

# Corso di Analisi Chimico-Farmaceutica e Tossicologica I (M-Z)

*Corso di Laurea in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche  
Facoltà di Farmacia e Medicina  
Anno Accademico 2011/2012*

**Dott. Giuseppe La Regina**



**SAPIENZA**  
UNIVERSITÀ DI ROMA

*“Tu, disperato pilota, frangi ora fra gli scogli la mia  
barca già stanca e squassata per tante tempeste!  
A te accanto, mio amore! Oh schietto farmacista!  
Efficace è la tua droga. Con questo bacio io muoio.”  
W. Shakespeare. Giulietta e Romeo, Atto 5, Scena 3.*

# **Generalità sulle Operazioni di Laboratorio**

## ***Esecuzione delle reazioni di riconoscimento***

- La maggior parte delle reazioni analitiche macro e semimicro si eseguono in provette.
- Per piccole quantità di sostanza si usano preferibilmente micro-provette e provette per centrifuga.
- In generale, le reazioni di precipitazione si eseguono aggiungendo il reattivo precipitante goccia a goccia nella soluzione in esame, fino a completa precipitazione.

# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Esecuzione delle reazioni di riconoscimento*

- Per accelerare la reazione, si può agitare la miscela; in molti casi è anche utile riscaldare.
- In alcuni casi, è necessario sfregare la parete interna della provetta con una bacchetta di vetro a spigolo vivo, per innescare la precipitazione.
- Spesso, quando le soluzioni sono diluite, la formazione del precipitato si riduce ad un intorbidimento.
- In taluni casi, può essere utile ripetere la prova sul liquido in esame, dopo averlo concentrato.

# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Esecuzione delle reazioni di riconoscimento*

- Le reazioni molto sensibili e quelle in cui si formano prodotti colorati si possono eseguire in vetrini da orologio o su piattelli di porcellana.
- In questo caso, i reagenti vengono aggiunti con il contagocce e mescolati con una bacchetta di vetro.
- Tale procedura prende il nome di *reazione alla tocca* o *stillireazione* o *spot test*.

# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Esecuzione delle reazioni di riconoscimento*



# **Generalità sulle Operazioni di Laboratorio**

## ***Esecuzione delle reazioni di riconoscimento***

- Alcune reazioni micro e semimicroanalitiche si possono eseguire anche versando i reagenti con il contagocce su striscette di carta da filtro in modo da sfruttare i fenomeni di capillarità.
- A tale scopo si usa generalmente carta da filtro molto spessa e molto adsorbente, il più possibile esente da impurezze.
- La carta da filtro non può essere usata con soluzioni molto acide perché si rompe, né con soluzioni molto basiche perché si rigonfia.

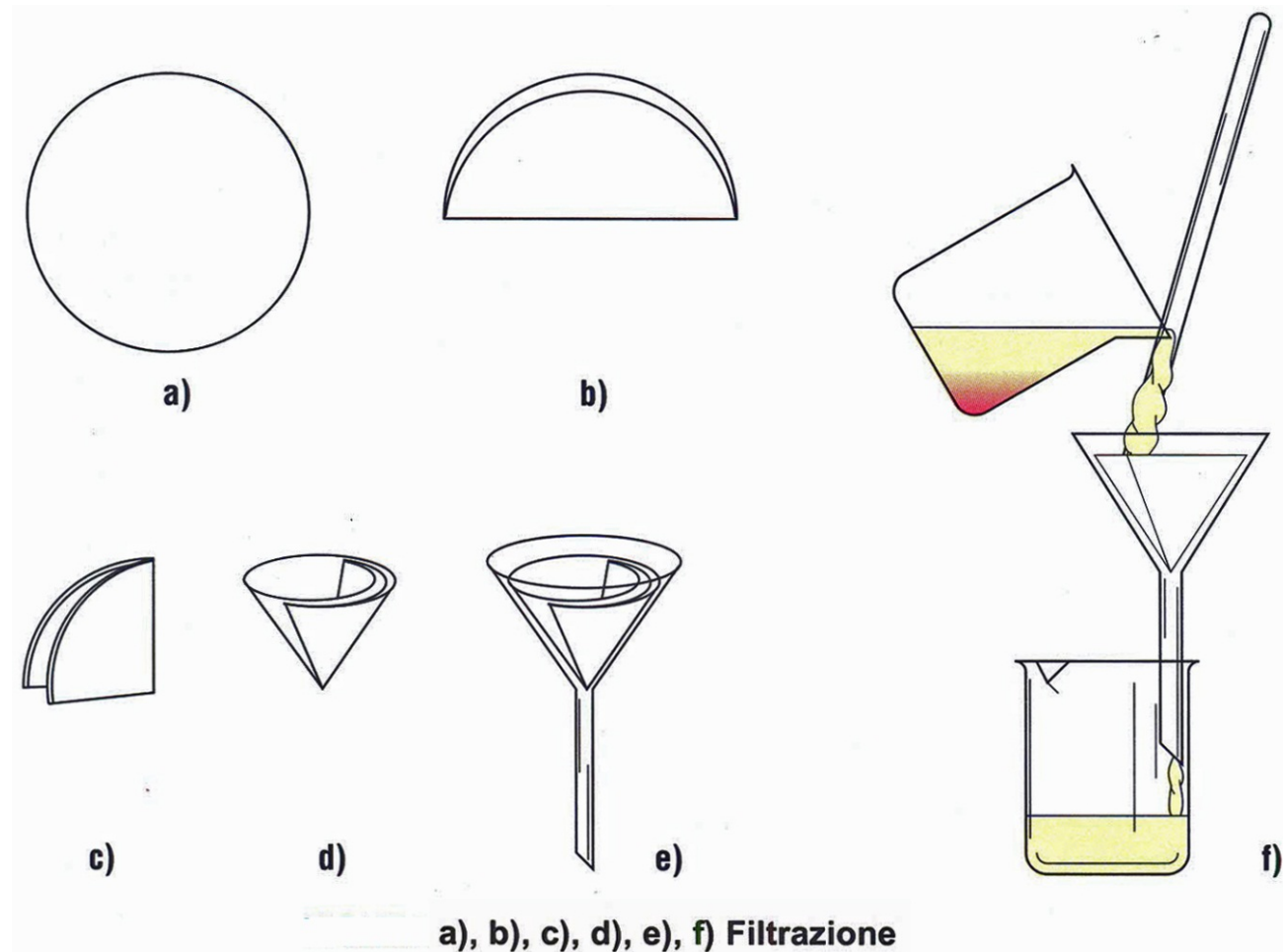
# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Filtrazione e centrifugazione*

- Un precipitato può essere separato dall'acqua madre in 2 modi:
  - per filtrazione;
  - per centrifugazione.
- La filtrazione si esegue mediante dischi di carta porosa. Quando si vuole recuperare un precipitato, la grandezza del filtro da usare deve dipendere non dalla quantità del liquido da filtrare, bensì dalla quantità del precipitato: il filtro deve essere piccolo quanto più è possibile per evitare una dispersione della sostanza.

# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Filtrazione e centrifugazione*





# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Filtrazione e centrifugazione*

- Il disco di carta (a) viene piegato prima esattamente a metà (b), poi in 4 parti (c), indi si aprono 2 lembi per formare un cono (d) che viene adattato in un imbuto, mantenendolo con le dita sino a che, bagnandolo con acqua distillata, non resti aderente al vetro (e).
- Quando il filtro è riempito di acqua, il gambo dell'imbuto deve riempirsi di una colonna di liquido che deve persistere anche durante la filtrazione, senza che si formino bolle per risucchio.

# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Filtrazione e centrifugazione*

- Il cono dell'imbuto deve essere poco più grande del filtro.
- Il liquido filtrante provoca sotto il filtro un'aspirazione proporzionale all'altezza della colonna liquida.
- Per aumentare la velocità di filtrazione conviene usare imbuto dal gambo molto lungo.
- Il liquido deve riempire il filtro fino a circa 5 mm dal bordo.

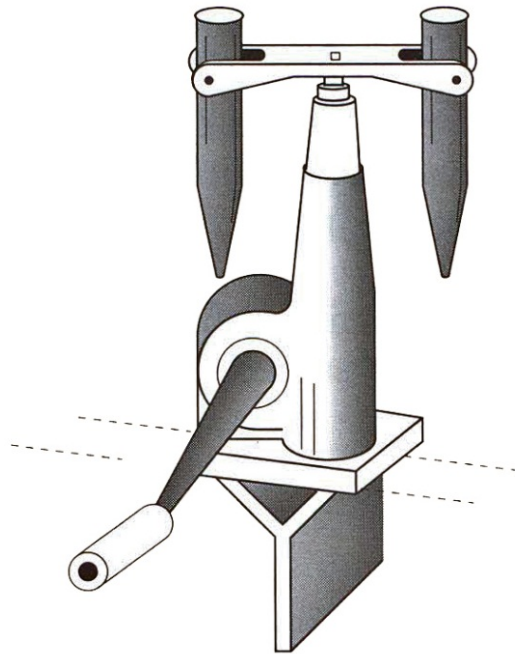
# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## ***Filtrazione e centrifugazione***

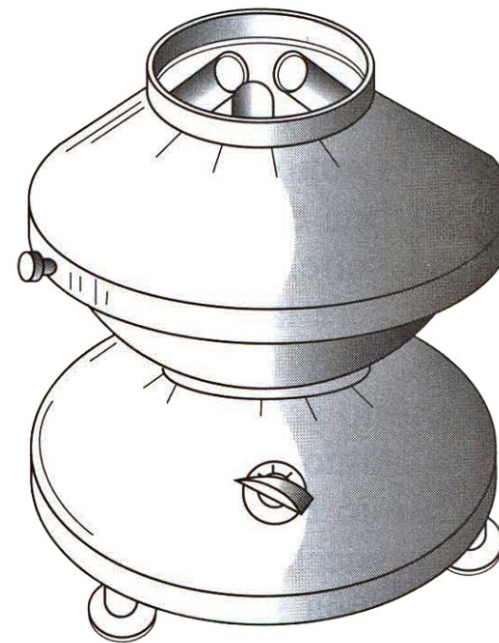
- Se si debbono filtrare precipitati gelatinosi (es., idrossidi), si può usare una carta da filtro a pori larghi (*filtri rapidi*).
- Per precipitati molto fini è opportuno usare una carta a pori più stretti (filtri per analisi qualitativa).
- Nell'analisi semimicro e micro, la filtrazione è spesso sostituita dalla centrifugazione, che si esegue con appositi apparecchi, detti centrifughe, rotanti ad alta velocità.
- La centrifugazione ha il vantaggio di essere più rapida e permette separazioni senza perdite.

# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Filtrazione e centrifugazione*



g)



h)

g) Centrifuga a mano; h) centrifuga elettrica.

# **Generalità sulle Operazioni di Laboratorio**

## ***Filtrazione e centrifugazione***

- Per centrifugare una sospensione, che deve essere contenuta nell'apposita provetta di forma cilindro-conica, si introduce quest'ultima in uno dei tubi portaprovette.
- Nel tubo opposto si colloca un'altra provetta contenente un egual peso di acqua per evitare vibrazioni e sbilanciamenti dell'apparecchio.
- Si fa ruotare la centrifuga, prima lentamente, poi alla velocità massima, per qualche minuto.

# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Filtrazione e centrifugazione*

- Per azione della centrifuga, il precipitato viene spinto al fondo della provetta, dove si deposita così compatto che il liquido limpido ne può essere allontanato per decantazione o per aspirazione con un contagocce.
- Il precipitato rimasto al fondo della provetta può essere prelevato con una bacchettina di vetro o con una spatola.

# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Filtrazione e centrifugazione*

- In qualche caso, dopo la centrifugazione, per rendere perfettamente limpido il liquido centrifugato, si può filtrare questo attraverso un filtro a pori molto stretti.
- In alcuni casi è possibile indicare a priori se, per separare un precipitato, sia più conveniente la filtrazione o la centrifugazione.
- In tali casi si prescrive genericamente di filtrare, ma spetta all'analista decidere se è il caso di filtrare o di centrifugare.

# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Lavaggio dei precipitati*

- Difficilmente i precipitati si separano puri.
- In generale, al termine della filtrazione o della centrifugazione, per eliminare le sostanze estranee trattenute dal precipitato è necessario lavare il precipitato con acqua o con altro liquido opportuno.
- Per lavare un precipitato sul filtro, si spruzza, mediante una spruzzetta, il liquido di lavaggio sul precipitato facendo in modo che questo si raccolga al fondo del filtro stesso.



# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Lavaggio dei precipitati*

- Per lavare un precipitato in una provetta da centrifuga, si aggiungono alcune gocce del liquido di lavaggio, si agita con una bacchettina e si centrifuga nuovamente.
- L'operazione va ripetuta più volte.
- In genere la prima acqua di lavaggio si può unire al filtrato che servirà per ulteriori ricerche.
- Le acque di lavaggio successive, invece, si possono gettare per non diluire eccessivamente la soluzione.

# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Lavaggio dei precipitati*

- Per rimuovere o per raccogliere il precipitato che si trova sul filtro, si può bucare il filtro con la punta di bacchetta di vetro e trasferire il precipitato, servendosi del getto di una spruzzetta, in un altro recipiente posto sotto l'imbuto.
- Si può anche aprire il filtro, stendendolo su di un vetrino ad orologio, e raccogliere il precipitato con l'aiuto di una spatola o di una bacchetta di vetro, oppure rimuoverlo mediante il getto di una spruzzetta.

# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Lavaggio dei precipitati*

- Talvolta, quando il precipitato è scarso, può essere conveniente sciogliere il precipitato sul filtro stesso (senza toglierlo dall'imbuto) aggiungendo con un contagocce la quantità di solvente strettamente necessaria.

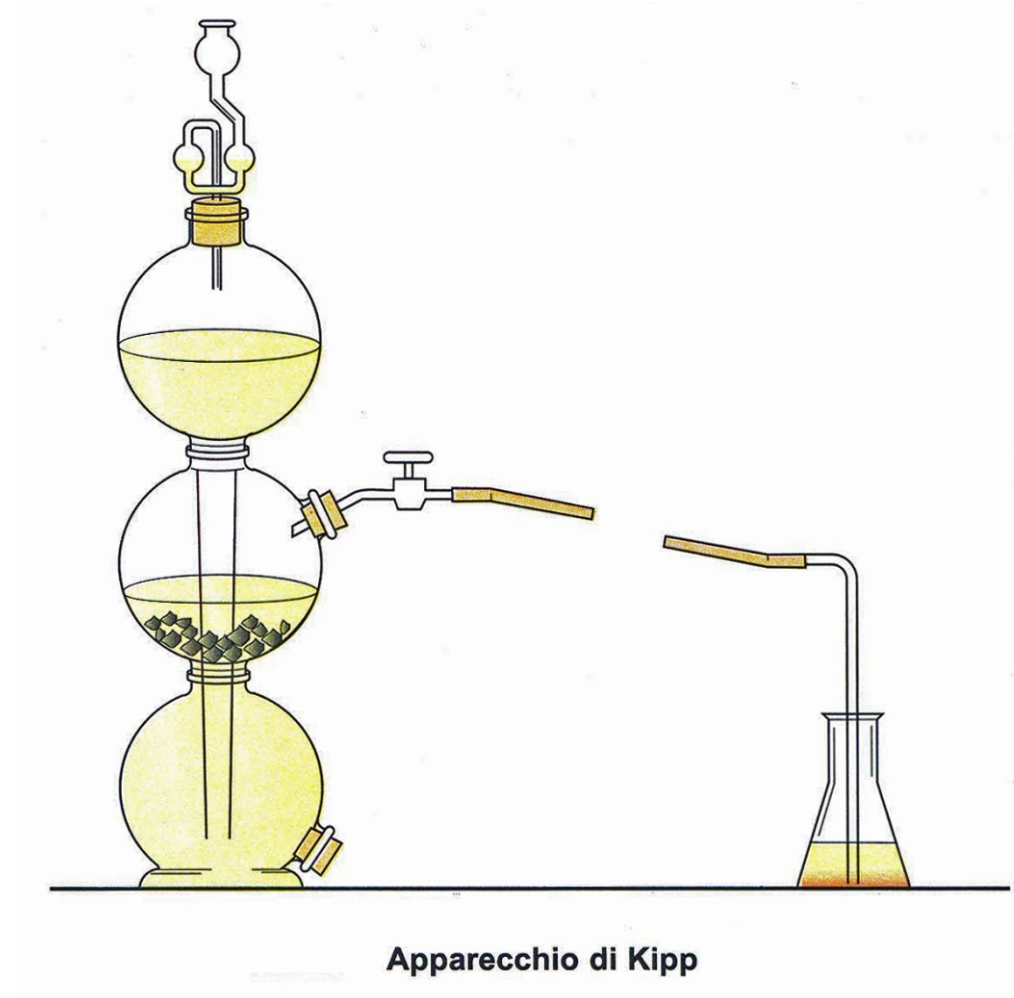
# **Generalità sulle Operazioni di Laboratorio**

## ***Gorgogliamento e sviluppo di gas***

- Per far gorgogliare un gas in un liquido, si pone il liquido in un recipiente opportuno (beuta o provetta).
- Vi si fa gorgogliare il gas per mezzo di un tubetto di vetro opportunamente piegato.
- Un'estremità del tubetto è immersa nel liquido, mentre l'altra è collegata al generatore del gas, cioè ad una bombola oppure ad un "Kipp".

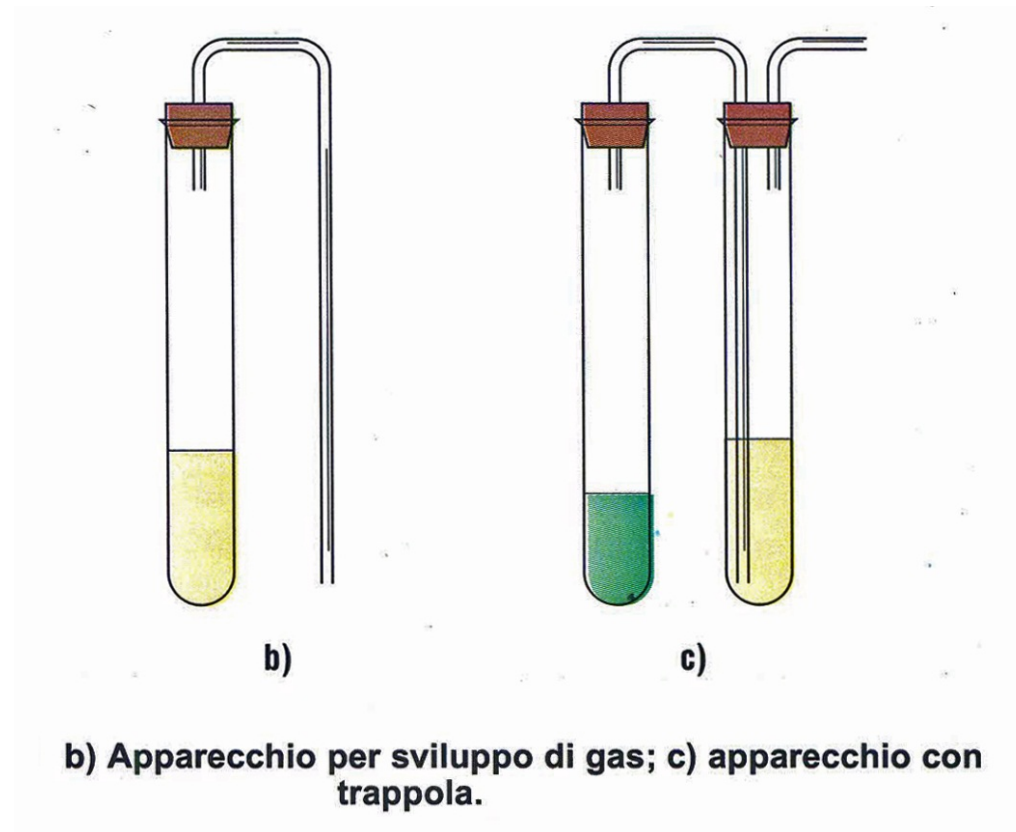
# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Gorgogliamento e sviluppo di gas*



# Generalità sulle Operazioni di Laboratorio

## *Gorgogliamento e sviluppo di gas*



# Valutazione Rischio Chimico

## *Riferimenti normativi*

- Gas tossici: R.D.L. 09/01/27 n. 147
- Prevenzione infortuni: D.P.R. 27/04/55 n. 547
- Igiene del lavoro: D.P.R. 19/03/56 n. 303
- Classificazione, etichettatura e imballaggio sostanze pericolose: D.Lgs. 03/02/97 n. 52 (sostanze); D.Lgs. 16/07/98 n. 285 (preparati).
- Attività comportanti rischi di incidente rilevante: D.Lgs. 17/08/99 n. 334.

# Valutazione Rischio Chimico

## *Riferimenti normativi*

- Protezione da amianto: D.Lgs. 15/08/91 n. 277.
- Dispositivi di protezione individuali: D.Lgs. 04/12/92 n. 475, D.M. 02/05/01.
- Sicurezza e salute del lavoro: D.Lgs. 19/09/94 n. 626.
- Segnaletica di sicurezza: D.Lgs. 14/08/96 n. 493.
- Protezione da agenti cancerogeni o mutageni: D.Lgs. 25/02/2000 n. 66, Titolo VII D.Lgs. 19/09/1994 n. 626.
- Protezione da agenti chimici: D.Lgs. 02/02/2002 n. 25, Titolo VII D.Lgs. 19/09/1994.



# Valutazione Rischio Chimico

## *Sostanze e preparati pericolosi*

- La conoscenza delle caratteristiche di pericolosità delle sostanze è un elemento indispensabile perché possano essere impiegate limitando il rischio per gli addetti al più basso livello possibile.
- In tutta l'Unione Europea sono considerati *pericolosi*, e come tali regolamentati, le sostanze ed i preparati rientranti in una o più delle seguenti categorie:
  1. *esplosivi*: che possono esplodere per effetto della fiamma o che sono sensibili agli urti e agli attriti più del dinitrobenzene;

# Valutazione Rischio Chimico

## *Sostanze e preparati pericolosi*

- 2. *comburenti*: che a contatto con altre sostanze, soprattutto se infiammabili, provocano una forte reazione esotermica;
- 3. *facilmente infiammabili*: che a contatto con l'aria, a temperatura normale e senza ulteriore apporto di energia, possono riscaldarsi e infiammarsi, ovvero:
  - che allo stato solido possono facilmente infiammarsi per la rapida azione di una sorgente di accensione e che continuano a bruciare o a consumarsi anche dopo l'allontanamento della sorgente di accensione, ovvero:

# Valutazione Rischio Chimico

## *Sostanze e preparati pericolosi*

- che allo stato liquido hanno il punto di infiammabilità inferiore a  $21^{\circ}\text{C}$ , ovvero:
- che allo stato gassoso si infiammano a contatto con l'aria a pressione normale, ovvero:
- che, a contatto con l'acqua o l'aria umida, sprigionano gas facilmente infiammabili in quantità pericolose;
- 4. *infiammabili*: che allo stato liquido hanno il punto di infiammabilità tra i  $21^{\circ}\text{C}$  e  $55^{\circ}\text{C}$ ;

# Valutazione Rischio Chimico

## ***Sostanze e preparati pericolosi***

- 5. *tossici*: che, per inalazione, ingestione o penetrazione cutanea possono comportare rischi gravi, acuti o cronici, ed anche la morte;
- 6. *nocivi*: che per inalazione, ingestione o penetrazione cutanea, possono comportare rischi di gravità limitata;
- 7. *corrosivi*: che, a contatto con i tessuti vivi, possono esercitare su di essi un'azione distruttiva;

# Valutazione Rischio Chimico

## *Sostanze e preparati pericolosi*

- 8. *irritanti*: che, pur non essendo corrosivi, possono produrre al contatto immediato, prolungato o ripetuto con la pelle e le mucose una reazione infiammatoria;
- 9. *sensibilizzanti*: per inalazione o assorbimento cutaneo, possono dare luogo ad una reazione di ipersensibilizzazione per cui una successiva esposizione all'agente produce caratteristiche reazioni come dermatiti o disagi respiratori;

# Valutazione Rischio Chimico

## *Sostanze e preparati pericolosi*

- 10. *altamente infiammabili* (o estremamente infiammabili): le sostanze ed i preparati liquidi il cui punto di infiammabilità è inferiore a 0 °C ed il cui punto di ebollizione è inferiore o pari a 35 °C;
- 11. *altamente tossici* (o molto tossici): le sostanze ed i preparati che per inalazione, ingestione o penetrazione cutanea possono comportare rischi estremamente gravi, acuti o cronici, ed anche la morte;

# Valutazione Rischio Chimico

## ***Sostanze e preparati pericolosi***

- 12. *tossici per il ciclo riproduttivo*: per inalazione, ingestione, o assorbimento cutaneo, possono provocare o rendere più frequenti effetti nocivi, non ereditari, sulla prole o danni a carico della funzione o delle capacità riproduttive maschili e femminili.
- 13. *pericolosi per l'ambiente*: le sostanze ed i preparati la cui utilizzazione presenta o può presentare rischi immediati o differiti per l'ambiente;

# Valutazione Rischio Chimico

## ***Sostanze e preparati pericolosi***

- 14. *cancerogeni*: le sostanze ed i preparati che per inalazione, ingestione o penetrazione cutanea possono produrre il cancro o aumentarne la frequenza;
- 15. *teratogeni*: le sostanze che assorbite da donne in gravidanza possono provocare malformazioni dell'embrione;
- 16. *mutageni*: le sostanze che assorbite dall'organismo possono provocare lo sviluppo di alterazioni genetiche ereditarie.



# Valutazione Rischio Chimico

## *Metodi e strumenti per riconoscere i pericoli*

- Per individuare il livello e la tipologia di pericolosità di un prodotto vengono utilizzate le etichette e i simboli di pericolo.
- La fase di etichettatura di un prodotto consiste nella individuazione e successiva trascrizione su etichetta o direttamente sulla confezione di imballaggio delle indicazioni relative al prodotto.

# Valutazione Rischio Chimico

## *Metodi e strumenti per riconoscere i pericoli*

- I simboli di pericolo vengono rappresentati su sfondo arancione, insieme alle *frasi di rischio* (frasi R), per precisare la tipologia del rischio, e i *consigli di prudenza* (frasi S), indicanti le modalità per operare in sicurezza.
- *Per un elenco completo si consulti l'allegato relativo a fine presentazione.*
- Infine, l'etichetta contiene indicazioni relative al contenuto e al produttore.

# Valutazione Rischio Chimico

## *Metodi e strumenti per riconoscere i pericoli*

- Simboli associati ai rischi per la sicurezza (chimico-fisici)



E

Esplodivo



F+/F

Estremamente/Facilmente infiammabile



O

Comburente

- Simboli associati ai rischi per la salute (tossicologici)



T+/T

Altamente tossico/tossico



Xn

Nocivo



Xi

Irritante



C

Corrosivo

# Valutazione Rischio Chimico

## *Metodi e strumenti per riconoscere i pericoli*

- Simbolo associato ai rischi per l'ambiente



N

Pericoloso per l'ambiente

- In molti casi possono essere compresenti più rischi per la stessa sostanza e, in ogni caso, è necessario valutare le più precise indicazioni derivanti dalle frasi di rischio.

# Valutazione Rischio Chimico

## *Classificazione dei prodotti pericolosi per la salute*

- Una delle caratteristiche più importanti delle sostanze molto tossiche, tossiche o nocive è rappresentata dalla tossicità a breve (effetto acuto).
- Il livello di tossicità è stato definito a partire da test basati sulla quantità di composto chimico letale in funzione della via di esposizione.

# Valutazione Rischio Chimico

## *Classificazione dei prodotti pericolosi per la salute*

- $DL_{50}$ : è la dose che provoca la morte nel 50% degli animali da esperimento; va definita anche la via (orale, cutanea, etc.....).
- Per la  $DL_{50}$  orale la normativa UE prevede come animale da esperimento l'uso del ratto, mentre per la  $DL_{50}$  cutanea è previsto anche l'impiego del coniglio.

# Valutazione Rischio Chimico

## *Classificazione dei prodotti pericolosi per la salute*

- $CL_{50}$ : è la concentrazione in aria che provoca la morte nel 50% degli animali da esperimento, se inalata per un determinato periodo di tempo.
- Per la  $CL_{50}$  la normativa UE prevede l'uso del ratto come animale da esperimento con una esposizione di 4 ore.

# Valutazione Rischio Chimico

## *Classificazione dei prodotti pericolosi per la salute*

- I limiti della Dose Letale 50 ( $DL_{50}$ ) e Concentrazione Letale 50 ( $CL_{50}$ ) utilizzate per classificare un prodotto come molto tossico, tossico o nocivo sono riportati nella tabella seguente:

Categoria	$DL_{50}$ orale mg/Kg	$DL_{50}$ cutanea mg/Kg	$CL_{50}$ inalatoria mg/litro/4 ore
Molto tossiche	<25	<50	<0,5
Tossiche	25 - 200	50-400	0,5-2
	200 – 2000	400 – 2000	2 - 20



# Valutazione Rischio Chimico

## *Classificazione dei prodotti pericolosi per la salute*

- L'Unione Europea suddivide i cancerogeni in 3 categorie, a pericolosità decrescente:
  1. sostanze note per gli effetti cancerogeni sull'uomo;
  2. sostanze che dovrebbero considerarsi cancerogene per l'uomo;
  3. sostanze sospette per i possibili effetti sull'uomo che, tuttavia, non sono supportati da informazioni sufficienti per una soddisfacente valutazione.

# Valutazione Rischio Chimico

## ***Classificazione dei prodotti pericolosi per la salute***

- Per quanto riguarda la categoria 1, esistono prove sufficienti per stabilire un nesso causale tra l'esposizione dell'uomo ad una sostanza e lo sviluppo di tumori.
- L'etichettatura conterrà la frase R45 *“può provocare il cancro”* o R49 *“può provocare il cancro per inalazione”* accompagnata dal simbolo T+ (teschio).

# Valutazione Rischio Chimico

## ***Classificazione dei prodotti pericolosi per la salute***

- Per quanto riguarda la categoria 2, esistono prove sufficienti per ritenere verosimile che l'esposizione dell'uomo ad una sostanza possa provocare lo sviluppo di tumori.
- L'etichettatura conterrà la frase R45 “*può provocare il cancro*” o R49 “*può provocare il cancro per inalazione*” accompagnata dal simbolo T (teschio).

# Valutazione Rischio Chimico

## ***Classificazione dei prodotti pericolosi per la salute***

- Per quanto riguarda la categoria 3, esistono alcune prove ottenute da adeguati studi sugli animali che non bastano tuttavia per classificare la sostanza nella categoria 2.
- L'etichettatura conterrà la frase R40 *“possibilità di effetti cancerogeni”* - Prove insufficienti.
- I preparati che contengono più dello 0,1% di sostanze in Categoria 1 e 2, oppure più dell'1% di quelle in Categoria 3, sono da considerare a loro volta cancerogeni, con l'obbligo della relativa frase di rischio.