



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΠΑΤΡΩΝ  
UNIVERSITY OF PATRAS

ΤΜΗΜΑ ΔΕΙΦΟΡΙΚΗΣ ΓΕΩΡΓΙΑΣ  
ΓΕΩΠΟΝΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

# ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ

---

**1<sup>η</sup> Εργαστηριακή Άσκηση: Εισαγωγή-Διαδοχικές αραιώσεις**

**Γαλάνη Αγγελική, Χημικός PhD, Ε.ΔΙ.Π. - Διονυσοπούλου Εύα Βιολόγος PhD, Ε.ΔΙ.Π.**



# ΕΙΣΑΓΩΓΗ

---

## ΑΣΦΑΛΕΙΑ - ΣΚΕΥΗ - ΟΡΓΑΝΑ

Στις επόμενες διαφάνειες της εισαγωγής θα γίνει σύντομη υπενθύμιση βασικών κανόνων ασφαλείας (η αναλυτική παρουσίαση γίνεται στις Εργαστηριακές Ασκήσεις Γενικής-Ανόργανης Χημείας του 1<sup>ου</sup> εξαμήνου και στις Εργαστηριακές Ασκήσεις Αναλυτικής και Οργανικής Χημείας).

Επίσης θα γίνει παρουσίαση βασικών οργάνων και σκευών που χρησιμοποιούνται σε εργαστηριακές ασκήσεις βιοχημείας με ιδιαίτερη έμφαση στις αυτόματες πιπέτες και τον τρόπο χρήσης τους.

## ΓΕΝΙΚΟΙ ΚΑΝΟΝΕΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ

1. Φοράτε πάντα κατά την είσοδο στο εργαστήριο εργαστηριακή ποδιά.
2. Απαγορεύεται το φαγητό, το ποτό και το κάπνισμα στο εργαστήριο.
3. Να χρησιμοποιείτε γυαλιά ασφαλείας για την προστασία των ματιών. Δε συνίσταται η χρήση φακών επαφής.
4. Φορέστε όπου χρειάζεται γάντια προστασίας.
5. Εξοικειωθείτε με το εργαστήριο και τη χρήση της τυπικής ασφάλειας που αυτό διαθέτει όπως π.χ. πυροσβεστήρες, πλύσεις ματιών, ντους ασφαλείας, αισθητήρες καπνού, απαγωγοί αερίων και κουτί πρώτων βοηθειών.
6. Διατηρήστε τους πάγκους και τα συρτάρια καθαρά και καλά οργανωμένα.
7. Σχεδιάστε τα πειράματά σας πριν ξεκινήσετε να τα εκτελείτε.

8. Αποφύγετε τη μόλυνση των χημικών ουσιών χρησιμοποιώντας μόνο καθαρά γυάλινα σκεύη και σπάτουλες. Επιβάλλεται να υπάρχει κατάλληλη ετικέτα σε φιάλες που περιέχουν διαλύματα που παρασκευάσατε (ονομασία, συγκέντρωση διαλ/τος, ημ/νια παρασκευής).
9. Μην εργάζεστε μόνοι σας στο εργαστήριο. Δεν επιτρέπονται μη εξουσιοδοτημένα πειράματα. Δώστε προσοχή στους άλλους στο εργαστήριο.
10. Να γνωρίζετε τα τηλέφωνα έκτακτης ανάγκης.
11. Μην απορρίπτεται στην αποχέτευση παρά μόνο τα ακίνδυνα διαλύματα που θα σας υποδεικνύουν κάθε φορά οι υπεύθυνοι. Όλα τα άλλα συλλέγονται ξεχωριστά ανάλογα με την κατηγορία τους σε ειδικά δοχεία.
12. Συλλέξτε τα σπασμένα γυαλικά σε ειδικούς κάδους και τα tips των αυτόματων πιπετών σε ειδικά δοχεία.
13. Πριν φύγετε πλύντε σχολαστικά τα χέρια σας.

# NO

FOOD  
DRINKS  
CELL PHONES  
HEADPHONES



# ΕΙΚΟΝΟΓΡΑΜΜΑΤΑ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΧΗΜΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ - ΦΡΑΣΕΙΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ R (RISK) ΚΑΙ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ S (SAFETY)- ΧΡΗΣΗ ΠΥΡΟΣΒΕΣΤΗΡΑ



Οι φράσεις κινδύνου R (Risk) και προστασίας S (safety) παρουσιάζονται στη διεύθυνση:

[https://ec.europa.eu/taxation\\_customs/dds2/SAMANCTA/EL/Safety/RS\\_EL.htm](https://ec.europa.eu/taxation_customs/dds2/SAMANCTA/EL/Safety/RS_EL.htm).

Εικόνα προερχόμενη από: Σπηλιόπουλος Ιωακείμ, Βάκρος Ιωάννης, «Εργαστηριακές Ασκήσεις Χημείας», Άνοιχτες Ακαδημαϊκές Εκδόσεις Κάλλιπος, Εθνικό Πρόγραμμα Ανάπτυξης 2021-2025

<https://repository.kallipos.gr/handle/11419/9922>

- Συσκευή διαχωρισμού στερεού από το διάλυμα.
- Το αιώρημα προστίθεται σε κατάλληλο φυγοκεντρικό σωλήνα που τοποθετείται σε θέση στην περιστρεφόμενη κεφαλή της φυγόκεντρος και εκεί περιστρέφεται με πολλές στροφές.
- Το ίζημα «κολλά» στα τοιχώματα εξαιτίας της μεγάλης βαρυτικής δύναμης η οποία αναπτύσσεται.
- Το υπερκείμενο υγρό στη συνέχεια μπορεί να απομακρυνθεί εύκολα.
- Απαραίτητη προϋπόθεση είναι η αντιδιαμετρική τοποθέτηση στην περιστρεφόμενη κεφαλή σωλήνων με ακριβώς ίδιο βάρος ώστε η φυγόκεντρος να ισορροπεί.

## ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΟΣ





## ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟ ΟΡΑΤΟΥ - ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ

---

Μετρά την απορρόφηση ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας από διάλυμα ουσίας, με σκοπό τον ποιοτικό ή ποσοτικό προσδιορισμό της ουσίας αυτής.



# ΠΕΧΑΜΕΤΡΟ

---

Μετρά με ακρίβεια την ενεργότητα ιόντων  $H^+$  των υδατικών διαλυμάτων και άρα την οξύτητα των διαλυμάτων αυτών.



## ΑΝΑΔΕΥΤΗΡΑΣ VORTEX

---

Χρησιμεύει στην  
πλήρη ανάμιξη  
διαλυμάτων που  
βρίσκονται σε  
δοκιμαστικούς  
σωλήνες.



# ΥΔΑΤΟΛΟΥΤΡΟ

---

Χρησιμοποιείται για την επώαση διαλυμάτων σε συγκεκριμένη θερμοκρασία και για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα.



# ΑΝΑΛΥΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΣ ΖΥΓΟΣ

Χρησιμεύουν στη  
ζύγιση με ακρίβεια  
των αντιδραστηρίων.



# ΦΟΥΡΝΟΣ ΞΗΡΑΝΣΗΣ

---

Για την ξήρανση ουσιών



# ΣΚΕΥΗ ΣΥΧΝΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΑ ΣΕ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ

Σωληνάρια errendorf: Πλαστικά  
σωληνάκια όγκου 1,5-2 mL



Σωλήνες  
φυγοκέντρησης



Δοκιμαστικοί σωλήνες και στατώ  
δοκιμαστικών σωλήνων

Δοσομετρητής  
Προσαρμόζεται σε φιάλη με διάλυμα,  
ρυθμίζεται ο επιθυμητός όγκος και  
κατόπιν μεταφέρεται στο δοχείο  
αντίδρασης



file:///C:/Users/user/Downloads/456-SPILIOPOULOS-Chemistry-laboratory-exercises%20(1).pdf

Αυτόματες πιπέτες – Γυάλινα και πλαστικά  
σταγονόμετρα (πιπέτες Paster)



<https://repository.kallipos.gr/handle/11419/8585>





A. Φάση σταθερού κατεβάσματος του εμφόλου



B. Κατώτερο σημείο στάσης



Γ. Επαναφορά του εμφόλου και συγκράτηση του υγρού στο ρύγχος

<https://repository.kallipos.gr/handle/11419/8585>

**1**

**Προετοιμασία**

Κρατήστε το όργανο σε σχεδόν κάθετη θέση. Πιέστε ομαλά το έμβολο στη θέση πρώτου stop

**2**

**Εισροή υγρού**

Έχοντας πατημένο το έμβολο στο 10 stop, βυθίστε το άκρο του tip της πιπέτας στο υγρό. Αφήστε το έμβολο να ανέβει ομαλά στην αρχική θέση (rest position). Αναμονή 1 sec ώστε όλο το υγρό να ανέβει στο tip.

**3**

**Εκροή υγρού**

Τοποθετήστε το άκρο του tip της πιπέτας υπό γωνία (10 έως 45 μοιρών), στο εσωτερικό τοίχωμα του δοχείου υποδοχής. Πιέστε ομαλά το έμβολο στη θέση του δεύτερου stop. Περιμένετε 1 sec.

**4**

**Καθαρισμός**

Περιμένετε 1 sec και πατήστε πάλι το έμβολο στη θέση του 2ου stop. Έτσι απομακρύνεται τυχόν δείγμα που έχει απομείνει στο tip.

**5**

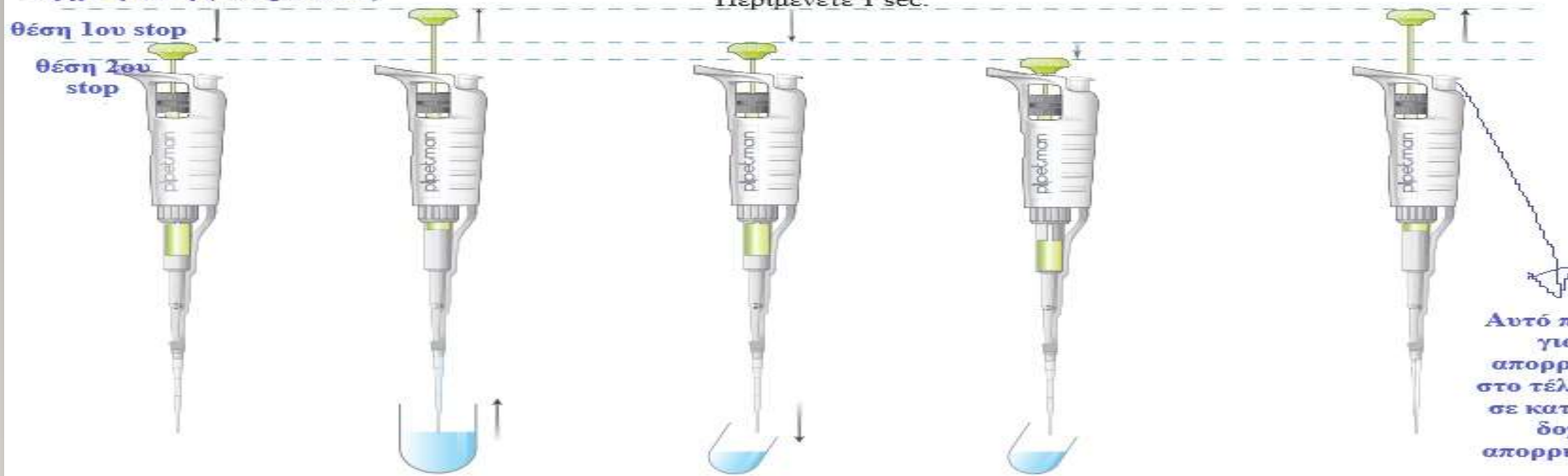
**Αρχική θέση**

Αφήστε το έμβολο να ανέβει στην αρχική θέση.

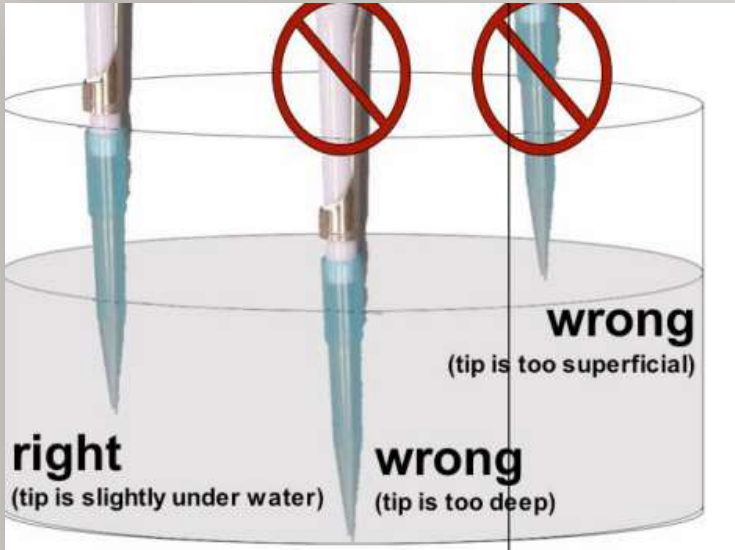
Αρχική θέση (rest position)

θέση 1ου stop

θέση 2ου stop



Αυτό πιέζουμε για να απορρίψουμε στο τέλος το tip σε κατάλληλο δοχείο απορριμμάτων




file:///C:/Users/user/Downloads/lab%20safety%20&%20pipetting.pdf

π.χ. ανάγνωσης

	P10	P20	P200	P1000
Volume Range (μL)	1-10	2-20	20-200 50-200 *	200-1000
	tens <b>0</b>	tens <b>1</b>	hundreds <b>1</b>	thousands <b>0</b>
	ones <b>4</b>	ones <b>7</b>	tens <b>5</b>	hundreds <b>8</b>
	tenths <b>7</b>	tenths <b>8</b>	ones <b>4</b>	tens <b>6</b>
	<b>4.7μl</b>	<b>17.8μl</b>	<b>154μl</b>	<b>860μl</b>

Pipette type	Volumes (μl)	Tip color
P10	0.1 – 10	white
P20	2 – 20	yellow
P200	20 – 200	yellow
P1000	200 – 1000	blue



### Περισσότερες πληροφορίες

- <https://www.youtube.com/watch?v=uuzY-EgbQZQ>
- <https://www.youtube.com/watch?v=Jfqafjt4q6U>



### **P1000:**

Η πρώτη κόκκινη ένδειξη είναι χιλιάδες  $\mu\text{L}$ , η μεσαία είναι εκατοντάδες και η τρίτη είναι δεκάδες. Επομένως, για όγκο  $1000 \mu\text{L}$  η ένδειξη θα ήταν 100 από πάνω προς τα κάτω (όπως φαίνεται στη δίπλα εικόνα), ενώ για όγκο  $650 \mu\text{L}$  θα ήταν 065.



### **P200:**

Η πρώτη ένδειξη είναι εκατοντάδες  $\mu\text{L}$ , η δεύτερη είναι δεκάδες και η τρίτη είναι ένα. Επομένως για όγκο  $100 \mu\text{L}$  η ένδειξη θα ήταν 100 από πάνω προς τα κάτω (όπως φαίνεται στη δίπλα εικόνα), ενώ για όγκο  $95 \mu\text{L}$  η ένδειξη θα ήταν 095.



### **P20:**

Η πρώτη ένδειξη είναι δεκάδες  $\mu\text{L}$ , η δεύτερη είναι ένα και η τρίτη (κόκκινη) είναι δέκατα. Επομένως για όγκο  $10 \mu\text{L}$  η ένδειξη θα ήταν 100 (όπως φαίνεται στη δίπλα εικόνα), ενώ για όγκο  $2,2 \mu\text{L}$  η ένδειξη θα ήταν 022.



### **P2:**

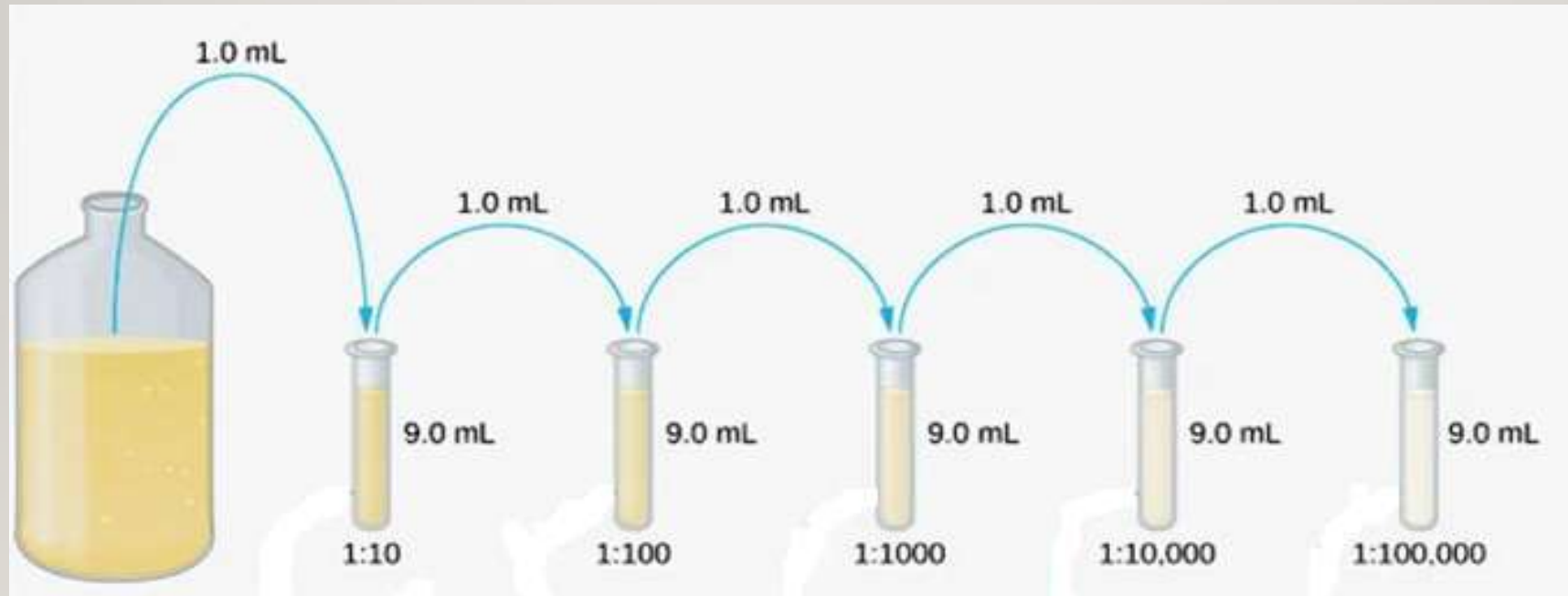
Η πρώτη ένδειξη είναι ένα του  $\mu\text{L}$ , η δεύτερη κόκκινη ένδειξη είναι δέκατα και η τρίτη (κόκκινη) ένδειξη είναι εκατοστά. Επομένως για όγκο  $1 \mu\text{L}$  η ένδειξη θα ήταν 100 (όπως φαίνεται στη δίπλα εικόνα), ενώ για όγκο  $0,5 \mu\text{L}$  η ένδειξη θα ήταν 050.

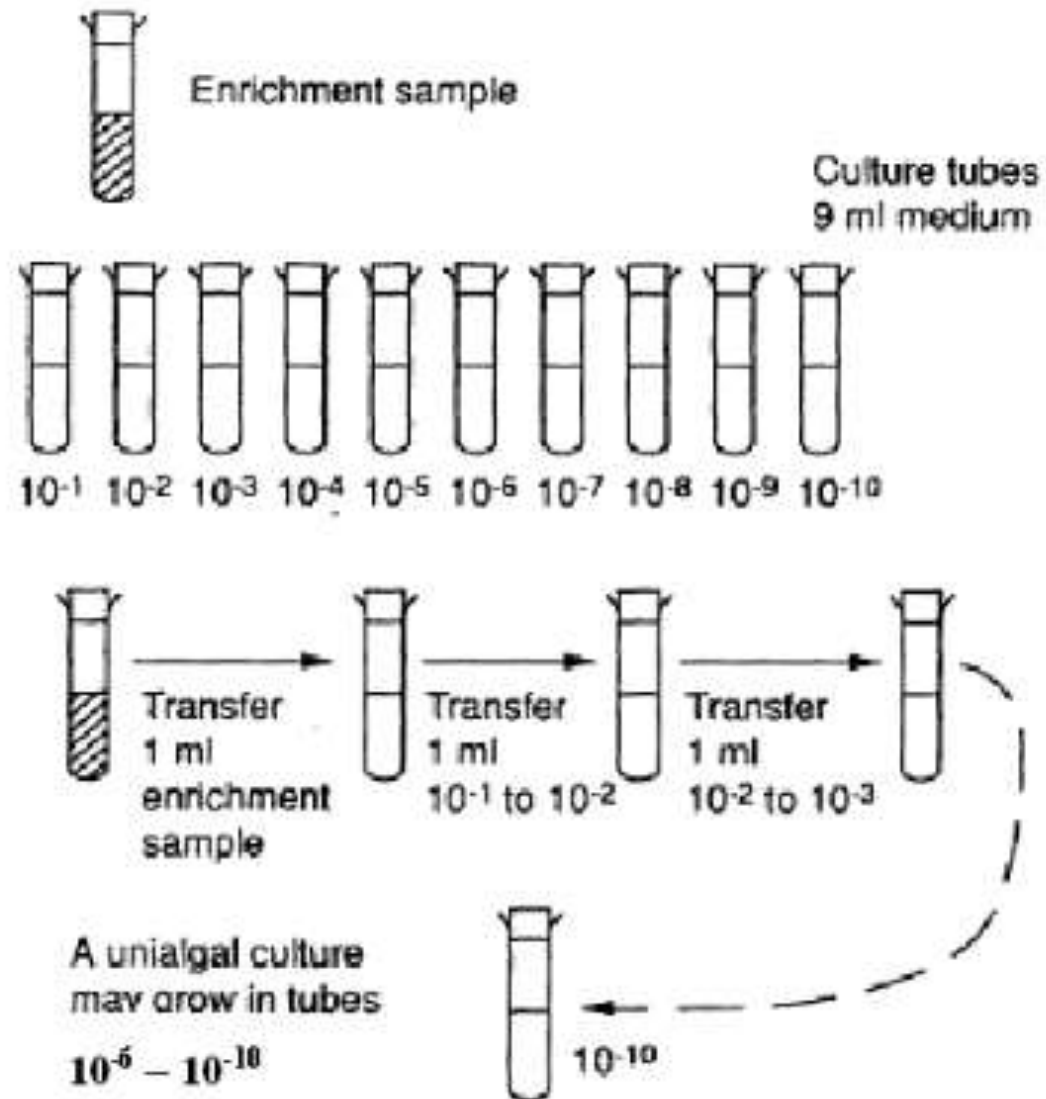
# ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ – ΔΙΑΔΟΧΙΚΕΣ ΑΡΑΙΩΣΕΙΣ

---

# ΔΙΑΔΟΧΙΚΕΣ ΑΡΑΙΩΣΕΙΣ

---





- Οι διαδοχικές αραιώσεις είναι σειρά αραιώσεων με τον συντελεστή αραιώσης να παραμένει ίδιος για κάθε βήμα
- Χρησιμοποιούνται συχνά για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ενός ενζύμου (ή μορίου) που πρόκειται να ποσοτικοποιηθεί σε μια δοκιμασία.
- Επιτρέπουν την αραιώση μικρών ποσοτήτων χωρίς σπατάλη μεγάλων ποσοτήτων υλικών. Είναι οικονομικές και εύκολες.



**Αραίωση = Όγκος που αραιώνεται/συνολικός όγκος**

**και DF Dilution Factor, παράγοντας αραίωσης**

**DF = συνολικός όγκος / όγκος που αραιώνεται**

Συνολικός όγκος (τελικός όγκος) = όγκος που αραιώνεται (αρχικός) + όγκος διαλύτη

**DF**= παράγοντας αραίωσης, μια τιμή χωρίς μονάδες που ορίζει πόσο αραιώνεται το stock διάλυμα

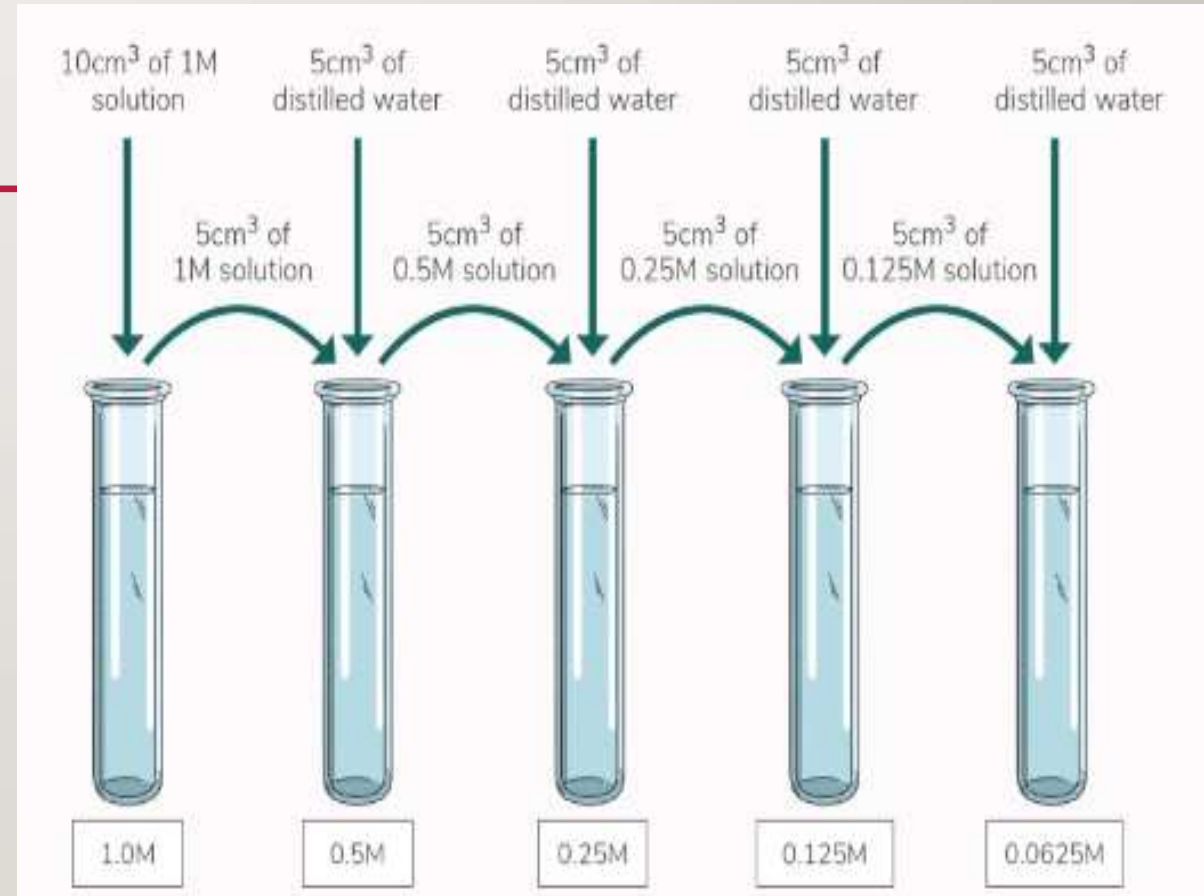


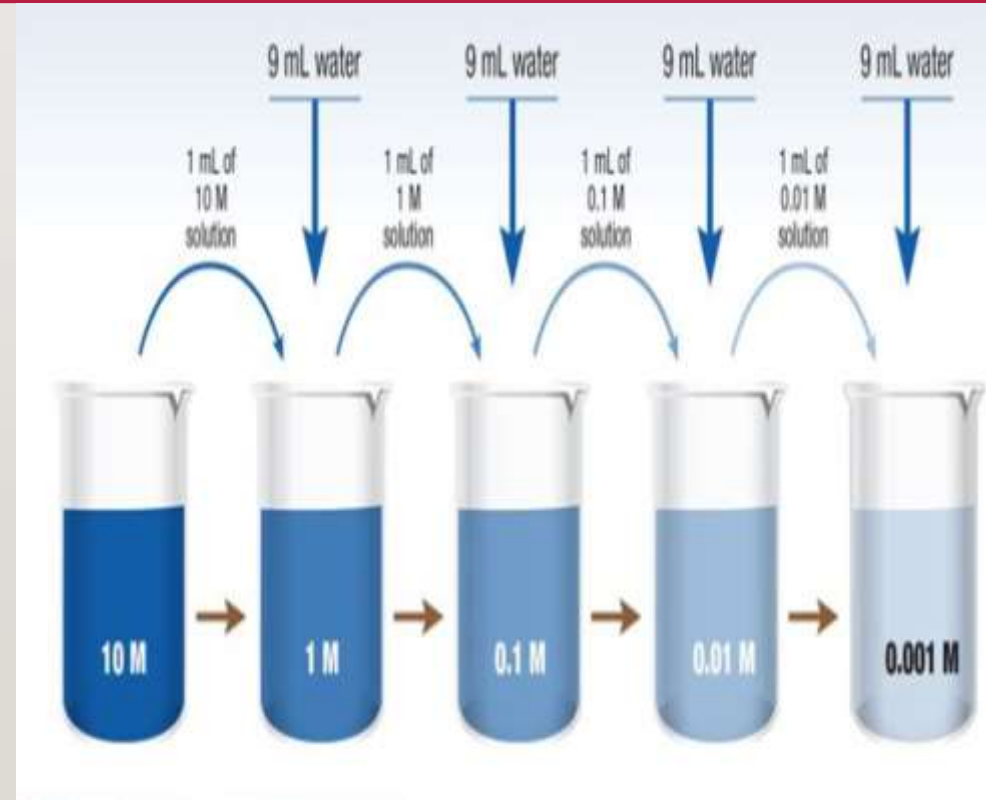
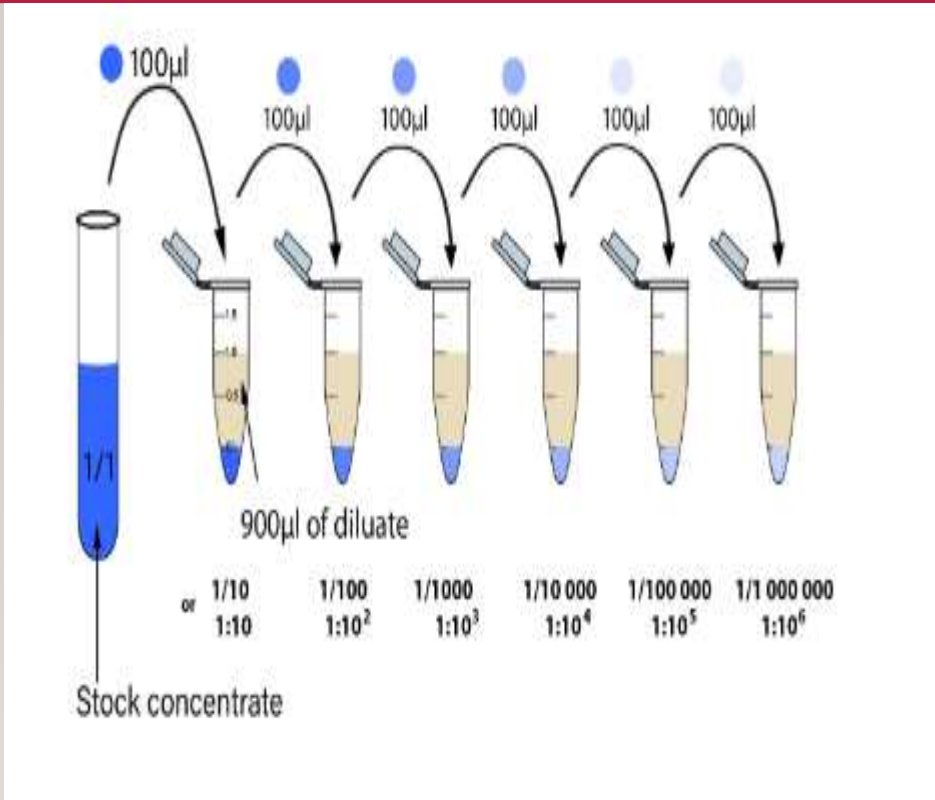
---

- Παράγοντας αραίωσης =  $5 \text{ mL} / 10 \text{ mL} = 1/2$   
σημαίνει πως το  $1.0 \text{ M}$  αραιώνεται ως εξής:  
 $1.0 \text{ M} \times (1/2) = 0,5 \text{ M}$

- Ο παράγοντας αραίωσης παραμένει ίδιος  
κάθε φορά για τις διαδοχικές αραιώσεις

Αυτό σημαίνει πως το πως  $2^{\circ}$  διάλυμα θα έχει  
συγκέντρωση:  $0,5 \text{ M} \times (1/2) = 0,25 \text{ M}$  κοκ





<https://knowledge.carolina.com/discipline/interdisciplinary/math/one-in-a-million-using-serial-dilutions-to-understand-concentration/>

## Συγκεντρώσεις και παράγοντας αραίωσης

---

Παράγοντας  
Συγκέντρωσης:  
αρχική συγκέντρωση  
τελική συγκέντρωση



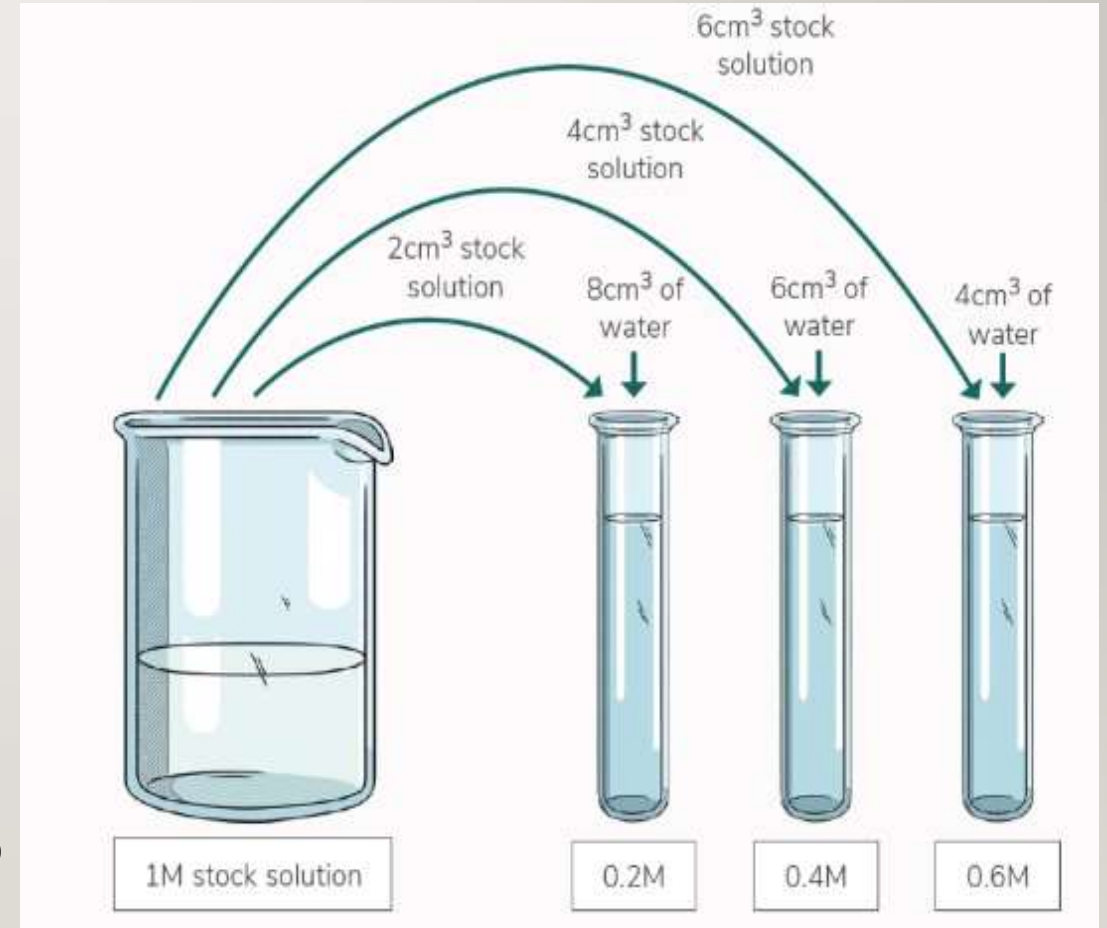
Παράγοντας αραίωσης (Π.Α.) =  
 $1/(\text{παράγοντας συγκέντρωσης})$

---

0,2 M (Π.Α. = 0,2/1)  $0,2 \times 10 = 2 \text{ mL} + 8 \text{ mL H}_2\text{O}$

0,4 M (Π.Α. = 0,4/1)  $0,4 \times 10 = 4 \text{ mL} + 6 \text{ mL H}_2\text{O}$

0,6 M (Π.Α. = 0,6/1)  $0,6 \times 10 = 6 \text{ mL} + 4 \text{ mL H}_2\text{O}$



# ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ

---

1. Ένας αναλυτής χρειάζεται 15 mL διαλύματος 0,5 g/L από stock διάλυμα 3 g/L. Κάντε τους υπολογισμούς βρίσκοντας τον συντελεστή αραίωσης.

## ΑΠΑΝΤΗΣΗ

Συντελεστής συγκέντρωσης =  $(3/0,5) = 6$

Συντελεστής αραίωσης =  $1/6$

Άρα  $15\text{mL} \times (1/6) = 2,5 \text{ mL}$  από το stock των 3g/L αραιώνονται ως τα 15 mL με d. H<sub>2</sub>O

- 
2. Ένας αναλυτής χρειάζεται 40 mL διαλύματος 0,4 M. Το stock που διαθέτει έχει συγκέντρωση 2,0 M. Υπολογίστε τον όγκο του stock διαλύματος και του d H<sub>2</sub>O που χρειάζονται για το διάλυμα

### ΑΠΑΝΤΗΣΗ

$$\text{Συντελεστής συγκέντρωσης} = (2,0/0,4) = 5$$

$$\text{Συντελεστής αραίωσης} = 1/5 = 0,2$$

40 mL x 0,2 = 8 mL χρειάζεται από stock συγκέντρωσης 2,0 M και αυτά να αραιωθούν με (40-8)=32 mL νερό για να κάνει 40 mL διαλ/τος 0,4 M

---

3. Σε κάθε στάδιο μιας διαδοχικής αραίωσης 4 mL διαλύματος αναμιγνύονται με 16 mL απεσταγμένου νερού. Υπολογίστε τον συντελεστή αραίωσης.

ΑΠΑΝΤΗΣΗ

Συνολικός όγκος διαλύματος  $(4 + 16) = 20$  mL

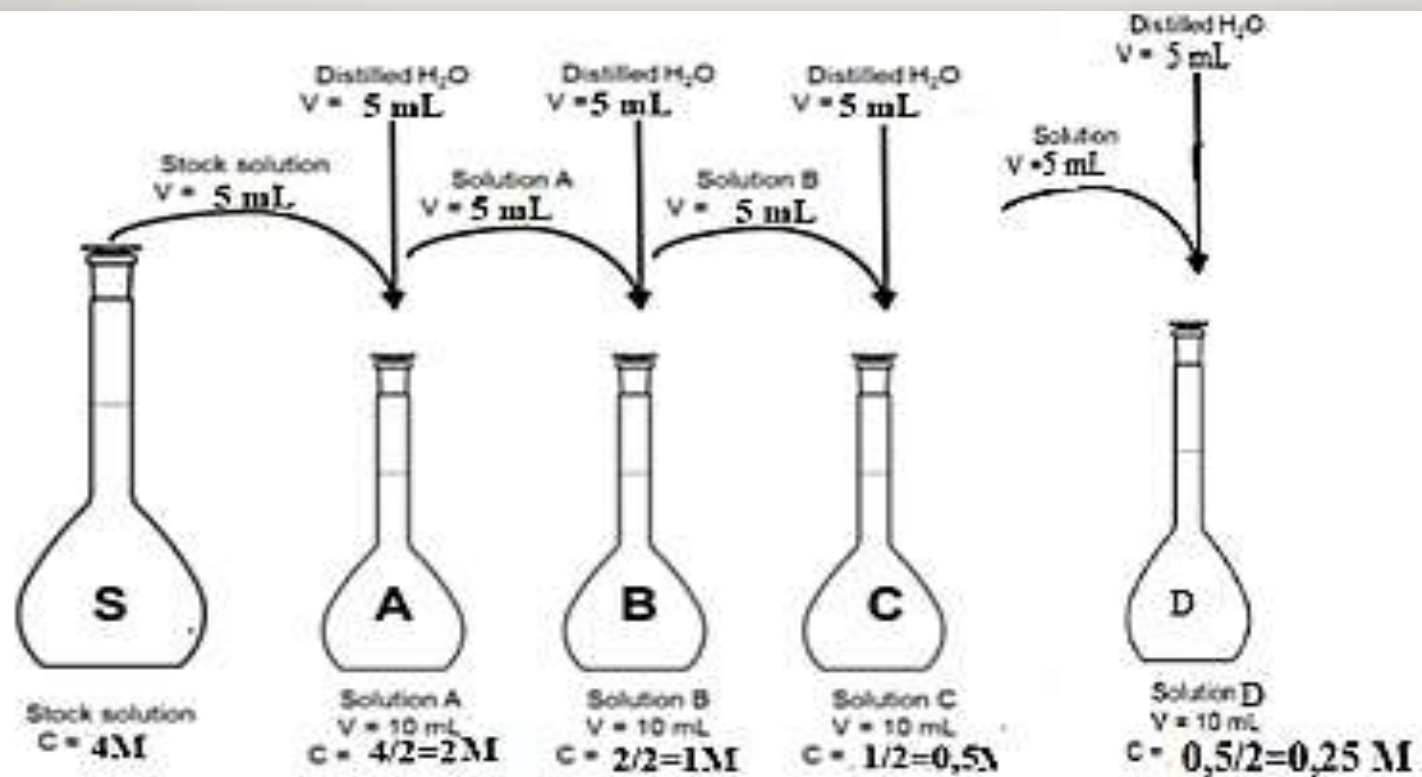
Συντελεστής αραίωσης  $= 20 / 4 = 5$

- 
4. Ένα stock διάλυμα έχει συγκέντρωση 4 M. Η μέθοδος διαδοχικής αραίωσης χρησιμοποιείται για να γίνουν τέσσερα διαλύματα που να έχουν αραίωση με συντελεστή 2 την κάθε φορά. Υπολογίστε τη συγκέντρωση του τελικού διαλύματος. Και κάντε τα διαλύματα.

ΑΠΑΝΤΗΣΗ

$$4 : 2 : 2 : 2 : 2 = 4 : 2^4 = 0,25 \text{ M}$$





---

# ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

---

---

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ- ΣΚΕΥΗ-ΟΡΓΑΝΑ

Stock διάλυμα γλυκόζης

Πιπέτα τύπου Gilson

Σιφώνι μετρήσεως 10 mL

Πουάρ

Ποτήρια ζέσεως

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Δημιουργήστε σειρά αραιώσεων διαλύματος γλυκόζης. Κάντε από το αρχικό διάλυμα γλυκόζης που θα σας δοθεί μια αραιώση 1 προς 10 και στη συνέχεια χρησιμοποιήστε τη για να κάνετε μια αραιώση 1 προς 100 και μια αραιώση 1 προς 1000 του αρχικού διαλύματος. Δείξτε τους υπολογισμούς στους υπεύθυνους του Εργαστηρίου και στη συνέχεια προχωρήστε στην παρασκευή των διαλυμάτων.

# ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

---

- «Πειραματική Βιοχημεία» Τράπαλη, Μαρία, Καρίκας, Γεώργιος Αλβέρτος, Καρκαλούσος, Πέτρος, Φούντζουλα, Χριστίνα <https://repository.kallipos.gr/handle/11419/8585#comments>
- ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΕΝΙΚΗΣ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ Σπηλιόπουλος, Ιωακείμ, Βάκρος, Ιωάννης, Ξαπλαντέρη, Μαρία <https://repository.kallipos.gr/handle/11419/917>
- <https://twinklsecondary.blog/products-of-a-dilution-series-a-level-biology-revision/>
- <https://research.csiro.au/anaccmethods/culture-handling/microalgal-isolation-techniques/serial-dilution/>
- [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Biotechnology/Lab\\_Manual%3A\\_Introduction\\_to\\_Biotechnology/01%3A\\_Techniques/1.08%3A\\_Serial\\_Dilutions\\_and\\_Standard\\_Curve](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Biotechnology/Lab_Manual%3A_Introduction_to_Biotechnology/01%3A_Techniques/1.08%3A_Serial_Dilutions_and_Standard_Curve)
- [file:///C:/Users/user/Downloads/lab%20safety%20&%20pipetting%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/user/Downloads/lab%20safety%20&%20pipetting%20(1).pdf)
- <https://www.gilson.com/pub/media/docs/GuideToPipettingE.pdf>