

Laboratoriumstechnieken

Theorie

Lesgever: dr. ir. Heidi Van Limbergen

**HO
GENT**

Inhoud

1	Inleiding	9
2	Basisregels voor goede laboratoriumpraktijk.....	10
2.1	Houding in het labo	10
2.2	Persoonlijke bescherming.....	10
2.3	Orde en netheid.....	11
2.4	Milieubewustzijn	11
2.5	Incidenten	11
2.6	Taakanalyse en risicoanalyse.....	11
3	Algemene richtlijnen bij brand.....	12
3.1	Eerste stappen bij brand.....	12
3.2	Evacueren en geven van de nodige informatie	13
3.3	Nuttige informatie.....	13
3.3.1	Blusapparaten	13
3.3.2	Procedure voor het blussen	15
4	Algemene beschermingsmiddelen.....	16
4.1	Collectieve beschermingsmiddelen	16
4.1.1	Trekkasten of zuurkasten	16
4.1.2	Bioveiligheidskasten, microbiologische veiligheidskast, flow bench.....	16
4.1.3	Veiligheidsteken of pictogrammen	19
4.2	Persoonlijke beschermingsmiddelen (PBM)	21
4.2.1	Laboratoriumjas	22
4.2.2	Veiligheidsbril.....	22
4.2.3	Handschoenen	23
4.2.4	Mond- en gelaatmasker	24
5	Chemicaliën.....	24
5.1	Giftigheid.....	25
5.1.1	Ademvergiften.....	25
5.1.2	Huidvergiften	25
5.1.3	Orale vergiften.....	26
5.2	Kankerverwekkende, mutagene en reprotoxische chemicaliën (CMR)	26
5.2.1	Kankerverwekkende chemicaliën.....	27
5.2.2	Mutagene chemicaliën.....	27
5.2.3	Reprotoxische chemicaliën.....	27
5.2.4	Extra veiligheidsmaatregelen	27
5.2.5	DNA/RNA-kleurstoffen: ethidiumbromide en analogen	28
5.3	Radioactieve stoffen	29

5.4	Begrippen die de schadelijkheid aangeven.....	30
5.4.1	Maximale aanvaarde concentratie (MAC), Threshold Limit Value (TLV)	30
6	Informatie rond chemicaliën	32
6.1	Etiket.....	32
6.1.1	Algemeen	32
6.1.2	(Nieuwe) etikettering voor gevaarlijke stoffen	33
6.1.3	Gevarendiamant	38
6.1.4	Voorbeelden van etiketten.....	39
6.2	Veiligheidsinformatiebladen	40
6.3	Wandkaarten	42
6.4	Chemiekaartenboek	42
7	Opslag van chemicaliën	42
7.1	Risicobeheersing.....	42
7.2	Richtlijnen voor de opslag van chemicaliën.....	43
7.2.1	Brandgevaarlijke stoffen	43
7.2.2	Toxische stoffen	44
7.2.3	Oxiderende stoffen	44
7.2.4	Corrosief/bijtende stoffen.....	44
7.2.5	Schadelijke stoffen	44
7.2.6	Milieuschadelijk	44
7.2.7	Bijzondere categorieën risicovolle stoffen.....	44
7.3	Incompatibiliteiten tussen chemische stoffen.....	46
7.3.1	Brand	46
7.3.2	Explosie.....	46
7.3.3	Intoxicatie, chemische brandwonden	46
7.3.4	Milieuverontreiniging.....	46
7.3.5	Gevaarlijke combinaties	46
7.4	Bijkomende opmerkingen.....	47
8	Afvoer van chemicaliën	48
8.1	Flowchart voor vloeibare afvalstoffen.....	48
8.1.1	Algemeen	48
8.1.2	Flowchart gebruikt in Hogent voor de inzameling van vloeibare laboratorium afvalstoffen.....	49
9	Werken met biologische agentia	52
9.1	Indeling in risicoklassen en risicoanalyse	52
9.1.1	De risicoanalyse voor GGO's is een driestapsproces.....	53
9.2	Types van inperking	54

9.3	Veilig werken met GGO's en pathogenen.....	54
9.4	Veilige microbiologische technieken	55
9.5	Decontaminatie	56
9.5.1	Definities	56
9.5.2	Overzicht van de eigenschappen van de belangrijkste desinfectantia.....	56
9.5.3	Keuze van een ontsmettingsmiddel.....	56
9.6	Biologisch en medisch afval.....	57
10	Basis laboratoriummateriaal.....	58
10.1	Water.....	58
10.2	Glaswerk	59
10.2.1	Gebruik van glaswerk.....	59
10.2.2	Gewoon Glaswerk	59
10.2.3	Maatglaswerk	62
10.2.4	Slijpglaswerk.....	63
10.2.5	Algemene veiligheid	67
10.2.6	Verwarmen van glaswerk.....	67
10.2.7	Onderhoud van laboratoriumglaswerk.....	68
10.2.8	Glasbewerking in het labo (gaan we niet toepassen)	68
10.2.9	Bewerken van kurken en rubberen stoppen	70
10.3	Machines, hulpmiddelen en apparatuur	71
10.3.1	Statief en toebehoren.....	71
10.3.2	Allerhande labomateriaal	72
	74
10.3.3	Toestellen in het labo	75
10.3.4	Pipetteerhulpen.....	76
10.4	Opwarmen.....	77
10.4.1	Branders	77
10.4.2	De vlinderbrander.....	78
10.4.3	Verwarmingsplaat	79
10.4.4	Verwarmingsmantel	79
10.4.5	Waterbad	79
10.4.6	Droogstoof.....	80
10.4.7	Moffeloven	80
10.4.8	Verwarmen onder reflux	81
10.5	Koelen.....	82
10.5.1	Ijsbad	82
10.5.2	Vast CO ₂ – droog ijs.....	82

10.5.3	Vloeibare stikstof	82
11	Chemische methodieken	83
11.1	Filtreren.....	83
11.1.1	Soorten filters	83
11.1.2	Methode.....	84
11.1.3	Membraanfilter.....	84
11.1.4	Filterkroes.....	85
11.1.5	Spuitfilter.....	85
11.1.6	Filtreren onder verminderde druk	85
11.2	Afwegen.....	86
11.3	Overbrengen van de chemicaliën in een maatkolf.....	87
11.3.1	Overbrengen van vloeistoffen	87
11.3.2	Overbrengen van goed oplosbare vaste stoffen.....	87
11.3.3	Overbrengen van moeilijk oplosbare vaste stoffen	89
11.4	Pipetteren	89
11.4.1	Maatpipet, volpipet.....	89
11.4.2	Ijken van een pipet.....	90
11.4.3	Gebruik van een pipet	90
11.4.4	Semiautomatische pipetten of micropipetten	92
11.4.5	Gebruik van een micropipet	92
11.5	Titreeren.....	93
11.5.1	Buret.....	94
11.5.2	Zuigerburet	95
11.6	Extraheren	96
11.6.1	Vaste stof – vloeistof en vloeistof – vloeistof extractie	96
11.6.2	Efficiëntie van de extractie.....	96
11.6.3	Techniek van een eenvoudige extractie.....	96
11.6.4	Soxhlet extractie	98
11.7	Destilleren	98
11.7.1	Gewone destillatie	98
11.7.2	Gefractioneerde destillatie.....	99
11.7.3	Stoomdestillatie.....	100
11.7.4	Vacuümdestillatie.....	101
11.8	Concentratietechnieken.....	102
11.8.1	Rotavapor	102
11.8.2	Speedvac (universele sneldroger).....	103
11.8.3	Vriesdrogen (lyofiliseren)	103

12	Microbiologische methodieken	104
12.1	sterilisatietechnieken	104
12.1.1	Hittebehandeling	104
12.1.2	Filtratie	105
12.1.3	Desinfectantia	105
12.2	Werken met micro-organismen.....	105
12.2.1	Materiaal.....	105
12.2.2	Recipiënten.....	106
12.2.3	(Kweek)media	106
12.2.4	Factoren die de groei van bacteriën beïnvloeden	110
12.3	Basistechnieken microbiologie	113
12.3.1	Bereiding van voedingsmedia	113
12.3.2	Beënten (of inoculeren).....	114
12.3.3	Incuberen	117
12.3.4	Micro-organismen bewaren.....	117
12.4	Bepaling van het aantal micro-organismen volgens de uitplatingsmethode van Koch (telplaatmethode)	118
12.4.1	Aanleggen van een verdunningsreeks	118
12.4.2	De overgang van vast naar vloeibaar in het geval van een vast monster	119
12.4.3	Het principe van de decimale verdunningsreeks	119
12.4.4	De telplaatmethode.....	120
12.4.5	Factoren die de reproduceerbaarheid van de plaatmethode beïnvloeden.....	121
12.5	Koloniekenmerken	122
12.6	Microscopie.....	123
12.6.1	De lichtmicroscop	124
12.6.2	Kleuringsmethoden	128
13	Voorbereiding van een labo-oefening, notitie nemen, verslaggeving.....	131
13.1	De voorbereiding van een bepaling	131
13.2	Noteren tijdens het labo: laboschrift	131
14	Fouten en nauwkeurigheid	132
14.1	Soorten fouten	132
14.1.1	Blunders	132
14.1.2	Systematische fouten.....	133
14.1.3	Fouten door onnauwkeurigheid in het materiaal of de uitvoerder	133
14.2	Absolute en relatieve fouten	134
14.2.1	Absolute fout	134
14.2.2	Relatieve fout, procentuele fout	134

14.2.3	Regels bij bewerkingen	134
14.2.4	Het afronden van grootheden	136
14.2.5	Oefeningen foutentheorie	136
15	Verwerken van meetresultaten	137
15.1	Uitdrukking van de nauwkeurigheid in cijfers.....	137
15.2	Beduidende cijfers (minder nauwkeurig dan AF en RF).....	138
15.3	Het afronden bij berekeningen.....	139
15.4	Het maken van gemiddelden – range – mediaan	140
15.5	Foutenrange.....	140
15.6	Betrouwbaarheid van een meting.....	142
15.6.1	Accuraatheid.....	142
15.6.2	Precisie	142
15.6.3	Reproduceerbaarheid.....	142
15.6.4	Juistheid.....	142
15.7	Rapporteren van numerieke gegevens	143
16	Kalibratietechnieken.....	143
16.1	Ijklijnmethode of standaardreëksmethode.....	145
16.2	Interne standaardmethode	146
16.3	Standaardadditiemethode	146
16.4	Foutenanalyse van een kalibratiecurve	148
16.5	Oefeningen	149
16.6	Indicatieve methode	151
17	Chemisch rekenen	152
17.1	Mol als eenheid in de chemie.....	152
17.1.1	Begrip mol.....	152
17.1.2	Molaire massa (M)	152
17.1.3	Molair volume	152
17.1.4	Concentratie (mol/l of molair (M))	152
17.2	Stoichiometrie	152
17.3	Oefeningen	153
17.4	Verhoudingsgetallen of concentraties.....	154
17.4.1	procent: aantal delen per 100 delen.....	154
17.4.2	promille: aantal delen per 1000 delen	154
17.4.3	ppm en ppb	154
17.4.4	Oplossingen.....	154
17.4.5	Dichtheid,molfractie, molariteit, normaliteit en molaliteit van mengsels.....	155
17.4.6	Verduunningen	155

17.4.7	Oefeningen	157
18	pH en buffers	157
18.1	pH van een sterk zuur, een sterke base, een verdunning, een mengsel van sterke zuren en basen.	157
18.1.1	Oefeningen	157
18.2	pH berekening van zwakke zuren en zwakke basen	158
18.2.1	Oefeningen	159
18.3	Buffers.....	159
18.3.1	Definitie.....	159
18.3.2	Buffergebied.....	161
18.3.3	Bufferend vermogen.....	161
19	Kwantitatieve chemie	162
19.1	Volumetrie - titratie.....	162
19.2	Acidimetrie – alkalimetrie (zuur-base titratie).....	163
19.2.1	Zuur-base indicatoren.....	163
19.2.2	Potentiometrische titratie.....	164
19.3	Neerslagreacties	167
19.3.1	Rekenvoorbeeld.....	167
19.3.2	Oefeningen	168
19.4	Oxidimetrie of redoxtitratie	168
19.4.1	Herhaling opstellen halfreactie.....	168
19.4.2	Voorbeeld 1	168
19.4.3	Voorbeeld 2	169
19.4.4	Oefening	170
19.4.5	Jodometrie	170
19.4.6	Vraagstukken oxidimetrie	172
20	Accreditatie van laboratoria	172
20.1	Inleiding	172
20.2	Accreditatie: wat?	173
20.3	Accreditatie: waarom?	173
20.4	Accreditatie in België: hoe?.....	174
20.5	Accreditatie op internationaal vlak: hoe?.....	174
20.6	Basisvereisten voor accreditatie.....	175
20.7	Het accreditatieproces	175
20.8	Accreditatie van laboratoria in 2015.....	177
21	Bronnen	178

Laboratoriumtechnieken

1 Inleiding

Werken in een chemisch of (micro)biologisch laboratorium houdt risico's in. Het is belangrijk dat je deze risico's kan inschatten en deze kan minimaliseren.

In laboratoria gelden volgende wetgevingen:

- Milieuwetgeving: Vlaamse aangelegenheid www.emis.vito.be
- Welzijnswetgeving, alles met betrekking tot veiligheid en preventie (federaal niveau): www.werk.belgie.be
- Bioveiligheid (omgaan met ggo en pathogenen) www.biosafety.be

Wat de wetgeving voor de gebruiker betreft, zijn er, naast de wet van 4 augustus 1996, waarin de preventiebeginselen en het begrip risicoanalyse vastgesteld worden voor elke arbeidssituatie, nog een groot aantal uitvoerende koninklijke besluiten die bepaalde verplichtingen opleggen voor het gebruik van chemische stoffen in het kader van de beroepsuitoefening. Hieronder de belangrijkste wetgevende teksten die van toepassing zijn:

- het KB van 11 maart 2002 betreffende de bescherming van de gezondheid en de veiligheid van de werknemers tegen de risico's van chemische agentia op het werk – aangevuld bij KB van 20 februari 2002 wat de kankerverwekkende en mutagene agentia betreft;
- het KB van 28 mei 2003 betreffende het gezondheidstoezicht op de werknemers;
- het KB van 13 juni 2005 betreffende het gebruik van persoonlijke beschermingsmiddelen (PBM's);
- het KB van 25 januari 2001 betreffende de tijdelijke of mobiele bouwplaatsen.

Overeenkomstig de hiërarchie van de preventiebeginselen gaat de voorkeur, na beoordeling van het risico en na het uitschakelen van de risico's die vermeden kunnen worden, naar collectieve beschermingsmaatregelen, waarbij de nadruk gelegd wordt op een weldoordachte organisatie van het werk. Persoonlijke beschermingsmiddelen (PBM's) worden gebruikt als aanvulling op de collectieve maatregelen. Ze worden gratis verstrekt en onderhouden door de werkgever.

Het voorbereiden van en opstellen van een risicoanalyse bij een labo-oefening is heel belangrijk. Door het volgen en respecteren van een aantal basisrichtlijnen worden de risico's die gepaard gaan met bepaalde processen weggenomen, zodat een relatief veilige werkomgeving wordt gecreëerd.

Vanaf 2008 is er de invoering van het 'global harmonised system', het GHS, of voor Europa het 'classification, labelling and packaging of dangerous substances and mixtures', kortweg het CLP, dat leidde tot de uniformisering van gevaren en risico's die gepaard gaan met het gebruik en transport van chemische en biologische producten. Daarnaast bestaat er nog een document met 'goede laboratoriumpraktijken' voor de studenten (dienst milieu en preventie, HOGENT). Er wordt van de studenten verwacht dat ze de betekenis van de pictogrammen en de regelgeving binnen de CLP kennen, alsook dat ze zich in een laboratorium gedragen met een zekere houding

die veilig werken met zowel chemische als biologische risicohoudende stoffen als met oog voor veiligheid van zichzelf en de andere personen in het labo, garandeert. Ook de kennis van afvalverwerking en opslag van gevaarlijke producten zijn belangrijk voor een goede laboratoriumpraktijk.

Verder handelt de cursus laboratoriumtechnieken over de routine laboratorium handelingen, het verwerven en interpreteren van data, het bijhouden en voorbereiden van een experiment of procedure, stoichiometrische berekeningen.

Er wordt een algemeen overzicht gegeven van het laboratoriummateriaal, de nauwkeurigheid ervan en de manier waarop het moet worden gebruikt.

Daarnaast zullen labo-oefeningen worden georganiseerd. De voorbereiding ervan, de bekomen resultaten en de fout op de resultaten moet worden ingeschat.

2 Basisregels voor goede laboratoriumpraktijk

Op Chamilo staat een uitgebreid document voor goede laboratoriumpraktijk. Hieronder staan nog enkele basisprincipes weergegeven.

2.1 Houding in het labo

- Wees steeds bewust van de potentiële gevaren in een laboratorium of in een werkplaats
- Voer bij nieuwe experimenten steeds een taakanalyse uit, eventueel gevolgd door een risicoanalyse.
- Ga nooit in een labo zonder verantwoordelijk docent. Laat een experiment nooit ongecontroleerd achter
- Voer een experiment, waaraan risico's verbonden zijn, nooit alleen uit
- Zorg ervoor dat je, voor aanvang van de experimenten, op de hoogte bent van de eigenschappen (o.a. gevarensymbolen) van de stoffen waarmee je werkt
- Werk zo veilig mogelijk bij alle chemische manipulaties
- Voorzie recipiënten met chemicaliën met een gepast etiket
- Hou rekening met specifieke richtlijnen voor microbiologische, biochemische en moleculair-biologische experimenten

2.2 Persoonlijke bescherming

- Eten, drinken en roken zijn verboden in het labo
- Draag steeds de geschikte labojas (chemisch: polyester-katoen zuurbestendig / microbiologisch: 100% katoen brandveilig), lang met lange mouwen om je kleren te beschermen
- Draag altijd een veiligheidsbril bij het uitvoeren van experimenten en opkuisen van chemische producten
- Zorg ervoor dat de haren worden samengehouden
- Draag geen nylon kledingstukken
- Draag gesloten schoenen
- Maak gebruik van handschoenen indien veiligheidsinstructies dit vereisen
- Was steeds je handen bij verlaten van het lokaal
- Werk in zuurkast/trekast indien veiligheidsinstructies dit vereisen