

SCHEDA LABORATORIO SCIENTIFICO n. 13

TITOLO: CHIMICA DELLE SOSTANZE NATURALI – NATURAL PRODUCTS CHEMISTRY

Responsabile scientifico: BRIGIDA D'ABROSCA

Settori Scientifico-Disciplinari di riferimento:

CHIM/06

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

Tipologia: CHIMICO

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

LOCALIZZAZIONE E DESCRIZIONE

- piano 1 del corpo A del DiSTABiF (locale 3A15.7); dimensioni: 23,5 m²; volume: 164,5 m³
- n. 4 postazioni di lavoro

ATTIVITÀ SVOLTE NEL LABORATORIO

- Purificazione di composti organici (*small molecules*) naturali, semisintetici o sintetici mediante HPLC
- Preparazione dei campioni per analisi NMR
- Preparazione di campioni per analisi metabolomica mediante NMR
- Preparazione di terreni per colture vegetali idroponiche

RELAZIONE SINTETICA DESCRITTIVA DEL CICLO DI LAVORO E DELLE MODALITÀ OPERATIVE

1. Purificazione di composti organici mediante HPLC

Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio). I campioni da sottoporre ad analisi HPLC vengono disciolti nei solventi idonei e filtrati su filtri RC o PTFE. Aliquote delle soluzioni vengono iniettate nello strumento mediante l'utilizzo di microsiringhe di vetro. Le sostanze separate, dopo la corsa cromatografica, vengono raccolte in palloni di vetro ed essiccate sotto vuoto mediante l'utilizzo di un Rotavapor.

PRIMA DELL'UTILIZZO DELL'HPLC

- Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite dal costruttore.
- Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio).
- Assicurarci che i liquidi di scarto siano convogliati in tanica di raccolta.
- Assicurarci che i contenitori degli eluenti in ingresso all'HPLC siano dotati di tappi di sicurezza, con chiusura ermetica e sistema filtrante.
- Assicurare un adeguato ricambio d'aria nel locale.

DURANTE L'UTILIZZO

- Verificare il corretto avvio delle analisi.
- Non intervenire di propria iniziativa sui componenti della strumentazione e non manomettere parti della strumentazione.
- Segnalare tempestivamente eventuali malfunzionamenti o guasti al Responsabile delle Attività (RADoR).

DOPO L'UTILIZZO

- Spegner la strumentazione, procedere a pulizia superfici interne e a riordino banco di lavoro.
- Svotare la tanica di raccolta degli scarti quanto presenti liquidi per una frazione compresa fra ½ e ¾ dell'intero volume del contenitore.

- Conservare le taniche degli scarti sotto cappa per il solo tempo indispensabile alle esigenze del laboratorio; trasferire poi all'interno del deposito temporaneo per rifiuti pericolosi in attesa dello smaltimento seguendo le procedure indicate dal RADoR.

2. Preparazione dei campioni per analisi NMR

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

Generalmente si opera in soluzione sciogliendo il campione (0,5-15 mg) in un opportuno solvente (0.6 mL). Si utilizzano solventi deuterati per non avere interferenze del solvente. Una volta registrati gli esperimenti, i campioni vengono recuperati in palloni di vetro ed essiccati sottovuoto mediante l'utilizzo di un Rotavapor.

3 Preparazione di campioni per analisi metabolomica mediante NMR

Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio guanti, visiera per liquidi criogenici).

Il materiale vegetale liofilizzato viene polverizzato in un mortaio con l'utilizzo di azoto liquido. Aliquote di circa 50 mg del materiale polverizzato vengono trasferite in provette Eppendorf® da 2.0 mL; vengono aggiunti 1.5 mL di una miscela 1:1 di CD₃OD e tampone fosfato (K₂HPO₄, 90 mM a pH 6) in D₂O (Sigma-Aldrich), contenente lo 0.1% (v/v) di TMSP (trimethylsilylpropionic acid sodium salt).

Dopo una breve agitazione meccanica mediante Vortex a temperatura ambiente per un minuto, le provette vengono immerse in un bagnetto ad ultrasuoni per 20 minuti. Successivamente i campioni vengono centrifugati a 14000 rpm per 10 minuti. 600 µL di supernatante vengono prelevati sotto cappa chimica e trasferiti in cuvette per NMR.

4 Preparazione di terreni per colture vegetali idroponiche

Indossare i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio guanti, mascherina per polveri FFP2).

Sali inorganici, vitamine e altre sostanze necessarie, vengono pesati su bilance analitiche per la preparazione di soluzioni acquose. Su utilizza il pH-metro per verificare e correggere il valore di pH in base alle esigenze. Le soluzioni vengono sterilizzate mediante l'uso di autoclave.

LISTA DELLE ATTREZZATURE PRESENTI:

1. Centrifuga per Eppendorf
2. Centrifuga
3. pH-metro
4. Piastre riscaldanti/agitanti n. 2
5. Pompe a membrana da vuoto n. 3
6. Rotavapor
7. Sistema di refrigerazione Chiller
8. Sistemi HPLC analitici/semipreparativi con rivelatori ad indice di rifrazione per la purificazione di metaboliti n. 2
9. Stufa
10. Vortex

LISTA DEI DISPOSITIVI DI PROTEZIONE GENERALE (DPG):

1. Cappa chimica
2. Armadio per liquidi infiammabili

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

- Camice antiacido
- Occhiali di protezione
- Guanti in nitrile e in lattice (verie misure)
- Visiera
- Visiera per liquidi criogenici

- Guanti per liquidi criogenici
- Grembiule per liquidi criogenici
- Guanti per autoclave
- Mascherine a carbone attivo per acidi/solventi

Categorie ISI WEB di riferimento

Organic Chemistry, Spectroscopy, Food science & technology, Instruments & instrumentations

Categorie ERC di riferimento

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

[SCHEDE DI SICUREZZA](#)