέχεται στο δοχείο
- τα δοχεία με τα διαλύματα πρέπει να αναγράφουν ευκρινώς τη σύστασή τους και το όνομα του χρήστη



**Σχήμα 1:** Ετικέτα δοχείου αντιδραστήριου

**Οι στερεές ουσίες** ζυγίζονται με ακρίβεια στο εργαστηριακό ζυγό και κατόπιν μεταφέρονται στο τελικό σκεύος. Η μεταφορά τους δεν γίνεται απ' ευθείας στο τελικό σκεύος αλλά μέσω καθαρού γυαλιού ή κάψας ή καθαρού χαρτιού κατάλληλα διαμορφωμένου για τη μεταφορά και την απόχυση της ουσίας στο τελικό σκεύος.

**Για τις υγρές ουσίες και τα διαλύματα** ο προσδιορισμός της μάζας τους γίνεται συνήθως μέσω της μέτρησης του όγκου τους. Για το λόγο αυτό τα όργανα μέτρησης όγκου υγρών έχουν ιδιαίτερη θέση σε κάθε χημικό εργαστήριο. Ανάλογα με τον όγκο και την ακρίβεια που θέλουμε να μετρήσουμε χρησιμοποιούμε τα κατάλληλα γυάλινα σκεύη. Τα συνηθισμένα όργανα μέτρησης όγκου υγρών είναι οι ογκομετρικές φιάλες, τα σιφώνια, οι προχοϊδες και οι ογκομετρικοί κύλινδροι.

Στις επόμενες σελίδες, παρουσιάζονται ενδεικτικά μερικά από τα σημαντικότερα εργαστηριακά υάλινα σκεύη (Σχήμα 2).

Ειδικότερα στο **Σχήμα 3**, παρουσιάζονται τα σημαντικότερα γυάλινα **σκεύη ογκομέτρησης** καθώς και η ακρίβεια μέτρησης του όγκου για κάθε σκεύος.

**Προσοχή!! Κάθε όργανο έχει διαφορετική ακρίβεια.**

Επίσης, στο Σχήμα 4, παρουσιάζεται ο ενδεδειγμένος τρόπος ανάγνωσης της τιμής του όγκου που δείχνει η κλίμακα σε κάθε ογκομετρικό σκεύος. Σε πολλά γυάλινα σκεύη, αναγράφεται επάνω στο γυαλί η ολική χωρητικότητά τους αλλά και η βαθμονομημένη χωρητικότητά τους (Σχήμα 5).

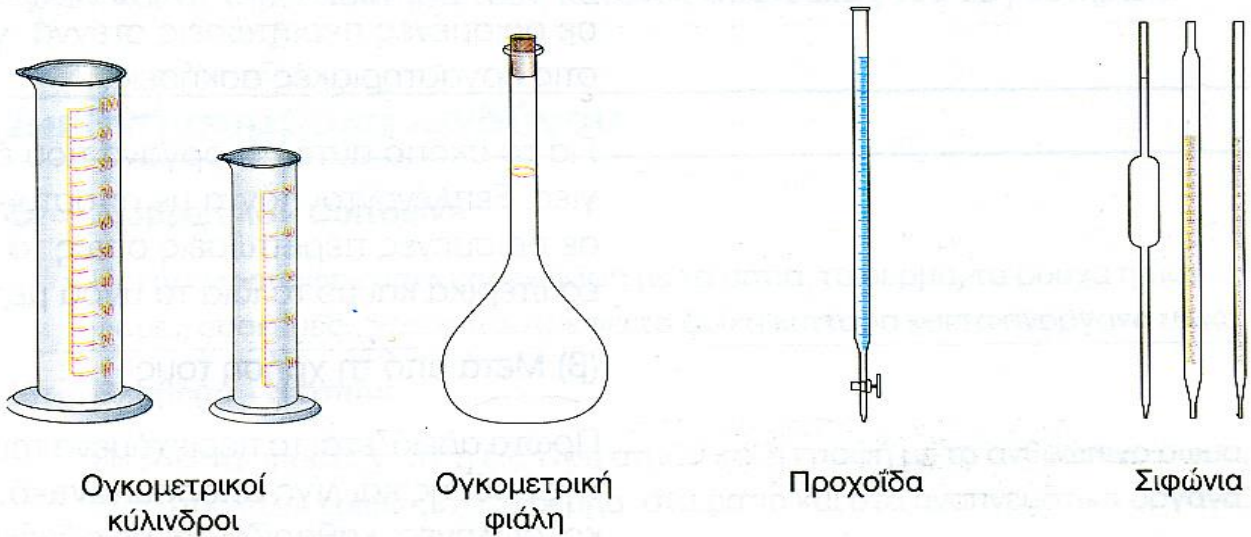
Εκτός όμως των παραπάνω υάλινων σκευών, στο εργαστήριο χρησιμοποιούνται και ορισμένες ηλεκτρονικές συσκευές ενόργανης ανάλυσης και ζύγισης, όπως: ***αναλυτικός ζυγός, ηλεκτρονικό πεχάμετρο, φασματοφωτόμετρο και φυγόκεντρος***. Αυτές παρουσιάζονται στα Σχήματα 7, 8, 9 και 10.

Τέλος, παρουσιάζεται πίνακας με τα διεθνή σύμβολα κινδύνου, τα οποία μπορεί να υπάρχουν επάνω στις ετικέτες των δοχείων των αντιδραστηρίων.

## Μερικά όργανα του εργαστηρίου



**Σχήμα 2:** Μερικά υάλινα εργαστηριακά σκεύη.



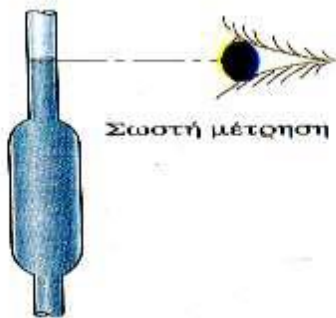
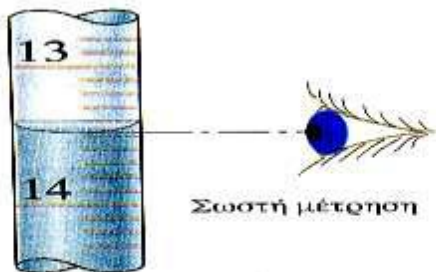
**Σχήμα 3:** Υάλινα εργαστηριακά σκεύη ογκομέτρησης.

Ογκομετρικός κύλινδρος = 0,7 ακρίβεια

Ογκομετρική φιάλη = 0,1 ακρίβεια

Προχοΐδα = 0,1 ακρίβεια

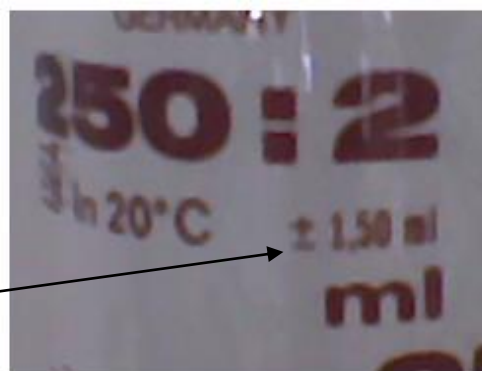
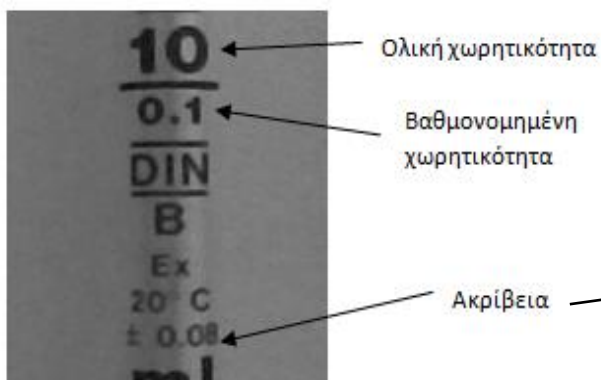
Σιφώνιο = 0,1 ακρίβεια



**Σχήμα 4:**

Ανάγνωση τιμής όγκου σε ογκομετρικό  
Η ανάγνωση στην κλίμακα μέτρησης του όγκου, γίνεται στο σημείο του μηνίσκου που σχηματίζει το υγρό εντός του σωλήνα.





**Σχήμα 5:** Φωτογραφία ενός σιφωνίου.

**Σχήμα 6:** Φωτογραφία ενός ογκομετρικού κυλίνδρου

Μπορείτε να διακρίνετε: την ολική χωρητικότητά, την βαθμονομημένη χωρητικότητα, ακρίβεια μέτρησης καθώς και την μονάδα μέτρησης (ml).



**Σχήμα 7:** Αναλυτικός Ζυγός



**Σχήμα 8:** Πεχάμετρο



**Σχήμα 9:** Φασματοφωτόμετρο



**Σχήμα 10:** Φυγόκεντρος

## ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΜΒΟΛΑ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

### Διεθνή σύμβολα κινδύνου



#### **C Διαβρωτικό - Corrosive**

Πρέπει να αποφεύγεται κάθε επαφή με τα μάτια, το δέρμα, τα ρούχα ή τις διάφορες συσκευές, διότι καταστρέφει τα ζωικά κύτταρα και τα ανόργανα υλικά.



#### **Xn Βλαβερό - Harmful**

Πρέπει να αποφεύγεται η εισπνοή ατμών και η επαφή με το ανθρώπινο σώμα, διότι προκαλεί ερεθισμό στο δέρμα, στα μάτια και στα αναπνευστικά όργανα.

#### **XI Ερεθιστικό - Irritant**



#### **T+ Πολύ τοξικό - Very Toxic**

Πρέπει να αποφεύγεται οποιαδήποτε επαφή με το δέρμα και τα μάτια, καθώς και η εισπνοή του.

#### **T Τοξικό - Toxic**



#### **F Πολύ Εύφλεκτο - Highly Flammable**

Πρέπει να φυλάγεται μακριά από γυμνή φλόγα, εστίες θέρμανσης, ηλεκτρικούς σπινθήρες και να μην έρχεται σε επαφή με θερμές επιφάνειες.

#### **F+ Εξαιρετικά Εύφλεκτο - Extremely Flammable**



#### **O Οξειδωτικό - Oxidizing**

Πρέπει να διατηρείται μακριά από γυμνή φλόγα, εστίες θέρμανσης και ηλεκτρικούς σπινθήρες.











#### **E Εκρηκτικό - Explosive**

Πρέπει να διατηρείται μακριά από γυμνή φλόγα, εστίες θέρμανσης, ηλεκτρικούς σπινθήρες, και ν' αποφεύγεται η τριβή και η κρούση.



Σημασία των συμβόλων που χρησιμοποιούνται στην ετικέτα

Σημασία	Σύμβολο	Περιγραφή των κινδύνων	Παραδείγματα προϊόντων	Προληπτικά μέτρα
Τοξικό (T) Πολύ τοξικό (T+)		- Τοξικές και επιβλαβείς ουσίες και συσκευασμένα που παρουσιάζουν, ακόμη και σε μικρές ποσότητες, κίνδυνο για την υγεία. - Αν η σοβαρότητα των επιπτώσεων στην υγεία εκδηλώνεται με πολύ μικρές ποσότητες, το προϊόν σημειώνεται με το τοξικό σύμβολο.	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Μεθανόλη, φωτιστικό αινοπνευμα, αποσμητικά, στεγανωτικά σπρέι</li> <li>● απολυμαντικά (κρεολίνη)</li> <li>● π.χ. σπρέι φανοποιίας</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Για να αποφύγετε κάθε επαφή με το δέρμα χρησιμοποιείτε προστατευτικά μέσα: γάντια, προσωπίδα, προστατευτικό ένδυμα κλπ.</li> <li>◆ Προτιμάτε να εργάζεστε στο ύπαιθρο ή σε καλά αεριζόμενο χώρο.</li> <li>◆ Καλή υγιεινή: πλύντε τα χέρια σας, μην τρώτε ή καπνίζετε ποτέ κατά τη διάρκεια της χρήσης.</li> <li>◆ Τα προϊόντα σε αεροζόλ είναι πιο επικίνδυνα (εισπνοή!).</li> <li>◆ Κρατείστε τα μακριά από τα παιδιά!</li> </ul>
Επιβλαβές (Xn)		- Αυτά τα προϊόντα διεισδύουν στον οργανισμό με εισπνοή, κατάποση ή από το δέρμα.	<ul style="list-style-type: none"> <li>● αποσμητικά, τριχλωραιθυλένιο</li> <li>● διαλυτικά για χρώματα</li> <li>● προϊόντα καθαρισμού</li> <li>● προϊόντα για την προστασία και την επεξεργασία του ξύλου</li> <li>● αντισκωριακά για χρώματα</li> </ul>	
Εύφλεκτο (F) Πολύ εύφλεκτο (F+)		- (F) Τα εύφλεκτα προϊόντα αναφλέγονται παρουσία μίας φλόγας, μίας πηγής θερμότητας (θερμή επιφάνεια) ή μίας σπίθας. - (F+) Προϊόν που μπορεί να αναφλεχθεί πολύ εύκολα από τη δράση μίας πηγής ενέργειας (φλόγα, σπίθες κλπ.), ακόμη και κάτω από 0° C.	<ul style="list-style-type: none"> <li>● πετρέλαιο, βενζίνη</li> <li>● φωτιστικό αινοπνευμα ή μεθανόλη</li> <li>● τερεβινθέλαιο, λευκό αινοπνευμα</li> <li>● ακετόνη, καθαριστικά για πινέλα, διαλυτικά για χρώματα</li> <li>● χρώματα σε αεροζόλ, μεταλλικά χρώματα</li> <li>● αντιπαγετικά για τζάμια</li> <li>● κόλλες επαφής, κόλλες (νεοπρένιο)</li> <li>● αποσμητικά χώρου</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Αποθηκεύετε τα προϊόντα σε καλά αεριζόμενο χώρο.</li> <li>◆ Μην τα χρησιμοποιείτε ποτέ κοντά σε πηγή θερμότητας, ή σε θερμή επιφάνεια, κοντά σε σπίθες ή σε ακάλυπτη φλόγα.</li> <li>◆ Απαγορεύεται το κάπνισμα!</li> <li>◆ Μη φοράτε νάιλον ρούχα και έχετε πάντα πρόχειρο έναν πυροσβεστήρα κατά τη διάρκεια της χρήσης εύφλεκτων προϊόντων</li> <li>◆ Διατηρείτε τα εύφλεκτα προϊόντα (F) καλά διαχωρισμένα από τα οξειδωτικά προϊόντα (O).</li> </ul>
Οξειδωτικό (O)		- Η καύση (οξειδωση) χρειάζεται μια καύσιμη ύλη, οξυγόνο και μια πηγή ανάφλεξης· επιταχύνεται σημαντικά από την παρουσία ενός οξειδωτικού προϊόντος (ουσίας πλούσιας σε οξυγόνο).		

Διαβρωτικό (C)		- Οι διαβρωτικές ουσίες προκαλούν σοβαρές βλάβες στους ζωντανούς ιστούς και πλήττουν επίσης και άλλα υλικά. Η αντίδραση μπορεί να οφείλεται στην παρουσία νερού ή υγρασίας.	<ul style="list-style-type: none"> <li>● αποφρακτικά για σωληνώσεις, αφαιρετικά ακαθαρσιών</li> <li>● καυστική σόδα, αντισκωριακά</li> <li>● οξεία, θειικό οξύ (μπαταρίες)</li> <li>● καθαριστικά για φούρνους, τουαλέτες</li> <li>● απορρυπαντικά πιάτων (σε υγρή κατάσταση)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Διατηρείτε τα προϊόντα στην αρχική τους συσκευασία (δοχεία καλά κλεισμένα - πάματα ασφαλείας).</li> <li>◆ Διατηρείτε τα προϊόντα μακριά από τα παιδιά.</li> <li>◆ Προσέχετε κατά την τακτοποίηση. Μην αποθέτετε ποτέ σε πρεβάζια κλπ. (κίνδυνος πτώσης!).</li> <li>◆ Προστατέψτε τα μάτια, το δέρμα κλπ. από οποιοδήποτε πισσίωμα. Να είστε πολύ προσεκτικοί όταν χύνετε το προϊόν ή όταν το πασπαλίζετε. Να χρησιμοποιείτε πάντα προστατευτικά γάντια και γυαλιά.</li> <li>◆ Πρώτα απ' όλα η υγιεινή: μετά τη χρήση πλύντε καλά τα χέρια και το πρόσωπο.</li> <li>◆ Ως «πρώτες βοήθειες» το ξέπλυμα με άφθονο νερό για 10 λεπτά είναι αποτελεσματικό.</li> <li>◆ Τα διαβρωτικά προϊόντα σε αεροζόλ είναι επικίνδυνα!</li> </ul>
Ερεθιστικό (Xi)		- Η επανειλημμένη επαφή προκαλεί φλεγμονές στο δέρμα και στις βλεννογόνους.	<ul style="list-style-type: none"> <li>● χλωρίνη</li> <li>● τερεβινθέλαιο</li> <li>● καυστική αμμωνία</li> <li>● ρητίνη από πολυεστέρα</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Αποφύγετε την υπερθέρμανση, τα χτυπήματα, προστατέψτε τα από τις ηλιακές ακτίνες κλπ.</li> <li>◆ Μην τα τοποθετείτε ποτέ κοντά σε πηγές θερμότητας, λαμπτήρες, θερμαντικά σώματα κλπ.</li> <li>◆ Ρητή απαγόρευση του καπνίσματος!</li> </ul>
Εκρηκτικό (E)		- Η έκρηξη είναι εξαιρετικά γρήγορη καύση και εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του προϊόντος, τη θερμοκρασία (πηγή θερμότητας), επαφή με άλλα προϊόντα (αντίδραση), χτυπήματα, την τριβή κλπ.	<ul style="list-style-type: none"> <li>● τα κάθε είδους αεροζόλ (ακόμη και άδεια) είναι δυνατόν να εκραγούν πάνω από τους 50° C:</li> <li>● αποσμητικά χώρου, λάκ μαλλιών, χρώματα, βερνίκια, αντιπαγετικά για παρμπρίζ κλπ.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Απομακρύνετε το προϊόν ή τα υπολείμματά του με τα μέτρα προφύλαξης που ισχύουν για τα επικίνδυνα προϊόντα.</li> <li>◆ Αποφύγετε τη μόλυνση του περιβάλλοντος αποθηκεύοντας σωστά τα προϊόντα.</li> </ul>
Επικίνδυνο για το περιβάλλον (N)		Ουσίες: - ιδιαίτερα τοξική για τους υδρόβιους οργανισμούς· - τοξική για την πανίδα· - επικίνδυνη για το στρώμα του όζοντος.	<ul style="list-style-type: none"> <li>● ενεργά συστατικά των εντομοκτόνων</li> <li>● χλωροφθοράνθρακες (CFC)</li> </ul>	

## ΕΠΙΠΕΔΑ ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑΣ – ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ

### Βιοασφάλεια

Βασικός κανόνας για την ασφάλεια αποτελεί ότι η αντιμετώπιση όλων των μικροοργανισμών και μολυσματικών παραγόντων θα πρέπει να γίνεται με τέτοιο τρόπο σαν να πρόκειται για δυνητικά επικίνδυνους για την ανθρώπινη υγεία παράγοντες και κατά συνέπεια επιβάλλεται η εφαρμογή βασικών κανόνων ασφάλειας. Επειδή η σοβαρότητα των προβλημάτων που μπορούν να προκληθούν στον άνθρωπο ποικίλει ανάλογα το παθογόνο, υπάρχει ταξινόμηση ανάλογα των διαθέσιμων πληροφοριών σχετικά με την επικινδυνότητά του (οι οποίες και αναπροσαρμόζονται ανά τακτά χρονικά διαστήματα), σε ομάδες έτσι ώστε να είναι εκ των προτέρων γνωστός ο βαθμός κινδύνου στον οποίο εκτίθεται ο εργαζόμενος.

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) ταξινομεί τα παθογόνα ως:

- Ομάδα κινδύνου 1

Κανένας ή χαμηλός κίνδυνος για το άτομο και την κοινότητα

- Ομάδα κινδύνου 2

Μέτριος κίνδυνος για το άτομο, χαμηλός κίνδυνος για την κοινότητα, διαθέσιμη θεραπεία

- Ομάδα κινδύνου 3

Υψηλός κίνδυνος για το άτομο, χαμηλός κίνδυνος για την κοινότητα, διαθέσιμη θεραπεία και πρόληψη

- Ομάδα κινδύνου 4

Υψηλός κίνδυνος για το άτομο και για την κοινότητα, συνήθως μη διαθέσιμη αποτελεσματική αγωγή και προφύλαξη



Παρακάτω εμφανίζονται περιληπτικά τα επίπεδα βιοασφάλειας που ισχύουν στα εργαστήρια.

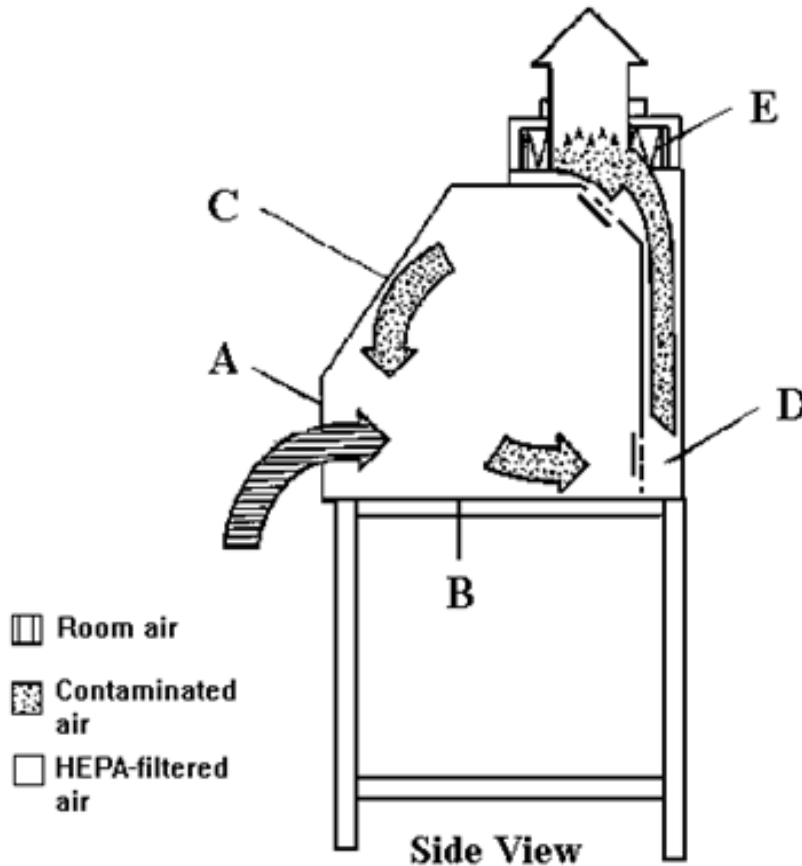
<b>Ομάδα Κινδύνου</b>	<b>Επίπεδο Βιοασφάλειας</b>	<b>Είδος Εργαστηρίου</b>	<b>Εργαστηριακή Πρακτική</b>	<b>Εξοπλισμός Ασφαλείας</b>
<b>1</b>	Βασικό Επίπεδο Βιοασφάλειας 1	Βασική εκπαίδευση και έρευνα	Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές (ΚΕΠ)	Κανείς, ανοιχτός πάγκος
<b>2</b>	Βασικό Επίπεδο Βιοασφάλειας 2	Πρωτοβάθμια φροντίδα υγείας διαγνωστικές υπηρεσίες, έρευνα	ΚΕΠ+ προστατευτικός Ρουχισμός, Σήμανση Βιοκινδύνων	Θάλαμος Βιολογ. Ασφάλειας (ΘΒΑ) για aerosols
<b>3</b>	Απομόνωση Επίπεδο Βιοασφάλειας 3	Ειδικές διαγνωστικές υπηρεσίες έρευνα	Επίπεδο 2 + ειδικός Ρουχισμός, ελεγχόμενη Πρόσβαση, κατευθυνόμενος Αερισμός	ΘΒΑ ή/και άλλες διατάξεις για όλες τις δραστηριότητες
<b>4</b>	Απομόνωση Επίπεδο Βιοασφάλειας 4	Επικίνδυνες Μονάδες Παθογόνων	Επίπεδο 3 + αεροστεγής είσοδος, ντους εξόδου, ειδική αποκομιδή απορριμμάτων	ΘΒΑ, στολές θετικής πίεσης, αποστειρωτής 2 όψεων, φιλτραρισμένος αέρας

Ο Κώδικας Καλής Εργαστηριακής Πρακτικής που αναφέρεται παραπάνω συνοψίζεται στο ότι:

- Ο Κώδικας Καλής Εργαστηριακής Πρακτικής αποτελεί το θεμέλιο για την ασφάλεια του Εργαστηρίου.
- Ο εξειδικευμένος εργαστηριακός εξοπλισμός αποτελεί ένα σημαντικό συμπλήρωμα των πρακτικών και των διαδικασιών που πρέπει να ακολουθούνται απαρεγκλίτως.
- Η πρόσβαση στο Εργαστήριο επιτρέπεται στο εξουσιοδοτημένο προσωπικό μόνον, ενώ απαιτείται ευκρινής σήμανση.

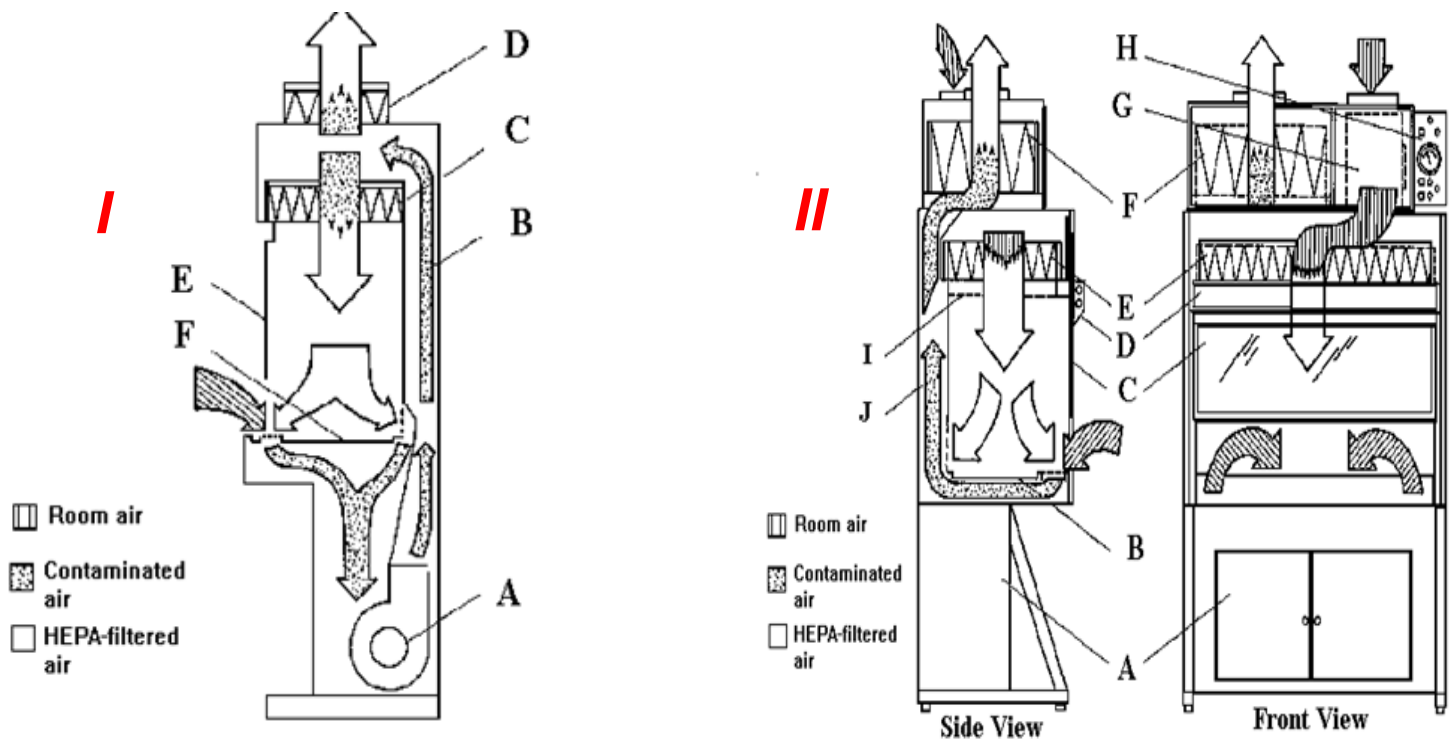
Παρακάτω παρουσιάζονται παραδείγματα συσκευών καθαρισμού αέρα για επικίνδυνες πτητικές ουσίες, μολυσματικούς και παθογόνους παράγοντες

αλλά και για χρήση ως περιοχές αποστειρωμένες για αποφυγή επιμόλυνσης στα χειριζόμενα αντιδραστήρια (χημικά, βιολογικά κτλ)



**Εικόνα 15.** Συσσκευή κάθετου νηματικής ροής βιολογικής ασφάλειας , **Τάξης I**

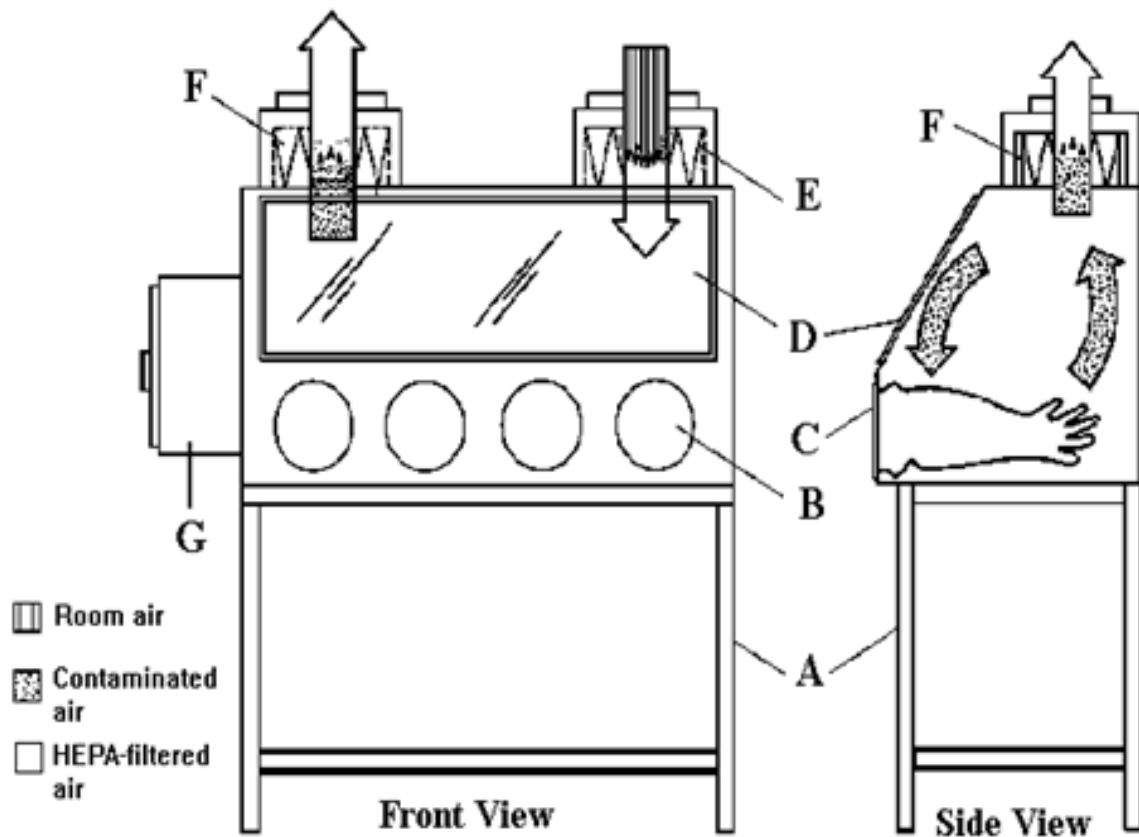
Ο αέρας εισέρχεται από την μπροστινή ανοικτή επιφάνεια (A) της συσκευής , κυκλοφορεί εντός της συσκευής , ενώ ένα μέρος του αέρα αποβάλλεται στον περιβάλλοντα χώρο μέσω ενός φίλτρου HEPA (E) ( High Efficiency Particle Arrester) αφού προηγουμένως περάσει από το πίσω τμήμα της συσκευής (D). Με την συσκευή αυτή δεν παρέχεται προστασία του βιολογικού δείγματος , αλλά μόνο του χειριστή και του περιβάλλοντα χώρου.



**Εικόνα 16.** Συσκευές κάθετου νηματικής ροής βιολογικής ασφάλειας , **Τάξης II**

**I.** Ο αέρας εισέρχεται από το μπροστινό μέρος της συσκευής και με την βοήθεια ενός μοτέρ (A) προωθείται μέσω του πίσω μέρους της συσκευής (B) σε δύο φίλτρα HEPA. Διαμέσου του φίλτρου (C) το 70% του αέρα ανακυκλώνεται μέσω της επιφάνειας εργασίας στην συσκευή ενώ το υπόλοιπο 30% εξέρχεται της συσκευής διαμέσου του φίλτρου (D). Η συσκευή αυτή προστατεύει το βιολογικό δείγμα στην επιφάνεια εργασίας , τον χειριστή και τον περιβάλλοντα χώρο . Η συσκευή δεν προστατεύει από τοξικές χημικές ουσίες.

**II.** Ο αέρας εισέρχεται από το άνω μέρος της συσκευής (G) και φιλτράρεται αμέσως διαμέσου ενός φίλτρου HEPA (E) και εν συνεχεία εισέρχεται στην επιφάνεια εργασίας. Ο αέρας ο οποίος εισέρχεται από το μπροστινό μέρος της συσκευής καθώς και ο αέρας από την επιφάνεια εργασίας μέσω του πίσω μέρους της συσκευής (J) μέσω ενός φίλτρου HEPA (F) οδηγείται εκτός συσκευής στον περιβάλλοντα χώρο χωρίς να πραγματοποιείται ανακύκλωση του αέρα. Η συσκευή αυτή προστατεύει το δείγμα ,την επιφάνεια εργασίας , τον χειριστή και τον περιβάλλοντα χώρο. Η συσκευή προστατεύει επίσης μερικώς και από τοξικές χημικές ουσίες.



**Εικόνα 17.** Συσσκευή κάθετου νηματικής ροής βιολογικής ασφάλειας , **Τάξης III**

Με τις εστίες τύπου III επιτυγχάνεται η πλήρης απομόνωση του δείγματος εργασίας από τον υπόλοιπο χώρο του εργαστηρίου. Οι διάφοροι χειρισμοί γίνονται με ειδικά γάντια που είναι ενσωματωμένα στην εστία. Η είσοδος του προς ανάλυση δείγματος γίνεται μέσω διπλής ασφάλειας εισόδου (G). Στο εσωτερικό της εστίας υπάρχει ελαφρά αρνητική πίεση που προκαλεί συνεχή ροή αέρα ο οποίος διέρχεται από 1 φίλτρο HEPA (E) κατά την είσοδό του. Ο εξερχόμενος αέρας μέσω του φίλτρου HEPA (F) οδηγείται μέσω αεραγωγού, ο οποίος διαθέτει δύο εν σειρά φίλτρα HEPA, εκτός εργαστηρίου. Η συσκευή αυτή προστατεύει το δείγμα, την επιφάνεια εργασίας, τον χειριστή και τον περιβάλλοντα χώρο. Η συσκευή προστατεύει επίσης και από τοξικές χημικές ουσίες.

Με αυτού του τύπου τις συσκευές είναι επανδρωμένα τα εργαστήρια βιοασφάλειας Επιπέδου 3 & 4.

Τα φίλτρα HEPA μετά την αντικατάστασή τους θα πρέπει να καίγονται ώστε να διασφαλίζεται η καταστροφή των μικροοργανισμών.

### **Αποστείρωση**

Για την εργασία σε εργαστήριο είναι απαραίτητο να χρησιμοποιούνται υλικά που είναι ήδη αποστειρωμένα ή έχουν περάσει μέσα από τις διαδικασίες αποστείρωσης όπου αυτό κρίνεται απαραίτητο. Μερικές μέθοδοι αποστείρωσης είναι οι εξής:

#### *a. Θερμότητα*

Με την επίδραση θερμοκρασίας στο θερμικού σημείου θανάτου του παθογόνου (Thermal Death Point-TDP) είναι η χαμηλότερη θερμοκρασία στην οποία όλοι οι μικροοργανισμοί οι οποίοι βρίσκονται σε ένα υδατικό εναιώρημα θανατώνονται εντός 10 λεπτών.

#### *b. Υγρή Θερμότητα*

Ένα είδος αποστείρωσης με υγρή θερμότητα είναι ο βρασμός (100° C), ο οποίος νεκρώνει τις βλαστικές μορφές των παθογόνων βακτηρίων, πολλούς ιούς, μύκητες και τα σπόριά τους μέσα σε χρονικό διάστημα 10-20 λεπτών. Τα ενδοσπόρια ωστόσο δεν καταστρέφονται και για μια σωστή αποστείρωση με υγρή θερμότητα απαιτούνται θερμοκρασίες άνω των 100° C. Αυτές οι υψηλές θερμοκρασίες επιτυγχάνονται με τη χρήση ατμού κάτω από πίεση σε ειδική συσκευή, το αυτόκαυστο.

#### *c. Παστερίωση*

Αποτελεί τη γνωστή κατεργασία του γάλακτος και συνίσταται σε θερμοκρασία τουλάχιστον 72°C για σύντομο χρονικό διάστημα για 15- 60 δευτερόλεπτα. Αυτή η κατεργασία είναι γνωστή σαν παστερίωση υψηλής θερμοκρασίας σε σύντομο χρόνο (High Temperature Short Time Pasteurization-HTSTP) και εφαρμόζεται καθώς το γάλα διέρχεται μέσα από ένα εναλλάκτη υψηλής θερμότητας. Η παστερίωση υψηλής θερμοκρασίας σύντομου χρόνου μειώνει τον ολικό βακτηριακό πληθυσμό ώστε το γάλα να διατηρείται σε θερμοκρασία ψυγείου. Το γάλα μετά την παστερίωση του, μπορεί να αποστειρωθεί με διαδικασία υπερβολικά υψηλής θερμοκρασίας (Ultra High temperature Treatment-UHTT) ούτως ώστε να μη χρειάζεται συντήρησή του στο ψυγείο.

Στην περίπτωση αυτή το γάλα διέρχεται από ένα θάλαμο ατμού υψηλής θερμοκρασίας (140°C) για 3-5 δευτερόλεπτα και στη συνέχεια ψύχεται υπό κενό.

*d. Αποστείρωση ξηρής θερμότητας*

Η πλέον απλή μέθοδος ξηρής θερμότητας είναι η φλόγα του λύχνου Bunsen. Μια άλλη μέθοδος αποστείρωσης με ξηρή θερμότητα είναι η αποστείρωση με θερμό αέρα. Τα αντικείμενα τοποθετούνται σε ένα κλίβανο 170°C για 1-2 περίπου ώρες. Κατά την αποστείρωση με ξηρή θερμότητα απαιτούνται υψηλότερες θερμοκρασίες και μεγαλύτερο χρονικό διάστημα σε σχέση με την αποστείρωση η οποία πραγματοποιείται με υγρή θερμότητα. Χρησιμοποιείται για αντικείμενα στα οποία δεν υπάρχει η δυνατότητα διείσδυσης των υδρατμών και για υλικά τα οποία αντέχουν σε υψηλές θερμοκρασίες.

*e. Διήθηση*

Η διήθηση είναι η διαδικασία διέλευσης υγρού ή αερίου δείγματος ή υλικού μέσω ηθμού, ο οποίος έχει πόρους τόσο μικρούς ώστε να μην επιτρέπεται η διέλευση των μικροοργανισμών μέσω αυτού. Η μέθοδος της διήθησης χρησιμοποιείται κυρίως για υλικά τα οποία είναι ευαίσθητα στη θερμότητα.

Οι ηθμομεμβράνες αποτελούνται από υλικά όπως είναι οι κυτταρικοί εστέρες και πλαστικά πολυμερή. Το μέγεθος των πόρων είναι ομοιόμορφο και μπορεί να είναι πάρα πολύ μικρό. Για τα βακτήρια συνήθως χρησιμοποιούνται μεγέθη από 0,22 μέχρι 0,45 μm. Ο αέρας είναι δυνατόν να αποστειρωθεί με τη μέθοδο της διήθησης. Ο θάλαμος καθέτου νηματικής ροής αποτελείται από ειδικούς ηθμούς υψηλής απόδοσης, φίλτρα HEPA (High Efficiency Particles Arresters) όπου επιτυγχάνεται συγκράτηση του 99.9% των σωματιδίων διαμέτρου μεγαλύτερης των 0,3 μm.

*f. Ψύξη*

Η επίδραση της χαμηλής θερμότητας στους μικροοργανισμούς εξαρτάται από το είδος του μικροοργανισμού και την ένταση της εφαρμογής της. Π.χ. σε θερμοκρασία ψυγείου 2-8 °C η μεταβολική δραστηριότητα των περισσοτέρων μικροοργανισμών μειώνεται. Άρα η ψύξη αυτή έχει βακτηριοστατική επίδραση.

Πρέπει να λαμβάνεται υπόψη πως υπάρχουν όμως και ψυχρότροφοι μικροοργανισμοί οι οποίοι αναπτύσσονται σ' αυτές τις θερμοκρασίες.

#### *g. Ακτινοβολία*

Η ακτινοβολία επιδρά στο DNA του οποίου προκαλεί ρήξη της σύνδεσης των κλώνων και αποφοσφορυλίωση. Η ακτινοβολία επίσης αδρανοποιεί ή καταστρέφει ορισμένα ενζυμικά συστήματα του μικροβιακού κυττάρου. Η δράση της εξαρτάται από το μήκος κύματος, την ένταση και τη διάρκεια. Διακρίνονται δύο τύποι ακτινοβολίας οι οποίοι έχουν την ικανότητα να νεκρώνουν τους μικροοργανισμούς, είναι δηλαδή ακτινοβολίες αποστείρωσης:

- Η ιονίζουσα και
- Η μη-ιονίζουσα ακτινοβολία.

Ιονίζουσες ακτινοβολίες:

Οι ακτίνες γ παράγονται από ραδιενεργό κοβάλτιο και οι ακτίνες ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας από επιταχυντές ηλεκτρονίων. Η βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιεί εκτενώς την ακτινοβολία για την συντήρηση των τροφίμων. Η ακτινοβολία ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας χρησιμοποιείται από τις φαρμακοβιομηχανίες για την αποστείρωση των πλαστικών.

Μη-ιονίζουσα ακτινοβολία:

Η γνωστή υπεριώδης ακτινοβολία (UV). Το υπεριώδες φως καταστρέφει το DNA των κυττάρων που εκτίθενται σ' αυτό δημιουργώντας δεσμούς μεταξύ γειτονικών μορίων θυμίνης στις αλυσίδες του DNA. Τα διμερή της θυμίνης παρεμποδίζουν το σωστό διπλασιασμό του DNA κατά την διάρκεια αναπαραγωγής του κυττάρου. Το δραστικότερο μήκος κύματος που προκαλεί τη νέκρωση των μικροοργανισμών είναι τα 260 nm διότι απορροφάται από το DNA. Η υπεριώδης ακτινοβολία σε μήκος κύματος 250-260 nm είναι βακτηριοκτόνος και σε μικρότερο βαθμό σποριοκτόνος. Λόγω της χαμηλής ενέργειας παρουσιάζει μικρή διεισδυτικότητα. Στις εστίες καθέτου νηματικής ροής βιολογικής ασφάλειας χρησιμοποιείται για την απολύμανση του χώρου σε συνδυασμό με αιθανόλη. Οι μικροοργανισμοί που καλύπτονται όμως από στερεά υλικά όπως χαρτί, γυαλί, διάφορα πλαστικά αντικείμενα κ.λ.π. δεν νεκρώνονται από την ακτινοβολία UV.

Πρέπει να σημειωθεί ότι το υπεριώδες φως δημιουργεί προβλήματα στα μάτια και το δέρμα. Το υπεριώδες φως χρησιμοποιείται για την αποστείρωση του πόσιμου νερού.

### **Απολύμανση**

Μετά το πέρας της εργασίας επιβάλλεται να καθαρίζεται και να απολυμαίνεται ο χώρος. Οι πιο γνωστές και χρησιμοποιούμενες μέθοδοι είναι η χρήση αραιωμένης χλωρίνης ( $\approx 10\%$ ) ή η χρήση αραιωμένης αιθανόλης (30-70%) για τον καθαρισμό πάγκων, σκευών και χώρων της εργασίας. Άλλες πρακτικές είναι και η χρήση των παρακάτω:

#### *a) Φαινολικές ενώσεις*

Η φαινόλη έχει μικρή αντιμικροβιακή δράση στις χαμηλές συγκεντρώσεις που πρέπει να χρησιμοποιείται, ενώ σε συγκεντρώσεις πάνω από 1% η δράση της είναι περισσότερο αποτελεσματική. Ως αντισηπτικά χρησιμοποιούνται επίσης παράγωγα της φαινόλης τα οποία καλούνται φαινολικές ενώσεις, περιέχουν ένα μόριο φαινόλης και έχουν υποστεί χημική τροποποίηση ώστε να μειωθεί η ερεθιστική δράση τους και να αυξηθεί η αντιμικροβιακή τους δράση, σε συνδυασμό με ένα σαπούνι ή ένα άλλο απορρυπαντικό. Οι φαινολικές ενώσεις συνήθως αδρανοποιούν τα ένζυμα και προκαλούν αποδιάταξη των πρωτεϊνών. Ένα από τα πλεονεκτήματά τους είναι ότι είναι δραστικές παρουσία οργανικών ουσιών και είναι σταθερές για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Η λιζόλη είναι διάλυμα σαπουνιού και φαινολικών ενώσεων (o-phenyl-phenol, o-benzyl-p-chlorophenol, xylenols) και χρησιμοποιείται για την απολύμανση δαπέδων, τοίχων, εργαστηριακών πάγκων κτλ. Μια άλλη ευρέως διαδεδομένη φαινολική ένωση είναι το εξαχλωροφαίνιο. Βακτηριοστατικός παράγοντας δρα κυρίως εναντίον των θετικών κατά Gram σταφυλοκόκκων και στρεπτοκόκκων τα οποία δημιουργούν επιδερμικές μολύνσεις.



*b) Αλογόνα*

Τα αλογόνα κυρίως το ιώδιο, το χλώριο και το βρώμιο είναι δραστικοί αντιμικροβιακοί παράγοντες γιατί είναι ισχυροί οξειδωτικοί παράγοντες και χρησιμοποιούνται ως συστατικό ανόργανων ή οργανικών ενώσεων. Το Ιώδιο ( $I_2$ ) είναι ένα από τα παλαιότερα και δραστικότερα αντισηπτικά. Δρα εναντίον όλων των ειδών των βακτηρίων, πολλών ενδοσπορίων, μυκήτων και αρκετών ιών. Ο μηχανισμός δράσης του βασίζεται στη σύνδεση του με την τυροσίνη με αποτέλεσμα την αναστολή της μικροβιακής πρωτεϊνικής λειτουργίας. Επίσης το ιώδιο οξειδώνει τις θειώδεις ομάδες πολλών αμινοξέων οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη διατήρηση της πρωτεϊνικής δομής. Το χλώριο ( $Cl_2$ ) είτε ως αέριο είτε σε συνδυασμό με άλλα χημικά είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο απολυμαντικό. Η δράση του οφείλεται στο υποχλωρικό οξύ το οποίο σχηματίζεται όταν το χλώριο προστεθεί στο νερό. Εμποδίζει τη λειτουργία των περισσοτέρων ενζυμικών συστημάτων. Το πλεονέκτημα του είναι ότι διαχέεται με την ίδια ευκολία που διαχέεται το νερό διαμέσου του κυτταρικού τοιχώματος. Υγρή μορφή συμπυκνωμένου αερίου χλωρίου χρησιμοποιείται ευρέως για την απολύμανση του πόσιμου νερού και νερού πισίνας. Το υποχλωριώδες νάτριο χρησιμοποιείται σαν οικιακό απολυμαντικό.

*c) Αλκοόλες*

Οι αλκοόλες νεκρώνουν αποτελεσματικά τα βακτήρια και τους μύκητες, αλλά όχι τα ενδοσπόρια των βακτηρίων και τους ιούς που δεν έχουν περίβλημα. Ο μηχανισμός μέσω του οποίου γίνεται η καταστροφή των μικροοργανισμών είναι συνήθως η αποδιάταξη των πρωτεϊνών, αλλά η αλκοόλη καταστρέφει και τις μεμβράνες διαλύοντας πολλά λίπη συμπεριλαμβανομένων και εκείνων στο περίβλημα των ιών. Το πλεονέκτημα των αλκοολών είναι ότι αφού δράσουν εξατμίζονται γρήγορα χωρίς να αφήνουν υπολείμματα. Από τις αλκοόλες χρησιμοποιούνται συχνότερα η αιθανόλη και η ισοπροπανόλη. Συγκέντρωση αιθανόλης μεταξύ 70% και 95% προκαλεί σύντομο θάνατο των μικροοργανισμών.

*d) Αλδεύδες*

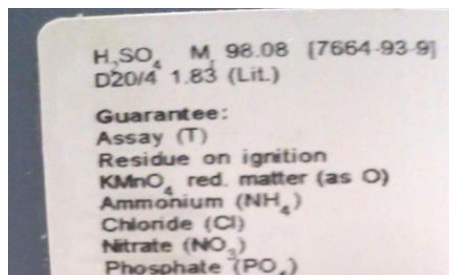
Οι αλδεύδες θεωρούνται οι πλέον δραστικές αντιμικροβιακές ενώσεις. Συνηθέστερα χρησιμοποιούνται η φορμαλδεύδη και η γλουταραλδεύδη οι οποίες αδρανοποιούν τις πρωτεΐνες σχηματίζοντας ομοιοπολικούς δεσμούς με έναν αριθμό ριζών στις πρωτεΐνες (-NH<sub>2</sub>, -HO, -COOH, και -SH). Η αέρια φορμαλδεύδη είναι ένα εξαιρετικό απολυμαντικό. Η συχνότερα όμως διαθέσιμη ουσία είναι η φορμαλίνη, η οποία είναι ένα υδατικό διάλυμα 37% της αέριας φορμαλδεύδης. Η φορμαλίνη χρησιμοποιείται για την αποστείρωση χώρων εργασίας. Οι ατμοί οι οποίοι απελευθερώνονται αφήνονται να δράσουν επί τουλάχιστον 12 ώρες. Εν συνεχεία ενεργοποιείται το σύστημα εξαερισμού για να εκδιωχθούν οι ατμοί. Η γλουταραλδεύδη είναι μια χημική ένωση συγγενής της φορμαλδεύδης λιγότερο ερεθιστική αλλά εξ ίσου δραστική. Το συνηθέστερο διάλυμα έχει συγκέντρωση 2% και είναι βακτηριοστατικό και ιστατικό (όταν χρησιμοποιείται για 12 τουλάχιστον ώρες).

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ****Επιλογή των σωστών αντιδραστηρίων:**

Η παρασκευή οποιουδήποτε διαλύματος δεν είναι απλή υπόθεση. Ακόμη και πριν την έναρξη των υπολογισμών πρέπει να γνωρίζουμε τη διαθεσιμότητα και το είδος των αντιδραστηρίων που θα χρησιμοποιηθούν. Πολλά αντιδραστήρια μπορεί να είναι **ένυδρα** (δηλαδή στον χημικό τους τύπο περιέχουν μόρια  $H_2O$ ) ή να είναι **άνυδρα** (δηλαδή να μην περιέχουν μόρια  $H_2O$  παρά μόνο τον χημικό τύπο της ουσίας). Κλασικό παράδειγμα είναι ο  **$CuSO_4$**  (θειικός χαλκός), όπου σε μια ένυδρη μορφή του είναι  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ . Κατ' αυτόν τον τρόπο το μοριακό βάρος του αντιδραστηρίου γίνεται ως εξής:

Molecular Formula:  $CuSO_4$   
Molecular Weight: 159.6

Molecular Formula:  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$   
Molecular Weight: 249.7



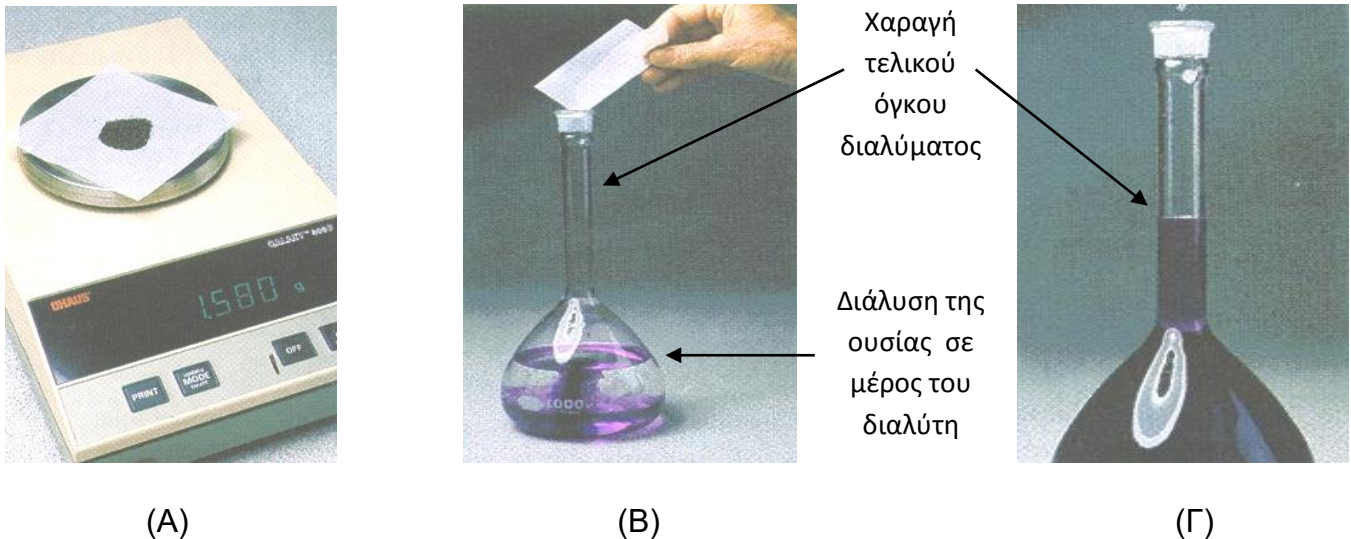
**Σχήμα 11.** Εύρεση Mr σε αντιδραστήριο του εμπορίου

**Ακρίβεια στη ζύγιση:**

Για την παρασκευή διαλυμάτων απαιτείται ακρίβεια στη ζύγιση. Στα εργαστήρια υπάρχουν όργανα ζύγισης που έχουν την δυνατότητα να μετρούν έως και το  $4^\circ$  με  $5^\circ$  δεκαδικό ψηφίο. Ωστόσο πολλές φορές η ζύγιση μικροποσοτήτων είναι ιδιαίτερα δύσκολη, γι' αυτό προτιμάται η δημιουργία ενός πυκνού διαλύματος το οποίο, μέρος του, αραιώνεται κατά περίπτωση για την δημιουργία των τελικών διαλυμάτων. Ομοίως και για την παρασκευή διαλυμάτων ορού, φαρμάκων κτλ αρκετές φορές χρησιμοποιούνται ουσίες οι οποίες έχουν μεγάλο κόστος. Ο χειρισμός τέτοιων αντιδραστηρίων απαιτεί τη μέγιστη ακρίβεια.

### Επίτευξη σωστού τελικού όγκου διαλύματος:

Η διάλυση μιας ή περισσότερων ουσιών, ή η ανάμιξη δύο ή περισσότερων διαλυμάτων, ή ακόμα και συνδυασμός των προηγουμένων πρέπει να γίνεται σε μικρότερο από τον τελικό όγκο του διαλύματος. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η διάλυση μεγάλης ποσότητας ουσίας, όπου αν διαλυθεί η ουσία απευθείας στον τελικό όγκο είναι δυνατόν ο τελικός όγκος του διαλύματος να είναι μεγαλύτερος από τον ζητούμενο όγκο, οπότε και αλλάζει η υπολογισμένη αρχική συγκέντρωση. Ομοίως για την ανάμειξη διαλυμάτων γίνεται σε ένα αρχικό μέρος του διαλύτη και έπειτα συμπληρώνεται το διάλυμα με τον διαλύτη μέχρι τον τελικό όγκο.



(Α)

(Β)

(Γ)

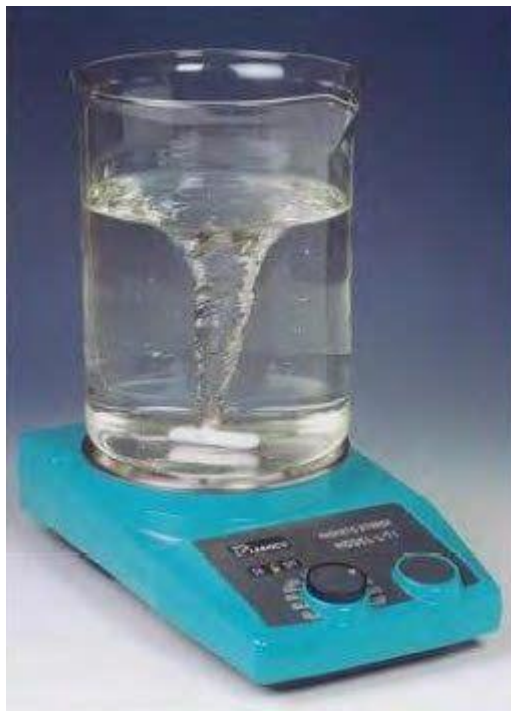
**Σχήμα 12.** (Α) Σωστή ζύγιση της ουσίας, (Β) Διάλυση της ουσίας σε μέρος του διαλύτη, (Γ) Πλήρωση του διαλύματος με τον διαλύτη μέχρι τελικού όγκου.

### Σωστή ανάμειξη διαλυμάτων:

Πρέπει να λαμβάνεται υπόψη πως η διάλυση μιας ουσίας ή η ανάμιξη διαλυμάτων πρέπει να είναι τέτοια ώστε στο τελικό παρασκεύασμα σε όλη την έκτασή του να είναι ομοιόμορφη η συγκέντρωση. Αυτό είναι πολύ ουσιώδες καθώς πολλές φορές, συνήθως σε διαφανή παρασκευάσματα, δεν γίνεται αντιληπτή αυτή η συνθήκη με αποτέλεσμα, το τελικό προϊόν να έχει διαφορετική συγκέντρωση και η χρησιμοποίησή του δίνει εσφαλμένες εντυπώσεις σε αναλύσεις, μετρήσεις ακόμη και έρευνες. Για τον λόγο αυτό χρησιμοποιούνται συσκευές ανάδευσης όπως φαίνεται παρακάτω στο σχήμα.



**Σχήμα 13.** Μη σωστή ανάμειξη όπου η συγκέντρωση της ουσίας μπορεί να κυμαίνεται στο διάλυμα από  $\approx 0\%$  στα επιφανειακά στρώματα του διαλύματος, έως  $100\%$  στο βυθό του διαλύματος.



**Σχήμα 14.** Σωστή ανάμειξη με ανάδευση σε συσκευή που χρησιμοποιεί μαγνήτη ώστε η συγκέντρωση να γίνει ομοιόμορφη στο διάλυμα.

**ΣΥΝΗΘΕΙΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ**

Για τη δημιουργία διαλυμάτων όπως αναφέρθηκε στη προηγούμενη ενότητα, θα πρέπει να γίνουν υπολογισμοί για τη συγκέντρωση, το βάρος, τον όγκο κτλ των προς παρασκευή αντιδραστηρίων.

**Παρασκευή διαλύματος (το αντιδραστήριο είναι στερεά ουσία):**

Οι τύποι που χρησιμοποιούνται για τους υπολογισμούς αυτούς είναι ο τύπος τη συγκέντρωσης  $C=n/V$  και ο μοριακός τύπος  $n=m/MB$ . Από τους δύο αυτούς τύπους συνδυάζοντας τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί εμπειρικά ο  $m = C * V * MB$ , όπου  $m$  τα γραμμάρια της ουσίας που πρέπει να υπολογιστούν για  $C$  την τελική συγκέντρωση σε  $V$  τελικό όγκο και  $MB$  στο μοριακό βάρος της ουσίας που ζυγίστηκε.

**Παρασκευή διαλύματος (το αντιδραστήριο είναι υγρή ουσία ή πυκνό διάλυμα):**

Είναι η διαδικασία κατά την οποία προστίθεται σε ένα διάλυμα διαλύτης ή/και άλλα υγρά αντιδραστήρια. Κατά την αραίωση η ποσότητα της διαλυμένης ουσίας (ή του υγρού αρχικού διαλύματος) παραμένει σταθερή ( $n_1=n_2$ ) εφόσον ο διαλύτης είναι απιονισμένο νερό ή δεν αντιδρούν μεταξύ τους οι υγρές ουσίες, ενώ ο όγκος διαλύματος μεγαλώνει  $V_2 = V_1 + V_{H_2O}$  και κατά συνέπεια το τελικό διάλυμα θα έχει μικρότερη συγκέντρωση από το αρχικό  $C_2 < C_1$ .

Κατά την αραίωση ισχύει η σχέση:  $C_1V_1=C_2V_2$ ,

όπου  $C_1$  η αρχική συγκέντρωση της ουσίας προς αραίωση,  $V_1$  ο αρχικός όγκος της ουσίας που λήφθηκε από το αρχικό πυκνό διάλυμα,  $C_2$  η τελική συγκέντρωση στο  $V_2$  τελικό όγκο του διαλύματος.

Σε περιπτώσεις όπου τα αντιδραστήρια αντιδρούν μεταξύ τους (πχ δράση ασθενές οξύ με ισχυρή βάση για παρασκευή ρυθμιστικού διαλύματος) ή η υγρή ουσία δίστανται λόγω του ότι μπορεί να είναι δισθενής, τρισθενής κτλ κατά τη διάλυσή της (πχ πυκνό θειικό οξύ όπου και τα τελικά mol διαφέρουν), τότε συνίστανται οι διαφορικές χημικές εξισώσεις για τον υπολογισμό τελικής συγκέντρωσης.

**Υπολογισμός περιεκτικότητας διαλυμάτων**

*Επί τοις εκατό βάρος κατά βάρος (% w/w ή % κ.β.)*

Η έκφραση αυτή δηλώνει τα γραμμάρια μιας χημικής ουσίας που είναι διαλυμένα σε 100 g διαλύματος. Η % w/w περιεκτικότητα χρησιμοποιείται συνήθως σε διαλύματα στερεών σε υγρά ή στερεών σε στερεά (κράματα) επειδή τα στερεά περιγράφονται επιτυχέστερα με τη μάζα τους.

$$\frac{\text{μάζα ουσίας (g)}}{100\text{g διαλύματος}}$$

*Επί τοις εκατό βάρος κατ' όγκο (% w/v ή % κ.ό.)*

Η έκφραση αυτή δηλώνει τα γραμμάρια μιας χημικής ουσίας που είναι διαλυμένα σε 100 mL διαλύματος. Η % w/v περιεκτικότητα χρησιμοποιείται κυρίως για να περιγράψει διαλύματα στερεών σε υγρά.

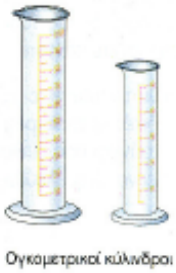
$$\frac{\text{μάζα ουσίας (g)}}{100\text{mL διαλύματος}}$$

*Επί τοις εκατό όγκο κατ' όγκο (% v/v ή % κ.ό. ή % vol ή αλκοολικοί βαθμοί (°) )*

Η έκφραση αυτή δηλώνει τα mL μιας χημικής ουσίας, συνήθως υγρής, που είναι διαλυμένα σε 100 mL διαλύματος. Η % v/v περιεκτικότητα χρησιμοποιείται κυρίως σε διαλύματα με αλκοόλη και στα αέρια μίγματα.

$$\frac{\text{όγκος ουσίας (mL)}}{100\text{mL διαλύματος}}$$

## ΟΡΓΑΝΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΧΗΜΕΙΑΣ



Ογκομετρικοί κύλινδροι

ΟΜΑΔΑ			
100ml			
50ml			
25ml			
10ml			



Ποτήρι ζέσεως

ΟΜΑΔΑ			
1000ml (ή 800ml)			
250ml			
150ml			
100ml			
50ml			
25ml			
10ml			



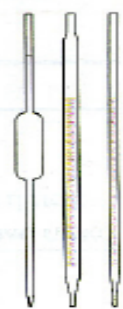
Κωνική φιάλη βαθμολογημένη

ΟΜΑΔΑ			
250ml			
150ml			
100ml			
50ml			
25ml			



Ογκομετρική φιάλη

ΟΜΑΔΑ			
250ml			
100ml			



Σιφώνια

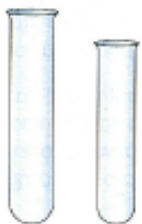
ΟΜΑΔΑ			
10ml			
5ml			
2ml			
1ml			



Υδροβαλέας



Χαλί



Δοκιμαστικοί σωλήνες

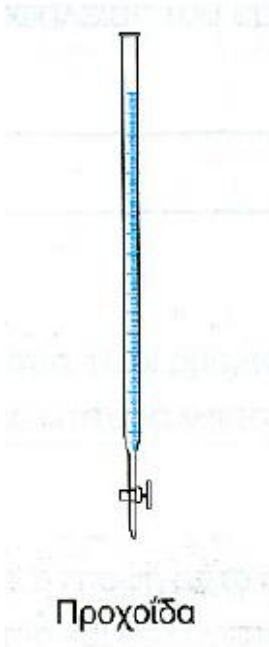
X

ΟΜΑΔΑ			
ΜΗΧΑΝΙΚΟ ΠΟΥΑΡ			
ΦΟΥΣΚΑ			
ΒΑΣΗ ΔΟΚΙΜΑΣΤΙΚΩΝ ΣΩΛΗΝΩΝ			
ΑΝΑΔΕΥΤΗΡΑΣ			
2 ΜΙΚΡΟΠΙΠΕΤΕΣ			
5 ΚΙΟΥΒΕΤΕΣ			



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ**



**ΠΕΧΑΜΕΤΡΟ Χ 1**



**ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟ Χ 1**

**ΟΜΑΔΑ:**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ:**

**ΗΜΕΡΟΝΗΜΙΑ:**

**ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΑ:**

**ΟΜΑΔΑ:**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ:**

**ΗΜΕΡΟΝΗΜΙΑ:**

**ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΑ:**

**ΟΜΑΔΑ:**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ:**

**ΗΜΕΡΟΝΗΜΙΑ:**

**ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΑ:**

## ΑΣΚΗΣΗ 1

### ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ

---

#### 1. Παρασκευή διαλύματος (το αντιδραστήριο είναι στερεά ουσία) :

Περιλαμβάνει την χρήση ογκομετρικής φιάλης, ζυγού, κάψας ή κατάλληλου χαρτιού και απεσταγμένου ύδατος. Πρώτα απαιτείται να γίνουν οι κατάλληλοι υπολογισμοί για την ποσότητα της στερεάς ουσίας που είναι αναγκαία για την παρασκευή του ζητούμενου όγκου διαλύματος. Η ποσότητα αυτή λαμβάνεται από το δοχείο του αντιδραστηρίου με μια σπάτουλα και τοποθετείται λίγη-λίγη σε προ-ζυγισμένη κάψα στον ζυγό μέχρι να ζυγιστεί με ακρίβεια η ζητούμενη ποσότητα. Μετά, το περιεχόμενο της κάψας μεταφέρεται προσεκτικά, σε ποτήρι ζέσεως. Ογκομετρικός κύλινδρος συγκεκριμένου όγκου (η χωρητικότητα του καθορίζεται από τον όγκο του διαλύματος που θα παρασκευάσουμε) χρησιμοποιείται για την μέτρηση του **τελικού όγκου**.

#### 2. Παρασκευή διαλύματος (το αντιδραστήριο είναι υγρή ουσία ή πυκνό διάλυμα) :

Περιλαμβάνει την χρήση ογκομετρικής φιάλης, ζυγού, σιφώνιου μετρήσεως ή πλήρωσεως και απεσταγμένου ύδατος. Πρώτα απαιτείται να γίνουν οι κατάλληλοι υπολογισμοί για την ποσότητα του αντιδραστηρίου (υγρής ουσίας ή πυκνού διαλύματος) που είναι αναγκαία για την παρασκευή του ζητούμενου όγκου διαλύματος. Λαμβάνοντας υπόψη την πυκνότητα του αντιδραστηρίου από την επιγραφή στη φιάλη υπολογίζουμε τον όγκο του αντιδραστηρίου που πρέπει να πάρουμε. Ο όγκος αυτός λαμβάνεται με σιφώνιο, μεταφέρεται και αποχύνεται σε ογκομετρική φιάλη (η χωρητικότητα της φιάλης καθορίζεται από τον όγκο του διαλύματος που θα παρασκευάσουμε). Ακολούθως **η φιάλη συμπληρώνεται μέχρι την χαραγή** με απεσταγμένο ύδωρ. Σε όλα τα στάδια παρασκευής και ιδιαίτερα στο τέλος απαιτείται καλή ανακίνηση της ογκομετρικής φιάλης.

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

### Πείραμα 1 : Παρασκευή 5ml διαλύματος 62,5mM Θειικού χαλκού (CuSO<sub>4</sub>)

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ:

- 1) Ζυγίζουμε την απαιτούμενη ποσότητα CuSO<sub>4</sub> με ακρίβεια 3<sup>ου</sup> δεκαδικού ψηφίου
- 2) Ογκομετρείται, με ακρίβεια η απαιτούμενη ποσότητα ύδατος και προστίθεται στο στερεό CuSO<sub>4</sub>.

### **Ερώτηση Α)**

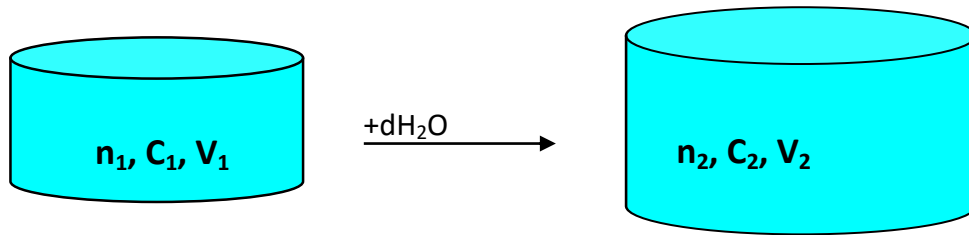
- Καταγράψτε τη διαδικασία ζύγισης, τα σκεύη με τα οποία θα εργαστείτε για την παρασκευή του διαλύματος και τι σκεύος θα χρησιμοποιήσετε για τον υπολογισμό του τελικού όγκου του διαλύματος. Αναφέρετε τους υπολογισμούς αναγράφοντας το Μοριακό Βάρος της Ουσίας που εργαστήκατε και τα γραμμάρια της ουσίας που ζυγίσατε.

**Προσοχή:** Το σκεύος που θα χρησιμοποιήσετε για την ανάδευση της στερεάς ουσίας να επιτρέπει την ανάδευση της ουσίας (Ποτήρι ζέσεως).

### **Αραίωση διαλύματος:**

Είναι η διαδικασία κατά την οποία προστίθεται σε ένα διάλυμα διαλύτης. Κατά την αραίωση η ποσότητα της διαλυμένης ουσίας παραμένει σταθερή ( $n_1=n_2$ ), ενώ ο όγκος διαλύματος μεγαλώνει  $V_2 = V_1 + V_{H_2O}$  και κατά συνέπεια το τελικό διάλυμα θα έχει μικρότερη συγκέντρωση από το αρχικό  $C_2 < C_1$ .

Κατά την αραίωση ισχύει η σχέση:  $C_1V_1=C_2V_2$



**Πείραμα 2** :Παρασκευή 4ml διαλύματος 30mM Θεικού χαλκού από διάλυμα 62,5mM Θεικού χαλκού

**ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ:**

- 1) Υπολογίζουμε τον όγκο  $\text{CuSO}_4$  που θα χρειαστούμε από το 1<sup>ο</sup> διάλυμα για το δεύτερο.
- 2) Αραιώνουμε με διαλύτη (Απεσταγμένο Νερό) για την παρασκευή του τελικού διαλύματος.

**Προσοχή:** Χρησιμοποιούμε τις κατάλληλες γυάλινες πιπέττες (σιφώνια) για τη μέτρηση των απαιτούμενων όγκων.

**Ερώτηση Β)**

- Καταγράψτε τη διαδικασία αραίωσης, τα σκεύη με τα οποία θα εργαστείτε για την αραίωση του διαλύματος. Αναφέρετε τους υπολογισμούς αναγράφοντας των ml και των συγκεντρώσεων χρησιμοποιώντας τον τύπο  $C_1V_1=C_2V_2$

( **Διαδικασία επαλήθευσης αποτελεσμάτων – Θα εξασκηθείτε σε επόμενη άσκηση**

Με χρήση φασματοφωτόμετρου, μετράται η απορρόφηση στα 600nm από 3ml για κάθε διάλυμα που παρασκευάσατε. Σημειώνονται από το προσωπικό του εργαστηρίου οι τιμές της απορρόφησης:

A(πυκνό) = ..... Και A(αραιό) = ..... )

## ΑΣΚΗΣΗ 2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ pH ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ

### Θεωρία της άσκησης

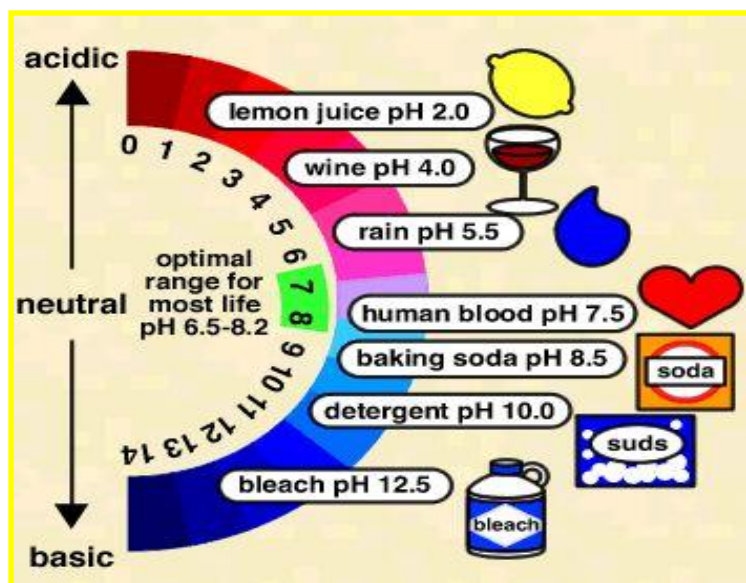
### Κλίμακα του pH

#### Οξέα

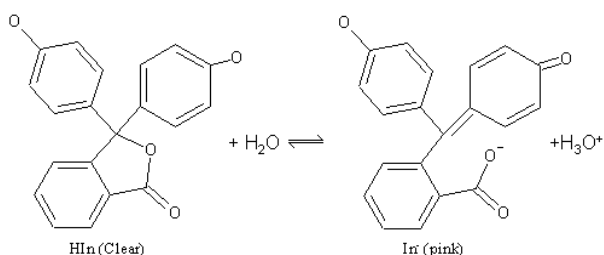
- Έχουν ξινή γεύση (μη το δοκιμάσετε αυτό στο σπίτι).
- Αντιδρούν με τα μέταλλα για να σχηματίσουν  $H_2$  gas.
- Αλλάζουν το χρώμα των δεικτών pH (το μπλε litmus σε κόκκινο).
- Αντιδρούν με βάσεις (υδροξειδία) για να σχηματίζουν ένα άλας και νερό.

#### Βάσεις

- Αντιδρούν με οξέα για να σχηματίσουν νερό και ένα άλας.
- Έχουν πικρή γεύση.
- Είναι γλιστερές (μη το δοκιμάσετε επίσης).
- Μπορούν να είναι ισχυροί ή ασθενείς ηλεκτρολύτες σε υδατικό διάλυμα
- Αλλάζουν το χρώμα των δεικτών pH (το κόκκινο litmus αλλάζει σε μπλε).



pH Range	Color	Name
0.1-1.8	Dark Blue	Crystal Violet
1.0-2.0	Red	Cresol Red
1.2-2.8	Orange	Thymol Blue
2.7-4.0	Yellow	2,4-Dinitrophenol
3.0-4.6	Green	Bromophenol Blue
3.1-4.4	Orange	Methyl Orange
3.8-5.4	Green	Bromocresol Green
4.2-6.3	Yellow	Methyl Red
5.0-6.4	Purple	Eriochrome Black T
5.2-6.8	Blue	Bromocresol Purple
6.2-7.6	Blue	Bromothymol Blue
6.8-8.4	Red	Phenol Red
6.8-8.6	Yellow	m-Nitrophenol
8.3-10.0	Pink	Phenolphthalein
9.3-10.5	Blue	Thymolphthalein



Φαινολοφθαλεΐνη

#### Δείκτες

Μερικοί από τους πολλούς δείκτες pH

και οι διακυμάνσεις τους

### Προσδιορισμός του pH

Η μέτρηση της τιμής του pH ενός διαλύματος γίνεται με δύο τρόπους: είτε **χρωματομετρικά** με τη χρήση ηλεκτρολυτικών δεικτών, είτε **ηλεκτρομετρικά** με τη χρήση πεχαμέτρων.

### Χρωματομετρικός προσδιορισμός του pH

Για την εκτίμηση της τιμής του pH σε ευρείες περιοχές χρησιμοποιούνται μίγματα ηλεκτρολυτικών δεικτών, τα οποία χαρακτηρίζουν με ορισμένα χρώματα τις διάφορες περιοχές του pH. Συνήθως χρησιμοποιείται ειδικό χαρτί διαποτισμένο με διάλυμα μίγματος δεικτών και χαρακτηρίζεται σαν γενικός δείκτης (Universal indicator). Στο εμπόριο κυκλοφορούν είδη γενικών δεικτών που καλύπτουν διαφορετικές περιοχές του pH. Ο χρησιμοποιούμενος στο εργαστήριο γενικός δείκτης καλύπτει την περιοχή pH από 4 έως 11

### Ηλεκτρομετρικός προσδιορισμός του pH.

Ο ηλεκτρομετρικός προσδιορισμός του pH είναι μια εφαρμογή της ποτενσιομετρίας, τα δε όργανα που χρησιμοποιούνται λέγονται **πεχάμετρα**. Τα πεχάμετρα στην ουσία είναι βολτόμετρα και μετρούν τη διαφορά δυναμικού μεταξύ δύο ηλεκτροδίων, από τα οποία το ένα είναι το ηλεκτρόδιο μέτρησης και το άλλο το ηλεκτρόδιο αναφοράς.

Σαν ηλεκτρόδιο μέτρησης χρησιμοποιείται το ηλεκτρόδιο υάλου, το οποίο αποτελείται από ένα γυάλινο σωλήνα που περιέχει διάλυμα γνωστής συγκέντρωσης υδρογονοκατιόντων και στο κάτω μέρος του οποίου (σωλήνα) υπάρχει ειδική λεπτή γυάλινη μεμβράνη.

**Πριν την πραγματοποίηση των μετρήσεων γίνεται ρύθμιση του πεχαμέτρου, δηλαδή βαθμονόμηση της κλίμακας των τιμών pH με ρυθμιστικά διαλύματα (buffers).**

**Βλέπε παράρτημα Α, σελ.89**

### Απαραίτητες γνώσεις για το Πεχάμετρο:

1. Δεν αφήνουμε το ηλεκτρόδιο ελεύθερο στο αέρα, αλλά το έχουμε πάντα μέσα σε διάλυμα.
2. Πριν από κάθε μέτρηση καθαρίζουμε το ηλεκτρόδιο με την βοήθεια του υδροβολέα με απιονισμένο νερό και τον σκουπίζουμε, από τα υπολείμματα του απιονισμένου νερού πριν πάρουμε την μέτρηση στο επόμενο διάλυμα.
3. Η τρύπα του ηλεκτροδίου πρέπει να καλύπτεται κατά τις μετρήσεις από το δ/μα

### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Μέτρηση του pH των διαλυμάτων με την βοήθεια του πεχάμετρου

**Απαιτούμενα όργανα και υλικά (Σας παρέχονται).**

ΟΡΓΑΝΑ	ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΥΛΙΚΑ
5 δοκιμαστικοί σωλήνες	Νερό βρύσης
5 ποτήρια ζέσεως των 25 ή 50ml	Απιονισμένο νερό
5 πεχαμετρικά χαρτιά	Δ/μα CH <sub>3</sub> COOH (0.01M)
1-2 σιφώνια (του 1 ή 2 ml)	Δ/μα CH <sub>3</sub> COOH (0.001M) *
	Δ/μα Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (0.1M)

*\*(Παρασκευάζεται τους φοιτητές με αραιώση από το Δ/μα 0.01M)*

Αφού πάρουμε τα διαλύματα στα ποτήρια ζέσεως, ένα μέρος του το μεταφέρουμε στους δοκιμαστικούς σωλήνες μέχρι το 2/3 του όγκου του σωλήνα και παίρνουμε μετρήσεις για τα καθένα από τα παραπάνω διαλύματα με το πεχαμετρικό χαρτί (το pH βρίσκεται σύμφωνα με τα πρότυπα χρώματα που υπάρχουν επάνω στο κουτί) και αντίστοιχα με το πεχάμετρο και καταγράφουμε τις μετρήσεις.



Όλες οι μετρήσεις τοποθετούνται στο παρακάτω πίνακα:

ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ	pH (χρωματομετρικά)	pH (ηλεκτρομετρικά)
1. Νερό βρύσης		
2. Απιονισμένο νερό		
3. Δίμα $\text{CH}_3\text{COOH}$ (0.01M)		
4. Δίμα $\text{CH}_3\text{COOH}$ (0.001M)		
5. Δίμα $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (0.1M)		

**ΕΡΩΤΗΜΑΤΑ:**

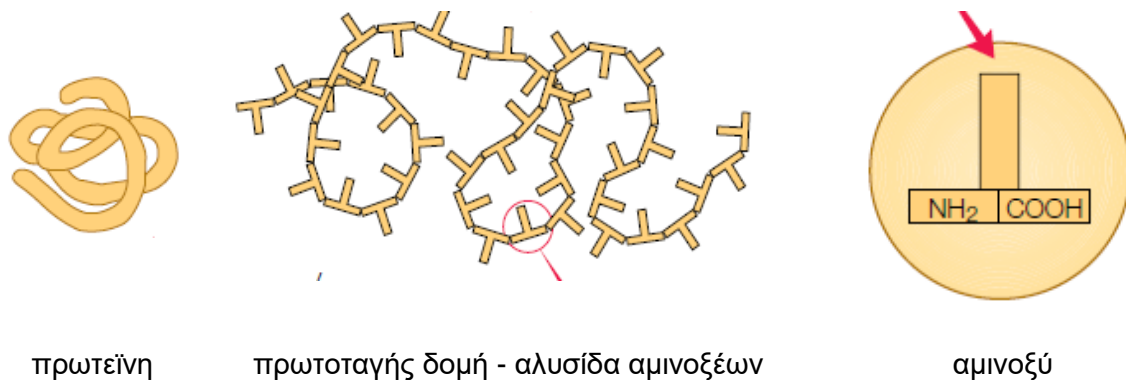
1. Συγκρίνετε τις τιμές του pH του πειράματος χρωματομετρικά και ηλεκτρομετρικά.
2. Υπολογίστε τον βαθμό διάστασης του οξικού οξέος χρησιμοποιώντας τις μετρήσεις 3 και 4 της ηλεκτρομετρικής μέτρησης. Εξαρτάται ο βαθμός διάστασης από την συγκέντρωση και αν ναι, πώς;
3. Το pH που βρήκατε στην μέτρηση 5, είναι όξινο ή αλκαλικό; - Γιατί;

### ΑΣΚΗΣΗ 3

#### ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ

Ρυθμιστικά διαλύματα είναι μικτά ηλεκτρολυτικά διαλύματα που περιέχουν ένα ασθενές οξύ και τη συζυγή του βάση ( $HA / A^-$ ) ή μια ασθενή βάση και το συζυγές της οξύ ( $B / BH^+$ ) ορισμένου pH, η τιμή του οποίου είναι πρακτικά ανεξάρτητη από την αραίωση του συστήματος και δεν επηρεάζεται σημαντικά από την προσθήκη μικρής ποσότητας οξέος ή βάσης.

Ορισμένα **βιολογικά υγρά** όπως το **αίμα** ή το **γάλα** είναι ρυθμιστικά διαλύματα. Στην περίπτωση του **γάλακτος** για παράδειγμα, είναι γνωστό ότι περιέχει ένα μεγάλο αριθμό ουσιών, οι οποίες μπορούν να δράσουν είτε ως ασθενή οξέα είτε ως ασθενής βάσεις, (π.χ. γαλακτικό οξύ, κιτρικό οξύ και φωσφορικό οξύ) και τα αντίστοιχα άλατά τους: γαλακτικά, κιτρικά, φωσφορικά. Τα παραπάνω συστήματα οξέων-αλάτων είναι ρυθμιστικά. Επίσης, ρυθμιστική δράση έχουν και οι πρωτεΐνες του γάλακτος (βλπ. παρακάτω σχήμα 3-1).

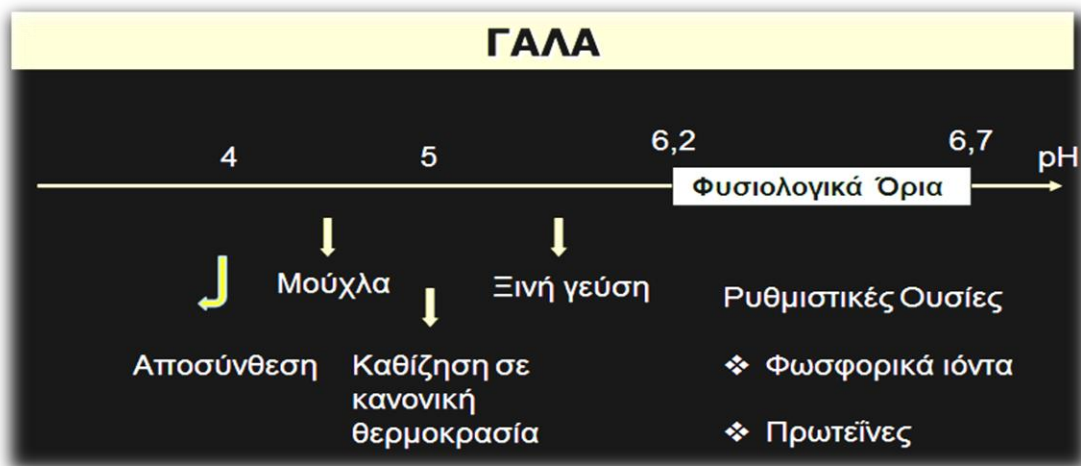


Σχήμα 3-1

Όταν προστεθεί λοιπόν οξύ στο γάλα, προστίθεται με τον τρόπο αυτό, ένας μεγάλος αριθμός ιόντων  $H^+$ . Σχεδόν όλα τα ιόντα αυτά, δεσμεύονται από τις αμινομάδες που βρίσκονται στις πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων, σχηματίζοντας ιόντα  $-NH_3^+$ . Έτσι λοιπόν η τιμή του pH δεν μεταβάλλεται

εύκολα, καθώς η συγκέντρωση των κατιόντων υδρογόνου παραμένει χαμηλή. Αντίθετα, όταν μία βάση προστεθεί στο γάλα, τότε ιόντα  $H^+$ , των καρβοξυλομάδων ( $-COOH$ ) (των πλευρικών αλυσίδων) ελευθερώνονται, σχηματίζοντας ιόντα  $-COO^-$ , ουδετεροποιώντας την βάση που προστέθηκε. Συνεπώς το pH του συστήματος παραμένει σχετικά σταθερό. Υπάρχουν και άλλα συστατικά του γάλακτος τα οποία έχουν την δυνατότητα να δεσμεύουν ή να ελευθερώνουν ιόντα, και συνεπώς να κρατούν το pH σχετικά σταθερό.

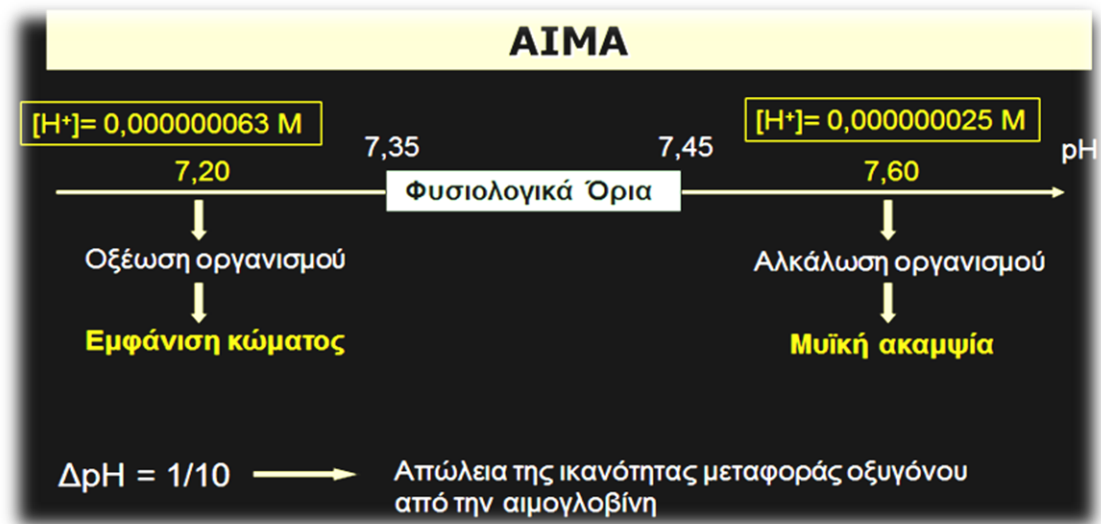
Χαρακτηριστικά παραδείγματα βιολογικών ρυθμιστικών διαλυμάτων όπως είναι το γάλα που αναφέρθηκε είναι τα ούρα αλλά και το αίμα. Παρακάτω εμφανίζονται τα φυσιολογικά όρια καθώς και η συμπτωματολογία αριστερά και δεξιά των ορίων.



Σχήμα 3-2. Το γάλα ως ρυθμιστικό διάλυμα



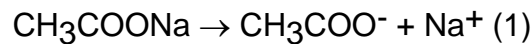
Σχήμα 3-3. Τα ούρα ως ρυθμιστικό διάλυμα



Σχήμα 3-4. Το αίμα ως ρυθμιστικό διάλυμα

Ένα άλλο κλασικό παράδειγμα ρυθμιστικού διαλύματος, είναι το σύστημα οξικού οξέως – οξικού νατρίου.

Στο ρυθμιστικό διάλυμα οξικού οξέος-οξικού νατρίου υπάρχουν οι ισορροπίες:



Προσθήκη μικρής ποσότητας οξέος δεσμεύεται από τα  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  (βάση κατά Bronsted-Lowry) και δίνει μικρή ποσότητα οξικού οξέος.

Τα  $\text{H}^+$  που προκύπτουν από τη διάσπαση αυτής της μικρής ποσότητας του οξικού οξέος (ασθενές οξύ) είναι ελάχιστα και συνεπώς η συγκέντρωση των συνολικών υδρογονοκατιόντων στο διάλυμα παραμένει πρακτικά η ίδια.

Με προσθήκη μικρής ποσότητας βάσης δεσμεύονται  $\text{H}^+$  από τη διάσπαση του οξικού οξέος, τα οποία όμως με τη μετατόπιση της ισορροπίας (2) προς τα

δεξιά αναπληρώνονται, έτσι ώστε το pH του διαλύματος να παραμένει περίπου σταθερό.

Αν η αρχική συγκέντρωση του οξέος (ή της βάσης) και του άλατος είναι  $C_o$  (ή  $C_\beta$ ) και  $C_\alpha$  αντίστοιχα, το pH του ρυθμιστικού διαλύματος δίνεται από τη σχέση (εξίσωση Henderson-Hasselbach):

$$pH = pK_o - \log \frac{C_o}{C_\alpha} \quad (\text{για σύστημα οξέος - άλατος})$$

$$pOH = pK_\beta - \log \frac{C_\beta}{C_\alpha} \quad (\text{για σύστημα βάσης - άλατος})$$

Λειτουργώντας με τη θεωρία των Bronsted-Lowry θεωρούμε ότι το οξύ (στο παράδειγμα το  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) δρα σαν δότης πρωτονίων και το άλας ή καλλίτερα το κοινό ανιόν του οξέος και του άλατος (στο παράδειγμα το  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ) δρα σαν δέκτης πρωτονίων.

Έτσι η εξίσωση **Henderson-Hasselbach** αποδίδεται με τη παρακάτω γενική μορφή:

$$pH = pK_o - \log \frac{(\text{δοτης} - \text{H}^+)}{(\text{δεκτης} - \text{H}^+)} \quad \text{ή} \quad pH = pK_o - \log \frac{(\text{οξύ})}{(\text{βασή})}$$

Με βάση τις παραπάνω εξισώσεις μπορούν να γίνουν οι εξής παρατηρήσεις:

Το pH του ρυθμιστικού διαλύματος εξαρτάται από την τιμή του  $pK_o$  του δότη πρωτονίων και από το λογάριθμο του λόγου των τιμών της συγκέντρωσης του δότη προς τη συγκέντρωση του δέκτη των πρωτονίων και όχι από τις αριθμητικές τιμές των συγκεντρώσεών τους. Αυτό εξηγεί το λόγο για τον οποίο δεν μεταβάλλεται το pH του ρυθμιστικού διαλύματος όταν αυτό αραιωθεί.

Όταν μέσα στο διάλυμα απαντούν ίσες συγκεντρώσεις του δότη και του δέκτη των πρωτονίων, τότε ο λόγος των συγκεντρώσεών τους είναι 1, κατά συνέπεια ο λογάριθμός τους είναι ίσος με 0 και επομένως η εξίσωση Henderson-Hasselbach παίρνει τη μορφή  $pH = pK_o$ . Αυτό σημαίνει ότι η αριθμητική τιμή του pH του ρυθμιστικού διαλύματος ισούται με την τιμή του  $pK$  του δότη πρωτονίων (του ασθενούς οξέος στο παράδειγμά μας) που συμμετέχει στο σύστημα. Σε αυτή την περιοχή τιμών pH το ρυθμιστικό

διάλυμα κατέχει τη μεγαλύτερη ρυθμιστική ικανότητα. Κατά γενικό τρόπο τα ζεύγη συζυγών βάσεων και οξέων εμφανίζουν ρυθμιστική δράση σε τιμές  $pH = pK \pm 1$ .

Συντελεστής ρυθμιστικής ικανότητας (βιολογική σημασία)

Για την έκφραση της ρυθμιστικής ικανότητας ενός ρυθμιστικού διαλύματος, δηλαδή της ικανότητάς του να ανθίσταται στη μεταβολή του pH κατά την προσθήκη ισχυρών οξέων ή βάσεων, χρησιμοποιείται ο συντελεστής ρυθμιστικής ικανότητας. Στην πράξη ο συντελεστής ρυθμιστικής ικανότητας ορίζεται σαν ο αριθμός των χιλιοστομορίων (mmol) οξέος ή βάσης που πρέπει να προσθέσουμε σε 1L του ρυθμιστικού διαλύματος για να προκαλέσουμε μεταβολή pH κατά μία μονάδα.

**ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ**

Στο ακόλουθο πείραμα θα προσπαθήσουμε να κατανοήσουμε την έννοια και τη σημασία των ρυθμιστικών διαλυμάτων.

<b>ΟΡΓΑΝΑ</b>	<b>ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΥΛΙΚΑ</b>
Ογκομετρικοί σωλήνες: δύο των 10, ένας των 25 ml και ένας των 50 ml.	<b>35 ml</b> οξικού οξέος ( $CH_3COOH$ ) συγκέντρωσης <b>0.1 M</b>
1 σιφώνιο των 10 ml	<b>65 ml</b> οξικού νατρίου ( $CH_3COONa$ ) συγκέντρωσης <b>0.1 M</b>
1 ηλεκτρονικό πεχάμετρο	<b>30ml</b> Διάλυμα Υδροξειδίου του νατρίου ( $NaOH$ ) συγκέντρωσης <b>0.1M</b>
2 ποτήρια ζέσεως χωρητικότητας 100 ml	Απιονισμένο νερό
	2 πρότυπα διαλύματα με pH 4 και pH 7 αντίστοιχα για τη ρύθμιση του ηλεκτρικού πεχαμέτρου
	<b>50 ml</b> γάλακτος.

### ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ Α'

Με τη βοήθεια ενός ογκομετρικού σωλήνα των 10 ml ογκομετρούμε 10 ml οξικού οξέος 0,1 M και με ογκομετρικό σωλήνα των 50 ml ογκομετρούμε 40 ml οξικού νατρίου 0,1 M. Ρίχνουμε τα διαλύματα από τους ογκομετρικούς σωλήνες στο ποτήρι ζέσεως των 100 ml κατασκευάζοντας έτσι το πρώτο διάλυμα (ρυθμιστικό διάλυμα Α).

### ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ Β'

Με τη βοήθεια δύο ογκομετρικών σωλήνων των 25 ml ογκομετρούμε 25 ml οξικού οξέος 0,1 M και 25 ml οξικού νατρίου 0,1 M. Ρίχνουμε τα διαλύματα από τους ογκομετρικούς σωλήνες στο ποτήρι ζέσεως των 100 ml κατασκευάζοντας έτσι το δεύτερο διάλυμα (ρυθμιστικό διάλυμα Β).

### Υπολογισμός pH και pK<sub>a</sub> των 2 διαλυμάτων

**ΕΡΩΤΗΜΑ 1<sup>ο</sup>** : Βρείτε τις τελικές συγκεντρώσεις του οξέος και της βάσης σε κάθε ρυθμιστικό διάλυμα και συμβουλευόμενοι τον τύπο που σας δίνεται παρακάτω και υπολογίστε το k<sub>a</sub> και στη συνέχεια το pK<sub>a</sub> (-logk<sub>a</sub>)

$$k_a = \frac{(CH_3COO^-) \cdot (H_3O^+)}{(CH_3COOH)}$$

	pH	k <sub>a</sub>	pK <sub>a</sub>
<b>Ρυθμιστικό διάλυμα Α</b>			
<b>Ρυθμιστικό διάλυμα Β</b>			

**Έλεγχος ρυθμιστικής ικανότητας**

Σε 50 ml του διαλύματος Α, προσθέτουμε, διάλυμα NaOH συγκέντρωσης 0,1 M σε βήματα σύμφωνα με τον ακόλουθο πίνακα, όπου αναγράφεται ο τελικός όγκος του διαλύματος NaOH σε κάθε στάδιο, με σκοπό να ελέγξουμε τη ρυθμιστική ικανότητα του. Μετά από την κάθε προσθήκη ανακινούμε καλά ενώ σε όλη τη διάρκεια του πειράματος διατηρούμε βυθισμένο στο διάλυμα το ηλεκτρόδιο ώστε να καταγράφουμε τις τιμές του pH. (Ομοίως θα πράξετε για το γάλα και το απιονισμένο νερό).

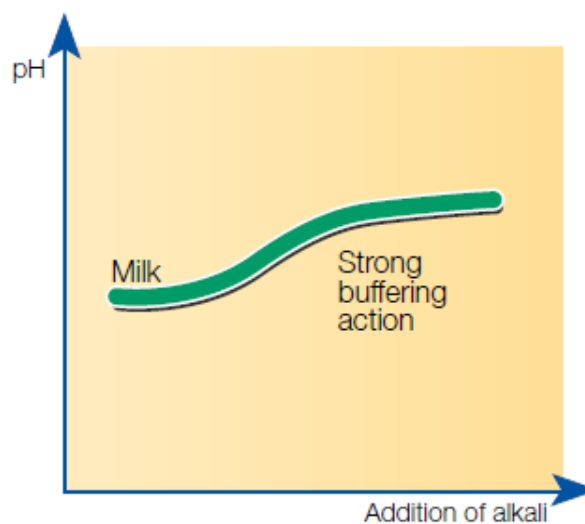
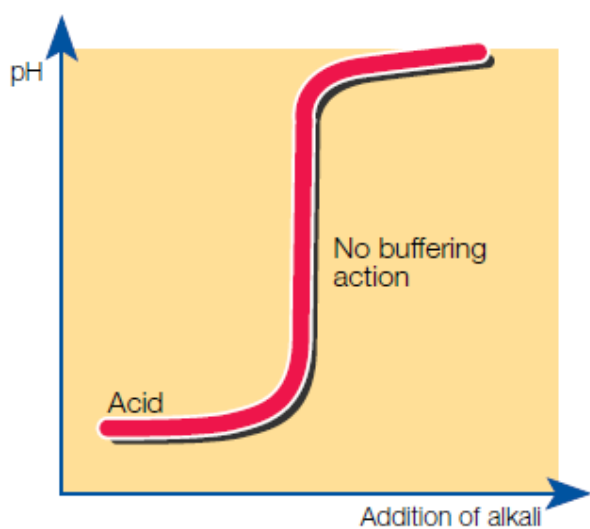
ml 0,1 M NaOH (αθροιστικά)	ml 0,1 M NaOH (ανά μέτρηση)	mmol NaOH	pH Ρυθμιστικού δ/τος Α (50ml)	pH Γάλακτος (50ml)	pH Απιονισμένου νερού (50ml)
0,0	0,0				
0,2	0,2				
1	0,8				
2	1				
3	1				
4	1				
5	1				
6	1				
7	1				
8	1				
9	1				
10	1				



## ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ – ΑΣΚΗΣΕΙΣ

2<sup>η</sup> Παρουσιάστε τις παραπάνω τιμές pH για το διάλυμα A, το γάλα και το απιονισμένο νερό, σε τρία ξεχωριστά γραφήματα, με τον όγκο του NaOH στον άξονα των *x* και τις τιμές pH στον άξονα των *y*.

3<sup>η</sup> Σε τι τιμές pH το διάλυμα A παρουσιάζει καλή ρυθμιστική ικανότητα; (ομοίως το γάλα;). Τι παρατηρείτε στην περίπτωση του απιονισμένου νερού;



## ΑΣΚΗΣΗ 4

### ΟΓΚΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ (ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗ ΟΞΕΩΣ ΑΠΟ ΒΑΣΗ)

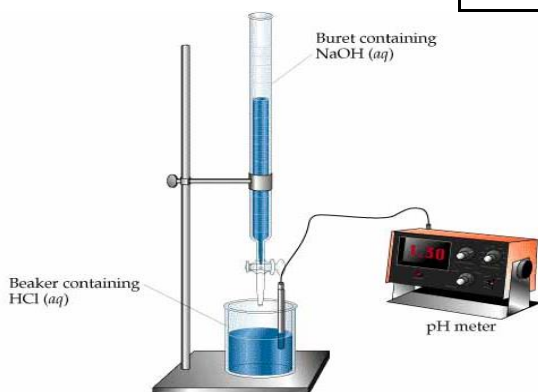
Το πείραμα στηρίζεται στην ογκομετρική μέθοδο ανάλυσης κατά την οποία δύο διαλύματα αντιδρούν. Το ένα είναι γνωστής ποιοτικής και ποσοτικής σύστασης (πρότυπο διάλυμα) ενώ το άλλο είναι άγνωστης (άγνωστο διάλυμα) την οποία και αναζητούμε.

Κατά την αντίδραση των δύο διαλυμάτων, το σημείο στο οποίο έχει επέλθει πλήρης εξουδετέρωση του άγνωστου διαλύματος με την ακριβώς απαιτούμενη ποσότητα του πρότυπου διαλύματος ονομάζεται **ισοδύναμο σημείο** (δείγμα). Επειδή κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας οι ποσοτικοί προσδιορισμοί δεν μπορούν να είναι απόλυτα ακριβείς, το τέλος της αντίδρασης προσδιορίζεται από το **τελικό σημείο** (δείγμα + δείκτης) που συχνά παρουσιάζει αποκλίσεις από το ισοδύναμο. Υπάρχουν διάφοροι τρόποι υπολογισμού του τελικού σημείου. Ο πιο διαδεδομένος είναι η μεταβολή του χρώματος του άγνωστου διαλύματος με την προσθήκη δείκτη ο οποίος προστίθεται εξ' αρχής στο άγνωστο διάλυμα και δεν επηρεάζει την αντίδραση της ογκομέτρησης. Για να προσδιορίσουμε τη συγκέντρωση του άγνωστου διαλύματος μετράμε την απαιτούμενη ποσότητα (όγκος) του πρότυπου διαλύματος που αντιδρά με το άγνωστο διάλυμα.

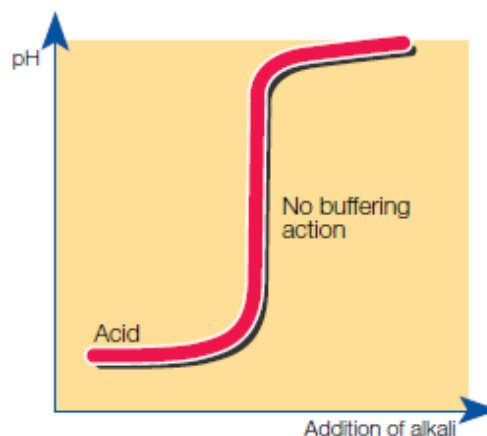
#### Υπολογισμός άγνωστης συγκέντρωσης:

Θεωρούμε προσεγγιστικά ότι το τελικό και το ισοδύναμο σημείο συμπίπτουν και υπολογίζουμε τη συγκέντρωση του άγνωστου διαλύματος με βάση τον παρακάτω τύπο:

$$C_{\pi} * V_{\pi} = C_{\alpha} * V_{\alpha} \quad (1)$$



Σχήμα 4-1.



Όπου  $C_{\pi}$  και  $V_{\pi}$  είναι η συγκέντρωση και ο όγκος του πρότυπου διαλύματος αντίστοιχα και  $C_{\alpha}$ ,  $V_{\alpha}$  η συγκέντρωση και ο όγκος του άγνωστου διαλύματος αντίστοιχα.

Αναφέραμε παραπάνω ότι για τον προσδιορισμό του τελικού σημείου χρησιμοποιούμε κατάλληλο δείκτη. Η καταλληλότητα του δείκτη εξαρτάται από τη περιοχή pH αλλαγής χρώματος του δείκτη. Το ογκομετρούμενο διάλυμα έχει ένα συγκεκριμένο pH στο τελικό σημείο, οπότε ο δείκτης πρέπει να αλλάζει χρώμα σ' αυτή τη περιοχή του pH. Στο συγκεκριμένο πείραμα η ογκομετρική μέθοδος ποσοτικής ανάλυσης στηρίζεται στην αντίδραση εξουδετέρωσης μεταξύ των δύο διαλυμάτων εκ των οποίων το ένα είναι το πρότυπο διάλυμα, (NaOH) που είναι βασικό και το **άγνωστο διάλυμα** CH<sub>3</sub>COOH (**ξύδι εμπορίου**). Αφού έχουμε προσθήκη βάσεως σημαίνει ότι μετά το ισοδύναμο σημείο το pH θα γίνει αλκαλικό. Ως εκ τούτου θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί **φαινολοφθαλεΐνη** (αλλαγή χρώματος από pH 8,2 σε 10).

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

### **Απαιτούμενα όργανα και υλικά**

<b>ΟΡΓΑΝΑ</b>	<b>ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΥΛΙΚΑ</b>
Προχοΐδα	Πρότυπο διάλυμα NaOH 0.1 M
Κωνική φιάλη 250 ml	Ξύδι εμπορίου (10 ml)
Ποτήρι ζέσεως (150ml)	Φαινολοφθαλεΐνη
Διάφορα ποτήρια ζέσεως.	
Σιφώνια	

Η μέτρηση με ακρίβεια των όγκων που πρέπει να χρησιμοποιηθούν επηρεάζουν καθοριστικά το τελικό αποτέλεσμα. Οπότε ο όγκος του άγνωστου διαλύματος πρέπει να μετρηθεί με μεγάλη ακρίβεια. Για το λόγο αυτό πρέπει να χρησιμοποιηθεί **σιφώνιο πλήρωσεως** ή **σιφώνη**. Όχι ογκομετρικός κύλινδρος.

Ανοίγουμε την προχοΐδα για να φύγει ο αέρας έχοντας το ποτήρι ζέσεως από κάτω για να μαζέψουμε το υγρό που θα χυθεί.

Τοποθετούμε το πρότυπο διάλυμα NaOH 0,1M , στη προχοΐδα με τη βοήθεια χωνιού διήθησης.

**Παρασκευή αγνώστου διαλύματος:**

Να αραιώσετε τα 10ml του ξυδιού εμπορίου που σας δόθηκε, με απιονισμένο νερό, σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα και ανάλογα με τον αριθμό της ομάδας που ανήκετε:

ΟΜΑΔΑ	Αρχικός Όγκος Ξυδιού (ml)	Τελικός Όγκος Διαλύματος Ξυδιού (ml)
1-7-13	10	50
2-8-14	10	60
3-9-15	10	70
4-10-16	10	80
5-11-17	10	90
6-12-18	10	100

Στη συνέχεια από το άγνωστο διάλυμα ξυδιού που παρασκευάσατε, **θα λάβετε ποσότητα 10ml** και θα τα τοποθετήσετε στην κωνική φιάλη. Προσθέτουμε και **δύο σταγόνες φαινολοφθαλεΐνης** στο άγνωστο διάλυμα εντός της κωνικής φιάλης.

Έπειτα, προσθέτουμε σιγά-σιγά ποσότητα πρότυπου διαλύματος NaOH με τη βοήθεια της προχοϊδας στη κωνική φιάλη όπου βρίσκεται το άγνωστο διάλυμα ανακατεύοντας συνεχώς ελαφρά με περιστροφικές κινήσεις την κωνική φιάλη

*(**ΠΡΟΣΟΧΗ:** Κοντά στο ισοδύναμο σημείο, το διάλυμα θα λάβει μια ελαφριά **μωβ απόχρωση**. Σε αυτό το σημείο η προσθήκη του πρότυπου διαλύματος γίνεται σταγόνα-σταγόνα).*

Μόλις το διάλυμα αποκτήσει μια ελαφριά μωβ ομοιόμορφη απόχρωση σ' όλη την έκτασή του, έχει ολοκληρωθεί η εξουδετέρωση και η ογκομέτρηση βρίσκεται στο **ΤΕΛΙΚΟ ΤΗΣ ΣΗΜΕΙΟ.**

**Υπολογισμός άγνωστης συγκέντρωσης:**

Θεωρούμε προσεγγιστικά ότι το τελικό και το ισοδύναμο σημείο συμπίπτουν και υπολογίζουμε τη συγκέντρωση του άγνωστου διαλύματος με βάση τον παρακάτω τύπο:

$$C_{\pi} * V_{\pi} = C_{\alpha} * V_{\alpha} \quad (1)$$

**Μετρήσεις:**

Το ογκομετρούμενο διάλυμα έχει όγκο 10 ml και αλλάζει χρώμα μετά την **προσθήκη** ..... ml πρότυπου διαλύματος NaOH 0,1 M τα οποία μετρήθηκαν με τη χρήση της βαθμονομημένης προχοϊδας.

**Υπολογισμοί και Ερωτήσεις:**

1. Υπολογίσατε τη συγκέντρωση του άγνωστου διαλύματος με βάση τον τύπο (1).
2. Βρείτε τον τίτλο του ξυδιού του εμπορίου που σας δόθηκε (αλκοολικούς βαθμούς ή mg/100ml).

Η πυκνότητα του οξικού οξέος, είναι ίση με 1,052 g/ml.

## ΑΣΚΗΣΗ 5

### ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΖΩΟΤΡΟΦΗΣ

---

Όπως ήδη αναφέρθηκε, με τον όρο ρυθμιστικό σύστημα αναφερόμαστε στο σύνολο των ρυθμιστικών ουσιών, οι οποίες είναι ικανές να διατηρήσουν σταθερή την οξεο-βασική ισορροπία ενός διαλύματος κατά την αιφνίδια προσθήκη ενός οξέος ή μιας βάσης. Τα ρυθμιστικά διαλύματα (buffer solution) είναι μεικτά ηλεκτρολυτικά διαλύματα των οποίων η τιμή του pH παραμένει πρακτικώς σταθερή, όταν προστεθούν σε αυτά μικρές ποσότητες οξέων ή βάσεων. Επίσης η τιμή του pH των ρυθμιστικών διαλυμάτων είναι πρακτικώς ανεξάρτητη από την αραίωσή τους. Η ποσότητα των ιόντων H ή OH που μπορεί να προστεθεί στο σύστημα χωρίς να αλλάξει σημαντικά η τιμή του pH είναι γνωστή ως χωρητικότητα ρυθμιστικού διαλύματος. Τα πιο απλά από τα ρυθμιστικά διαλύματα είναι μεικτά υδατικά διαλύματα ασθενών οξέων με τα άλατά τους με ισχυρές βάσεις ή ασθενών βάσεων με τα άλατά τους με ισχυρά οξέα.

#### ***Γενικά τα ρυθμιστικά διαλύματα θα πρέπει:***

1. Διατηρούν το pH τους πρακτικά σταθερό όταν προστίθενται σε αυτά μικρές αλλά υπολογίσιμες ποσότητες ισχυρών οξέων ή βάσεων
2. Διατηρούν το pH τους πρακτικά σταθερό, κατά την αραίωσή τους σε ορισμένα όρια. Αν υπερβούμε αυτά τα όρια τότε η τιμή του pH αλλάζει σημαντικά.

#### ***Τα ρυθμιστικά διαλύματα βρίσκουν πολλές εφαρμογές, όπως :***

1. Στην αναλυτική χημεία για τη βαθμονόμηση πεχαμέτρων, ποσοτική ανάλυση κλπ.
2. Στη βιομηχανία. Πολλές χημικές και βιοχημικές διεργασίες πρέπει να γίνονται σε καθορισμένη τιμή pH (βιολογικοί καθαρισμοί, επεξεργασία δερμάτων, παραγωγή χρωμάτων, λιπασμάτων κλπ.). Αυτό διασφαλίζεται με τη χρησιμοποίηση ρυθμιστικών διαλυμάτων.
3. Στην ιατρική, βιολογία, φαρμακευτική. Στον ενόργανο κόσμο τα περισσότερα υγρά των ζώων και φυτών είναι ρυθμιστικά διαλύματα, τα οποία ρυθμίζουν τις βιοχημικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα. Για παράδειγμα το αίμα είναι ρυθμιστικό διάλυμα, γι' αυτό και οι ενδοφλέβιες ενέσεις περιέχουν ρυθμιστικό διάλυμα .

### **Συντελεστής ρυθμιστικής ικανότητας (βιολογική σημασία)**

Για την έκφραση της ρυθμιστικής ικανότητας ενός ρυθμιστικού διαλύματος, δηλαδή της ικανότητας του να ανθίσταται στη μεταβολή του p H κατά την προσθήκη ισχυρών οξέων ή βάσεων, χρησιμοποιείται ο συντελεστής ρυθμιστικής ικανότητας . Στην πράξη ο συντελεστής ρυθμιστικής ικανότητας ορίζεται σαν ο αριθμός των χιλιοστομορίων mmol οξέος ή βάσης που πρέπει να προσθέσουμε σε 1L του ρυθμιστικού διαλύματος για να προκαλέσουμε μεταβολή του p H κατά μία μονάδα. Μαθηματικά η ρυθμιστική ικανότητα ορίζεται από την σχέση :

$$\beta = \frac{dC_B}{dpH} = - \frac{dC_A}{dpH}$$

Όπου C<sub>A</sub> και C<sub>B</sub> είναι ανάλογα τα moles προστιθέμενου οξέος ή βάσης ανά λίτρο διαλύματος, ενώ το θετικό η αρνητικό πρόσημο εξαρτάται αν αναφερόμαστε σε διαφορές βάσης ή οξέως αντίστοιχα. Με άλλα λόγια, ο συντελεστής β αναφέρεται στη κλίση της καμπύλης όταν η συγκέντρωση είναι στον άξονα ψ.

### **Ρυθμιστική ικανότητα (Buffer capacity) στις ζωοτροφές**

Διατροφικός έλεγχος και ρυθμιστική ικανότητα σε ζωοτροφές χοιριδίων.

Η διαδικασία ανάπτυξης ενός ώριμου εντερικού συστήματος του χοίρου είναι πολύ σημαντική και τα σκευάσματα που θα χρησιμοποιηθούν για αυτό το σκοπό πρέπει να βοηθήσουν προς αυτή τη κατεύθυνση. Άμεσα μετά τον απογαλακτισμό τα χοιρίδια παράγουν ανεπαρκή ποσότητα υδροχλωρικού οξέος, απαραίτητο για τη διατήρηση ενός χαμηλού pH στο στομάχι και να εξασφαλίσουν την ενεργοποίηση της δράσης της πεψίνης ( απαραίτητη για τη πέψη των πρωτεϊνών), εξασφαλίζοντας παράλληλα έλεγχο των παθογόνων βακτηρίων. Ως εκ τούτου η χαμηλή ρυθμιστική ικανότητα μιας τροφής είναι σημαντική για αύξηση πέψης των πρωτεϊνών.

Επομένως, η υψηλή ρυθμιστική ικανότητα οδηγεί σε χαμηλότερη πεπτικότητα της οργανικής ύλης και της ακατέργαστης πρωτεΐνης και επομένως επηρεάζει δυσμενώς την απόδοση των ζώων. Ταυτόχρονα, οι υψηλές τιμές των διαιτητικών συνηθειών ρυθμιστικής ικανότητας έχουν σημαντική επίδραση στην εντερική ζύμωση που συμβαίνει στον ειλεό και το τυφλό έντερο, όπου σκοπός της ζύμωσης είναι ο περιορισμός της ανάπτυξης βακτηρίων.

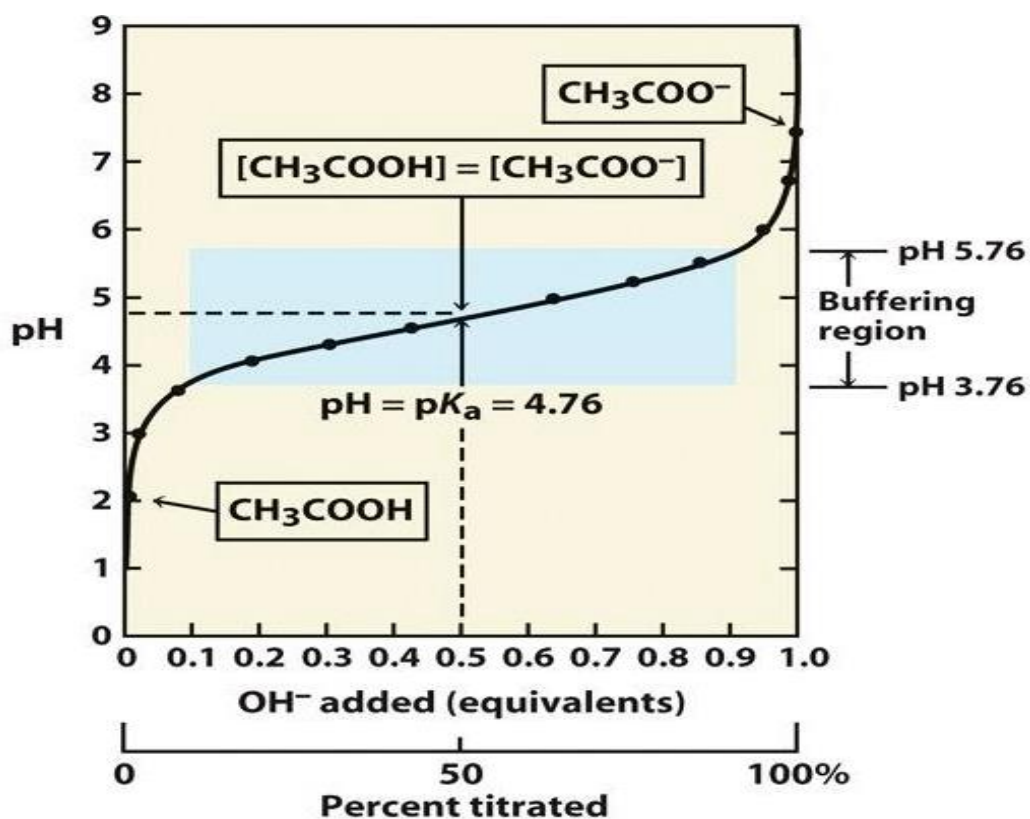
Αποτέλεσμα αυτού είναι ότι οι ζωοτροφές δεν πρέπει να σχετίζονται μόνο με το προφίλ αμινοξέων ή το ενεργειακό περιεχόμενο της δίαιτας, το οποίο φυσικά είναι σημαντικό, αλλά και σε άλλα θρεπτικά συστατικά και βασικές παραμέτρους. Τέτοιες είναι η ποσότητα οξέος διαιτητικής (dABC), η οποία συνδέεται στενά με επιλεγμένες πρώτες ύλες που περιλαμβάνονται στην τελική ζωοτροφή και έχει τεράστια επίδραση στην πεπτικότητα των ζωοτροφών και την ανάπτυξη του εντέρου.



Τροφές σιτηρεσίου χοίρων

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Για τη μέτρηση της ρυθμιστικής ικανότητας ζωοτροφών, θα επιλεγούν ζωοτροφές και θα δοθούν στους φοιτητές που με τη σειρά τους θα μελετήσουν τη ρυθμιστική ικανότητα σύμφωνα με το πρωτόκολλο που θα ακολουθηθεί.





Η κάθε ομάδα ζυγίζει συγκεκριμένα γραμμάρια ξηρής τροφής (πχ 0,5gr καλαμπόκι) τα οποία μετά αραιώνει με απιονισμένο νερό (30ml).

Το διάλυμα αναδεύεται αρκετά και μετριέται το pH του.

Εφόσον το pH είναι βασικό (>7) τότε η τιτλοδότηση του διαλύματος γίνεται με 1N HCl, ενώ εάν το διάλυμα είναι όξινο (<7) η τιτλοδότηση γίνεται αντίστοιχα με 1N NaOH.

Η τιτλοδότηση γίνεται σταγόνα σταγόνα και με ισχυρή ανάδευση, ενώ ταυτόχρονα γίνεται μέτρηση και καταμέτρηση της αλλαγής του pH.

Για τα βασικά διαλύματα η διαδικασία σταματάει μόλις το pH φτάσει στη τιμή 3,5 ενώ για τα όξινα μόλις φτάσει το 9,5 αντίστοιχα.

Οι τιμές παρουσιάζονται σε excel και γίνεται σύγκριση της ρυθμιστικής ικανότητας μεταξύ των τροφών που χρησιμοποιήθηκαν.

Τι συμπεράσματα βγάξετε από τις μετρηθείς τροφές;



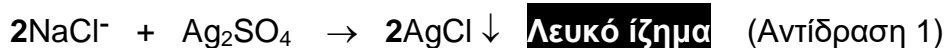
## ΑΣΚΗΣΗ 6

### ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΧΛΩΡΙΟΥΧΩΝ ΣΕ ΖΩΟΤΡΟΦΗ

---

Τα χλωριούχα στο πόσιμο νερό μπορεί να έχουν φυσική προέλευση (περιοχές με διάφορα κρυσταλλικά πετρώματα και ορυκτά NaCl, KCl κ.λ.π, επικοινωνία με θαλασσινό νερό, ζωντανοί οργανισμοί και προϊόντα αποσυνθέσεως αυτών) ή να προέρχονται από διεργασίες οι οποίες είναι απαραίτητες για να γίνει το νερό πόσιμο (απολύμανση, χλωρίωση). Πολλές φορές κρίνεται απαραίτητος ο προσδιορισμός της ποσότητας των χλωριούχων αυτών στο πόσιμο νερό διότι σε μεγάλες συγκεντρώσεις καθιστούν το νερό ακατάλληλο.

Ο προσδιορισμός των χλωριούχων σε υδατικά διαλύματα γίνεται με ογκομετρία καθίζησης χρησιμοποιώντας ως πρότυπο, διάλυμα θειικού αργύρου ώστε να δώσει τελικά λευκό ίζημα, καθώς ο AgCl που δημιουργείται είναι άλας δυσδιάλυτο στο νερό. Η βασική αντίδραση στην οποία στηρίζεται ο προσδιορισμός είναι:



**ΠΡΟΣΟΧΗ! ΚΑΤΑ ΤΟΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟ** του 1 mole του  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  απαιτούνται 2 moles NaCl σύμφωνα με την στοιχειομετρία της αντίδρασης (1)

Στο ισοδύναμο σημείο, όταν όλα τα χλωριούχα έχουν καταβυθισθεί σαν AgCl (αντίδραση 1), χρησιμοποιούμε μικρή ποσότητα από χρωμικά σαν δείκτη ώστε να αντιληφθούμε ότι όλα τα χλωριούχα ιόντα του διαλύματος μας έχουν αντιδράσει. Η μικρή περίσσεια  $\text{Ag}^+$  αντιδρά με τα χρωμικά και σχηματίζει τον χρωμικό άργυρο  $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$  (αντίδραση 2).



Το τελικό σημείο της ογκομέτρησης καθορίζεται από την εμφάνιση **καστανέρυθρου χρώματος**, που οφείλεται στο σχηματισμό του  $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$ .

### Σφάλμα της μεθόδου:

Ο δείκτης  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  αντιδρά με το  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  (το καταναλώνει). Το σφάλμα αυτό μπορεί να διορθωθεί με τυφλό προσδιορισμό, με ογκομέτρηση δηλαδή κάτω από τις ίδιες ακριβώς συνθήκες ενός δείγματος που δεν περιέχει χλωριούχα (π.χ. απεσταγμένο νερό). Η ποσότητα του  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  που καταναλώθηκε κατά τον τυφλό (για την αλλαγή χρώματος) προσδιορισμό αφαιρείται από την ποσότητα που καταναλώνεται για κάθε ογκομέτρηση.

Με την μέθοδο προσδιορισμού χλωριούχων στο νερό με τη **μέθοδο Μορ** που αναπτύχθηκε το 1856 από το Γερμανό χημικό Μορ ((Karl Friedrich Mohr, 1806 – 1879) και εφαρμόζεται σε ουδέτερα ή ελαφρώς αλκαλικά διαλύματα, θα γίνει ο προσδιορισμός αλάτων σε ζωοτροφή. Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιείται ως δείκτης το χρωμικό κάλιο το οποίο σχηματίζει με τα  $\text{Ag}^+$  (που περισσεύουν μετά την καταβύθιση του  $\text{AgCl}$ ) χρωμικό άργυρο,  $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$  που είναι κόκκινο ίζημα το οποίο δείχνει και το τέλος της ογκομέτρησης. Η μέθοδος αυτή συνίσταται για περιεκτικότητες σε  $\text{Cl}^-$  μεγαλύτερες των 10mg/l (ppm) και τα αποτελέσματα δίνονται με προσέγγιση  $\pm 1\text{mg/l Cl}^-$ .

Η περιεκτικότητα άλατος σε ζωοτροφή αποκτά μεγάλη σημασία για την καθημερινή διαίτα του ζώου καθώς τα επίπεδα σε αλάτι θα πρέπει να ελέγχονται σε μετεγχειρητικές καταστάσεις (π.χ. στείρωση), σε διάφορες παθολογικές (χρόνιες και μη) καταστάσεις του ζώου αλλά και όταν λαμβάνει κάποια θεραπευτική αγωγή.

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

### Απαιτούμενα όργανα και υλικά

ΟΡΓΑΝΑ	ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΥΛΙΚΑ
2 κωνικές φιάλες των 100 ml	Πρότυπο διάλυμα 20mM $\text{Ag}_2\text{SO}_4$
Προχοίδα	Απεσταγμένο νερό
2 πλαστικά σωληνάκια	Ζύγιση $\approx 4\text{gr}$ Ζωοτροφής
1 ποτήρι ζέσεως των 100ml / 2 Ομάδες	Διάλυμα 5% $\text{K}_2\text{CrO}_4$
Αναδευτήρας - Φυγόκεντρος	

Γεμίζονται οι Προχοίδες με το πρότυπο διάλυμα.

### 1. ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ ΑΛΛΑΓΗΣ ΤΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΣ

(Τελικό Σημείο της ογκομέτρησης)

- **Απιονισμένο**

Σε μία κωνική των 100ml προστίθενται 10ml  $\text{dH}_2\text{O}$  και 8 σταγόνες διαλύματος 5%  $\text{K}_2\text{CrO}_4$ . Γίνεται ογκομέτρηση μέχρι την αλλαγή του χρώματος σε **καστανέρυθρο**. Και υπολογίζεται ο όγκος του πρότυπου διαλύματος που καταναλώθηκε.

- **Δείγμα**

Σε ένα ποτήρι ζέσεως των 100ml, οι ομάδες ανά 2 προσθέτουν 50ml απιονισμένου νερού και ένα μαγνητάκι. Ρίχνουν την ζυγισμένη ζωοτροφή και την αφήνουν να αναδεύεται στις 400-500 στροφές για 15-17'.

Γίνεται λήψη δύο φορές των 6ml από το υπερκείμενο σε δύο πλαστικούς δοκιμαστικούς σωλήνες (6ml + 6ml) ανά ομάδα

#### ΟΜΑΔΑ Α

6ml + 6ml

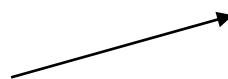


#### ΟΜΑΔΑ Β

6ml + 6ml



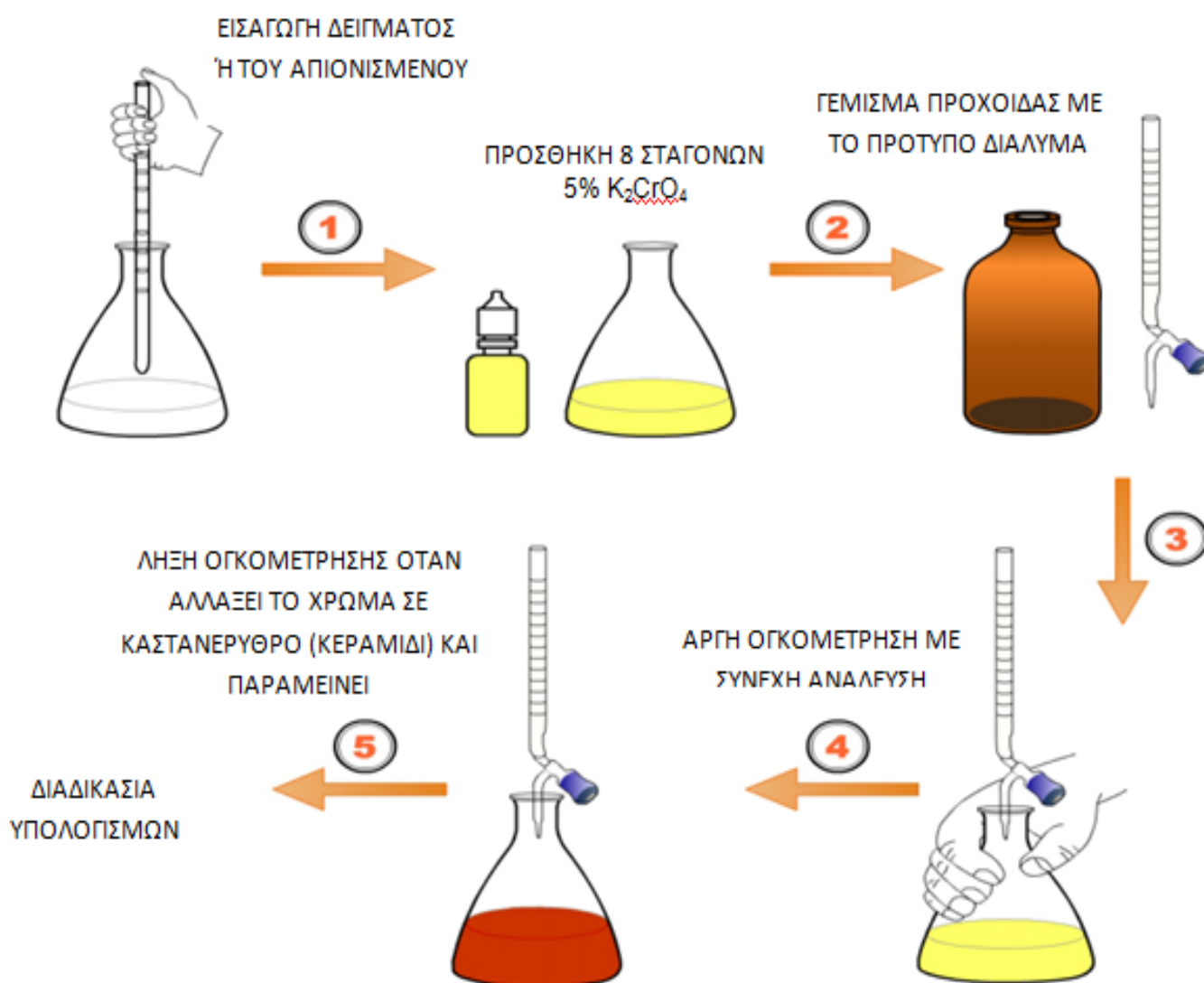
Δοκιμαστικοί σωλήνες



Γίνεται φυγοκέντρωση στις 5.000 στροφές για 10'

Η κάθε ομάδα λαμβάνει 5ml, από το υπερκείμενο των 2 πλαστικών δοκιμαστικών σωλήνων, και τα μεταφέρει στην κωνική φιάλη των 100ml έτσι ο τελικός όγκος της κωνικής να είναι τα 10ml. Σε αυτό προστίθενται και 10ml dH<sub>2</sub>O και 8 σταγόνες διαλύματος 5% K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>.

### ΠΟΡΕΙΑ ΟΓΚΟΜΕΤΡΗΣΗΣ



**ΠΡΟΣΟΧΗ:** Κοιτάξτε τα πρότυπα διαλύματα, πριν και μετά την αλλαγή χρώματος, που υπάρχουν στο εργαστήριο.

## ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

**1.** Να υπολογίσετε τις ποσότητες των ανιόντων χλωρίου ( $\text{Cl}^-$ ) στο απιονισμένο νερό και στο διάλυμα με τη ζωοτροφή. Για τους υπολογισμούς σας λάβετε υπόψη ότι το ατομικό βάρος του χλωρίου ( $\text{Cl}^-$ ) είναι 35,4 g/mol.

Όγκος απιονισμένου που χρησιμοποιήθηκε για την ογκομέτρηση για το προσδιορισμό του τυφλού .....

Όγκος διαλύματος  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  που καταναλώθηκε κατά την ογκομέτρηση του απιονισμένου (φιάλη Α)  $V_a$ ..... (προσδιορισμός του τυφλού)

Όγκος διαλύματος  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  που καταναλώθηκε κατά την ογκομέτρηση του δείγματος (φιάλη Β)  $V_p$ .....

Όγκος διαλύματος δείγματος που θα χρησιμοποιηθεί κατά την ογκομέτρηση για τον προσδιορισμό  $V_t$ .....

Τελικός όγκος διαλύματος δείγματος (ml δείγματος +  $\text{dH}_2\text{O}$ ) που χρησιμοποιήθηκε κατά την ογκομέτρηση για τον προσδιορισμό .....

Η Normality του  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  που χρησιμοποιήθηκε .....

Το ατομικό βάρος του χλωρίου ( $\text{Cl}^-$ ) .....

$$\text{Χλώρια mg/L} = [(V_p - V_a - V_t) \cdot N \cdot (A_w \text{ Cl}) \cdot 1000] / V_t$$

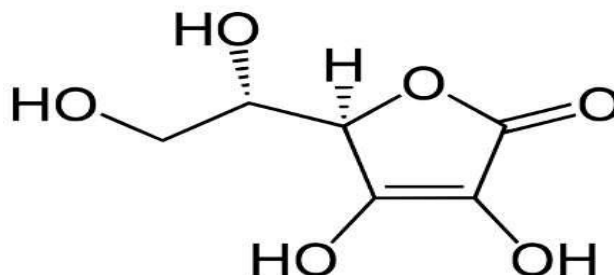
**3.** Να βρείτε (βιβλιογραφικά ή αλλού) και αναπτύξετε εν συντομία ποια πρέπει (αν υπάρχουν) να είναι τα φυσιολογικά επίπεδα συγκέντρωσης Na και Cl σε ζωοτροφές και ποια η σχέση αναλογίας μεταξύ τους για τις τροφοληπτικές απαιτήσεις του ζώου;

Να αναφέρετε τις βιβλιογραφικές πηγές τις οποίες χρησιμοποιήσατε.

## ΑΣΚΗΣΗ 7

## ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ C

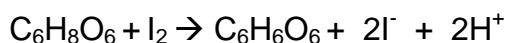
Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) είναι ζωτικής σημασίας για τους ζωικούς οργανισμούς καθώς συμμετέχει σε διάφορες μεταβολικές λειτουργίες όπως η σύνθεση του κολλαγόνου, η διατήρηση της σταθερότητας των αιμοφόρων αγγείων, ο μεταβολισμός των αμινοξέων και η απελευθέρωση των διαφόρων ορμονών στα επινεφρίδια. Η έλλειψή της συμβάλλει στην εμφάνιση μιας ασθένειας, του σκορβούτου. Σε περίπτωση επαφής με τον ατμοσφαιρικό αέρα η βιταμίνη C καταστρέφεται.



## ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ο προσδιορισμός της βιταμίνης C ( $C_6H_8O_6$ ) μπορεί να πραγματοποιηθεί με οξειδοαναγωγική αναμέτρηση. Επιπλέον ως αντιδραστήριο θα χρησιμοποιήσουμε ένα διάλυμα ιωδίου I.

Όταν σε ένα διάλυμα περιέχεται βιταμίνη C προσθέσουμε σταγόνα-σταγόνα ένα διάλυμα ιωδίου ( το  $I_2$  είναι οξειδωτικό) η βιταμίνη C η οποία είναι αντιοξειδωτική, θα αντιδράσει με το ιώδιο σχηματίζοντας δεϋδροασκορβικό οξύ ( $C_6H_6O_6$ ).



Όταν τα μόρια της βιταμίνης αντιδράσουν πλήρως το διάλυμα του ιωδίου θα χρωματιστεί καφέ λόγω του ιωδίου που λειτουργεί σαν δείκτης. Για να εντοπίσουμε το τελικό σημείο της ογκομέτρησης προσθέτουμε στο διάλυμα άμυλο το οποίο αντιδρά με το ιώδιο και διάλυμα χρωματίζεται σκούρο μπλε. Το ποσό της βιταμίνης C θα είναι ανάλογο με την ποσότητα του ιωδίου που απαιτείται με την εμφάνιση του μπλε χρώματος. Το ποσό της βιταμίνης C στο άγνωστο διάλυμα μπορεί να προσδιοριστεί δεδομένου ότι το ιώδιο έχει γνωστή συγκέντρωση.

### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σκοπός του πειράματος είναι να προσδιοριστεί το ποσό της βιταμίνης σε διάφορα δείγματα.

ΟΡΓΑΝΑ	ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΥΛΙΚΑ
Ηλεκτρονικός ζυγός	Δισκίο 1 gr βιταμίνης C (1000mgr)
Ορθοστάτης	Δ/μα I <sub>2</sub> που περιέχει KI και KIO <sub>3</sub>
Προχοΐδα	Δ/μα αμύλου (δείκτης) περιεκτικότητας 1% w/v
Κωνική φιάλη	Δ/μα HCl 1M
Ποτήρι ζέσεως	Χυμός πορτοκαλιού
Σιφώνι με roige	Απιονισμένο νερό
Ογκομετρικός κύλινδρος 1000 ml	
Ογκομετρικοί κύλινδροι 10-50ml	
Ογκομετρική φιάλη 250 ml	
Υδροβολέας	
Χωνί	



**(ΣΑΣ ΔΙΝΟΝΤΑΙ ΕΤΟΙΜΑ ΤΑ ΠΑΡΑΚΑΤΩ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ)**

**A. Παρασκευή διαλύματος βιταμίνης C με περιεκτικότητα 1mg/mL**

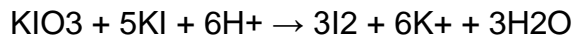
Προμηθευόμαστε δισκία βιταμίνης που περιέχουν 1000 mg βιταμίνης C το καθένα και σε ένα ποτήρι ζέσεως διαλύουμε ένα δισκίο των 1000 mg, σε 100 ml περίπου απιονισμένο νερό. Το διάλυμα αυτό το αραιώνουμε σε **τελικό όγκο** 1000 ml.

Βάζουμε μια ετικέτα «Βιταμίνη C 1mg/mL» .

**B. Παρασκευή διαλύματος  $KIO_3$  0,01M και KI 0,1M**

Διαλύουμε 1,07 gr ιωδικού καλίου ( $KIO_3$ ) και 8,3 gr ιωδιούχου καλίου (KI) σε 200 ml περίπου απιονισμένο νερό. Το διάλυμα αυτό το αραιώνουμε σε τελικό όγκο 500 ml.

Όταν στο διάλυμα αυτό προστεθεί ισχυρό οξύ το ιωδιούχο κάλιο ( $KIO_3$ ) αντιδρά με το ιωδικό (KI) και απελευθερώνεται μοριακό ιώδιο  $I_2$ .



Βάζουμε μια ετικέτα «Διάλυμα ιωδίου ( $KIO_3$  0,01M και KI 0,1M)».

**Γ. Παρασκευή διαλύματος αμύλου με περιεκτικότητα 1% w/v**

Προσθέτουμε 0,50g διαλυτού αμύλου σε 50 ml σχεδόν βραστό απιονισμένο νερό και αναδεύουμε καλά και το αφήνουμε να κρυώσει πριν τη χρήση.

Βάζουμε μια ετικέτα «Διάλυμα αμύλου 1% w/v».

## **(ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΑΠΟ ΤΙΣ ΟΜΑΔΕΣ)**

### **Δ. Ογκομέτρηση γνωστής (πρότυπης) ποσότητας βιταμίνης C**

1. Γεμίζουμε την προχοΐδα με το διάλυμα ιωδίου.
2. Σημειώνουμε τον αρχικό όγκο του διαλύματος στην προχοΐδα.
3. Σε μια κωνική φιάλη προσθέτουμε 20 ml διαλύματος βιταμίνης C (περιέχουν 20mg βιταμίνης) και προσθέτουμε H<sub>2</sub>O για τελικό όγκο 120ml.
4. Προσθέτουμε 20 σταγόνες διαλύματος αμύλου.
5. Προσθέτουμε 30 σταγόνες διαλύματος HCl 1M.
6. Προσθέτουμε διάλυμα ιωδίου μέχρι να γίνει αισθητή η αλλαγή του χρώματος του διαλύματος της κωνικής φιάλης σε **σκούρο μπλε**. Η αλλαγή στο χρώμα να παραμένει περισσότερο από 20 δευτερόλεπτα.
7. Σημειώνουμε τον τελικό όγκο του διαλύματος στην προχοΐδα.
8. Η διαφορά μεταξύ του αρχικού και του τελικού όγκου είναι η ποσότητα του διαλύματος του ιωδίου που απαιτείται για την οξείδωση όλης της ποσότητας της βιταμίνης C.

### **Ε. Ογκομέτρηση δείγματος χυμού πορτοκαλιού εμπορίου.**

Για τον χυμό του εμπορίου επαναλαμβάνουμε τη διαδικασία που χρησιμοποιήσαμε για την πρότυπη ποσότητα της βιταμίνης, χρησιμοποιώντας όμως αυτή τη φορά 20 ml δείγματος χυμού και προσθέτουμε dH<sub>2</sub>O για τελικό όγκο 120ml και πράττουμε ομοίως.

Σημειώνουμε την ποσότητα του διαλύματος του ιωδίου που απαιτείται για την οξείδωση όλης της ποσότητας της βιταμίνης C που περιέχεται στον χυμό.

### **Ερώτηση :**

Υπολογίστε και καταγράψτε την περιεκτικότητα του χυμού σε βιταμίνη C.

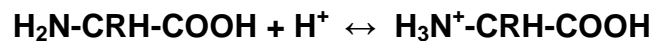
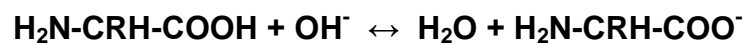
## ΑΣΚΗΣΗ 8

### ΙΟΝΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ

---

*Θεωρητικά στοιχεία (Γενικά)*

Όλα τα αμινοξέα περιέχουν ομάδες που ιονίζονται και δρουν σαν ασθενή οξέα ή βάσεις δίνοντας ή παίρνοντας πρωτόνια, είναι δηλαδή ένα είδος αμφολυτών. Αυτή η συμπεριφορά των αμινοξέων περιγράφεται πλήρως με τη θεωρία των Bronsted-Lowry. Οπότε :



Οι αντιδράσεις αυτές χαρακτηρίζονται από τις σταθερές  $K_1$  (διάσταση της καρβοξυλικής ομάδας) και  $K_2$  (διάσταση της αμινικής ομάδας). Από τις εξισώσεις αυτές προκύπτει ότι το διάλυμα του αμινοξέος κατέχει ρυθμιστική δράση σε δύο περιοχές τιμών του pH, που βρίσκονται γύρω από τις τιμές  $pK_1$  και  $pK_2$  του αμινοξέος. Επομένως σύμφωνα με την εξίσωση Henderson-Hasselbach:

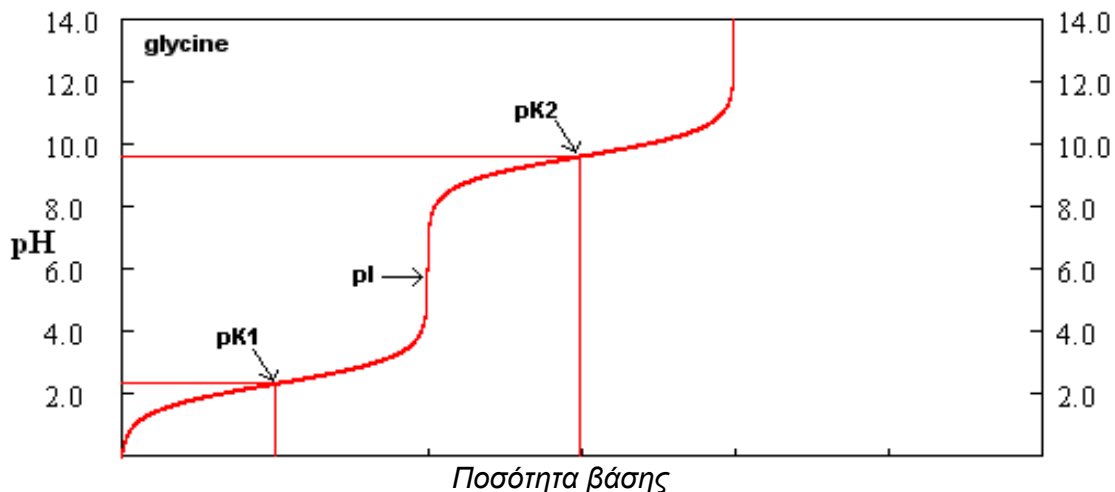
$$pH = pK_o - \log \frac{(\text{οξέος})}{(\text{βάσης})}$$

Όταν προκύπτει  $[\text{οξέος}] = [\text{βάσης}]$  τότε το  $pH=pK$ . Όταν ισχύει αυτό, η τιμή του  $pK$  δηλώνει τη τιμή του pH στην οποία το διάλυμα δρα σαν ρυθμιστικό.

#### Πρότυπη καμπύλη αμινοξέος

Στην εικόνα 5-1 παρακάτω, παρουσιάζεται η καμπύλη ογομέτρησης ενός αμινοξέος(γλυκίνη) με μία βάση. Στην καμπύλη αυτή παρατηρούμε την ύπαρξη δύο περιοχών οι οποίες ανθίσταται στην προσθήκη βάσης, είναι δηλαδή περιοχές όπου το αμινοξύ έχει ρυθμιστική δράση. Κάθε μια από αυτές τις περιοχές της καμπύλης εκφράζεται μαθηματικά με την εξίσωση Henderson-Hasselbach.

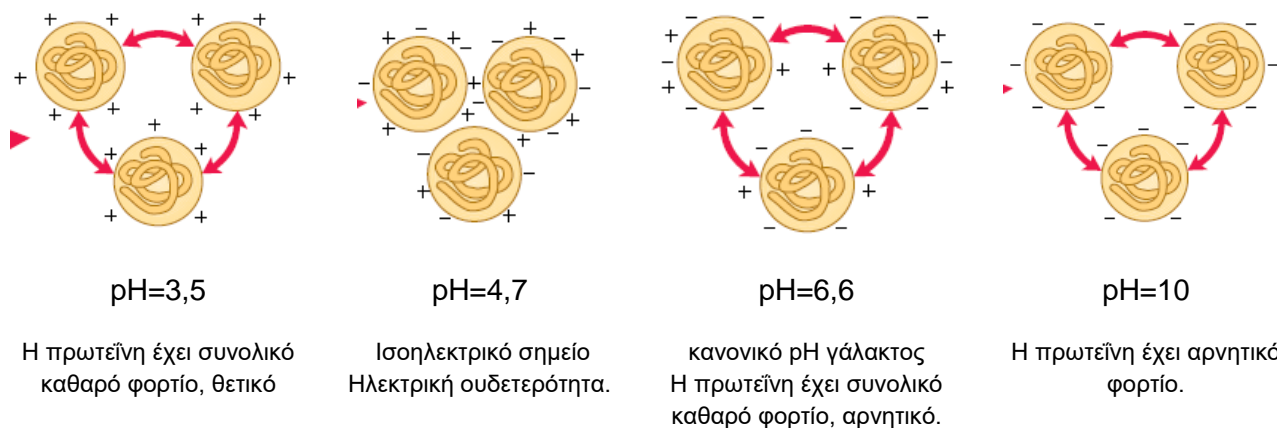
Παρατηρείται επίσης ότι μεταξύ των δύο αυτών περιοχών όπου το αμινοξύ παρουσιάζει ρυθμιστική δράση υπάρχει ένα σημείο καμπής. Σ' αυτό το σημείο τα μόρια του αμινοξέος βρίσκονται με την διπολική τους μορφή και το αμινοξύ παρουσιάζει μηδενικό ηλεκτρικό φορτίο. Η τιμή pH που αντιστοιχεί στο συγκεκριμένο σημείο καλείται **ισοηλεκτρικό σημείο** του αμινοξέος και συμβολίζεται σαν pI.



Εικόνα 5 - 1

Το pI μπορεί να προσδιοριστεί γραφικά από την πρότυπη καμπύλη αλλά και αριθμητικά καθώς ισχύει  $2pI = pK_1 + pK_2$ . Τα pK και pI είναι χαρακτηριστικά (όπως και η πρότυπη καμπύλη) για κάθε αμινοξύ. Για το συγκεκριμένο αμινοξύ έχουμε ότι  $pI = 5,97$  διότι το  $pK_1$  ισούται περίπου με 2,3 και  $pK_2 = 9,6$ .

Επειδή οι πρωτεΐνες ουσιαστικά, είναι αλυσίδες αμινοξέων, διαθέτουν και αυτές ισοηλεκτρικό σημείο. Στο παρακάτω σχήμα 5-2, παρουσιάζονται οι ηλεκτρικές ιδιότητες των πρωτεϊνών του γάλακτος:



Σχήμα 5-2.

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

### **Προσδιορισμός pI γλυκίνης:**

Σας δίνεται διάλυμα 40ml γλυκίνης (αμινοξύ) 7% w/v σε οξύ (0.1 M HCl). Ρυθμίζετε το ηλεκτρονικό πεχάμετρο με βάση τη θερμοκρασία (παράρτημα Α, σελ. 44).

Γεμίζετε την προχοϊδα με το αλκαλικό διάλυμα ΚΟΗ 0.3 Μ (βλ. εικόνα 5-3).

- Αρχίζουμε την ογκομέτρηση και λειτουργούμε με τον εξής τρόπο : Ελέγχοντας πάντα το πεχάμετρο, ρίχνουμε στο διάλυμα γλυκίνης μικρές ποσότητες ΚΟΗ, και όταν η τιμή του pH του διαλύματος αυξηθεί κατά 0,5 βαθμό περίπου, τότε καταγράφουμε την τιμή αυτή αλλά και τα ml του ΚΟΗ που ρίξαμε.

Συνεχίζουμε προσθέτοντας πολύ σιγά ΚΟΗ. Για κάθε 0,2 βαθμό που θα αυξάνεται το pH, θα καταγράφετε την τιμή του pH και τα ml ΚΟΗ που καταναλώθηκαν.

- Προσέχουμε ιδιαίτερα όταν η τιμή του pH φτάσει κοντά στο 3,5-3,8 περίπου, διότι σε εκείνο το σημείο το pH θα αλλάξει απότομα τιμή, επομένως θα πρέπει να ρίχνουμε πολύ μικρές ποσότητες βάσης, και να καταγράφουμε κάθε φορά τις τιμές του pH και τα ml ΚΟΗ. Με τον τρόπο αυτό, θα εργαστείτε μέχρι το pH να φτάσει στο 8,0-8,3.

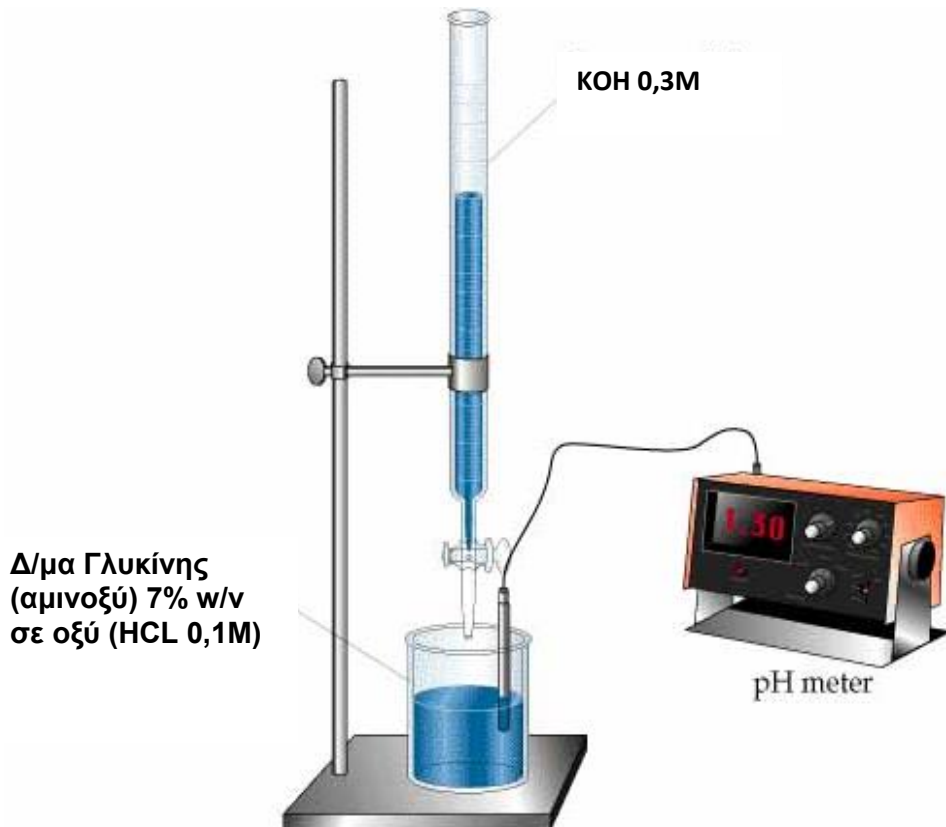
- Από εκεί και έπειτα, συνεχίζετε προσθέτοντας ΚΟΗ, έτσι ώστε πάλι το pH να αυξάνεται κατά 0,2 βαθμό περίπου. Για κάθε 0,2 βαθμό που θα αυξάνεται το pH, θα καταγράφετε πάλι την τιμή του pH και τα ml ΚΟΗ που καταναλώθηκαν.

Η ογκομέτρηση συνεχίζεται **μέχρις ότου το pH να φθάσει περίπου την τιμή 8,8 - 9**. Οι πειραματικές μετρήσεις θα αποδοθούν σε πίνακα ενδεικτικά ως εξής:

<b>ml KOH 0.3M</b>	<b>pH</b>

**ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ - ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ:**

- 1)** Εξηγήστε γιατί τα μόρια της πρωτεΐνης του Σχήματος 5-2, έχουν τη συγκεκριμένη ηλεκτροστατική συμπεριφορά για τις διάφορες τιμές pH; (συμβουλευτείτε και τη σελ. 16).
- 2)** Σε ποια τιμή του pH νομίζετε ότι θα μπορέσει να κροκιδωθεί και να καταβυθιστεί από ένα διάλυμά της η πρωτεΐνη και γιατί;
- 3)** Αφού καταγραφούν οι τιμές pH-ml KOH, να γίνει η γραφική παράσταση (καμπύλη ογκομέτρησης). Στην καμπύλη αυτή θα τοποθετήσετε στον άξονα x τα ml της βάσης, και στον y τις αντίστοιχες τιμές του pH. (βλπ. εικόνα 5-1).
- 4)** Στην συνέχεια να προσδιοριστούν τα  $pI$ ,  $pK_1$  και  $pK_2$ .  
(Ενδεχομένως η τιμή του  $pI$  που θα βρείτε από το διάγραμμα, να παρουσιάζει απόκλιση από την τιμή που θα προκύψει αλγεβρικά).



**Εικόνα 5- 3**

Πειραματική Διάταξη

## ΑΣΚΗΣΗ 9

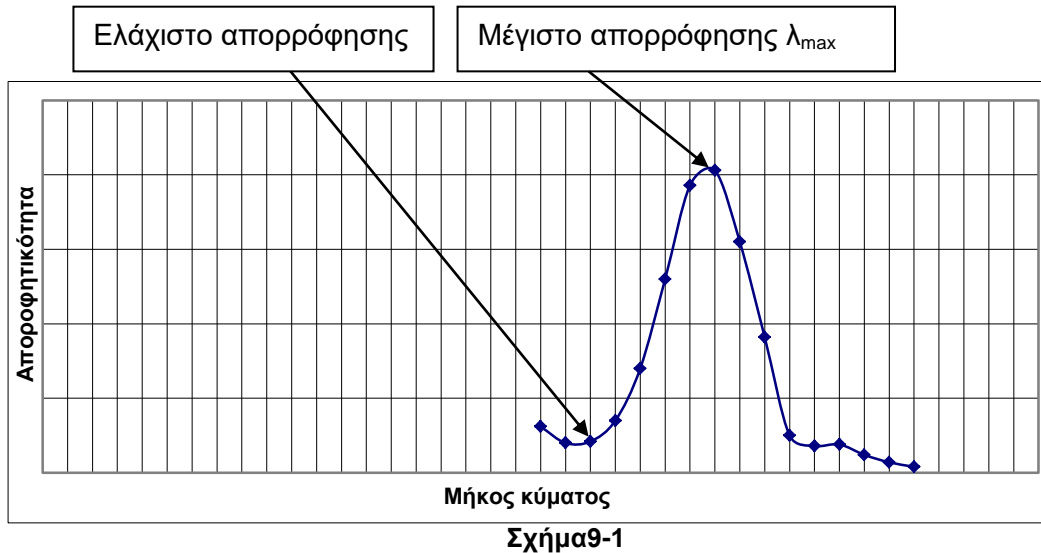
## ΦΩΤΟΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Οι φασματοφωτομετρικές μέθοδοι ανάλυσης βασίζονται στην ικανότητα της ύλης να αλληλεπιδρά με την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με αποτέλεσμα είτε την απορρόφησή της από την ύλη είτε το σκεδασμό της. Η απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας από μια ουσία εξαρτάται από τη φύση του μορίου της ουσίας και από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας. Συνήθως στην χημική ανάλυση χρησιμοποιούνται η υπεριώδης, η ορατή και η υπέρυθρος ακτινοβολία. Η απορρόφηση της υπεριώδους και της ορατής ακτινοβολίας (UV-Vis) προκαλεί ηλεκτρονικές μεταπτώσεις, ενώ η απορρόφηση της υπέρυθρης ακτινοβολίας (IR) προκαλεί δονητικές και περιστροφικές μεταβολές των μορίων.

Η φασματοφωτομετρία είναι μία από τις κυριότερες μεθόδους της ποσοτικής ανάλυσης κι αυτό οφείλεται στην ταχύτητα, στην απλότητα, στην ευαισθησία και την ακρίβεια της, όπως και στη δυνατότητα μη αλλοίωσης του δείγματος. Επίσης παρουσιάζει μεγάλες δυνατότητες αυτοματισμού.

Η καμπύλη που παρουσιάζει την απορρόφηση της ακτινοβολίας από μια ουσία σε σχέση με το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας αποτελεί το ολικό φάσμα απορρόφησης ή απλά το φάσμα απορρόφησης της ουσίας αυτής. Αυτό χαρακτηρίζεται από μέγιστα ( $\lambda_{\max}$ ) και ελάχιστα απορρόφησης. Με το  $\lambda_{\max}$  συμβολίζεται το μήκος κύματος στο οποίο η ουσία απορροφά εντονότερα (μέγιστο απορρόφησης, δείτε το σχήμα 7-1). Από το ολικό φάσμα απορρόφησης μιας ουσίας προκύπτουν τόσο ποιοτικές (ύπαρξη χαρακτηριστικών ομάδων, δομή του μορίου) όσο και ποσοτικές (προσδιορισμός της συγκέντρωσης) πληροφορίες.





Τα όργανα με τα οποία γίνεται η μέτρηση της απορρόφησης ενός διαλύματος μιας ή περισσότερων ουσιών στα διάφορα μήκη κύματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, που προσπίπτει σ' αυτό, ονομάζονται **φασματοφωτόμετρα**. Η λειτουργία των οργάνων αυτών στηρίζεται στο **νόμο των Lambert-Beer**,  $A = \epsilon \cdot c \cdot l$  όπου

**A:** **απορρόφηση** (Absorption)

**$\epsilon$ :** ειδική σταθερά, που εξαρτάται μόνο από τη φύση της απορροφούμενης ουσίας.

**$c$ :** η μοριακή συγκέντρωση (moles/l) του διαλύματος.

**$l$ :** το μήκος (cm) της διαδρομής της ακτινοβολίας δια μέσου του διαλύματος.

Πρακτικά το  $l$  είναι το πάχος της κυψελίδας στην οποία βρίσκεται το διάλυμα.

Είναι κατανοητό ότι η απορρόφηση  $A$  είναι γραμμική συνάρτηση του  $\epsilon$  του  $c$  και του  $l$ . Έτσι, όταν διατηρηθεί σταθερό το  $l$  και το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας, **η απορρόφηση  $A$**  διαλύματος ουσίας  $X$  **είναι γραμμική συνάρτηση της συγκέντρωσης  $c$**  (mol/l) του διαλύματος σε ουσία  $X$ . Η ευθεία που προκύπτει, είναι η **καμπύλη αναφοράς** ή πρότυπη καμπύλη. Με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς και μετρώντας την απορρόφηση του άγνωστης συγκέντρωσης διαλύματος υπολογίζουμε την τιμή της συγκέντρωσης του. Πολλές φορές η καμπύλη αναφοράς δεν είναι ευθεία σε όλο το μήκος της και στην περίπτωση αυτή θα πρέπει να χρησιμοποιήσουμε μόνο το γραμμικό της τμήμα.

Τέλος, χρησιμοποιούμε και ένα διάλυμα που συμπεριλαμβάνει μόνο το διαλύτη και ονομάζεται τυφλό. Το τυφλό διάλυμα λέγεται επίσης μάρτυρας ή διάλυμα αναφοράς

### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

#### Απαιτούμενα όργανα και υλικά

ΟΡΓΑΝΑ	ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΥΛΙΚΑ
6 αριθμημένους δοκιμαστικούς σωλήνες	απιονισμένο H <sub>2</sub> O
Σιφώνια	Δ/μα 1mM KMnO <sub>4</sub> (6ml)
Μία κυψελίδα	Άγνωστο δείγμα
Φασματοφωτόμετρο	

Σε 6 αριθμημένους δοκιμαστικούς σωλήνες προσθέσετε τα κάτωθι αντιδραστήρια:

Αντιδραστήρια (ml)	Δοκιμαστικός Σωλήνας 0	Δοκιμαστικός Σωλήνας 1	Δοκιμαστικός Σωλήνας 2	Δοκιμαστικός Σωλήνας 3	Δοκιμαστικός Σωλήνας 4	Δοκιμαστικός Σωλήνας 5
H <sub>2</sub> O	6,0	5,4	5,1	4,8	4,5	4,2
Διάλυμα 1mM KMnO <sub>4</sub>	0,0	0,6	0,9	1,2	1,5	1,8

### Στάδιο 1: Εύρεση $\lambda_{\max}$

**ΠΡΟΣΟΧΗ:** Αγγίζετε την κυψελίδα μόνο από τη χαραγμένη επιφάνεια. Σκουπίστε ελαφρά το εξωτερικό της κάθε κυψελίδας με χαρτί, για να αφαιρεθούν τυχόν σταγόνες, δακτυλικά αποτυπώματα κ.λ.π., πριν την τοποθετήσετε μέσα στη ειδική θήκη στο φασματοφωτόμετρο.

Ρυθμίστε το φασματοφωτόμετρο σύμφωνα με τις οδηγίες και ορίστε το μήκος κύματος στα 440nm κουνώντας κατάλληλα το διακόπτη που βρίσκεται προσθίως και κάτω από το μηχάνημα (ένδειξη  $\lambda$ ).

Επιλέξτε τη λειτουργία ABS (απορρόφηση) με το πλήκτρο “mode”.

Στη κυψελίδα προσθέσετε 3ml του διαλύματος του **σωλήνα 3**.

Για να μηδενίσετε μπορείτε είτε με:

A) τοποθετήστε μια κυψελίδα μόνο με  $\text{dH}_2\text{O}$  στην οπτική διαδρομή έχοντας πάντα τη χαραγμένη επιφάνεια (ή τις πλευρές από τις οποίες συγκρατούσατε την κυψελίδα) στραμμένη προς εσάς ενώ τη διάφανη επιφάνεια στραμμένη προς πλάγια και ρυθμίστε την απορρόφηση ώστε να είναι 0, πατώντας το πλήκτρο “calibrate”.

B) **όπου και προτείνεται** να μηδενίσετε στο κενό, αφήνοντας δηλαδή κενή την οπτική διαδρομή και πατάτε ομοίως το πλήκτρο “calibrate”.

Να θυμάστε να κλείνετε πάντα το καπάκι του φασματοφωτόμετρου αφού τοποθετήσετε μέσα την κυψελίδα.

***Είναι σημαντικό να θυμάστε ότι για όλες τις μετρήσεις προτείνεται να γίνονται με την ίδια κυψελίδα. Σε διαφορετική περίπτωση θα πρέπει να μηδενίζουμε ξεχωριστά τη κάθε κυψελίδα.***

Στη συνέχεια με την κυψελίδα που περιέχει το  $\text{KMnO}_4$  να βρίσκεται μέσα στο φωτόμετρο, μετακινήστε στην οπτική διαδρομή και σημειώστε την απορρόφηση που δείχνει στα 440nm. Επαναλάβετε τις φωτομετρήσεις, μεταβάλλοντας κάθε φορά το μήκος κύματος κατά 20nm, έως  $\lambda=640\text{nm}$ , και μηδενίζοντας το όργανο με την θέση της κυψελίδας κενή για κάθε μεταβολή του μήκους κύματος.

**1<sup>ο</sup> Ερωτημα:** Καταγράψτε σε πίνακα τις τιμές που αντιστοιχούν σε κάθε μήκος κύματος και κατασκευάστε την καμπύλη του φάσματος απορρόφησης του  $\text{KMnO}_4$  για το  $\lambda_{\text{max}}$  που βρήκατε, σύμφωνα με το διάγραμμα που παρουσιάζεται στην αρχή της άσκησης.

### Στάδιο 2: Κατασκευή πρότυπης καμπύλης και μέτρηση αγνώστου διαλύματος

Στην ίδια κυψελίδα προσθέσετε κάθε φορά τα 3ml των υδατικών διαλυμάτων των **σωλήνων 1, 2, 4 και 5** και μετρήστε αντίστοιχα για το κάθε ένα, την απορρόφησή τους στην τιμή  $\lambda_{\text{max}}$  που έχετε βρει.

**2<sup>ο</sup> Ερωτημα:** Κατασκευάστε την πρότυπη καμπύλη των γνωστών υδατικών διαλυμάτων  $\text{KMnO}_4$ , συνυπολογίζοντας και τις τιμές των σωλήνων 0 και 3 που ήδη έχετε μετρήσει.

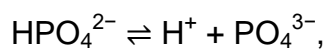
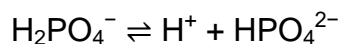
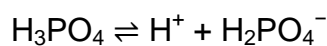
**3<sup>ο</sup> Ερωτημα:** Τέλος, μετρήστε και την απορρόφηση του αγνώστου συγκέντρωσης διαλύματος  $\text{KMnO}_4$  που θα σας δοθεί και προσδιορίστε τη συγκέντρωση του με βάση την πρότυπη καμπύλη.

**Υποσημείωση:** Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης χρησιμοποιήστε μόνο τις τιμές που χρειάζονται για να μας δώσουν τα καλύτερα αποτελέσματα σε ευθεία γραμμή (γραμμή τάσης  $R^2$  να προσεγγίζει την τιμή 1 στο Excel).

**ΑΣΚΗΣΗ 10****ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΩΝ  
ΜΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ****A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

Τα φωσφορικά ιόντα, στην ανόργανη χημεία, είναι τα ανιόντα των αλάτων του φωσφορικού οξέος. Είναι επίσης σημαντικά τόσο στη βιοχημεία όσο και στην βιογεωχημεία. Πρόκειται για ένα πολυατομικό ιόν με εμπειρικό τύπο  $\text{PO}_4^{3-}$  και μοριακής μάζας 94.97, το οποίο είναι η συζυγής βάση του υδρογονοφωσφορικού ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ), το οποίο είναι η συζυγής βάση του διυδρογόνοφωσφορικού ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ), το οποίο και αυτό είναι συζυγής βάση του φωσφορικού οξέος ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ).

Σε υδατικά διαλύματα τα φωσφορικά υπάρχουν σε τέσσερις μορφές. Σε ισχυρώς βασικές συνθήκες επικρατούν τα  $\text{PO}_4^{3-}$ , ενώ σε ασθενής βασικές συνθήκες τα  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Σε ασθενής όξινες συνθήκες τα  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  είναι τα επικρατέστερα ενώ σε ισχυρές όξινες συνθήκες κύρια μορφή είναι η  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Συγκεκριμένα πρέπει να λάβουμε υπόψη μας της ακόλουθες αντιδράσεις ισορροπίας:



με αντίστοιχες σταθερές στους 25 °C (σε mol/L):

$$K_{a1} = \frac{[\text{H}^+][\text{H}_2\text{PO}_4^-]}{[\text{H}_3\text{PO}_4]} \simeq 7.5 \times 10^{-3}, \quad K_{a2} = \frac{[\text{H}^+][\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} \simeq 6.2 \times 10^{-8}$$

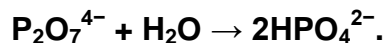
$$K_{a3} = \frac{[\text{H}^+][\text{PO}_4^{3-}]}{[\text{HPO}_4^{2-}]} \simeq 2.14 \times 10^{-13}$$

Σε ουδέτερο pH=7.0 όπως αυτό του κυττοσολίου βρίσκονται οι ακόλουθες αναλογίες:

$$\frac{[H_2PO_4^-]}{[H_3PO_4]} \simeq 7.5 \times 10^4, \quad \frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]} \simeq 0.62, \quad \frac{[PO_4^{3-}]}{[HPO_4^{2-}]} \simeq 2.14 \times 10^{-6}$$

Που μαρτυρούν ότι μόνο  $H_2PO_4^-$  and  $HPO_4^{2-}$  ιόντα βρίσκονται σε σημαντικά ποσοστά (62%  $H_2PO_4^-$ , 38%  $HPO_4^{2-}$ ). Στο εξωκυττάριο υγρό (pH=7.4) αυτή η αναλογία αλλάζει-αντιστρέφεται (61%  $HPO_4^{2-}$ , 39%  $H_2PO_4^-$ ).

Σε βιολογικά συστήματα, ο φώσφορος απαντάται ως *ελεύθερα φωσφορικά ιόντα* σε διάλυμα και καλείται *ανόργανος φώσφορος*, για να διακρίνεται από τα φωσφορικά τα δεσμευμένα στους ποικίλους φωσφορικούς εστέρες. Τα ανόργανα φωσφορικά γενικώς συμβολίζονται με Pi και μπορεί να προέρχονται από την υδρόλυση των πυροφωσφορικών, τα οποία συμβολίζονται ως PPi:



Επιπλέον, τα φωσφορικά πιο συχνά απαντώνται με τη μορφή των φωσφορικών αδενοσίνης (AMP, ADP και ATP), των DNA και RNA από τα οποία παράγονται με υδρόλυση. Πρόκειται για σημαντικότερα από τα ανιόντα αφού σχετίζονται με τα ιόντα  $Ca^{++}$  *in vivo*, η δε γνώση των συγκεντρώσεων τους στο πλάσμα είναι απαραίτητη για την ερμηνεία των διαταραχών του ασβεστίου.

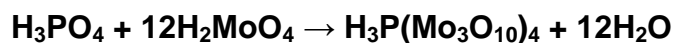
Ο φωσφόρος προσλαμβάνεται με την τροφή υπό μορφή φωσφορικών αλάτων, απορροφάται, όπως και το ασβέστιο, από το λεπτό έντερο και εισάγεται στην κυκλοφορία του αίματος. Σχετίζεται, έτσι, έμμεσα με την πυκνότητα των οστών και την σημαντική ασθένεια της *οστεοπόρωσης* κυρίως στην μετά την εμμηνόπαυση περίοδο. Η αποβολή του γίνεται από τους νεφρούς, ενώ παίζει σημαντικό ρόλο στην αναγέννηση των διττανθρακικών.

### Αρχή μεθόδου

Τα φωσφορικά εύκολα αντιδρούν με μολυβδαινικά ιόντα σε ασθενές όξινο περιβάλλον, παρουσία κατάλληλου αναγωγικού παράγοντα, προς σχηματισμό ενός έγχρωμου μπλε συμπλόκου, η ένταση του οποίου ευθέως ανάλογη με τη συγκέντρωση των φωσφορικών στο διάλυμα.

Παρόλο που η μπλε ετεροπολική ένωση δεν έχει χαρακτηριστεί πλήρως, εμφανίζει μοριακή σύνθεση παρόμοια με αυτή του μη-ανοιγμένου αντιδρώντος, διαφέροντας μόνο στο ότι κάποια άτομα μολυβδαινίου είναι στην +5 παρά στην +6 οξειδωτική κατάσταση. Η αναγωγή του σχηματιζόμενου φωσφορομολυβδαινικού οξέος προκαλείται από το χλωριούχο κασσίτερο, οπότε σχηματίζεται το μπλε του φωσφορομολυβδαινίου (phosphomolybdenum blue (PMB)).

Η απορρόφηση μετρείται στα 660nm.



### Απαιτούμενα όργανα και υλικά

ΟΡΓΑΝΑ	ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΥΛΙΚΑ
8 Δοκιμαστικοί Σωλήνες	Διάλυμα Μολυβδαινικού Αμμωνίου (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ·4H <sub>2</sub> O (7.0 ml)
Στήριγμα Δοκιμαστικών Σωλήνων	Διάλυμα SnCl <sub>2</sub> (1.5 ml)
1 πλαστικό δοκιμαστικό σωλήνες φυγοκέντρωσης	Πρότυπο διάλυμα φωσφόρου (P) συγκέντρωσης 40 ppm P (170 ml)
Φωτόμετρο	Διάλυμα τριχλώρο-οξικού 50% w/v (1ml)
1 κυψελίδα	Ορό ζώου (0.2ml)
Σιφώνια 1,2,5,10 ml	
1-2 ογκομετρικούς κυλίνδρους 25 και 50ml	
φυγόκεντρος	

## **B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

Πριν την παρασκευή οποιουδήποτε διαλύματος πλύνετε όλα τα γυάλινα σκεύη που θα χρησιμοποιήσετε με διάλυμα 0.1M HCl και ξεπλύνετε μόνο με άφθονο νερό.

*(Τα απορρυπαντικά περιέχουν φωσφορικά τα οποία όταν χρησιμοποιούνται αφήνουν ένα λεπτό στρώμα στην επιφάνεια του γυαλιού και θετικό σφάλμα κατά τον προσδιορισμό.)*

### Προετοιμασία αγνώστου δείγματος

Σε 0.2 ml ορού προσθέτουμε, 0.8 ml H<sub>2</sub>O και 1 ml 50% CCl<sub>3</sub>COOH (τριχλωροοξικό οξύ) για να καταβυθιστούν οι πρωτεΐνες και φυγοκεντρώμε για 4 min σε 5000 στροφές ανά λεπτό. Λαμβάνουμε από το υπερκείμενο υγρό, την απαραίτητη ποσότητα για τον προσδιορισμό του αγνώστου προσεχτικά χωρίς να ανακατέψουμε το ίζημα.

### Προετοιμασία πρότυπων διαλυμάτων

Σας δίνεται Πρότυπο διάλυμα P από το οποίο λαμβάνετε 2ml και συμπληρώνετε με 48ml ddH<sub>2</sub>O (40 ppm φωσφόρου σε 50ml ddH<sub>2</sub>O) και (με διαδοχικές αραιώσεις) από αυτό παρασκευάζετε επιπλέον τα *πρότυπα* 30ppm σε 20ml. Από το 30ppm παρασκευάζετε τα 20ppm σε 15ml. Από το 20ppm παρασκευάζετε τα 10ppm σε 10ml. Από το 10ppm παρασκευάζετε τα 5ppm P σε 10ml και σε όλα συμπλήρωση με ddH<sub>2</sub>O. Εάν έχετε περισσότερους ογκομετρικούς κυλίνδρους των 25 και 50 ml συμπληρώστε με τους ανάλογους όγκους ή μοιραστείτε τα πρότυπα διαλύματα με την πλησιέστερη ομάδα.

Προσθέστε τα αντιδραστήρια για την ανάπτυξη του χρώματος όπως παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα με τη σειρά που φαίνονται. Όλα τα αντιδραστήρια, εκτός από το δείγμα (το αντίστοιχο κάθε φορά όπως φαίνεται στον πίνακα) σας δίνονται έτοιμα.



ml	Τυφλό	5 ppm	10 ppm	20 ppm	30 ppm	40 ppm	Άγνωστο
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1	1	1	1	1	1	1
Δείγμα (του σωλήνα της αντίστοιχης αραιώσης και το άγνωστο στον τελευταίο σωλήνα)	0	1	1	1	1	1	1
$\text{SnCl}_2$ (ml)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Νερό	5.8	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8
<i>Total volume (ml)</i>	7	7	7	7	7	7	7

### Γ. ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ:

1. Φωτομετρήστε στα 660nm, μετά την παρέλευση 15-20 min για πλήρη ανάπτυξη του χρώματος, έναντι τυφλού όπως προκύπτει από τα ανωτέρω.
2. Προσδιορίστε την συγκέντρωση του φωσφόρου στον ορό αίματος (άγνωστο δείγμα) σε  $C_p$  (ppm) βάση της πρότυπης καμπύλης.

### Φυσιολογικά όρια

Φυσιολογικά όρια στα ζώα είναι: 25-80 mg/L (ppm) ή 2,5-8 mg/dl

### Αναφορές

- Fiske, CH. and Subbarow, Y. (1925) *The colorimetric determination of phosphorus*. J. Biol. Chem., 66:375-400.
- Γεωργάτσος ΙΓ. (1982) *Εργαστηριακές ασκήσεις Βιοχημείας*. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Υπηρεσία Δημοσιευμάτων.

## ΑΣΚΗΣΗ 11

### ΑΠΑΙΤΗΣΗ ΣΕ ΟΞΥΓΟΝΟ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ- ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΗΣ BOD

---

#### **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Μια από τις σημαντικότερες παραμέτρους ποιότητας του νερού είναι το ποσόν του διαλυμένου σε αυτό οξυγόνου DO (Dissolved Oxygen). Η μέγιστη συγκέντρωση (κορεσμού) του διαλυμένου οξυγόνου στο νερό είναι μικρή, της τάξης των 8-15 mg/l. και εξαρτάται από τη θερμοκρασία και την αλατότητα του νερού. Οι ελάχιστες ποσότητες που απαιτούνται από ένα υγιή πληθυσμό ψαριών μπορεί να είναι υψηλές, της τάξης των 5-8 mg/l. ή και χαμηλότερες, της τάξης των 3 mg/l.

Τα απόβλητα που απαιτούν οξυγόνο (Oxygen - demanding wastes) αποτελούνται από συστατικά που οξειδώνονται στο νερό του τελικού φυσικού αποδέκτη, μειώνοντας έτσι τη διαθέσιμη ποσότητα διαλυμένου οξυγόνου. Αν το διαλυμένο οξυγόνο μειωθεί, οι υδρόβιοι οργανισμοί απειλούνται και σε ακραίες περιπτώσεις παρατηρείται ακόμη και θάνατος. Επί πλέον, καθώς το διαλυμένο οξυγόνο μειώνεται, ανεπιθύμητες οσμές, γεύση και χρώμα μειώνουν την δυνατότητα εκμετάλλευσης του νερού για κάποιες χρήσεις όπως π.χ. για ψυχαγωγία (κολύμβηση) ή για ύδρευση.

Τα απόβλητα που απαιτούν οξυγόνο αποτελούνται συνήθως από βιοαποικοδομήσιμα οργανικά συστατικά τα οποία περιέχονται στα υγρά αστικά λύματα ή σε εκροές βιομηχανικών αποβλήτων. Η οξείδωση ορισμένων ανόργανων ενώσεων μπορεί επίσης να συμβάλλει στην απαίτηση οξυγόνου. Ακόμα και οργανική ύλη φυσικής προελεύσεως, όπως φύλλα φυτών ή περιττώματα ζώων που καταλήγουν σε επιφανειακά νερά, συμβάλλουν στη μείωση του διαλυμένου οξυγόνου.

Η απαίτηση σε οξυγόνο μπορεί να μετρηθεί και εκφράζεται με διάφορους τρόπους. Οι σημαντικότεροι και ευρύτερα χρησιμοποιούμενοι βασίζονται στη μέτρηση του **BOD** και του **COD**.

Η χημική απαίτηση οξυγόνου ή το χημικά απαιτούμενο οξυγόνο (**Chemical Oxygen Demand, COD**) είναι η ποσότητα του οξυγόνου που απαιτείται για τη χημική οξείδωση των αποβλήτων.

### **ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟ ΟΞΥΓΟΝΟ (BOD)**

Όταν βιοαποικοδομήσιμη οργανική ύλη απορρίπτεται στο νερό, οι μικροοργανισμοί που υπάρχουν στο απόβλητο, και ειδικότερα τα βακτήρια, την αποικοδομούν σε απλούστερα οργανικά και ανόργανα συστατικά. Όταν η αποσύνθεση αυτή της οργανικής ύλης λάμβανα χώρα υπό αερόβιες συνθήκες, δηλαδή παρουσία οξυγόνου, τα προϊόντα της αποικοδόμησης είναι αβλαβή και σταθερά όπως το διοξείδιο του άνθρακα (CO<sub>2</sub>), τα θειικά (SO<sub>4</sub>), τα φωσφορικά (PO<sub>4</sub>) και τα νιτρικά (NO<sub>3</sub>). Μία απλουστευμένη αναπαράσταση αερόβιας αποσύνθεσης δίνεται από την αντίδραση (1):

Μικροοργανισμοί

Οργανική ύλη + O<sub>2</sub> -----> CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O + νέα κύτταρα  
+ σταθερά προϊόντα

(αντίδραση 1)

Όταν το διαθέσιμο οξυγόνο είναι ανεπαρκές, λαμβάνει χώρα αναερόβια αποσύνθεση και γίνεται από εντελώς διαφορετικούς μικροοργανισμούς. Αυτοί παράγουν τελικά προϊόντα που είναι επιβλαβή και ανεπιθύμητα, όπως το υδρόθειο (H<sub>2</sub>S), η αμμωνία (NH<sub>4</sub>) και το μεθάνιο (CH<sub>4</sub>). Η αναερόβια αποσύνθεση δίνεται από την αντίδραση (2):

Μικροοργανισμοί

Οργανική ύλη -----> CO<sub>2</sub> + CH<sub>4</sub> + νέα κύτταρα +  
ασταθή προϊόντα

(αντίδραση 2)

Το μεθάνιο που παράγεται είναι σταθερό, και είναι ένα από τα δραστικά αέρια που συνεισφέρουν στη δημιουργία του φαινομένου του θερμοκηπίου.

**Η βιοχημική απαίτηση οξυγόνου ή το βιοχημικώς απαιτούμενο οξυγόνο (Biochemical Oxygen Demand, BOD)** είναι η ποσότητα του οξυγόνου που απαιτείται από μικροοργανισμούς προκειμένου να αποικοδομήσουν-οξειδώσουν βιολογικά τα απόβλητα. Το BOD συνήθως εκφράζεται σε χιλιοστογραμμάρια απαιτούμενου οξυγόνου ανά λίτρο αποβλήτου (mg/l) ή σε ισοδύναμες μονάδες: γραμμάρια ανά κυβικό μέτρο (g/m<sup>3</sup>).

Το BOD είναι παραδοσιακά πλέον η σημαντικότερη παράμετρος μέτρησης της ισχύος της οργανικής ρύπανσης. Η ποσότητα της μείωσης του BOD ή απλά το BOD σε μία μονάδα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων είναι ένας από τους δείκτες-κλειδιά προκειμένου να εκτιμηθεί η απόδοση της επεξεργασίας. Η πρακτική που υιοθετήθηκε για τη μέτρηση του BOD, είναι να μετρείται και να αναφέρεται ως αποτέλεσμα η απαίτηση οξυγόνου κατά τη διάρκεια μίας μικρότερης περιόδου από αυτή που απαιτείται για την πλήρη αποικοδόμηση ενός αποβλήτου(μερικές εβδομάδες), και συγκεκριμένα περιόδου 5 ημερών, αν και η τελική απαίτηση σε οξυγόνο είναι αρκετά μεγαλύτερη.

**Το BOD-πέντε ημερών ή BOD<sub>5</sub>, είναι η συνολική ποσότητα οξυγόνου που καταναλώνεται από τους μικροοργανισμούς κατά τις πέντε πρώτες ημέρες της βιοαποικοδόμησης.**

### **Μέθοδοι μέτρησης του BOD**

Υπάρχουν δύο κύριες μέθοδοι μέτρησης του BOD ενός διαλύματος. Η κλασική *Μέθοδος των Αραιώσεων* και η συντομότερη *Μανομετρική Μέθοδος*.

Η κλασική **Μέθοδος των Αραιώσεων** (Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, AWWA. 1990) χρησιμοποιεί μια μεγάλη σειρά δειγμάτων με διαφορετικές αραιώσεις το κάθε ένα. Στο κάθε δείγμα, μετά από 5 ημέρες, μετράται η κατανάλωση του διαλυμένου οξυγόνου στοχεύοντας να επιτευχθεί η αραιώση που θα επιτρέψει κατανάλωση μέχρι 80% - 90% του οξυγόνου που υπήρχε διαλυμένο στο διάλυμα αρχικά.

Στη **Μανομετρική μέθοδο**, η κατανάλωση του οξυγόνου μετράται μέσω της μερικής πίεσης του οξυγόνου στο εσωτερικό του σφραγισμένου χώρου της μέτρησης κατά τη διάρκεια των 5 ημερών που διαρκεί η μέτρηση. Για να αποφευχθεί η επίδραση του παραγόμενου CO<sub>2</sub> στη συνολική μανομετρική πίεση του χώρου της φιάλης, η πειραματική διάταξη προβλέπει την ύπαρξη κρυστάλλων NaOH οι οποίοι απορροφούν το παραγόμενο CO<sub>2</sub>.

Η ανάγνωση της συνολικής πίεσης στο εσωτερικό του δοχείου όπου τοποθετείται το δείγμα γίνεται απ' ευθείας στη προβαθμονομημένη κλίμακα του οργάνου. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων καταγράφονται ανά 24 h στο ειδικό διάγραμμα.

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ - ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

### **ΜΑΝΟΜΕΤΡΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ**

#### Προετοιμασία δειγμάτων

Εάν η ανάλυση αρχίζει μέσα σε 2 ώρες από τη συλλογή δειγμάτων, το δείγμα δεν πρέπει να ψυχθεί. Διαφορετικά, το δείγμα πρέπει να ψυχθεί σε θερμοκρασία <4°C αμέσως αφότου ληφθεί. Το δείγμα δεν πρέπει να αποθηκευτεί για περισσότερο από 24 ώρες και το pH να είναι κοντά στο 7.

Εάν είναι δυνατόν, το δείγμα δεν πρέπει να παγώσει (Υπερκατεψυγμένο δείγμα καταλήγει σε χαμηλότερες τιμές).

Το δείγμα πρέπει να ομογενοποιηθεί (Stomacher, Blender, κλπ) γιατί σε δείγμα που έχει επιτραπεί να καθιζάνει λάσπη, η μέτρηση του ιζήματος θα οδηγούσε σε μια τιμή BOD που θα ήταν πάρα πολύ υψηλή ενώ μετρώντας το υπερκείμενο υγρό θα ήταν πάρα πολύ χαμηλή.

**Επιλογή όγκου δείγματος**

Οι τιμές BOD σ' ένα δείγμα εξαρτώνται από το μέγεθος του βιοδιασπάσιμου οργανικού φορτίου που μπορεί να διαφέρει σημαντικά από δείγμα σε δείγμα. Ο όγκος του δείγματος επιλέγεται με βάση τον Πίνακα 1, ανάλογα με το αναμενόμενο BOD και παραπέμπει στον αντίστοιχο συντελεστή διόρθωσης, με τον οποίο πρέπει να πολλαπλασιασθεί το αποτέλεσμα της μέτρησης για την αναγωγή του σε mg/l BOD.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 10-1**

ΠΕΡΙΟΧΗ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ BOD mg/l	ΟΓΚΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ml	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΔΙΟΡΘΩΣΗΣ
0 - 40	432	1
0 - 80	365	2
0 - 200	250	5
0 - 400	164	10
0 - 800	97	20
0 - 2000	43,5	50
0 - 4000	22,7	100

Παράδειγμα: Περιοχή μετρήσεων: 0 - 400 mg/l

Όγκος δείγματος: 164 ml

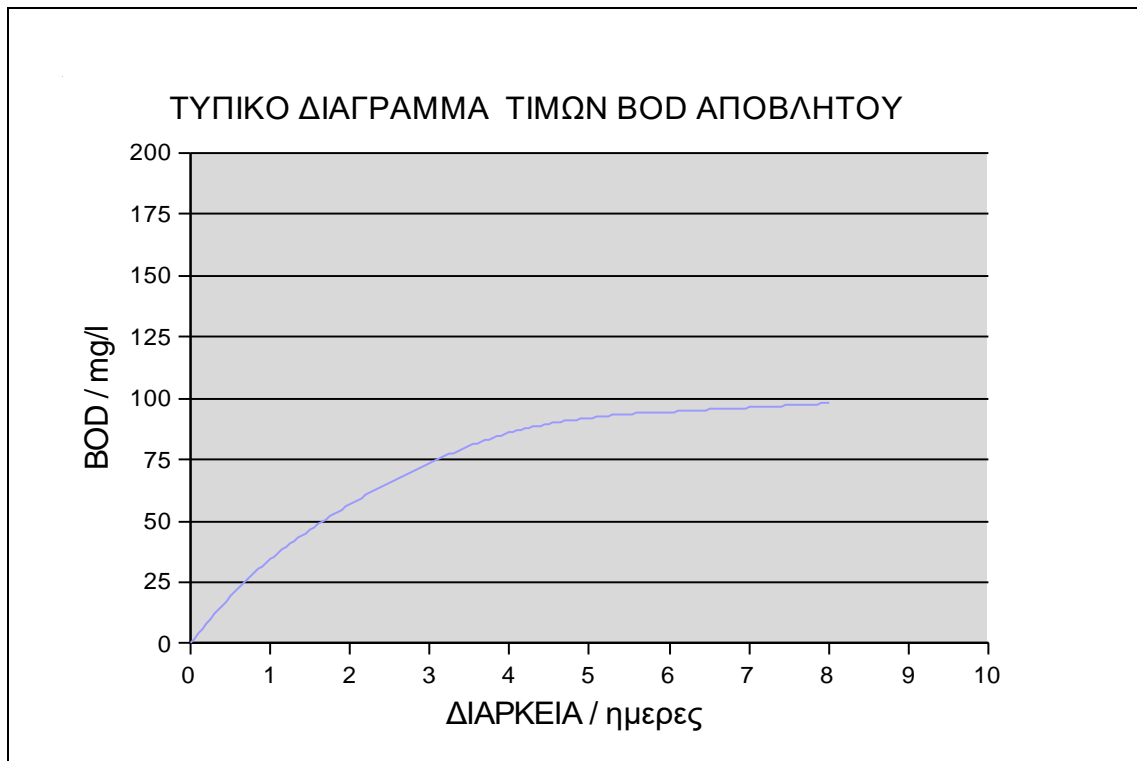
Συντελεστής: 10

Μετρηθείσα τιμή: 18

Αποτέλεσμα:  $BOD_5 = (18 \times 10) = 180 \text{ mg/l}$

### Πορεία μέτρησης

1. Με ογκομετρικό κύλινδρο μεταφέρουμε τον απαιτούμενο όγκο του δείγματος προς μέτρηση BOD, σε μια από τις σκουρόχρωμες φιάλες της συσκευής και τοποθετούμε σ' αυτή ένα μαγνητάκι.
2. Τοποθετούμε με προσοχή 2-3 παστίλιες NaOH στον ειδικό μαύρο πλαστικό υποδοχέα της φιάλης.
3. Κλείνουμε τα πώματα της φιάλης και του μαύρου πλαστικού κυλίνδρου που περιέχει τον Hg, χωρίς να τα σφίξουμε, ανοίγουμε τη συσκευή και κλείνουμε το καπάκι της.
4. Αφήνουμε τα δείγματα προς ανάδευση στη συσκευή για περίπου 60 min (χρόνο για την προσαρμογή των δειγμάτων στη θερμοκρασία των 20 °C αλλά και τον εμπλουτισμό τους σε οξυγόνο).
5. Κλείνουμε με προσοχή τα πώματα της φιάλης και του μαύρου πλαστικού κυλίνδρου.
6. Ρυθμίζουμε την κλίμακα πίσω από το τριχοειδές σωληνάκι του Hg, έτσι ώστε η στάθμη του Hg να βρίσκεται στο 0 (μηδέν) της κλίμακας.
7. Ανά 24 ώρες και για πέντε ημέρες παίρνουμε τη μέτρηση της στάθμης του Hg και πολλαπλασιάζουμε με τον ανάλογο συντελεστή (Πίνακας 8-1), ανάλογα με τον όγκο του δείγματος που χρησιμοποιήσαμε, και βρίσκουμε τη τιμή του BOD σε mg/l του δείγματος μας.
8. Σημειώνουμε τα αποτελέσματα στο διάγραμμα (άξονας X: ημέρα της μέτρησης Άξονας Ψ: Τιμή BOD σε mg/l), και διαπιστώνουμε την ορθότητα ή όχι των μετρήσεων. Η τελική τιμή του BOD<sub>5</sub> **είναι η μέτρηση της πέμπτης ημέρας.**



Σχήμα 10-1

### Παρατηρήσεις σχετικά με τα αποτελέσματα των μετρήσεων

- Οι μετρούμενες τιμές BOD μιας ημέρας πρέπει να είναι μεγαλύτερες από την προηγούμενη ημέρα.
- Η αύξηση δεν είναι γραμμική, ο ρυθμός αύξησης κάθε ημέρας είναι μικρότερος από τον ρυθμό αύξησης της προηγούμενης ημέρας.
- Αν οι μετρούμενες τιμές δίνουν γραμμική αύξηση το δείγμα έχει ψηλότερη τιμή BOD από την αναμενόμενη. Το δείγμα χρειάζεται αραίωση, τα μικρόβια καταναλώνουν υπερβολικό  $O_2$ .
- Αν οι μετρούμενες τιμές μειώνονται στο διάστημα των 5 ημερών μέτρησης τότε υπάρχει πιθανή διαρροή στο σύστημα μέτρησης ή έλλειψη NaOH για να απορροφάει το  $CO_2$  με γοργό ρυθμό.
- Όλες οι πιο πάνω πληροφορίες και επεξηγήσεις αναφέρονται σε συνήθη δείγματα και κάτω από φυσιολογική συμπεριφορά των βακτηρίων κατά τη μέτρηση του BOD. Είναι όμως δυνατή και η εμφάνιση ειδικών περιπτώσεων



σαν αποτέλεσμα γενικών συνθηκών. Για παράδειγμα μία μηδενική ένδειξη στο σύστημα μέτρησης μετά από 5 ημέρες μπορεί να μην οφείλεται σε διαρροή του συστήματος αλλά να προκαλείται λόγω ύπαρξης παραγόντων αναχαίτισης εντός του συστήματος. Τα βιομηχανικά απόβλητα απαιτούν συχνά ειδική μεταχείριση. Είναι δυνατόν να περιέχουν ισχυρά οξειδωτικά ή τοξικά υλικά που πρέπει να αφαιρούνται ή να εξουδετερώνονται πριν από τη μέτρηση, διαφορετικά δεν είναι δυνατή η διεξαγωγή μέτρησης. Συνήθης παράγων απενεργοποίησης της βιομάζας είναι η ύπαρξη ή προσθήκη υπολειμματικού χλωρίου στο δείγμα.



Σχήμα 10-2 ΣΥΣΚΕΥΗ ΜΕΤΡΗΣΗΣ BOD

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ - Α

### ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΕΣ ΓΝΩΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΠΕΧΑΜΕΤΡΟ:

1. Δεν αφήνουμε το ηλεκτρόδιο ελεύθερο στο αέρα, αλλά το έχουμε πάντα μέσα σε διάλυμα.
2. Πριν από κάθε μέτρηση καθαρίζουμε το ηλεκτρόδιο με την βοήθεια του υδροβολέα με απιονισμένο νερό και τον σκουπίζουμε, από τα υπολείμματα του απιονισμένου νερού πριν πάρουμε την μέτρηση στο επόμενο διάλυμα.
3. Η τρύπα του ηλεκτροδίου πρέπει να καλύπτεται κατά τις μετρήσεις από το δ/μα

### 1<sup>ο</sup> ΣΤΑΔΙΟ: ( Ρύθμιση του πεχάμετρου)

- (1) Ανοίγουμε το πεχάμετρο (κουμπί – πίσω αριστερή γωνία)
- (2) Απομακρύνουμε το προστατευτικό κάλυμμα από τον αισθητήρα με κυκλικές κινήσεις.
- (3) Τοποθετούμε τον πρώτο διακόπτη στην ένδειξη «°C»  
Ρυθμίζουμε την θερμοκρασία του ηλεκτροδίου με βάση την θερμοκρασία του εργαστηρίου (με την βοήθεια του θερμομέτρου στο τοίχο, εάν το ηλεκτρόδιο έχει διαφορετική θερμοκρασία από το εργαστήριο)
- (4) Ρυθμίζουμε το pH του ηλεκτροδίου. Αφού τοποθετήσουμε το 1ο διακόπτη στην ένδειξη «pH», παίρνουμε δύο πρότυπα διαλύματα που σας έχουν δοθεί, το 1ο δ/μα είναι για την ρύθμιση του pH=7, ενώ το 2ο για την ρύθμιση του pH=4. Αφού καθαρίσουμε το ηλεκτρόδιο με απιονισμένο νερό από τον υδροβολέα και αφαιρέσουμε όλο το νερό από το ηλεκτρόδιο με προσοχή με χαρτί, τοποθετούμε το ηλεκτρόδιο στο 1ο δ/μα .Με το 2ο διακόπτη, με ένδειξη ΔpH, ρυθμίζουμε το πεχάμετρο ώστε να δείχνει την τιμή που υπάρχει αναγραμμένη επάνω στο μπουκάλι του δ/τος pH=7 για την συγκεκριμένη θερμοκρασία. Ύστερα τοποθετούμε το ηλεκτρόδιο στο 2ο δ/μα (pH=4) και επιλέγουμε με τον διακόπτη mV/pH την τιμή που υπάρχει αναγραμμένη επάνω στο μπουκάλι του δ/τος pH=4 για την συγκεκριμένη θερμοκρασία, αφού πρώτα τον καθαρίσουμε με απεσταγμένο νερό και το σκουπίσουμε.
- (5) Είμαστε έτοιμοι να πάρουμε μετρήσεις σε άγνωστα διαλύματα..

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ - Β

### ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η πραγματοποίηση του προσδιορισμού της χημικής σύστασης ενός μίγματος ή συστήματος ουσιών συνίσταται κατά πρώτο λόγο στην ανίχνευση των συστατικών (μορίων και ιόντων), που αποτελούν αυτό το μίγμα και κατά δεύτερο λόγο στην εύρεση της ποσότητας του καθενός από τα συστατικά, που υπάρχουν σε μια ορισμένη ποσότητα αυτού του μίγματος .

**Η Ανάλυση** περιλαμβάνει το σύνολο των μεθόδων, η εφαρμογή των οποίων επιτρέπει:

τον προσδιορισμό του προϊόντος (**ποιοτική ανάλυση**)

και

της ποσότητας (**ποσοτική ανάλυση**)

### **ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ**

**Μέθοδοι ποσοτικής ανάλυσης:**

- Σύγχρονες ή Ενόργανες
- ή Φυσικοχημικές μέθοδοι
- και κλασσικές ή Χημικές

Η **ενόργανη χημική ανάλυση** (φυσικοχημικές μέθοδοι ανάλυσης) συνίσταται στη μέτρηση μιας φυσικής ιδιότητας, της οποίας το μέγεθος είναι συνάρτηση της συγκέντρωσης της προσδιοριζόμενης ουσίας. Τέτοια φυσικά μεγέθη είναι η ένταση της απορροφούμενης ορατής ή υπεριώδους ή υπερύθρου ακτινοβολίας, η ένταση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας, ο δείκτης διαθλάσεως η γωνία στροφής επιπέδου πολωμένου φωτός, η ηλεκτρική αγωγιμότητα, η διαφορά δυναμικού κ. α.

Οι **χημικές μέθοδοι** συνίστανται στην πραγματοποίηση μιας αντίδρασης με την υπό προσδιορισμό ουσία, η δε βασική αρχή της ποσοτικής ανάλυσης με χημικές μεθόδους είναι η ακόλουθη: Από το προς εξέταση μίγμα παίρνουμε μικρή ποσότητα γνωστής μάζας (ή όγκου), η οποία αποτελεί το δείγμα. Στη συνέχεια προκαλούμε χημική αντίδραση της υπό προσδιορισμό ουσίας Α με γνωστή ποσότητα ουσίας Β (η οποία συνήθως λέγεται αντιδραστήριο) κάτω από ελεγχόμενες και ορισμένες συνθήκες, ώστε να είναι δυνατός ο [επακριβής] προσδιορισμός

- είτε π.χ. σχηματισμός ιζήματος) **σταθμική ανάλυση**.
- είτε της ακριβώς αναγκαίας ποσότητας του αντιδραστήριου Β που απαιτείται για να αντιδράσει όλη η ποσότητα της ουσίας Α, που βρίσκεται στο δείγμα **ογκομέτρηση**.

### **ΟΓΚΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ**

Η ογκομετρία βασίζεται στην αντίδραση δύο διαλυμάτων, από τα οποία το ένα είναι γνωστής ποιοτικής και ποσοτικής σύστασης και το άλλο είναι γνωστής ποιοτικής αλλά άγνωστης ποσοτικής σύστασης. Η όλη εργασία λέγεται

**ογκομέτρηση (titration)**,

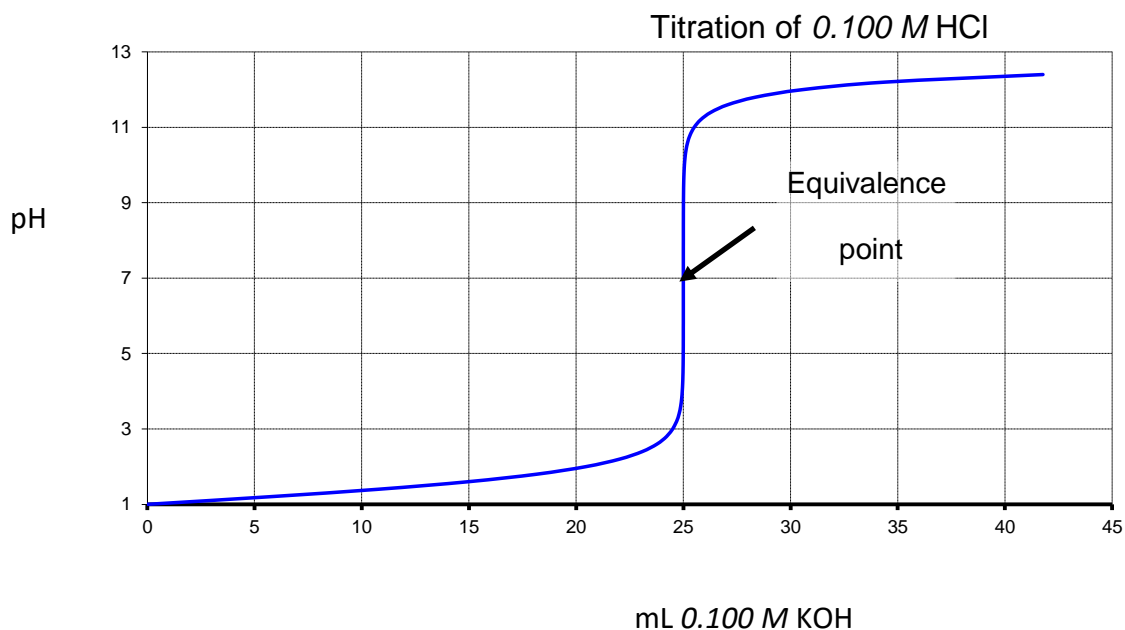
το δε διάλυμα γνωστής συγκέντρωσης λέγεται

**πρότυπο διάλυμα (standard solution)**

ενώ το άλλο λέγεται "άγνωστο" διάλυμα.

### **ΟΓΚΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ**

Σαν **ισοδύναμο σημείο** θεωρείται το σημείο στο οποίο έχει αντιδράσει πλήρως η ποσότητα της προσδιοριζόμενης ένωσης ("άγνωστο" διάλυμα) με την ακριβώς απαιτούμενη ποσότητα του προτύπου διαλύματος.



Η συγκέντρωση του "αγνώστου" διαλύματος υπολογίζεται από τον καταναλωθέντα όγκο του προτύπου διαλύματος (διαφορά στάθμης διαλύματος στην προχοϊδα) .

Η διαφορά μεταξύ του τελικού σημείου και του ισοδύναμου σημείου αποτελεί το σφάλμα της ογκομέτρησης, το οποίο προσδιορίζεται πειραματικά με την εκτέλεση του **τυφλού** ή **λευκού** προσδιορισμού. Κατά τον τυφλό ή λευκό προσδιορισμό ογκομετρείται διάλυμα, το οποίο έχει την ίδια σύσταση (νερό, δείκτης ...) με το ογκομετρούμενο διάλυμα αλλά δεν υπάρχει σ' αυτό η προς προσδιορισμό ουσία.

### **ΟΓΚΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ**

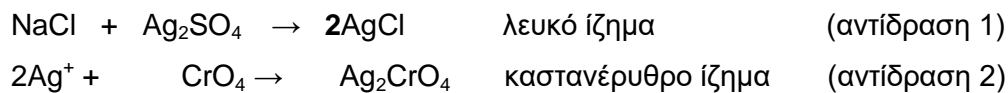
Για να είναι δυνατός ο ογκομετρικός προσδιορισμός μιας ένωσης, θα πρέπει η αντίδραση στην οποία στηρίζεται ο προσδιορισμός να

- είναι πλήρης, δηλαδή να είναι ποσοτική
- πραγματοποιείται με μεγάλη ταχύτητα
- μπορεί να καθορισθεί το τέλος της αντίδρασης αυτής.

## Ταξινόμηση ογκομετρικών μεθόδων

- Ογκομετρήσεις εξουδετέρωσης, οι οποίες στηρίζονται στις
  - Αντιδράσεις εξουδετέρωσης μεταξύ οξέων και βάσεων.
- Συμπλοκομετρικές ογκομετρήσεις, οι οποίες περιλαμβάνουν αντιδράσεις μεταξύ του προτύπου διαλύματος και του υπό προσδιορισμό κατιόντος, οι οποίες οδηγούν στο σχηματισμό συμπλόκων ενώσεων.
- Ογκομετρήσεις καθίζησης, οι οποίες στηρίζονται σε αντιδράσεις, ένα από τα προϊόντα των οποίων καταβυθίζεται σαν ίζημα.
- Οξειδοαναγωγικές ογκομετρήσεις, οι οποίες στηρίζονται σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής.

### Παράδειγμα: Αυτόματη μέθοδος ανάλυσης



Πρέπει η προσθήκη AgCl να σταματάει μόλις παίρνουμε καστανέρυθρο ίζημα  
Ένας αισθητήρας θα βλέπει χρώμα και θα κόβει την προσθήκη Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

#### ΑΡΝΗΤΙΚΑ

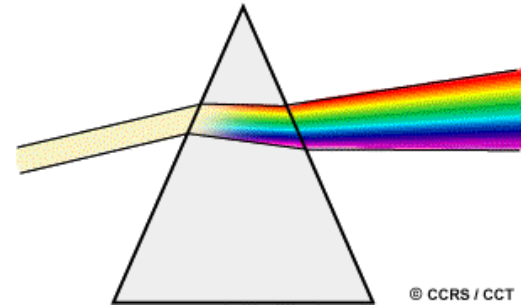
- Ο αισθητήρας δεν καταλαβαίνει ότι το διάλυμα φτάνει στο ισοδύναμο σημείο  
Έτσι μειώνουμε την ροή ώστε να μειωθεί το σφάλμα
- Εάν έχουμε ένα έντονο πορτοκαλί φωτισμό ίσως σταματήσει την προσθήκη Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Αρχικό Κόστος επένδυσης

#### ΘΕΤΙΚΑ

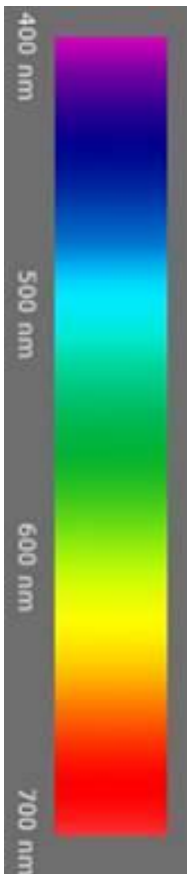
- Κύριος λόγος αυτόματης ανάλυσης μείωση χρόνου (χρόνος = κόστος)
- Μείωση όγκων (όγκος = κόστος)
- Χρόνος διάγνωσης

## Θεωρία Φασματοφωτομετρικές Αναλύσεις

Όταν ορατό (λευκό) φως περάσει από ένα γυάλινο πρίσμα αναλύεται σε ένα συνεχές φάσμα από φωτεινές ακτινοβολίες που έχουν διαφορετικά μήκη κύματος ( $\lambda=390-770$  nm) και διαφορετικά χρώματα (ιώδες - ερυθρό).



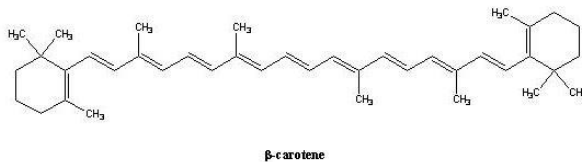
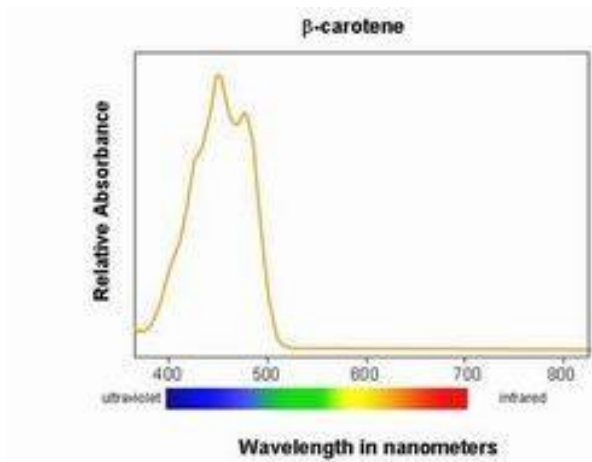
### ΠΙΝΑΚΑΣ ΧΡΩΜΑΤΩΝ



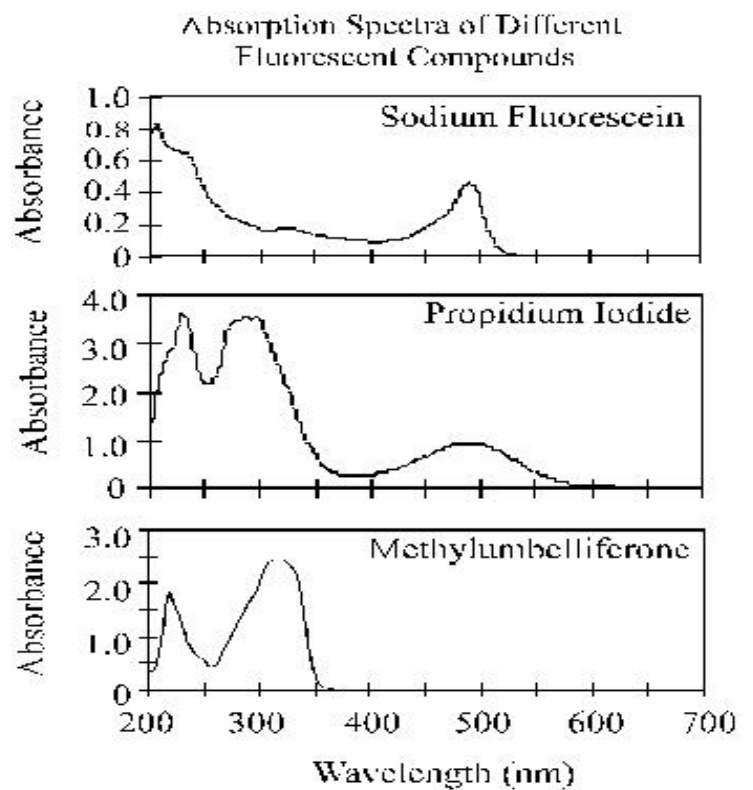
Μήκος κύματος (nm)	Χρώμα που απορροφάται	Χρώμα που παρατηρείται
400	ιώδες	πράσινο-κίτρινο
480	κυανούν	κίτρινο
530	πράσινο	πορφυρούν (magenta)
580	κίτρινο	κυανούν
610	πορτοκαλί	πράσινο-κυανούν
660	κόκκινο	κυανούν-πράσινο
720	πορφυρό-κόκκινο	πράσινο

## Τρόπος ανίχνευσης ουσιών

Το καροτένιο με το φυσικό κίτρινο χρώμα απορροφά το μπλε χρώμα (450nm)



Επιλέγοντας το σωστό μήκος κύματος (nm) μπορούμε να ανιχνεύσουμε ουσίες ακόμα και είναι στο ίδιο δείγμα. Τα μήκη κύματος πρέπει να μην αλληλεπικαλύπτονται.

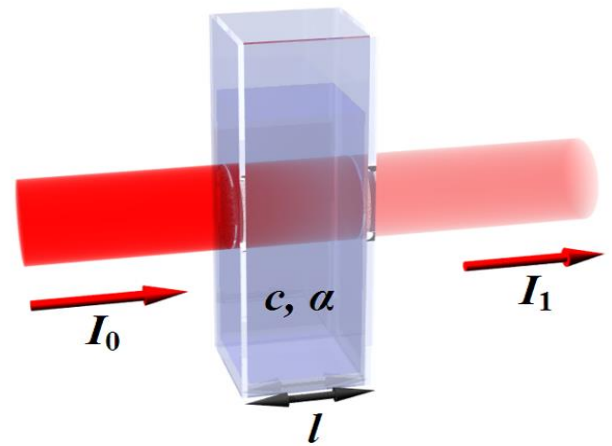




Αφού επιλέξουμε το κατάλληλο μήκος κύματος (nm) μπορούμε να προχωρήσουμε και σε ποσοτικό προσδιορισμός της ουσίας στο δείγμα. Μετρώντας την ένταση ( $I$ ) της ακτινοβολίας που παίρνει μέσα από το δείγμα.

Η απορρόφηση (καθαρός αριθμός) είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της ουσίας στο δείγμα

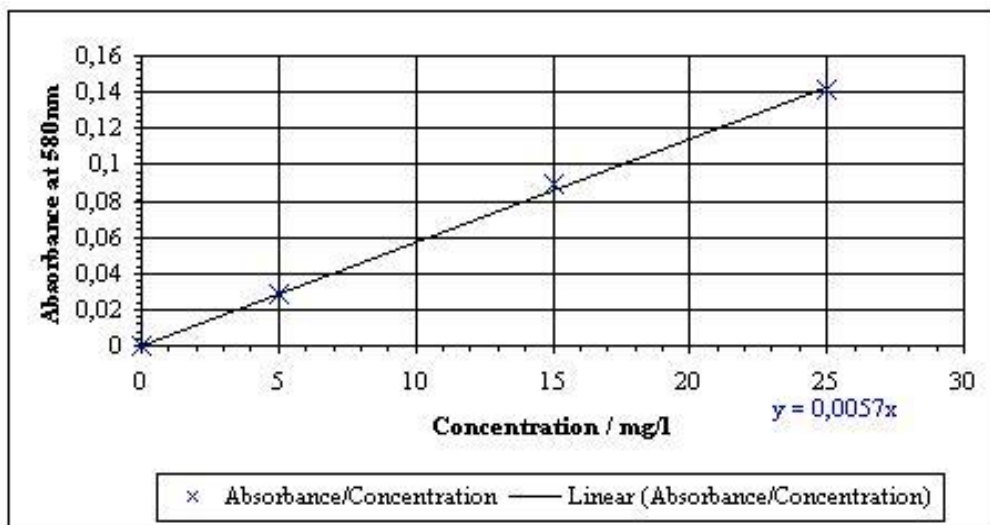
Η λογαριθμός του λόγου της έντασης της ακτινοβολίας πριν και αφού εξέλθει από το δείγμα είναι



### Νόμος του Beer-Lambert

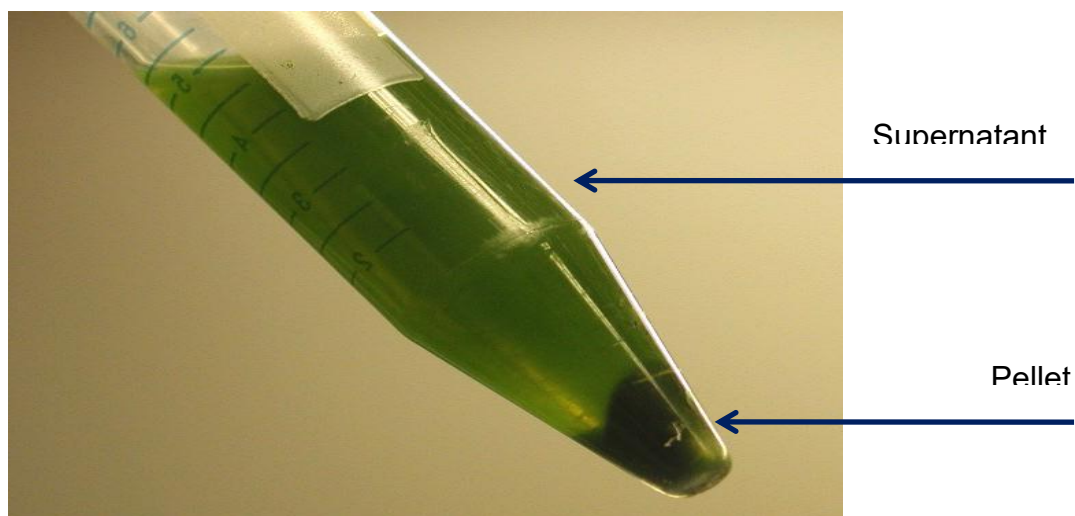
$$\log I_0 / I_1 = \log 1/T = A = \alpha c l$$

$\alpha$ =σταθερά     $l$ =μήκος     $c$ =συγκέντρωση



Φασματοσκόπιο

**ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΣΤΕΡΕΟΥ - ΥΓΡΟΥ**

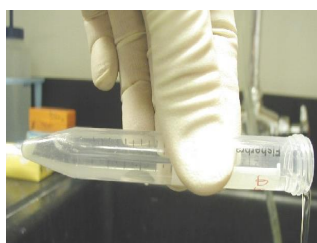


ΦΥΣΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ ΜΙΓΜΑΤΩΝ:

**ΕΚΧΥΛΙΣΗ**



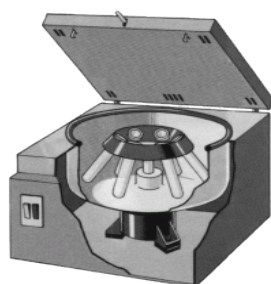
**ΑΠΟΧΥΣΗ ΤΟΥ ΥΠΕΡΚΕΙΜΕΝΟΥ**



**ΔΙΗΘΗΣΗ**



**ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ**

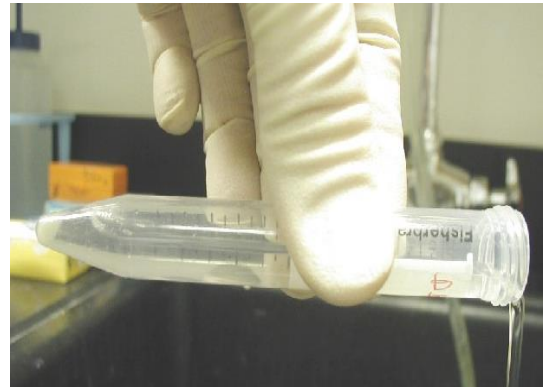


**ΑΠΟΣΤΑΣΗ**



## ΑΠΟΧΥΣΗ ΤΟΥ ΥΠΕΡΚΕΙΜΕΝΟΥ

Το μίγμα αφήνεται να ηρεμήσει μέχρι το στερεό να καταβυθιστεί στον πυθμένα του δοχείου. Το υγρό αποχύνεται προσεκτικά χωρίς να διαταραχθεί το



## ΕΚΧΥΛΙΣΗ

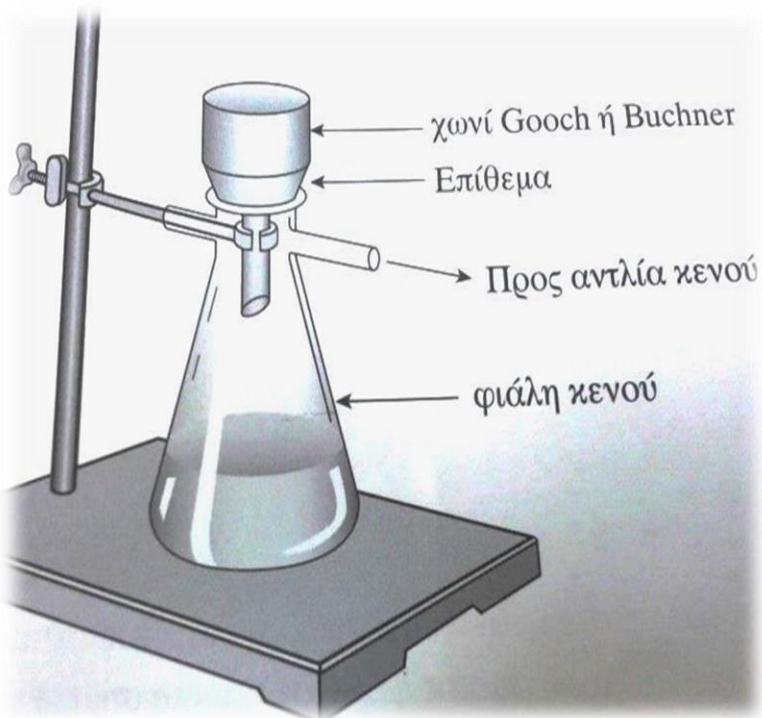
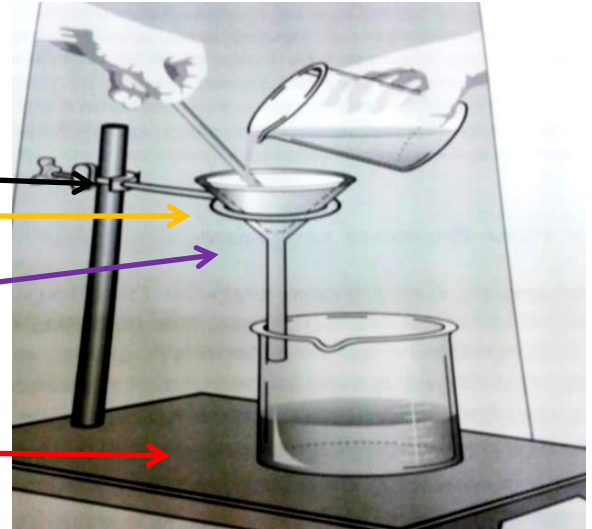
Εκχύλιση ονομάζεται η μεταφορά μιας ουσίας από μια φάση στην οποία βρίσκεται με τη μορφή διαλύματος ή αιωρήματος σε μια άλλη υγρή φάση.

Η εκχύλιση είναι μια από τις παλαιότερες "χημικές" δραστηριότητες του ανθρώπου όπως για παρασκευή ενός αφεψήματος (καφέ, τσάι, κλπ).

## ΔΙΗΘΗΣΗ

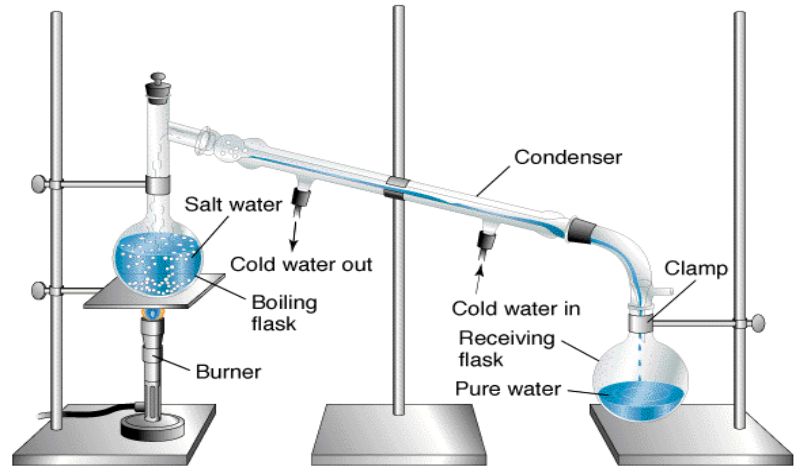
Απλή

Όπου το μίγμα αποχύνεται σε **χωνή διήθηση** που φέρει **χάρτινο ηθμό** κατάλληλου μεγέθους πόρων. Το στερεό παραμένει στον ηθμό και καλείται **ίζημα** ενώ **το υγρό** που συλλέγεται στον υποδοχέα καλείται **διήθημα**.



Διήθηση υπό κενό

## ΑΠΟΣΤΑΞΗ

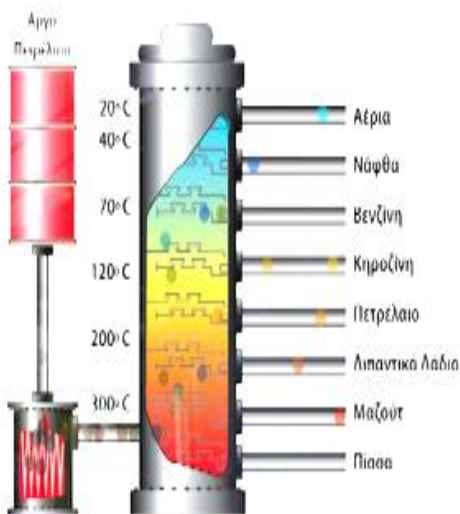


Αποτελεί τον διαχωρισμό υγρού μίγματος (ομογενούς ή ετερογενούς) δύο ή περισσότερων συστατικών με διαφορετικά σημεία ζέσεως (συνήθως με διαφορά μεγαλύτερη των 15°C).

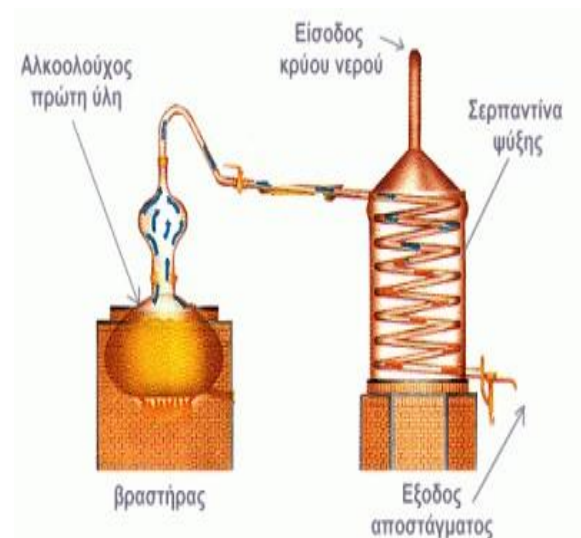
Η διαδικασία συνίσταται στη θέρμανση του μίγματος σε ειδική συσκευή και συλλέγονται ξεχωριστά οι ατμοί του κάθε συστατικού.

### Παραδείγματα Εφαρμογών

Κλασματική απόσταξη



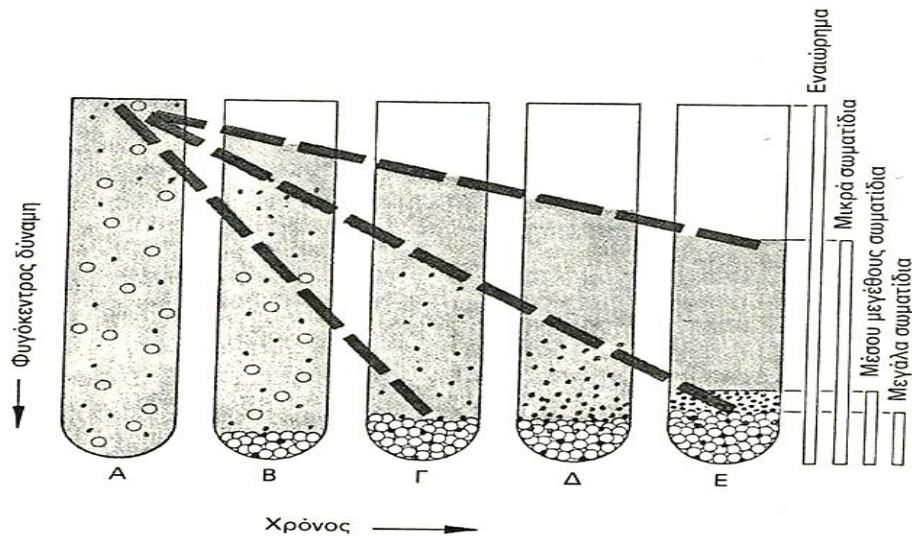
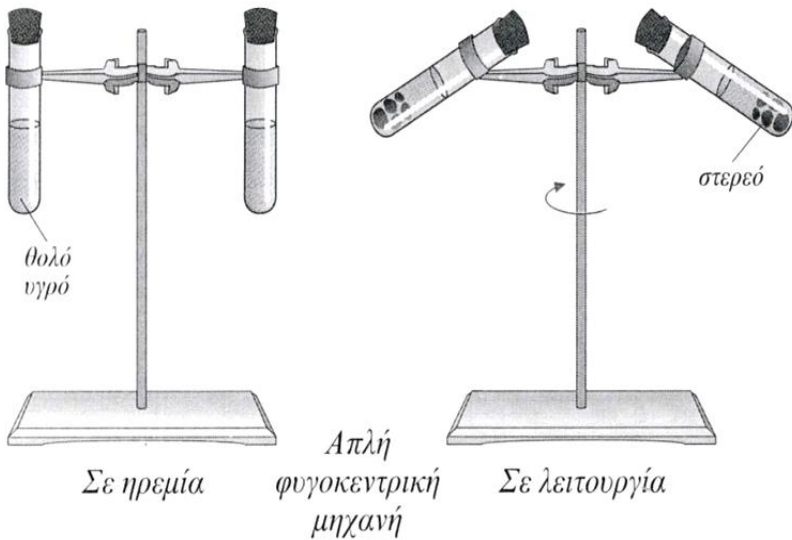
Απόσταξη





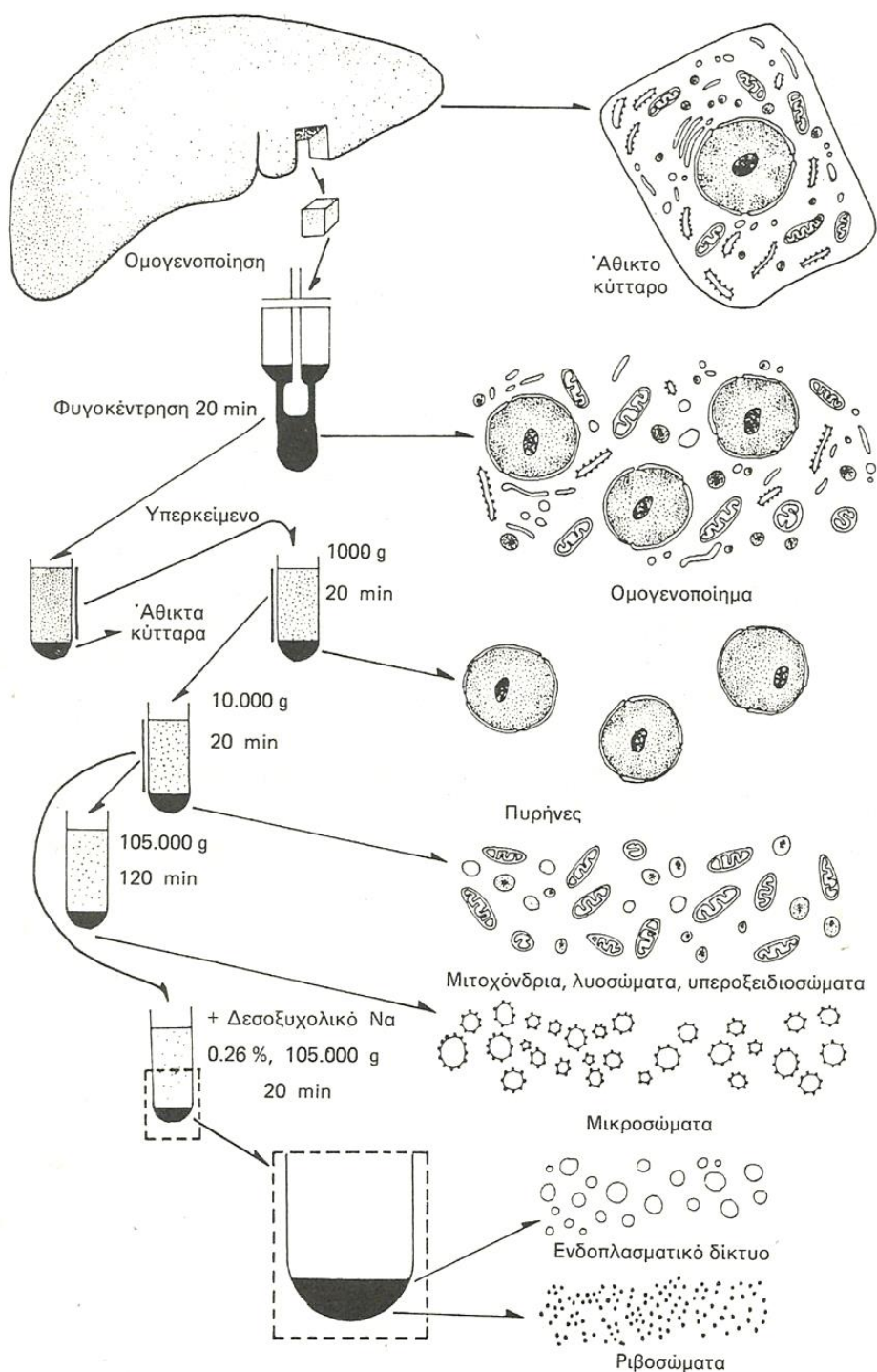
## ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗ

Ειδικές συσκευές για διαχωρισμό στερεού - υγρό, τέτοιες είναι οι φυγόκεντροι. Η λειτουργία βασίζεται στη φυγόκεντρο δύναμη που αναπτύσσεται κατά την περιστροφή, με μεγάλη ταχύτητα, του συστήματος υποδοχής σωλήνων μέσα στους οποίους βρίσκεται το μίγμα



**Εικόνα 3-2.** Σχηματική παράσταση για την επίδραση της φυγοκέντρωσης πάνω σε σωματίδια διαφορετικού μεγέθους. (Από De Robertis και De Robertis, 1980).

Η τάση των μορίων να καθιζάνουν όταν βρίσκονται σ' ένα διάλυμα κάτω από την επίδραση της φυγόκεντρο δύναμης σχετίζεται με την πυκνότητα και το μέγεθός τους και επηρεάζεται από την πυκνότητα και το ιζώδες του διαλύματος. Αν ένα μόριο είναι πυκνότερο από το περιβάλλον μέσο, το μόριο θα πάει στο κάτω μέρος του σωλήνα φυγοκέντρωσης με ταχύτητα ανάλογη της διαφοράς των πυκνοτήτων. Αν το μόριο είναι ελαφρύτερο από το περιβάλλον μέσο θα κινηθεί προς την κορυφή του σωλήνα.



Για τον διαχωρισμό και απομόνωση κυτταρικών οργανιδίων, απαιτείται αρχικά το στάδιο της θραύσης της πλασματικής μεμβράνης.

Έπειτα το αιώρημα αυτό των αναμεμιγμένων κυτταρικών οργανιδίων φυγοκεντρείται.

Αρκετές φυγοκεντρήσεις και με διαδοχικά αυξανόμενες ταχύτητες φυγοκέντρωσης διαχωρίζουν βαθμιαία τις κυτταρικές δομές.

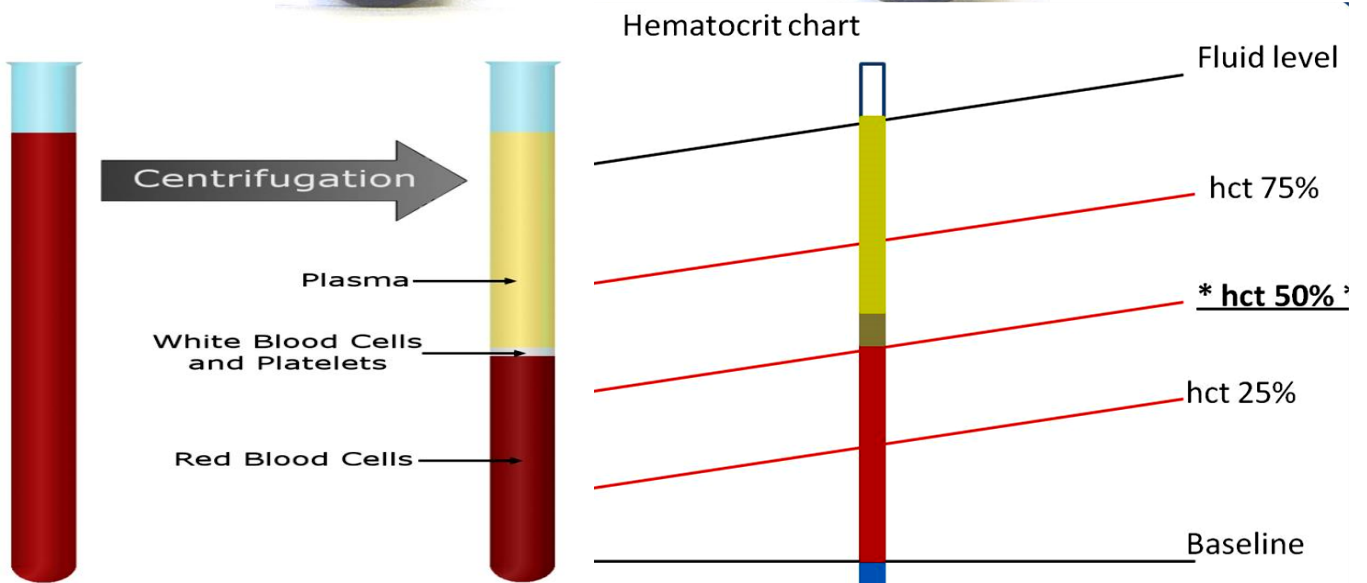
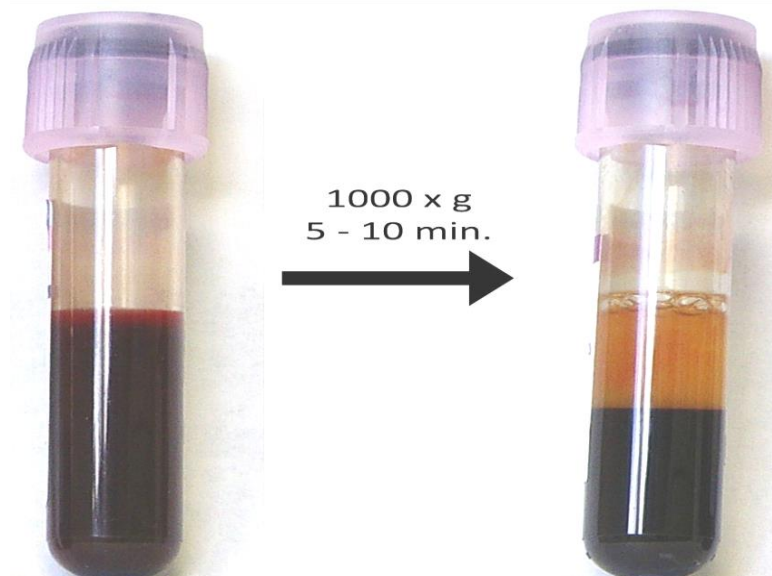
Σε μικρές ταχύτητες φυγοκέντρωσης καθιζάνουν τα μεγάλα οργανίδια, όπως οι πυρήνες.

Φυγοκεντρώντας το διάλυμα βαθμιαία σε αυξανόμενες ταχύτητες προκαλείται η καθίζηση των μιτοχονδρίων και των χλωροπλαστών και τέλος καθιζάνουν τα μικρότερα σωματίδια όπως τα ριβοσώματα, οι πρωτεΐνες και τα πυρηνικά οξέα.

Εικόνα 3-3. Στάδια απομόνωσης οργανιδίων κατά τη διαφορική φυγοκέντρωση. (Από De Robertis και De Robertis, 1980).

## ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗΣΗΣ

### ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗ



Μία σταγόνα αίμα συλλέγεται σε τριχοειδές σωληνάκι, το οποίο μετά και φυγοκεντρείται ώστε να διαχωριστούν τα συστατικά του αίματος και να βγει το ποσοστό του αιματοκρίτη, δηλαδή **η εκατοστιαία αναλογία του όγκου του αίματος που καταλαμβάνεται από τα ερυθροκύτταρα ανά μονάδα όγκου αίματος.**

Συντομογραφείται ως HT, HCT, PCV (packed cell volume, δηλ. «συμπιεσμένος όγκος κυττάρων») ή και EVF (erythrocyte volume fraction, δηλ. «κλασματικός όγκος ερυθροκυττάρων»).

Ο φυσιολογικός αιματοκρίτης στον σκύλο είναι 35 έως 55 %.



Η γενική αίματος είναι από τις βασικότερες εξετάσεις που γίνεται τόσο προληπτικά σε υγιή όσο και σε ασθενή ζώα.

Κάτω από 35% αιματοκρίτη υπάρχει αναιμία, οι δοκιμές περιλαμβάνουν και τη μέτρηση της αιμοσφαιρίνης. Παθολογικές καταστάσεις που εξακριβώνονται από την εξέταση αίματος:

- **Λείσμανίωση - “καλααζάρ”** -> προκαλεί αναιμία
- **Ερλιχίωση του σκύλου** -> που εμφανίζεται με χαμηλά αιμοπετάλια κι ενδεχομένως υψηλά ή χαμηλά λευκά
- **Αιμομπαρτονέλλωση** της γάτας -> που προκαλεί πτώση των αιμοπεταλίων
- **Aids** της γάτας (**FIV**) -> χαμηλά λευκά

**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ - Γ**

**ΦΡΟΝΤΙΣΤΗΡΙΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ  
ΧΗΜΕΙΑΣ ΓΙΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗ**

**ΟΜΑΔΑ:**

**ΟΝΟΜΑΤΑ:**

**Θεωρητικά στοιχεία:**

- **Επί τοις εκατό βάρος κατά βάρος (% w/w ή % κ.β.)**

Η έκφραση αυτή δηλώνει τα γραμμάρια μιας χημικής ουσίας που είναι διαλυμένα σε 100 g διαλύματος. Η % w/w περιεκτικότητα χρησιμοποιείται συνήθως σε διαλύματα στερεών σε υγρά ή στερεών σε στερεά (κράματα) επειδή τα στερεά περιγράφονται επιτυχέστερα με τη μάζα τους.

$$\frac{\text{μάζα ουσίας (g)}}{100\text{g διαλύματος}}$$

- **Επί τοις εκατό βάρος κατ' όγκο (% w/v ή % κ.ό.)**

Η έκφραση αυτή δηλώνει τα γραμμάρια μιας χημικής ουσίας που είναι διαλυμένα σε 100 mL διαλύματος. Η % w/v περιεκτικότητα χρησιμοποιείται κυρίως για να περιγράψει διαλύματα στερεών σε υγρά.

$$\frac{\text{μάζα ουσίας (g)}}{100\text{mL διαλύματος}}$$

- **Επί τοις εκατό όγκο κατ' όγκο (% v/v ή % κ.ό. ή % vol ή αλκοολικοί βαθμοί (°) )**

Η έκφραση αυτή δηλώνει τα mL μιας χημικής ουσίας, συνήθως υγρής, που είναι διαλυμένα σε 100 mL διαλύματος. Η % v/v περιεκτικότητα χρησιμοποιείται κυρίως σε διαλύματα με αλκοόλη και στα αέρια μίγματα.

$$\frac{\text{όγκος ουσίας (mL)}}{100\text{mL διαλύματος}}$$

**Συγκέντρωση C** ενός διαλύματος (Molarity) είναι τα moles διαλυμένης ουσίας που περιέχονται σε όγκο V ενός λίτρου διαλύματος. Η συγκέντρωση συνήθως μετριέται σε mol/L.

$$C=n/V_{(L)}$$

$$\mathbf{Molarity} = \frac{\mathbf{moles\ διαλυμένης\ ουσίας}}{\mathbf{λίτρα\ διαλύματος}}$$

$$\mathbf{Molality} = \frac{\mathbf{moles\ διαλυμένης\ ουσίας}}{\mathbf{χιλιόγραμμα\ διαλύτη}}$$

- **Φτιάξτε ένα σιτηρέσιο (μίγμα τροφής μαζί με ιχνοστοιχείο  $Zn^{++}$ ) που να περιέχει 1‰ w/w σε  $Zn^{++}$ .**

Έχετε στην διάθεση σας:

- 1) 1000 Kg τροφής
- 2) Πηγές  $Zn^{++}$  σε μορφή σκόνης
  - A) 90% w/w με κόστος 100 € ανά κιλό
  - B) 70% w/w με κόστος 70 € ανά κιλό
  - Γ) 50% w/w με κόστος 30 € ανά κιλό
- 3) Ζυγαριά (εύρος μέτρησης 1-1000 kg)

Ερωτήσεις:

- I. Ποία πηγή  $Zn^{++}$  είναι η πιο συμφέρουσα από θέμα κόστους για να αγοράσετε και να χρησιμοποιήσετε για την παρασκευή του σιτηρεσίου;
- II. Περιγράψτε πως θα παρασκεύασε το σιτηρέσιο (πχ 8 Kg τροφής θα αναμιχτούν με 0,2 Kg από την πηγή  $Zn^{++}$  )
- III. Επειδή η φυσικές τροφές περιέχουν ίχνη  $Zn^{++}$  υπολογίστε ξανά πόσο βάρος πηγής  $Zn^{++}$  σε μορφή σκόνης θα χρησιμοποιήσετε εάν γνωρίζετε ότι η τροφή περιέχει 0,02 % w/w  $Zn^{++}$  .

- Τι θα κάνετε για να φτιάξετε ένα διάλυμα 2ml 0,1mM  $KMnO_4$ ; ( $M_r = 158,03$ )

Λύση:

- Σε ένα πείραμα απαιτούνται 29,5 g υδροχλωρικού οξέος περιεκτικότητας 18,75% κατά μάζα  $HCl$ . Πόσα είναι τα γραμμάρια  $HCl$  και πόσα τα γραμμάρια του νερού στο διάλυμα αυτό;

Λύση:

- Δίνεται διάλυμα αμμωνίας 12,97 M. Πόσα ml από αυτό το διάλυμα χρειαζόμαστε για να παρασκευάσουμε με αραίωση 100,0 ml διαλύματος  $NH_3$  1M;

Λύση:

- **Παρασκευή Ρυθμιστικού διαλύματος PBS 1L το οποίο πρέπει να περιέχει:**

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΟΥΣΙΑΣ	ΜΟΡΙΑΚΟ ΒΑΡΟΣ	ΓΡΑΜΜΑΡΙΑ
137mM NaCl	(58.44 g mol <sup>-1</sup> )	
2.7 mM KCl	(74.55 g mol <sup>-1</sup> )	
10 mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	(141.96 g mol <sup>-1</sup> )	
2 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	(136.09 g mol <sup>-1</sup> )	

Ρύθμιση pH στο 7,4, πως;  
 Διαδικασία και υπολογισμοί:

- Η ουρία  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ , έχει μεγάλη σημασία στις βιολογικές εφαρμογές και μετρήσεις. Πόση είναι η γραμμομοριακή συγκέντρωση ενός υδατικού διαλύματος ουρίας 2,88 mol; Η πυκνότητα του διαλύματος θεωρούμε ότι είναι 1,045 g/ml.

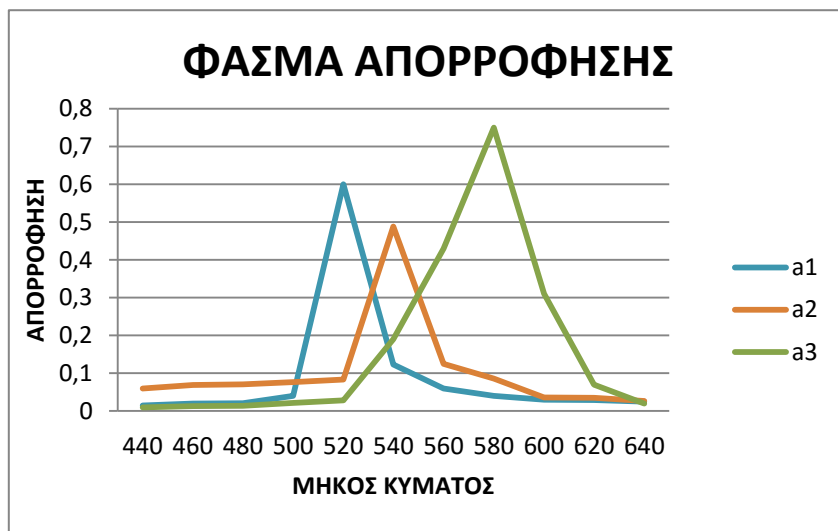
Λύση:

- Πόση είναι η molality ενός υδατικού διαλύματος ουρίας 3,6M; Δίνεται η πυκνότητα του διαλύματος και είναι 1,029 g/mL.

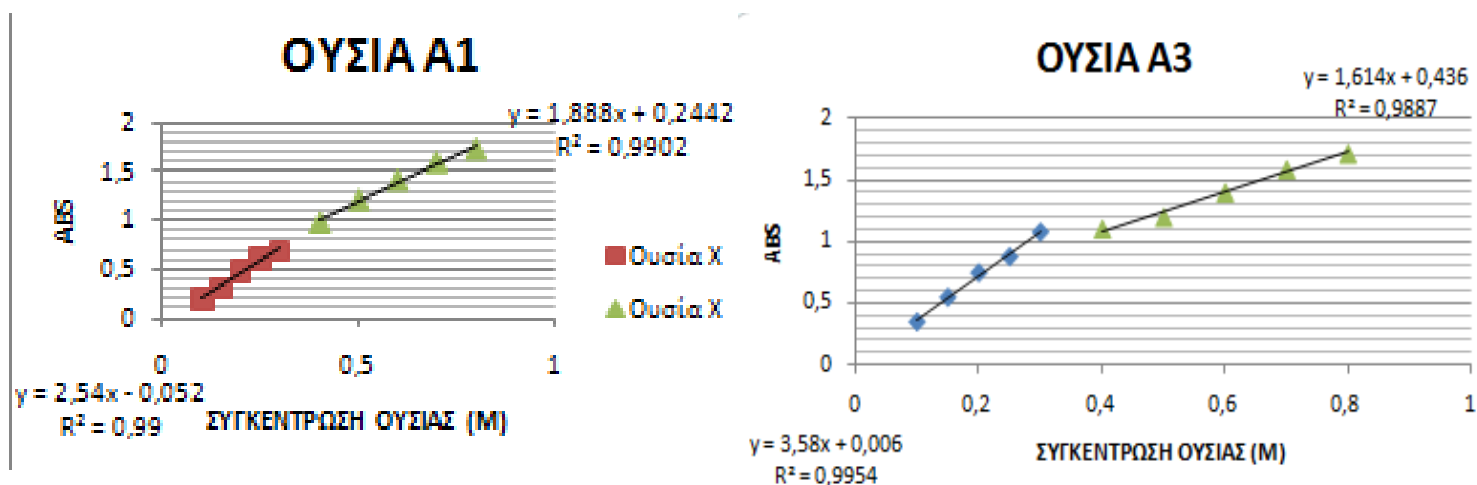
Λύση:

- Κατά την εξέταση αίματος ενός σκύλου σε αυτόματο Φασματοφωτόμετρο προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

Ουσία a1	Ουσία a2	Ουσία a3	λ μήκος κύματος
0,015	0,06	0,01	440
0,02	0,069	0,013	460
0,021	0,071	0,014	480
0,04	0,077	0,022	500
0,6	0,083	0,028	520
0,123	0,488	0,19	540
0,06	0,125	0,43	560
0,04	0,086	0,75	580
0,03	0,036	0,31	600
0,029	0,035	0,07	620
0,025	0,027	0,02	640



Σας δίνονται οι πρότυπες καμπύλες από δύο από τις ουσίες



- Αν η ουσία A1 είναι τοξική σε τιμές >0,4M το ζώο κινδυνεύει;
- Αν η μέτρηση που κάναμε για την ουσία A3 είναι μετά από αραιώση του αίματος στο μισό, ποια είναι η πραγματική συγκέντρωσή της στο αίμα;
- Αν η ουσία A2, ενώ την ξέρουμε, δεν έχουμε πρότυπη καμπύλη, πως θα εργαστούμε για να βρούμε την συγκέντρωσή της στο αίμα;
- Αν το ζώο δηλητηριάστηκε από την ουσία A3 όπου και το χρώμα του αίματος παίρνει μια καστανέρυθρη μορφή και πρέπει να κάνει ένεση αντιδότου (πχ ατροπίνης) ίση με όσο χρειάζεται ώστε να γίνει εξουδετέρωση του χρώματος, πως θα εργαστείτε για να το βρείτε;



## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

**Tetra Pak.** (1995). Dairy processing handbook. Teknotext AB , Sweden.

**Στάμου Αναστάσιος.** (1995). Βιολογικός καθαρισμός αστικών αποβλήτων, εκδόσεις Παπασωτηρίου.

**Αγγελίδης Μ.** (1993). Περιβαλλοντική Χημεία, Πανεπιστήμιο Αιγαίου.

**Μαρκαντωνάτος Γ.** (1990). Επεξεργασία και διάθεση υγρών αποβλήτων, εκδόσεις Γαρταγάνης.

Γ. Ν. Θωμόπουλος, Ε.Π. Ελευθερίου, Ε.Π. Νεοφύτου, **Βιολογία Κυττάρου Εργαστηριακές Ασκήσεις, Δεύτερη Έκδοση**, University Studio Press, Θεσσαλονίκη 1997.

- Π. Ακρίβος, Γ. Μανουσάκης, Χρ. Μπόλος, Σ. Παπαστεφάνου, Α. Συγκολλίτου-Κουράκου, Χ. Χατζηκώστας, **Εργαστηριακές Ασκήσεις Γενικής Ανόργανης Χημείας**, Εκδόσεις ΖΗΤΗ, Θεσσαλονίκη 2000.

<http://ebooks.edu.gr/modules/ebook/show.php/DSGL111/482/3167,12775/>

<http://ebooks.edu.gr/modules/ebook/show.php/DSGL-C135/474/3141,12622/>

<http://el.wikipedia.org/wiki>

<http://www.conradscience.20m.com/RESEARCH.htm>

<http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biofiles/centrifugation-separations.html>

<http://el.wikipedia.org/>

<http://the-healthcare.org/wp-content/uploads/2013/04/Normal-Hematocrit-Levels.jpg>

<http://3.bp.blogspot.com/-RqO949vJmYk/TqoyN3dp4bl/AAAAAAAAACuE/09KPKu68c9A/s1600/Hematocrit+Chart+Example.jpg>

<http://cura-animalis.gr/index.php/diagnostiko-cura-animalis>

### **ΕΥΧΑΡΙΣΤΗΡΙΑ**

Θα ήθελα να ευχαριστήσω το προσωπικό του εργαστηρίου Βιοχημείας για την συμβολή του στη δημιουργία αυτών των εργαστηριακών σημειώσεων. Η εύρεση και δοκιμή πειραματικών ασκήσεων ήταν μια επίπονη εργασία που διήρκησε αρκετά χρόνια. Οι πειραματικές ασκήσεις μέχρι να φτάσουν στη τελική μορφή τους, ώστε να είναι λειτουργικές, κατανοητές και οικονομικά συμφέρουσες, απαιτούν τροποποιήσεις και προσαρμογές με συνεχείς πειραματικές δόκιμες.

Προσωπικό του εργαστηρίου που συνέβαλε στη δημιουργία των Εργαστηριακών Ασκήσεων Βιοχημείας:

Χρίστος Παπανεοφύτου Χημικός Μηχανικός, MSc, PhD

Αστέρης Γρηγορούδης Χημικός, PhD

Βάιος Νικολόπουλος Βιολόγος, MSc, Υποψ. PhD

Ανθή Μέττου Χημικός, MSc, Υποψ. PhD

Φώτος Αναστάσιος Χημικός Μηχανικός