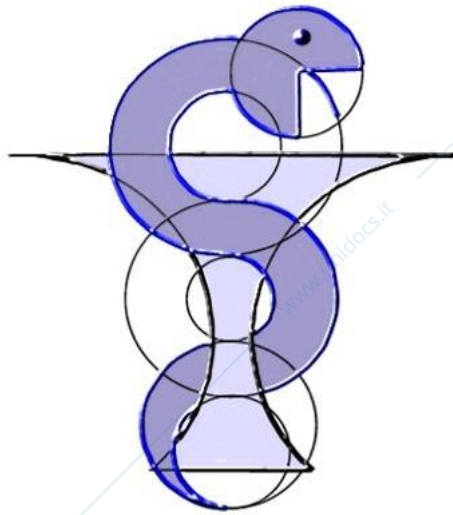


StuDocu.com

Dispensa completa - Analisi dei medicinali - a.a. 2015/2016

Analisi dei medicinali (Università degli Studi di Firenze)

Corso di
ANALISI DEI FARMACI I



LEZIONI

Fabrizio Melani

Via U.Schiff 6 Sesto Fiorentino
(Polo Scientifico)

 **0554573703**
 **fabrizio.melani@unifi.it**

Ringrazio il dot. PASQUALE LACRIMINI per l'insostituibile contributo nella correzione di questi appunti e nella conduzione delle esercitazioni pratiche.

Testi consigliati:

- Skoog, West, Holler: *Fondamenti di Chimica Analitica*, (EdiSes- Napoli).
- Porretta: *Analisi Quantitativa di composti farmaceutici*, (CISU - Roma).
- Harris: *Chimica Analitica Quantitativa*, (Zanichelli - Bologna).

Presentazione del corso, appunti delle lezioni e esercitazioni

Diapositive delle lezioni

Risultati delle esercitazioni di laboratorio



<http://e-l.unifi.it>

Prenotazione esami

<http://sol.unifi.it/prenot/prenot>

NORME GENERALI SUL COMPORTAMENTO IN LABORATORIO

- L'analista nell'intraprendere un'analisi deve essere in possesso dell'attrezzatura necessaria, dei vari reattivi e controllare che ogni cosa sia a posto e rispondente allo scopo prefisso.
- La pulizia del banco e delle varie apparecchiature, l'ordine e l'accuratezza nei singoli dettagli preparativi ed operativi costituiscono il presupposto necessario per un lavoro analitico quantitativo corretto; un banco disordinato con vetrerie sporche ed inefficienti costituisce un indizio eloquente di una tecnica operativa scadente, che porterà ad ottenere risultati sicuramente non corretti.
- E' assolutamente necessario che l'analista nell'iniziare un qualunque lavoro, abbia una conoscenza completa del procedimento da impiegare in modo possa convenientemente distribuire il proprio tempo e far procedere più operazioni contemporaneamente.
- L'analista dovrà porre particolare attenzione alla natura dei materiali delle attrezzature impiegate, alla loro efficienza e pulizia e all'uso delle sostanze chimiche, da impiegare come reattivi, per non incorrere in errori grossolani che possono incidere notevolmente sui risultati finali.

NORME GENERALI sul COMPORTAMENTO nel LABORATORIO DIDATTICO

Prendere conoscenza di come è strutturato il laboratorio

- Porte di ingresso ed uscita
- Sistemi di allarme e sicurezza
- Vie di fuga
- Posizione di estintori, coperte ignifughe, docce di sicurezza, cassette di pronto soccorso

In laboratorio durante lo svolgimento dell'esercitazione

- Indossare sempre il camice (di cotone)
- Indossare sempre gli occhiali a norma o schermi di sicurezza
- Tenere sempre i capelli legati in caso di fiamme accese
- Attenzione alle fiamme libere, chiudere sempre l'erogazione del gas della propria postazione
- Non mangiare, bere, fumare
- Non correre
- Evitare situazioni di rischio per sé e per gli altri
- Non tenere sgabelli o materiale ingombrante tra i banchi
- Prendere visione della distribuzione dei reagenti
- Arrivare in laboratorio preparati allo svolgimento dell'esercitazione
 - *E' assolutamente necessario che l'analista nell'iniziare un qualunque lavoro, abbia una conoscenza completa del procedimento da impiegare in modo possa convenientemente distribuire il proprio tempo e far procedere più operazioni contemporaneamente.*
- Evitare il contatto con solventi organici e non respirarne i vapori
- Quando si lavora sotto cappa, tenerla chiusa servendosi delle apposite aperture per le manipolazioni al suo interno. Prestare particolare attenzione quando la cappa è occupata da più persone
- Usare gli appositi recipienti per lo smaltimento di:
 1. soluzioni acide
 2. soluzioni basiche
 3. solventi
 4. vetro
 5. materiale contaminato
- non versare nel lavandino sostanze senza conoscerne l'impatto ambientale
- tenere pulito e sgombro il banco di lavoro
 - *La pulizia del banco e delle varie apparecchiature, l'ordine e l'accuratezza nei singoli dettagli preparativi ed operativi costituiscono il presupposto necessario per un lavoro analitico quantitativo corretto; un banco disordinato con vetrerie sporche ed inefficienti costituisce un indizio eloquente di una tecnica operativa scadente, che porterà ad ottenere risultati sicuramente non corretti.*

Prima parte : INTRODUZIONE all'ANALISI QUANTITATIVA

STRUMENTI E OPERAZIONI NELL'ANALISI QUANTITATIVA

BILANCE

Nel gergo corrente si è soliti dividere le bilance in due gruppi: le *bilance analitiche* e le *bilance tecniche*. Dal punto di vista del principio meccanico su cui si basano (vedi avanti) non c'è differenza, i due gruppi di bilance differiscono invece sulla sensibilità: le bilance analitiche sono capaci di apprezzare una massa uguale o inferiore a 0.1 mg ed hanno capacità di pesate limitate (massimo 200g) mentre le bilance tecniche apprezzano masse superiori a 10 mg ma hanno grandi capacità di pesata (2kg e oltre).

La bilancia analitica è lo strumento fondamentale necessario ed indispensabile per qualunque determinazione analitica.

Gli stessi metodi analitici debbono essere controllati e verificati pesando quantità note di sostanze pure.

MASSA E PESO - I termini di massa e di peso, per quanto nell'uso comune siano scambievolmente impiegati, hanno un differente significato. La massa di un oggetto indica la sua quantità di materia. La quantità di massa è valutata rispetto ad una massa campione costituita da una lega di platino iridio conservata a Parigi.

L'unità di massa è il grammo (g) che corrisponde ad un millesimo della massa campione; la massa campione, 1000 g., è quindi il kilogrammo (Kg).

Il peso di un corpo è il valore della forza che applicata alla massa del corpo gli imprime un'accelerazione pari all'accelerazione di gravità. ($P = mg$); esso viene pertanto espresso in unità di forza (dine). Il peso è quindi una forza e talvolta è chiamato "forza-peso" (in quanto $P \propto m$).

Sulla Terra il termine peso è tuttavia impiegato al posto di quello di massa in quanto il metodo impiegato per determinare la massa di un oggetto consiste, comunemente, nel paragonare il peso di un oggetto col peso di una massa di valore noto.

Tipi di bilance

Bilancia meccanica a due bracci uguali

Si tratta di una bilancia il cui uso in chimica analitica è attualmente completamente scomparso data la lentezza nella pesata.

La figura 1 mostra uno schema di una bilancia a due bracci uguali.

Il funzionamento di questa bilancia è semplice: la massa di un campione che viene posto in un piattello è comparata con la massa di una serie di oggetti la cui massa è rigorosamente nota (chiamati *pesi*) posti nell'altro piattello ricercando, per tutti i modi di pesata (pesata diretta o pesata con tara), una condizione di equilibrio.

L'equilibrio è raggiunto quando il *puntale* smette di oscillare (o l'ampiezza delle oscillazioni è minima) rimanendo all'interno della scala graduata.

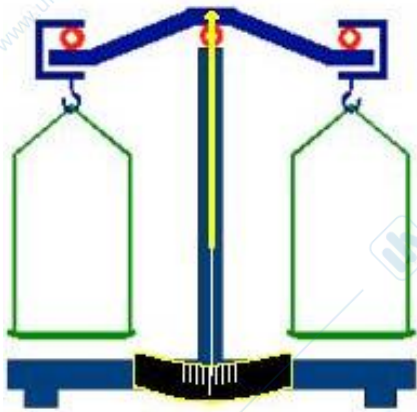


Fig. 1 Bilancia a braccia uguali

Bilancia meccanica a singolo braccio (a due bracci disuguali)

E' un tipo di bilancia che grazie alla sua facilità d'uso è tuttora usata.

La figura 2 mostra uno schema di bilancia a singolo braccio.

In realtà, come mostra la figura si tratta di due bracci disuguali di cui uno solo è accessibile dall'operatore. In questa bilancia i pesi sono già al suo interno e sono tolti o aggiunti dall'operatore attraverso opportune manopole.

La pesata avviene con il metodo della tara in quanto i pesi "condividono" lo stesso piatto dove è presente la sostanza da pesare (vedi avanti).

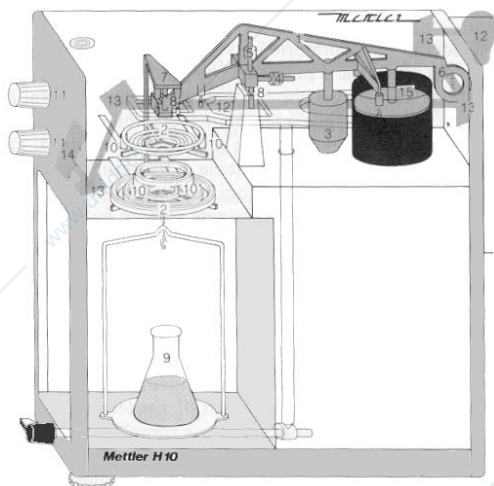


Fig. 2. Bilancia a braccio singolo

Bilancia elettronica

La bilancia elettronica misura non la massa di un oggetto, ma la forza-peso.

Sul pianeta Terra in base alle convenzioni stipulate massa e forza-peso (o semplicemente peso) coincidono, ma tale convenzione non avrebbe significato su un altro pianeta dove la forza di gravità ha un valore diverso.

E' costituita da un unico piattello (fig.3a) sul quale è appoggiato l'oggetto da pesare e da un sistema elettromagnetico che ha lo scopo di controbilanciare il peso dell'oggetto attraverso una variazione di corrente elettrica. L'intensità di corrente usata per ottenere l'equilibrio è proporzionale alla forza-peso dell'oggetto.

Il principio diventa facilmente comprensibile. Quando una massa viene posta sul piatto, il rivelatore di azzeramento avverte uno spostamento e invia un segnale al circuito che genera una corrente di correzione. Tale corrente attraversa la bobina annessa alla base del piatto della bilancia e crea un campo magnetico. Il campo magnetico della bobina è respinto (o attratto) dal magnete permanente montato sotto il piatto. Col diminuire della deflessione, diminuisce anche il segnale del rivelatore di azzeramento. La corrente di correzione richiesta per riportare il sistema in posizione iniziale è proporzionale alla massa del peso posto sulla bilancia. Lo strumento è calibrato per la lettura in unità di massa.

Una tipica bilancia elettronica con pesata dall'alto è raffigurata in sezione trasversale nella figura 3b. La sua principale caratteristica è l'assenza del giogo e dei coltelli, presenti entrambi in una bilancia meccanica. Il piatto è saldamente unito a una solida struttura reggicarico. Tutta la struttura si inclina ogniqualvolta una massa da pesare viene posta sul piatto. Un rivelatore di azzeramento e un servomotore riportano il sistema in posizione iniziale mediante una corrente elettrica. Il servomotore è azionato dalla uscita del rivelatore di azzeramento. Quando la posizione iniziale è stata ripristinata il rivelatore interrompe l'alimentazione del motore.

Gli errori possibili con la bilancia elettronica non si riscontrano con la bilancia meccanica. Si possono ad esempio verificare errori pesando materiali magnetici. Anche la radiazione elettromagnetica prodotta da apparecchiature vicine potrebbe influenzare la lettura della bilancia. E' importante evitare inoltre che la polvere penetri nello spazio vuoto tra la bobina e il magnete permanente del servomotore.

Il limite principale della bilancia elettronica consiste nella taratura con una massa standard in condizione di gravità non uguali a quelle presenti nel laboratorio. La forza di gravità può variare intorno al 0.1% secondo la località.

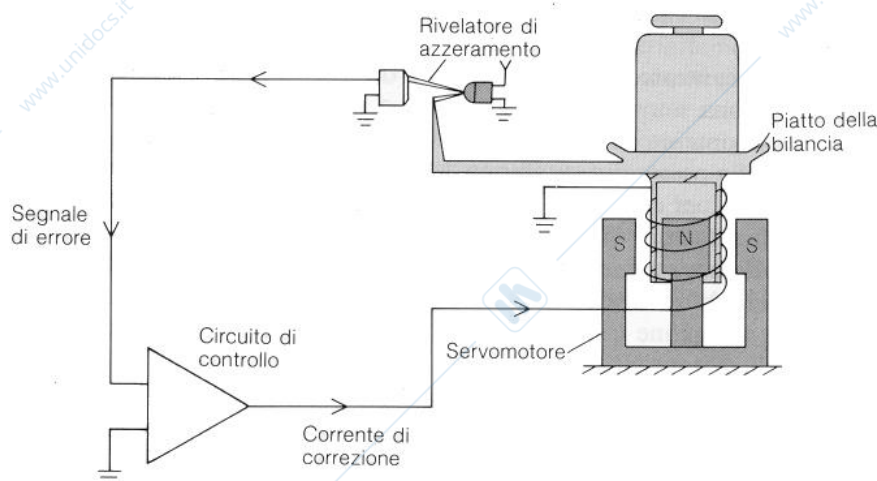


Fig. 3a. Schema di una bilancia elettronica

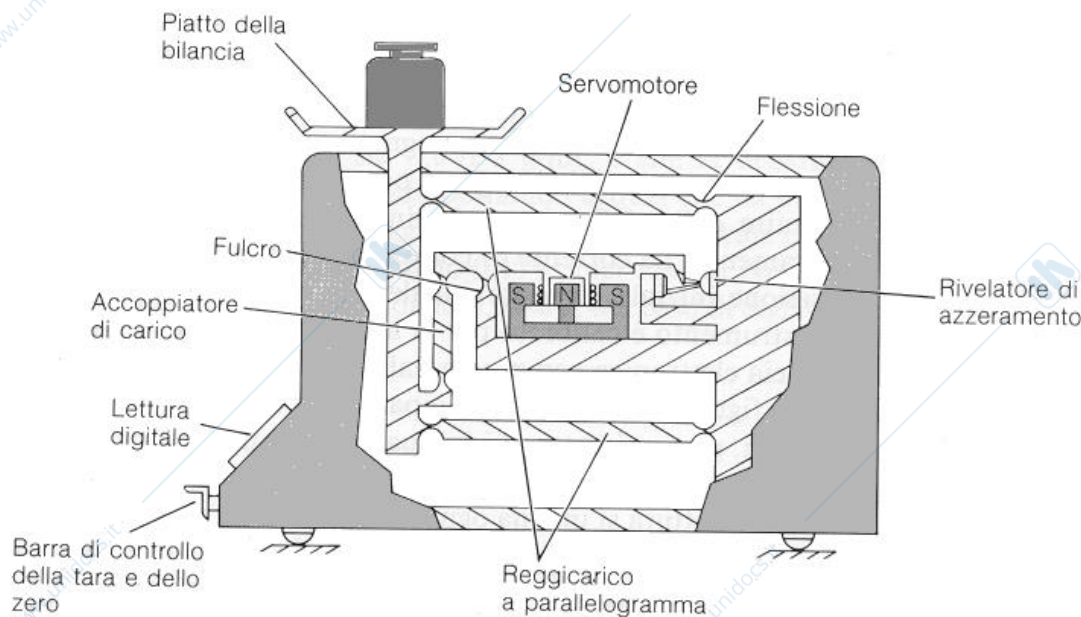


Fig. 3b. Sezione trasversale di una bilancia elettronica

Sensibilità e incertezza di una bilancia

In genere per *sensibilità* si intende “la minima massa apprezzabile”, l'*incertezza* rappresenta il minimo errore assoluto che può essere commesso.

Col termine di sensibilità di una bilancia a due piatti si intende lo spostamento del “puntale” della bilancia dalla posizione di equilibrio provocato dal peso di 1 milligrammo.

Le *bilance tecniche* hanno una sensibilità di 0,01g. L'incertezza nella determinazione della massa è di $\pm 0,01g$. La portata (massima quantità di massa determinabile) di queste bilance è di circa 2 Kg.

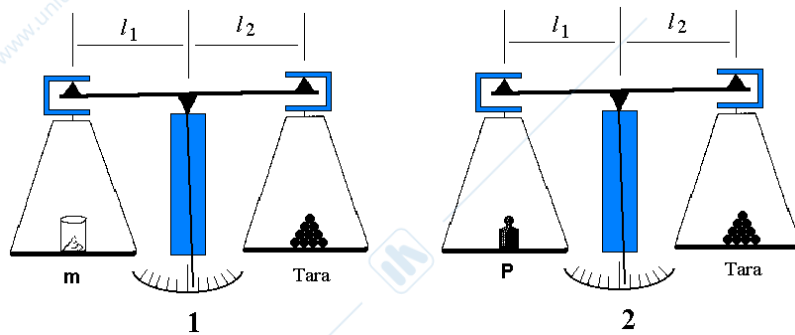
Le *bilance analitiche* hanno una sensibilità di 0,0001g (o maggiore) e un'incertezza di $\pm 0,0001g$ (o minore). La portata è di solito, di 200g o inferiore.

La *precisione della pesata*, inversamente proporzionale all'errore relativo (di solito espresso in %), a parità di massa pesata, è 100 volte maggiore nelle comuni bilance analitiche rispetto alle comuni bilance tecniche.

Pesata per sostituzione (metodo della tara).

Nelle bilance meccaniche la pesata avviene riequilibrando il peso dell'oggetto, posto in un piattello, con i pesi campione posti su un altro piattello. I due piattelli sono collegati da un giogo che attraverso un coltello poggia su un fulcro. La porzione del giogo che va dal coltello al punto di applicazione del piattello si chiama braccio. Il sistema è in posizione di equilibrio quando i due momenti delle forze (prodotto della forza-peso mg con la lunghezza l del braccio) sono uguali. Uno degli inconvenienti più comuni che può essere fonte di errore in una pesata è l'ineguaglianza della lunghezza dei bracci.

Generalmente i bracci di una bilancia sono lunghi 10 cm. l'uno e in una buona bilancia possono differire di 0,0001 cm : questo errore è quindi dell'ordine di grandezza di una parte su 100.000, che è praticamente trascurabile. Quando questo limite è superato è consigliabile pesare con il metodo della tara.



Il corpo di cui si vuol determinare il peso m si mette sul piattello di sinistra e sull'altro si mette una tara T costituita da una serie di pesi o di pallini di piombo che faccia equilibrio al peso del corpo. Si toglie il corpo dal piattello sostituendolo con i pesi in modo da riportare la bilancia nella precedente posizione di equilibrio. La somma dei pesi campione messi sul piattello rappresenta il peso P del corpo.

Se indichiamo con l_1 e l_2 le lunghezze dei due bracci della bilancia, avremo all'equilibrio:

$$ml_1 = Tl_2 \quad (\text{piatto di sinistra massa incognita, piatto di destra tara})$$

$$Pl_1 = Tl_2 \quad (\text{piatto di sinistra pesi campione, piatto di destra tara}) .$$

Dalle due relazioni si ricava che $Pl_1 = ml_1$ ossia $m = P$.

Le bilance ad un unico braccio usano come sistema di pesata il metodo della tara, ovviamente non nel modo descritto, ma sfruttando lo stesso principio.

Il peso del braccio e dell'unico piattello è gravato da una serie di pesi mobili la cui somma è usualmente di 200 g. Quando il piattello è scarico è mantenuto nella posizione di equilibrio da una zavorra fissa (o meglio visto che si tratta di equilibrare dei momenti, dal prodotto della massa della zavorra con la lunghezza del braccio).

Nella pesata il piattello sarà occupato dall'oggetto da pesare, ciò comporterà uno squilibrio dei momenti. L'equilibrio sarà riottenuto togliendo una quantità di pesi mobili che gravano sul piattello, pari al peso dell'oggetto. In questo modo la quantità dei pesi tolti rappresenta il peso dell'oggetto.

Errori di pesata.

Una pesata può essere influenzata da numerosi errori, i più comuni dei quali sono l'ineguaglianza della lunghezza dei bracci della bilancia, il differente effetto della spinta dell'aria sull'oggetto e sui pesi, eventuali variazioni nei pesi dei recipienti e della sostanza durante le pesate e l'alterazione nel valore dei pesi.

Ineguaglianza della lunghezza dei bracci : Tale errore è talvolta presente nelle tradizionali bilance a due bracci uguali, ma può essere ovviato ricorrendo alla pesata con il metodo della tara. Questo problema ovviamente non si verifica nelle bilance a singolo braccio e in quelle elettroniche.

Spinta dell'aria : Nel caso di oggetti di densità notevolmente differente da quella dei pesi è da tenere conto dell'errore dovuto alla spinta dell'aria. Nelle bilance elettroniche non sono usati pesi campione pertanto l'effetto della spinta dell'aria grava solo sul corpo da pesare e non è controbilanciata in nessun modo dai pesi.

E' noto che in base al principio di Archimede, un corpo immerso in un fluido riceve una spinta diretta dal basso verso l'alto eguale alla massa di fluido spostato per cui il peso di questo risulta diminuito di un valore corrispondente a quello del fluido spostato, quindi nel vuoto un oggetto ha un peso maggiore che in aria. Pertanto il *peso di un oggetto registrato da una bilancia (W)*, differisce dalla massa reale, corrisponde al *peso nel vuoto (m)*, in quanto subisce la spinta dell'aria.

$W = m$ - massa dell'aria spostata dal campione - (massa dell'aria spostata dai pesi) *per bilance meccaniche*

$$W = m - \frac{m}{\rho} \cdot \rho_a + \left(\frac{m_p}{\rho_c} \cdot \rho_a \right)$$

dove: m è la massa dell'oggetto (peso nel vuoto)

W è il peso registrato dalla bilancia

ρ è la densità del materiale da pesare

ρ_a è la densità dell'aria (1,2 Kg/m³ ca.)

m_p è la massa dei pesi campione

ρ_c è la densità dei pesi campione (8000 Kg/m³)

La densità dell'aria ρ_a (1,2 Kg/m³ ca.) dipende dalla pressione, dall'umidità relativa e dalla temperatura:

$$\rho_a = \frac{0.348444 p - h(0.00252 t - 0.020582)}{273.15 + t}$$

dove: ρ_a è la densità dell'aria

p è la pressione atmosferica espressa in hPa (mbar)

h è l'umidità relativa espressa in %

t è la temperatura espressa in °C

La correzione per la spinta dell'aria non è generalmente applicata alle pesate analitiche poiché il volume del materiale da pesare è così piccolo che il peso dell'aria spostata è trascurabile.

Nella pesata di notevoli volumi di liquidi, come ad esempio nelle operazioni di calibrazione dei recipienti per l'analisi volumetrica, è molto importante applicare queste correzioni.

Ad esempio per un campione di massa 200.0000 g e di densità pari 2600 Kg/m³ pesato in un ambiente con una pressione atmosferica di 1018 hPa, con una umidità dell'aria del 70% e una temperatura di 20°C il peso del campione risulta minore di 92,5 mg (pesata con bilancia elettronica).

$$\rho_a = \frac{0.348444 \cdot 1018 - 70(0.00252 \cdot 20 - 0.020582)}{273.15 + 20} = 1.2029 \text{ Kg/m}^3$$

Per bilance elettroniche:

$$W = 200 - \frac{200}{2600} \cdot 1.2029 = 200 - 0.0925 = 199.9075 \text{ g}$$

Per bilance meccaniche:

$$W = 200 - \frac{200}{2600} \cdot 1.2029 + \frac{200}{8000} \cdot 1.2029 = 199.9375 \text{ g}$$

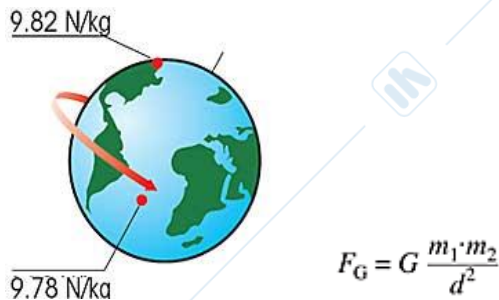
Per una massa di 1 g si ha un peso (per una bilancia elettronica), minore di 0,5 mg

$$W = 1 - \frac{1}{2600} \cdot 1.2029 = 1 - 0.00046 = 0.99954 \text{ g}$$

Variatione della forza di gravità (per bilance elettroniche). Difetto di taratura

Per determinare la massa di un corpo, la bilancia misura la forza di gravità, cioè la forza di attrazione tra la terra e il materiale da pesare. Tale forza dipende principalmente dalla latitudine del luogo di installazione e dalla sua altitudine sopra il livello del mare (distanza dal centro della terra).

Più un luogo è vicino all'equatore, maggiore sarà l'accelerazione centrifuga che subisce a causa della rotazione della terra. Tale accelerazione contrasta la forza di attrazione (forza gravitazionale). I poli sono il punto più lontano dall'equatore e hanno la distanza minore dal centro della terra. Qui la forza (F_G) che agisce sulla massa è massima.



$$F_G = G \frac{m_1 \cdot m_2}{d^2}$$

dove F_G è la forza di gravità
 m_1 e m_2 sono le masse degli oggetti
 d è la distanza

Ad esempio un campione di massa pari a 200 g, che al primo piano risulta essere esattamente 200.00000 g, presenta la seguente variazione al quarto piano (a 10 m di altezza) pesa 0,63 mg in meno:

Con m_1 e m_2 identifichiamo la massa dell'oggetto e della terra (ovviamente entrambe costanti) e per distanza (d) intendiamo la distanza dal centro della terra (il raggio terrestre medio è di 6370 Km. In base alla precedente equazione dove anche G è una costante, si evince che F_G (il peso!!) dipende da d :

$$200 : 1/d^2 = x : 1/(d+\Delta)^2 \quad x = 200 \cdot 1/(d+\Delta)^2 / 1/d^2 \quad \text{ovvero} \quad x = 200 \cdot d^2/(d+\Delta)^2$$

$$200 \frac{(6370000)^2}{(6370010)^2} = 199.99937 \text{ g}$$

Effetto della temperatura : Variazioni della temperatura possono influenzare in modo notevole una pesata. La densità dell'aria in primo luogo e la densità dei corpi e dei pesi varia con la temperatura così che la spinta dell'aria risulta differente. Questo effetto non è però così importante come quello che si osserva quando l'oggetto da pesare non è alla stessa temperatura della bilancia o dell'ambiente: si possono avere delle correnti d'aria che possono completamente falsare le condizioni di equilibrio. E' questa la ragione per cui si raccomanda di accertarsi che l'oggetto da pesare sia alla stessa temperatura della stanza delle bilance.

Calibrazione dei pesi e taratura : Uno degli errori di maggiore entità in una pesata è causato dall'impiego di pesi non calibrati. Questo inconveniente non può comunque essere eliminato.

Umidità : Se il campione è umido oppure igroscopico non si raggiungerà mai l'equilibrio per i continui scambi con l'ambiente. Per evitare questo inconveniente è opportuno essiccare i campioni. Purtroppo l'inconveniente sarà comunque presente per i campioni igroscopici.

Come diminuire gli errori di pesata in pratica

Prendendo alcune precauzioni, è possibile ridurre al minimo gli errori della pesata.

- 1- È buona norma non toccare mai con le mani un contenitore da pesare, dal momento che le impronte digitali ne modificherebbero la massa.
- 2- Prima della pesata, un campione deve essere sempre tenuto a temperatura ambiente, per evitare errori dovuti alle correnti d'aria di convezione. Per far raffreddare un campione che è stato essiccato in una stufa, è necessario lasciarlo per mezz'ora circa in un essiccatore a temperatura ambiente.
- 3- Per le bilance meccaniche il piatto della bilancia dovrebbe essere in posizione di arresto quando si aggiunge il campione e di semi-arresto quando si selezionano i pesi: ciò permette di evitare gli strattoni che logorerebbero i fili dei coltelli che servono da fulcro e da punto di appoggio.
- 4- I portelli di vetro della bilancia analitica devono rimanere chiusi durante le letture a protezione dalle oscillazioni causate dalle correnti d'aria.
- 5- Spesso una bilancia sensibile è posta su una base pesante, come una grossa lastra di marmo, per minimizzare l'effetto delle vibrazioni del locale sulla lettura.
- 6- Le bilance devono essere mantenute in piano. Dei piedini regolabili e un indicatore a bolla sulla parte superiore consentono di mantenere la bilancia in posizione orizzontale.

Come pesare una sostanza con una bilancia elettronica in pratica

Si esegue una pesata per differenza. In questo modo gli errori comuni, quali quelli dovuti a cadute di materiale sul piatto della bilancia o ad un incompleto svuotamento del recipiente dove avviene la pesata, sono ininfluenti.

In pratica la pesata viene eseguita nel seguente modo:

- 1- Portare vicino alla bilancia :
 - barattolo della sostanza da pesare
 - recipiente per pesata (pesafiltri, o piccolo becher)
 - recipiente di raccolta per la sostanza pesata (se il recipiente è un matraccio è necessario portare anche un imbuto asciutto)
 - spatola
- 2- Porre il recipiente per pesata sul piatto della bilancia
- 3- Chiudere lo sportello e lasciare stabilizzare
- 4- Azzerare
- 5- Aprire lo sportello e aggiungere sul recipiente per pesata circa la quantità di sostanza desiderata.
- 6- Chiudere lo sportello, lasciare stabilizzare e registrare la pesata (pesata A)
- 7- Versare il contenuto del recipiente per pesata nel recipiente di raccolta
- 8- Porre il recipiente per pesata sul piatto della bilancia
- 9- Chiudere lo sportello, lasciare stabilizzare e registrare la pesata (pesata B)
- 10- Togliere il recipiente per pesata dalla bilancia, pulire e lasciare la bilancia spenta
- 11- La quantità della sostanza aggiunta nel recipiente di raccolta sarà pari a :
pesata A - pesata B

RECIPIENTI E REATTIVI

Recipienti e loro pulizia.

Recipienti di vetro - Il materiale più comunemente impiegato nelle varie attrezzature di laboratorio è il vetro.

Il vetro impiegato deve rispondere a particolari requisiti di resistenza agli agenti chimici, agli sbalzi termici e alle sollecitazioni meccaniche. Il comune vetro, a base di silicati alcalini e alcalinoterrosi, non possiede questa proprietà e vengono pertanto di solito impiegati vetri speciali costituiti da miscele ad alto contenuto in silice (~80%) e anidride borica (~10-12%) (*vetri borosilicei*) e percentuale minime di alcali (~5%) e ossidi bivalenti e allumina. Le composizioni più note sono quelle di Murano (Ignis), Pyrex e Jena. Il coefficiente di espansione del pirex, che è un vetro borosiliceo (3.2×10^{-8}), è notevolmente inferiore a quello del vetro comune (9×10^{-6}) e pertanto oltre a sopportare notevoli sollecitazioni termiche, può essere utilizzato per la costruzione di vetrerie di maggiore spessore e quindi meccanicamente più resistenti.

Per quanto riguarda la resistenza agli agenti chimici, si deve tenere presente che, anche queste particolari composizioni di vetro sono attaccate dall'acqua e dalle soluzioni specialmente se alcaline e a caldo. L'entità dell'attacco dipende dalla composizione del vetro, dalla natura della soluzione e dal tempo di contatto. Il vetro viene invece attaccato poco da soluzioni acide (eccetto l'acido fluoridrico).

Recipienti di porcellana - La porcellana di buona qualità è più resistente del vetro sia all'attacco degli agenti chimici (specialmente alcali) che per le sollecitazioni meccaniche e per gli sbalzi di temperatura. Viene impiegata essenzialmente per la fabbricazione di capsule e crogioli.

Recipienti di materie plastiche (bachelite, resine a base di polivinile, polietilene, polipropilene) sono impiegate per la fabbricazione di becher, bacchette, tubi ecc. usati per soluzioni a temperatura ambiente. Trovano impiego quando è richiesta la resistenza all'acido fluoridrico e alla rottura. Sono usati quando è necessario evitare la contaminazione da parte dei costituenti il vetro.

Il banco di lavoro e le varie apparecchiature di laboratorio debbono essere scrupolosamente pulite e le varie vetrerie debbono essere risciacquate con acqua deionizzata prima dell'uso. L'analista deve controllare che l'acqua bagni uniformemente le pareti del recipiente; se questo non avviene significa che le superfici sono grasse e debbono essere nuovamente lavate.

Si raccomanda di usare quando è possibile per la pulizia della vetreria una soluzione tiepida di sapone o di detergente sintetico, se questo trattamento non è efficace si raccomanda l'uso della miscela cromica (misto-cromico) preparato di fresco il cui colore è arancio, mentre quello esaurito ha un colore verdastro. La miscela cromica si ottiene versando 12 g di bicromato alcalino in polvere in una soluzione costituita da 100 g di acqua e 160 g. di H_2SO_4 conc.

Prima di adoperare il misto cromico i recipienti vanno puliti con acqua, curando poi che la miscela non venga in contatto con gomma, grasso, carte da filtro, ecc.

I rubinetti e i tappi smerigliati devono essere prima sgrassati con etere etilico.

Dopo l'azione della miscela i recipienti devono essere lavati a fondo con acqua comune, poi con acqua deionizzata, e posti ad asciugare al riparo dalla polvere. I recipienti al momento dell'uso debbono essere asciugati esternamente con uno straccio pulito, mentre la parte interna, che il più delle volte può rimanere bagnata, non deve mai essere toccata ne' con stracci ne' con carta.

I crogioli di porcellana ed i recipienti di quarzo sono puliti con una fusione di bisolfato di potassio e carbonato sodico oppure soda e borace, successivamente trattati con acqua.

Reattivi

I reattivi chimici sono classificati secondo il grado di purezza in : *tecnici*, *puri (C.P)* e *puri per analisi (P A. o R P.)*. Ai fini analitici, non è necessario che un reattivo sia completamente esente da impurezze purché non ne contenga in quantità tali da influenzare il risultato dell'analisi.

Anche per l'acqua deionizzata è necessario verificarne la qualità, ossia è necessario che non lasci residuo all'evaporazione, che non dia una distinta reazione acida o basica e che non contenga solfati, cloruri, rame o piombo.

I reattivi debbono essere preparati di fresco e filtrati attraverso filtri da quantitativa a pieghe se le soluzioni non sono perfettamente limpide.

Le soluzioni di idrossidi alcalini e di ammoniaca devono essere sempre preparate al momento dell'uso, usando acqua deionizzata e bollita per evitare il fenomeno della carbonatazione (formazione di carbonati).

Allo scopo di rendere familiare all'analista con il contenuto dei principali acidi e alcali concentrati viene riportata di seguito la loro concentrazione (escluso l'ac. acetico, sono in soluzione acquosa)

Ammoniaca	non meno del 27% in peso di NH_3	circa	14,2	M
Ac. acetico	circa 99,5% in peso CH_3COOH	circa	17,4	M
Ac. cloridrico	non meno del 36,5% in peso HCl	circa	12	M
Ac. nitrico	non meno del 68% in peso HNO_3	circa	15	M
Ac. perclorico	non meno del 70% in peso HClO_4	circa	11,6	M
Ac. fosforico	non meno 85% in peso H_3PO_4	circa	14,7	M
Ac. solforico	non meno del 95% in peso H_2SO_4	circa	17,7	M

Nei procedimenti analitici in cui si impiega un reattivo 1:1, si intende indicare un reattivo preparato prendendo un volume della concentrazione sopra indicata ed un volume di acqua. Si tenga presente che gli acidi debbono essere diluiti aggiungendo acido all'acqua e non viceversa.

STRUMENTI PER LA MISURA DI VOLUMI

La misura accurata del volume è di fondamentale importanza nell'analisi volumetrica. Allo scopo si usano *matracci*, *pipette* e *burette* "tarati", ossia recipienti di vetro che portano dei particolari contrassegni per indicare esattamente un dato volume di liquido.

a) *Matracci*

Sono palloni di vetro a pareti sottili e a fondo piatto, con collo lungo e stretto sul quale è inciso un segno anulare corrispondente al volume nominale del recipiente. Sono provvisti di tappi di vetro smerigliato o di plastica a perfetta tenuta (fig. 4). In commercio sono reperibili matracci di differente volume



Fig. 4. Matraccio

b) *Pipette tarate*

Sono tubi di vetro che portano al centro un rigonfiamento cilindrico su cui è segnato il volume di liquido che è in grado di contenere quando il liquido raggiunge il segno anulare inciso sul gambo superiore (fig. 5a e 5b). Le pipette servono per il prelievo di volumi noti di liquido; vi sono pipette da 1 fino a 100 ml.

Il riempimento delle pipette si effettua per aspirazione attraverso le apposite pompette di gomma. Lo svuotamento delle pipette avviene per scorrimento libero completo del liquido partendo dal segno superiore. Se la pipetta reca solo il segno nel gambo superiore (fig. 5b), il volume s'intende preciso quando il liquido è fatto defluire fino all'ultima goccia che può liberamente cadere dalla punta affilata della pipetta.

Le pipette che portano due segni (fig. 5a), uno sul gambo superiore e uno su quello inferiore, sono più precise e pertanto sono consigliate. Queste sono svuotate allo stesso modo lasciando defluire liberamente il liquido che si trova fra i due segni.

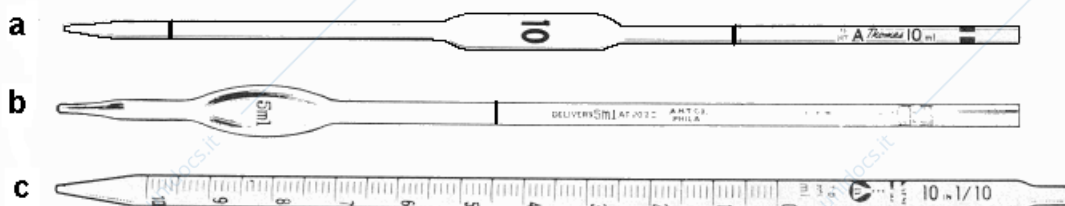


Fig. 5. Pipette tarate (a,b) e pipette graduate (c).

c) *Pipette graduate*

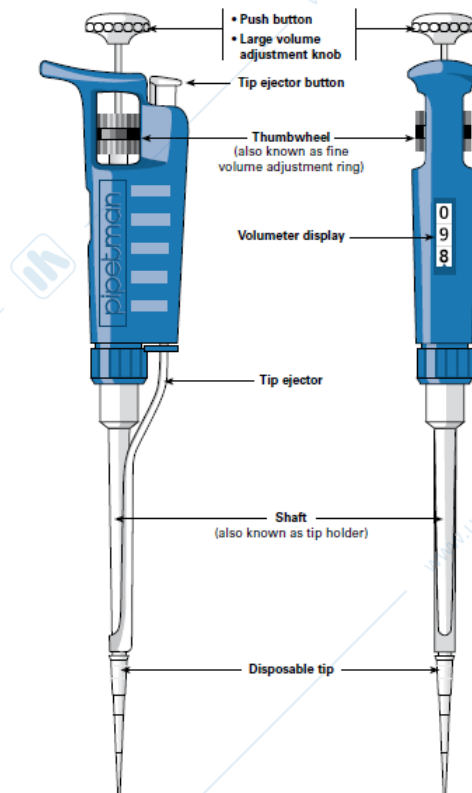
Sono tubi di vetro affilati ad un'estremità e graduati in ml e frazioni di ml (fig.5c). Risultano particolarmente adatte per misurare con rapidità volumi di liquido variabili (da 0,01 a 25 ml.). Per il riempimento e lo svuotamento di queste pipette valgono gli stessi criteri esposti per le pipette tarate. È importante ricordare che se il volume di liquido da prelevare è inferiore al contenuto totale della pipetta, è opportuno che questa sia comunque riempita (azzerata).

d) *Micropipette a volume variabile*

Le più comuni sono quelle a spostamento d'aria che non mettono a contatto il pistone (di aspirazione e scarico) con il liquido da prelevare evitando possibili inquinamenti.

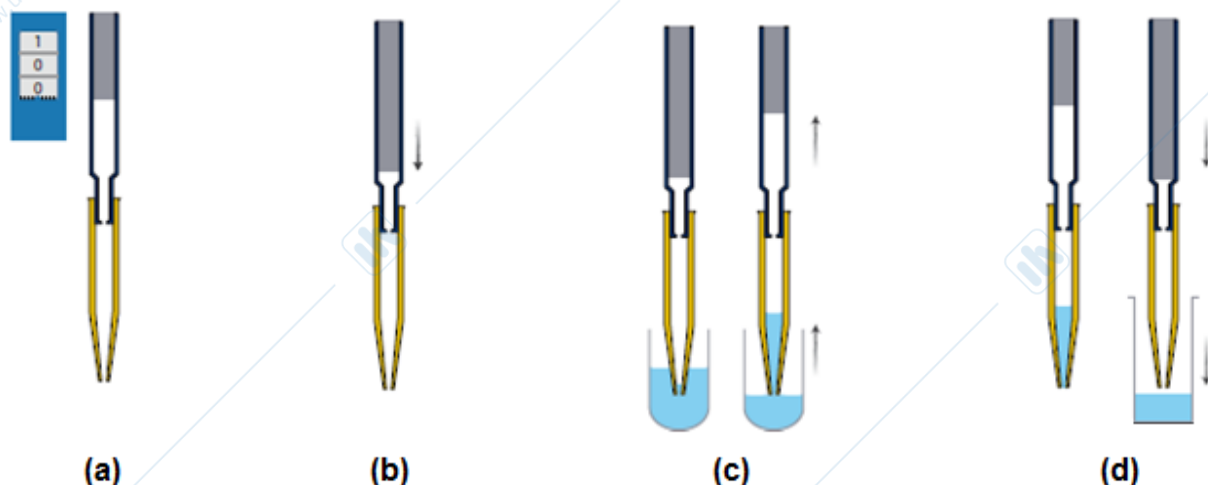
Il liquido è aspirato in puntali di plastica intercambiabili. Di solito i puntali sono monouso soprattutto se le pipette sono usate per prelevare materiale biologico.

La precisione si basa sulla gestione della corretta pressione dell'aria all'interno della pipetta.



Quando il pulsante viene premuto su una pipetta a spostamento d'aria, il pistone all'interno dello strumento si sposta verso il basso per far uscire aria. Il volume di aria spostata è uguale al volume di liquido che verrà successivamente aspirato.

Il pistone determina il volume di aria spostato e successivamente il volume di campione aspirato. Questo meccanismo è mostrato nello schema seguente.



Impostato il volume (a), il pistone si muove verso l'appropriata posizione. Si prepara l'aspirazione del liquido (b) facendo scendere il pistone che espelle un volume di aria pari al volume selezionato. Per aspirazione il liquido (c), il pulsante viene rilasciato e il pistone sale aspirando, nel puntale, un volume di liquido uguale al volume dell'aria espulsa. Il liquido è scaricato (d) con una nuova pressione sul pulsante che fa scendere il pistone e spinge il liquido e l'aria, fuori dal puntale. In fase di prelievo, la profondità di immersione della punta può avere un effetto sulla quantità di liquido prelevato. Se la punta è immersa troppo si formeranno goccioline sull'esterno del puntale che ricadendo determineranno un errore in eccesso. Se la punta non è immersa abbastanza si può aspirare aria anziché liquido determinando un errore in difetto.

e) *Burette*

Sono tubi di vetro con diametro interno uniforme di 12-15 mm., di varia capacità; quelle più comunemente impiegate hanno un volume da 5 a 100 ml con graduazione in decimi di millilitro. L'estremità inferiore è affilata e collegata ad un rubinetto di vetro (fig.6) .

Particolare importanza riveste la velocità di svuotamento: se è troppo rapida, lo scolamento lungo le pareti non è completo, se invece è troppo lenta la titolazione diviene troppo laboriosa. La velocità del flusso è regolata mediante rubinetto opportunamente ingrassato, se di vetro, con grasso al silicone.

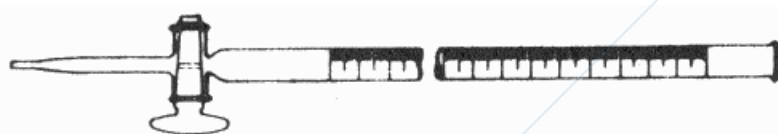


Fig. 6. Burette in vetro con rubinetto.

Pulizia dei recipienti

Tutte le apparecchiature impiegate nell'analisi volumetrica debbono essere assolutamente esenti da grasso in modo che in ogni tratto il liquido bagni uniformemente le pareti e non aderiscano gocce che impediscono il completo svuotamento dei vari recipienti.

La pulizia può essere eseguita mediante soluzioni tiepide di detersivi a base di solfonati che hanno eccellenti proprietà sgrassanti. Qualora esse si dimostrino inefficaci si usa miscela cromica calda; le pipette e le burette sono direttamente riempite di miscela cromica. Per le burette munite di

rubinetto in vetro è necessario, prima di riempirle di miscela cromica, eliminare lo strato di grasso sulle pareti smerigliate del rubinetto con un batuffolo di cotone imbevuto di etere.

Si lascia, se possibile, la miscela cromica nell'interno dei recipienti per qualche tempo, si lavano quindi prima con acqua di fonte, e dopo con acqua deionizzata. Se i recipienti non vengono impiegati subito si pongono ad asciugare al riparo della polvere proteggendo, nel caso delle burette e delle pipette, le aperture con carta da filtro.

Norme pratiche per l'uso dei matracci, pipette, micropipette e burette.

a) *Matracci*. Il riempimento di un matraccio tarato va eseguito versando il liquido in getto continuo fino a raggiungere la base del collo, a questo punto si rallenta l'immissione, e in vicinanza del segno il liquido deve essere introdotto goccia a goccia fino a che il suo menisco inferiore combacia col segno stesso. Per osservare bene questo livello bisogna mettersi con l'occhio alla stessa altezza del menisco; se si vuole sollevare il recipiente, questo deve essere preso con due dita all'estremità del collo, e mai toccato alla base con la mano altrimenti il calore della mano si trasmetterebbe al liquido con conseguente aumento di volume.

Se, nel portare a volume, si è sorpassato il segno, conviene rifare la soluzione dopo aver accuratamente lavato il matraccio oppure fare evaporare un po' di solvente, ponendo il matraccio su bagno Maria fino a che, dopo raffreddamento alla temperatura ambiente, si vede che il menisco è sceso sotto il segno. Con maggiore precauzione di prima si riporta adesso al volume esatto. Dopo aver riempito il matraccio, si chiude col suo tappo e si agita capovolgendolo e raddrizzandolo più volte, in modo da rendere perfettamente omogenea la soluzione.

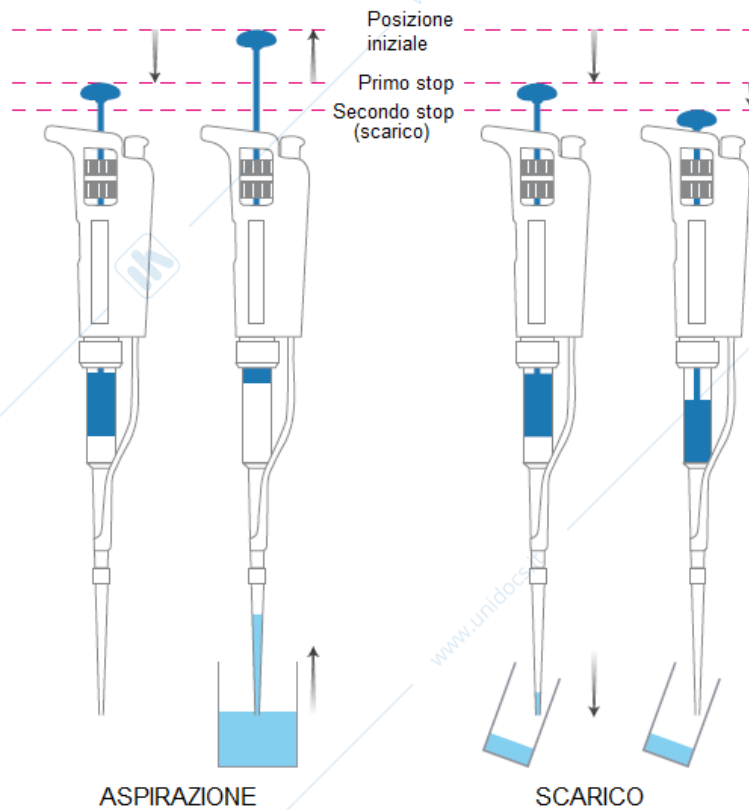
b) *Pipette*. Se la pipetta non è asciutta è necessario, prima di riempirla, *avvinarla* usando una piccola quantità del liquido che si vuol prelevare avendo cura che questo sia messo a contatto con tutta la pipetta prima di essere gettato. Il processo di avvinamento va ripetuto almeno tre volte. Il riempimento della pipetta si effettua immergendo la punta della pipetta asciutta o opportunamente avvinata nel liquido e aspirando lentamente con l'apposita pompetta di gomma, fino a che il menisco abbia oltrepassato il segno superiore. La pipetta deve essere sempre tenuta in posizione verticale per evitare l'ingresso di bolle d'aria. Si apre la valvola di scarico della pompetta e si fa scendere in modo lento e uniforme il liquido fino a coincidenza col segno. La pipetta deve ora essere piena di liquido dalla punta fino al segno superiore, e non dovranno esistere bolle d'aria. E' da evitare un'aspirazione affrettata perché possono facilmente entrare bolle d'aria, e il più delle volte si è costretti a svuotarla e a riempirla di nuovo.

Per lo svuotamento, si asciuga rapidamente l'esterno della punta della pipetta con una striscia di carta da filtro e la si porta a contatto della parete del recipiente dove il liquido deve essere introdotto, tenendo sempre la pipetta in posizione verticale. Premendo la valvola di scarico della pompetta, si fa scendere il liquido lungo la parete del recipiente fino, se presente, al segno sul gambo inferiore della pipetta, oppure, fino a svuotamento completo nel caso di pipette a volume con un solo segno. Per le pipette graduate valgono le stesse norme.

Al termine dello svuotamento si aspetta 15 secondi prima di ritirare la pipetta strisciando la punta lungo la parete del recipiente.

Prima di usare una pipetta è indispensabile che questa sia pulita (sgrassata), asciutta o avvinata.

c) *Micropipette*. – In questo caso il liquido da prelevare rimane all'interno del puntale che solitamente è monouso. Pertanto, di solito, non è necessario avvinare. Qualora si voglia riusare lo stesso puntale è necessario avvinare riempiendo e scaricando più volte il puntale con il liquido da prelevare. E' importante, per prelevare il corretto volume, fare attenzione ai due punti di stop della corsa del pulsante; il primo determina il volume da aspirare ed è usato nella fase di aspirazione, mentre il secondo, che si trova a fine corsa del pulsante, è usato nella fase di scarico.



d) *Burette*. - Prima di riempire una buretta, occorre assicurarsi che questa sia ben pulita e sgrassata, e che il rubinetto sia a perfetta tenuta, e possa essere agevolmente manovrato.

Il rubinetto, soprattutto se di vetro, deve essere lubrificato con una traccia di grasso da rubinetto di buona qualità e girato più volte, fino a che non si vedono più striature sulla parte smerigliata. Il canale del rubinetto deve inoltre restare privo di grasso.

Prima di riempire la buretta è necessario che questa sia accuratamente avvinata prelevando, con l'ausilio di un piccolo imbuto, porzioni di non più di 10 ml di liquido.

Si fissa quindi la buretta nell'apposito sostegno servendosi di pinze per burette le quali lasciano libero tutto il tratto graduato.

Si riempie, sempre con l'aiuto di un piccolo imbuto, la buretta fino a 2-3 ml. sopra lo zero, si toglie l'imbuto e si apre un poco il rubinetto in modo che il liquido riempi tutta la buretta fino alla punta. Se nell'ultimo tratto al di sotto del rubinetto si fossero formate bolle d'aria (fig.7a), queste devono essere eliminate facendo scorrere più velocemente il liquido e aiutandone il distacco con piccoli colpi.

Si aggiusta, infine il volume del liquido, aggiungendolo o togliendolo in modo che il suo menisco coincida con la divisione zero.

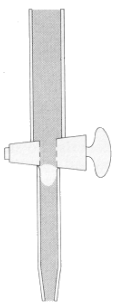


Fig. 7a. Formazione di bolle d'aria nel rubinetto

Letture delle burette.

La prima condizione per una buona lettura è mettersi con l'occhio all'altezza del menisco, come quando si porta a volume in un matraccio tarato o si fa un prelievamento con una pipetta. Per avere una lettura agevole le burette presentano lungo la parete interna, dalla parte opposta alle divisioni, una striscia azzurra su fondo di vetro latteo. Quando l'occhio si trova sullo stesso piano del menisco, si vede che la striscia è rotta, per effetto della rifrazione, in due punte combacianti: il tratto di divisione che coincide con l'incontro delle punte, indica il valore giusto (fig.7b). Quando è difficile osservare questo menisco, come nel caso di liquidi troppo colorati, si prende come livello di riferimento il menisco superiore.

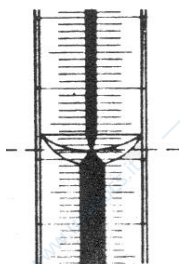


Fig. 7b. Visualizzazione del menisco in una buretta.

Uso delle burette nelle titolazioni

E' opportuno seguire alcune semplici regole:

- 1) Ogni titolazione deve essere iniziata con la buretta piena di liquido e perfettamente azzerata.
- 2) Durante la titolazione il rubinetto della buretta è controllato con la mano sinistra, la mano destra impugna la beuta come mostra la figura 7c. Durante la titolazione la beuta va mantenuta in agitazione senza far fuoriuscire il liquido.

La soluzione all'interno della beuta è agitata con un movimento circolare dalla mano destra. Il liquido deve essere fatto defluire goccia a goccia e con velocità uniforme. Quanto più rapido è lo svuotamento e tanto più tempo bisogna aspettare alla fine, affinché il liquido che bagna la parete della buretta termini di discendere e quindi il menisco si arresti ad un livello costante.



Fig. 7c. Posizione delle mani durante una titolazione

- 3) All'inizio e alla fine di una titolazione o di un prelievamento di liquido con la buretta, la punta di questa non deve portare alcuna goccia sospesa. Pertanto prima di controllare il volume finale, l'eventuale goccia sospesa deve essere raccolta facendola aderire alla parete del recipiente dove si è versato il liquido, e mai lavando la punta con una spruzzetta.
- 4) La scelta del tipo di buretta dipende dalla soluzione con la quale deve essere riempito. Ad esempio per alcune soluzioni non completamente stabili alla luce (come le soluzioni di I_2 , di $AgNO_3$ ecc.) è consigliabile l'uso di burette costruite con vetro bruno.
- 5) Al termine di una titolazione o di una serie di titolazioni, la buretta deve essere vuotata completamente, lavata a fondo con acqua deionizzata e posta ad asciugare col rubinetto aperto. La buretta può essere conservata anche piena di acqua deionizzata e tappata. Per nessun motivo le soluzioni eventualmente rimaste nelle burette debbono essere rimesse nel recipiente da cui furono prelevate.

La sensibilità e quindi l'incertezza associata ai vari dispositivi di misura di volumi è riportata nella tabella seguente. L'incertezza, in questo caso, è dichiarata esplicitamente con la notazione \pm .

DISPOSITIVO	PORTATA (ml)	Classe	SENSIBILITA' (INCERTEZZA) ml
Matraccio	50	A	$\pm 0,05$
Matraccio	100	A	$\pm 0,10$
Matraccio	250	A	$\pm 0,15$
Matraccio	500	A	$\pm 0,25$
Matraccio	1000	A	$\pm 0,4$
Pipetta tarata	5	AS	$\pm 0,01$
Pipetta tarata	10	AS	$\pm 0,02$
Pipetta tarata	25	AS	$\pm 0,03$
Pipetta graduata	10	XS	$\pm 0,05$
Buretta	25	A	$\pm 0,03$
Buretta	50	A	$\pm 0,05$

PRECISIONE E ACCURATEZZA del RISULTATO. GLI ERRORI NELL'ANALISI QUANTITATIVA

Per i risultati di un'analisi è necessario stimarne precisione ed accuratezza. I risultati con precisione ed accuratezza ignota sono privi di significato.

D'altro canto, anche risultati che non sono particolarmente accurati possono essere valutati se sono noti i limiti di incertezza.

I tempi di analisi e i costi sono direttamente proporzionali alla precisione e accuratezza del risultato, quindi è sciocco produrre dati che siano più precisi e accurati di quanto occorra.

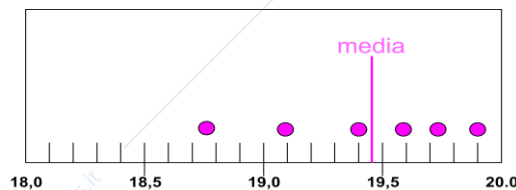
- Precisione del risultato

Il termine *precisione* viene usato per indicare il grado di riproducibilità del risultato analitico. E' prassi comune che l'analista ripeta varie volte la stessa analisi, su altrettanti campioni della sostanza in esame. Per ogni campione esaminato vengono, di solito, eseguite più di una determinazione (almeno 3). Normalmente è molto probabile che i valori tra di loro siano più o meno diversi, pertanto è necessario trovare in qualche modo un valore che sia rappresentativo dell'intero insieme. Si possono usare a tale scopo la *media* o la *mediana*.

La *media aritmetica o media* (\bar{x}), indicando con x i valori delle determinazioni e con n il numero delle determinazioni, è definita come:

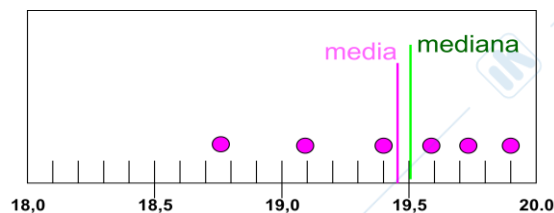
$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

	x		
	1 18.75	Σ	116.60
	2 19.10	n	6
	3 19.40	media	19.43
Esempio:	4 19.60		
	5 19.75		
	6 20.00		



La *mediana* è rappresentata dal risultato centrale, se il numero di valori è dispari, di una serie di valori ordinati, altrimenti, se il numero di valori è pari, è rappresentata dalla media dei due dati centrali.

	x		
	1 18.75	Σ	116.60
	2 19.10	n	6
	3 19.40	<i>media</i>	19.43
Esempio:	4 19.60	Mediana	19.5
	5 19.75		
	6 20.00		



La *precisione* è quantificata dalla dispersione dei valori misurati intorno al dato medio.

Le grandezze utilizzate per indicare la precisione di una serie di dati replicati sono funzioni della differenza del dato dalla media. Queste sono la *deviazione standard*, la *varianza* e il *coefficiente di variazione*.

La *deviazione standard* (σ), indicando con x i valori delle determinazioni, con n il numero delle determinazioni e con \bar{x} il valore della media, è definita come:

$$\sigma_x = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

La *varianza* (σ^2), indicando con x i valori delle determinazioni, con n il numero delle determinazioni e con \bar{x} il valore della media, è definita come:

$$\sigma_x^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

Il *coefficiente di variazione* (CV), indicando con x i valori delle determinazioni, con n il numero delle determinazioni e con \bar{x} il valore della media, è definita come:

$$CV_x = \frac{\sigma_x}{|\bar{x}|} \quad \text{ovvero} \quad CV_x = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left(\frac{x_i}{|\bar{x}|} - 1 \right)^2}$$

- Accuratezza del risultato

Il termine *accuratezza* rappresenta lo scostamento fra il valore ottenuto e quello vero.

In altri termini è una misura della bontà dell'accordo tra il risultato, x_i , o il valore medio dei risultati di un'analisi, ed il valore vero x_t .

L'accuratezza è espressa dall'*errore assoluto* o dall'*errore relativo* espresso in %.

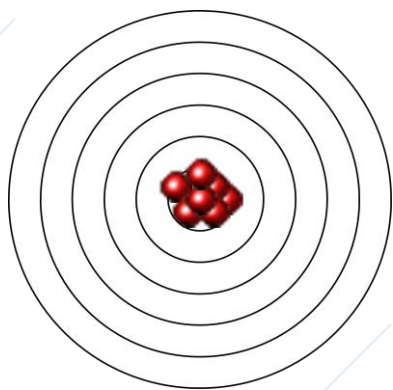
Gli errori (assoluto e relativo) possono avere segno + o -.

Errore assoluto :
$$E = x_i - x_t$$

Errore relativo :
$$E = \frac{(x_i - x_t)}{x_t} \times 100$$

Una serie di valori risultano precisi e contemporaneamente accurati se la media (o mediana) di questi risulta essere molto vicina al dato esatto e, tra di loro, sono poco dispersi (bassa varianza).

Una rappresentazione pittorica dell'evento può essere la seguente (dove al centro del bersaglio è collocato il dato esatto):



- Gli errori

La precisione e l'accuratezza di un'analisi dipendono dagli *errori* che si possono commettere durante il processo analitico. Gli errori che si possono incontrare possono essere classificati in due categorie, *l'errore occasionale*, *l'errore determinato* (o errore sistematico) e *l'errore indeterminato* (o errore casuale).

- Errore occasionale

Si tratta di un errore grossolano che si verifica occasionalmente, è spesso grande e provoca un significativo scostamento di un singolo dato (*outlier*) da tutti gli altri.

Se capita, durante le determinazioni quantitative, di avere un valore che si discosta significativamente da tutti gli altri dati replicati (*outlier*) è necessario stabilire se il valore ottenuto deve essere utilizzato per il calcolo della media oppure se va considerato un dato anomalo e quindi scartato.

La scelta va fatta seguendo uno dei criteri codificati ed accettati come la *regola del 2,5 d_m* o la *regola del Q*.

Regola della differenza dalla deviazione media (o regola del 2,5 d_m).

Il presunto outlier viene inserito tra i dati e quindi incluso nel calcolo della media se differisce dalla media dei dati (calcolata escludendo l'outlier) meno della deviazione media moltiplicato per 2,5.

In pratica:

- Si scarta il valore sospetto (*outlier*) e si calcola la media sui valori replicati rimanenti (x_m)
- Si calcola la deviazione media:

$$d_m = \frac{\sum |x_i - x_m|}{n}$$

-Se il valore sospetto (outlier) differisce da x_m per più di $2,5 d_m$ il valore viene scartato e la media della misura calcolata solo sui valori rimanenti

- Se il valore sospetto (outlier) differisce da x_m per meno di $2,5 d_m$ il valore viene incluso nel calcolo della media

Esempio:

Nella serie seguente il dato 18,75 è un outlier poiché la differenza dalla media rispetto alla deviazione media è superiore a 2,5 volte e quindi va scartato:

x	
1 18.75	$x_m = 19,57 \quad d_m = 0,256 \quad d_m \times 2,5 = 0,64$
2 19.10	
3 19.40	
4 19.60	$ 18,75 - 19,57 = 0,82$
5 19.75	
6 20.00	

Regola del Q

Il presunto outlier non viene scartato se il rapporto tra la differenza con il valore più vicino ad esso e la differenza tra il valore massimo e valore il minimo è inferiore ad un valore tabulato riferito alla numerosità dei risultati.

Nella tabella seguente sono riportati i valori di Q critico in funzione delle determinazioni effettuate:

numero misure	Q critico
3	0.94
4	0.76
5	0.65
6	0.56
7	0.50
8	0.48
9	0.45
10	0.42

Esempio:

Prendendo i valori dall'esempio precedente si ha:

$$20.00 - 18.75 = 1.25 \quad (\text{intervallo})$$

$$19.10 - 18.75 = 0.35 \quad (\text{differenza con il valore più vicino})$$

$$0.35 / 1.25 = 0.28$$

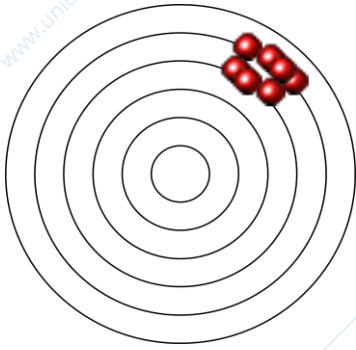
Poiché il valore è inferiore a quello tabulato per sei misure (0.56), il dato non va scartato.

Per un numero basso di misure è raccomandato l'uso della regola del Q perché più corretto della regola del 2,5 d

- Errore determinato

Si tratta di un errore sistematico (dovuto al metodo) e causa lo scostamento della media di un set di dati sperimentali dal valore vero. Influenza l'accuratezza, ma non la precisione di una misura.

Una rappresentazione pittorica dell'evento può essere la seguente (dove al centro del bersaglio è collocato il dato esatto):



I più probabili *errori determinati* sono imputabili a:

Errori strumentali: dovuti a imperfezioni e malfunzionamento degli strumenti di misura

- Variazioni di temperatura
- Contaminazione dell'equipaggiamento
- Fluttuazioni nella tensione di alimentazione
- Guasto o malfunzionamento di componenti

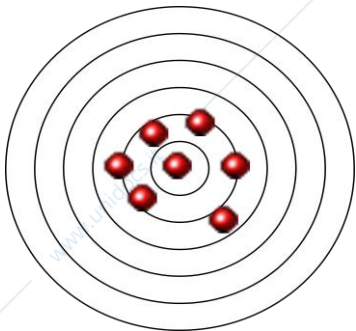
Errori di metodo: dovuti a comportamento chimico o fisico non ideale dei reagenti e delle reazioni utilizzate in un procedimento analitico

Errori di valutazione: valutazioni personali dell'analista nel corso del procedimento analitico adottato. Ovvero lo stesso evento viene valutato sempre in modo errato.

- *Errore indeterminato*

Si tratta di un errore casuale e provoca la dispersione dei dati sperimentali (più o meno simmetrica) intorno al valore medio. Influenza la precisione di una misura ma non, se il numero delle repliche è sufficientemente alto, l'accuratezza.

Una rappresentazione pittorica dell'evento può essere la seguente (dove al centro del bersaglio è collocato il dato esatto):



Gli errori indeterminati sono imputabili a:

Errori casuali dovuti all'imperizia dell'analista.

Variazioni casuali di parametri sperimentali

- temperatura, pH, pressione, umidità, punto d'arresto di una titolazione, forza ionica, ecc..
- tolleranze dei pesi delle bilance e della vetreria utilizzata per la misurazione di volumi
- incertezze dei valori desunti dagli strumenti di misura.

Gli errori casuali non possono essere eliminati, anche se possono essere ridotti operando con cura.

TRATTAMENTO ED ESPRESSIONE DEI RISULTATI

In questo capitolo verranno trattati brevemente gli aspetti che influenzano l'affidabilità di un risultato di un processo di analisi quantitativa al fine di definire il modo più corretto per esprimere il dato numerico.

- *Sensibilità degli strumenti.*

La *sensibilità* di uno strumento è costituita dalla più piccola grandezza in grado di generare uno spostamento apprezzabile rispetto all'inizio della scala dello strumento.

Così definita, la sensibilità determina il limite inferiore del campo di misura dello strumento, mentre il limite superiore è dato dal *fondo scala*. Il fondo scala rappresenta il limite superiore del campo di misura e prende anche il nome di *portata* dello strumento. L'intervallo tra i valori della sensibilità e della portata definiscono l'*intervallo di funzionamento* dello strumento.

- *Incertezza e precisione della misura.*

Ad ogni misura è associata inevitabilmente un'incertezza. Evidentemente più piccola è l'incertezza associata alla misura, migliore sarà la misura.

L'*incertezza (o errore assoluto)* rappresenta l'intervallo di indeterminazione entro il quale si suppone che il valore sia compreso.

Se si considera il rapporto tra l'incertezza e il valore della misura stessa otteniamo una grandezza adimensionale (un numero, privo cioè di unità di misura), molto utile nell'analisi degli errori, che prende il nome di *precisione (o errore relativo)*.

E' evidente che la misura con l'errore relativo minore è quella più precisa.

Infatti, si consideri il seguente esempio dove siano date due misure:

$$A = 10 \pm 1 \text{ mg}$$

$$B = 100 \pm 1 \text{ mg}$$

Entrambe le misure hanno la *stessa incertezza* ($\Delta A = \Delta B = 1 \text{ mg}$), mentre hanno *differenti precisioni*.

Nella prima misura abbiamo un errore di una unità su dieci, nella seconda abbiamo un errore di una sola unità su cento: si è allora soliti dire che la prima è una misura *precisa al 10%*, mentre la seconda *precisa al 1%*.

La *precisione di una misura* dipende quindi, oltre che dalla sensibilità dello strumento, anche dalle caratteristiche dell'oggetto da misurare. In altre parole è molto più precisa la misura, con la stessa bilancia, di una massa "più grande" rispetto ad una massa "più piccola".

La stessa cosa si verifica anche nella misura di volumi.

Come già visto gli strumenti di misura propri di un laboratorio di analisi volumetriche, sono fondamentalmente molto semplici. Si tratta, infatti, di bilance (tecniche e analitiche) e di strumenti di misura di volumi (matracchi, pipette tarate, burette).

Le comuni bilance analitiche hanno una sensibilità di 0,0001 g (0,1 mg) e quindi l'incertezza implicita associata alla misura è di $\pm 0,0001 \text{ g}$.

Le comuni bilance tecniche possiedono una sensibilità minore rispetto alle analitiche e tale sensibilità è comunemente di 0,01 g (10 mg) e quindi l'incertezza implicita associata alla misura sarà $\pm 0,01 \text{ g}$.

Anche i dispositivi di misura dei volumi hanno una sensibilità che varia a seconda del tipo di dispositivo e dell'accuratezza di fabbricazione.

La sensibilità e quindi l'incertezza associata ai vari dispositivi di misura di volumi è dichiarata esplicitamente con la notazione \pm , ad esempio un matraccio da 100 ml di classe A ha un'incertezza dichiarata dal costruttore di $\pm 0,10 \text{ ml}$, una pipetta tarata da 10 ml ha un'incertezza di $\pm 0,02 \text{ ml}$ e

infine, una buretta da 25 ml, ha un'incertezza nella misura di $\pm 0,03$ ml. La sensibilità dei vari dispositivi di misura è più esaurientemente riportata nel capitolo "Recipienti di misura nell'analisi quantitativa".

- Cifre significative e arrotondamenti

I risultati analitici vanno espressi con un numero di cifre in modo da risultare il più possibile attinente alla realtà. Ovvero il numero di cifre con cui è espresso il risultato deve essere rappresentativo della precisione fornita dal processo analitico e dagli strumenti che sono usati per la determinazione del dato analitico. Il numero minimo di cifre necessarie per esprimere al meglio, ovvero con il grado di precisione massimo, il risultato analitico sono chiamate "cifre significative". Le cifre significative sono quelle note con certezza più la successiva il cui valore è incerto. L'analista deve esprimere il risultato analitico con il *corretto numero di cifre significative*, poiché tale numero dà subito un'idea esatta del grado di precisione della misura. Se il risultato di tale misura venisse espresso con un numero di cifre significative maggiore o minore, ciò significherebbe nel primo caso attribuire alla misura un grado di precisione che non ha, e nel secondo caso sottovalutarne la precisione.

Ci sono delle semplici regole che definiscono il *numero delle cifre significative* e quante cifre significative risultano da calcoli aritmetici.

Conteggio delle cifre significative

- tutti i valori diversi da 0 rappresentano cifre significative.
 - gli zeri compresi tra numeri (diversi da 0) sono cifre significative.
 - gli zeri che precedono la prima cifra significativa non sono cifre significative.
- esempio:* in **0.00**12, gli zeri (in **rosso**) non sono cifre significative (il numero in questione ha due sole cifre significative)
- gli zeri finali sono significativi solo se presente la virgola (o punto decimale in inglese).
- esempio:* in 139**00** gli zeri in rosso non sono significativi, ma in 139**00.0** tutti gli zeri (in **verde**) sono significativi

Una volta determinato il numero di cifre significative è necessario arrotondare il valore per l'ultima (a destra) cifra significativa sulla base di semplici regole.

Regola per addizioni e sottrazioni

Il numero risultante ha lo stesso numero di *cifre decimali* del numero a minor numero di cifre decimali.

esempio:

$$\begin{array}{r} 5.36 \quad (2 \text{ cifre decimali}) \\ + 99.124 \quad (3 \text{ cifre decimali}) \\ \hline \end{array}$$

104.484

L'arrotondamento va fatto alla *seconda* cifra decimale : **104.48**

Regola per moltiplicazione e divisione

Il numero risultante (prodotto o quoziente) ha lo stesso numero di *cifre significative* del fattore con il minor numero di cifre significative.

esempio:

$$\begin{array}{r} 15.322 \quad (5 \text{ cifre significative}) \\ \times 3.12 \quad (3 \text{ cifre significative}) \\ \hline \end{array}$$

47.80464

L'arrotondamento va fatto alla *terza* cifra significativa : **47.8**

Regole per l'arrotondamento

L'arrotondamento va effettuato dopo che il calcolo è stato eseguito con la massima precisione permessa dal calcolatore.

L'arrotondamento va effettuato, di norma, prendendo in considerazione solamente la prima cifra oltre l'ultima significativa:

- se tale cifra è minore a 5, il valore dell'ultima cifra significativa rimane inalterato.
- se è maggiore di 5, il valore dell'ultima cifra significativa deve essere incrementato di un'unità.
- se è 5 :
 - ed è seguito da un numero maggiore di zero il valore dell'ultima cifra significativa deve essere incrementato di un'unità
 - ed è seguito da un certo numero di zeri, caso estremamente particolare, il valore precedente viene arrotondato al numero pari più vicino.
 - ed è seguito solo da un certo numero di zeri senza altre cifre, caso estremamente particolare, il valore precedente viene arrotondato al numero pari più vicino.

Esempi:

Arrotondare **12.5364** a 3 cifre significative. Il risultato dell'arrotondamento: **12.5**

Arrotondare **12.5776** a 3 cifre significative. Il risultato dell'arrotondamento: **12.6**

Arrotondare **1.5556** a 3 cifre significative. Il risultato dell'arrotondamento: **1.56**

LE OPERAZIONI FONDAMENTALI NELL'ANALISI QUANTITATIVA

Un qualunque procedimento di analisi quantitativa può essere considerato come risultante da una serie di operazioni. Le operazioni comuni a tutti i metodi riguardano il trattamento preliminare del campione che consiste nella conversione del campione in esame in una soluzione. Queste operazioni sono: il *campionamento*, l'*essiccazione* e la *dissoluzione*.

Campionamento

Per eseguire una qualunque determinazione quantitativa è necessario preparare, prima di tutto, un campione che rappresenti la reale composizione media del materiale in esame da analizzare e successivamente portarlo in soluzione. Nei corsi di analisi quantitativa, dove sono generalmente forniti campioni in soluzione o campioni solidi omogenei e ben macinati, questo problema non è preso in esame ma nelle analisi di prodotti tecnici o industriali, la preparazione di un campione realmente rappresentativo costituisce una delle maggiori difficoltà.

Pochi prodotti sia naturali che commerciali sono di costituzione omogenea, pertanto il campione prelevato per l'analisi la cui quantità è dell'ordine dei grammi, risulterebbe non rappresentativo e il risultato analitico poco attendibile.

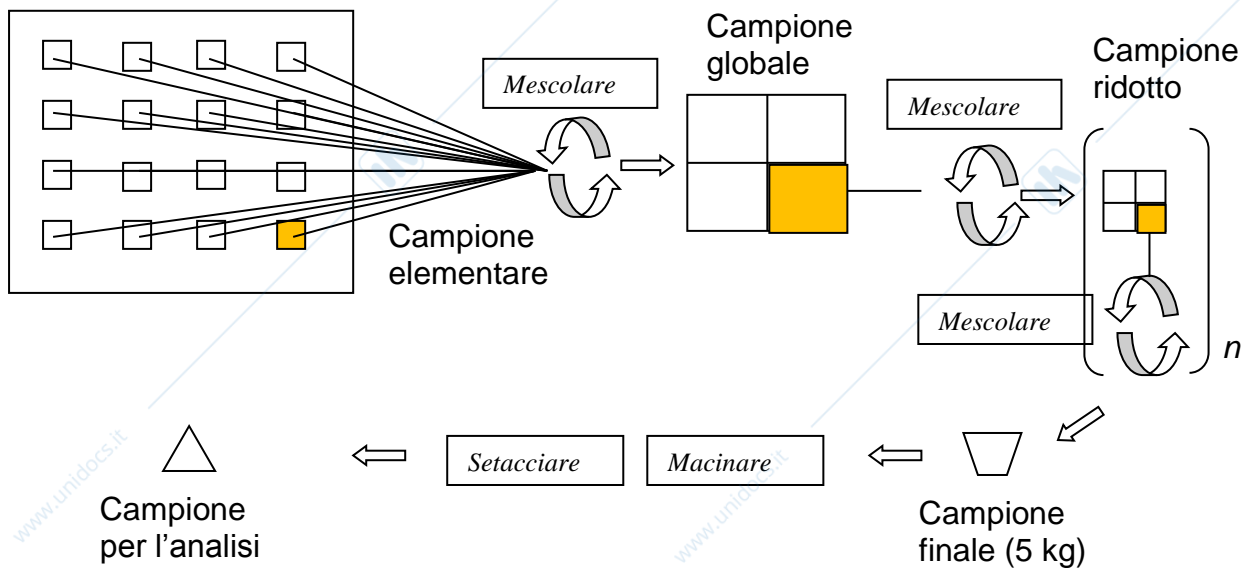
Il campionamento consiste nel prelevare un campione di dimensioni tali che, per quanto non omogeneo, esso rappresenti la composizione media del materiale in esame; esso è successivamente macinato e mescolato fino ad ottenere una polvere fine e omogenea.

La quantità di questo campione che viene portato in laboratorio, definito *campione finale*, dipende essenzialmente dalle dimensioni delle singole particelle del materiale; se queste sono grandi o mostrano tra loro notevoli variazioni, il campione deve essere necessariamente più grande che nel caso di un materiale ben macinato o con particelle di dimensioni uniformi. I pezzi grossolani sono ridotti alle dimensioni di piccole particelle in grado di passare completamente attraverso setacci a maglie metalliche finissime. Generalmente sono impiegati setacci con un numero di maglie fra 5000-10000 per cm².

La sequenza di eventi che prende il nome di "campionamento" e che porta al campione da analizzare, incomincia con il prelievo di una serie di campioni (*campione elementare*) dal materiale da campionare (*partita da campionare*). I campioni elementari prelevati, raggruppati e mescolati, costituiscono il *campione globale*. Una porzione rappresentativa di questo campione costituisce il *campione ridotto*. Successivi mescolamenti e prelievi di porzioni rappresentative, riducono il "campione ridotto" fino alle dimensioni del *campione finale*, di solito intorno a 5 Kg di materiale. Dal campione finale macinato, setacciato ed eventualmente essiccato, vengono effettuate più determinazioni analitiche.

Lo schema di campionamento è riportato nella figura seguente.

Partita da campionare

*Essiccazione del campione*

Tutte le sostanze contengono un certo grado di umidità (*acqua igroscopica*) che può non essere costante in conseguenza del possibile scambio di acqua fra l'atmosfera ed il campione. In conseguenza di ciò il contenuto in acqua deve essere ben determinato perché i risultati analitici possano avere significato.

Alcuni campioni possono essere completamente disidratati mediante prolungato riscaldamento ma tale trattamento può portare ad effetti secondari (perdita CO_2 , ossidazione solfuri ecc) e il campione può risultare non più rappresentativo del campione iniziale. Per eliminare queste difficoltà anziché ottenere uno stato assolutamente anidro si preferisce ottenere uno stato di essiccamento riproducibile e pertanto nella maggior parte delle analisi si usa seccare il materiale a $105-110^\circ$ prima di iniziare la determinazione e riportare il risultato dell'analisi relativo al prodotto seccato. L'essiccamento a 110° può non allontanare tutta l'acqua assorbita specialmente in campioni che contengono ossidi di ferro o di alluminio e neanche tutta l'acqua combinata nel caso di molte sostanze idratate. Per un qualunque campione tuttavia l'essiccamento ad una temperatura determinata (di solito $105-110^\circ$) fornisce una base costante di riferimento assolutamente riproducibile.

Oltre all'acqua igroscopica esiste un'acqua che è un costituente del cristallo della sostanza, si tratta di *acqua di cristallizzazione* tipica delle sostanze idrate.

Il numero di molecole di acqua di cristallizzazione è costante e caratteristica per un tipo di molecola.

Per alcune sostanze cristalline l'essiccamento a 110° può portare alla perdita di acqua di cristallizzazione e pertanto in alcune analisi i risultati possono essere riferiti al peso di materiale seccato ad un definito valore di umidità anziché alla temperatura di $105-110^\circ$.

Il campione seccato viene custodito in essiccatori (fig.8); questi sono dei recipienti in cui è possibile ottenere e mantenere un'atmosfera a basso tenore di umidità, ponendo in esso delle sostanze che hanno la proprietà di fissare l'acqua. Quelle più comunemente impiegate sono:

P_2O_5 (2×10^{-5})
 BaO (7×10^{-4})
 $Mg(ClO_4)_2$ (2×10^{-3})
 H_2SO_4 (3×10^{-3})
 $CaSO_4$ (4×10^{-3})
 $CaCl_2$ (0.36)
 gel di silice con indicatore

I numeri fra parentesi indicano i *mg* di acqua in un *litro* di aria in equilibrio con la sostanza indicata. Il cloruro di calcio è l'essiccante più usato nonostante la sua limitata azione disidratante.

L'essiccamento risulta più efficace se periodicamente è creato, all'interno dell'essiccatore, un vuoto parziale (per gli essiccatori predisposti (fig.8b))

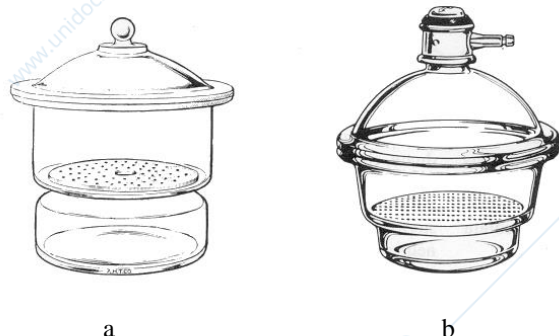


Fig. 8. Essiccatori

Dissoluzione

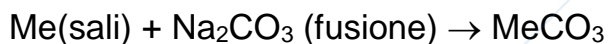
Non può essere seguito un procedimento di carattere generale per portare in soluzione un campione per l'analisi, ogni materiale può aver bisogno di un trattamento specifico particolare.

I procedimenti più frequentemente impiegati per la dissoluzione di un campione vengono riassunti nella seguente tabella:

Campione	Trattamento
leghe ferrose	acidi (HCl ; H_2SO_4 ; $HClO_4$ 70%)
leghe non-ferrose	KNO_3
minerali di ferro	HCl (o fusione con $KHSO_4$)
rocce calcaree	HCl (o fusione con Na_2CO_3)
rocce silicee-argille	fusione con Na_2CO_3
minerali di rame	fusione con Na_2CO_3 e Na_2O_2
piriti (FeS_2)	fusione con Na_2CO_3 e Na_2O_2
cassiterite (SnO_2)	fusione con Na_2CO_3 e S

Da questa tabella si può osservare che i metodi di attacco più comuni sono il trattamento con acidi o la fusione con fondenti. Ad esempio mediante fusione con carbonato sodico, che è il fondente più comunemente impiegato, la silice viene solubilizzata come silicato di sodio e molti sali metallici sono trasformati nei corrispondenti carbonati, che si disciolgono facilmente negli acidi. La aggiunta di perossido di sodio è normalmente impiegata invece quando sia necessario eseguire una fusione ossidante come ad esempio per i sali di cromo, che debbono essere ossidati a cromati. L'uso di un

fondente quale bisolfato di potassio si rende necessario invece per solubilizzare ossidi quali gli ossidi di ferro o di alluminio.



Seconda parte : ANALISI QUANTITATIVA classica

ANALISI VOLUMETRICHE

DEFINIZIONI

Analisi volumetriche : analisi in cui la quantità di una sostanza presente in un campione viene determinata (*titolazione*) misurando il volume di soluzione di concentrazione esattamente nota necessario per compiere una determinata reazione.

Titolo, soluzione titolata : concentrazione di una soluzione (ricavata attraverso una titolazione)

Punto di equivalenza o punto stechiometrico o punto finale teorico : quantità di soluzione titolata aggiunta nel corso di una titolazione che è equivalente alla quantità di sostanza cercata.

Indicatore : sostanza in grado di esibire delle marcate variazioni in corrispondenza del punto di equivalenza.

Punto finale della titolazione : punto in cui l'indicatore varia di colore.

Il punto finale e il punto di equivalenza non vengono di solito a coincidere perfettamente. Questa differenza può essere calcolata in base alle caratteristiche dell'indicatore impiegato e del sistema analizzato.

PROCEDIMENTI E REQUISITI NECESSARI PER UN'ANALISI VOLUMETRICA

I procedimenti di titolazione dell'analisi volumetrica, possono essere classificati in due grandi categorie:

a) metodi basati sulla combinazione di ioni:

Reazioni di neutralizzazione (alcalimetria e acidimetria).



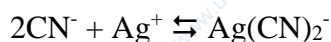
Reazioni di precipitazione

Ad esempio :



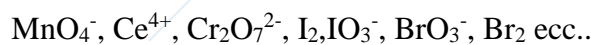
Reazioni di formazione di complessi o di composti poco dissociati

Ad esempio :



b) *metodi basati sul trasferimento di elettroni.*

Mediante agenti ossidanti quali:



e agenti riducenti quali:



Una reazione chimica può essere utilizzata per un'analisi volumetrica, solo se soddisfa i seguenti requisiti:

- 1) *L'equilibrio della reazione fra soluzione in esame e soluzione titolata deve essere rapido.*
- 2) *La reazione deve poter essere espressa con un'unica equazione in cui siano verificate le relazioni stechiometriche*
- 3) *La reazione deve essere praticamente completa in corrispondenza del punto di equivalenza.*
- 4) *La soluzione deve esibire una distinta variazione di qualche proprietà al punto di equivalenza.*
- 5) *Deve esserci un indicatore che sia in grado di rilevare questa variazione.*

Quando, per vari motivi, non sia possibile ricorrere all'uso di indicatori chimici il punto di equivalenza di una titolazione può essere stabilito per via chimico-fisica. Possono essere impiegati procedimenti elettrometrici quali la variazione del potenziale di un elettrodo nel corso della titolazione (titolazioni potenziometriche), la variazione di conducibilità (titolazioni conduttometriche) o la variazione di corrente in seguito ad elettrolisi della soluzione in esame (titolazioni amperometriche).

I vantaggi dell'analisi volumetrica

I procedimenti volumetrici sono preferiti rispetto ai vecchi metodi gravimetrici (non presenti nella EP) in quanto molto più rapidi e meno delicati e laboriosi mancando di procedure come la filtrazione, il lavaggio, la calcinazione ecc.

Sono talvolta anche più accurate specialmente in quei casi in cui la concentrazione di un reattivo è determinata impiegando sostanze e procedimenti identici a quelli seguiti nelle operazioni di titolazione del campione incognito.

SOLUZIONI TITOLATE (SOLUZIONI A CONCENTRAZIONE DEFINITA)

Le soluzioni aventi una concentrazione esatta (da usare come soluzioni titolanti), possono essere preparate con titolo esattamente noto in partenza attraverso una pesata esatta della sostanza (ciò è possibile solo per alcune sostanze), oppure con titolo approssimato. La concentrazione esatta è successivamente determinata con la precisione richiesta.

a) **Soluzioni con titolo noto in partenza.** - Queste soluzioni si ottengono semplicemente sciogliendo e portando a un dato volume esatto, una certa quantità di sostanza esattamente pesata.

Questo modo di procedere può essere impiegato solo quando i reattivi sono sostanze solide, a composizione chimica definita e facilmente pesabili in stato di assoluta purezza. Questi reattivi prendono allora il nome di *sostanze madri*, o *standard primari*.

Affinché un reattivo possa essere considerato una sostanza madre, deve soddisfare i seguenti requisiti:

1) *essere ottenibile allo stato puro. L'umidità è l'unica impurezza consentita, in quanto può essere eliminata previo riscaldamento a 105-130°C. Perciò le sostanze madri, tranne quelle che contengono acqua di cristallizzazione, devono essere inalterabili alla temperatura di essiccaamento.*

2) *reagire secondo una reazione chimica ben definita, con punto finale apprezzabile.*

3) *non subire variazione di peso all'aria (sostanze non igroscopiche né facilmente ossidabili dall'ossigeno).*

4) *non reagire col solvente*

5) *possedere un peso molecolare e di conseguenza un peso equivalente abbastanza elevato, allo scopo di rendere minimo l'errore di pesata del campione; quanto più alto è il peso molecolare tanto maggiore è la quantità di sostanza madre da pesare per ottenere una soluzione di data molarità e normalità.*

Le *sostanze madri* più in uso nell'analisi volumetrica sono le seguenti:

metalli: Ag (di coppella), Cu (elettrolitico), Fe (elettrolitico)

ossidi: HgO, ZnO

anidridi: As₂O₃

acidi: H₂C₂O₄·2H₂O

sali: FeSO₄; (NH₄)₂SO₄·6H₂O; KBrO₃; KHC₈H₄O₄ (ftalato acido di K); KH(JO₃)₂; KJO₃;

K₂Cr₂O₇; NaCl; Na₂CO₃; Na₂C₂O₄; Na₂B₄O₇·10H₂O; (NH₄)₂Ce(NO₃)₆.

b) **Soluzioni con titolo approssimato da controllare.** Quando il reattivo col quale si deve preparare una soluzione titolata non presenta i requisiti di una "sostanza madre", è prelevata una quantità corrispondente all'incirca alla quantità teorica, e dopo aver portato a volume la relativa soluzione, si determina con precisione il titolo.

In questi casi, che sono i più numerosi, la preparazione delle soluzioni a concentrazione nota necessita come operazione finale, un vero e proprio dosaggio volumetrico.

Di regola si sceglie di prelevare una quantità di sostanza un poco superiore alla quantità teorica, allo scopo di tenere conto:

- della sua instabilità all'aria,
- delle eventuali impurezze che l'accompagnano,
- delle reazioni secondarie che intervengono dopo averla disciolta in acqua,
- infine perché una soluzione con titolo superiore al teorico può essere corretta facilmente mediante diluizione.

Le modalità per la preparazione di queste soluzioni variano a seconda che il reattivo si trova allo stato solido oppure in soluzione più o meno concentrata.

Le sostanze solide sono pesate con bilancia tecnica e sciolte, in un opportuno recipiente, con un volume approssimato di solvente.

Per i reattivi in soluzione come la maggior parte degli acidi minerali, l'ammoniaca ecc., prima di prelevarne una data quantità, occorre conoscerne la concentrazione.

Il prelievo, in questi casi, è effettuato con cilindri o pipette graduate poiché non è richiesta una precisione elevata dal momento che il titolo esatto è determinato successivamente.

La determinazione della concentrazione (titolo) è eseguita o mediante un reattivo scelto fra le sostanze madri, oppure mediante un reattivo in soluzione a titolo noto. Di solito il controllo è eseguito subito dopo aver preparato la soluzione, tranne nel caso in cui la sostanza disciolta è

capace di reagire con le impurezze normalmente presenti nel solvente che nel caso dell'acqua sono principalmente O_2 , CO_2 , e sostanze organiche. In questi casi (come la soluzione di $KMnO_4$) la soluzione va controllata dopo alcuni giorni dalla sua preparazione, per dar modo al titolo di stabilizzarsi, il che avverrà quando la sostanza disciolta avrà terminato di reagire con le impurezze presenti nel solvente.

Per il controllo del titolo è necessario usare una quantità di reattivo (sostanza madre o soluzione a concentrazione nota) tale da reagire con un volume di soluzione da titolare inferiore al contenuto di una buretta. D'altra parte questo volume non deve essere troppo piccolo (ad es. inferiore a 10 ml) altrimenti è più sensibile, come precedentemente detto, l'errore relativo alla lettura della buretta.

ESPRESSIONI PER DEFINIRE LA CONCENTRAZIONE

Nell'uso corrente si possono usare diverse espressioni per definire la concentrazione di una soluzione.

Molarità Formalità

Rappresenta l'unità di misura della concentrazione più comunemente usato insieme alla *normalità* (vedi avanti).

Ha come simbolo **M** ed esprime il **numero di moli o grammomolecole disciolte in un litro (dm^3) di soluzione o millimoli millilitro (cm^3) di soluzione.**

La millimole (mM) rappresenta la millesima parte del peso di una mole.

La mole rappresenta il numero di grammi di una sostanza pari al suo peso molecolare.

La preparazione pratica di una soluzione a concentrazione nota avviene in diverse fasi :

- 1- pesata esatta della sostanza con una bilancia analitica in un opportuno recipiente a collo largo (becher, capsula, pesafiltri)
- 2- trasporto della sostanza in un recipiente il cui volume è stato determinato con esattezza (matraccio tarato).
- 3- aggiunta nel matraccio di un volume di solvente in quantità non superiore della metà del volume del matraccio
- 4- solubilizzazione completa attraverso l'agitazione della soluzione
- 5- diluizione a volume, ossia aggiunta di solvente fino al segno che rappresenta il volume nominale del matraccio
- 6- omogeneizzazione finale ottenuta agitando accuratamente e capovolgendo il matraccio tappato.

Il termine molarità è applicato normalmente anche a quelle soluzioni che contengono molecole il cui peso molecolare non è fisicamente definito, come nel caso dei composti cristallini a reticolo ionico ($NaCl$). In questi sarebbe opportuno parlare di *formalità* (**F**) ossia il **numero di grammiformula per litro di soluzione**. Per grammoformula si intende il peso in grammi corrispondente al peso della formula empirica con la quale viene descritto il sale.

Normalità

Ha come simbolo **N** ed esprime il **numero di grammoequivalenti (equivalenti) disciolti in un litro di soluzione.**

Per milliequivalente si intende la millesima parte dell'equivalente.

Il grammoequivalente rappresenta il peso equivalente espresso in grammi. Il peso equivalente è uguale al peso molecolare diviso per il rapporto stechiometrico della reazione considerata :

- per le reazioni di combinazioni di ioni come nel caso di una reazione acido base il peso equivalente di un acido è rappresentato dal peso molecolare diviso il numero di protoni sostituiti nella reazione di neutralizzazione (in un acido monoprotico il peso equivalente coincide con il peso molecolare)

- per le reazioni in cui c'è trasferimento di elettroni (reazioni di ossidoriduzione) il peso equivalente è dato dal peso molecolare diviso il numero totale di elettroni scambiati dalla molecola nella reazione

In una reazione il rapporto tra il numero di equivalenti tra i due reagenti è sempre di 1:1 ossia in ogni reazione un equivalente di un reagente si combina con un equivalente dell'altro reagente.

La preparazione pratica di una soluzione a normalità nota avviene nello stesso modo descritto per la molarità.

Molalità

Rappresenta il numero di moli disciolti in 1000 g di solvente.

Composizione percentuale

Percentuale in peso

E' il rapporto tra peso del soluto e il peso totale della soluzione moltiplicato 100 (i pesi devono essere espressi nella stessa unità di misura).

Si indica con l'abbreviazione **p/p** o **w/w**.

La preparazione pratica di una soluzione a composizione percentuale p/p nota avviene nei seguenti passaggi:

- 1- il soluto viene pesato in bilancia analitica (se si vuole la concentrazione esatta) o tecnica all'interno di un opportuno recipiente
- 2- il soluto viene trasportato in un recipiente più grande a peso noto (tarato) dove vengono aggiunti un numero di grammi di solvente tali da raggiungere il peso desiderato
- 3- la soluzione viene agitata accuratamente in modo da renderla perfettamente omogenea (non deve rimanere soluto indisciolto)

Percentuale in volume

E' il rapporto tra il volume del soluto e il volume totale della soluzione moltiplicato 100 (i volumi devono essere espressi nella stessa unità di misura)

Si indica con l'abbreviazione **v/v**.

Questo modo di esprimere una composizione percentuale è tipica per le soluzioni ottenute tra due liquidi e in questo caso la definizione di soluto e solvente non ha molto senso, comunque per soluto si intende la sostanza presente in minore quantità.

La preparazione pratica di una soluzione a composizione percentuale v/v nota avviene nei seguenti passaggi:

- 1- il volume del soluto e il solvente vengono determinati con opportuni sistemi di misurazione a seconda della precisione voluta (cilindro graduato, pipette tarate o graduate, micropipette, burette, siringhe ecc.)
- 2- i due componenti la soluzione sono aggiunti in un unico recipiente e mescolati accuratamente in modo da rendere la soluzione perfettamente omogenea.

Percentuale peso/volume

E' il rapporto tra il peso del soluto (espresso in grammi) e il volume totale della soluzione (espresso in millilitri) moltiplicato 100.

Si indica con l'abbreviazione **p/v** o **w/v**.

ATTENZIONE : in assenza di notazione specifica quando si parla di percentuale si intende la percentuale peso/peso (p/p).

Altri modi di esprimere una concentrazione

Queste espressioni sono usate soprattutto per esprimere i risultati analitici; pertanto, molto spesso sono riferiti ad una soluzione in cui il solvente non è una sostanza ben determinata, ma piuttosto ad una matrice complessa come un liquido biologico (urina, sangue ecc..), aria, acque di scarico ecc..

Parti per mille

Grammi di sostanza in 10^3 grammi di soluzione : $g(\text{sostanza}) / g(\text{soluzione}) \times 10^3$

Si indica con l'abbreviazione **ppt**.

Parti per milione

Grammi di sostanza in 10^6 grammi di soluzione : $g(\text{sostanza}) / g(\text{soluzione}) \times 10^6$

Si indica con l'abbreviazione **ppm**.

Parti per miliardo

Grammi di sostanza in 10^9 grammi di soluzione : $g(\text{sostanza}) / g(\text{soluzione}) \times 10^9$

Si indica con l'abbreviazione **ppb**.

LE CURVE DI TITOLAZIONE

Per *curva di titolazione* si intende il grafico della funzione che lega i ml di titolante aggiunto con la concentrazione della sostanza da dosare o della sostanza titolante.

Quando l'equilibrio della reazione tra titolante e sostanza da dosare NON è influenzata da altri equilibri, l'equazione generale della curva di titolazione è la seguente :

$$x = \frac{A - y}{A + y}$$

L'equazione, come riportata, descrive la curva di titolazione se le concentrazioni del titolante e del titolando sono le stesse (nel caso più semplice, uguale a 1) e il rapporto stechiometrico sia di 1:1.

Con x si indica la concentrazione del titolando, con y il volume di titolante aggiunto e con A il volume della soluzione in cui è sciolto inizialmente la sostanza da dosare.

Nel caso di concentrazioni diverse la formula diventa:

$$x = \frac{A \times c - y \times c'}{A + y}$$

Con c si intende la concentrazione molare iniziale della sostanza da dosare e con c' la concentrazione del titolante.

Comunque la forma grafica della funzione non dipende dalle concentrazioni che possono essere considerate costanti.

La funzione, nel dominio positivo, per $y \leq A$ assume la forma grafica riportata in figura 9.

Per un volume $A = 50$ si hanno i seguenti valori di x :

y (vol.titolante)	x (conc.titolando)
0	1
10	0.666667
20	0.428571
30	0.25
40	0.111111
45	0.052632
47	0.030928
49	0.010101
49.5	0.005025
49.9	0.001001
49.99	0.0001
49.999	1E-05

Come si noterà l'andamento (x vs y) è pressoché lineare, ma nelle immediate vicinanze della uguaglianza di y (volume del titolante) al volume A (volume iniziale del titolando), per piccole variazioni di y si hanno variazioni di x (concentrazione del titolando) di diversi ordini di grandezza come dimostra il grafico logaritmico (fig.9).

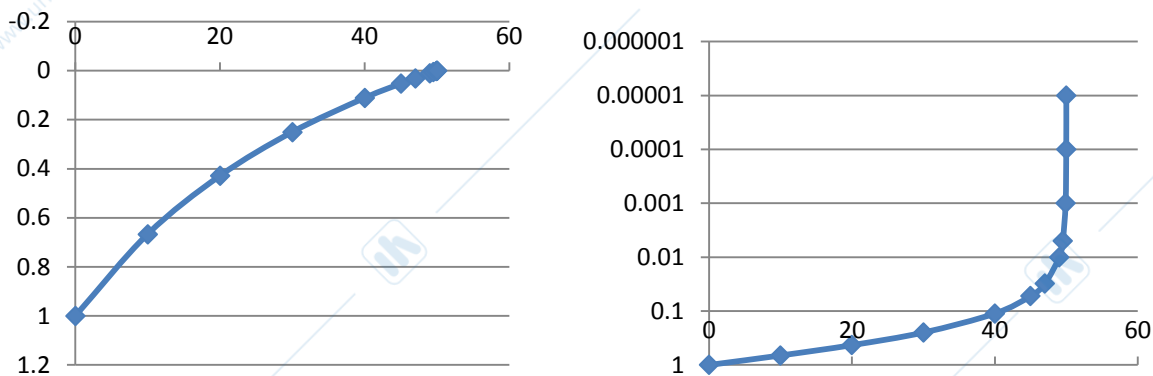


Fig.9 Grafico lineare e logaritmico di una curva di titolazione.

Questo dimostra come al termine della titolazione si abbiano variazioni notevoli di concentrazione del titolando e sono proprio queste variazioni che ci permettono, sperimentalmente, di determinare il punto finale della titolazione.

GLI ERRORI NELLE ANALISI VOLUMETRICHE

I più probabili **errori determinati**, non imputabili all'analista, nella pratica delle determinazioni volumetriche, sono dovuti a:

1) *Volume dei recipienti non sufficientemente preciso*

2) *Errori nella determinazione della concentrazione delle soluzioni titolanti (soluzioni standard) dovuti a:*

- *grado di purezza della sostanza madre*

- *decomposizione della soluzione*

- *variazioni di temperatura. Ad esempio una variazione di 5°C provoca una variazione nel volume di 1 parte per 1000. E' pertanto consigliabile che le varie diluizioni ad un definito volume siano fatte con solvente a temperatura ambiente e che la soluzione sia impiegata alla temperatura in cui è stata preparata.*

3) *Errori relativi all'indicatore impiegato. La differenza fra punto finale teorico e quello sperimentale possono essere sensibili.*

Gli **errori indeterminati**, sono in massima parte imputabili alla negligenza dell'analista, non possono essere completamente eliminati, ma prestando la giusta attenzione e riducendo al minimo il numero delle operazioni possono essere notevolmente ridotti.

Come norma di carattere generale si tenga presente che tanto maggiore è il numero delle determinazioni eseguite su di un dato campione e tanto minore è l'errore medio indeterminato.

Gli errori più frequenti sono:

1) *errori di pesata*

2) *perdite di campione e di soluzione titolante (tenuta della buretta difettosa)*

3) *soluzioni non omogenee (difetto di mescolamento)*

4) *errori di diluizione*

5) *scolamento delle soluzioni da burette e pipette troppo rapido*

6) *punto di viraggio mal giudicato.*

CIFRE SIGNIFICATIVE NELL'ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Calcolo delle cifre significative necessarie per esprimere correttamente una concentrazione (MOLARITA') di una soluzione standard.

Si possono incontrare due situazioni ovvero la preparazione di una soluzione standard per una sostanza non madre e per una sostanza madre.

- Soluzione standard da sostanza NON madre

La determinazione della concentrazione necessita di una titolazione con una soluzione standard (soluzione di sostanza madre). Supponendo che il consumo di soluzione sia da 10 a 99 ml, il numero di cifre significative sarà 4 se il numero di cifre significative con la quale è espressa la concentrazione della soluzione madre, è superiore o uguale a 4.

In questo caso il numero delle cifre significative è determinato dal volume di soluzione misurato dalla buretta. Tale misura se maggiore di 10 ml presenta 4 cifre significative poiché la buretta ha, solitamente, un'incertezza di $\pm 0,03$ ml.

Questo implica che l'arrotondamento sia fatto per la 4^a cifra significativa.

Esempio: *Soluzione di HCl 0.1 M*

Preparare, con precisione, 100 ml di soluzione di Na₂CO₃ (pm 105,993) circa 0.05 M (Soluzione standard). Prelevare con precisione 10 o 20 ml di soluzione di Na₂CO₃ nella beuta da titolazione e titolare con la soluzione di HCl (indicatore METILARANCIO).

Supponiamo di pesare con la bilancia analitica 0,5300 g di Na₂CO₃ e di scioglierlo in 100,00 ml (matraccio tarato). La molarità della soluzione di Na₂CO₃ è data da:

$$\frac{0,5300}{105,993} \times \frac{1}{0,10000} = 0,0500033 \text{ M (Na}_2\text{CO}_3\text{)}$$

Il peso del carbonato presenta 4 cifre significative (la sensibilità della bilancia è di 0,0001 g).

Il volume del matraccio da "100 ml" ha 5 cifre significative (l'incertezza del volume è sul centesimo di ml ($\pm 0,03$ ml)).

In questo caso, per le regole sopra riportate, la molarità del carbonato va scritta con 4 cifre significative e arrotondata alla 4^a cifra (0,05000 M).

Supponiamo di prelevare 10,00 ml di soluzione di carbonato e di titolarla con 10,00 ml di soluzione di HCl. La molarità della soluzione di HCl dovrà essere scritta con 4 cifre significative:

$$\frac{10,00 \times 0,05000 \times 2}{10,00} = 0,1000 \text{ M (HCl)}$$

Infatti, il volume prelevato con la pipetta tarata "da 10 ml" ha 4 cifre significative come il volume misurato con la buretta; infatti, entrambi gli strumenti hanno un'incertezza sul centesimo di ml ($\pm 0,03$ ml.)

- Soluzione standard di sostanza MADRE

La soluzione è preparata direttamente per pesata della sostanza e solubilizzazione della stessa in un volume esatto.

In questo caso il numero di cifre significative è determinato dalla quantità di massa della sostanza o dal volume.

Esempio: *Soluzione di KBrO₃ 0.0166 M (pm 167.02 (sostanza madre))*

Supponiamo di pesare con la bilancia analitica 0,2800 g di KBrO₃ e di scioglierlo in 100,00 ml (matraccio tarato). La molarità della soluzione di KBrO₃ è data da:

$$\frac{0,2800}{167,02} \times \frac{1}{0,10000} = 0,016764459 \text{ M (KBrO}_3\text{)}$$

In questo caso, per le regole sopra riportate, la molarità del bromato va scritta *arrotondata alla 4^a cifra significativa (0,01676 M)*. Il numero delle cifre significative è determinato dalla quantità di massa prelevata (4 cifre significative).

Esempio: *Soluzione di KBrO₃ 0.1660 M (pm 167.02 (sostanza madre))*

Supponiamo di pesare con la bilancia analitica 2,8000 g di KBrO₃ e di scioglierlo in 100,00 ml (matraccio tarato). La molarità della soluzione di KBrO₃ è data da:

$$\frac{2,8000}{167,02} \times \frac{1}{0,10000} = 0,16764459 \text{ M (KBrO}_3\text{)}$$

In questo caso, per le regole sopra riportate, la molarità del bromato va scritta *arrotondata alla 5^a cifra significativa (0,16764 M)*. Il numero delle cifre significative è determinato dalla quantità di massa prelevata (5 cifre significative) e dal volume (5 cifre significative).

Calcolo delle cifre significative necessarie per esprimere correttamente un risultato analitico (QUANTITA' di SOSTANZA presente nel CAMPIONE).

Supponendo che il consumo di soluzione titolante sia da 10 a 99 ml, il *numero di cifre significative sarà 4* se il numero di cifre significative con la quale è espressa la concentrazione della soluzione titolante, è superiore o uguale a 4.

Anche in questo caso il numero delle cifre significative è determinato dal volume di soluzione misurato dalla buretta. Tale misura se maggiore di 10 ml presenta 4 cifre significative poiché la buretta ha, solitamente, un'incertezza di $\pm 0,03$ ml.

Questo implica che *l'arrotondamento sia fatto per la 4^a cifra significativa*.

Esempio: *Determinazione del SODIO IDROSSIDO in soluzione*

Il processo analitico ha fornito il seguente risultato: 57,3258 mg di NaOH.

Il risultato va espresso come 57,33 mg di NaOH.

Esempio: *Determinazione del MAGNESIO SOLFATO EPTAIDRATO in soluzione*

Il processo analitico ha fornito il seguente risultato: 3399,3579 mg di MgSO₄ 7H₂O.

Il risultato va espresso come 3399 mg di MgSO₄ 7H₂O.

VOLUMETRIA CON REAZIONI DI NEUTRALIZZAZIONE

ASPETTI TEORICI DELLE REAZIONI DI NEUTRALIZZAZIONE

Qualunque metodo analitico di neutralizzazione in soluzione acquosa è basato sulla combinazione fra ioni idrogeno e ioni ossidrili per formare acqua ($H^+ + OH^- \rightleftharpoons H_2O$) oppure sulla combinazione di ioni idrogeno con l'anione di un acido debole per formare un acido debole ($H^+ + A^- \rightleftharpoons HA$). E' importante conoscere le condizioni di equilibrio e quindi la concentrazione idrogenionica durante la titolazione e in particolare al punto stechiometrico e nelle immediate vicinanze. Gli equilibri che si possono presentare nel corso delle varie titolazioni sono riconducibili ai seguenti casi fondamentali:

- soluzione contenente un acido o una base forte
- soluzione contenente un acido o una base debole
- soluzione contenente un sale idrolizzabile
- soluzione contenente un acido o base debole ed il relativo sale (soluz.tampone)
- soluzione contenente un sale acido

a) *Soluzione contenente un acido o una base forte*: la concentrazione idrogenionica di questa soluzione è praticamente uguale alla concentrazione analitica dell'acido o della base essendo questi elettroliti forti e cioè completamente dissociati.

b) *Soluzione contenente un acido o una base debole*: Indicando con c la concentrazione analitica dell'acido debole, la cui costante di ionizzazione è K_a con $c \gg [H^+]$ si ha :

$$[H^+] = \sqrt{K_a \cdot C} \quad \text{pH} = \frac{1}{2} \text{p}K_a - \frac{1}{2} \log c$$

Analogamente per una base debole la cui costante di ionizzazione è K_b si ha:

$$[OH^-] = \sqrt{K_b \cdot C} \quad \text{pOH} = \frac{1}{2} \text{p}K_b - \frac{1}{2} \log c$$

c) *Soluzione contenente un sale che si idrolizza*: BCl sale da acido forte e base debole alla concentrazione analitica, c

$$[H^+] = \sqrt{\frac{K_w}{K_b} \cdot C} \quad \text{pH} = \frac{1}{2} \text{p}K_w - \frac{1}{2} \text{p}K_b - \frac{1}{2} \log c$$

Per NaA sale da acido debole e base forte alla concentrazione c :

$$[OH^-] = \sqrt{\frac{K_w}{K_a} \cdot C} \quad \text{poiché } [OH^-] = K_w / [H^+] \quad \text{si ha :}$$

$$[H^+] = \sqrt{\frac{K_w \cdot K_a}{c}} \quad \text{pH} = \frac{1}{2} \text{pK}_w + \frac{1}{2} \text{pK}_a + \frac{1}{2} \log c$$

d) *Soluzione contenente un tampone* : HA acido debole alla concentrazione analitica C_a in presenza di un suo sale alla concentrazione C_s :

$$[H^+] = \frac{C_a - [H^+]}{C_s + [H^+]} \cdot K_a \quad [H^+] \approx \frac{C_a}{C_s} \cdot K_a \quad \text{da cui:}$$

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log (C_s / C_a)$$

BOH base debole alla concentrazione analitica C_b in presenza di un suo sale alla concentrazione C_s :

$$[OH^-] = \frac{C_b - [OH^-]}{C_s + [OH^-]} \cdot K_b \quad [OH^-] \approx \frac{C_b}{C_s} \cdot K_b \quad \text{da cui:}$$

$$[H^+] \approx \frac{K_w \cdot C_s}{K_b \cdot C_b} \quad \text{si ha:} \quad \text{pH} = \text{pK}_w - \text{pK}_b - \log C_s + \log C_b$$

e) *Soluzione contenente un sale acido*: se la soluzione contiene un sale acido, (HCO_3^- , HC_2O_4^- , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , ecc) alla concentrazione c , la cui dissociazione è determinata dagli equilibri espressi dai valori delle costanti di ionizzazione K_1 e K_2 e se $c \gg K_1$ e $K_2 \gg K_w$ la concentrazione idrogenionica è calcolabile mediante la seguente espressione :

$$[H^+] = \sqrt{K_1 \cdot K_2} \quad \text{pH} = \frac{1}{2} (\text{pK}_1 + \text{pK}_2)$$

Curve di titolazione acido-base

Per *curva di titolazione acido-base* si intende il grafico della funzione che lega i ml di titolante aggiunto con il pH della soluzione

Durante il corso di una titolazione si possono incontrare diverse condizioni di equilibrio.

Curva di titolazione di acidi forti o basi forti

E' il caso più semplice. L'acido e la base sono completamente dissociati



La curva di titolazione è descritta dalla funzione generale $x = \frac{A-y}{A+y}$

Infatti supponendo di titolare 50 ml di HCl 0,1M con NaOH della stessa molarità, la concentrazione del H^+ prima del punto equivalente, è calcolata dalla seguente equazione :

$$[H^+] = \frac{(50 - ml_{\text{NaOH}}) \times 0,1}{50 + ml_{\text{NaOH}}}$$

Al punto equivalente (ml NaOH = 50) la $[H^+]$ non è 0 (come risulta dalla equazione) ma, ovviamente, 10^{-7} .

Dopo il punto equivalente :

$$[H^+] = 10^{-14} / \frac{(ml_{NaOH} - 50) \times 0,1}{50 + ml_{NaOH}}$$

Nella tabella seguente sono riportati i valori di concentrazione di H^+ e del pH a diversi volumi di aggiunta di NaOH con i relativi calcoli.

Con la stessa equazione, dopo il punto equivalente è calcolata la concentrazione di OH^- e convertita, considerando l'equilibrio di autoprotolisi dell'acqua, in concentrazione di H^+ .

I relativi valori di pH sono riportati nel grafico in funzione dei ml di NaOH aggiunti (fig. 9a).

ml NaOH 0.1M	pH	
0	1	$[H^+] = 50 \times 0.1 / 50 = 10^{-1}$
40.91	2	$[H^+] = (50 - 40.91)0.1 / (50 + 40.91) = 10^{-2}$
49.01	3	$[H^+] = (50 - 49.01)0.1 / (50 + 49.01) = 10^{-3}$
49.9	4	$[H^+] = (50 - 49.9)0.1 / (50 + 49.9) = 10^{-4}$
49.99	5	$[H^+] = (50 - 49.99)0.1 / (50 + 49.99) = 10^{-5}$
50	7	$[H^+] = K_w / [OH^-] = 10^{-14} / 10^{-7} = 10^{-7}$
50.01	9	$[OH^-] = (50.01 - 50)0.1 / (50 + 50.01) = 10^{-5}$ $[H^+] = K_w / [OH^-] = 10^{-14} / 10^{-5} = 10^{-9}$
50.1	10	$[OH^-] = (50.1 - 50)0.1 / (50 + 50.1) = 10^{-4}$ $[H^+] = K_w / [OH^-] = 10^{-14} / 10^{-4} = 10^{-10}$
51.01	11	$[OH^-] = (51.01 - 50)0.1 / (50 + 51.01) = 10^{-3}$ $[H^+] = K_w / [OH^-] = 10^{-14} / 10^{-3} = 10^{-11}$
61.1	12	$[OH^-] = (61.1 - 50)0.1 / (50 + 61.1) = 10^{-2}$ $[H^+] = K_w / [OH^-] = 10^{-14} / 10^{-2} = 10^{-12}$
100	12.5	$[OH^-] = (100 - 50)0.1 / (50 + 100) = 3.33 \times 10^{-2}$ $[H^+] = K_w / [OH^-] = 10^{-14} / 3.33 \times 10^{-2} = 3 \times 10^{-13}$

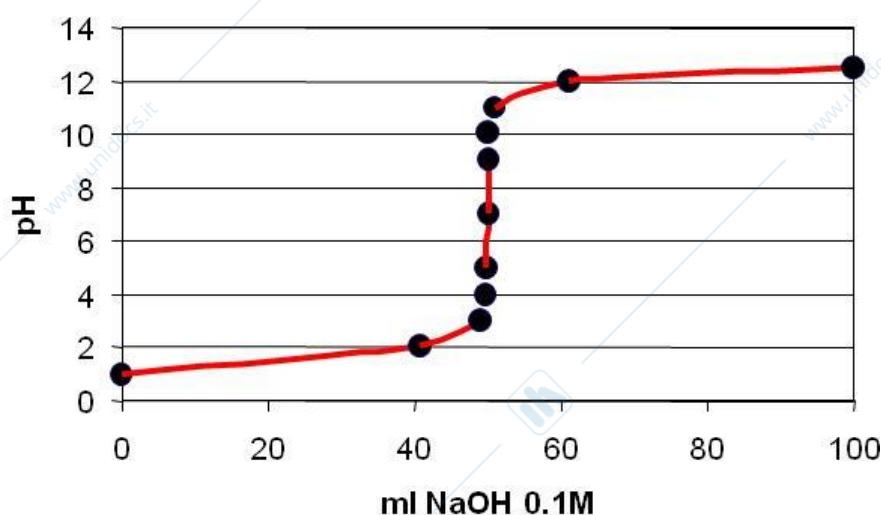


Fig. 9a Curva di titolazione di 50ml di HCl 0,1M con NaOH 0,1M.

E' importante notare che se variano le concentrazioni di HCl e di conseguenza anche le concentrazioni del titolante NaOH, il pH del punto equivalente non cambia. Viene, invece, modificata l'ampiezza della variazione di pH in prossimità del punto equivalente, come mostra la figura 9b.

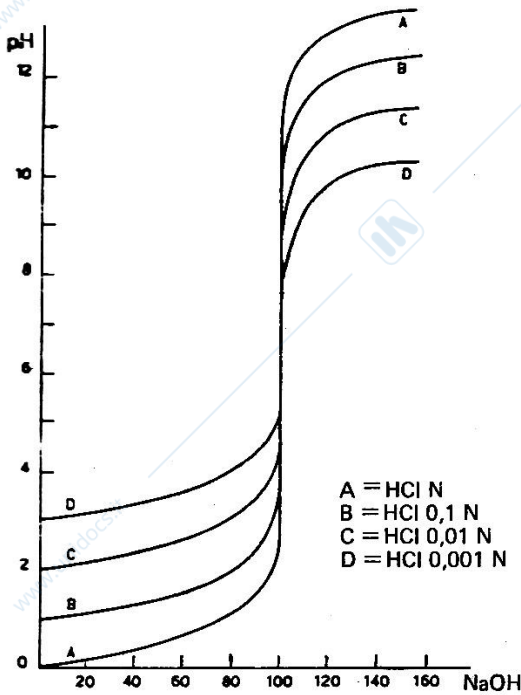
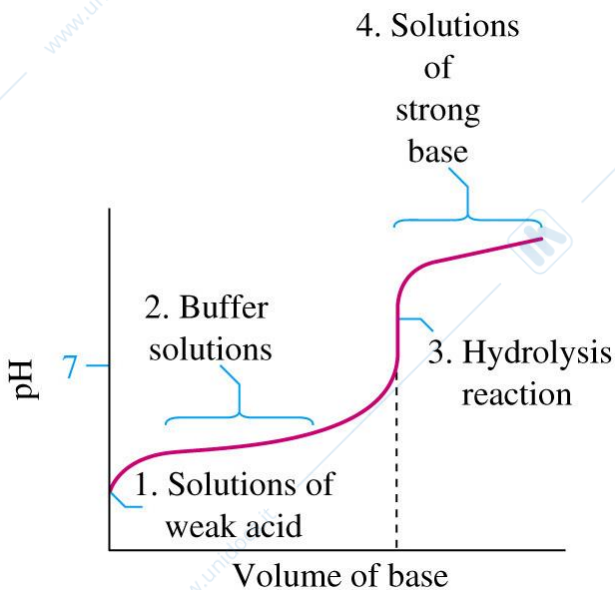


Fig. 9b Curva di titolazione di 100 ml di HCl a varie concentrazioni con NaOH di concentrazione corrispondente.

Curva di titolazione di acidi deboli o basi deboli

Nel caso della titolazione di un acido debole con una base forte e viceversa si hanno le seguenti condizioni di equilibrio:

- 1- inizialmente : soluzione del solo acido o base debole (situazione b)
- 2- durante la titolazione : soluzione costituita dall'acido o base debole e dal suo sale (soluzione tampone) (situazione d)
- 3- al punto equivalente : soluzione di un sale idrolizzato (situazione c)
- 4- oltre il punto equivalente : soluzione del sale idrolizzato con eccesso di base o acido forte (titolante) (essenzialmente situazione a).



Questa curva non è rappresentata dalla funzione generale $x = \frac{A-y}{A+y}$ data la presenza di un acido (o base) parzialmente dissociato e la formazione di una soluzione tampone prima del punto equivalente.

Nel caso della titolazione di un acido debole, come mostrato nella figura 9c, il pH prima del punto equivalente è più alto (soluzione tampone) rispetto al caso di un acido forte e la variazione di pH, in prossimità del punto equivalente, è di minore entità.

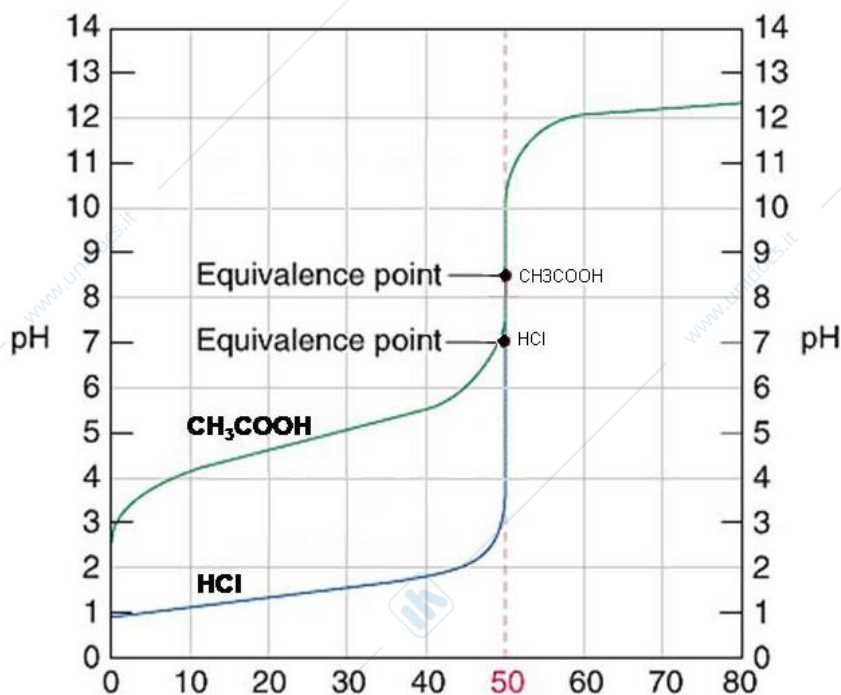


Fig.9c Confronto tra la curva di titolazione di 50ml di CH₃COOH 0,1M (curva verde) con NaOH 0,1M e la curva di titolazione di 50ml di HCl 0,1M con NaOH 0,1M.

Il valore del pH prima del punto equivalente è più elevato in ragione della minore K_a dell'acido e la conseguente variazione di pH in prossimità del punto equivalente, sarà di minore entità come dimostra la figura 9d. In altre parole, l'entità della variazione di pH in prossimità del punto equivalente è direttamente proporzionale alla K_a .

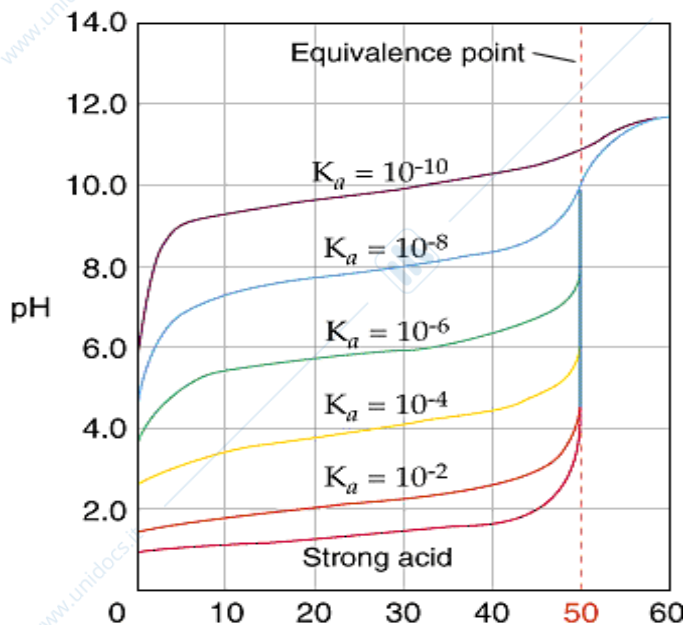


Fig.9d Confronto tra curve di titolazione di 50ml di acidi di varia forza, con NaOH 0,1M

E' importante ricordare che gli acidi con una $K_a < 10^{-7}$ non possono essere titolati in modo soddisfacente in soluzione acquosa per la ragione sopra esposta.

Nel caso di dosaggio di acidi poliprotici è possibile una titolazione graduale se vengono rispettate le seguenti condizioni :

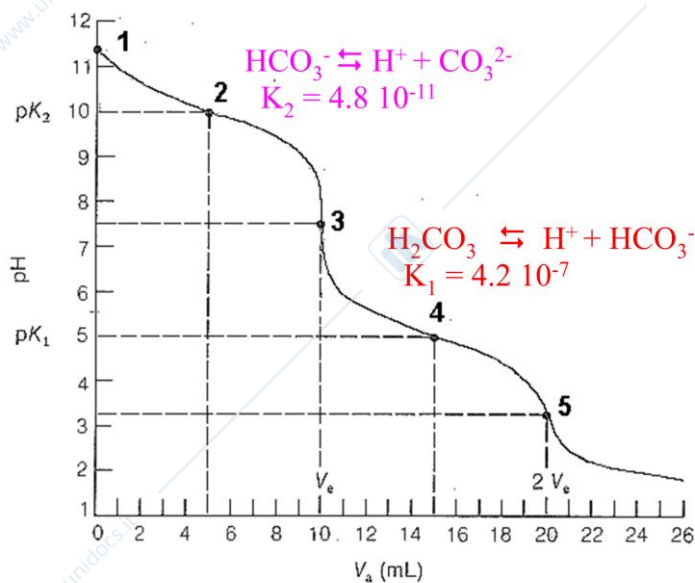
- 1) le K_a (K_1 , K_2 ...) devono essere sufficientemente grandi in modo che il valore del prodotto tra la costante e la concentrazione approssimata dell'acido c ($K_1 \times c$ e $K_2 \times c$) sia $\geq 10^{-8}$
- 2) il rapporto tra K_a consecutive (K_1 / K_2) deve essere $> 10^4$ in modo che la curva di titolazione presenti dei flessi distinti tali da permettere la valutazione dei due distinti punti equivalenti.

Curva di titolazione di sali di acidi o basi deboli con basi o acidi forti

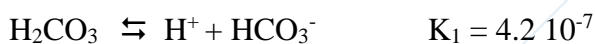
Nel corso della titolazione il pH dipende, come nel caso precedente, dalla presenza di sali che si idrolizzano, di soluzioni tampone e di acidi o basi deboli. In particolare :

- 1- inizialmente : soluzione del sale idrolizzato (situazione c)
- 2- durante la titolazione : soluzione costituita dall'acido o base debole e dal suo sale (soluzione tampone) (situazione d)
- 3- al punto equivalente : soluzione del solo acido o base debole (situazione b)
- 4- oltre il punto equivalente : soluzione del sale idrolizzato con eccesso di base o acido forte (titolante) (essenzialmente situazione a).

Come esempio, nella figura 9b è riportata la curva di titolazione di Na_2CO_3 che, essendo un sale di un acido biprotico, presenta due punti equivalenti e dopo il primo punto equivalente si ripresenta nuovamente una situazione di soluzione tampone .

Fig. 9b. Curva di titolazione di Na_2CO_3

L'acido carbonico (H_2CO_3) possiede due costanti di dissociazione :



Supponendo di titolare 10ml di una soluzione di Na_2CO_3 0.1 M con HCl 0.1 M, la variazione del pH è quella riportata in figura 9b e di seguito brevemente descritta.

1- All'inizio della titolazione nella soluzione è presente solo Na_2CO_3 che è un sale tra un acido debole (ac. carbonico) e una base forte (NaOH). Pertanto il pH è dato dall'idrolisi del sale.

$$[\text{OH}^-] = \sqrt{\frac{K_w}{K_a} \cdot C} \quad [\text{H}^+] = \sqrt{\frac{K_w \cdot K_a}{C}}$$

La K_a della formula è la K_2 dell'acido carbonico ($4.8 \cdot 10^{-11}$)

$$[\text{H}^+] = (10^{-14} \cdot 4.8 \cdot 10^{-11} / 10^{-1})^{1/2} = 2.2 \cdot 10^{-12} \quad \text{pH} = 11.6$$

2- A metà tra l'inizio e il primo punto equivalente è presente HCO_3^- e CO_3^{2-} in uguale concentrazione. Si tratta di una soluzione tampone in cui l'acido debole è HCO_3^- e il suo sale è Na_2CO_3 (o CO_3^{2-}). Pertanto il pH è dato da :

$$[\text{H}^+] \approx \frac{C_a}{C_s} \cdot K_a$$

La K_a della formula è la K_2 dell'acido carbonico ($4.8 \cdot 10^{-11}$)

$$[\text{H}^+] = 4.8 \cdot 10^{-11} \quad \text{pH} = 10.3$$

3- Al primo punto equivalente è presente solo HCO_3^- ovvero una soluzione contenente un sale acido. Pertanto il pH è dato da :

$$[\text{H}^+] = \sqrt{K_1 \cdot K_2}$$

$$[\text{H}^+] = (4.2 \cdot 10^{-7} \times 4.8 \cdot 10^{-11})^{1/2} = 4.5 \cdot 10^{-9} \quad \text{pH} = 8.3$$

4- A metà tra il primo e il secondo punto equivalente è presente H_2CO_3 e HCO_3^- in uguale concentrazione. Si tratta di una soluzione tampone in cui l'acido debole è H_2CO_3 e il suo sale è NaHCO_3 (o HCO_3^-). Pertanto il pH è dato da :

$$[\text{H}^+] \approx \frac{c_a}{c_s} \cdot K_a$$

La K_a della formula è la K_1 dell'acido carbonico ($4.2 \cdot 10^{-7}$)

$$[\text{H}^+] = 4.2 \cdot 10^{-7} \quad \text{pH} = 6.4$$

5- Al secondo punto equivalente è presente solo H_2CO_3 ovvero una soluzione contenente un acido debole. Pertanto il pH è dato da :

$$[\text{H}^+] = \sqrt{K_a \cdot C}$$

La K_a della formula è la K_1 dell'acido carbonico ($4.2 \cdot 10^{-7}$) e la sua concentrazione è 0.025 (volume finale 30 ml).

$$[\text{H}^+] = (4.2 \cdot 10^{-7} \times 3.3 \cdot 10^{-2})^{1/2} = 1.18 \cdot 10^{-4} \quad \text{pH} = 3.92$$

Indicatori di neutralizzazione

Nelle reazioni di neutralizzazione, in corrispondenza del punto di equivalenza e nelle sue immediate vicinanze, si ha una notevole variazione della concentrazione idrogenionica. Tale variazione permette di individuare il punto di equivalenza attraverso l'uso di opportuni indicatori.

Gli indicatori di neutralizzazione sono in generale delle sostanze, acidi e/o basi deboli che cambiano di colore (*viraggio*) quando il pH di una soluzione varia entro certi limiti.

Il pH di viraggio di un indicatore rappresenta una sua peculiare caratteristica, pertanto si può scegliere per ogni titolazione, l'indicatore più idoneo in modo che il pH corrispondente al viraggio di questo sia il più possibile vicino al punto stechiometrico.

La variazione di colore di un indicatore al viraggio non è netta, ma si protrae per circa 2 unità di pH. Si consideri un indicatore, rappresentato da un acido debole, che allo stato indissociato HIn , presenti un colore A, differente dal colore B, dovuto al suo anione In^- :



$$\frac{[\text{HIn}]}{[\text{In}^-]} = \frac{\text{Intensità colore A}}{\text{Intensità colore B}}$$

Risulta evidente da questa equazione che il colore di un indicatore varia in modo continuo da A a B col variare del pH della soluzione.

E' stato osservato, che l'occhio umano è in grado di distinguere variazioni cromatiche quando un colore è in concentrazione di circa 10 volte maggiore di un altro. La soluzione assume il colore A quando il rapporto :

$$\text{Intensità colore A} / \text{Intensità colore B} = 10$$

e colore B quando il rapporto :

$$\text{Intensità colore A} / \text{Intensità colore B} = 0.1$$

Ponendo la relazione fra $[H^+]$ e intensità cromatica in forma logaritmica si ha :

$$\log[H^+] = \log K_{\text{ind}} + \log (\text{Intensità colore A} / \text{Intensità colore B})$$

Se al rapporto delle intensità delle due forme colorate sono sostituiti i rapporti cromatici caratteristici dei due colori si ha:

pH per il colore B

$$pH = pK_{\text{ind}} - \log 0.1 = pK_{\text{ind}} + 1$$

pH per il colore A

$$pH = pK_{\text{ind}} - \log 10 = pK_{\text{ind}} - 1$$

Quindi l'intervallo di pH in cui si osserva la variazione cromatica di un indicatore risulta generalmente di 2 unità di pH. Questo intervallo è approssimato in quanto l'occhio umano non possiede la stessa sensibilità per i vari colori (questa è massima per il giallo e decrescente verso il viola ed il rosso) e l'acuità visiva può variare da individuo a individuo.

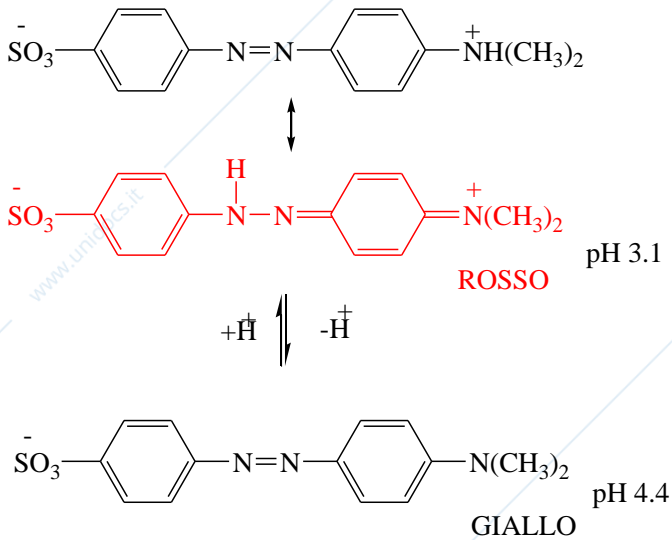
L'intervallo di viraggio dei principali indicatori acido-base è riportato in figura 10.

Indicator	0.0	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.	11.	12.	13.	14.	Preparation
Methyl Violet 0.0-1.8	Yellow	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	.01-.05% in water
Crystal Violet 0.0-1.8	Yellow	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	.02% in water
Ethyl Violet 0.0-2.4	Yellow	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	.1g 50% methanol/water
Malachite Green 0.2-1.8	Yellow	Yellow	Grey	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	water
Methyl Green 0.2-1.8	Yellow	Yellow	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	.1% in water
Cresol Red .04-1.8	Red	Red	Grey	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	ammonia/water
Thymol Blue 1.2-2.8	Red	Red	Grey	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	ammonia/water
Bromophenol Blue 3.0-4.6	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	ammonia/water
Congo Red 3.0-5.0	Blue	Blue	Blue	Grey	Grey	Grey	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	.1% in water
Methyl Orange 3.2-4.4	Red	Red	Red	Grey	Grey	Grey	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	.01% in water
Resorcin Blue 4.4-6.2	Red	Red	Red	Grey	Grey	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	.2% ethanol
Alizarin Red S 4.6-6.0	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	water
Methyl Red 4.8-6.0	Red	Red	Red	Red	Red	Grey	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	ethanol/water
Litmus 5.0-8.0	Red	Red	Red	Red	Red	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	water
Bromocresol Purple 5.2-6.8	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Purple	Purple	Purple	Purple	Purple	Purple	Purple	Purple	Purple	ammonia/water
Chrophenol Red 5.2-6.8	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	ammonia/water
Bromothymol Blue 6.0-7.6	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	ammonia/water
Phenol Red 6.6-8.0	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	ammonia/water
Neutral Red 6.8-8.0	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange	ethanol/water
Tumaric Curcumin 7.4-8.6	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Grey	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	ethanol
Phenolphthalein 8.2-10.0	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	ethanol/water
Thymolphthalein 9.4-10.6	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	ethanol/water
Alizarin Yellow R 10.1-12.0	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	.01% in water
Clayton Yellow 12.2-13.2	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	.1% in water

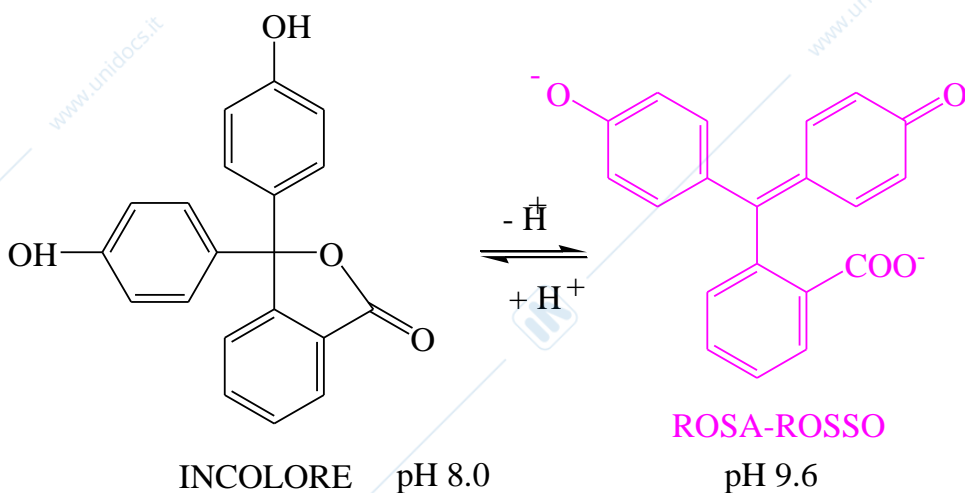
Fig. 10. Intervallo di viraggio dei principali indicatori.

Il cambiamento di colore negli indicatori acido-base è dovuto alla presenza di una struttura stabilizzata dal pH. Affinché tale molecola sviluppi una colorazione è necessario che siano presenti strutture chinoidi e/o doppi legami coniugati in grado di formare un esteso cromoforo. A titolo di esempio sono qui riportati il metilarancio e la fenolftaleina che rappresentano due tra gli indicatori più usati.

METILARANCIO 3.1- 4.4



FENOLFTALEINA 8.0 – 9.6



APPLICAZIONE DEI METODI DI NEUTRALIZZAZIONE (ACIDIMETRIA ALCALIMETRIA)

La determinazione dell'acidità di un campione mediante titolazione con alcali a titolo noto viene definita *alcalimetria* mentre viene indicato col termine di *acidimetria* la determinazione, del contenuto di alcali in un campione mediante titolazione con acido di nota concentrazione. Le reazioni di neutralizzazione sono istantanee, complete e stechiometriche ed il punto finale è facilmente determinato mediante indicatori.

Una soluzione, che deve essere impiegata come "standard" in una reazione di neutralizzazione dovrebbe avere i seguenti requisiti:

- 1) il soluto non deve essere volatile e la soluzione deve essere stabile sia all'azione della luce che a quella dell'aria
- 2) l'acido o la base debbono essere elettroliti forti e quindi essere impiegati sia per la titolazione di basi o di acidi deboli
- 3) il reattivo titolante non deve essere una sostanza ossidante che può distruggere gli indicatori impiegati
- 4) il reattivo titolante deve avere un alto peso equivalente

Le soluzioni titolate di acidi di impiego più comune sono: HCl, HClO₄ e H₂SO₄ e quelle di alcali NaOH, KOH e Ba(OH)₂. Esse sono preparate, non essendo sostanze madri, partendo da soluzioni concentrate di acidi puri o da sostanze solide pure (salvo eventuale carbonatazione) come gli idrossidi di sodio, potassio e bario. Di solito si preparano soluzioni a normalità approssimata, che dovranno essere titolate mediante sostanze madri (standard primari) o mediante altre soluzioni a titolo noto.

ACIDIMETRIA

Le sostanze madri che vengono impiegate per la titolazione di soluzioni standard di acidi sono:

- a) carbonato di sodio Na₂CO₃, (pm 106.0)
- b) bicarbonato di potassio: KHCO₃ (pm 100.12): non è igroscopico ed ha un peso equivalente circa doppio di quello del carbonato di sodio.
- c) carbonato talloso - Tl₂CO₃ (pm 468.80): facilmente ottenibile e purificabile mediante cristallizzazione, non è igroscopico ed ha un peso equivalente molto elevato
- d) tetraborato di sodio (borace): Na₂B₄O₇·10 H₂O (pm 381.44)
- e) ossido di mercurio HgO (pm 216.61).

Preparazione di soluzioni di HCl

L'acido cloridrico non è una sostanza madre.

Si prepara una soluzione con un titolo approssimato e successivamente si titola con una soluzione a titolo esatto o con una quantità esattamente pesata di sostanza madre.

La soluzione a titolo approssimato si prepara a partire da HCl conc. puro per analisi

A seconda del volume di soluzione e della concentrazione (di solito circa 0.1 M) da preparare, si prelevano con una pipetta graduata un certo numero di ml di HCl conc., e si porta a volume con acqua deionizzata in apposito recipiente munito di tappo.

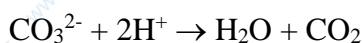
Con un HCl conc 12.5 M, volendo preparare 1 litro di soluzione 0.1 M, è necessario prelevare 8 ml di acido (è necessario considerare la densità) e diluirli, in apposito recipiente, aggiungendo con un cilindro graduato, circa 1000ml di acqua deionizzata.

E' necessario agitare con cura per rendere omogenea la soluzione.

La standardizzazione della soluzione può essere eseguita:

- con sostanze madri quali Na_2CO_3 , borace, HgO, (in soluzione a titolo esatto) o direttamente pesate nella beuta in cui avviene la titolazione
- con soluzioni a titolo noto di NaOH, KOH, $\text{Ba}(\text{OH})_2$
- attraverso una determinazione gravimetrica

- La *determinazione del titolo della soluzione di acido cloridrico con Na_2CO_3 (pm 106.0 pe 106.0 / 2)* avviene con la seguente stechiometria



Gli indicatori usati nella titolazione sono : rosso metile, verde di bromocresolo, metilarancio.

Il carbonato sodico puro per analisi che si trova in commercio è sufficientemente puro. Come impurezze sono presenti sempre un po' di umidità e tracce di bicarbonato. Per usi particolari è necessario eliminare il bicarbonato attraverso un riscaldamento per 1 o 2 ore in stufa a 270-300°C (in questo modo $2\text{NaHCO}_3 \rightarrow \text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$). L'umidità può essere eliminata con riscaldamento in stufa a 120°C. La sostanza viene posta in un pesafiltri e dopo averla pesata è messa in stufa per 2 ore, dopo raffreddamento in un essiccatore viene pesata; l'operazione si ripete fino ad ottenere un peso costante.

Il pesafiltri contenente carbonato sodico secco va conservato sempre chiuso, preferibilmente dentro un essiccatore.

Si pesa una quantità esatta di carbonato (avendo cura che il sale venga il meno possibile a contatto con l'ambiente esterno perché il Na_2CO_3 anidro è abbastanza igroscopico e passa facilmente a $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) in un pesafiltri vuoto e tarato in precedenza (se si esegue una pesata per differenza come precedentemente descritto non è richiesta la taratura del pesafiltri) e si trasporta con l'aiuto di un imbuto dentro un matraccio. Si lavano quindi il pesafiltri (se si esegue una pesata per differenza come precedentemente descritto questa operazione non è richiesta) e l'imbuto. In alternativa si può pesare direttamente una quantità esatta nella beuta da titolazione.

Con la soluzione di HCl da titolare si avvinna tre volte una buretta con circa 5 ml di soluzione per volta, quindi si riempie la buretta e si porta il menisco del liquido allo zero.

Si introducono nella beuta 2 gocce di rosso metile o metilarancio e si pone sotto la buretta contro un fondo bianco, in modo da apprezzare più facilmente il viraggio dal giallo al rosa-rosso.

Si aggiunge goccia a goccia la soluzione acida nella beuta agitandola. L'aggiunta dell'acido viene continuata in modo regolare fino a che si nota una colorazione bruno-rosa. A questo punto si chiude il rubinetto e si lavano con la spruzzetta le pareti della beuta. Se si usa come indicatore il rosso metile è necessario eliminare la CO_2 attraverso ebollizione della soluzione per 30 secondi fino a che non si ripristina il colore giallo iniziale. Dopo raffreddamento della soluzione, con cautela, si aggiunge l'acido una goccia per volta fino al viraggio.

Dopo mezzo minuto si legge il numero dei ml corrispondenti al punto finale della titolazione, e si segna sul quaderno accanto alla quantità in g di Na_2CO_3 prelevata.

La titolazione è ripetuta partendo da quantità diverse di carbonato sodico.

La media delle titolazioni fornisce la normalità dell'acido cloridrico.

Se come indicatore viene impiegato il metilarancio non c'è necessità di eliminare la CO₂ dato che il viraggio di questo indicatore avviene ad un pH più basso. L'impiego del metilarancio comporta un errore di titolazione che corrisponde all'acido aggiunto in eccesso rispetto al punto di equivalenza. Questo errore deve essere considerato se l'acido così titolato viene utilizzato con altro indicatore.

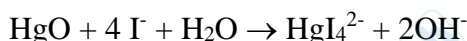
- La *determinazione del titolo della soluzione di acido cloridrico con Na₂B₄O₇·10H₂O (pm 381.44 pe 381.44 / 2)* avviene con la seguente stechiometria



Gli indicatori usati di solito sono: Rosso-metile, verde di bromo cresolo, metilarancio.

Il borace ha sul carbonato sodico il vantaggio di non essere igroscopico, di essere facilmente purificabile per cristallizzazione, e di possedere un peso equivalente più elevato. Il punto finale della reazione di neutralizzazione può essere infine apprezzato più agevolmente col rosso-metile. Il controllo del titolo della soluzione di HCl viene eseguito pesando esattamente due o tre campioni di borace, che verranno poi disciolti in 50~80 ml. di acqua dentro una beuta da titolazione e addizionati di 2 o 3 gocce di rosso-metile. La titolazione è eseguita a freddo e termina quando il colore del liquido vira da giallo a rosa. Il viraggio è molto netto e il punto finale è apprezzato con molta precisione. In questo caso, ovviamente, non è necessario eliminare la CO₂.

- La *determinazione del titolo della soluzione di acido cloridrico con HgO (pm 216.62 pe 216.62 / 2)* avviene con la seguente stechiometria



Indicatori usati sono: metilarancio, rosso metile, fenolftaleina.

L'ossido di mercurio presenta ottimi requisiti come sostanza madre per acidimetria, in quanto è ottenuto facilmente allo stato puro e secco, e possiede un peso equivalente relativamente elevato. Quando HgO viene trattato con una soluzione di ioduro (o bromuro) di potassio si discioglie rapidamente, formando un complesso, e liberando una quantità equivalente di ioni ossidrili. Per avere una soluzione esattamente 0.1M si disciolgono 10.83 g di HgO in una soluzione contenente 200 g di KI o KBr in 300 ml di acqua, e si diluiscono quindi ad 1 litro in matraccio tarato.

Si prelevano in beuta con pipetta tarata 10 o 20 ml di soluzione e si aggiunge 1-2 gocce di un qualunque indicatore, (metilarancio, fenolftaleina). Si titola con la soluzione di HCl preparata fino al viraggio dell'indicatore.

Il metodo è soggetto all'errore dovuto all'assorbimento della anidride carbonica da parte della soluzione alcalina prima e durante la titolazione.

- *Determinazione del titolo con soluzioni di alcali a titolo noto.*

Con soluzioni di alcali a titolo noto accuratamente determinato (possibilmente 0.1 M). E' conveniente impiegare l'indicatore che è stato usato per stabilire il titolo della soluzione dell'alcali.

Determinazione gravimetrica del titolo dell'acido.

Si determina il titolo dell'HCl mediante precipitazione come cloruro di argento.

ALCALIMETRIA

Sostanze madri impiegate per la standardizzazione di basi :

- ftalato acido di potassio: $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ (pm 204.22) : è una sostanza ottenibile con un elevato grado di purezza; si deve seccare a temperatura inferiore a 125°C in quanto a temperatura superiore può formarsi anidride ftalica. Il composto secco non è igroscopico; il suo peso equivalente è maggiore di quello delle altre sostanze madri
- acido ossalico biidrato: $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (pm 126.07): è una ottima sostanza madre se conservata in un ambiente con umidità relativa di circa il 60%. Ciò si raggiunge esponendo il prodotto seccato in un essiccatore riempito con una soluzione satura di bromuro di sodio. Possano essere impiegati anche l'ossalato acido di potassio(KHC_2O_4).
- acido benzoico $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$ (pm 122.12): ha un peso equivalente molto alto ma è assai poco solubile in acqua; la sostanza viene quindi disciolta in alcool, diluita con acqua e titolata con la base impiegando fenolftaleina

Preparazioni di soluzioni di NaOH

L'idrossido di sodio non è una sostanza madre.

Soluzioni titolate di NaOH non possono essere preparate per pesata diretta a causa della forte igroscopicità e della facile carbonatazione della soda.

Si prepara una soluzione con un titolo approssimato e successivamente si titola con una soluzione a titolo esatto o con una quantità esattamente pesata di sostanza madre.

Le soluzioni, a concentrazione approssimata, si preparano a partire da NaOH pura per analisi (in pastiglie).

Per limitare il contenuto di carbonato di sodio nelle soluzioni si possono lavare preventivamente le pastiglie di NaOH. Da un barattolo aperto al momento dell'uso, si preleva e si pesa rapidamente su un vetro da orologio e con una bilancia tecnica, una certa quantità di pastiglie di NaOH un poco superiore a quella teoricamente necessaria per avere un dato volume di soluzione 0.1 M.

Si lavano i pezzetti con un breve getto di acqua deionizzata in modo da asportare lo strato superficiale di carbonato, si getta il liquido, e si introducono rapidamente i pezzetti nel recipiente adeguato contenente già una parte di acqua deionizzata e bollita di recente. Quando tutta la soda caustica si è sciolta, si completa il volume sempre con acqua deionizzata e bollita, si agita il contenuto e lo si travasa in una bottiglia di dimensioni adeguate e provvista di tappo di gomma. L'uso di acqua deionizzata e bollita ha lo scopo di non introdurre il CO_2 normalmente disciolto nell'acqua deionizzata. Si fanno perciò bollire a parte 2 o 3 litri di acqua deionizzata in un adatto recipiente, e si fa raffreddare chiudendo con una valvola a calce sodata in modo da assorbire il CO_2 dell'aria esterna, che entrerà nel pallone durante il raffreddamento.

Le soluzioni titolate degli alcali in genere, vengono preferibilmente conservate in bottiglie collegate direttamente ad una buretta, il cui riempimento viene eseguito automaticamente senza che la soluzione di NaOH venga a contatto col CO_2 dell'aria.

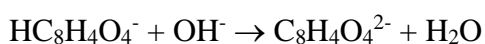
Il vetro dei recipienti destinati a conservare le soluzioni titolate di alcali deve essere di buona qualità e neutro per impedire che venga attaccato. Se la soluzione è concentrata (M o 2M) è consigliato l'impiego di recipienti di plastica quali polietilene, teflon, bakelite, ecc.

Il titolo della soluzione viene determinato con precisione attraverso soluzioni di acido a titolo noto, soluzioni o pesata diretta di sostanze madri quali $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$, $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ e per determinazione gravimetrica

- Per la determinazione del titolo della soluzione con *soluzioni di acidi a titolo noto* si prelevano in una beuta da 250 ml, con l'ausilio di una pipetta tarata precedentemente avvinata, 10-20 ml di soluzione, si lavano le pareti della beuta con poca acqua, si aggiungono 1-2 gocce di un indicatore, e si titola con la soluzione di acido a titolo noto (es. HCl 0.1 M), seguendo le stesse modalità descritte per il controllo del titolo della soluzione di HCl .

Se la soluzione di NaOH contiene piccole quantità di carbonato, la titolazione può essere fatta a freddo solo in presenza di metilarancio o di rosso-metile fino al viraggio, rispettivamente da giallo a rosa-arancio e da giallo a rosa. - In presenza invece di fenolftaleina, dopo aver raggiunto il viraggio a freddo da rosa a incolore, occorre far bollire la soluzione per 1-3 minuti fino a ricomparsa del colore rosa, ossia eliminare per ebollizione il CO_2 . Dopo di che si continua ad aggiungere goccia a goccia l'acido fino a nuova decolorazione, tornando ancora a far bollire. Quando non si avverte più alcun ritorno di colore per ebollizione, la titolazione si considera terminata. Con soluzioni di NaOH completamente esenti da carbonato, la titolazione può essere eseguita a freddo anche in presenza di fenolftaleina.

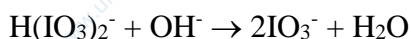
- La *determinazione del titolo della soluzione di NaOH con ftalato acido di potassio: $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ (pm e pe 204,22)* avviene con la seguente stechiometria



Come indicatore si usa fenolftaleina

Si pesa con precisione la giusta quantità di sale, si sciolgono in una beuta da 250 ml con 75-100 ml di acqua deionizzata e bollita di recente, si aggiungono 2-3 gocce di fenolftaleina e si titola a freddo con la soluzione di NaOH 0.1 M approssimata, fino a colorazione rosa persistente per almeno 30 secondi.

- La *determinazione del titolo della soluzione di NaOH con $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ (pm e pe 389.95)* avviene con la seguente stechiometria



Gli indicatori usati sono: metilarancio, rosso-metile, fenolftaleina.

Il biiodato di potassio è forse la migliore sostanza madre per titolare gli alcali forti, sia per la sua facile purificazione, il carattere anidro, la non igroscopicità e l'elevato peso equivalente, sia perché funzionando come un acido forte può essere titolato in presenza di qualsiasi indicatore che abbia un intervallo di pH di viraggio fra 4.5 e 9.5.

Prima di pesare questo sale conviene eliminare l'eventuale umidità, ponendolo ad essiccare entro pesafiltri in stufa a 110°C .

Si pesa con precisione la giusta quantità di sale, si sciolgono in una beuta da 250 ml, con 50-80 ml di acqua, si aggiungono 2 gocce di rosso-metile, e si titola a freddo con la soluzione di NaOH a titolo approssimato fino a viraggio da rosa a giallo pallido.

- La *determinazione del titolo della soluzione per via gravimetrica* può essere eseguita in modo analogo a quella degli acidi pesando il cloruro di sodio risultante dalla esatta neutralizzazione dell'alcali.

Avvertenze circa le titolazioni per neutralizzazione

Per ridurre al minimo gli errori di titolazione, valgono in generale le seguenti norme:

- 1) Fare in modo che la soluzione da titolare abbia una concentrazione vicina a quella del reattivo titolato che si impiega.
- 2) Eseguire la titolazione con la stessa buretta impiegata per il controllo del titolo del reattivo con cui si titola.
- 3) Usare la stessa quantità di indicatore (stesso numero di gocce) con la quale è stato controllato il titolo del reattivo e le stesse modalità operative.

DOSAGGI

Dosaggio di alcali forti: NaOH, KOH, Ba(OH)₂

Reattivi occorrenti: HCl, H₂SO₄ 0.1 M

Indicatori: metilarancio, rosso-metile, fenolftaleina.

Il dosaggio di questi alcali viene eseguito in modo analogo a quello descritto per la titolazione della soluzione 0.1M di NaOH, mediante soluzioni a titolo noto di HCl o di H₂SO₄. La barite viene titolata solo con soluzioni di HCl.

Nella scelta dell'indicatore si deve tenere conto dell'eventuale carbonatazione dell'alcali caustico, e pertanto il dosaggio dell'alcalinità totale di un idrossido di Na o di K si eseguirà a freddo con indicatori non sensibili a CO₂ e a caldo con gli altri.

Il campione da prelevare per l'analisi dovrà essere sempre diluito (con acqua deionizzata e bollita di recente) in modo da ottenere una soluzione con normalità all'incirca dello stesso ordine di quella della soluzione acida scelta per la titolazione.

Esempi di determinazioni acidimetriche da farmacopea

SODIO CARBONATO ANIDRO

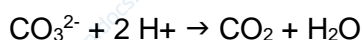
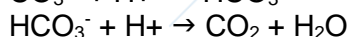
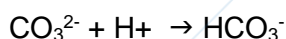
Natrii carbonas anhydricus

Na_2CO_3 Mr 106,0

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 1,000 g in 25 ml di acqua R. Aggiungere 0,2 ml di metilarancio soluzione R come indicatore. Titolare con acido cloridrico 1 M, fino a che il colore vira dal giallo al rosso.

1 ml di acido cloridrico 1 M equivale a 52,99 mg di Na_2CO_3 .



SODIO IDROSSIDO

Natrii hydroxidum

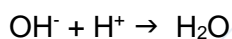
NaOH Mr 40,00

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 2,000 g in circa 80 ml di acqua esente da anidride carbonica R. Aggiungere 0,3 ml di fenolftaleina soluzione R e titolare con acido cloridrico 1 M. Aggiungere 0,3 ml di metilarancio soluzione R e continuare la titolazione con acido cloridrico 1 M.

1 ml di acido cloridrico 1 M, utilizzato nella seconda parte della titolazione, equivale a 0,1060 g di Na_2CO_3 .

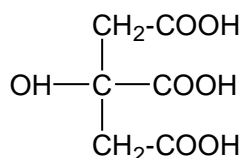
1 ml di acido cloridrico 1 M, utilizzato nell'insieme delle due titolazioni, equivale a 40,00 mg di alcali totali, calcolati come NaOH .



Esempi di determinazioni alcalimetriche da farmacopea

ACIDO CITRICO ANIDRO

Acidum citricum anhydricum (acido 2-idrossipropan-1,2,3 tricarbossilico)

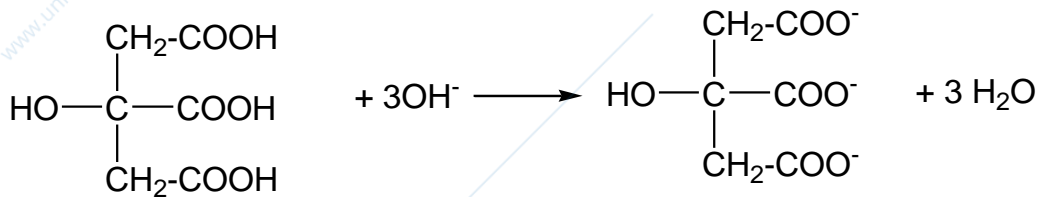


$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ Mr 192,1

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,550 g in 50 ml di acqua R. Titolare con sodio idrossido 1 M, usando come indicatore 0,5 ml di fenolftaleina soluzione R.

1 ml di sodio idrossido 1 M equivale a 64,03 mg di $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$.



L'acido citrico è un acido triprotico le cui costanti di dissociazione sono $K_1 = 8.7 \times 10^{-4}$, $K_2 = 1.8 \times 10^{-5}$, $K_3 = 4.6 \times 10^{-6}$. Con NaOH usando fenolftaleina come indicatore si titolano tutti e tre i protoni, infatti il pH del sale trisodico (supponendo una concentrazione del sale pari a 0.1M) è di 9.2 (pH al punto equivalente):

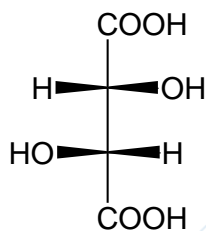
$$[\text{H}^+] = \sqrt{\frac{K_w \cdot K_3}{c}} = \sqrt{\frac{10^{-14} \cdot 4.6 \cdot 10^{-6}}{10^{-1}}} = 6.78 \cdot 10^{-10}$$

$$\text{pH} = -\log 6.78 \cdot 10^{-10} = 9.2$$

La fenolftaleina ha un pH di viraggio compreso tra 8.2 e 10

ACIDO TARTARICO

Acidum tartaricum (acido (2R,3R)-2,3-diidrossi butandioico)



$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$

Mr 150,1

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,650 g in 25 ml di acqua R. Titolare con sodio idrossido 1 M usando come indicatore 0,5 ml di fenolftaleina soluzione R, fino a comparsa del colore rosa.
1 ml di sodio idrossido 1 M equivale a 75,05 mg di $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$.

ACIDO BORICO

Acidum boricum

H_3BO_3

Mr 61,8

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 1,000 g a caldo in 100 ml di acqua R contenente 15 g di mannitolo R. Titolare con sodio idrossido 1M, utilizzando come indicatore 0,5 ml di fenolftaleina soluzione R, fino a comparsa del colore rosa.
1 ml di sodio idrossido 1 M equivale a 61,8 mg di H_3BO_3 .

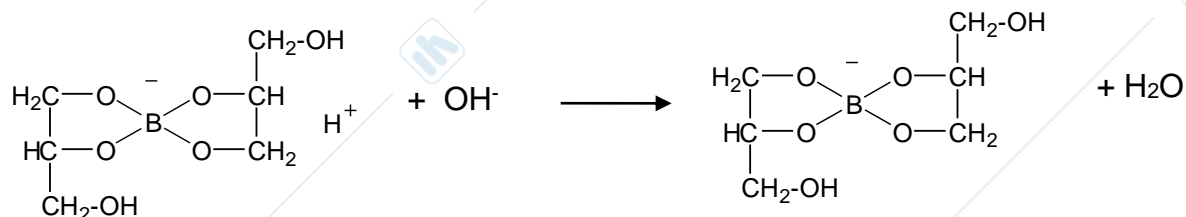
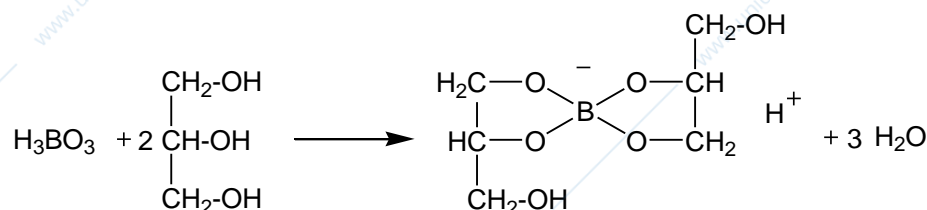
Usando una NaOH 0.1N sono necessari 2g di mannitolo

L'acido borico è un acido debolissimo ($K_a = 5.8 \cdot 10^{-10}$) e per una soluzione 0.1M si ha un pH di circa 11. E' ovvio che in queste condizioni non è possibile usare come indicatore fenolftaleina (pH viraggio 8.2 - 10).

L'aggiunta di polioli (mannitolo, sorbitolo, glicerina) o altri composti poliossidrilati in eccesso (10-100 volte) rispetto all'acido borico presente, porta alla formazione di composti acidi di notevole stabilità con lo ione borato. Tali composti si comportano da acidi monoprotici ($K_a = 10^{-6}$ circa) in grado di essere titolati usando fenolftaleina come indicatore; infatti per una soluzione di sale monoprotico di circa 0.1 M, il pH assume un valore di 9.5 circa (pH al punto equivalente).

$$[H^+] = \sqrt{\frac{K_w \cdot K_a}{c}} = \sqrt{\frac{10^{-14} \cdot 6 \cdot 10^{-6}}{10^{-1}}} = 3.2 \cdot 10^{-10}$$

$$\text{pH} = -\log 3.2 \cdot 10^{-10} = 9.5$$

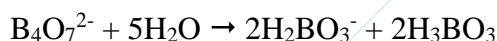


BORACE

$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ Mr 381.4

20 g di mannitolo si sciolgono in 100 ml di acqua, scaldando se necessario. Si raffredda, si aggiungono 0.5 ml di fenolftaleina soluzione e si neutralizza con sodio idrossido fino a colorazione rosa. Si aggiungono 3.00 g circa, esattamente pesati, di borace, scaldando fino a soluzione completa. Si raffredda e si titola con sodio idrossido N fino a ricomparsa della colorazione rosa. 1 ml di sodio idrossido N corrisponde a 190.7 mg di borace ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$).

Con questa procedura viene praticamente determinato l'acido borico che si forma dalla reazione:



Determinazione della costante di dissociazione di acidi deboli (pKa)

Un acido debole è titolato con una base forte e il punto equivalente è determinato per via potenziometrica.

Dall'equazione di Henderson-Hasselbalch si ha:

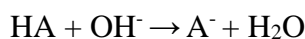
$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \left(\frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \right)$$

pertanto quando $[\text{A}^-] = [\text{HA}]$ si ha che $\text{pH} = \text{pKa}$.

Questa osservazione permette di ricavare un metodo per la determinazione sperimentale del pKa di acidi e basi moderatamente deboli.

È facile dimostrare che $[\text{A}^-] / [\text{HA}] = 1$ (*punto di semi-titolazione*) quando il numero di equivalenti di titolante aggiunto è esattamente uguale a metà di quelli iniziali della sostanza da titolare, ovvero quando si è aggiunto esattamente un volume di titolante ($V_0/2$) che è la metà del volume di titolante al punto equivalente (V_0).

Supponiamo di determinare la pKa di un acido debole HA.



Indicando con:

V_X = Volume di OH^- aggiunto

V_0 = Volume di OH^- al punto equivalente

M_{OH^-} = Molarità dell' OH^-

Si ha:

$\text{meq HA} = V_0 \cdot M_{\text{OH}^-}$ (milliequivalenti di HA iniziali)

$\text{meq OH}^- = V_X \cdot M_{\text{OH}^-}$ (milliequivalenti di OH^- aggiunti)

$\text{meq A}^- = V_X \cdot M_{\text{OH}^-}$ (milliequivalenti di A^- che si formano)

I meq di HA saranno uguali ai meq di A^- quando :

$$V_0 \cdot M_{\text{OH}^-} - V_X \cdot M_{\text{OH}^-} = V_X \cdot M_{\text{OH}^-}$$

$$V_0 \cdot M_{\text{OH}^-} = 2 V_X \cdot M_{\text{OH}^-}$$

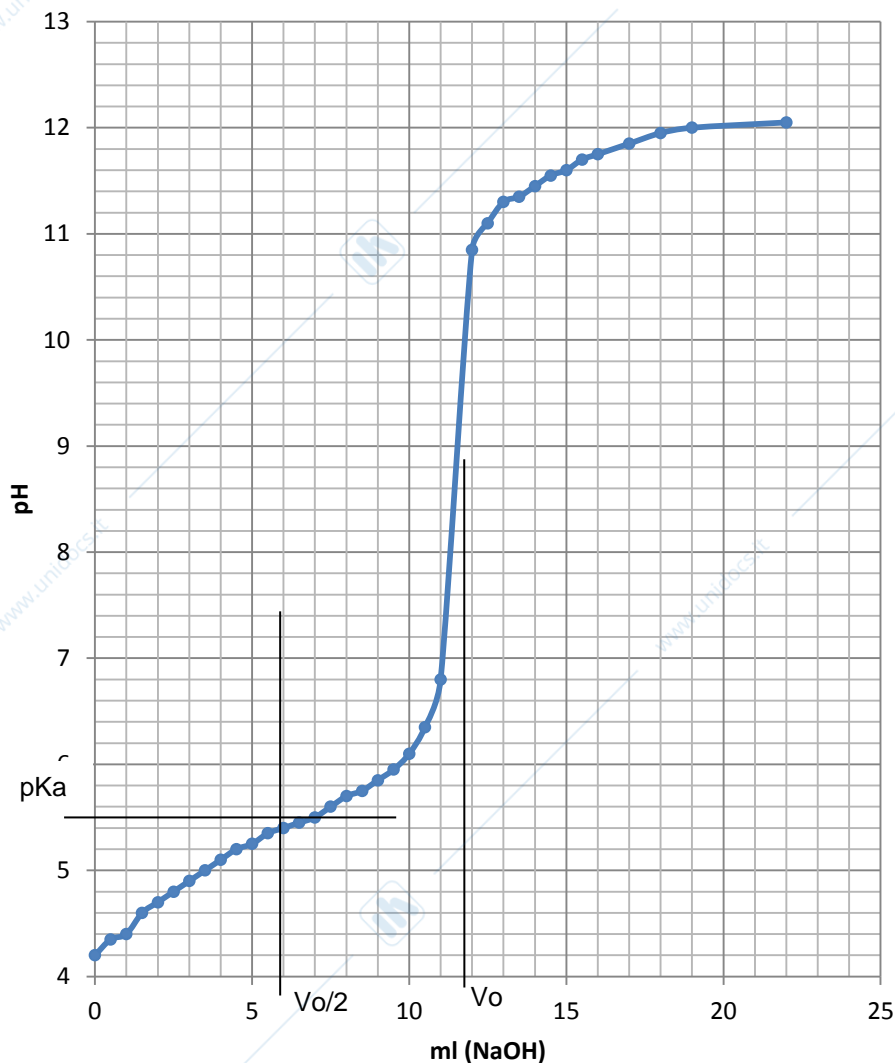
$$V_X = V_0 / 2$$

Esempio:

Per ricavare il pKa di un acido moderatamente debole si può agire nel modo seguente:

Si esegue la titolazione dell'acido debole con una base forte, si riportano i dati in tabella e si disegna la curva di titolazione.

mL NaOH	pH	mL NaOH	pH	mL NaOH	pH	mL NaOH	pH
0	4.20	4.5	5.20	9.0	5.85	14	11.45
0.5	4.35	5	5.25	9.5	5.95	14.5	11.55
1	4.40	5.5	5.35	10	6.10	15	11.60
1.5	4.60	6	5.40	10.5	6.35	15.5	11.70
2	4.70	6.5	5.45	11	6.80	16	11.75
2.5	4.80	7	5.50	12	10.85	17	11.85
3	4.90	7.5	5.60	12.5	11.10	18	11.95
3.5	5.00	8	5.70	13	11.30	19	12.00
4	5.10	8.5	5.75	13.5	11.35	22	12.05



Per la determinazione del pKa è, dunque, necessario determinare prima graficamente il punto equivalente (V_0) e poi interpolare sul grafico e leggere il valore del pH al quale $V = V_0/2$. Dalla curva si ricava il punto equivalente V_0 (punto di flesso) che risulta essere 11,5 ml. Pertanto $V_0/2 = 11.5/2 = 5.75$ mL.

A tale volume il pH per interpolazione grafica = 5.35. Dunque l'acido in questione ha una pKa = 5.35.

È possibile aumentare l'accuratezza della misura se si considera che l'equazione di Henderson-Hasselbalch per punti attorno al valore in cui $\text{pH} = \text{pKa}$ presenta un andamento pressochè lineare. Inoltre l'equazione

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \left(\frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}} \right)$$

equivale a quella di una retta

$$y = a + bx$$

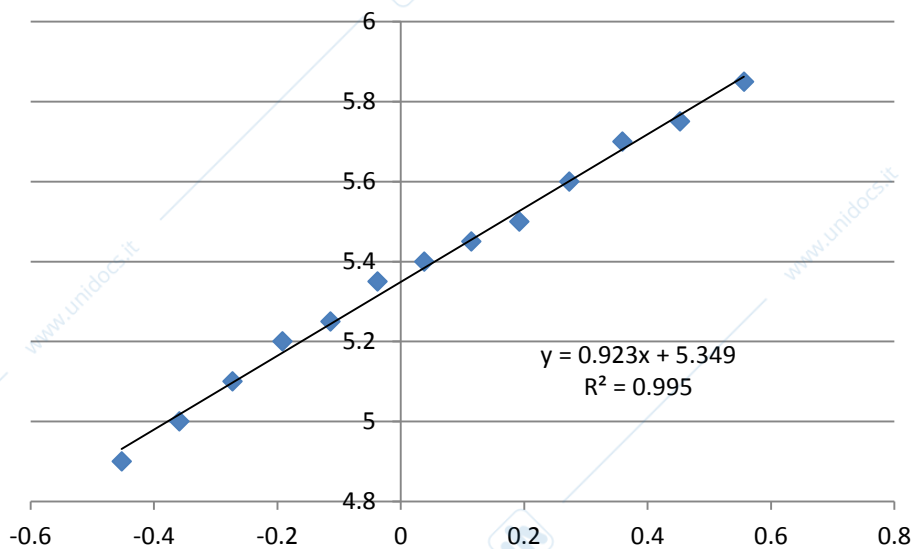
Se si riporta in grafico il pH in funzione di $\log \left(\frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}} \right)$ si ottiene una retta di pendenza b e di intercetta $a = \text{pKa}$.

Per quel che riguarda la quantità $[\text{A}^-]/[\text{HA}]$, dato che si tratta di un rapporto di concentrazioni di specie che si trovano nella stessa soluzione, non è necessario considerare il volume della soluzione e nell'espressione si possono mettere il n. di equiv. di A^- e di HA.

Per poter disegnare la retta, si scelgono alcuni punti sperimentali (3 – 5 prima ed altrettanti dopo) in un intervallo attorno al valore $V_0/2$ (5.75 mL in questo specifico esempio), ad esempio tra 3 e 9 mL, come riportato nella tabella seguente.

Nell'esempio riportato, 0.2200 g di ftalato acido di K (P.M. 204.22) pari a 1.0773 meq, sono titolati con una soluzione di NaOH 0.09367 M ($(0.2200 / 204.22) / 0.0115 = 0.09367$ M)

ml NaOH	mmol A-	mmol HA	log(A-/HA)	pH
3	0.28101	0.79629	-0.4523495	4.9
3.5	0.327845	0.749455	-0.359077	5
4	0.37468	0.70262	-0.27306	5.1
4.5	0.421515	0.655785	-0.1919484	5.2
5	0.46835	0.60895	-0.1140111	5.25
5.5	0.515185	0.562115	-0.037862	5.35
6	0.56202	0.51528	0.03770848	5.4
6.5	0.608855	0.468445	0.11385527	5.45
7	0.65569	0.42161	0.19178766	5.5
7.5	0.702525	0.374775	0.27289117	5.6
8	0.74936	0.32794	0.35889611	5.7
8.5	0.796195	0.281105	0.45215088	5.75
9	0.84303	0.23427	0.55612635	5.85



Riportando in grafico il pH in funzione di $\log(\text{meq A}^- / \text{meq HA})$ si ottiene una retta con pendenza = 0.923 ed intercetta = $\text{pK}_a = 5.349$.

Alcalimetria indiretta

Si tratta di titolazioni il cui titolante (di solito NaOH o KOH) è aggiunto in eccesso, successivamente, dopo un opportuno lasso di tempo (talvolta è necessario un riscaldamento seguito da un raffreddamento), l'eccesso è retrotitolato con un acido (di solito HCl).

Questo procedimento è necessario nei casi in cui siano presenti gruppi esterei.

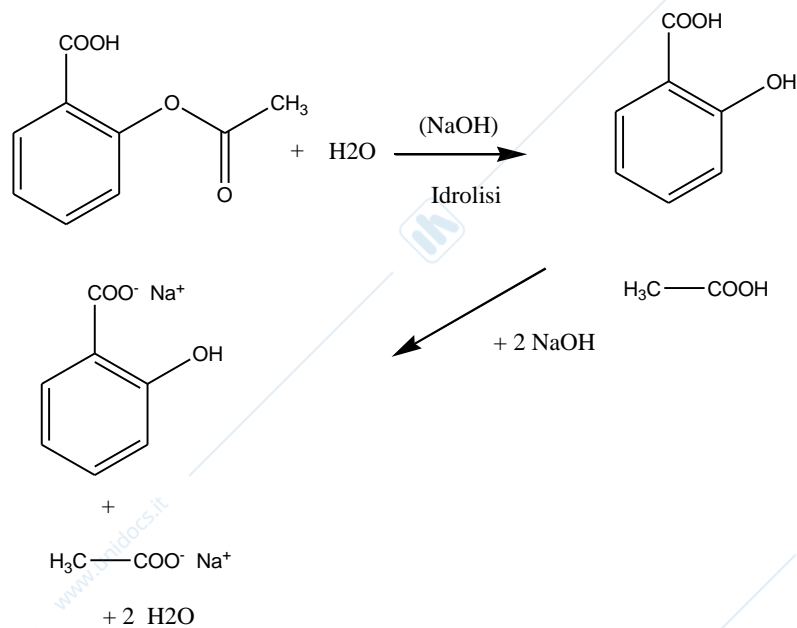
Il trattamento con alcali a caldo provoca l'idrolisi "liberando" la funzione acida che è neutralizzata (salificata) dalla base.

A titolo di esempio sono riportati due casi tratti dalla FU.

Per la determinazione quantitativa dell'*acido acetilsalicilico* la FU prescrive un trattamento con un eccesso di NaOH e una retrotitolazione dell'eccesso con HCl.

Questo procedimento è necessario per idrolizzare l'acido acetil salicilico e salificare l'acido acetico e l'acido salicilico. Questa reazione è anche chiamata "saponificazione".

Si preferisce saponificare completamente (la sostanza è fatta reagire con NaOH 0,5M per 1h!) in modo da essere certi della stechiometria di reazione; infatti titolando direttamente con NaOH non si ha certezza della quantità di acido acetico che si saponifica (la reazione d'idrolisi non è immediata) e quindi la stechiometria risulterebbe incerta.

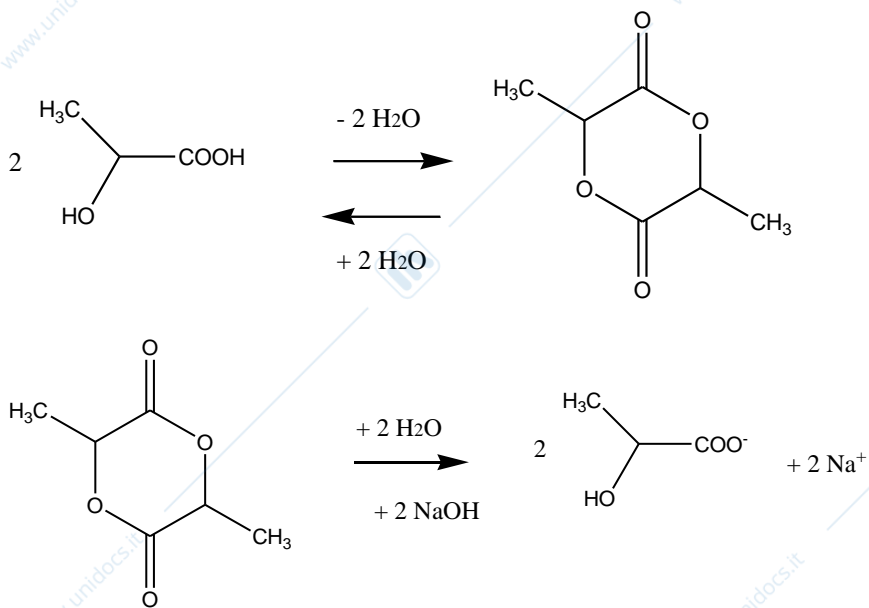


Quindi il rapporto stechiometrico in questa titolazione risulta di 1:2 :

Per l'*acido lattico* si usa una procedura analoga. La FU descrive l'acido lattico come "una miscela di acido 2-idrossipropionico e dei prodotti della sua condensazione ...".

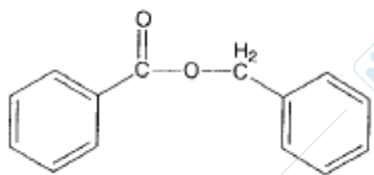
La titolazione indiretta è necessaria per saponificare l'acido lattico "liberandolo" dai prodotti di condensazione, che sono degli esteri.

Il prodotto di condensazione è idrolizzabile in ambiente alcalino. L'idrolisi non è immediata, pertanto è necessario attendere un tempo sufficiente (30 min!) in modo da completare la reazione.

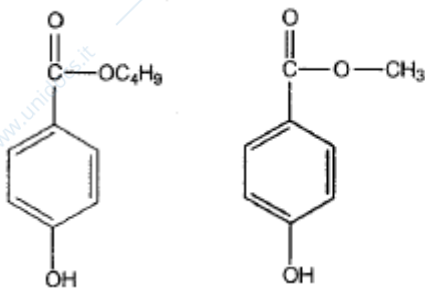


L'acido lattico è quindi salificato. Il rapporto stechiometrico è in questo caso di 1:1.

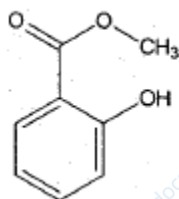
Altri esteri titolati con il metodo alcalimetrico indiretto sono tra gli altri il :



Benzile benzoato



Butile e metile paraidrossibenzoato

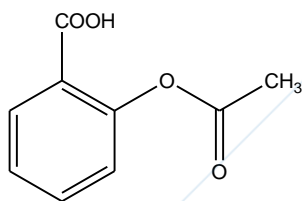


Metile salicilato

Esempi di determinazioni alcalimetriche indirette da farmacopea

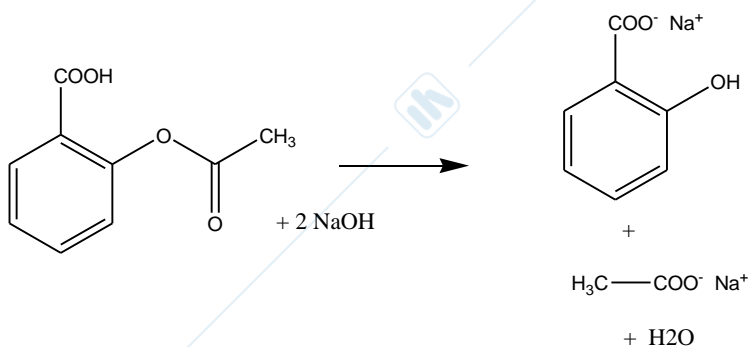
ACIDO ACETILSALICILICO

Acidum acetylsalicylicum (acido 2-acetossibenzoico)



$C_9H_8O_4$ Mr 180.2

Disciogliere, in una beuta con tappo a smeriglio, 1,00 g in 10 ml di alcool R. Aggiungere 50,0 ml di sodio idrossido 0,5 M. Tappare la beuta e lasciare a riposo per 1 h. Titolare con acido cloridrico 0,5 M, usando come indicatore 0,2 ml di fenolftaleina soluzione R. Effettuare una prova in bianco. 1 ml di sodio idrossido 0,5 M equivale a 45,04 mg di $C_9H_8O_4$.



TITOLAZIONI IN SOLVENTI NON ACQUOSI

Tutte le funzioni organiche più importanti come gruppi amminici, alcolici, carbossilici, aldeidici, ammidici possono essere titolate in solventi non acquosi.

Per quanto riguarda i composti farmaceutici, il dosaggio in ambiente non acquoso permette, talvolta, di determinare il principio attivo direttamente nel prodotto finito in quanto la maggior parte delle sostanze impiegate come eccipienti o veicolanti per compresse, pomate, supposte, sciroppi, soluzioni iniettabili sono molto spesso inerti o poco reattive nei confronti dell'ambiente in cui avviene la determinazione.

L'uso di solventi diversi dall'acqua permette di dosare anche sostanze che sono poco solubili o poco acide o poco basiche in mezzo acquoso.

Piccoli svantaggi possono essere rappresentati dall'elevato coefficiente di dilatazione termica dei solventi di natura organica e dalla presenza di acqua. Sarà pertanto indispensabile correggere i volumi.

In generale una piccola percentuale di acqua può essere tollerata in ambiente fortemente basico (max. 0,1%) mentre in ambiente debolmente basico o acido, comportandosi l'acqua come base debole o acido debole, al punto equivalente il salto di pH potrebbe risultare errato. Piccole aggiunte di anidride acetica possono eliminare le tracce di acqua mentre un eccesso potrebbe dare reazioni secondarie con la sostanza in esame durante la titolazione

Per capire gli equilibri in ambiente non acquoso, nella definizione di sostanza acida o basica è preferibile usare la teoria di Lewis che definì acido una sostanza capace di accettare una coppia di elettroni e base una sostanza capace di donare una coppia di elettroni.

Classificazione solventi

La forza di un acido o di una base dovrebbe essere rappresentata dalla capacità di cedere o acquistare protoni.

Questo è vero se si considera che il comportamento di un acido o di una base varia notevolmente con la natura del solvente e di conseguenza la forza di un acido o di una base non è un valore specifico ma è un dato sperimentale che dipende dalle condizioni di equilibrio con il solvente.

Il solvente ha quindi una importanza determinante riguardo la forza dell'acido o della base a causa del suo effetto dielettrico in quanto è responsabile della maggiore o minore dissociazione della molecola e per la sua maggiore o minore affinità per il protone.

I solventi possono essere classificati, a seconda della loro natura, in **inerti, anfoteri, basici e acidi**:

Solventi aprotici o inerti - Sono quei solventi senza gruppi ionizzabili nella molecola con basso valore della costante dielettrica. Ad esempio :

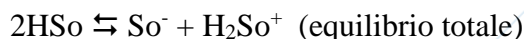
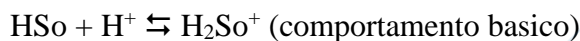
- Benzene
- Cloroformio
- Diossano
- Dimetilsolfossido
- Cicloesano
- Clorobenzene

Solventi anfiprotici o anfoteri - Sono sostanze di debole natura ionica con un alto valore della costante dielettrica. Reagiscono come acido o come basi a seconda delle condizioni sperimentali di reazione. Ad esempio:

- Alcol etilico
- Alcol metilico
- Acido acetico
- Dimetilformammide

Tutti i solventi anfoteri presentano equilibri di *autoprotolisi* .

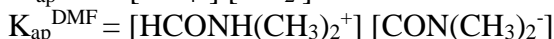
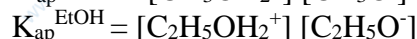
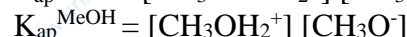
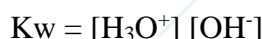
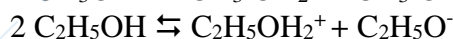
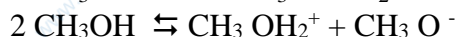
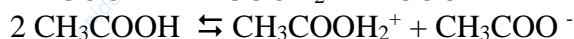
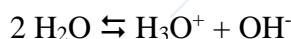
Per il caso generale del solvente anfiprotico HSo :



Dal equilibrio totale si definisce, attribuendo al solvente non ionizzato (HSO) attività unitaria, la costante di autoprotolisi (K_{ap}) come:

$$K_{ap} = [\text{So}^-][\text{H}_2\text{So}^+]$$

Alcuni esempi di equilibri di autoprotolisi:



<i>SOLVENT</i> ($T=298,15\text{K}$)	pK_{ap}
WATER	14,0
FORMIC ACID	6,5
ACETIC ACID	13,9
METHANOL	16,6
ETHANOL	18,9
AMMONIA	28,8
DMF	27-29

S.Rondinini, P.Longhi, P.R.Mussini and T.Mussini. *Autoprotolysis constants in nonaqueous solvents and aqueous organic solvent mixtures*. Pure & Appl. Chem., 59(12), 1693-1702, (1987).

Solventi protofilii o basici - Sono sostanze con un alto valore della costante dielettrica e hanno una grande facilità ad accettare protoni. Reagiscono sia con gli acidi deboli che forti: praticamente tutti gli acidi possono essere solvatati da questo tipo di solvente. Ad esempio:

- Ammoniaca liquida
- Etilendiammina
- Butilammina normale
- Butilammina iso
- Piridina
- DMF

Solventi protogenici o acidi - Sono sostanze con alto valore della costante dielettrica, hanno grande facilità a cedere protoni e mostrano proprietà identiche, anche se invertite, ai solventi protofilii. Ad esempio:

- Acido formico
- Acido acetico

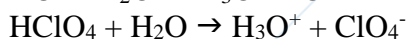
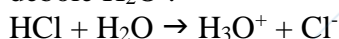
L'acido acetico, è considerato anche un solvente anfotero. L'acido formico deve contenere non più dello 0,5% di H_2O .

Possono essere anche usati in particolari condizioni HF e H_2SO_4 .

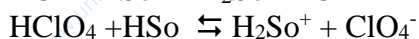
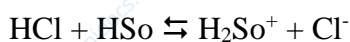
Effetto livellante

Il grado di dissociazione di un acido o di una base è influenzato dalla basicità o acidità del solvente. Quando un acido debole o un acido forte vengono sciolti in uno stesso solvente fortemente basico, si comportano ambedue da elettroliti forti. Questa proprietà del solvente viene definita *effetto livellante*. Un discorso analogo può essere ripetuto per un composto basico che venga sciolto in un solvente a carattere acido.

In H_2O l' HCl e l'ac. perclorico ($HClO_4$) hanno la stessa forza grazie all'effetto livellante del'acido debole H_2O :



In un solvente più acido dell'acqua (come l'acido acetico) l' HCl e l'ac. perclorico ($HClO_4$) possono non essere della stessa forza:



In generale per l'acido HA nel solvente acido HSo presenta il seguente equilibrio di dissociazione:



Acido	<i>pKa</i>	<i>pKa</i>	<i>pKa</i>
	H_2O	CH_3COOH	$EtOH$
Formico	3,75	—	9,15
Acetico	4,77	—	10,3
Solfonico	—	8,47	—
Perclorico	—	4,85	—
Cianacetico	2,5	—	7,5
Benzoico	4,2	—	10,2
Salicilico	3,0	—	8,7
Picrico	0,8	—	3,9
Bromidrico	—	—	—
Cloridrico	—	8,6	—
Fenolo	10,0	—	—
Ione anilinio	4,6	—	5,70
Ione ammonio	9,26	—	—
Ione o-toluidinio	4,47	—	5,56
Ione m-toluidinio	4,78	—	5,79
Ione p-toluidinio	5,10	—	6,25
Ione N-metil-anilinio	4,85	—	4,87

La combinazione del titolante acido perclorico in acido Acetico per la determinazione di sostanze basiche è molto popolare.

Determinazione del punto finale

Nella titolazione in solventi non acquosi al punto di equivalenza il salto di pH è notevole, e quindi il punto finale può essere determinato con precisione. Generalmente si preferiscono metodi strumentali in particolare metodi potenziometrici.

Il punto finale può essere anche determinato usando comuni indicatori cromatici quali :

Cristal Violetto - Si usa nelle determinazioni di sostanze basiche e loro sali. Viene impiegato allo 0,5% in acido acetico; vira dal violetto al giallo-verde.

Metil violetto - E' una miscela di fucsine variamente metilate. Si usa nelle titolazioni di acidi o basi e viene impiegato allo 0,2% in clorobenzene oppure all'1 % in etanolo o ancora all'1 % in acido acetico.

Fenolftaleina - Viene utilizzata allo 0,2% in metanolo per la titolazione di sostanze acide.

Giallo anilina - E' usato all'1 % in benzene e nella titolazione di alcoli con idrossido di litio e alluminio.

o-Nitro anilina - Si usa nella titolazione di fenoli in soluzioni di etilendiamina. Vira dal giallo all'arancio e si impiega allo 0,15% in benzene o in toluene.

Rosso fenolo - Si usa nella titolazione delle sostanze acide

Criteri di scelta del solvente

Caratteristiche del solvente come acido o come base.

Dovendo esaltare le proprietà acide di una sostanza useremo un solvente basico e viceversa.

Potere solvente.

Evitare la formazione di prodotti insolubili.

Reattività.

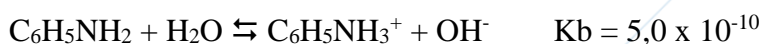
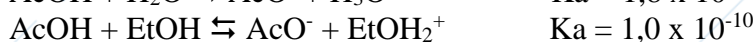
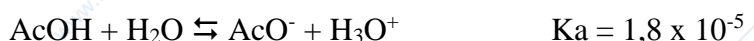
Il solvente non deve reagire né con la sostanza da titolare né con il titolante.

Punto equivalente.

Dovrà essere apprezzato in maniera netta ed inequivocabile.

Influenza della costante dielettrica

Nel caso di dissociazione con formazione di specie ioniche a partire da specie neutre , ad una maggiore costante dielettrica (ϵ) è associata una maggiore K_a o K_b :



($\epsilon \text{H}_2\text{O} = 78.5$; $\epsilon \text{EtOH} = 24.2$)

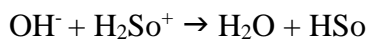
Influenza della costante di autoprotolisi

Si supponga di titolare un acido generico **HA** con una base forte **OH⁻** in un **solvente anfiprotico HSo**.

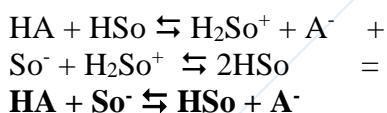
E' ragionevole supporre che il protone dell'acido debole sia solvatato dal solvente anfiprotico instaurando il seguente equilibrio:



Successivamente il titolante, base forte, reagisce con protone solvatato:



L'equilibrio della reazione di neutralizzazione dipende dalla "facilità" con cui il protone dell'acido debole viene solvatato ovvero dipende dalla concentrazione della specie H_2So^+ . La specie H_2So^+ è parte anche dell'equilibrio di autoprotolisi del solvente pertanto, l'equilibrio della reazione di neutralizzazione, può essere rappresentata nel seguente modo :



Considerando unitaria l'attività del solvente HSO^- la costante di equilibrio della reazione di neutralizzazione K_{eq} risulta:

$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}][\text{So}^-]}$$

Moltiplicando il numeratore e il denominatore per $[\text{H}_2\text{So}^+]$ si ha :

$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{A}^-][\text{H}_2\text{So}^+]}{[\text{HA}][\text{So}^-][\text{H}_2\text{So}^+]}$$

Poichè la K_a della sostanza nel solvente HSO^- e la costante di autoprotolisi del solvente K_{ap} del solvente HA sono date dalle seguenti equazioni :

$$K_a = \frac{[\text{A}^-][\text{H}_2\text{So}^+]}{[\text{HA}]} \quad K_{\text{ap}} = [\text{So}^-][\text{H}_2\text{So}^+]$$

Si ha che la costante di equilibrio della reazione di neutralizzazione K_{eq} è data da:

$$K_{\text{eq}} = \frac{K_a}{K_{\text{ap}}}$$

Pertanto più bassa è la costante di autoprotolisi del solvente e più elevata risulterà la costante della reazione di neutralizzazione e questo permette la titolazione di acidi e basi debolissimi.

Titolazioni

Generalmente per titolare una sostanza a carattere acido si userà come titolante una soluzione alcalina di NaOH , CH_3OLi , CH_3ONa , CH_3OK o idrossido di tetrabuttilammonio $[(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}^+\text{OH}^-]$. Per un composto a carattere basico si può usare HClO_4 in acido acetico come titolante. La scelta del solvente e dell'indicatore sarà effettuata caso per caso.

Durante le titolazioni in solventi non-acquosi, a causa della bassa costante dielettrica, non si ha la formazione di ioni separati ma di *coppie ioniche*.

Titolazione di funzioni (gruppi) acide

Non esiste un metodo generale e le condizioni sperimentali variano in funzione della sostanza da esaminare.

Per gli acidi sufficientemente forti si usa come titolante NaOH, altrimenti si fa uso di basi più forti come CH₃ONa o idrossido di tetrabuttilammonio [(C₄H₉)₄N⁺OH⁻].

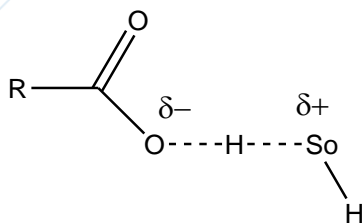
Per gli acidi "forti" si possono usare solventi anfiprotici o aprotici (metanolo anidro, etanolo, benzene, acetone).

Per gli acidi "meno forti" si possono usare solventi anfiprotici o poco basici (piridina, DMF). L'uso della DMF è efficace anche per la sua bassissima costante di autoprotolisi.

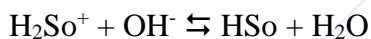
Per gli acidi "deboli" si usano solventi basici (etilendiammina, n-buttilammina, morfolina).

Lo schema generale di titolazione, come già accennato sopra, è il seguente:

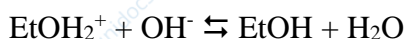
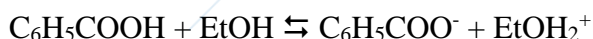
1- Reazione tra acido e solvente



2- Reazione tra il protone solvatato e la base titolante

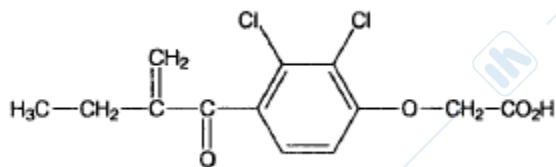


Nel caso dell' Ac. Benzoico: Solv.:Etanolo Tit.: NaOH Ind: Rosso fenolo

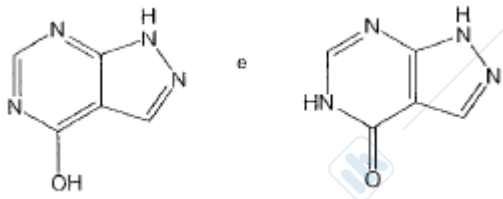


Altri esempi :

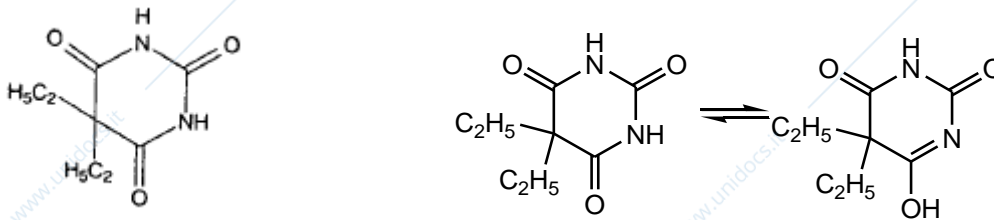
Ac.Etacrinico: Solv.:Metanolo Tit.: NaOH Ind: Potenzimetrico



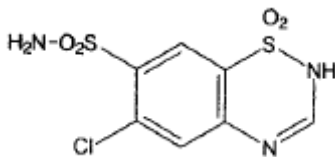
Allopurinolo: Solv.:Dimetilformamide Tit.: Tetrabuttilammonio idrossido Ind: Potenziometrico



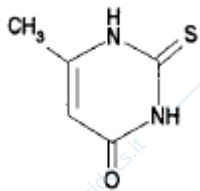
Barbitale: Solv.:Piridina Tit.: NaOH(alcolica) Ind: Timolftaleina



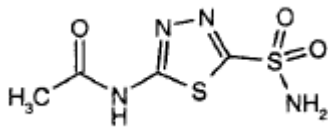
Clorotiazide: Solv.:Dimetilformamide Tit.: Tetrabuttilammonio idrossido Ind: Potenziometrico



Metiltiouracile: Solv.:Dimetilformamide Tit.: Sodio metossido Ind: Blu timolo



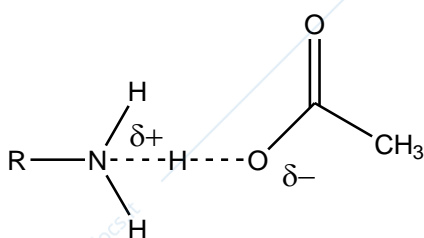
Acetazolamide : Solv.:Dimetilformamide Tit.: NaOH(alcolica) Ind: Potenziometrico



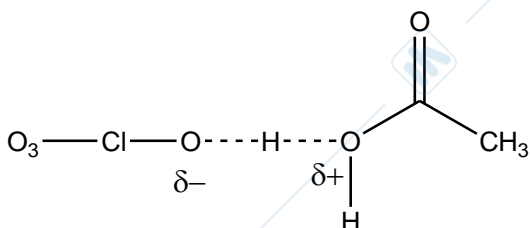
Titolazione di funzioni (gruppi) basiche

La titolazione è effettuata di solito in acido acetico usando come titolante HClO_4 .
Lo schema di titolazione (solv.:Ac.Acetico Tit.:Ac.Perclorico) è il seguente:

1- Reazione tra base e solvente (Ac.Acetico)



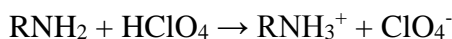
2- Reazione tra HClO_4 e Ac.Acetico (nella soluzione acetica di Ac.Perclorico)



3- Reazione tra l'anione acetato e il protone solvatato del titolante

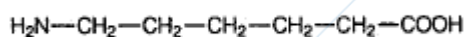


La reazione complessiva (somma delle tre) :

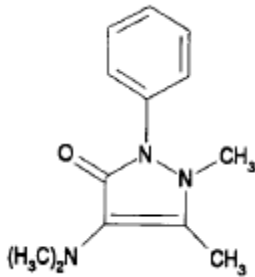


Ad esempio :

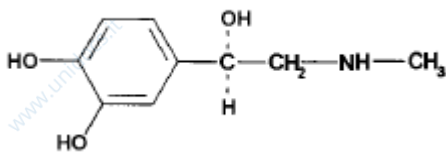
Ac.Ammiocaproico : Solv.:Ac.Acetico Tit.: Ac.Perclorico Ind: Cristalvioletto



Aminofenazone : Solv.:Ac.Acetico Tit.: Ac.Perclorico Ind: Cristalvioletto



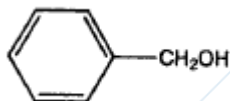
Adrenalina – Adrenalina Tartrato : Solv.:Ac.Acetico Tit.: Ac.Perclorico Ind: Cristalvioletto



Titolazione di funzioni alcoliche

Un metodo generale di titolazione è rappresentato dalla reazione con basi forti in solventi basici che ne esaltino la debole funzione acida.

Alcol Benzilico: Solv.:Piridina Tit.: NaOH Ind: Fenolftaleina

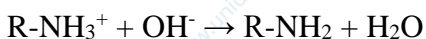
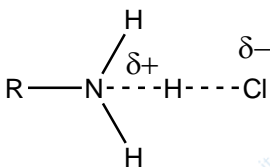


Titolazione di ammino-acidi - La titolazione con HClO₄ in acido acetico/ acido formico usando per indicatore la naftolbenzeina in tutti i casi tranne nel caso della glicina, treonina e tiroxina dove è previsto un indicatore potenziometrico.

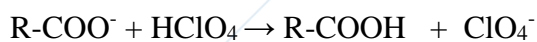
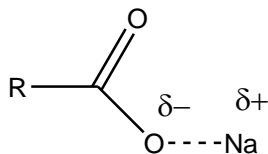
Titolazione di sali

Alcuni sali possono essere titolati in mezzo non acquoso più efficacemente che non in acqua. La titolazione può avvenire sia con NaOH o CH₃ONa (sali acidi come i sali di ammine) che con ac.perclorico (sali basici come i sali di acidi carbossilici).

Sali acidi (Sali di ammine)

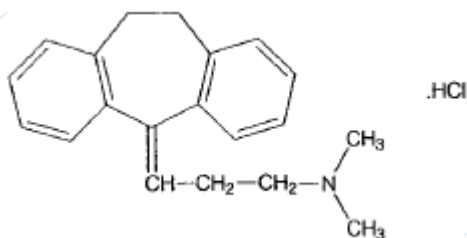


Sali basici (Sali di acidi carbossilici)

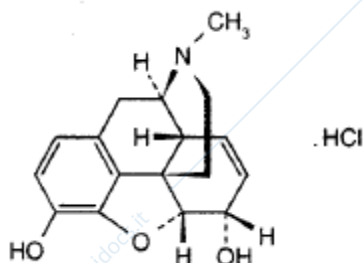


Ad esempio:

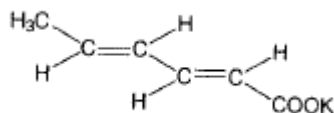
Amitriptilina cloridrato: Solv.: Etanolo Tit.: NaOH Ind: Potenziometrico



Morfina cloridrato: Solv.: Ac. Acetico Tit.: Ac. Perclorico Ind: Violetto di genziana



Potassio sorbato: Solv.: Ac. Acetico Tit.: Ac. Perclorico Ind: Cristal Violetto



REAZIONI DI PRECIPITAZIONE E DI COMPLESSAZIONE

La formazione di precipitati insolubili, o la formazione di ioni complessi poco dissociati solubili, sono due procedimenti che danno luogo a reazioni praticamente "complete" su cui sono basati numerosi procedimenti di analisi volumetrica.

Queste titolazioni sono eseguite aggiungendo alla soluzione contenente il catione o l'anione in esame una soluzione titolata che determina la separazione di questo sotto forma di un precipitato insolubile o mediante la formazione di un complesso molto stabile.

Il punto finale della reazione è valutato, come per le reazioni di neutralizzazione esaminate, mediante indicatori ed il loro impiego può desumersi dalla valutazione delle condizioni di equilibrio che si stabiliscono durante la titolazione.

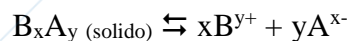
ASPETTI TEORICI DELLA PRECIPITAZIONE

Solubilità e prodotto di solubilità

Nelle reazioni di precipitazione si utilizza la formazione di sali poco solubili che si separano sotto forma di precipitati.

Un solido ionico è costituito dall'impacchettamento di ioni che danno luogo alla formazione del reticolo cristallino; la sua solubilità dipende da due forze in opposizione. Una forza di attrazione delle molecole di acqua che tende a riportare gli ioni in soluzione ed una forza di reciproca attrazione degli ioni nel reticolo.

Quando un qualunque solido ionico, ad esempio B_xA_y è in contatto con l'acqua si stabilisce un equilibrio, rappresentato dalla seguente equazione:



Applicando la legge di azione di massa si ha:

$$K = \frac{[B^{y+}]^x \cdot [A^{x-}]^y}{[B_xA_y]}$$

in cui i termini fra parentesi quadra rappresentano le concentrazioni molari o meglio le masse attive degli ioni B^{y+} , A^{x-} e del solido B_xA_y .

Fino a che del solido è presente, la sua concentrazione è costante, per cui si può scrivere:

$$[B^{y+}]^x [A^{x-}]^y = K [B_xA_y]_{\text{(solido)}} = K_{B_xA_y}$$

$K_{B_xA_y}$ si chiama *prodotto di solubilità* (K_{ps}) ed esprime le condizioni di equilibrio di una soluzione satura del sale B_xA_y .

Il valore numerico del prodotto di solubilità costituisce l'elemento fondamentale per stabilire se una precipitazione può avvenire e se può essere usata per una determinazione quantitativa.

Fattori che influenzano la solubilità di un precipitato

Effetto dello ione a comune sulla solubilità

Dall'espressione del prodotto di solubilità si osserva che, se la concentrazione di uno ione, in equilibrio con il precipitato viene aumentata, la concentrazione dell'altro ione, che costituisce il precipitato deve diminuire perché sia rispettata la legge dell'equilibrio e si ha di conseguenza la formazione di una maggiore quantità di fase solida.

Si sfrutta questo principio definito come *effetto dello ione a comune* per ridurre la solubilità di un precipitato ma non trova, per ovvie ragioni, applicazioni in un'analisi volumetrica.

Effetto degli ioni non a comune

Il reattivo precipitante deve essere comunque aggiunto in modesto eccesso (5-20%) riguardo alla quantità stechiometrica in quanto una indiscriminata aggiunta provoca un incremento in luogo di una diminuzione della solubilità. Ciò si verifica anche se alla soluzione, contenente il precipitato è aggiunto un elettrolito, non avente alcun ione in comune con il precipitato.

Questo effetto generalmente indicato come "*effetto sale*", viene interpretato come una diminuzione della concentrazione effettiva (attività) degli ioni in soluzione.

Infatti in soluzione uno ione è circondato dalla sua sfera di solvatazione in cui possono coordinarsi molecole o ioni dando luogo alla formazione di complessi di varia stabilità.

Effetto dei solventi

La solubilità di un precipitato inorganico (solido ionico) diminuisce generalmente se alla soluzione acquosa viene aggiunto un solvente miscibile meno polare (minore costante dielettrica) dell'acqua, oppure quando l'acqua è totalmente sostituita con un solvente che abbia un basso valore della costante dielettrica.

Effetto della temperatura

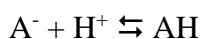
La solubilità di un solido ionico (sale) generalmente cresce con la temperatura. Tale effetto è molto evidente per alcuni sali (AgCl) e di minore importanza per altri

Effetto del pH

Se il precipitato è costituito da un sale di un acido forte e di una base forte, la concentrazione idrogenionica ha riguardo alla solubilità un effetto identico a quello di un elettrolito che non ha alcuno ione in comune. Se si tratta invece di un sale di un acido debole o di una base debole la concentrazione idrogenionica ha grande influenza sulla solubilità.

Si consideri un sale poco solubile BA di un acido debole (HA) :

$$K_{ps} = [B^+][A^-]$$

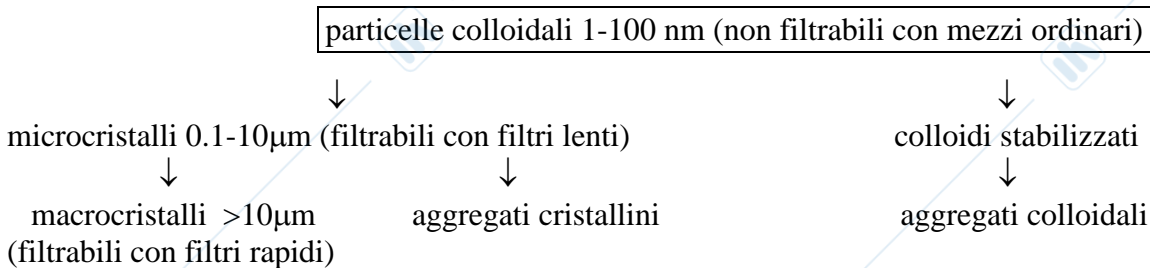


$$K_a = [H^+][A^-] / [HA]$$

Pertanto la solubilità è più grande, a parità di K_{ps} , quanto maggiore è la concentrazione idrogenionica e quanto minore è il valore della costante di ionizzazione dell'acido.

Il processo di precipitazione

A + B → soluzione sovrasatura → nuclei primari (non filtrabili) →



Il processo della precipitazione ha inizio dalla formazione di nuclei primari, che possono essere considerati come costituiti dall'insieme di poche coppie di ioni. La velocità di formazione di questi nuclei primari aumenta con il grado di sovrasaturazione.

Questi nuclei sono instabili e crescendo in dimensione danno luogo a particelle colloidali (0.001-0.1 µm in diametro), che non possono essere filtrate in nessun modo.

A questo punto la precipitazione può evolvere in due modi differenti: le particelle colloidali possono stabilizzarsi ed agglomerarsi dando luogo ad aggregati colloidali oppure possono svilupparsi formando microcristalli i quali, secondo le condizioni, danno a loro volta luogo a macrocristalli o ad aggregati cristallini.

La precipitazione di una qualunque sostanza evolve seguendo questi tre schemi e la tipologia dello stato di aggregazione dipende delle condizioni sperimentali prescelte.

I precipitati cristallini sono costituiti da particelle con struttura cristallina definita, hanno una densità alquanto elevata e si depositano rapidamente lasciando un liquido limpido. Sono i precipitati più facilmente filtrabili e che contengono un minor numero di impurezze.

I precipitati microcristallini sono costituiti da aggregati di microcristalli ed hanno un aspetto polverulento; data la piccola dimensione delle particelle e la forma degli aggregati questi precipitati hanno una notevole tendenza ad occludere impurezze.

Gli *aggregati colloidali*, se sono costituiti da aggregati di particelle colloidali idrofobe come AgCl e AgI hanno un aspetto caseoso. Sono abbastanza densi ed hanno grande tendenza ad occludere impurezze. Se il colloide è idrofilo si ottengono precipitati gelatinosi, molto voluminosi che contengono una grande quantità di acqua.

La formazione di precipitati è sfruttata in analisi quantitativa per determinazioni gravimetriche (**gravimetria**) e volumetriche (**precipitometria**).

La gravimetria consiste nella formazione di un precipitato, con un basso prodotto di solubilità, del composto da analizzare e, dopo i necessari precedenti di separazione e essiccazione del precipitato, nella determinazione della sua massa con una bilancia analitica.

Nelle precedenti edizioni della farmacopea veniva riservata a questa tecnica la determinazione quantitativa dei solfati. Lo ione solfato, una volta portato in soluzione, veniva precipitato in ambiente acido (HCl) come Bario Solfato. Per avere una precipitazione quantitativa dei solfati si sfruttava la riduzione della solubilità del precipitato con l'aggiunta dello ione a comune, ovvero di un eccesso di Bario Cloruro.

Nella attuale farmacopea ufficiale sono scomparse le determinazioni quantitative gravimetriche in quanto le condizioni necessarie per un corretto risultato analitico quali:

- separazione pressoché completa del composto da analizzare

- purezza e composizione chimica ben definita del precipitato sono raramente ottenibili.

Da quanto detto appare evidente che la differenza tra gravimetria e precipitometria consiste principalmente per l'uso del reattivo precipitante che nella gravimetria va aggiunto in eccesso mentre nella precipitometria, tale reattivo che rappresenta il titolante, va aggiunto in quantità stechiometrica.

PRECIPITOMETRIA: titolazioni per precipitazione

ARGENTOMETRIA

Le più importanti e più largamente impiegate reazioni volumetriche di precipitazione sono quelle argentometriche, basate sulla insolubilità dei sali di argento.

L'argentometria considera quindi sia il dosaggio dell'argento sia il dosaggio degli anioni che formano con Ag^+ sali poco solubili (alogenuri, cianuri, solfuri, tiocianati, cromati, arseniati, fosfati ecc).

Curva di titolazione

Prima del punto equivalente la concentrazione di ioni Ag^+ e la concentrazione del Cl^- derivante dalla solubilità del sale AgCl , può essere trascurata. Pertanto, l'andamento della curva di titolazione, segue l'equazione generale $x = \frac{A \times c - y \times c'}{A + y}$ dove x è la concentrazione dell'anione, A rappresenta il volume in cui è sciolto l'anione, y rappresenta il volume aggiunto di soluzione dello ione Ag^+ , c e c' rappresentano, rispettivamente, le concentrazioni iniziali della soluzione dell'anione e la concentrazione della soluzione titolante di Ag^+ .

La curva di titolazione riporta nelle ordinate la concentrazione dello ione Cl^- (o meglio il pCl^-).

Si vuol titolare 50 ml di una soluzione di NaCl 0,1F con una soluzione di AgNO_3 0,1F.

Prima del punto equivalente avremo:

$$[\text{Cl}^-] = \frac{(50 - \text{ml}_{\text{Ag}^+}) \times 0,1}{50 + \text{ml}_{\text{Ag}^+}}$$

Al punto equivalente la concentrazione dello ione Cl^- è in relazione al K_{ps} .

$$K_{\text{ps}} \text{AgCl} = [\text{Ag}^+] [\text{Cl}^-] = 1,8 \cdot 10^{-10}$$

la concentrazione dello ione Cl^- sarà data da:

$$[\text{Cl}^-] = [\text{Ag}^+] = \sqrt{1,8 \cdot 10^{-10}} = 1,3 \cdot 10^{-5}$$

Dopo il punto equivalente :

$$[Cl^-] = Kps/[Ag^+]$$

$$[Cl^-] = 1,8 \cdot 10^{-10} / \left(1,3 \cdot 10^{-5} + \frac{(ml_{Ag^+} - 50) \times 0,1}{50 + ml_{Ag^+}} \right)$$

La concentrazione dello ione Ag^+ derivante dalla dissociazione del sale $AgCl$, può essere trascurata in quanto, al massimo (trascurando l'effetto dello ione a comune) assumerà il valore di $1,3 \cdot 10^{-5}$.

Questa equazione è del tutto analoga a quella riportata a pag.41 che descrive l'andamento dopo il punto equivalente di una titolazione di un acido forte.

Nel grafico riportato in figura 11 la concentrazione dello ione Cl^- è espressa come pCl^- .

ml Ag^+	$[Cl^-]$	$p[Cl^-]$
0	0.1	1
10	0.066667	1.176091
20	0.042857	1.367977
30	0.025	1.60206
40	0.011111	1.954243
45	0.005263	2.278754
49	0.00101	2.995635
49.9	0.0001	3.999565
49.99	1E-05	4.999957
50	0.00001	5
50.01	5E-06	5.301008
50.1	9.1E-07	6.040998
51	1E-07	7.000043
55	2.1E-08	7.678692
60	1.1E-08	7.959085
70	6E-09	8.222109
80	4.33E-09	8.363366
90	3.5E-09	8.456084
100	3E-09	8.523009

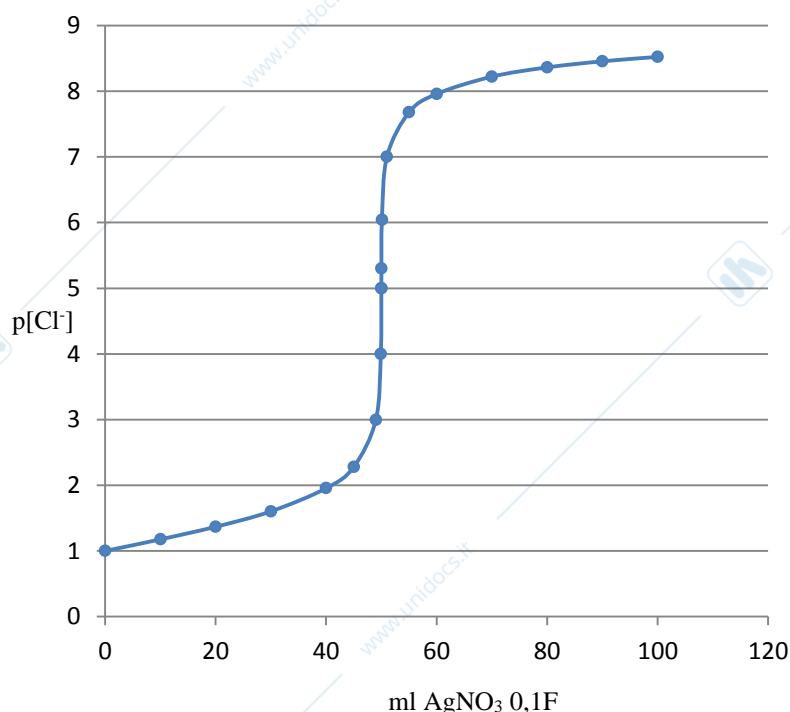


Fig. 11. Curva di titolazione dello ione Cl^-

Dalla curva di titolazione riportata in fig.11 si osserva che il pCl^- subisce delle notevoli variazioni nella regione del punto di equivalenza. Per esempio nel passare da 0,2% prima del punto di equivalenza a 0,2% dopo, pCl^- passa da 4.0 a 6.0 che corrisponde ad una variazione di 2 unità di pCl^- .

Le variazioni della concentrazione dell'anione, nella regione del punto equivalente, sono inversamente proporzionali al valore del Kps . Precipitati che hanno un valore di $Kps > 10^{-8}$ non possono essere titolati.

Nella figura 11a sono riportate le curve di titolazione, nelle stesse condizioni di concentrazione, di cloruri bromuri e ioduri. Come si vede il salto di concentrazione nella regione del punto equivalente è inversamente proporzionale al valore del Kps ($Kps AgCl = 1,8 \times 10^{-10}$; $Kps AgBr = 5,2 \times 10^{-13}$; $Kps AgI = 8,3 \times 10^{-17}$).

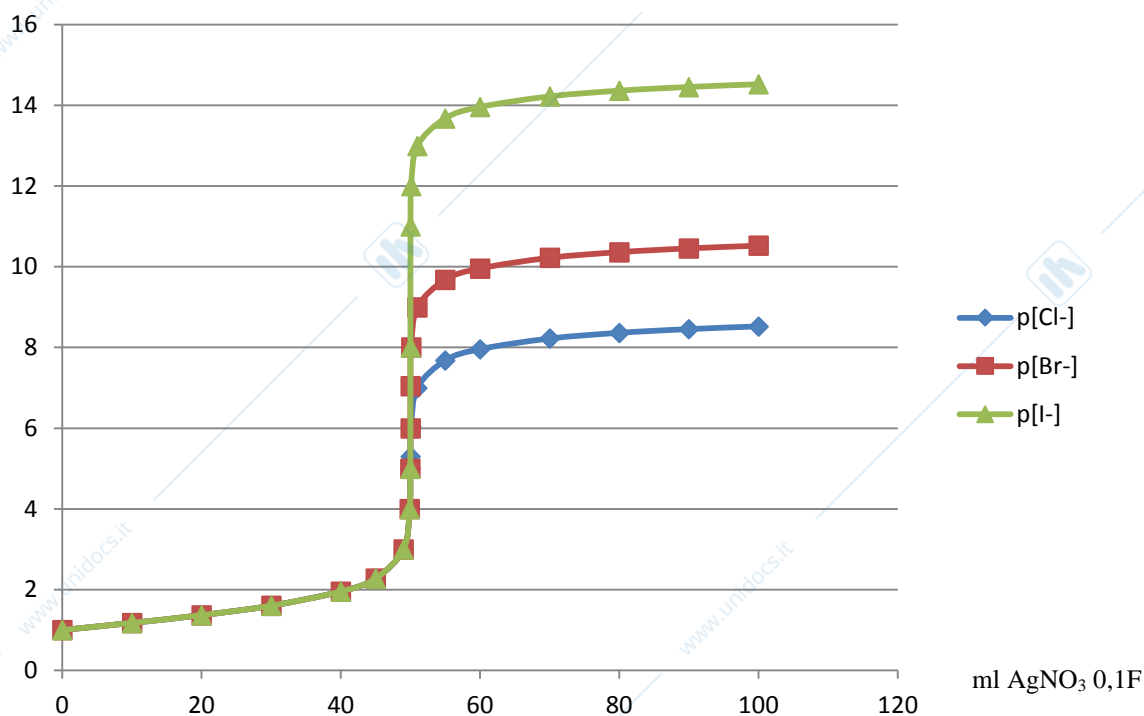


Fig. 11a. Curva di titolazione degli ioni Cl⁻, Br⁻ e I⁻

Il punto finale in argentometria può essere apprezzato per via chimica usando opportuni indicatori.

Metodo di Mohr

Si impiega come indicatore una soluzione di cromato che dà luogo alla formazione di un precipitato rosso arancione di cromato di argento dopo che il cloruro è stato precipitato in modo completo come cloruro di argento, bianco.

Tale metodo si basa sul principio della precipitazione frazionata in quanto essendo il cloruro di argento assai meno solubile del cromato di argento questo sale non può precipitare fino a che la concentrazione del cloruro non è divenuta molto piccola:

$$[\text{Ag}^+][\text{Cl}^-] = 1,8 \cdot 10^{-10}$$

$$[\text{Ag}^+]^2[\text{CrO}_4^{2-}] = 2 \cdot 10^{-12}$$

Al punto equivalente la concentrazione di Ag⁺ sarà data da :

$$[\text{Cl}^-] = [\text{Ag}^+] \quad [\text{Ag}^+] = (\text{Kps}_{\text{AgCl}})^{-1/2} = 1,3 \cdot 10^{-5}$$

Affinché al punto equivalente precipiti il cromato d'argento (rosso) è necessario che la concentrazione del cromato sia pari a :

$$\text{Kps}_{\text{Ag}_2\text{CrO}_4} = [\text{Ag}^+]^2[\text{CrO}_4^{2-}] \quad [\text{CrO}_4^{2-}] = \text{Kps}_{\text{Ag}_2\text{CrO}_4} / [\text{Ag}^+]^2 = 1,1 \cdot 10^{-2}$$

Pertanto la soluzione di cromato (indicatore) dovrebbe essere 0.01 M in cromato.

Poiché però con tale quantità di cromato di potassio si avrebbe all'inizio una soluzione colorata intensamente in giallo e non sarebbe facile l'apprezzamento di un viraggio netto al rosso-arancio, si impiega, in pratica, una quantità di indicatore minore (circa 0.002 – 0.004 M).

L'errore commesso usando una soluzione più diluita di indicatore è comunque trascurabile ed è valutato, per soluzioni di titolante 0.1M, a meno di una goccia. Per soluzioni titolanti più diluite diventa apprezzabile, se ne può tenere conto facendo una determinazione in bianco e sottraendo tale valore dal volume di soluzione standard impiegato.

La titolazione col metodo di Mohr deve essere eseguita in soluzione neutra o debolmente alcalina (intervallo di pH 6.5-9) poiché la prima ionizzazione dell'ac.cromico è forte ma la seconda è debole ($K_2 = 3,2 \cdot 10^{-7}$).

Inoltre, in soluzione acida, la concentrazione dello ione cromato diminuisce per la reazione con lo ione idrogeno che porta alla formazione dello ione bicromato:



pertanto per avere precipitazione di Ag_2CrO_4 è necessaria una concentrazione di Ag^+ assai superiore di quella necessaria in base alla concentrazione di cloruro.

In soluzione alcalina può precipitare l'idrossido d'argento ($K_{ps} = 2 \cdot 10^{-8}$). Un metodo semplice per rendere neutra una soluzione consiste nell'aggiungere un eccesso di carbonato di calcio puro in polvere.

Il metodo di Mohr può essere impiegato in modo soddisfacente alla titolazione dei bromuri mentre non può essere applicato per la determinazione degli ioduri e dei tiocianati a causa dell'adsorbimento di questi anioni sul precipitato.

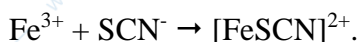
Metodo di Volhard.

Questo è un metodo indiretto per la determinazione dei cloruri e consiste nel aggiungere alla soluzione acida dei cloruri un volume noto di una soluzione di nitrato di argento e nella retrotitolazione degli ioni Ag^+ non precipitati con tiocianato di potassio o ammonio impiegando come indicatore allume ferrico .

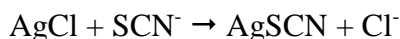
L'aggiunta di SCN^- dà luogo alla formazione di un precipitato poco solubile :



e quando la reazione di precipitazione è completa il SCN^- in eccesso forma con gli ioni Fe^{3+} una intensa colorazione rossa :



Se la titolazione dello ione argento con tiocianato viene eseguita in presenza di un precipitato di AgCl si ha una più o meno marcata trasposizione di questo ($K_{ps} = 1,8 \cdot 10^{-10}$) nel meno solubile AgSCN secondo la reazione:



Non si ha in questo caso un punto finale ben definito : la quantità di tiocianato impiegata nella retrotitolazione è troppo elevata e di conseguenza risulta inferiore la quantità di cloruro determinata. Al fine di impedire la reazione fra SCN^- e AgCl si possono seguire diversi procedimenti:

- filtrazione del precipitato di AgCl e titolazione del filtrato e delle acque di lavaggio;
- ebollizione della soluzione al fine di permettere la coagulazione del precipitato di AgCl rendendolo quindi meno reattivo. Titolazione dopo raffreddamento.

- c) aggiunta di piccole quantità di etere, nitrobenzene o preferibilmente di dibutile ftalato; questi solventi hanno la funzione di rivestire il precipitato di uno strato impermeabile, impedendo a questo di reagire con la soluzione di tiocianato impiegata nella retrotitolazione.

Il metodo di Volhard può essere impiegato per la determinazione dei bromuri, ioduri e tiocianati. In questi casi la filtrazione o la protezione del precipitato non è necessaria a causa della piccola solubilità del precipitato.

Nella determinazione degli ioduri è importante che l'allume ferrico sia aggiunto solo dopo precipitazione dello ioduro di argento altrimenti lo ioduro verrebbe ossidato a iodio dalla ione ferrico ($2\text{Fe}^{3+} + 2\text{I}^- \rightleftharpoons 2\text{Fe}^{2+} + \text{I}_2$).

Metodo di Fajans

Si basa sull'impiego di indicatori di adsorbimento.

Quando un precipitato si forma in presenza di un eccesso di uno dei suoi ioni, questi ioni vengono adsorbiti in gran quantità sulle particelle di precipitato e gli ioni di carica opposta costituiscono gli ioni di bilanciamento.

Fajans ha osservato che numerosi coloranti organici, adsorbiti da alcuni precipitati, provocano una variazione cromatica che può venire impiegata per determinare il punto finale di una titolazione per precipitazione.

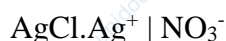
La fluoresceina ed i suoi derivati sono tipici indicatori di adsorbimento.

Quando una piccola quantità di nitrato di argento viene aggiunto ad una soluzione di cloruri (NaCl), lo ione Cl^- è fortemente adsorbito sulle particelle di cloruro di argento colloidale ed i cationi presenti costituiscono gli "ioni di bilanciamento".

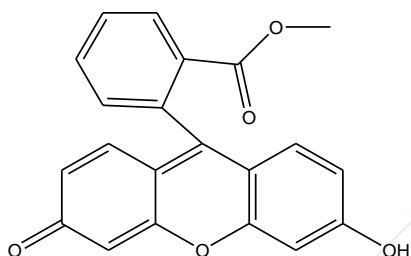
La particella può essere rappresentata:



In presenza di un eccesso di Ag^+ , ottenuto o aggiungendo Ag^+ oltre la quantità stechiometrica o titolando una soluzione di Ag^+ con Cl^- , lo ione argento viene adsorbito e gli anioni formano gli "ioni di bilanciamento" così che la particella di precipitato ha la seguente rappresentazione:



Se la titolazione di Cl^- è eseguita in presenza di fluoresceina sodica gli ioni Cl^- adsorbiti sul precipitato attraggono, come sopra indicato, solo i cationi.



Superato il punto di equivalenza l'eccesso di Ag^+ è adsorbito sul precipitato e l'anione fluoresceinato è fissato come ione di bilanciamento secondo la rappresentazione :



In questo processo lo ione fluoresceinato subisce una deformazione strutturale associata ad una variazione cromatica dal giallo-verde al rosa.

Se lo ione argento è titolato con cloruri, il precipitato è inizialmente rosa e la colorazione scompare quando lo ione fluoresceinato è sostituito come ione di bilanciamento.

Una sostanza può venire impiegata come indicatore di adsorbimento se risponde ai seguenti requisiti:

- 1) l'indicatore deve essere di carica opposta a quello dello ione impiegato nella titolazione.
- 2) l'indicatore deve venire fissato in modo che la variazione cromatica si verifichi immediatamente dopo il punto stechiometrico.
- 3) l'indicatore non deve essere troppo tenacemente fissato dal precipitato; deve fungere da "ione di bilanciamento" e non essere fissato in adsorbimento primario.

Il precipitato formatosi durante la titolazione deve essere fortemente disperso. Infatti poiché la variazione cromatica si verifica solo alla superficie della particella precipitata, la variazione risulta tanto più evidente quanto maggiore è il numero delle particelle presenti. E' quindi importante che il precipitato non coaguli. La stabilizzazione delle particelle colloidali può essere ottenuta mediante l'aggiunta di colloidali protettori come la destrina che impedisce la coagulazione del sol.

La fluoresceina è un acido debole, e poiché lo ione negativo dell'indicatore è responsabile dell'effetto cromatico, l'efficienza dell'indicatore diminuisce in presenza di ioni idrogeno, che diminuiscono la concentrazione dello ione fluoresceinato. Le titolazioni con fluoresceina debbono essere eseguite in soluzioni neutre o debolmente basiche (pH 7-10); i derivati della fluoresceina, che sono acidi più forti, possono sostituire vantaggiosamente la fluoresceina e possono venire impiegati anche in soluzione acida. L'eosina (tetrabromo-fluoresceina) può essere utilizzata per la titolazione di bromuri o ioduri in soluzione a $\text{pH} \geq 2$ ma non è impiegabile per i cloruri; la diclorofluoresceina viene invece impiegata per la titolazione dei cloruri in soluzioni in cui il pH è uguale o maggiore di 4.

Metodo di Gay Lussac.

Si basa sul fatto che il precipitato di cloruro di argento ottenuto nella titolazione di Cl^- con Ag^+ o nella titolazione inversa coagula e si deposita in corrispondenza del punto di equivalenza. La titolazione viene eseguita aggiungendo il reattivo goccia a goccia fino a che non si forma più precipitato. E' un metodo molto lungo ma tuttora impiegato per l'elevato grado di accuratezza che fornisce.

Pratica dei metodi argentometrici

Come indicato in precedenza i metodi dell'argentometria sono: il metodo di Mohr, procedimento diretto, che impiega il cromato di potassio come indicatore, il metodo di Fajans o degli indicatori di adsorbimento, che utilizza alcuni coloranti organici, come indicatori, ed il metodo indiretto di Volhard che consiste nell'aggiungere alla soluzione in esame una quantità nota di soluzione titolata di nitrato di argento in eccesso rispetto a quella stechiometrica e retrotitolarla con SCN^- impiegando allume ferrico come indicatore. I primi due procedimenti vengono impiegati operando in ambiente circa neutro, mentre l'ultimo è adatto solo per titolazioni in ambiente acido.

Preparazione di una soluzione di AgNO_3

Il nitrato di argento, pur essendo ottenibile allo stato puro mediante ripetute cristallizzazioni, contiene sempre dell'acqua inclusa fra i cristalli che deve essere allontanata riscaldando a 150°C . In presenza di sostanze organiche (anche il pulviscolo dell'aria) l' AgNO_3 può subire a tale temperatura una parziale riduzione per cui la superficie dei cristalli diventa bruna per separazione di Ag metallico.

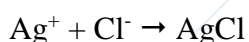
La riduzione ad argento metallico è provocata anche dall'esposizione alla luce, soprattutto se il nitrato d'argento è finemente disperso.

Per queste ragioni il nitrato d'argento non è considerato una sostanza madre, pertanto è necessario preparare soluzioni a titolo approssimato impiegando AgNO_3 commerciale e controllare la concentrazione con altre soluzioni titolate.

Si pesano in un vetro da orologio una quantità approssimata di AgNO_3 con una bilancia tecnica, si sciolgono in acqua deionizzata e si porta la soluzione al volume desiderato in apposito recipiente munito di tappo e preferibilmente in vetro scuro.

La soluzione di nitrato d'argento deve essere protetta dalla luce, a causa della tendenza dei sali di Ag ad essere decomposti (ridotti) per via fotochimica.

La titolazione di una soluzione di nitrato d'argento è eseguita a partire da una quantità esattamente determinata di sodio cloruro (sostanza madre).



Metodo di Mohr

Indicatore : Soluz. K_2CrO_4 5% (~ 0.25 M) (impiegare 1 ml. indicatore per ogni 50 ml di volume finale).

Quando si aggiunge goccia a goccia una soluzione di AgNO_3 ad una soluzione neutra o leggermente alcalina (pH = 6-9) contenente ioni Cl^- e ioni CrO_4^{2-} , si osserva che ogni goccia di nitrato di Ag produce una macchia rosso mattone di Ag_2CrO_4 che scompare rapidamente agitando, mentre precipita l'alogenuro di Ag bianco, la cui solubilità è minore di quella del cromato di Ag. E' allora evidente che quando tutti gli ioni cloro saranno precipitati dallo ione argento sotto forma di AgCl , la prima goccia di AgNO_3 in eccesso impartirà alla soluzione un colore rosso per la precipitazione del cromato di argento.

Essendo NaCl una sostanza madre se ne può preparare una soluzione di concentrazione definita per pesata diretta, partendo da sale purissimo previamente polverizzato e riscaldato a 120° per 1-2 ore. E', ovviamente, importante che l'acqua usata per preparare la soluzione di NaCl , sia esente da cloruri.

Per la *standardizzazione (determinazione del titolo esatto)* di una soluzione di argento nitrato, si introducono con una pipetta o con una buretta 10 o 20 ml esatti della soluzione di NaCl a titolo esatto in una beuta da 250 ml, si aggiunge 1 ml di soluzione di cromato e si titola, lentamente ed agitando continuamente, con la soluzione di AgNO_3 da titolare contenuta nella buretta.

Le macchie rosso mattone di Ag_2CrO_4 che si formano ad ogni goccia scompaiono rapidamente mentre il liquido diviene lattiginoso per la presenza di AgCl . Quando a un certo punto si osserva che la colorazione rosso mattone stenta a scomparire per agitazione, si continua a titolare con più lentezza fino a che si avverte nettamente il viraggio da bianco-giallastro a rosso bruno persistente. Eseguire una determinazione in bianco aggiungendo 1 ml di indicatore a circa 50 ml di acqua e titolare con nitrato di argento. Il "bianco" deve essere pari a circa 0,05 ml (una goccia); sottrarre questo volume a quello impiegato nella titolazione e calcolare la molarità.

Si deve agitare energicamente la soluzione durante la titolazione per evitare la formazione di cromato di argento in conseguenza di un locale eccesso di titolante prima di raggiungere il punto di equivalenza.

Il metodo di Mohr può essere impiegato per la determinazione di cloruri e di bromuri ma non di tiocianati o di ioduri in quanto questi anioni sono fortemente adsorbiti dal precipitato.

Gli ioni che danno precipitati con Ag^+ come arseniati, ossalati e fosfati debbono essere assenti, i solfiti possono essere eliminati ossidandoli a solfati e i solfuri ed i carbonati possono essere eliminati per ebollizione dopo acidificazione e la soluzione neutralizzata aggiungendo carbonato di calcio, bicarbonato di sodio, ossido di magnesio o borace. Bario e piombo interferiscono formando cromati insolubili, il primo può essere eliminato per precipitazione aggiungendo solfato sodico.

Cloruri idrolizzabili (es. alluminio, ferro) non possono essere titolati poiché durante la neutralizzazione precipitano sali basici contenenti Cl^- .

Metodo di Fajans con indicatori di adsorbimento

Indicatori :

- fluoresceina (0.2% in alcool o 0.2% sale sodico in acqua)
- diclorofluoresceina (0.1% in alcool 70% o 0,1% sale sodico in acqua)
- eosina (tetrabromofluoresceina) (0.1% in alcool o 0.1% sale sodico in acqua) (impiegare 5-10 gocce per ogni 25 ml di volume finale).

La *standardizzazione della soluzione di argento nitrato* viene eseguito con la stessa soluzione a titolo esatto di NaCl preparata come descritto sopra. Il punto finale della titolazione è apprezzato mediante un indicatore di adsorbimento. Poiché l'adsorbente è in questo caso costituito da AgCl e l'ambiente è neutro, gli indicatori più adatti sono la fluoresceina e la diclorofluoresceina, con i quali si ha un viraggio netto quando in presenza di un piccolo eccesso di ioni Ag^+ , il colore del precipitato (AgCl) da bianco passa a rosso. Il viraggio è reversibile per aggiunta di ioni cloro. Si introducono con una pipetta 10 o 20 ml esatti di soluzione di NaCl a titolo esatto in una beuta da 250 ml, si aggiungono 50 ml di acqua deionizzata e quindi 8 gocce di indicatore: la soluzione acquista un colore giallo-verde. Si esegue la titolazione con AgNO_3 da controllare, agitando continuamente. Il punto di equivalenza è raggiunto quando il precipitato in sospensione assume bruscamente una tinta rossastra. Durante la titolazione conviene evitare la luce diretta e lavorare a luce diffusa.

La concentrazione di Cl^- non deve essere maggiore di 0.025 M, è quindi necessario diluire le soluzioni più concentrate. Bromuri, ioduri e tiocianati possono essere determinati in modo simile. Se si impiega diclorofluoresceina il pH può essere anche acido (> 4) ma con la fluoresceina la soluzione non deve avere un pH minore di 7. Gli anioni che interferiscono sono gli stessi del metodo Mohr; notevoli quantità di elettroliti interferiscono perché provocano una prematura coagulazione del cloruro di argento ed un viraggio poco definito.

Dosaggio dei cloruri

Sia impiegando il metodo Mohr che quello Fajans si esegue lo stesso procedimento riportato per la standardizzazione del nitrato di argento. Se la soluzione è acida deve essere preventivamente neutralizzata, come precedentemente indicato, ma nel caso di soluzioni acide per acido acetico o di dosaggio di cloruri di Cu, Ni, Mn, Zn, Al e Mg, che non possono essere titolati col metodo di Mohr a causa dell'idrolisi acida delle loro soluzioni acquose, si può impiegare come indicatore, la diclorofluoresceina.

Dosaggio dei bromuri

Le soluzioni neutre dei bromuri possono essere dosate col metodo di Mohr in modo analogo al dosaggio dello ione Cl^- . Il dosaggio può anche essere eseguito con indicatori di adsorbimento, fra i quali il più appropriato è in questo caso la eosina (tetrabromofluoresceina).

La soluzione neutra del bromuro (ad es. 50 ml) viene addizionata di 5 gocce di ac. acetico e 5 gocce di indicatore. Si titola quindi a luce diffusa con la soluzione 0.1 M di AgNO_3 agitando continuamente fino a che il precipitato di AgBr , acquista una colorazione porpora rossiccia.

Dosaggio degli ioduri e dei tiocianati

Come precedentemente indicato non può venire eseguito col metodo Mohr; la determinazione di questi anioni può essere eseguita mediante indicatori di adsorbimento come l'eosina o meglio ancora la diclorofluoresceina e nel caso degli ioduri anche la diiododimetilfluoresceina.

Metodo di Volhard (metodo suggerito dalla FU)

Soluzioni occorrenti: AgNO_3 0.1 M, NH_4SCN o KSCN 0.1 M

Indicatore: soluzione satura di allume ferrico ammonico (ferro(3)ammonio solfato $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$) contenente poche gocce di HNO_3 2M.

L'argentometria in ambiente, acido, secondo Volhard, può essere eseguita per titolazione diretta, come nel caso del dosaggio dell'argento in soluzione nitrica mediante tiocianato di K o di NH_4 , oppure, come è il caso più frequente, per titolazione indiretta o di ritorno, quando si tratta di dosare gli anioni (Cl^- , Br^- , I^- , CN^-) che sono quantitativamente precipitati dallo ione Ag^+ e sono praticamente insolubili in HNO_3 diluito: si aggiunge un eccesso noto di soluzione titolata di AgNO_3 al liquido in esame, e si titola l'eccesso di reattivo con una soluzione titolata di tiocianato alcalino. I dosaggi vengono eseguiti a temperatura non superiore a 25° in soluzione acida per HNO_3 : il campo di acidità utile è 0.2-1.6 M.

Le soluzioni devono essere esenti da acido nitroso che con lo ione SCN^- fornisce una colorazione rossa che può mascherare quella del tiocianato ferrico. L'acido nitroso, proviene sempre dall' HNO_3 impiegato, e pertanto si consiglia di acidificare le soluzioni con ac. nitrico diluito portato all'ebollizione fino a che il liquido è divenuto incolore: in tal modo si ottiene un acido diluito privo di ossidi inferiori di azoto.

L'errore dovuto all'indicatore è trascurabile con soluzioni 0.1 M; esso risulta pari a 0.01 ml di SCN^- 0.1 N su di un volume di 100 ml. Per evitare una prematura colorazione imputabile a un processo di adsorbimento si raccomanda di agitare vigorosamente alla comparsa della prima colorazione. Come soluzione titolata di AgNO_3 può servire quella neutra preparata e controllata come descritto precedentemente.

Preparazione della soluzione di KSCN, o NH₄SCN a titolo approssimato

Poiché i tiocianati di K o di NH₄ sono sostanze deliquescenti le soluzioni (di solito 0.1 M) devono essere preparate solo a titolo approssimato sciogliendo una quantità di sale un poco superiore a quella teorica nel volume appropriato.

E' necessario che i prodotti siano puri e soprattutto esenti da cloruri o altre sostanze che possano interferire nella reazione con AgNO₃.

Per la *standardizzazione di una soluzione di tiocianato* si introducono con una pipetta tarata 10 o 20 ml di AgNO₃ a concentrazione esatta in una beuta da 250 ml, si aggiungono 2-4 ml di HNO₃ 6M e 1 ml di indicatore (allume ferrico ammonico). Quindi si aggiunge goccia a goccia la soluzione di NH₄SCN contenuta nella buretta agitando continuamente la soluzione nella beuta.

Ogni goccia di tiocianato produrrà una macchia rosso-sangue di Fe(SCN)²⁺ che scompare rapidamente mentre si forma un precipitato bianco di AgSCN.

In vicinanza del punto di equivalenza il precipitato tende a raggrumarsi mentre la colorazione rossa del tiocianato ferrico stenta a scomparire. La fine della reazione è raggiunta quando una goccia di NH₄SCN produce una colorazione rosata persistente.

Durante la titolazione il liquido deve essere bene agitato.

Dosaggio dello ione argento

La soluzione nitrica contenente ioni Ag⁺ viene addizionata con 1 ml di indicatore (soluzione di allume ferrico ammonico) e titolata con la soluzione a titolo esatto di tiocianato esattamente come descritto per il controllo del titolo di NH₄SCN 0.1 M.

Dosaggio dello ione Cl⁻ e degli alogenuri

Nell'analisi degli alogenuri è necessario conoscere la concentrazione delle soluzioni di nitrato d'argento e di tiocianato.

Pertanto se non si hanno a disposizione soluzioni titolate di Ag⁺ e SCN⁻ è consigliabile seguire il seguente procedimento:

- a- preparare le soluzioni ad una concentrazione approssimativamente 0.1M
- b- determinare la concentrazione relativa di nitrato d'argento e di tiocianato, ovvero determinare il rapporto ml SCN⁻ / ml Ag⁺

- c- pesare accuratamente la corretta quantità di NaCl puro e secco e portarlo a volume in un matraccio in modo da avere una soluzione con concentrazione esatta intorno a 0,1 M.

Prelevare con una pipetta tarata 10 ml di soluzione in una beuta da 250 ml. Aggiungere 1 ml di HNO₃ 6 M circa e aggiungere con una pipetta tarata 20 ml della soluzione di AgNO₃. Si aggiungono ancora 1 ml di dibutile ftalato e 1 ml di indicatore (allume ferrico) quindi si titola l'eccesso di AgNO₃ con SCN⁻.

Dal volume di SCN⁻ impiegato calcolare il volume di AgNO₃ in eccesso e detrarre questo valore da 20 ml iniziali per ottenere il volume netto necessario alla precipitazione del cloruro.

Da questo volume e dal peso del campione di NaCl si calcola il titolo della soluzione di AgNO₃.

L'aggiunta di dibutile ftalato riduce la solubilità di AgCl rivestendo le particelle di precipitato di un film che impedisce il passaggio in soluzione di Ag⁺. Ugualmente efficace è l'allontanamento del corpo di fondo mediante filtrazione o il riscaldamento della soluzione per favorire la coagulazione del precipitato.

I bromuri e gli ioduri vengono determinati in maniera simile ai cloruri, ma la filtrazione o l'aggiunta di dibutile ftalato non è necessaria.

Esempi di determinazioni argentometriche da farmacopea

SODIO CLORURO

Natrii chloridum

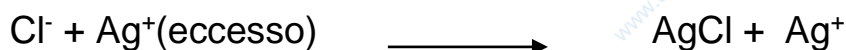
NaCl

Mr 58,44

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

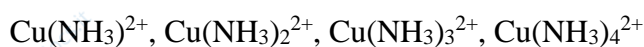
Disciogliere 1,000 g in acqua R e diluire a 100 ml con lo stesso solvente. Aggiungere 50 ml di acqua R, 5 ml di acido nitrico diluito R, 25,0 ml di argento nitrato 0,1 M e 2 ml di dibutile ftalato R a 10,0 ml della soluzione. Agitare. Titolare con ammonio tiocianato 0,1 M, utilizzando 2 ml di ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2 come indicatore, agitando energicamente in prossimità del viraggio.

1 ml di argento nitrato 0,1 M equivale a 5,844 mg di NaCl.



COMPLESSOMETRIA: titolazioni per complessazione

La formazione di complessi stabili può essere impiegata per la determinazione volumetrica di vari cationi ma solo pochi sistemi soddisfano ai requisiti fondamentali dell'analisi volumetrica, in molti casi infatti, gli equilibri sono lenti (ad es. complessi di compenetrazione di Cr^{3+} o Co^{3+}) ed in altri, la reazione di complessazione ha luogo attraverso una serie di stadi intermedi e la formazione di una data specie si ottiene solo per aggiunta di un eccesso di complessante (legante). In questi casi il punto finale di una reazione di complessazione non è caratterizzato ne' da un rapido decremento della concentrazione ionica del metallo ne' da un incremento di quella del legante libero. Questo spiega perché ad esempio la formazione del complesso cuprotetramino ($\text{Cu}^{2+} + 4\text{NH}_3 \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ $K = 4.4 \cdot 10^{12}$) non può essere utilizzata per una reazione volumetrica di complessazione in quanto il valore della *costante di stabilità* (K) corrisponde non ad un unico equilibrio ma al prodotto delle quattro costanti parziali relative ai quattro equilibri parziali :



Sulla base di queste osservazioni le titolazioni di complessazione impiegabili a fine quantitativo sono quelle riguardanti la formazione dei complessi di particolare stabilità (complessi cianici), e la formazione di *complessi chelati*; i metodi di analisi nei quali vengono impiegate titolazioni di quest'ultimo tipo sono indicate col termine di *complessometria o chelometria*.

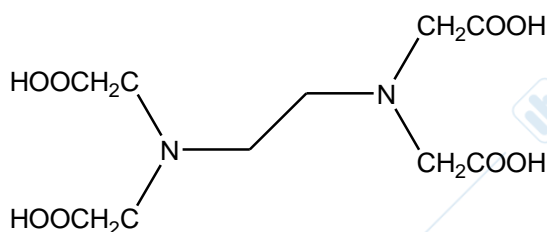
COMPLESSOMETRIA (CHELOMETRIA)

Con questo termine vengono indicate quelle reazioni di complessazione mediante le quali uno ione metallico viene titolato mediante sostanze costituite da acidi aminopolicarbossilici, che forniscono *complessi chelati* di grande stabilità.

Il più importante di questi è l'acido etilendiamino-tetra-acetico (EDTA), indicato anche dalla sigla H_4Y (p.m = 292.25), comunemente impiegato sotto forma di sale bisodico biidrato (p.m. 372.35) H_2Y^{2-} .

Equilibri durante la reazione di complessazione.

L'acido etilendiamminotetraacetico (EDTA) (chiamato anche acido (etilendinitrilo) tetra acetico) ha la seguente struttura:



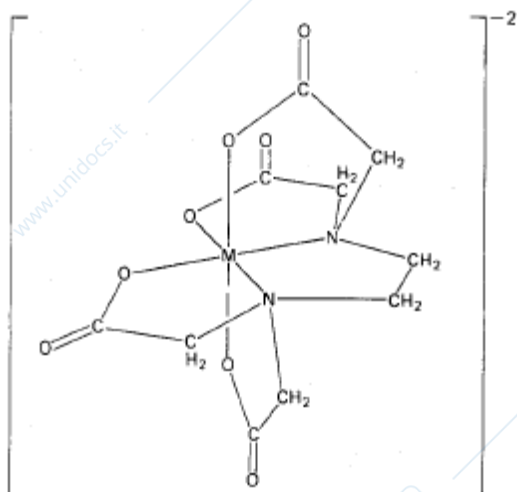
L'EDTA è un acido debole. Le costanti di equilibrio per la dissociazione dei quattro idrogeni acidi sono:

$$K_1 = 1,02 \times 10^{-2} \quad K_2 = 2,14 \times 10^{-3} \quad K_3 = 6,92 \times 10^{-7} \quad K_4 = 5,50 \times 10^{-11}$$

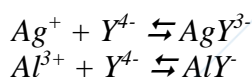
Questi valori indicano che i primi due protoni vengono persi molto più facilmente degli altri due. Oltre a questi quattro idrogeni acidi, ciascun azoto possiede un doppietto elettronico non condiviso; la molecola perciò ha sei potenziali siti di legame con un metallo ed è quindi classificata come *legante esadentato*.

Le abbreviazioni H_4Y , H_3Y^- , H_2Y^{2-} , HY^{3-} e Y^{4-} rappresentano le forme che possono essere assunte, nei vari equilibri, dall'EDTA.

La stabilità di questi complessi senza dubbio è una conseguenza dei sei siti all'interno della molecola di EDTA che sono disponibili per un legame di coordinazione. Nella seguente figura viene illustrata la struttura di un complesso dell'EDTA con un catione bivalente; da notare che tutti e sei i gruppi leganti sono implicati nel legame col catione.

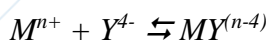


L'EDTA si combina con gli ioni metallici in un rapporto 1:1 indipendentemente dalla carica del catione. Pertanto, ad esempio, la formazione di complessi con argento (I) ed alluminio (III) può essere descritta dalle seguenti equazioni:



La tabella seguente contiene i valori numerici per le *costanti di formazione* (chiamate anche *costanti di stabilità*), K_{MY} , di un certo numero di importanti complessi EDTA-catione.

Queste costanti si riferiscono agli equilibri fra l' Y^{4-} completamente deprotonato ed il catione :



$$K_{MY} = \frac{[MY^{(n-4)}]}{[M^{n+}][Y^{4-}]}$$

Catione	K_{MY}	$\log K_{MY}$	Catione	K_{MY}	$\log K_{MY}$
Ag ⁺	$2,1 \times 10^7$	7,32	Cu ²⁺	$6,3 \times 10^{18}$	18,80
Mg ²⁺	$4,9 \times 10^8$	8,69	Zn ²⁺	$3,2 \times 10^{16}$	16,50
Ca ²⁺	$5,0 \times 10^{10}$	10,70	Cd ²⁺	$2,9 \times 10^{16}$	16,46
Sr ²⁺	$4,3 \times 10^8$	8,63	Hg ²⁺	$6,3 \times 10^{21}$	21,80
Ba ²⁺	$5,8 \times 10^7$	7,76	Pb ²⁺	$1,1 \times 10^{18}$	18,04
Mn ²⁺	$6,2 \times 10^{13}$	13,79	Al ³⁺	$1,3 \times 10^{16}$	16,13
Fe ²⁺	$2,1 \times 10^{14}$	14,33	Fe ³⁺	1×10^{25}	25,1
Co ²⁺	$2,0 \times 10^{16}$	16,31	V ³⁺	8×10^{25}	25,9
Ni ²⁺	$4,2 \times 10^{18}$	18,62	Th ⁴⁺	2×10^{23}	23,2

L'applicazione dell'equazione precedente per il calcolo di $[M^{n+}]$ è complicata dal fatto che le soluzioni di EDTA non contengono solo Y^{4-} ma anche HY^{3-} , H_2Y^{2-} , H_3Y^- e H_4Y .

Le concentrazioni relative di queste cinque specie sono fortemente dipendenti dal pH.

In generale le titolazioni di EDTA vengono eseguite in soluzioni ben tamponate a pH noto, perché il controllo del pH consente una titolazione selettiva di certi cationi in presenza di altri.

Definendo C_T la somma delle concentrazioni delle specie di EDTA non complessate, la frazione molare α di Y^{4-} è data da

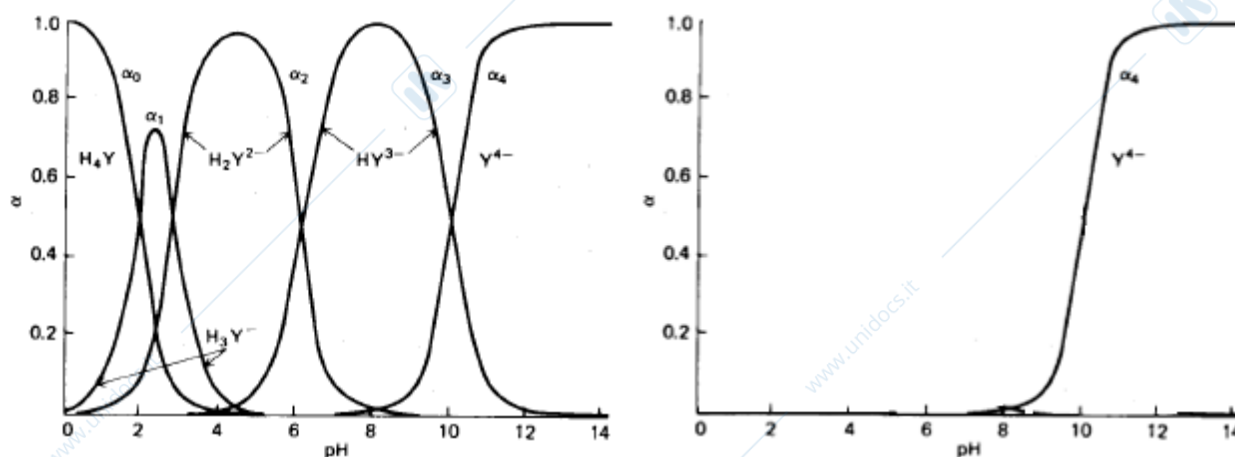
$$\alpha_4 = \frac{[Y^{4-}]}{C_T}$$

Dove

$$C_T = [Y^{4-}] + [HY^{3-}] + [H_2Y^{2-}] + [H_3Y^-] + [H_4Y]$$

La figura seguente mostra come la frazione molare delle cinque specie contenenti EDTA varia in funzione del pH.

È evidente che H_2Y^{2-} predomina in mezzi moderatamente acidi (pH da 5 a 6). Solo a valori di pH più grandi di 10, Y^{4-} diventa la componente prevalente in una soluzione di EDTA.



La Tabella successiva elenca i valori di α_4 per valori interi di pH.

Si noti che soltanto circa il 4×10^{-12} % di EDTA esiste come Y^{4-} ad un pH di 2,00.

pH	α_4	pH	α_4
2,0	$3,7 \times 10^{-14}$	7,0	$4,8 \times 10^{-4}$
3,0	$2,5 \times 10^{-11}$	8,0	$5,4 \times 10^{-3}$
4,0	$3,6 \times 10^{-9}$	9,0	$5,2 \times 10^{-2}$
5,0	$3,5 \times 10^{-7}$	10,0	$3,5 \times 10^{-1}$
6,0	$2,2 \times 10^{-5}$	11,0	$8,5 \times 10^{-1}$
		12,0	$9,8 \times 10^{-1}$

Poiché il valore della costante di formazione (chiamata anche *costante di stabilità*) è fortemente influenzata dal pH, nel calcolo delle concentrazioni delle specie coinvolte nell'equilibrio durante una titolazione, è necessario considerare una *costante condizionale* applicabile soltanto al pH per cui è stata calcolata.

La costante condizionale dipende dalla frazione molare di Y^{4-} .
Per un ipotetico metallo bivalente M^{2+} si ha:

$$\alpha_4 = \frac{[Y^{4-}]}{C_T} \quad [Y^{4-}] = \alpha_4 C_T$$

$$K_{MY} = \frac{[MY^{2-}]}{[M^{2+}]\alpha_4 C_T} \quad \frac{[MY^{2-}]}{[M^{2+}]C_T} = \alpha_4 K_{MY} = K'_{MY}$$

K'_{MY} rappresenta la costante condizionale.

Curva di titolazione

L'ordinata di una curva di titolazione con EDTA è il meno logaritmo della concentrazione del metallo ione ($-\log[M^{2+}]$) (pM).

Allo scopo di calcolare la concentrazione di M^{2+} , e perciò il pM, in corrispondenza e al di là del punto di equivalenza, è necessario derivare la concentrazione molare della specie Y^{4-} . Questo calcolo richiede che sia preso in considerazione il pH del mezzo.

Prima del punto equivalente la somma delle concentrazioni di ioni EDTA non complessati (C_T) e la concentrazione del Ca^{2+} derivante dall'equilibrio di formazione del complesso, può essere trascurata. Pertanto, l'andamento della curva di titolazione, segue l'equazione generale

$x = \frac{A \times c - y \times c'}{A + y}$ dove x è la concentrazione del catione, A rappresenta il volume in cui è sciolto il catione, y rappresenta il volume aggiunto di soluzione di EDTA, c e c' rappresentano, rispettivamente, la concentrazione iniziale della soluzione del catione e la concentrazione della soluzione titolante di EDTA.

Volendo titolare 10 ml di una soluzione 0,01 M del catione Ca^{2+} con EDTA (Y^{4-}) della stessa molarità in una soluzione tamponata a pH 10, *prima del punto equivalente* avremo:

$$[Ca^{2+}] = \frac{(10 - ml_{Y^{4-}}) \times 0,01}{10 + ml_{Y^{4-}}}$$

Al punto equivalente la concentrazione dello ione Ca^{2+} è in relazione alla costante condizionale che a pH 10 assume il seguente valore:

$$K'_{CaY} = \alpha_4 K_{CaY} = (3.5 \times 10^{-1}) (5.0 \times 10^{10}) = 1.75 \times 10^{10}$$

$$K'_{CaY} = \frac{[CaY^{2-}]}{[Ca^{2+}]C_T} = 1.75 \times 10^{10}$$

poiché il volume di EDTA aggiunto è di 10 ml, la concentrazione del complesso CaY^{2-} risulterà :

$$[CaY^{2-}] = ml_{Y^{4-}} \times 0,01 / (10 + ml_{Y^{4-}})$$

$$[CaY^{2-}] = 10 \times 0,01 / 20 = 0,005 M$$

L'unica fonte di Ca^{2+} sarà la dissociazione del chelato. Ne consegue anche che la concentrazione di Ca^{2+} deve necessariamente essere identica alla somma delle concentrazioni di ioni EDTA non complessati, C_T :

$$[Ca^{2+}] = C_T = \sqrt{\frac{[CaY^{2-}]}{K'_{CaY}}}$$

$$[Ca^{2+}] = \sqrt{\frac{0,005}{1,75 \cdot 10^{10}}} = 5,3 \cdot 10^{-7}$$

Dopo il punto equivalente :

$$[Ca^{2+}] = \frac{[CaY^{2-}]}{K'_{CaY} \times C_T}$$

$$[CaY^{2-}] = \frac{10 \times 0,01}{10 + ml_{Y4-}} \quad C_T = \frac{(ml_{Y4-} \times 0,01) - (10 \times 0,01)}{10 + ml_{Y4-}} = \frac{(ml_{Y4-} - 10) \times 0,01}{10 + ml_{Y4-}}$$

$$[Ca^{2+}] = \frac{10 \times 0,01}{10 + ml_{Y4-}} \times \frac{10 + ml_{Y4-}}{(ml_{Y4-} - 10) \times 0,01 \times 1,75 \cdot 10^{10}}$$

I dati teorici di titolazione ottenuti sono riportati nella seguente tabella e nella figura 12.

ml EDTA	$[Ca^{2+}]$	$p[Ca^{2+}]$
0	0.01	2
2	0.006667	2.176091
4	0.004286	2.367977
6	0.0025	2.60206
8	0.001111	2.954243
9	0.000526	3.278754
9.9	5.03E-05	4.298853
9.95	2.51E-05	4.600973
10	5.3E-07	6.275724
10.05	1.14E-08	7.942008
10.1	5.71E-09	8.243038
11	5.71E-10	9.243038
12	2.86E-10	9.544068
14	1.43E-10	9.845098
16	9.52E-11	10.02119
18	7.14E-11	10.14613
20	5.71E-11	10.24304

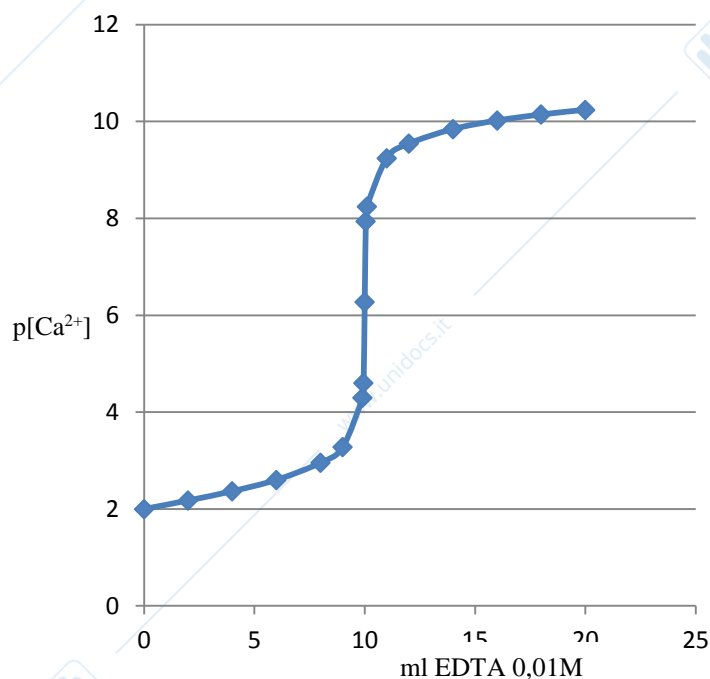
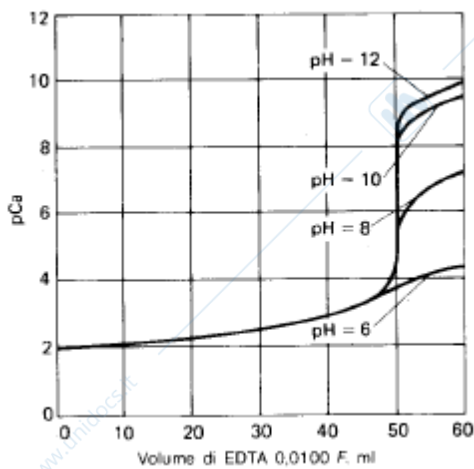


Fig. 12 Curva di titolazione complessometrica del Ca^{2+}

La curva di titolazione mostra come vicino al punto di equivalenza tutto il catione libero viene chelato con l'aggiunta di poche gocce di soluzione di EDTA e si ha quindi una notevole variazione di pM.

La variazione di concentrazione del catione viene utilizzata per rilevare il punto finale della titolazione mediante l'impiego di indicatori metallocromici.

La Figura seguente illustra la curva per la titolazione dello ione calcio a pH 10, e a diversi altri valori di pH. È evidente che apprezzabili variazioni di pCa avverranno solo se il pH della soluzione viene mantenuto a circa 8 o più.



La Figura 12a illustra il pH minimo consentito al quale si possono effettuare titolazioni soddisfacenti di vari ioni metallici in assenza di equilibri ausiliari di complessazione. Si noti che molti cationi metallici pesanti bivalenti possono essere titolati in una soluzione moderatamente acida e che il ferro (III) fornisce un utile punto finale in ambiente fortemente acido.

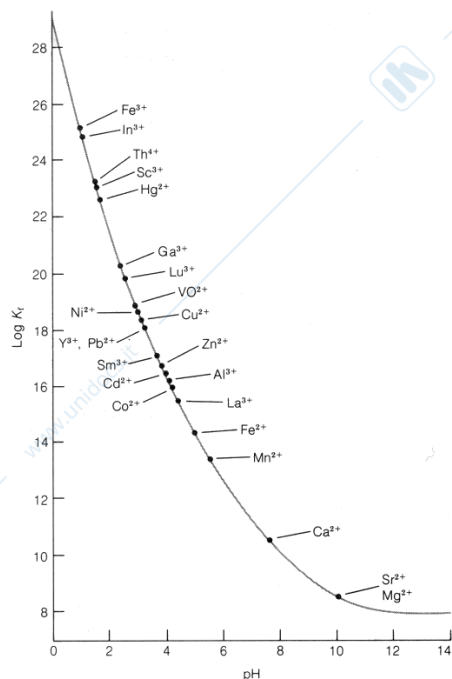
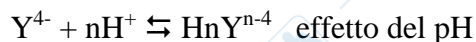
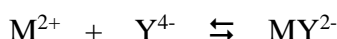


Fig. 12a. pH minimo per la titolazione effettiva dei vari cationi con EDTA.

In conclusione, per stabilire le condizioni di una titolazione complessometrica, non può essere utilizzato il valore della costante di stabilità, come tale, ma è necessario tenere conto dei vari equilibri associati a M^{2+} e Y^{4-} (costante condizionale del complesso)



Lo ione idrogeno compete con lo ione metallico e consegue che ioni metallici che formano complessi relativamente deboli (metalli alcalino terrosi) possono essere titolati in modo accurato solo in soluzione alcalina mentre ioni metallici (Fe^{3+} , Hg^{+2} , Bi^{3+}) che formano chelati molto stabili possono essere titolati anche in soluzione acida.

La costante condizionale rappresenta il reale valore della costante di equilibrio, di un sistema nelle effettive condizioni in cui il sistema viene a trovarsi per la coesistenza di vari equilibri:

- L'impiego di soluzioni tampone permette di titolare in soluzione alcalina molti metalli che precipitano a questa concentrazione idrogenionica.
- L'aggiunta al sistema di un complessante o di un precipitante Z (vedi lo schema riportato sopra) sposta le condizioni di equilibrio verso sinistra. Questo accorgimento è usato per complessare o precipitare selettivamente alcuni metalli e realizzare la titolazione di altri.
- La possibilità del chelato metallico di formare derivati acidi (HMY^-) favorisce lo spostamento dell'equilibrio verso destra permettendo di realizzare titolazioni in ambiente più acido di quello previsto.

Indicatori metallici o metallo cromici

Il punto finale della titolazione è determinato aggiungendo un indicatore sensibile alla concentrazione del metallo in soluzione e che viene indicato come indicatore metallico o *metallocromico*: un indicatore di questo genere forma con un dato catione, un complesso di colore differente da quello del solo indicatore e si ha di conseguenza in corrispondenza del punto finale una notevole variazione cromatica.

Si definiscono con questo termine quelle sostanze che hanno una propria colorazione, e che sono in grado di formare con un dato catione un complesso di colore differente. Una sostanza può essere impiegata come indicatore metallico se soddisfa i seguenti requisiti:

- a) la reazione cromatica deve essere sufficientemente sensibile
- b) il complesso formato dall'indicatore col metallo deve essere abbastanza stabile perché si abbia una variazione di colore netta ma meno stabile di quello dell'EDTA con il catione
- c) la reazione con l'indicatore deve essere rapida

Questi requisiti ovviamente debbono essere soddisfatti nell'intervallo di pH in cui viene fatta la titolazione.

La costante di stabilità del complesso tra indicatore e ione metallico, ai fini di una titolazione chelometrica, deve essere inferiore a $10^4 - 10^5$ ed il rapporto tra la costante di stabilità del complesso EDTA/ione metallico ed INDICATORE/ione metallico, deve essere circa 10^4 . In questi casi le titolazioni o le retrotitolazioni con EDTA risultano molto accurate e l'errore di titolazione trascurabile.

Molte sostanze sono state proposte come indicatori metallici; gran parte di esse sono indicatori acido-base. I più comunemente impiegati sono: nero eriocromo T, acido calconcarbossilico, muresside, violetto di pirocatechina, ditizone, e arancio xilenolo.

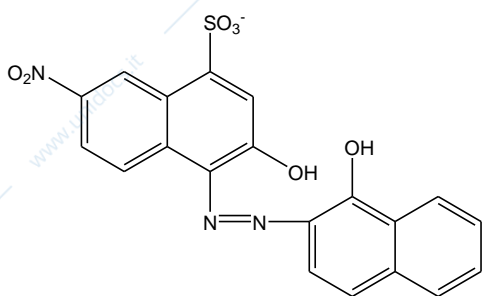
NERO ERIOCROMO T

Nero mordente 11. $C_{20}H_{12}N_3NaO_7S$. (Mr 461,4). 1056800. [1787-61-7]. Schultz No. 241. Colour Index No. 14645. Sodio 2-idrossi-1-[(1-idrossi-2-naftil)azo]-6-nitronaftalen-4-solfonato. **Nero eriocromo T.**

Polvere nero-brunastra, solubile in acqua e in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, protetto dalla luce.

Nero mordente 11 miscela composta. 1056801. Mescolare 1 g di nero mordente 11 R con 99 g di sodio cloruro R.



Si trova in commercio come sale di sodio; il gruppo solfonico è forte e questo indicatore viene rappresentato come un anione H_2F^- diprotico ($pK_1 = 6,3$; $pK_2 = 11,55$). I tre anioni hanno differenti colorazioni. Gli equilibri che si stabiliscono in soluzione in funzione del pH sono:

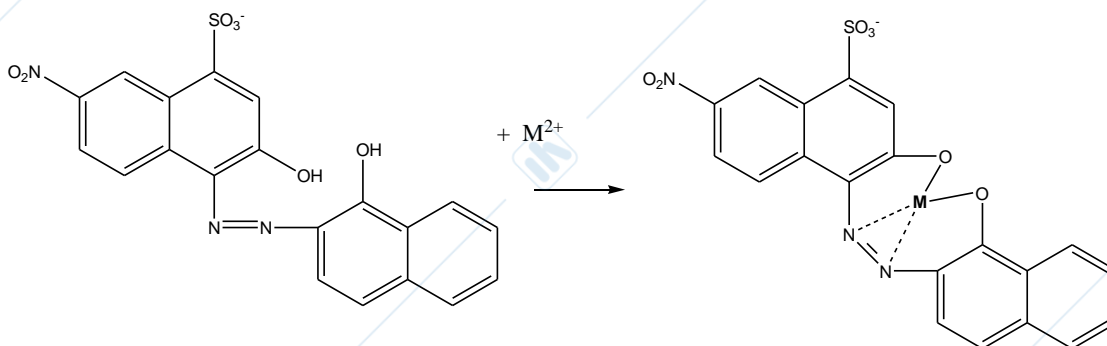


Rosso - pH 6 - Blu - pH 12 - Arancio

La forma blu ha interesse nelle titolazioni chelometriche.

Questo indicatore può essere impiegato solo in soluzioni a $pH > 6.3$ e il colore blu vira al rosso se ha luogo la formazione di un complesso metallico ($\log K$: complesso Ca 5.4; complesso Mg 7.0). Per alcuni complessi la reazione è reversibile per aggiunta di EDTA mentre per altri la reazione è lenta e non reversibile.

La reazione di viraggio può essere schematizzata nel seguente modo:

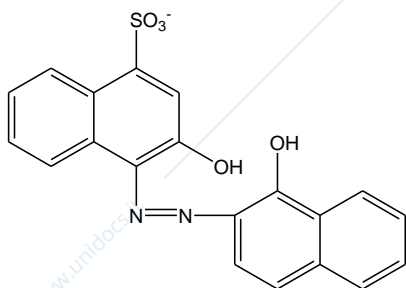


CALCON

Acido calconcarbossilico. $C_{21}H_{14}N_2O_7S \cdot 3H_2O$. (Mr 492,5).

1015300. [3737-95-9]. Acido 2-idrossi-1-(2-idrossi-4-solfo-1-naftilazo)naftalen-3-carbossilico. Polvere nero-brunastra, poco solubile in acqua, molto poco solubile in acetone e in alcool, moderatamente solubile nelle soluzioni di sodio idrossido.

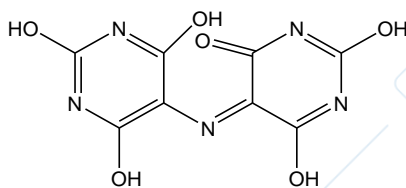
Acido calconcarbossilico miscela composta. 1015301. Mescolare una parte di acido calconcarbossilico R con 99 parti di sodio cloruro R.



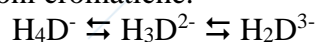
Ha lo stesso comportamento del nero eriocromo T. E' usato per la titolazione del calcio.

MURESSIDE

E' il sale ammonico dell'acido purpurico e si indica come H_4D^- .



Solo due dei 4 gruppi imidici sono ionizzabili in soluzione alcalina e la loro ionizzazione porta a variazioni cromatiche.



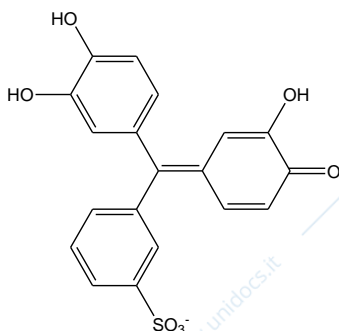
Rosso-violetto – pH 9.2 - violetto – pH 10.5 - blu-violetto

La murexide forma complessi con molti ioni metallici. Hanno interesse analitico quelli formati in soluzione alcalina con calcio (rosso), con rame, nichel e cobalto (giallo) e con zinco e cadmio (giallo-arancio).

Questo indicatore non è riportato dalla FU.

VIOLETTO DI PIROCATECHINA

E' la pirocatechin-solfon-ftaleina.



pH < 1.5 vira al rosso; a pH > 6 vira al violetto e a pH > 9 diviene di color rosso-porpora. Questo indicatore forma complessi con quasi tutti i cationi: quelli tri e tetravalenti, sia in soluzione acida che alcalina, quelli bivalenti solo in soluzione alcalina.

Questo indicatore non è riportato dalla FU.

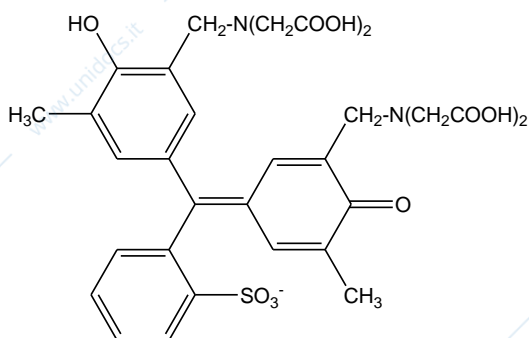
ARANCIO XILENOLO

Xilenolarancio. $C_{31}H_{28}N_2Na_4O_{13}S$. (Mr 761). 1096300.[3618-43-7]. **Arancio xilenolo.**

Tetrasodio 3,3'-(3H-2,1-benzossatiolo-3-iliden)bis[(6-idrossi-5-metil-3,1-fenilen)metileniminobisacetato] S,S-diossido.

Polvere cristallina bruno-rossastra, solubile in acqua.

Xilenolarancio miscela composta. 1096301. Triturare 1 parte di xilenolarancio R con 99 parti di potassio nitrato R.



E' molto usato in ambiente tamponato con esametilentetrammina. Si può usare nelle determinazioni di Al³⁺, Bi³⁺, Pb²⁺, Zn²⁺, Hg²⁺, Cd²⁺.

DITIZONE

Ditizone. $C_{13}H_{12}N_4S$. (Mr 256,3). 1033900. [60-10-6].

1,5-Difeniltiocarbazone.

Polvere nero bluastra, nero brunastra o nera, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool.

Conservare protetto dalla luce.

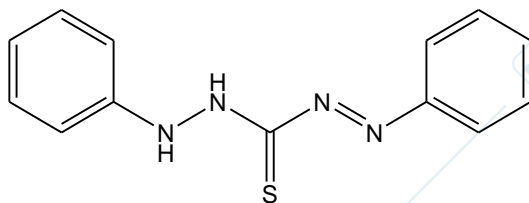
Ditizone soluzione. 1033901.

Soluzione 0,5 g/l in cloroformio R. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Ditizone soluzione R2. 1033903.

Disciogliere 40,0 mg di ditizone R in cloroformio R e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Diluire 30,0 ml della soluzione a 100,0 ml con cloroformio R.



E' usato in ambiente tamponato (ammonio-acetico) per la determinazione dello Zn²⁺ in presenza di Al-EDTA

Caratteristiche delle titolazioni chelometriche

L'EDTA e gli altri ac.aminopolicabossilici impiegati (ad es. NTA = ac. nitrilotriacetico) sono reattivi poco selettivi perché complessano la maggior parte degli ioni metallici.

Questi reattivi possono essere più selettivi variando opportunamente il pH, scegliendo un idoneo tampone è possibile titolare molti metalli bi e polivalenti in presenza di Ca^{2+} , Ba^{2+} , Sr^{2+} , Mg^{2+} (operando ad esempio ad un pH 5-6).

L'impiego di un tampone è comunque necessario in una titolazione chelometrica dato che ioni idrogeno vengono messi in libertà nella reazione di chelazione e che le variazioni cromatiche degli indicatori metallocromici sono influenzate da variazioni di pH.

Un altro fattore di grande importanza è la scelta di agenti complessanti che hanno una funzione mascherante riguardo ad alcuni ioni in quanto formano complessi più stabili rispetto a quelli con EDTA.

La selettività di una titolazione chelometrica può essere aumentata eseguendo preliminarmente delle precipitazioni o delle ossidazioni o riduzioni.

Una titolazione chelometrica può essere condotta attraverso una titolazione *diretta*, una *retrotitolazione*, una titolazione per *spostamento* e una titolazione *indiretta per anioni*.

Titolazione Diretta

Costituisce il procedimento di titolazione più semplice. Alla soluzione contenente lo ione in esame viene aggiunto un opportuno indicatore metallico, il tampone prescelto per ottenere il pH desiderato, un complessante ausiliario, se necessario, e quindi la soluzione di chelante fino al viraggio dell'indicatore dalla forma legata a quella libera.

EDTA



soluz. Me^{2+} (fino a viraggio)

Retro-titolazione

Alla soluzione neutra o acida del catione da titolare è aggiunta una quantità in eccesso di soluzione di EDTA; la soluzione, resa alcalina è retro-titolata con un metallo opportuno.

Questo procedimento è impiegato con cationi che formano idrossidi e quando non si hanno a disposizione indicatori diretti o quando la formazione del complesso con EDTA è troppo lenta per fornire un viraggio netto.

EDTA (eccesso)



soluz. Me^{2+}

+

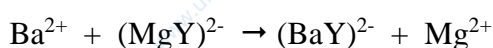
Zn^{2+}



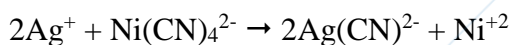
EDTA (fino a viraggio)

Titolazione per spostamento

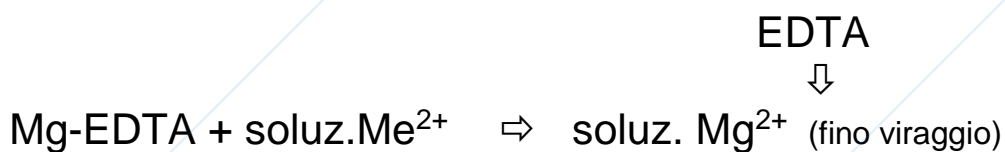
Consiste nell'aggiungere alla soluzione in esame un EDTA complessato con un metallo il cui complesso è meno stabile di quello con il metallo da determinare: vengono impiegati di solito i sali di magnesio o di zinco con EDTA. La quantità di ioni liberati, equivalente allo ione metallico da determinare, sono direttamente titolati con EDTA



Con questo procedimento è possibile titolare anche metalli che non formano complessi con EDTA purché siano in grado di formare un qualunque complesso stabile. Ad esempio l'argento, che non forma un complesso stabile con EDTA può essere determinato aggiungendo del nichelcianuro



e titolando il nickel messo in libertà con EDTA usando muresside come indicatore.

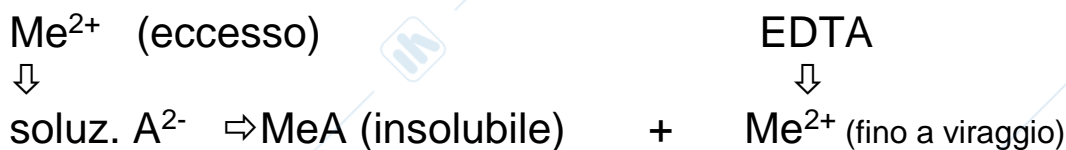


Titolazione di Anioni

E' possibile titolare gli anioni pur non formando complessi con EDTA aggiungendo un eccesso di soluzione titolata di un catione che formi con essi un precipitato poco solubile e titolando l'eccesso con EDTA.

Ad esempio il solfato può essere determinato aggiungendo un eccesso di soluzione titolata di BaCl_2 , il cianuro con una soluzione titolata di nickel ecc,

Questo procedimento offre il vantaggio di sostituire determinazioni gravimetriche classiche con determinazioni volumetriche, che possono talvolta offrire notevoli vantaggi.



Pratica dei metodi chelometrici

Soluzione di EDTA

La concentrazione delle soluzioni di EDTA è, di solito, 0,1M

La soluzione 0.01 M viene generalmente impiegata per soluzioni diluite di cationi. Data la sensibilità del metodo si ottengono ottimi risultati anche con soluzioni più diluite.

Le soluzioni non si alterano nel tempo. Il titolo delle soluzioni più diluite può diminuire se conservate in recipienti di vetro per la solubilizzazione degli ioni metallici.

Se l'EDTA od il suo sale sodico sono ottenibili ad uno stato di elevata purezza, possono essere impiegate come sostanze madre. E' però consigliabile procedere alla titolazione della soluzione (standardizzazione) impiegando una soluzione a titolo noto dello ione metallico che si vuole determinare.

Le sostanze madri normalmente impiegate sono il carbonato di calcio, lo zinco metallico, il bismuto ecc.

Se la standardizzazione avviene con CaCO_3 è necessario preparare una *soluzione tampone a pH 10* ottenuta con 54 g di cloruro di ammonio in 350 ml. di soluzione di ammoniaca (p.s 0.88) e diluita ad 1 litro con acqua deionizzata.

Metodo di standardizzazione indiretto (per spostamento)

Si usa come *indicatore nero eriocromo T* ed è necessario preparare una soluzione del complesso Mg-EDTA. E' estremamente importante che il complesso sia stechiometrico (non deve esserci eccesso né di Mg^{2+} né di EDTA); questo può essere ottenuto aggiungendo goccia a goccia la soluzione di EDTA ad una soluzione di solfato di magnesio eptaidrato usando nero eriocromo T come indicatore.

Pesare esattamente del carbonato di calcio seccato a 150-200° e trasferirlo in una beuta da 250 ml, aggiungere 20-30 ml di acqua e goccia a goccia HCl 2M fino a completa dissoluzione del campione; far bollire la soluzione per eliminare l'anidride carbonica, raffreddare e portare a volume in un matraccio tarato. Prelevare un'opportuna aliquota di soluzione, aggiungere una aliquota di Mg-EDTA, 5ml di tampone per ogni 100 ml di soluzione ed 1-2 gocce di indicatore. Titolare con EDTA fino a viraggio dal rosa al blu

Il complesso con il magnesio è aggiunto perché il nero eriocromo T non fornisce una variazione cromatica netta con il calcio. Lo ione calcio sposta una quantità equivalente di ione magnesio dal complesso e in pratica è lo ione magnesio che viene titolato fornendo una più netta variazione cromatica con l'indicatore.

Metodo di standardizzazione diretto

Si usa come sostanza madre sempre il carbonato di calcio, ma come indicatore il *calcone* o la *muresside* in ambiente alcalino (1ml di NaOH 6M).

Esempi di determinazioni chelometriche da farmacopea

MAGNESIO

Introdurre la soluzione prescritta in una beuta da 500 ml e diluire a 300 ml con acqua R. Aggiungere 10 ml di tampone ammonio cloruro soluzione a pH 10,0 R e 50 mg circa di nero mordente 11 miscela composta R. Riscaldare a circa 40 °C e titolare a questa temperatura con sodio edetato 0,1 M fino al viraggio dal violetto al blu netto. 1 ml di sodio edetato 0,1 M equivale a 2,431 mg di Mg.



CALCIO

Introdurre la soluzione prescritta in una beuta da 500 ml e diluire a 300 ml con acqua R. Aggiungere 6,0 ml di sodio idrossido soluzione concentrata R e circa 15 mg di calcone-acido carbossilico miscela composta R. Titolare con sodio edetato 0,1 M fino al viraggio dal violetto al blu netto. 1 ml di sodio edetato 0,1 M equivale a 4,008 mg di Ca.



La determinazione del calcio può essere effettuata per spostamento impiegando Mg-EDTA in presenza di nero eriocromo T.

Nella determinazione diretta si usa come indicatore l'acido calconcarbossilico (calcone) in ambiente fortemente alcalino. In queste condizioni, per evitare la precipitazione di calcio idrossido, si consiglia di diluire il campione da titolare prelevato nella beuta da titolazione, con 100-150 ml di acqua, prima di alcalinizzare. Alcuni autori consigliano di aggiungere una quantità di EDTA alla soluzione da titolare, inferiore a quella necessaria per ottenere il punto equivalente e poi alcalinizzare, aggiungere l'indicatore e completare la titolazione fino al viraggio dell'indicatore.

ZINCO

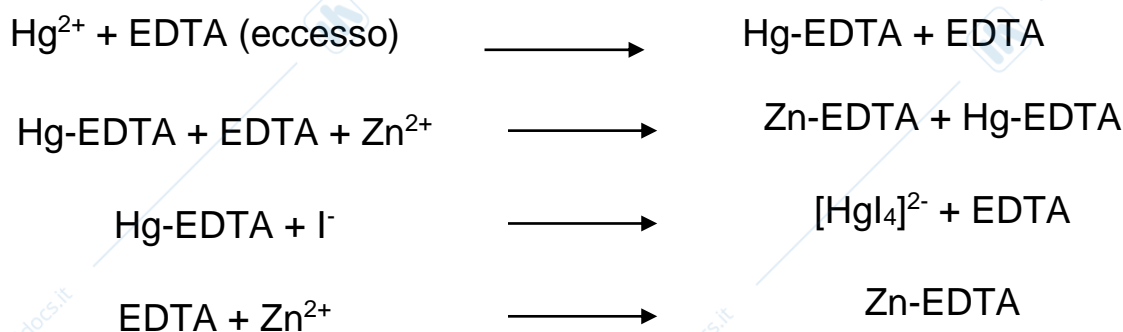
Introdurre la soluzione prescritta in una beuta da 500 ml e diluire a 200 ml con acqua R. Aggiungere circa 50 mg di xilenolo arancio miscela composta R ed esametilentetrammina R fino a che la soluzione diventa rosa-violetta. Aggiungere 2 g di esametilentetrammina R in eccesso. Titolare con sodio edetato 0,1 M fino al viraggio dell'indicatore dal rosa-violetto al giallo. 1 ml di sodio edetato 0,1 M equivale a 6,54 mg di Zn.



MERCURIO (mercurio dicloruro)

Disciogliere 0,500 g in 100 ml di acqua R. Aggiungere 20,0 ml di sodio edetato 0,1 M e 5 ml di tampone soluzione a pH 10,9 R. Lasciare a riposo per 15 min.

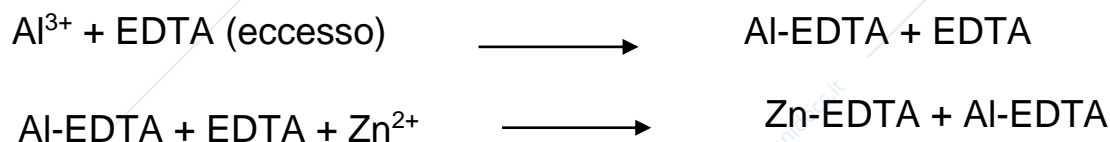
Aggiungere 0,1 g di nero mordente 11 miscela composta R e titolare con zinco solfato 0,1 M, fino a che il colore vira al porpora. Aggiungere 3 g di potassio ioduro R, lasciare a riposo per 2 min, aggiungere altri 0,1 g di nero mordente 11 miscela composta R e titolare con zinco solfato 0,1M.



Lo ioduro di potassio forma con il mercurio il complesso $[\text{HgI}_4]^{2-}$ molto più stabile del complesso Hg-EDTA e pertanto la seconda titolazione con soluzione di Zn^{2+} ci fornirà la quantità esatta di EDTA che si era legata al mercurio.

ALLUMINIO

Introdurre 20,0 ml della soluzione indicata in una beuta da 500 ml aggiungere 25,0 ml di sodio edetato 0,1 M e 10 ml di una miscela di volumi uguali di una soluzione (155 g/l) di ammonio acetato R e di acido acetico diluito R. Bollire per 2 min e raffreddare. Aggiungere 50 ml di etanolo R e 3 ml di una soluzione (0,25 g/l) di ditizone R in alcool R preparata di recente. Titolare l'eccesso di sodio edetato con zinco solfato 0,1 M fino al viraggio dal blu-verdastro al violetto-rossastro. 1 ml di sodio edetato 0,1 M equivale a 2,698 mg di Al.



Si usa il metodo per retro-titolazione perché il complesso Al-EDTA si forma lentamente (è addirittura necessario scaldare per aumentare la velocità di reazione), anche se il complesso è abbastanza stabile ($\log K = 16,4$).

Determinazione della durezza dell'acqua

Si definisce *durezza* di un'acqua il contenuto in sali di calcio e magnesio.

Viene, solitamente, espressa in gradi francesi (°F). 1 °F corrisponde a 10 mg/l di sali di calcio e magnesio espressi come CaCO₃.

La durezza è distinta in *durezza temporanea*, *durezza permanente* e *durezza totale*.

Durezza temporanea

È la durezza dovuta agli anioni idrogenati. Viene chiamata temporanea perché questi ioni dopo l'ebollizione precipitano sotto forma di carbonati soprattutto di calcio e magnesio. Si ottiene sperimentalmente sottraendo alla durezza totale la durezza permanente. Essa è dovuta soprattutto alla presenza dei bicarbonati di calcio e magnesio.

Durezza permanente

È la durezza che persiste dopo l'ebollizione dell'acqua. È dovuta, soprattutto, alla presenza di cloruri, solfati e nitrati di calcio e magnesio. Generalmente, gli ioni bicarbonato, in seguito a riscaldamento, perdono un idrogeno trasformandosi in ione carbonato che provocano la precipitazione di ioni calcio e magnesio. I sali di altri metalli, essendo presenti in quantità non rilevanti, non contribuiscono in modo significativo alla durezza.

Durezza totale

È data dalla somma della durezza temporanea e di quella permanente.

- Determinazione della Durezza Totale

A 100 ml di acqua si aggiungono 10 ml di tampone ammoniacale (pH = 10), si riscalda a 40°C, si aggiunge una punta di spatola di nero eriocromo T e si titola con EDTA 0,01M fino al viraggio dal rosso-viola al blu. Il riscaldamento aumenta la velocità di reazione e il viraggio è più netto.

E' da notare che se l'EDTA è esattamente 0,01M, e si prelevano esattamente 100ml di acqua, il volume di EDTA necessario per la titolazione corrisponde alla durezza totale espressa in °F. Infatti, ricordando che il CaCO₃ ha un peso molecolare di 100 :

$$^{\circ}\text{F} = \text{ml EDTA} \times 0,01 \times 100 \times 10 / 10 = \text{ml EDTA}$$

Per una soluzione di EDTA a concentrazione diversa da 0.01M vale la formula generale:

$$^{\circ}\text{F} = \text{ml EDTA} \times M_{\text{EDTA}} \times \text{pmCaCO}_3 \times 10 = \text{mg/l CaCO}_3 / 10 = ^{\circ}\text{F}$$

- Determinazione della Durezza Calcica

A 100 ml di acqua si aggiungono 8-10 ml di KOH 8M, si lascia a riposo per 5' per permettere al magnesio di precipitare come idrossido, si aggiunge una punta di spatola di acido calconcarbossilico e si titola con EDTA 0,01M fino al viraggio dal rosso-viola al blu.

I calcoli sono identici a quelli relativi alla durezza totale.

POTENZIOMETRIA

Teoria delle reazioni di ossidoriduzione

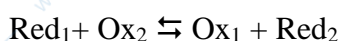
Le reazioni chimiche in cui gli elettroni vengono trasferiti da un reattivo ad un altro sono note come *reazioni redox*, o di *ossidazione-riduzione*. Su queste reazioni si basano numerosi metodi volumetrici.

Ossidanti e riducenti

Gli agenti ossidanti, o *ossidanti*, possono ricevere elettroni da altre specie e sono quindi responsabili della loro ossidazione. Gli agenti riducenti, o *riducenti*, possono facilmente cedere elettroni e quindi ridurre altre specie.

Si noti che un agente ossidante, una volta ridotto in seguito all'acquisto di uno o più elettroni, diventa un potenziale donatore di elettroni, e quindi un agente riducente. Similmente, un agente riducente, avendo perso uno o più elettroni, diviene un potenziale accettore di elettroni.

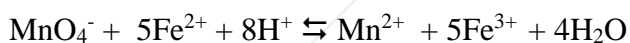
Quindi una reazione di ossido-riduzione, nella forma più semplice può essere formulata come segue



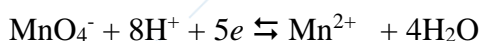
Se in questo processo l'equilibrio favorisce i prodotti, si può affermare che Ox_2 è un elettronaccettore (o ossidante) più energico di Ox_1 , la specie che deriva dalla perdita di elettroni di Red_1 . Per la stessa ragione Red_1 è un elettrondonatore (e quindi un riducente) più energico di Red_2 .

Le reazioni di ossidoriduzione

Una reazione di ossidoriduzione può essere scritta come una somma di due semireazioni:



Le due semireazioni sono:



Si noti che, prima di combinare le due semireazioni, è necessario moltiplicare la seconda per cinque per eliminare gli elettroni dall'equazione finale.

Le reazioni di ossidoriduzione possono essere il risultato di un trasferimento diretto di elettroni (*via chimica*) dal donatore all'accettore, ovvero i reagenti sono mescolati in una soluzione e il trasferimento elettronico avviene attraverso la soluzione stessa, oppure possono avere luogo in due regioni fisicamente isolate l'una dall'altra (*via elettrochimica*) dove non c'è contatto tra i reagenti e il trasferimento di elettroni avviene attraverso un conduttore.

La reazione è identica sotto ogni punto di vista a quella descritta precedentemente. Qui, tuttavia, gli elettroni si trasferiscono da una specie all'altra sotto forma di corrente elettrica. Il trasferimento continuerà fino a quando le concentrazioni degli ioni raggiungeranno i livelli corrispondenti all'equilibrio.

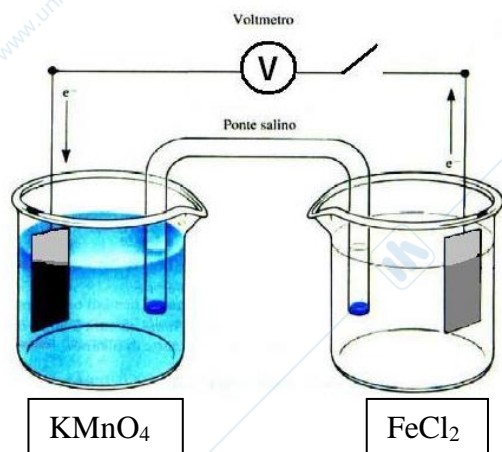


Fig. 13a. Cella galvanica (cella elettrochimica)

Il dispositivo in grado di far avvenire reazioni di ossidoriduzione per via elettrochimica costituisce una *cella galvanica*. Il contatto tra le due *semicelle* (*elettrodi*) è assicurato da un conduttore. Tuttavia questo flusso di elettroni non può avvenire a livelli significativi, a meno che non ci siano mezzi che permettano di annullare la separazione di carica creata dal movimento di elettroni. Questa separazione di carica, tuttavia, non si instaura, in quanto le soluzioni delle due semicelle sono mantenute in contatto attraverso un disco poroso (che impedisca un mescolamento massivo delle due soluzioni) o, meglio, un *ponte salino* (un tubo a U contenente una soluzione concentrata di un sale quale il cloruro di potassio). Il ponte salino genera due potenziali di giunzione liquida, uno ad ogni sua estremità che si annullano vicendevolmente.

La corrente generata in questa cella, quando l'interruttore viene chiuso, è dovuta alla forte tendenza del riducente ad essere ossidato e dell'ossidante ad essere ridotto.

Il valore del potenziale (misurato con un Voltmetro) generato tra i due elettrodi esprime una misura della tendenza delle due semi-reazioni a procedere in direzione dell'equilibrio ed è direttamente correlato alla costante di equilibrio per il particolare processo di ossido-riduzione coinvolto e, allo stesso tempo, alla differenza tra le concentrazioni esistenti dei reattivi e quelle relative allo stato di equilibrio.

L'*anodo* di una cella elettrochimica è l'elettrodo al quale avviene l'*ossidazione*, mentre il *catodo* è l'elettrodo al quale avviene la *riduzione*.

Il potenziale elettrodico

Il potenziale di un elettrodo (*potenziale elettrodico*) è definito come il potenziale di una cella costituita dall'elettrodo in questione e dall'elettrodo di riferimento ad idrogeno.

Va sottolineato che, contrariamente al suo nome, il potenziale di un elettrodo è in realtà il potenziale di una cella elettrochimica costituita da un ben definito elettrodo di riferimento. Dovrebbe quindi essere più propriamente chiamato *potenziale elettrodico relativo*.

La grandezza del potenziale elettrodico è una misura della forza con la quale una semireazione tende alle condizioni di equilibrio (rispetto all'elettrodo standard ad idrogeno) di conseguenza i valori numerici per i potenziali elettrodici sono dipendenti dalla concentrazione. Quindi, una soluzione concentrata di un ossidante tende ad essere più facilmente ridotta allo stato elementare rispetto ad una soluzione più diluita; il *potenziale elettrodico* è *corrispondentemente più grande per la soluzione più concentrata della forma ossidata*.

La relazione tra il potenziale elettrodico e la concentrazione fu per primo enunciata dal chimico tedesco Walther Nernst.

L'equazione di Nernst per una generica semireazione



è espressa nel seguente modo:

$$E = E^{\circ} - \frac{0.0591}{n} \log \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

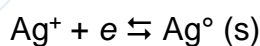
dove

E° rappresenta il *potenziale elettrodo standard* che è caratteristica per ogni semireazione

n indica il numero di elettroni coinvolti nella semireazione

$[x]$ rappresenta la concentrazione in moli/litro di un generico soluto. Se x è un gas $[x]$ rappresenta la pressione parziale, in atmosfere. Se x si trova in una seconda fase come solido o liquido puro, per definizione $[x] = 1$.

Il potenziale (E) per la semicella in cui avviene la semireazione



È dato da:

$$E = 0.799 - \frac{0.0591}{1} \log \frac{1}{[Ag^+]}$$

Il potenziale elettrodo standard o potenziale standard redox, E°

Il potenziale elettrodo standard o potenziale standard redox può essere definito come il potenziale elettrodo di una reazione di semicella (misurato rispetto all'elettrodo ad idrogeno standard) quando tutti i reagenti ed i prodotti esistono ad attività unitaria.

Il potenziale elettrodo assoluto non può essere misurato perché gli strumenti (voltmetro) sono in grado di misurare solo differenze di potenziale. Risulta comunque possibile attribuire un valore relativo ai potenziali elettrodici accoppiando la semicella di misura, con un elettrodo di riferimento alla quale è attribuito un valore di potenziale arbitrario.

L'elettrodo di riferimento usato è l'*elettrodo a idrogeno standard (SHE)* al cui potenziale è stato arbitrariamente assegnato un valore di 0,000 V e al suo potenziale sono riferiti i valori di tutte le altri elettrodi.

Il potenziale elettrodo standard (indicato dal simbolo E°) è una importante costante fisica che offre una descrizione quantitativa della forza propulsiva relativa per una reazione di semicella.

Di seguito sono riportate le considerazioni più importanti riguardo il potenziale elettrodo standard o potenziale standard redox (da qui in poi chiamato semplicemente potenziale standard).

- 1- I potenziali standard si riferiscono esclusivamente a processi di semicella scritti in riduzione; cioè sono potenziali di riduzione relativi.
- 2- Il potenziale standard misura l'intensità relativa della forza per una semireazione.
- 3- Il segno di un potenziale standard è basato sulla forza della reazione di riduzione rispetto alla riduzione dello ione idrogeno ad attività unitaria. Un segno positivo indica che l'elettrodo funziona come catodo quando accoppiato con l'elettrodo standard ad idrogeno ovvero attrae elettroni (*ossidante*). Viceversa, un segno negativo indica che l'elettrodo si comporterà come anodo in una cella galvanica rispetto all'elettrodo standard ad idrogeno ovvero cede elettroni (*riducente*).

- 4- La grandezza di un potenziale è dipendente, oltre che dalla concentrazione, dalla temperatura e pertanto è definito alla attività unitaria (1M) e alla temperatura di 25°C.

Il *potenziale dell'elettrodo a idrogeno* (fig.13b) è considerato standard alla temperatura di 25°C e alla pressione di 1 atmosfera.

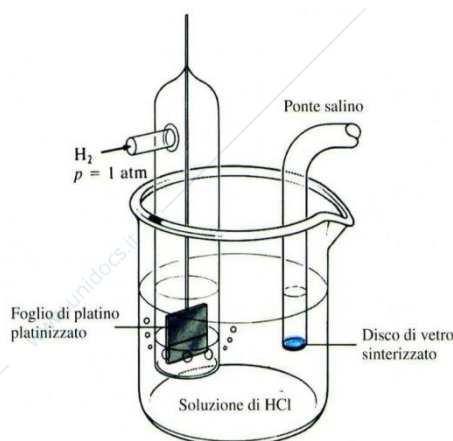
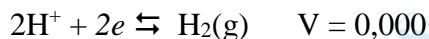


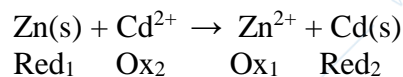
Fig. 13b. Elettrodo a idrogeno standard (SHE).

Le tabelle dei potenziali standard offrono informazioni qualitative riguardo l'estensione e la direzione delle reazioni a trasferimento elettronico.

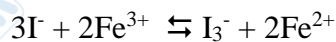
Esempi di Potenziali Standard

Semireazione	E° (a 25°C)
$\text{Cl}_2(\text{g}) + 2e \rightleftharpoons 2\text{Cl}^-$	+ 1,359
$\text{O}_2(\text{g}) + 4\text{H}^+ + 4e \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}$	+ 1,229
$\text{Br}_2(\text{acq}) + 2e \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$	+ 1,087
$\text{Br}_2(\text{l}) + 2e \rightleftharpoons 2\text{Br}^-$	+ 1,065
$\text{Ag}^+ + e \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{s})$	+ 0,799
$\text{Fe}^{3+} + e \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$	+ 0,771
$\text{I}_3^- + 2e \rightleftharpoons 3\text{I}^-$	+ 0,536
$\text{Cu}^{2+} + 2e \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{s})$	+ 0,337
$\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-} + e \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{s}) + 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	+ 0,017
$2\text{H}^+ + 2e \rightleftharpoons \text{H}_2(\text{g})$	0,000
$\text{AgI}(\text{s}) + e \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{s}) + \text{I}^-$	- 0,151
$\text{Cd}^{2+} + 2e \rightleftharpoons \text{Cd}(\text{s})$	- 0,405
$\text{Zn}^{2+} + 2e \rightleftharpoons \text{Zn}(\text{s})$	- 0,763

Procedendo verso il basso, ogni specie successiva è un accettore elettronico (*ossidanti*) meno efficace della precedente. Le semireazioni alla fine della tabella hanno poca tendenza ad avvenire, così come sono scritte. D'altro canto, queste tendono ad avvenire in senso opposto, come *elettrodonatori* (*riducenti*). Gli agenti riducenti più efficienti, allora, saranno le specie che appaiono in basso nella parte destra delle equazioni in una tabella di potenziali standard. Osservando la Tabella si nota che lo zinco è ossidato più facilmente del cadmio; è possibile concludere, quindi, che la reazione

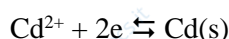


è spontanea, come scritta, e non spontanea nel senso opposto. Similmente, è possibile osservare che il ferro (III) è un più efficiente *elettronaccettore* (*ossidante*) dello ione triioduro; è possibile quindi predire che il ferro (II) e gli ioni triioduro predomineranno nell'equilibrio



Calcolo dei potenziali elettrodici dai dati di potenziali elettrodici standard

Calcolare il potenziale per un elettrodo di Cd immerso in una soluzione di Cd^{2+} 0,0100 F. Il potenziale elettrodico standard per la coppia redox Cd^{2+}/Cd è di -0,405 V



Quindi,

$$E = -0.405 - \frac{0.0591}{2} \log \frac{1}{[\text{Cd}^{2+}]} = -0.405 - (0.0591/2 \log 100) = -0.405 - 0.0591 = -0.462 \text{ V}$$

Il potenziale è direttamente proporzionale alla concentrazione della forma ossidata.

Metodi potenziometrici

Il potenziale di un elettrodo (o semicella) è determinato dalla concentrazione (o meglio, dall'attività) di una o più specie in soluzione. La dipendenza del potenziale elettrodico dalla concentrazione può essere utilizzata per ottenere informazioni analitiche.

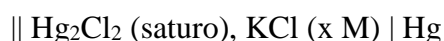
Un elettrodo impiegato per la determinazione della concentrazione di un analita è chiamato elettrodo indicatore; esso viene usato accoppiato ad un elettrodo di riferimento, il cui potenziale è indipendente dalla concentrazione dell'analita o da quella di altri ioni presenti nella soluzione in esame. Una analisi potenziometrica coinvolge, pertanto, la misura del voltaggio di una cella consistente nei due elettrodi citati e nella soluzione in esame.

ELETTRODI DI RIFERIMENTO

L'elettrodo di riferimento ideale deve avere un potenziale noto, costante e del tutto insensibile alla composizione della soluzione contenente l'analita. Inoltre un elettrodo di riferimento dovrebbe essere robusto, facile da assemblare e dovrebbe mantenere un potenziale costante anche a seguito di piccoli passaggi di corrente attraverso la cella.

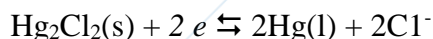
Elettrodi a calomelano

Un elettrodo a calomelano può essere rappresentato schematicamente da



dove x rappresenta la concentrazione molare del cloruro di potassio nella soluzione, inoltre il simbolo \parallel rappresenta il ponte salino e il simbolo \mid un cambiamento di fase.

La reazione elettrodica è data dall'equazione seguente



*Tabella di potenziali di alcuni elettrodi di riferimento in soluzione acquosa
Potenziale (vs. SHE) (Standard Hydrogen Helectrode)*

Temperatura °C	Calomelano 0,1 M	Calomelano 3,5 M	Calomelano saturato	Ag-AgCl 3,5 M	Ag-AgCl saturato
12	0,3362		0,2528		
15	0,3362	0,254	0,2511	0,212	0,209
20	0,3359	0,252	0,2479	0,208	0,204
25	0,3356	0,250	0,2444	0,205	0,199
30	0,3351	0,248	0,2411	0,201	0,194
35	0,3344	0,246	0,2376	0,197	0,189

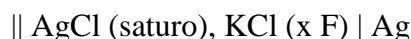
La tabella riporta la composizione ed il potenziale elettrodico per tre comuni elettrodi a calomelano. Si noti che tali semicelle differiscono solo nelle concentrazioni del cloruro di potassio, tutti sono invece saturi in cloruro mercurioso.

L'elettrodo a calomelano saturo (SCE) è il più comunemente usato.

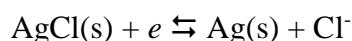
Il potenziale dell'elettrodo a calomelano saturo è di 0,244 V a 25 °C.

Elettrodi ad argento / argento cloruro

Un sistema analogo all'elettrodo a calomelano consiste di un elettrodo di argento immerso in una soluzione di cloruro di potassio saturata con argento cloruro



la semireazione è



Tale elettrodo è solitamente preparato con una soluzione satura di cloruro di potassio, il suo potenziale è + 0,199 V a 25 °C (vedi Tabella precedente).

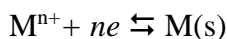
ELETTRODI INDICATORI

Un elettrodo indicatore ideale dovrebbe rispondere rapidamente ed in maniera riproducibile a variazioni nella concentrazione del singolo ione analita (o di un gruppo di ioni). Sebbene non sia stato ancora sviluppato nessun elettrodo totalmente specifico nel suo responso, ne sono oggi disponibili alcuni il cui comportamento è notevolmente prossimo a quello ideale. Si incontrano due tipi di *elettrodi indicatori denominati metallici e a membrana*.

Elettrodi indicatori metallici

Gli elettrodi indicatori metallici sono classificati in *elettrodi di prima specie, elettrodi di seconda specie ed elettrodi redox*.

Elettrodi di Prima Specie. Un elettrodo di prima specie è in diretto equilibrio con il catione derivante dal metallo elettrodico. In questo caso è coinvolta una singola reazione. Per esempio l'equilibrio tra il metallo M ed i suoi ioni M^{n+} è dato da:

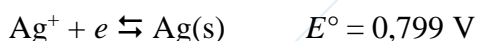
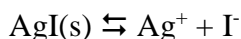


per il quale

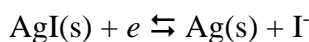
$$E = E^0 - \frac{0.0591}{n} \log \frac{1}{[M^{n+}]}$$

dove $[M^{n+}]$ è la concentrazione dello ione (o più esattamente, la sua attività).

Elettrodi di Seconda Specie. I metalli non solo servono come elettrodi indicatori per il loro stesso catione, ma rispondono anche alla concentrazione di anioni che formano precipitati poco solubili o complessi molto stabili con tali cationi. Il potenziale di un elettrodo ad argento, per esempio, risponderà in maniera riproducibile alla concentrazione di ioni ioduro in una soluzione saturata con ioduro d'argento. In questo caso sono coinvolti due equilibri:



La combinazione di queste equazioni dà:



L'equazione di Nernst per questo processo è data da:

$$E_{ind} = E^0_{AgI} - 0,0591 \log [I^-]$$

L'equazione mostra che il potenziale di un elettrodo ad argento è inversamente proporzionale al logaritmo della concentrazione degli ioni ioduro. Pertanto, in una soluzione satura di ioduro di argento, un elettrodo ad argento può servire come elettrodo indicatore di seconda specie per lo ione ioduro.

Elettrodi Indicatori per Sistemi Ossido-Riduttivi. Un elettrodo costituito da platino, oro, palladio o carbone serve come elettrodo indicatore per sistemi di ossido-riduzione. Di per sé, un tale elettrodo è inerte; il suo potenziale dipende unicamente dal potenziale del sistema con il quale esso è in contatto. Per esempio, il potenziale di un elettrodo di platino immerso in una soluzione contenente cerio (III) e cerio (IV) è dato da:

$$E_{ind} = E^0_{Ce(IV)/Ce(III)} - 0.0591 \log \frac{[Ce^{3+}]}{[Ce^{4+}]}$$

Un elettrodo di platino è pertanto un conveniente elettrodo indicatore per titolazioni coinvolgenti l'uso di soluzioni standard di cerio (IV).

Elettrodi a membrana

Il metodo più conveniente per determinare il pH comporta la misura del potenziale sviluppato attraverso una sottile membrana di vetro che separa due soluzioni con differenti concentrazioni di ioni idrogeno.

Le membrane utilizzate per costruire questi elettrodi sono classificate in cristalline e non cristalline. Queste ultime possono essere ulteriormente suddivise in membrane di vetro, liquide e liquide immobilizzate.

Elettrodo a vetro per misure di pH

Una tipica cella per misure di pH consiste di un elettrodo indicatore a vetro e di un elettrodo di riferimento a calomelano saturo immersi nella soluzione di cui deve determinarsi il pH (fig.13). L'elettrodo indicatore consiste di una sottile membrana di vetro, sensibile al pH, saldata ad una estremità di un tubo di vetro a pareti spesse. All'interno del tubo è contenuto un piccolo volume di acido cloridrico diluito saturato con argento cloruro (in taluni elettrodi, la soluzione interna è costituita da un tampone contenente ioni cloruro). Un filo d'argento immerso in tale soluzione forma un elettrodo di riferimento argento-argento cloruro che è connesso ad uno dei terminali del dispositivo di misura del potenziale. Un elettrodo a calomelano è connesso all'altro terminale. In tale cella sono contenuti due elettrodi di riferimento uno dei quali è l'elettrodo a calomelano esterno mentre l'altro è l'elettrodo interno ad argento-argento cloruro il quale, anche se parte dell'elettrodo a vetro, non è l'elemento sensibile al pH che invece è *la sottile membrana di vetro all'estremità dell'elettrodo*.

Ag	AgCl (saturo), Cl ⁻	H ⁺ H ⁺ H ⁺ H ⁺	Membrana di vetro	H ⁺ , Cl ⁻	AgCl (saturo)	Ag
Hg	Hg ₂ Cl ₂ (saturo), Cl ⁻	H ⁺ H ⁺ H ⁺ H ⁺				

Elettrodo di riferimento (Ag/AgCl o calomelano)

Soluzione esterna

Elettrodo a vetro (con elettrodo di riferimento interno Ag /AgCl)

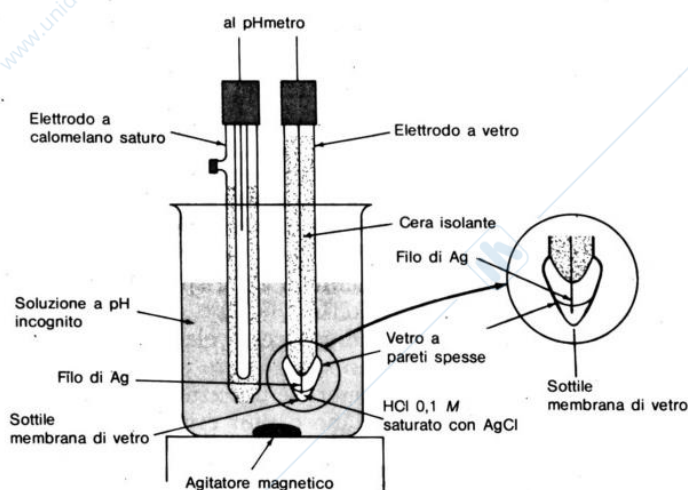


Fig. 13 Schema di un Elettrodo a vetro per la determinazione del pH

In prima approssimazione, V_g il potenziale dell'elettrodo a vetro dipende dalla composizione della membrana stessa (silice contenente percentuali diverse di ossidi di metalli alcalini e alcalino-terrosi)

e dal suo stato di idratazione superficiale, oltre che, naturalmente, dall'attività degli ioni idrogeno nella soluzione interna (nota e costante) e nella soluzione incognita, aH^+ .

Una indagine sistematica è stata rivolta all'effetto della composizione del vetro sulla sensibilità delle membrane ai protoni come pure ad altri cationi ed attualmente viene impiegato un certo numero di composizioni per la costruzione degli elettrodi.

Le prime membrane erano fabbricate con un vetro consistente approssimativamente di: Na_2O 22%; CaO 6% e SiO_2 72% (vetro Corning 015).

Attualmente vengono impiegati vetri con altre formulazioni in cui gli ioni sodio e calcio sono sostituiti in varia misura da ioni litio e bario. Tali membrane possiedono selettività e tempi di vita superiori.

Un vetro silicato usato per le membrane consiste di una rete tridimensionale di gruppi SiO_4^{4-} nei quali ciascun silicio è legato a quattro ossigeni e ciascun ossigeno è condiviso da due atomi di silicio. Negli interstizi di questa struttura ci sono cationi sufficienti a bilanciare la carica negativa dei gruppi silicati. Cationi a carica singola quali sodio e litio sono mobili in tale struttura e sono responsabili della conduzione elettrica all'interno della membrana.

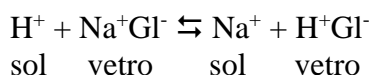
E' stato dimostrato che *le superfici di una membrana di vetro devono essere idratate prima che essa possa funzionare come elettrodo a pH*.

L'ammontare dell'acqua in gioco è approssimativamente 50 mg per centimetro cubo di vetro. Vetri non igroscopici non mostrano dipendenza dal pH. Perfino i vetri igroscopici perdono la loro sensibilità al pH dopo disidratazione per conservazione su un essiccante. L'effetto è tuttavia reversibile ed il responso di un elettrodo a vetro viene ristabilito dopo immersione in acqua.

E' stato anche sperimentalmente dimostrato che l'idratazione di una membrana sensibile al pH coinvolge una reazione di scambio ionico tra cationi a carica singola sul reticolo del vetro e protoni della soluzione.

Il processo di idratazione coinvolge esclusivamente cationi univalenti poiché cationi bi e trivalenti sono troppo fortemente trattenuti nella struttura del silicato per poter scambiare con ioni in soluzione.

La reazione di scambio ionico, durante l'idratazione, può essere scritta come:



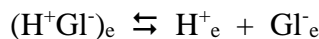
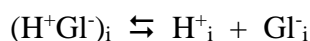
dove Gl^- rappresenta uno dei tanti siti caricati negativamente sulla superficie del vetro.

La costante di equilibrio per questo processo è talmente grande che la superficie di *una membrana di vetro idratata è interamente costituita da acido silicico (H^+Gl^-)*.

Esiste una eccezione a questa situazione in ambiente fortemente alcalino dove la concentrazione degli ioni idrogeno è estremamente piccola e la concentrazione dello ione sodio è grande; in questo caso una frazione significativa di siti è occupata da ioni sodio.

L'esposizione di una membrana all'acqua causa, in definitiva, la formazione di uno strato di gel di acido silicico di spessore $10^{-5} \div 10^{-4}$ mm. Tutti i siti con una carica singola sono occupati da ioni idrogeno alla superficie esterna del gel e da ioni sodio nella parte interna del vetro. All'interno dello strato di gel, quindi, c'è una continua diminuzione del numero dei protoni ed un corrispondente aumento nel numero degli ioni sodio.

Il *potenziale di membrana* risulta dalla composizione di due differenze di potenziale originate in ciascuna interfaccia elettrodo/soluzione in conseguenza delle reazioni sotto riportate dove gli indici i e e indicano rispettivamente la superficie interna e esterna.



Il potenziale misurato dall'elettrodo a vetro, V_g , è quello sviluppato attraverso la membrana vetrosa ovvero:

$$V_g = V_e - V_i = 0,0591 \log[H^+_e] - 0,0591 \log[H^+_i]$$

Poiché l'attività dello ione idrogeno all'interno dell'elettrodo è costante:

$$V_g = K - 0,0591 \text{ pH}$$

La differenza di potenziale registrata dallo strumento di misura (millivoltmetro) sarà data da:

$$\Delta V = V_g + V_{rif} + V_{asim}$$

Oltre al potenziale dell'elettrodo a vetro e a quello di riferimento esiste un *potenziale di asimmetria* (V_{asim}) che deriva dal fatto che l'elettrodo, immerso in una soluzione identica a quella usata all'interno dell'elettrodo stesso, fornisce una misura di differenza di potenziale non-nulla.

Poiché il potenziale di asimmetria è costante per il tipo di elettrodo usato si ha :

$$V_g = K' - 0,0591 \text{ pH}$$

Si può dimostrare che, nel migliore dei casi, l'incertezza associata alla misura del pH è uguale a $\pm 0,02$ unità di pH.

Errore alcalino.

Gli elettrodi a vetro rispondono sia agli ioni idrogeno sia agli ioni di metalli alcalini.

In soluzioni fortemente basiche, dove la concentrazione degli ioni H^+ è necessariamente molto più piccola di quella degli ioni dei metalli alcalini, si ha una sovrastima della concentrazione idrogenionica (ovvero la misura del pH risulta *inferiore* al valore reale), come mostrato nella figura 14.

Errore acido.

L'elettrodo a vetro presenta un errore anche in soluzioni acide ($\text{pH} < 0,5$). Questo errore è di segno contrario all'errore alcalino e porta a letture di pH erroneamente alte. L'entità di tale errore non è particolarmente riproducibile e la sua origine è sconosciuta (fig. 14).

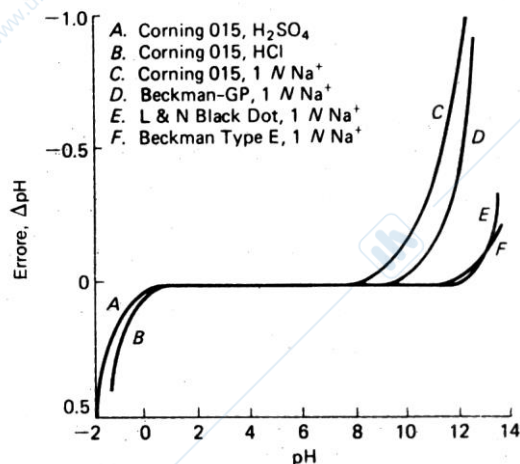


Fig. 14 L'errore acido e alcalino nella determinazione del pH ($\Delta\text{pH} = \text{pH}_{\text{misurato}} - \text{pH}_{\text{reale}}$)

Variando opportunamente la composizione del vetro è possibile rendere la membrana sensibile alla variazione di altri ioni.

In definitiva, gli elettrodi a membrana, o elettrodi ione-specifici (ISE: *ion specific electrodes*) disponibili sul mercato permettono la determinazione di cationi (Cd^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ag^+ , ecc.), anioni (alogenuri, CN^- , NO_3^- , NO_2^- , ClO_4^- , S^{2-} , ecc.) e specie gassose (NH_3 , CO_2 , Cl_2 , O_2 , ecc.).

Dosaggi potenziometrici

Nel caso delle analisi volumetriche per neutralizzazione, ma anche in molti altri casi, è possibile usare un sistema potenziometro che grazie all'uso di particolari elettrodi è in grado di evidenziare le variazioni che si verificano al punto equivalente. Tali variazioni coinvolgono le concentrazioni delle specie ioniche in soluzione e di conseguenza è possibile con opportuni elettrodi misurare variazioni di potenziale elettrico.

Per una titolazione acido-base l'elettrodo di misura è un elettrodo a vetro combinato in grado di rilevare variazioni di pH e l'apparato prende il nome di **piaccametro**.

Un dispositivo completo per effettuare una titolazione potenziometrica è riportato in figura 15 ed è costituito da:

- 1- piaccametro (millivolmetro)
- 2- elettrodo combinato
- 3- termometro
- 4- buretta
- 5- ancorotta magnetica
- 6- agitatore magnetico

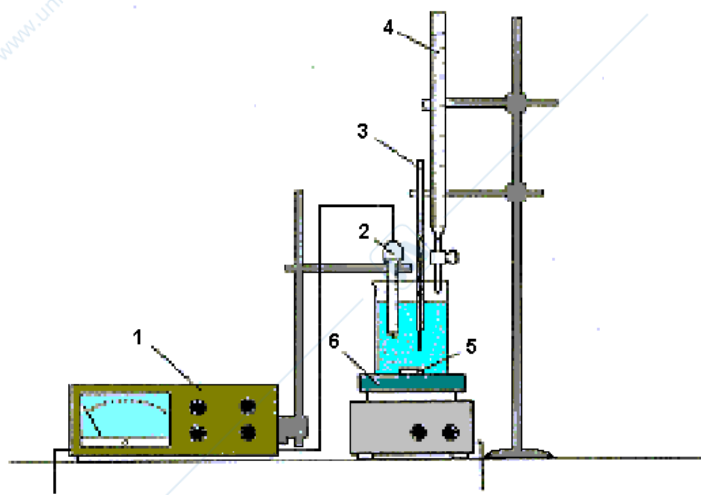


Fig. 15 Dispositivo per analisi potenziometrica

Il modo di operare è di seguito schematizzato.

- 1- La soluzione da titolare se troppo concentrata ($>1N$) va diluita e posta in un becher con ancoretta magnetica
- 2- Nel caso di titolazioni acido-base è opportuno tarare il piaccametro con soluzioni tampone a pH noto
- 3- Titolare con una soluzione a titolo noto con l'ausilio di una buretta azzerata
- 4- La parte sensibile dell'elettrodo indicatore deve essere completamente immerso nella soluzione senza toccare le pareti del recipiente
- 5- La soluzione deve essere mantenuta in agitazione senza creare turbolenze
- 6- Effettuare aggiunte cospicue (0.5-2 ml) di titolante fino a 1-2 ml prima del previsto punto equivalente.
- 7- Dopo ogni aggiunta di titolante assicurarsi che il sistema abbia raggiunto l'equilibrio
- 8- Dopo ogni aggiunta di titolante registrare il volume totale di titolante aggiunto e il valore di pH o i mV misurati
- 9- Nell'intervallo di viraggio, l'aggiunta di titolante deve essere tanto più piccola quanto più ripida è la curva di titolazione
- 10- Effettuare aggiunte cospicue (0.5-2 ml) di titolante dopo il punto equivalente.

Dopo ogni aggiunta di reattivo titolante è necessario registrare il valore del pH o mV *quando la lettura è sufficientemente stabile*.

Dai valori di pH registrati in corrispondenza dei volumi di titolante aggiunti, si costruisce il grafico della curva di titolazione.

Determinazione del punto equivalente

Il punto di flesso di una curva di titolazione rappresenta il punto di equivalenza. Per determinare il punto di flesso in una curva di titolazione acido forte – base forte non si presentano particolari problemi, ma in diverse occasioni è necessario ricorrere a metodi grafici più o meno sofisticati oppure al calcolo delle funzioni derivate, prima e seconda.

L'errore che si commette nell'assumere il punto di flesso della curva di titolazione come punto di equivalenza è tanto più piccolo quanto più verticale è il tratto di curva nelle vicinanze del punto di flesso.

I metodi grafici e matematici proposti si basano tutti sull'assunto che punto equivalente e punto di flesso coincidano.

Determinazione del punto equivalente con il metodo grafico dei prolungamenti

Il metodo è generale e pertanto può essere applicato in tutte quelle titolazioni la cui curva segue un andamento sensibilmente asimmetrico.

L'ordine delle operazioni è schematizzato di seguito e in figura 16.

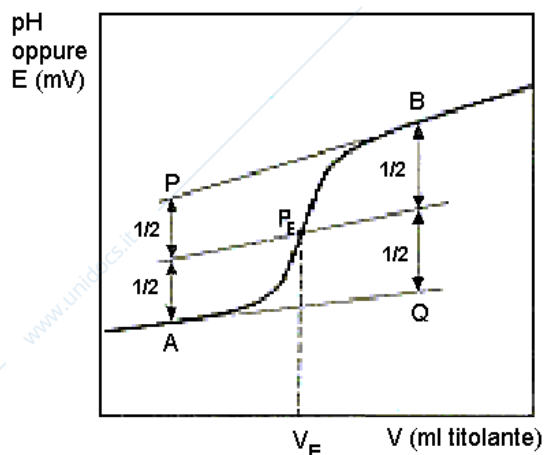


Fig. 16 Metodo dei prolungamenti

- 1- Tracciare le rette che estrapolano i tratti quasi rettilinei della curva di titolazione
- 2- Individuare i punti A e B situati sui tratti quasi rettilinei e da parti opposte rispetto al flesso e tracciare per essi due rette parallele
- 3- Individuare i punti medi sui segmenti AP e BQ e congiungerli tra loro
- 4- L'intersezione di questo segmento con la curva di titolazione dà il punto di flesso

Determinazione del punto equivalente con il metodo matematico della derivata prima

E' noto che nel punto di flesso di una funzione la derivata prima ha un massimo o un minimo. Pertanto per determinare il punto di equivalenza è necessario operare come di seguito descritto e facendo riferimento alla figura 17.

- 1- Calcolare i rapporti incrementali per volumi di titolante nei pressi del punto equivalente
- 2- Riferire il valore di tale rapporto al punto intermedio dell'incremento del volume del titolante
- 3- Costruire un grafico *rapporto incrementale / ml di titolante aggiunti*
- 4- Il volume di titolante in corrispondenza del massimo o del minimo della funzione in grafico, corrisponde al volume equivalente

Si definisce *rapporto incrementale* il rapporto tra la variazione di pH (o mV) e la variazione di volume di titolante che la provoca:

$$\Delta\text{pH} / \Delta V_{(\text{ml})}$$

Così se per una aggiunta ulteriore di titolante pari a 0.2ml il pH varia da 4.8 a 5.2 il rapporto incrementale sarà uguale a $(5.2 - 4.8) / 0.2 = 2.0$

Per effettuare un calcolo rigoroso i rapporti incrementali andrebbero determinati sulla base di *intervalli infinitesimali*, come richiesto dalla teoria del calcolo infinitesimale, infatti se gli intervalli sono troppo grandi si possono avere forti errori di interpretazione.

Per avere il valore corretto è necessario che un punto coincida con il punto equivalente, questo evento può statisticamente verificarsi solo per intervalli infinitesimali.

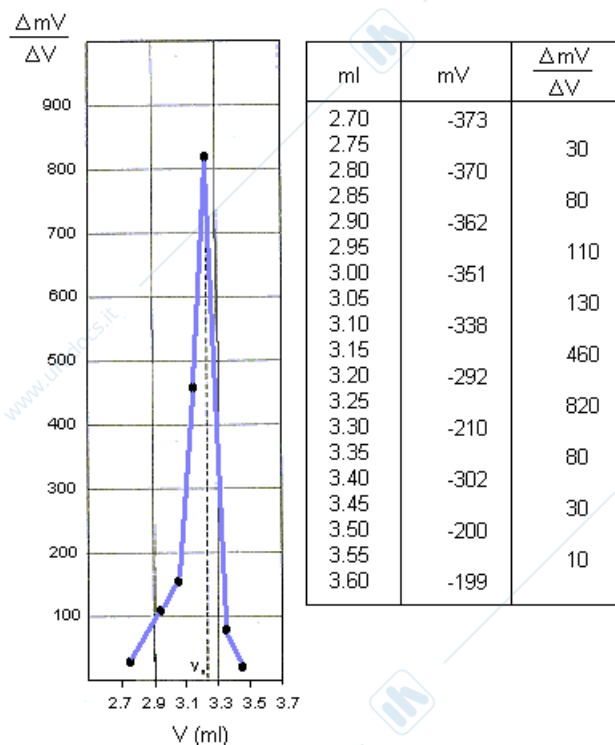


Fig.17. Calcolo della derivata prima per una titolazione potenziometrica e rappresentazione grafica

Sulla base di quanto detto appare evidente in titolazioni non particolarmente accurate si commette un errore minore se il punto finale viene determinato usando il metodo dei prolungamenti.

Esempi di determinazioni potenziometriche da farmacopea

SODIO FOSFATO MONOBASICO DIIDRATO

Natrii dihydrogenophosphas dihydricus

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ Mr 156,0

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 2,500 g in 40 ml di acqua R. Titolare con sodio idrossido 1 M esente da carbonati, determinando potenziometricamente il punto di fine titolazione.

1 ml di sodio idrossido 1 M equivale a 0,120 g di NaH_2PO_4 .

TITOLAZIONE POTENZIOMETRICA

Nella titolazione potenziometrica il punto di fine titolazione è determinato seguendo la variazione della differenza di potenziale tra due elettrodi (un elettrodo indicatore detto anche "elettrodo di misura" e uno di riferimento oppure due elettrodi indicatori), immersi

nella soluzione in esame, in funzione della quantità di titolante aggiunta. La differenza di potenziale si misura a intensità di corrente nulla o praticamente nulla.

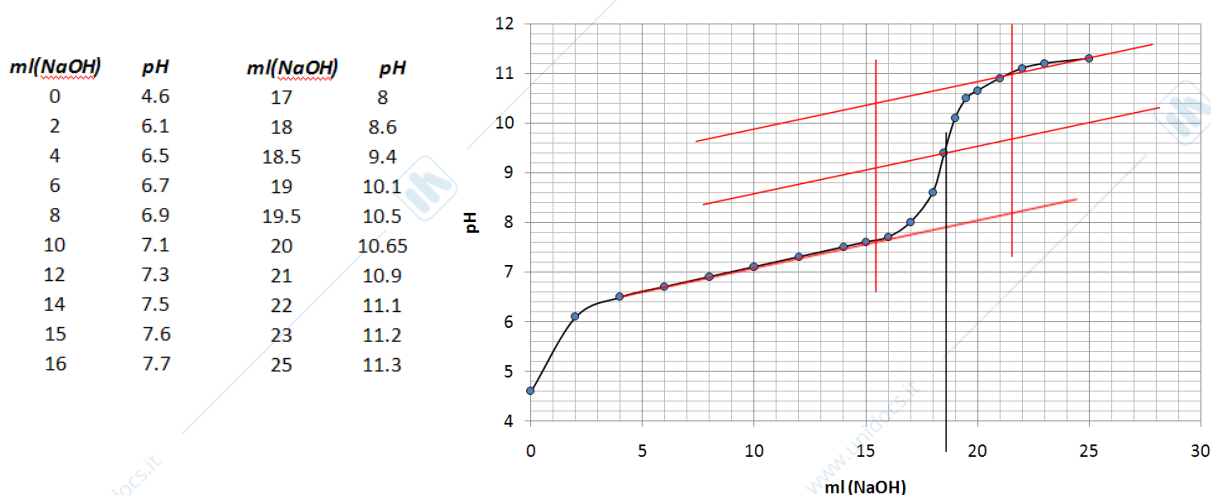
Apparecchio. L'apparecchio usato (un normale potenziometro o un dispositivo elettronico), comprende un voltmetro che permette letture al millivolt. L'elettrodo indicatore da usare dipende dalla sostanza in esame e può essere un elettrodo a vetro o di metallo (per esempio platino, oro, argento o mercurio). L'elettrodo di riferimento è generalmente un elettrodo a calomelano o un elettrodo ad argento-cloruro d'argento.

Per titolazioni acido-base, se non è diversamente prescritto, si usa una coppia di elettrodi vetro/calomelano o vetro/argento-cloruro d'argento.

Metodo. Riportare in un grafico le variazioni della differenza di potenziale in funzione della quantità di titolante aggiunto, continuando l'aggiunta oltre il punto di equivalenza presunto. Il punto di fine titolazione corrisponde ad una brusca variazione della differenza di potenziale.



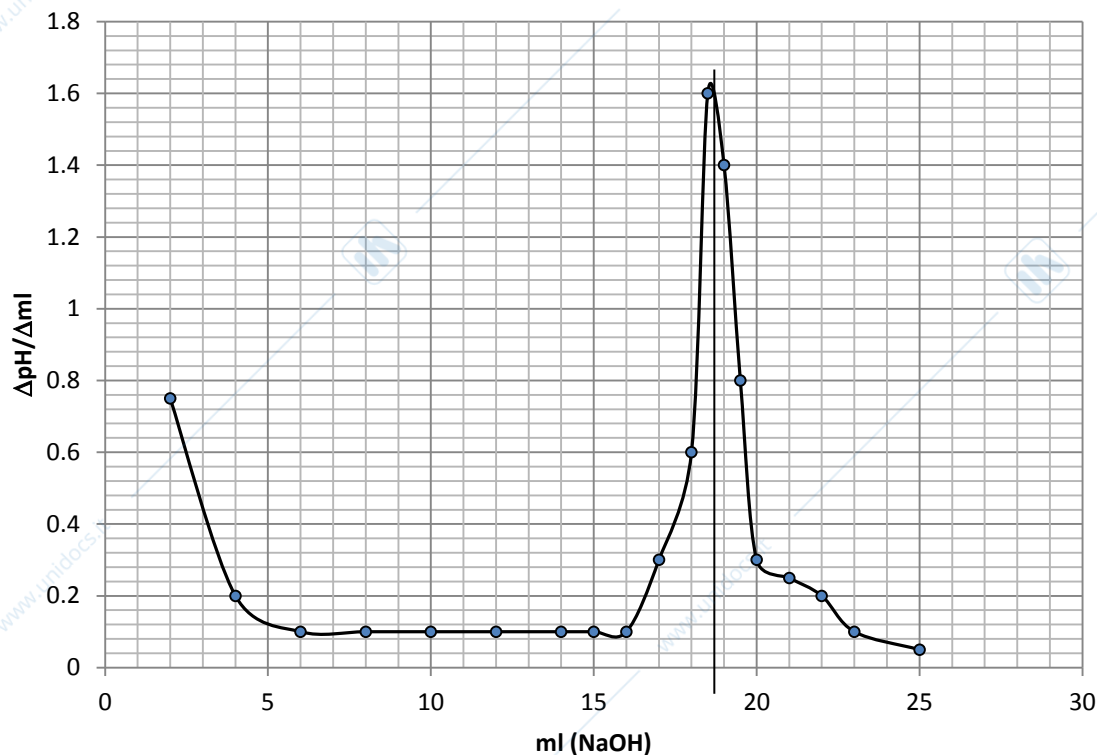
Determinazione del punto equivalente (metodo grafico dei prolungamenti)



Il volume della soluzione di NaOH al punto equivalente è di 18,5 ml.

Determinazione del punto equivalente (metodo matematico della derivata prima)

<i>ml(NaOH)</i>	<i>pH</i>	Δml	ΔpH	$\Delta pH/\Delta ml$	<i>ml(NaOH)</i>	<i>pH</i>	Δml	ΔpH	$\Delta pH/\Delta ml$
0	4.6				17	8	1	0.3	0.3
2	6.1	2	1.5	0.75	18	8.6	1	0.6	0.6
4	6.5	2	0.4	0.2	18.5	9.4	0.5	0.8	1.6
6	6.7	2	0.2	0.1	19	10.1	0.5	0.8	1.6
8	6.9	2	0.2	0.1	19.5	10.5	0.5	0.3	0.6
10	7.1	2	0.2	0.1	20	10.65	0.5	0.15	0.3
12	7.3	2	0.2	0.1	21	10.9	1	0.25	0.25
14	7.5	2	0.2	0.1	22	11.1	1	0.2	0.2
15	7.6	1	0.1	0.1	23	11.2	1	0.1	0.1
16	7.7	1	0.1	0.1	25	11.3	2	0.1	0.05



Nel punto di flesso (punto equivalente) la derivata prima assume il valore massimo. Anche con questo modalità di determinazione, il punto equivalente si raggiunge dopo l'aggiunta di 18,5 ml di soluzione di NaOH.

REAZIONI DI OSSIDO-RIDUZIONE

La maggior parte degli elementi esiste in differenti stati di ossidazione e quindi molte sostanze possono essere determinate mediante reazioni di ossido-riduzione.

Un numero relativamente piccolo di reattivi titolanti è impiegato a tal fine perché ossidanti energici come le soluzioni di permanganato o di cerio (IV) ossidano la maggior parte delle sostanze riducenti e analogamente riducenti energici come una soluzione di cromo (II) o ferro (II) riducono molte sostanze ossidanti.

Vengono più comunemente impiegati i mezzi ossidanti perché la conservazione delle soluzioni riducenti presenta delle difficoltà per la presenza dell'ossigeno atmosferico.

Le *sostanze ossidanti* più frequentemente impiegate, in soluzioni titolanti, sono il permanganato di potassio, il bicromato di potassio, il solfato cerico, lo iodio, lo iodato di potassio e il bromato di potassio.

Le *sostanze riducenti* di più comune impiego sono i sali ferrosi, il tiosolfato di sodio, l'anidride arseniosa, il nitrato mercurioso e l'ossalato di sodio.

Alcune sostanze quali ac.nitrico, cloro, acqua ossigenata, sodio ipoclorito ecc. non vengono impiegate come titolanti perché non sono sufficientemente stabili o perché le relative reazioni non hanno un unico rapporto stechiometrico. Questi reattivi possono però essere impiegati per eseguire una ossidazione o riduzione preliminare specialmente se i prodotti di reazione sono facilmente eliminabili.

Definizione di ossidante e riducente

Un composto può essere definito ossidante o riducente a seconda del reagente con il quale viene a contatto.

Le tabelle dei potenziali (elettrodici) standard offrono informazioni qualitative riguardo la direzione delle reazioni a trasferimento elettronico.

Procedendo verso il basso, ogni specie successiva è un *ossidante* (prende elettroni) meno efficace della precedente, quindi, rispetto al precedente risulta un *riducente* (cede elettroni).

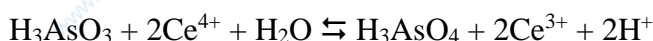
Le semireazioni alla fine della tabella hanno poca tendenza ad avvenire, così come sono scritte, ma in senso opposto, come elettrondonatori (*riducenti*). Gli agenti riducenti più efficienti, allora, saranno le specie che appaiono in basso nella parte destra delle equazioni in una tabella di potenziali standard.

Oltre alla definizione dei potenziali standard, vista in precedenza, è utile definire anche il *potenziale formale*. Il potenziale formale (potenziale condizionale) compensa gli effetti dovuti all'attività e gli errori dovuti all'esistenza di equilibri competitivi. Ad esempio il potenziale formale della coppia redox $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$ è 1,61 in HNO_3 M, 1,70 in H_2SO_4 M, 1,61 in HClO_4 e 1.23 in HCl M.

Costante di equilibrio e Velocità di Reazione.

I potenziali standard riveleranno se una reazione è sufficientemente completa per l'applicazione ad un particolare problema analitico. Le differenze di potenziale, tra i reattivi, sono *direttamente proporzionali al valore della costante di equilibrio ma non danno alcuna informazione circa la velocità* con la quale si appropria lo stato d'equilibrio; quindi, una reazione che appaia estremamente favorita da considerazioni di equilibrio può essere totalmente inaccettabile da un punto di vista cinetico.

L'ossidazione dell'arsenico (III) con cerio (IV) in soluzione diluita di acido solforico ne è un tipico esempio. La reazione è



I potenziali formali, E_f , per questi due sistemi sono



Sebbene tale reazione sia altamente favorita da un punto di vista d'equilibrio, soluzioni d'arsenico (III) non possono essere titolate con cerio (IV) poiché sono necessarie diverse ore per l'ottenimento dell'equilibrio.

A dire il vero, questa reazione può essere usata come base di una titolazione tramite l'uso di un appropriato catalizzatore.

Semicoppie	E° (Volt)	Semicoppie	E° (Volt)
$F_2 + 2H^+ + 2e^- = 2HF$	3,06	$Cu^+ + e^- = Cu$	0,52
$O_3 + 2H^+ + 2e^- = O_2 + H_2O$	2,07	$Fe(CN)_6^{3-} + e^- = Fe(CN)_6^{4-}$	0,36
$H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- = 2H_2O$	1,776	$Cu^{2+} + 2e^- = Cu$	0,337
$MnO_4^- + 4H^+ + 3e^- = MnO_2 + 2H_2O$	1,695	$Hg_2Cl_2 + 2e^- = 2Hg + 2Cl^-$ (KCl 1 M)	0,281
$Ce^{4+} + e^- = Ce^{3+}$ in $HClO_4$ 1 M	1,70	(KCl sol. sat.)	0,246
in HNO_3 1 M	1,61	$SO_4^{2-} + 4H^+ + 2e^- = H_2SO_3 + H_2O$	0,20
in H_2SO_4 1 M	1,45	$Cu^{2+} + e^- = Cu^+$	0,153
in HCl 1 M	1,23	$Sn^{4+} + 2e^- = Sn^{2+}$	0,15
$BrO_3^- + 6H^+ + 5e^- = \frac{1}{2}Br_2 + 3H_2O$	1,52	$S_4O_6^{2-} + 2e^- = 2S_2O_3^{2-}$	0,10
$MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- = Mn^{2+} + 4H_2O$	1,51	$2H^+ + 2e^- = H_2$	0,00
$ClO_3^- + 6H^+ + 5e^- = \frac{1}{2}Cl_2 + 3H_2O$	1,47	$Pb^{2+} + 2e^- = Pb$	- 0,126
$ClO_3^- + 6H^+ + 6e^- = Cl^- + 3H_2O$	1,45	$Sn^{2+} + 2e^- = Sn$	- 0,136
$BrO_3^- + 6H^+ + 6e^- = Br^- + 3H_2O$	1,44	$Ni^{2+} + 2e^- = Ni$	- 0,23
$Cl_2 + 2e^- = 2Cl^-$	1,36	$Co^{2+} + 2e^- = Co$	- 0,28
$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6e^- = 2Cr^{3+} + 7H_2O$	1,33	$Cd^{2+} + 2e^- = Cd$	- 0,402
$MnO_2 + 4H^+ + 2e^- = Mn^{2+} + 2H_2O$	1,23	$Fe^{2+} + 2e^- = Fe$	- 0,409
$O_2 + 4H^+ + 4e^- = 2H_2O$	1,229	$Cr^{3+} + e^- = Cr^{2+}$	- 0,41
$IO_3^- + 6H^+ + 5e^- = \frac{1}{2}I_2 + 3H_2O$	1,195	$2CO_2 + 2H^+ + 2e^- = H_2C_2O_4$	- 0,49
$Br_2 + 2e^- = 2Br^-$	1,087	$S + 2e^- = S^{2-}$	- 0,508
$IO_3^- + 6H^+ + 6e^- = I^- + 3H_2O$	1,085	$Cr^{3+} + 3e^- = Cr$	- 0,74
$HNO_2 + H^+ + e^- = NO + H_2O$	1,00	$Zn^{2+} + 2e^- = Zn$	- 0,763
$NO_3^- + 3H^+ + 2e^- = HNO_2 + H_2O$	0,94	$2H_2O + 2e^- = H_2 + 2OH^-$	- 0,828
$2Hg^{2+} + 2e^- = Hg_2^{2+}$	0,92	$Al^{3+} + 3e^- = Al$	- 1,66
$Ag^+ + e^- = Ag$	0,799	$H_2 + 2e^- = 2H^-$	- 2,23
$Hg_2^{2+} + 2e^- = 2Hg$	0,789	$Mg^{2+} + 2e^- = Mg$	- 2,37
$Fe^{3+} + e^- = Fe^{2+}$	0,77	$Na^+ + e^- = Na$	- 2,714
$O_2 + 2H^+ + 2e^- = H_2O_2$	0,682	$Ca^{2+} + 2e^- = Ca$	- 2,76
$MnO_4^- + e^- = MnO_4^{2-}$	0,564	$Ba^{2+} + 2e^- = Ba$	- 2,90
$H_3AsO_4 + 2H^+ + 2e^- = HAsO_2 + 2H_2O$	0,559	$K^+ + e^- = K$	- 2,924
$I_2 + 2e^- = 2I^-$	0,535	$Li^+ + e^- = Li$	- 3,045

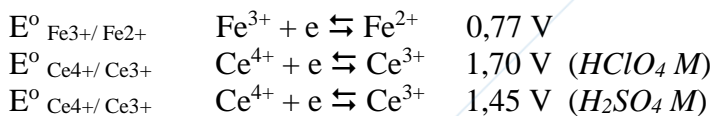
Tabella con alcuni potenziali elettrodi standard.

Curve di titolazione

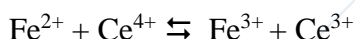
Per le curve di titolazione considerate precedentemente, il logaritmo negativo della concentrazione di un partecipante alla titolazione ($p[c]$) è stato rappresentato come funzione del volume del titolante. In questo caso è uso corrente raffigurare il *potenziale elettrodo del sistema* come ordinata della curva di titolazione di ossido-riduzione piuttosto che la $p[c]$ di un partecipante alla reazione.

A titolo di esempio viene considerata la titolazione del ferro (II) con cerio (IV).

I potenziali formali per le due coppie redox, in HClO_4 M e H_2SO_4 M, sono i seguenti :



Pertanto la reazione evolve come riportato nella equazione seguente:



La reazione è veloce pertanto il sistema può essere considerato all'equilibrio per tutto il corso della titolazione e quindi i potenziali delle coppie redox e ovviamente del sistema, saranno uguali:

$$E_{\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}} = E_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}} = E$$

L'andamento del potenziale durante la titolazione può essere registrato con un'apparecchiatura simile a quella riportata in figura 18.

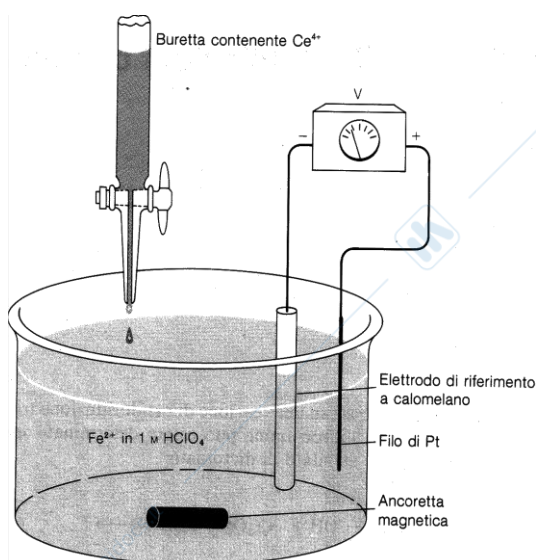


Fig.18. Apparecchiatura per registrare la curva di titolazione potenziometrica.

Il potenziale teorico del sistema può essere calcolato dai dati di potenziale standard.

Quindi, per la reazione fra ferro (II) e cerio (IV), la miscela di titolazione può essere considerata parte dell'ipotetica cella



I rapporti di concentrazione, durante la titolazione, variano continuamente e quindi varierà anche il potenziale del sistema (E).

Nella curva di titolazione viene riportato il potenziale misurato ai poli della cella, pertanto il valore dipenderà dalla differenza di potenziale tra le due semicelle, una costituita dal bechero dove avviene la titolazione e l'altra dall'elettrodo di riferimento a calomelano saturo (SCE) il cui potenziale è pari a 0,244 V (a 25°C).

- Potenziale prima del punto equivalente

Le specie ioniche presenti saranno : Ce^{3+} , Fe^{3+} e Fe^{2+}

Il potenziale E sarà calcolato con l'equazione di Nerst per la coppia Fe^{3+} / Fe^{2+} (perché la concentrazione di Ce^{4+} è trascurabile) :

$$E = E^{\circ}_{Fe^{3+}/Fe^{2+}} - \frac{0,0591}{1} \log \frac{[Fe^{2+}]}{[Fe^{3+}]}$$

In particolare quando il volume di titolante (Ce^{4+}) aggiunto è pari alla metà del volume necessario per raggiungere il punto equivalente ($1/2 V_e$) si ha :

$$[Fe^{2+}] = [Fe^{3+}]$$

e quindi,

$$E = E^{\circ}_{Fe^{3+}/Fe^{2+}}$$

- Potenziale al punto equivalente

Il potenziale del sistema al punto equivalente (raggiunto dopo l'aggiunta di un volume V_e di titolante) è di particolare importanza per la selezione dell'indicatore.

Al punto equivalente, le concentrazioni di cerio (III) e ferro (III) sono eguali, così come lo sono quelle del cerio (IV) e ferro (II).

$$(1) \quad [Ce^{4+}] = [Fe^{2+}]$$

$$(2) \quad [Ce^{3+}] = [Fe^{3+}]$$

Il potenziale al punto equivalente, E_{eq} , è dato da:

$$(3) \quad E_{eq} = E^{\circ}_{Ce^{4+}/Ce^{3+}} - \frac{0,0591}{1} \log \frac{[Ce^{3+}]}{[Ce^{4+}]}$$

$$(4) \quad E_{eq} = E^{\circ}_{Fe^{3+}/Fe^{2+}} - \frac{0,0591}{1} \log \frac{[Fe^{2+}]}{[Fe^{3+}]}$$

Ognuna delle due equazioni esprime una verità algebrica, ma nessuna delle due ci permette di calcolare E_{eq} poiché non si conoscono esattamente le piccole concentrazioni di Ce^{4+} e Fe^{2+} presenti. E' possibile risolvere le quattro equazioni sommando le ultime due equazioni :

$$2E_{eq} = E^{\circ}_{Ce^{4+}/Ce^{3+}} + E^{\circ}_{Fe^{3+}/Fe^{2+}} - \frac{0,0591}{1} \log \frac{[Ce^{3+}]}{[Ce^{4+}]} - \frac{0,0591}{1} \log \frac{[Fe^{2+}]}{[Fe^{3+}]}$$

$$2E_{eq} = E^{\circ}_{Ce^{4+}/Ce^{3+}} + E^{\circ}_{Fe^{3+}/Fe^{2+}} - \frac{0,0591}{1} \log \frac{[Ce^{3+}][Fe^{2+}]}{[Ce^{4+}][Fe^{3+}]}$$

Poiché al punto equivalente $[Ce^{4+}] = [Fe^{2+}]$ e $[Ce^{3+}] = [Fe^{3+}]$ si ha :

$$2E_{eq} = E^{\circ}_{\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}} + E^{\circ}_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}}$$

$$E_{eq} = \frac{1}{2} \times (E^{\circ}_{\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}} + E^{\circ}_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}})$$

- *Potenziale dopo il punto equivalente*

Le specie ioniche presenti saranno : Ce^{4+} , Ce^{3+} e Fe^{3+}

Il potenziale E sarà calcolato con l'equazione di Nernst per la coppia $\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}$:

$$E = E^{\circ}_{\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}} - \frac{0,0591}{1} \log \frac{[\text{Ce}^{3+}]}{[\text{Ce}^{4+}]}$$

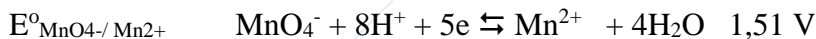
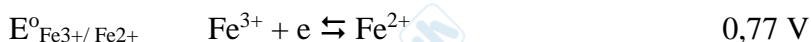
In particolare quando il volume di titolante (Ce^{4+}) aggiunto è pari al doppio del volume necessario per raggiungere il punto equivalente ($2V_e$) si ha :

$$[\text{Ce}^{4+}] = [\text{Ce}^{3+}]$$

e quindi $E = E^{\circ}_{\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}}$

Per la titolazione del ferro (II) con potassio permanganato (MnO_4^-) il potenziale al punto equivalente dipende dal pH.

I potenziali formali per le due coppie redox, in HClO_4 M, sono i seguenti :



La reazione evolve come riportato nella equazione seguente:



- *Potenziale al punto equivalente*

Al punto equivalente, le concentrazioni di MnO_4^- e ferro (II) sono eguali, così come lo sono quelle del Mn^{2+} e ferro (III).

$$1/5[\text{MnO}_4^-] = [\text{Fe}^{2+}]$$

$$1/5[\text{Mn}^{2+}] = [\text{Fe}^{3+}]$$

Il potenziale è dato da:

$$E_{eq} = E^{\circ}_{\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}} - \frac{0,0591}{5} \log \frac{[\text{Mn}^{2+}]}{[\text{MnO}_4^-][\text{H}^+]^8}$$

$$5 E_{eq} = 5 E^{\circ}_{\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}} - 0,0591 \log \frac{[\text{Mn}^{2+}]}{[\text{MnO}_4^-][\text{H}^+]^8}$$

$$E_{eq} = E^{\circ}_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}} - 0,0591 \log \frac{[\text{Fe}^{2+}]}{[\text{Fe}^{3+}]}$$

Sommando le due equazioni:

$$6 E_{eq} = 5 E^{\circ}_{\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}} + E^{\circ}_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}} - 0,0591 \log \frac{[\text{Mn}^{2+}][\text{Fe}^{2+}]}{[\text{MnO}_4^-][\text{Fe}^{3+}][\text{H}^+]^8}$$

Poiché $1/5[\text{MnO}_4^-] = [\text{Fe}^{2+}]$ e $1/5[\text{Mn}^{2+}] = [\text{Fe}^{3+}]$ si può scrivere:

$$6 E_{eq} = 5 E^{\circ}_{\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}} + E^{\circ}_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}} - 0,0591 \log \frac{[\text{Mn}^{2+}]5[\text{MnO}_4^-]}{[\text{MnO}_4^-]5[\text{Mn}^{2+}][\text{H}^+]^8}$$

$$6 E_{eq} = 5 E^{\circ}_{\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}} + E^{\circ}_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}} - 0,0591 \log \frac{1}{[\text{H}^+]^8}$$

$$E_{eq} = \frac{1}{6} (5 E^{\circ}_{\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}} + E^{\circ}_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}}) - \frac{1}{6} (0,0591 \times 8) \text{ pH}$$

$$E_{eq} = 1,38 - 0,079 \text{ pH}$$

Le curve di titolazione per il Fe^{2+} sono pressoché coincidenti fino al punto equivalente, sia se si usi come titolante Ce^{4+} o MnO_4^- , della medesima normalità.

In fig.19 sono riportate le curve di titolazione di 100ml di una soluzione di ferro (II) 0.1N con titolante permanganato 0.1N e Ce (IV) 0.1N.

La sua forma generale ricorda le curve incontrate nelle titolazioni di neutralizzazione, precipitazione e formazione di complessi, essendo il punto equivalente segnalato da una grande variazione nell'ordinata.

Si noti che la titolazione del cerio (IV) è simmetrica attorno al punto equivalente in conseguenza del rapporto di combinazione equimolare che esiste tra ossidante e riducente. L'esempio dimostra che, quando questo rapporto differisce dall'unità, si ottiene una curva asimmetrica.

Le curve per la titolazione del ferro (II) con i due ossidanti sono indistinguibili sino al 99,9 % di volume di titolante necessario all'equivalenza. Si noti, comunque, che i potenziali al punto equivalente sono differenti. In più, la curva coinvolgente il permanganato è marcatamente asimmetrica (infatti il rapporto stechiometrico con il ferro non è equimolare).

Titolazione effettuata con elettrodo di riferimento (SCE) 0,244 V (a 25°C).

$E^{\circ}_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}}$	$\text{Fe}^{3+} + e \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$	0,77 V	
	E 1/2Ve	E Ve	E 2Ve
$E^{\circ}_{\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}}$ 1,70 V (HClO ₄ M)	0,77- 0,24=0,53	((1,70+0,77)/2) - 0,24= 0,99	1,70 - 0,24 = 1,46
$E^{\circ}_{\text{Ce}^{4+}/\text{Ce}^{3+}}$ 1,45 V (H ₂ SO ₄ M)	0,77- 0,24=0,53	((1,45+0,77)/2) - 0,24= 0,87	1,45 - 0,24 = 1,21
$E^{\circ}_{\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}}$ 1,51 V (H ₂ SO ₄ M)	0,77- 0,24=0,53	(1,38 - (0,079 x -0,3)) - 0,24 = 1,16	1,51 - 0,24 = 1,27

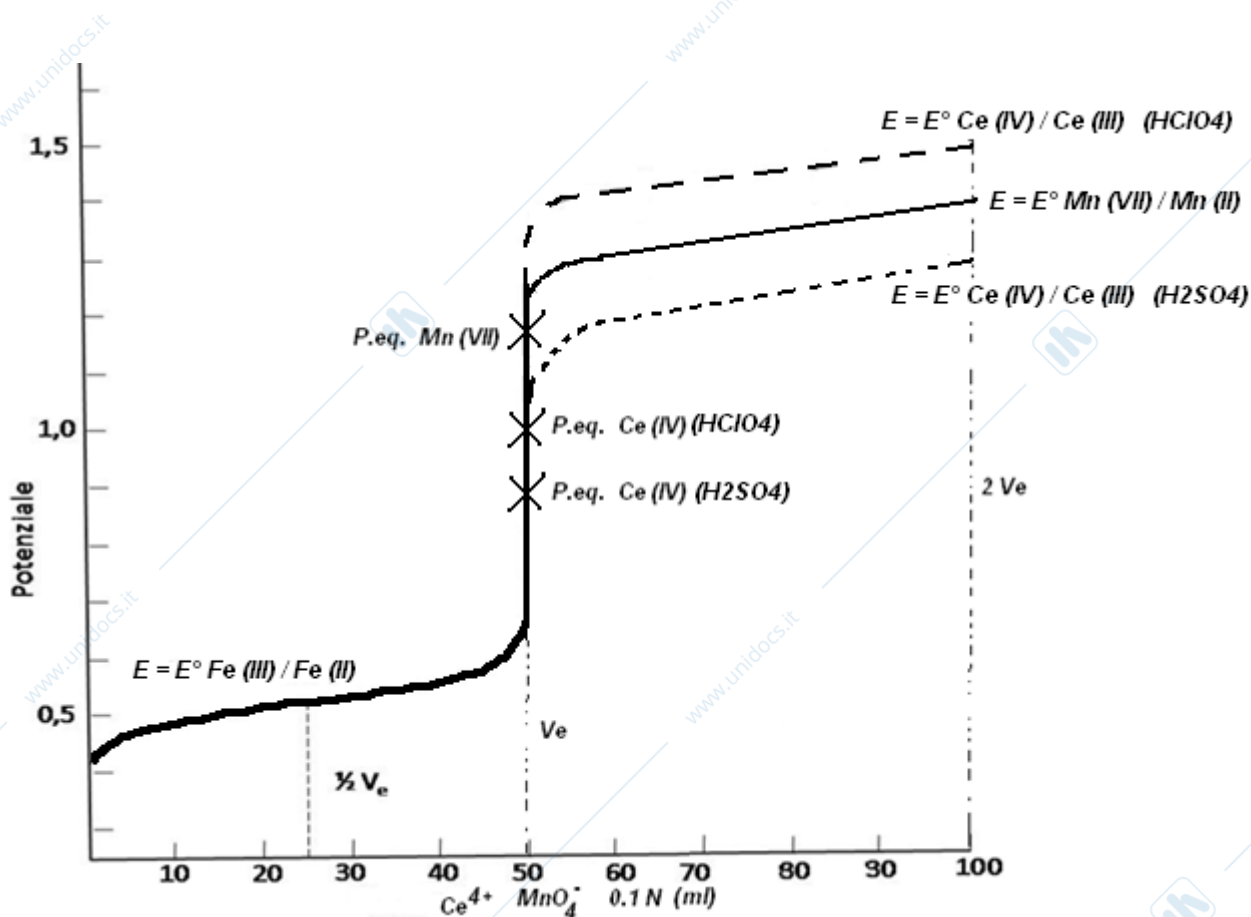


Fig.19. Curva di titolazione Ce^{4+} / Fe^{2+} e MnO_4^- / Fe^{2+}

E' da notare come la variazione del potenziale associata con la regione del punto equivalente è proporzionale al valore del potenziale della coppia redox titolante.

La figura 19a illustra come le curve per la titolazione di un ipotetico analita con potenziale standard di 0,20 V con diversi titolanti a potenziali standard compresi tra 1,20 e 0,40 V. La variazione maggiore in potenziale è associata con la reazione che è più completa.

Le curve sono derivate da reazioni in cui sia l'ossidante sia il riducente scambiano un elettrone.

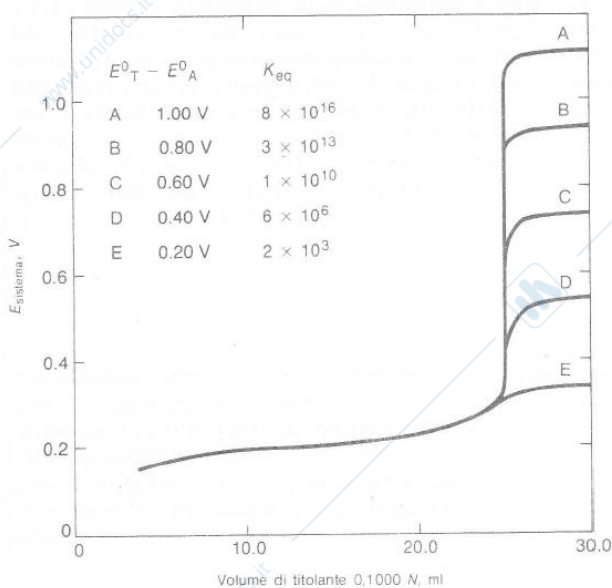


Fig.19a. Effetto del potenziale elettrodo del titolante sulla completezza della reazione

Indicatori redox

Si tratta di molecole che presentano una forma ossidata di un colore diverso da quella ridotta. Analogamente agli indicatori acido-base, si definisce un intervallo di potenziale in cui avviene la variazione di colore (intervallo di viraggio).



$$E = E^\circ_{\text{In}} + (0,059/n) \log [\text{In}_{(\text{ox})}] / [\text{In}_{(\text{red})}]$$

Il colore di $\text{In}_{(\text{ox})}$ è predominante quando $[\text{In}_{(\text{ox})}] / [\text{In}_{(\text{red})}] > 10$

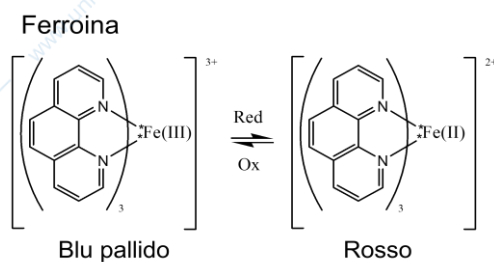
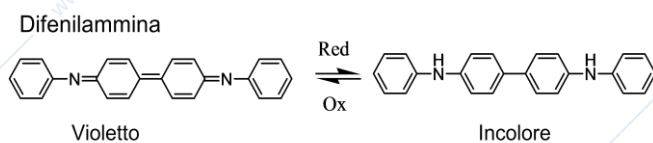
Il colore di $\text{In}_{(\text{red})}$ è predominante quando $[\text{In}_{(\text{ox})}] / [\text{In}_{(\text{red})}] < 0,1$

L'intervallo di viraggio risulta :

$$E = E^\circ_{\text{In}} \pm (0,059/n)$$

I più importanti indicatori sono la difenilammina e la ferroina.

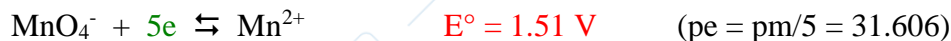
	colori		E° a pH=0 (V)
	<i>In (oss)</i>	<i>In (rid)</i>	
Solfato di ferro(II) 5 nitro 1, 10 fenantrolina	blu pallido	rosso	1.25
Solfato di ferro(II) 1, 10 fenantrolina (ferroina)	blu pallido	rosso	1.06
Solfato di ferro(II) 2-2' piridile	blu stinto	rosso	1.02
5,6 dimetilferroina	blu pallido	rosso	0.97
Acido N-fenilamminico	rosso porpora	incolore	0.89
4,7 dimetilferroina	blu pallido	rosso	0.88
Acido difenilamminosolfonico	rosso-viola	incolore	0.85
Difenilbenzidina	violetto	incolore	0.76
Difenilammina	violetto	incolore	0.76
3-3' dimetilnaftidina	rosso porpora	incolore	0.71
Amido iodurato, KI	blu	incolore	0.53
Blu di metilene	blu	incolore	0.52



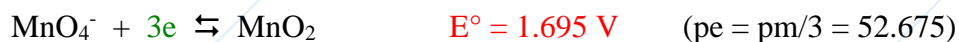
PERMANGANOMETRIA

Il permanganato di potassio è uno degli agenti ossidanti di più largo impiego.

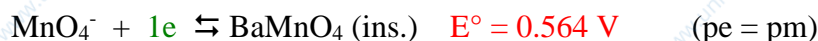
In soluzione acida è un ossidante molto energetico ($E^\circ = 1.51 \text{ V}$) e dà come prodotto di reazione Mn^{2+}



In soluzione neutra o leggermente alcalina è un ossidante ancora più energetico ($E^\circ = 1.695 \text{ V}$) e fornisce come prodotto di riduzione MnO_2 .



Per l'ossidazione di sostanze organiche il permanganato viene impiegato in soluzione neutra e in presenza di ioni Ba^{2+} , in queste condizioni si comporta da blando ossidante ($E^\circ = 0.564 \text{ V}$) e come prodotto di riduzione si ottiene BaMnO_4 (insolubile).



L'impiego più diffuso della permanganometria è in soluzione acida per H_2SO_4 , HClO_4 , HCl ma non per HNO_3 che ossida molte sostanze riducenti. Il più idoneo è l'acido solforico il cui anione non ha azione sul permanganato. In soluzione acida per HCl , lo ione cloro può essere ossidato dal permanganato a meno che non si operi in soluzione diluita e fredda o non si abbassi il potenziale di ossidazione del KMnO_4 per aggiunta di solfato manganoso (MnSO_4).

Essendo le soluzioni di permanganato colorate in violetto e quelle dei sali manganosi colorate in rosa pallido (quasi incolore se molto diluite), il punto finale di una titolazione viene apprezzato con facilità. Il punto finale si ottiene quando una goccia di soluzione di KMnO_4 , impartisce alla soluzione che si titola una colorazione rosa persistente per almeno 30 secondi, per questa ragione il permanganato di potassio è considerato un "autoindicatore".

Per titolazioni con soluzioni molto diluite è consigliabile impiegare un indicatore di ossidoriduzione come la ferroina.

I principali inconvenienti all'uso del permanganato, sono costituiti dall'intensa colorazione delle sue soluzioni che non permette di leggere con molta accuratezza il menisco nella buretta e dalla instabilità delle sue soluzioni che in soluzione neutra lentamente si decompongono secondo la seguente reazione:



Questa reazione è catalizzata dal biossido di manganese (reazione autocatalitica). Tracce di sostanze riducenti nell'acqua deionizzata impiegata possono ridurre il permanganato a biossido di manganese che catalizza l'ulteriore decomposizione del permanganato.

Anche la luce facilita la decomposizione delle soluzioni, pertanto esse debbono essere conservate lontano dalla luce diretta ed intensa in bottiglie di vetro scuro a tappo smerigliato precedentemente pulite con miscela cromica e lavate con acqua deionizzata.

Nonostante che la permanganometria trovi maggiori applicazioni in ambiente acido, le titolazioni in ambiente alcalino si rendono necessarie in diversi casi, come nel dosaggio di sostanze organiche riducenti. Queste titolazioni hanno tuttavia il difetto di essere molto lente e di dovere essere spesso eseguite a caldo. Quest'ultima necessità comporta una causa di errore talvolta rilevante, perché con l'aumentare della temperatura, aumenta la velocità di autoriduzione del KMnO_4 .

Pratica dei metodi permanganometrici

Preparazione e standardizzazione di una soluzione di KMnO_4

Il permanganato di potassio non ha i requisiti di una sostanza madre, e pertanto non si possono preparare soluzioni titolate di questo sale per pesata diretta. Anche se fosse possibile ottenere il sale allo stato perfettamente puro (esente soprattutto da MnO_2), la sua soluzione acquosa non avrebbe esattamente il titolo calcolato in partenza, perché le tracce di sostanze organiche normalmente presenti nell'acqua deionizzata sono capaci di ridurre il KMnO_4 .

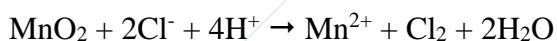
Conviene quindi preparare una soluzione a concentrazione approssimata pesando una quantità di KMnO_4 un poco superiore a quella teorica, ossidare a caldo le sostanze riducenti contenute nell'acqua in cui si è disciolto il sale, e filtrare il biossido di manganese prodotto. In tal modo si otterrà una soluzione a titolo stabile perché priva di sostanze riducenti e di MnO_2 .

La concentrazione più usata è 0,02M che corrisponde, se il permanganato è usato in soluzione acida, a 0.1N.

Si pesa il KMnO_4 in un vetro da orologio con una bilancia tecnica, si introduce in un becker della giusta capienza, si aggiunge il corretto volume di acqua deionizzata si copre il becker con un vetro da orologio, e si riscalda la soluzione agitando di quando in quando fino a moderata ebollizione. Si mantiene all'ebollizione per circa 30 minuti e quindi si lascia raffreddare fino a temperatura ambiente. Si lascia riposare per una notte e si filtra attraverso un imbuto semplice intasato con un batuffolo di lana di vetro, o meglio ancora si filtra alla pompa attraverso imbuto a setto di vetro poroso. La soluzione così filtrata è raccolta e conservata.

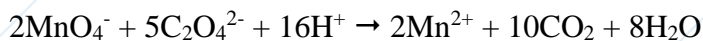
Le burette devono essere completamente sgrassate e ben pulite, in presenza di tracce di impurezze si osserva un bagnamento non uniforme della parete sulla quale il liquido si arresta in forma di gocce, a mano a mano che la buretta viene svuotata. Dopo l'uso le burette vanno subito vuotate e lavate con HCl concentrato per eliminare le tracce di MnO_2 che fossero rimaste aderenti al vetro.

Il lavaggio con HCl concentrato va eseguito sotto cappa aspirante perché dalla reazione si ha sviluppo di cloro:



Per il controllo del titolo della soluzione di permanganato si usano sostanze madri riducenti quali : $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$; Fe (elettrolitico); $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; FeSO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; As_2O_3

L'ossalato di sodio ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (pe = pm/2 = 67.00)) è la sostanza madre più popolare. Reagisce con permanganato con la seguente stechiometria:



L'ossalato di sodio è una delle migliori sostanze madri riducenti, poiché è facile ottenerlo allo stato puro e anidro. Tracce di umidità, normalmente presenti sono eliminate per essiccamento in stufa a 110°C .

Per il controllo del titolo della soluzione di KMnO_4 circa 0.02 M, si pesano in un vetrino da orologio la quantità ottimale di $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$, si trasportano quantitativamente in una beuta da 250 ml, si diluisce a circa 100 ml e si aggiungono 10 ml di $\text{H}_2\text{SO}_4(1:4)$.

Si riscalda su una piccola fiamma la soluzione fino a circa 60° e quindi si introduce goccia a goccia la soluzione di permanganato contenuto nella buretta. Durante la titolazione il liquido va continuamente agitato. Quando la titolazione si avvia alla fine, le gocce di KMnO_4 stentano sempre più a decolorarsi.

Si termina la titolazione aggiungendo goccia a goccia il reattivo fino a colorazione rosa persistente per almeno 1/2 minuto.

Il controllo del titolo è ripetuto partendo da quantità diverse di ossalato sodico.

La prima titolazione è indicativa del volume da aggiungere, per le altre è indispensabile aggiungere rapidamente il permanganato fino ad 0.5 ml dal viraggio e poi proseguire goccia a goccia fino ad ottenere una colorazione rosa persistente.

E' importante che nella titolazione si controllino i seguenti fattori: acidità, temperatura, velocità di aggiunta del reattivo ed agitazione.

- La soluzione di ossalato deve essere titolata immediatamente dopo la dissoluzione del sale
- L'acidità deve essere regolata in modo che essa sia all'incirca 0.5-0.8 M in H₂SO₄
- Il reattivo deve essere aggiunto rapidamente e la soluzione moderatamente agitata per evitare una eventuale perdita di H₂O₂ che può formarsi come reazione intermedia
- La reazione fra permanganato e acido ossalico è lenta a temperatura inferiore ai 50° mentre è rapida a temperatura superiore
- E' opportuno evitare di superare i 60°C per evitare una possibile decomposizione dell'ac. ossalico (H₂C₂O₄ → H₂O + CO + CO₂).
- La reazione è favorita anche dalla presenza di ioni manganosi che agiscono come catalizzatori della reazione stessa. Per tale motivo all'inizio della titolazione le gocce stentano a decolorarsi fino a quando non si è formata una sufficiente quantità di Mn²⁺.
- La colorazione rosa finale deve persistere almeno 30 secondi; con un tempo più lungo la soluzione ritorna incolore per l'autoriduzione della piccolissima quantità di KMnO₄ presente.

Esempi di determinazioni permanganometriche da farmacopea

IDROGENO PEROSSIDO SOLUZIONE

Hydrogenii peroxidum

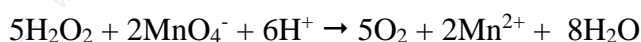
(H₂O₂ pe = pm / 2 = 17.008)

Diluire 10,0 g a 100,0 ml con acqua R. Aggiungere 20 ml di acido solforico diluito R a 10,0 ml di questa soluzione.

Titolare con potassio permanganato 0,02 M, fino a che il colore vira al rosa.

1ml di potassio permanganato 0,02Mequivale a 1,701 mg di H₂O₂ oppure a 0,56 ml di ossigeno.

Reazione considerata



L'acqua ossigenata si trova di solito in commercio in soluzione di varia concentrazione: al 3% (più usata) e al 33% (Peridrola).

I risultati della titolazione sono esatti purché nel campione di acqua ossigenata non siano contenute, come stabilizzanti, sostanze organiche (urotropina, urea, ecc.) facilmente ossidabili dal permanganato.

Le concentrazioni delle soluzioni di acqua ossigenata vengono indicate anche in base al *volume di ossigeno* (calcolato a 0°C e 760 mmHg) capace di svilupparsi dalla completa decomposizione di un volume di H₂O₂.



Affermare che una soluzione di H₂O₂ è a 10 volumi significa che 1ml di quella soluzione è capace di sviluppare 10ml di ossigeno. Si ricorda che a condizioni normali (0°C e 760 mmHg) una mole di un gas occupa un volume pari a 22,4 litri.

OSSIDIMETRIA CON CERIO (CERIMETRIA)

La possibilità di impiegare indicatori redox ha permesso l'utilizzazione, a scopo analitico, di sali di cerio che presentano notevoli vantaggi rispetto al permanganato.

I sali di cerio sono dei buoni ossidanti. Il potenziale normale redox varia a seconda dell'ambiente acido:



I vantaggi della cerimetria rispetto alla permanganometria sono sintetizzati nei seguenti punti:

- le soluzioni di cerio sono stabili anche a caldo
- le soluzioni di cerio possono essere impiegate in presenza di elevate concentrazioni di HCl senza ossidare il Cl^-
- nella reazione di riduzione è possibile un'unica variazione del numero di ossidazione (da +4 a +3)
- il colore delle soluzioni ceriche non disturba la lettura del menisco della buretta

La variazione del potenziale normale è dovuta al fatto che anioni con maggiore proprietà leganti (Cl^- e SO_4^{2-}) formano complessi più stabili con il Ce^{4+} , abbassando il potenziale del sistema.

Il prodotto di riduzione è incolore. Il Ce^{4+} può esistere sotto forma cationica o in un complesso anionico ($Ce(NO_3)_6^{2-}$ ecc...).

La reazione di ossidazione è, in molti casi, lenta ed è consigliabile l'impiego di catalizzatori opportuni come il tetrossido di osmio (OsO_4).

L'indicatore di ossidazione, per la maggior parte delle titolazioni cerimetriche è il complesso ferroso ortofenantrolina (ferroina). Per ossidazione, il complesso ferroso viene convertito nel complesso ferrico con una variazione cromatica da un rosso intenso a un blu debole, probabilmente dovuto ad un riadattamento molecolare.

Preparazione dell'indicatore: 1.5g di ortofenantrolina monoidrata in 100ml di soluzione 0.025M di solfato ferroso.

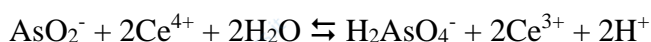
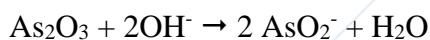
Preparazione e titolazione di una soluzione di Cerio (IV)

L'esanitrocerato di ammonio $(NH_4)_2Ce(NO_3)_6$ è una sostanza madre.

Le soluzioni di solfato cerico $Ce(SO_4)_2$ o di solfato cerico ammonico $Ce(SO_4)_2 \cdot 2(NH_4)_2SO_4 \cdot 2H_2O$ necessitano di standardizzazione.

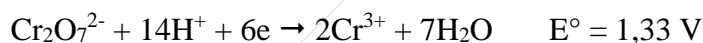
Qualora si renda necessario *controllare la concentrazione di una soluzione di cerio* si usa come sostanza madre l'anidride arseniosa (As_2O_3 (pe = pm / 4 = 49.455))

L'anidride arseniosa è sciolta in NaOH 2M (a caldo per facilitare la reazione). A temperatura ambiente si aggiungono 25 ml di $H_2SO_4(1:5)$, si diluisce con un po' d'acqua si aggiungono 3 gocce di OsO_4 (0.25g di OsO_4 in 100ml di H_2SO_4 0.05 M) come catalizzatore ed una goccia di ferroina. Si titola con la soluzione di cerio fino al viraggio da giallo arancio all'incolore o al blu molto pallido.



OSSIDIMETRIA CON BICROMATO

La reazione di ossidazione del bicromato ed il potenziale normale redox sono:



Nonostante che il potere ossidante di $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ sia inferiore a quello di KMnO_4 il bicromato presenta una serie di vantaggi :

- 1) è ottenibile ad uno stato di grande purezza tale da poter essere impiegato come sostanza madre, formando soluzioni stabili nel tempo,
- 2) non viene ridotto a freddo dall'HCl in presenza di sali ferrosi ad una conc. di HCl inferiore a 1-2 M
- 3) il cromo non ha stati di ossidazione intermedi fra +6 e +3 pertanto la reazione di riduzione indicata è la sola che può aver luogo, pertanto il peso equivalente del bicromato di potassio è quindi sempre il pm / 6 (49.035).
- 4) soluzioni di bicromato rimangono stabili anche all'ebollizione e vengono ridotte con minore facilità dalle sostanze organiche,
- 5) le soluzioni sono colorate ma il menisco della buretta può essere bene osservato.

Per queste caratteristiche il bicromato viene in pratica molto impiegato specialmente per la titolazione dei sali ferrosi.

Per il suo impiego è necessario un indicatore per la identificazione del punto di equivalenza. Come indicatore è usata la difenilammina (in soluz. solforica al 1%) e la difenilbenzidina (1% in H_2SO_4) oppure il sale di sodio o di bario dell'ac. difenilamminosolfonico. In ambiente riducente (es. eccesso di ioni ferrosi) questi indicatori sono incolori, mentre in ambiente ossidante (eccesso di ioni $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) colorano le soluzioni in violetto. Al punto di equivalenza le soluzioni assumono un colore misto grigio-verde.

I dosaggi con le soluzioni di bicromato possono essere diretti o indiretti, a seconda se si tratta di titolare soluzioni ferrose ottenute da campioni contenenti ferro, oppure se si tratta di titolare l'eccesso di soluzione ferrosa che ha ridotto un campione di sostanza ossidante: ciò è possibile in quanto la variazione cromatica degli indicatori è reversibile. E' necessario però che l'ossidante non sia in grande eccesso e che la retrotitolazione venga eseguita immediatamente.

Preparazione della soluzione di $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

Poiché il bicromato di K ha i requisiti di una sostanza madre, la soluzione si prepara facilmente portando a un volume esatto con acqua deionizzata, una quantità di sale opportuna esattamente pesata.

IODIMETRIA E IODOMETRIA

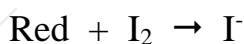
La particolare posizione del sistema “iodio-ioduro” quasi al centro della scala dei potenziali redox ($E^\circ = 0.536$) e l'esattezza e la sicurezza con cui è possibile apprezzare il punto finale rende la iodimetria e la iodometria un metodo molto popolare nella analisi volumetrica.

La scomparsa di iodio elementare da una soluzione o la sua presenza in minime quantità, viene rilevata (reazione molto sensibile) dalla colorazione azzurra che lo iodio impartisce ad una soluzione colloidale di amido (*salda d'amido*).

Lo iodio può fungere anche da “autoindicatore” in quanto tracce di questo elemento colorano la soluzione in giallo oppure se estratte in CCl_4 o in CHCl_3 danno luogo ad una colorazione porpora. Le proprietà del sistema “iodio-ioduro” è la base di due differenti tipi di analisi.



Metodo diretto o iodimetrico

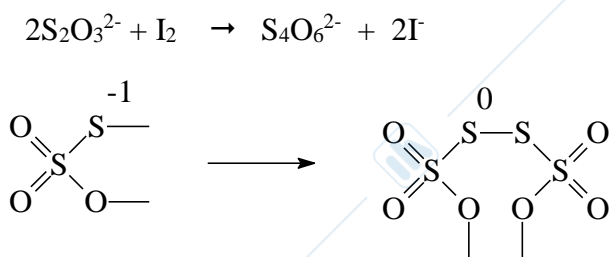


Impiega come ossidante, una soluzione standard di iodio, per la titolazione di *sostanze riducenti*. Le possibilità del metodo diretto sono alquanto limitate perché lo iodio è un agente ossidante molto debole, di conseguenza solo sostanze riducenti molto energiche possono essere titolate con soluzione titolata di iodio. Alcuni dei procedimenti analitici più frequentemente impiegati sono la titolazione dei tiosolfati, dei solfuri, dell'idrogeno solforato, dell'anidride solforosa, dei solfiti, dell'arsenico (III), dell'antimonio (III), della idrazina, dello stagno (II) e del ferro (II).

Metodo indiretto o iodometrico



Si usa quando si devono titolare soluzioni in cui è presente un forte *ossidante* in grado di ossidare quantitativamente lo ioduro. Lo ioduro è aggiunto in forte eccesso rispetto alla quantità stechiometrica, lo iodio messo in libertà è determinato mediante titolazione con una soluzione a titolo noto di tiosolfato (che si ossida a tetratoato) od arsenito di sodio.



I metodi indiretti che impiegano iodio, sono invece applicabili all'analisi di tutte le sostanze che sono agenti ossidanti più energici dello iodio come permanganato, bicromato, bromato, iodato, clorato, ipoclorito, nitrito ecc.

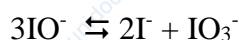
Controllo del pH nella iodimetria e iodometria

Il controllo del pH delle soluzioni è di estrema importanza sia nella iodimetria che nella iodometria per quanto lo ione idrogeno non influenzi direttamente l'equilibrio $I_2 \rightleftharpoons 2I^-$ né la reazione dello iodio con tiosolfato.

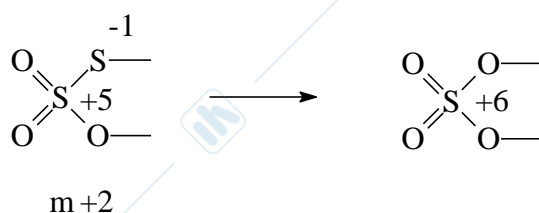
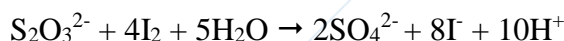
Il pH influenza una serie di reazioni collaterali che influenzano direttamente le concentrazioni dello I_2 , I^- e $S_2O_3^{2-}$.

pH fortemente alcalino

- In soluzioni fortemente alcaline lo iodio subisce una ossidoriduzione interna (dismutazione), rappresentabile con le seguenti reazioni:



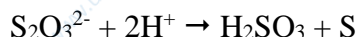
- L'ossidazione del tiosolfato a tetrionato è quantitativa solo in soluzioni neutre o debolmente acide. In soluzioni alcaline si ottiene:



Il consumo di I_2 è 4 volte superiore rispetto alla reazione che porta alla formazione di tetrionato

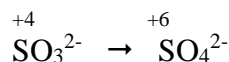
pH fortemente acido

- Il tiosolfato viene decomposto (dismutazione) in soluzioni acide:

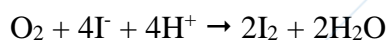


Questa reazione è possibile in quanto l'acido tiosolforico è un acido debole.

Poiché l'acido solforoso riduce due equivalenti di iodio per mole, mentre il tiosolfato ne riduce soltanto uno per mole, la decomposizione provoca un aumento nella normalità della soluzione.



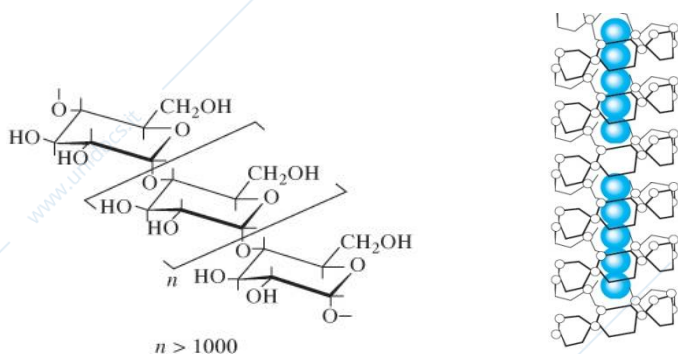
- L'ossidazione atmosferica dello ioduro è favorita da acidità elevate:



Indicatori per le titolazioni con iodio.

Salda d'amido.

Nonostante che lo iodio elementare sia capace di impartire alla soluzione un colore giallo pallido una minima traccia di iodio libero in soluzione è rivelata con straordinaria sensibilità usando come indicatore una soluzione di amido (chiamata "salda d'amido"). L'amido reagisce con lo iodio in presenza di ioduro solubile, formando un complesso (di adsorbimento) con β -amilosio colorato intensamente in azzurro. Questa sensibilità diminuisce in assenza di ioni I^- e al crescere della temperatura (a 50° la sensibilità è ridotta di 10 volte!).



La salda d'amido si prepara stemperando in una capsula di porcellana 5 g di amido solubile e 0.03 g di HgI_2 (funziona da antifermentativo) con poca acqua, e versando la poltiglia in un litro di acqua bollente. Si lascia raffreddare e si filtra.

La salda d'amido va conservata in recipiente ben chiuso e in luogo fresco.

E' consigliato l'uso di salda preparata di fresco, o tale che con tracce di iodio dia una netta colorazione azzurra.

La quantità di salda d'amido (1%) da impiegare per ogni dosaggio è di circa 2 ml per 100 ml di soluzione da titolare.

Quando si impiegano reattivi riducenti per titolare lo iodio libero (*iodometria*) il punto finale coincide con la *scomparsa della colorazione azzurra*, mentre quando si impiegano soluzioni di iodio per titolare sostanze riducenti (*iodimetria*), il punto finale coincide con la *comparsa della colorazione azzurra* in seno alla soluzione.

Nelle titolazioni iodometriche, l'indicatore deve essere aggiunto solo verso la fine della titolazione, quando la soluzione è ancora colorata in giallo pallido. Se viene aggiunto quando è presente ancora molto iodio libero in soluzione, una parte dello iodio rimane adsorbita dall'amido anche dopo avere oltrepassato il punto finale della reazione.

Solventi organici dello iodio.

La salda d'amido non può essere impiegata per dosaggi con iodio in soluzioni alcoliche in quanto si avrebbe la precipitazione di amido insolubile in alcool. Anche con soluzioni fortemente acide l'indicatore non funziona a causa dell'idrolisi che subisce l'amido.

In questi casi si ricorre all'estrazione dello iodio con solventi organici come il tetracloruro di carbonio e il cloroformio nei quali lo iodio essendo più solubile rispetto all'acqua, si concentra. Le titolazioni sono eseguite in beute (da 250 ml) con tappo smerigliato, previa aggiunta di 5-10 ml di CCl_4 o $CHCl_3$. Verso la fine della reazione, dopo ogni aggiunta di reattivo riducente, la beuta è chiusa e agitata vigorosamente. Lo strato di solvente raccolto al fondo scolorirà fino a divenire completamente incolore al punto finale.

Pratica dei metodi

Metodi diretti: Iodimetria

Nella iodimetria viene di norma impiegata una soluzione 0.1 M di iodio. Lo iodio è poco solubile in acqua ma è solubile in una soluzione contenente ioduro di potassio per la formazione di uno ione complesso ($I_2 + I^- \rightleftharpoons I_3^-$), inoltre la formazione del complesso riduce la volatilità dello iodio.

Preparazione della soluzione di iodio

Per quanto lo iodio possa essere considerato una sostanza madre nonostante la sua volatilità, è preferibile preparare una soluzione a titolo approssimato, piuttosto che a titolo noto in partenza e successivamente standardizzata con apposita sostanza madre.

Un litro di soluzione 0.1 M approssimata di iodio è preparata sciogliendo 20 g di KI (pesato con una bilancia tecnica) in 50ml di acqua deionizzata. A questa soluzione sono aggiunti e solubilizzati circa 13 g di iodio bisublimato (pesato con una bilancia tecnica). Questa soluzione è travasata in un recipiente munito di tappo (possibilmente di vetro scuro) e diluita a un litro con acqua deionizzata. E' importante che le *proporzioni* riportate sopra siano mantenute per qualsiasi quantità di iodio si debba solubilizzare, inoltre è fondamentale che tutto lo iodio sia sciolto prima di diluire con acqua. Infatti lo iodio si scioglie solo in *soluzioni adeguatamente concentrate di KI*.

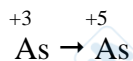
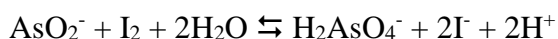
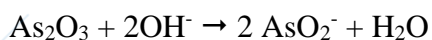
Le soluzioni di iodio devono essere conservate all'oscuro, meglio se in recipienti di vetro bruno, perché la luce accelera la reazione fra I_2 e H_2O con formazione di HI.

Per rendere minima la decomposizione della soluzione di iodio alla luce, si usano spesso burette di vetro bruno, in particolare quando si tratta di soluzioni titolate di iodio molto diluito (esempio 0.01 M).

Il prelievo o il travaso delle soluzioni di iodio per scopi volumetrici, deve avvenire sempre con rapidità e a temperatura ambiente per impedire perdite di iodio per volatilizzazione.

Il titolo delle soluzioni di iodio può essere effettuato mediante sostanze madri come l'anidride arseniosa oppure con soluzioni standard di tiosolfato.

- La *determinazione del titolo della soluzione di Iodio con anidride arseniosa*: As_2O_3 ($pe = pm / 4 = 49.455$) avviene con la seguente stechiometria:



L'anidride arseniosa è la migliore sostanza madre riducente per lo iodio, in quanto è facilmente ottenibile allo stato puro, salvo tracce di umidità che sono eliminate per riscaldamento a 105-110°C. La reazione fra anidride arseniosa e iodio ha carattere di reversibilità e perché decorra nel senso indicato è necessario neutralizzare lo ione idrogeno che si forma nel corso della reazione. L'alcali più adatto allo scopo è il bicarbonato di sodio in eccesso; il carbonato e l'idrato non possono essere impiegati perché provocano un'eccessiva alcalinità.

La presenza del bicarbonato in eccesso permette inoltre di tamponare la soluzione ad un pH vicino al punto neutro (fra 6 e 8) cioè nella zona optimum per la completa ossidazione dell'arsenico trivalente.

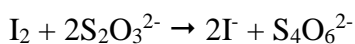
Si trasferisce in una beuta da 250 ml un campione esattamente pesato di As_2O_3 puro, e si scioglie agitando con 10-20 ml di NaOH M. La soluzione viene quindi leggermente acidificata con HCl 1-2 M fino a che la soluzione è acida al tornasole (o alla fenolftaleina). A tale scopo si introduce nel liquido un pezzetto di cartina al tornasole azzurra (o qualche goccia di fenolftaleina) e si aggiunge l'acido poco per volta fino a che la cartina si è colorata in rosa..

Aggiungere, quindi, 1 g di NaHCO_3 , diluire a 100 ml circa, aggiungere 2-3 ml di salda d'amido e titolare goccia a goccia con la soluzione di iodio da controllare fino a viraggio da incolore ad azzurro pallido.

Eseguire una titolazione in bianco.

Invece di pesare campioni separati di As_2O_3 si può preparare una soluzione a titolo noto di arsenito sodico. Si pesa e si trasferisce in un opportuno matraccio, una opportuna quantità esatta di As_2O_3 . L'anidride arseniosa è sciolta (o meglio trasformata in arsenito) aggiungendo 20 ml di soluzione di idrossido di sodio 1 N, la soluzione è successivamente neutralizzata alla feolftaleina (l'indicatore è aggiunto direttamente nel matraccio), dopo l'aggiunta di un po' di acqua, con H_2SO_4 o HCl M e quindi portata a volume. Una quantità esatta di tale soluzione è prelevata e posta in una beuta da 250ml dove è neutralizzata con 1g NaHCO_3 , dopo diluizione con acqua si procede alla titolazione come visto nel punto precedente.

- La *determinazione del titolo della soluzione di Iodio* con soluzioni a titolo noto di $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ avviene con la seguente stechiometria:



Si preleva un volume noto, con pipetta tarata, della soluzione di iodio da controllare, si diluisce con acqua a 100 ml e si riduce lo iodio con la soluzione di tiosolfato fino a colorazione giallo paglierino. Si aggiungono 2 ml di salda d'amido e si continua a titolare fino a completa decolorazione.

Determinazione dell'acqua col metodo di Karl Fischer (dosaggio diretto con iodio)

Il **metodo di Karl Fischer** è una tecnica analitica utilizzata per la misura di tracce di acqua in varie matrici, soprattutto solventi non acquosi e sali idrati.

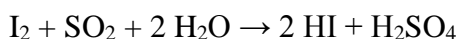
Il metodo è stato messo a punto da Karl Fischer, da cui ha preso il nome, e consiste in una titolazione con un reattivo (reattivo di Karl Fischer) costituito da una soluzione di :

- metanolo anidro o glicol dietilenico monometiletero
- piridina o imidazolo o dietanolammina
- iodio
- anidride solforosa

Il punto finale è generalmente rilevato automaticamente per via amperometrica (registrazione della variazione di conducibilità della soluzione dovuta alla variazione di concentrazione delle specie ioniche presenti che mostrano attività diverse) o fino a che nella soluzione non compare la colorazione dello iodio.

È un metodo molto sensibile, capace di rilevare tracce di acqua in un campione fino a poche parti per milione.

La procedura si basa sull'ossidazione dell'anidride solforosa ad opera dello iodio. Tale ossidazione avviene solo in presenza di acqua.



La titolazione viene condotta in un solvente anidro, generalmente metanolo (o glicol dietilenico monometiletero) , in presenza di una base capace di neutralizzare l'acido solforico prodotto dalla reazione e di creare una soluzione tampone che stabilizzi il pH su valori ottimali per lo svolgersi della reazione, compresi tra 5 e 7; inizialmente la base scelta fu la piridina, oggi sostituita dal meno tossico imidazolo o dalla dietanolammina.

La stechiometria esatta della reazione si compone essenzialmente di due passaggi, la reazione del metanolo con l'anidride solforosa a dare un monometil-solfito che viene successivamente ossidato dallo iodio (RN rappresenta una molecola di base generica)



Tra i vantaggi di questo metodo rispetto alla misurazione del contenuto di acqua per essiccamento del campione in stufa rientrano la rapidità - pochi minuti contro qualche ora - e la specificità - solo l'acqua reagisce, non gli altri composti volatili eventualmente presenti nel campione.

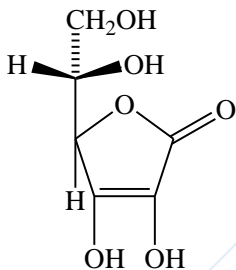
La determinazione viene condotta con il metodo amperometrico. L'apparecchiatura è costituita da una cella di titolazione, una buretta automatica con flussimetro e gli strumenti di misura. Tutte le singole parti contenenti il reattivo e la soluzione sono protette dall'umidità.

Si dà inizio alla titolazione facendo gocciolare il reattivo. L'alcool metilico anidro estrae l'acqua dalla sostanza e lo I ossida la SO₂ a SO₃. In queste condizioni lo I, si consuma istantaneamente e non si può costituire la coppia Redox I/I⁻, che darebbe luogo a passaggio di corrente. Quando tutta l'acqua della sostanza è stata consumata, rimarranno in soluzione I e I⁻ che costituiscono la coppia Redox, cui è dovuto il brusco innalzamento di corrente che si noterà al punto finale.

Esempi di determinazioni iodometriche da farmacoepa

ACIDO ASCORBICO

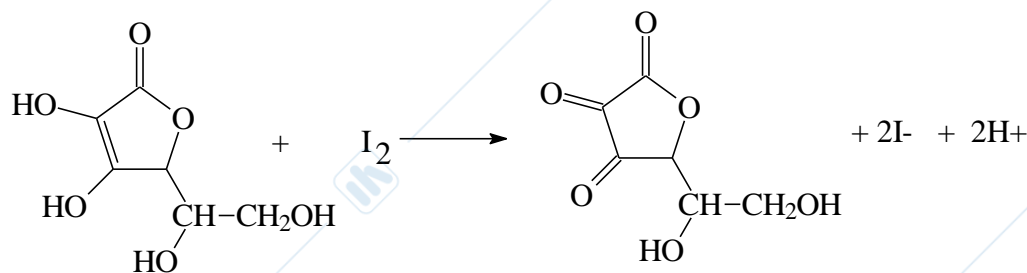
Acidum ascorbicum



$C_6H_8O_6$

Mr 176,1

0,150 g circa, esattamente pesati, si sciolgono in 80 ml di acqua esente da anidride carbonica e addizionata di 10 ml di *acido solforico diluito*. Si titola rapidamente con iodio 0,1 M, in presenza di 1 ml di amido soluzione fino ad ottenere una colorazione azzurra persistente. 1 ml di iodio 0,1 M corrisponde a 8,81 mg di acido ascorbico ($C_6H_8O_6$).

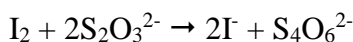


E necessario bollire l'acqua per eliminare l'ossigeno disciolto che potrebbe ossidare l'acido ascorbico.

Nel acido ascorbico viene ossidato il carbonio enolico (+1) a carbonio carbonilico (+2).

Metodi Indiretti: iodometria

Il largo impiego dei metodi indiretti è dovuto a due fattori fondamentali: la facilità con cui lo ioduro viene ossidato a iodio e alla reazione, rapida e quantitativa, fra lo iodio e il tiosolfato



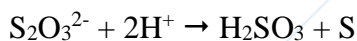
Vi sono due importanti probabilità di errore nella iodometria:

- 1) Perdita dello iodio durante la titolazione; questa perdita viene diminuita dalla presenza di un notevole eccesso di ioduro di potassio, che formando un complesso con lo iodio (I_3^-), riduce la tensione di vapore di questo.
- 2) In soluzione acida, I^- viene facilmente ossidato dallo ossigeno dell'aria; pertanto è consigliato, quando la reazione va condotta in ambiente acido, di eseguire la titolazione più rapidamente possibile ed eventualmente di ridurre l'acidità con la diluizione e con l'aggiunta di una spatolata di Na_2CO_3 il quale, oltre a ridurre ulteriormente l'acidità, provoca la formazione di uno strato di CO_2 sopra la soluzione impedendo il contatto di questa con l'ossigeno dell'aria.

Preparazione della soluzione di tiosolfato sodico ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ pe = pm = 248.2)

Le soluzioni titolate di tiosolfato sodico (di solito 0,1M) non si possono preparare per pesata diretta (ossia a titolo noto in partenza) perché il sale $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ nonostante sia facilmente ottenibile allo stato puro, presenta un contenuto variabile di acqua di cristallizzazione.

La preparazione di soluzioni titolate di tiosolfato è molto delicata. Se le soluzioni di tiosolfato sodico sono preparate con acqua deionizzata comune, sono poco stabili in quanto l'acidità dovuta all'anidride carbonica disciolta provoca la dismutazione del tiosolfato con formazione di solfito e solfo e la soluzione diviene opalescente.



Un'altra causa d'instabilità del titolo è dovuta all'azione di un solfo-batterio capace di provocare la decomposizione del tiosolfato con separazione di solfo, specie se le soluzioni vengono conservate per un lungo periodo.

Per questi motivi è opportuno sciogliere il tiosolfato in acqua deionizzata bollita di recente, e di aggiungervi circa 2-3 g di borace per litro, allo scopo d'impedire la decomposizione del tiosolfato, neutralizzando l'acidità dovuta alla presenza del CO_2 e sterilizzare la soluzione.

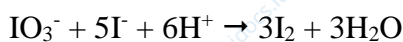
La soluzione così preparata può essere controllata subito per il titolo, ma è consigliabile attendere almeno due giorni, per essere sicuri che il titolo sia stabile.

Le soluzioni di tiosolfato devono essere conservate al riparo della luce che ne accelera la decomposizione.

Il controllo del titolo di una soluzione di tiosolfato può avvenire con pesata esatta di sostanza madre o attraverso una soluzione standard di un opportuno ossidante.

Le sostanze madri che possono essere usate allo scopo sono lo iodato di potassio (KIO_3), il bromato di potassio ($KBrO_3$) e anche bicromato di potassio ($K_2Cr_2O_7$).

Per la standardizzazione con iodato di potassio (KIO_3 (pe = pm / 6 = 35.67)) la reazione considerata è la seguente



Lo iodato di potassio è un'ottima sostanza madre ossidante: unica impurezza è la presenza di umidità che viene facilmente eliminata per essiccazione a 120°C.

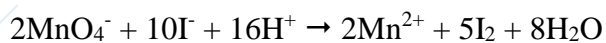
Si pesa esattamente la giusta quantità di KIO_3 , si scioglie in una beuta da 250 ml in 25 ml di acqua deionizzata fredda e bollita di recente, si aggiungono 2 g di KI (esente da iodato) e 5 ml di HCl 2M (la soluzione deve essere sufficientemente acida altrimenti la reazione è lenta).

La soluzione si colora immediatamente in bruno per la messa in libertà di iodio, il quale viene subito titolato a freddo con la soluzione 0.1M approssimata di tiosolfato. Durante la titolazione si agita continuamente il liquido. Quando il colore della soluzione da bruno si è fatto giallo paglierino, si aggiungono 2 ml di salda d'amido e si continua a titolare fino a che una goccia di tiosolfato decolora completamente la soluzione (da azzurra a incolore).

Invece di una pesata diretta di iodato di K, si può preparare una soluzione a titolo esatto (meglio con acqua precedentemente bollita) e successivamente prelevarne, nella beuta da 250 ml, una quantità esatta. Si procede poi alla titolazione come visto precedentemente.

Per la standardizzazione si possono usare *soluzione standard di ossidanti*, non sostanze madri, quali KMnO_4 e I_2

La reazione considerata, nel caso di uso di una *soluzione di permanganato*, è la seguente :

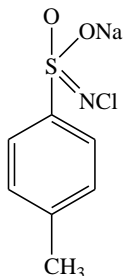


Si preleva in una beuta da 250 ml, una quantità esatta di permanganato con una concentrazione esatta (di solito si usa una concentrazione intorno a 0.02 M), si aggiunge 5 ml di H_2SO_4 M e 2g di ioduro di potassio, disciolto in 10 ml di acqua. Si procede con la titolazione con la soluzione a titolo approssimato di tiosolfato. L'aggiunta di tiosolfato procede fino a che la soluzione ha assunto un colore giallo paglierino; si aggiungono 2 ml di salda d'amido, e si continua la titolazione fino a che il liquido da azzurro è divenuto incolore.

Esempi di determinazioni iodometriche da farmacopea

CLORAMINA

Chloraminum



$C_7H_7ClNNaO_2S \cdot 3H_2O$

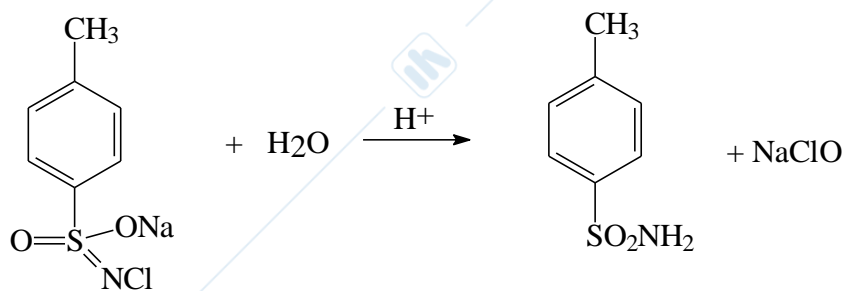
Mr 281,7

0,125 g circa, esattamente pesati, si sciolgono in 100 ml di *acqua*, in una beuta con tappo a smeriglio; si aggiungono 1 g di *potassio ioduro* e 5 ml di *acido solforico* e si lascia a riposo per 3 minuti.

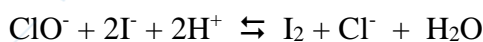
Si titola lo iodio liberato con *sodio tiosolfato 0,1 M*, in presenza di *amido soluzione*.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* corrisponde a 14,08 mg di cloramina ($C_7H_7ClNNaO_2S \cdot 3H_2O$)

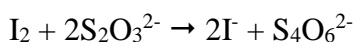
La cloramina in soluzione acquosa e in ambiente acido forma un derivato solfonamidico e ipoclorito.



L'ipoclorito è titolato iodometricamente in quanto è in grado di ossidare quantitativamente lo ioduro a iodio.



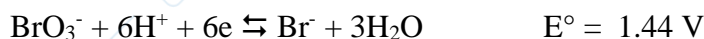
Lo iodio sviluppato è titolato da una soluzione a titolo esatto di tiosolfato :



BROMOMETRIA

Lo ione bromato è in soluzione acida un ossidante molto energetico: può dare luogo a due differenti prodotti di riduzione: Br^- o Br_2 .

Il potenziale del semielemento :



e quello del semielemento :



Lo ione bromuro è ossidato dal bromato liberando bromo secondo la seguente reazione:

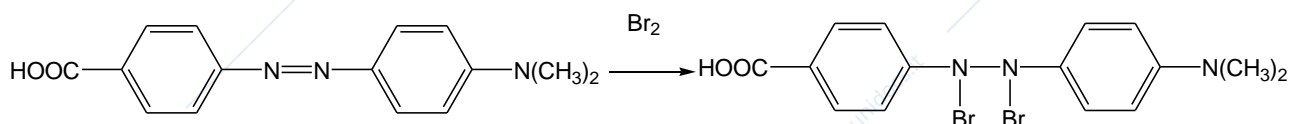


In base a questi valori si deduce che, se viene trattata con bromato in soluzione acida una sostanza, che sia un riducente più energetico di Br^- , non si ottiene Br_2 fino a che tutto il riducente non è stato ossidato perchè sarà il Br_2 a essere ridotto Br^- .

Il punto finale delle titolazioni bromometriche viene apprezzato mediante indicatori; questi possono essere di due tipi differenti: *indicatori irreversibili e reversibili*.

Appartengono alla prima classe il *metilarancio*, il *rosso metile*, il *carminio d'indaco*, la *crisoidina R*, il *blu-nero naftolo* ecc; questi, avendo dei gruppi azoici, vengono attaccati dal bromo libero che quindi “distrugge” il cromoforo (l'estensione dei doppi legami coniugati diminuisce) con conseguente decolorazione della soluzione.

Nel caso del rosso metile la reazione di bromurazione è la seguente:



La variazione di colore non è quindi reversibile e pertanto le titolazioni con KBrO_3 in presenza di indicatori irreversibili sono *titolazioni dirette*, e devono essere eseguite con molta lentezza specie in vicinanza del punto finale e sotto continua agitazione.

Tali indicatori possono essere impiegati per la titolazione di sostanze che sono riducenti più energici di Br^- , così che Br_2 si possa formare solo dopo il punto di equivalenza.

Sono indicatori reversibili, quelli la cui variazione cromatica è dovuta ad una variazione del potenziale: vengono impiegati a tal fine la p-etossicrisoidina, (rosso-incolore), la α -naftoflavone (giallo pallido-arancio bruno) ed il giallocholinina, (giallo-verde-incolore).

A causa della volatilità del bromo, queste ossido riduzioni devono essere eseguite in beuta chiusa e alla temperatura più bassa possibile.

In molti casi le titolazioni con bromo vengono eseguite *per ritorno*, ossia si tratta la sostanza riducente con un eccesso di soluzione titolata di bromo ($\text{KBrO}_3 + \text{KBr}$ in ambiente acido) e l'eccesso di bromo viene a sua volta titolato iodometricamente aggiungendo un eccesso di KI e dosando lo iodio messo in libertà con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 M.

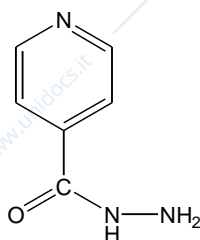
Preparazione della soluzione di KBrO_3

(pe = pm / 6 = 27.835)

Poiché il bromato di K è una sostanza madre, le relative soluzioni titolate sono preparate pesando una quantità nota di sale e portando al volume desiderato.

Esempi di determinazioni bromometriche da farmacoepa**ISONIAZIDE** (Bromometria diretta)

Isoniazidum

 $\text{C}_6\text{H}_7\text{N}_3\text{O}$

Mr 137,1

Disciogliere 0,250 g in acqua R e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Aggiungere a 20,0 ml della soluzione 100 ml di acqua R, 20 ml di acido cloridrico R, 0,2 g di potassio bromuro R e 0,05 ml di rosso metile soluzione R.

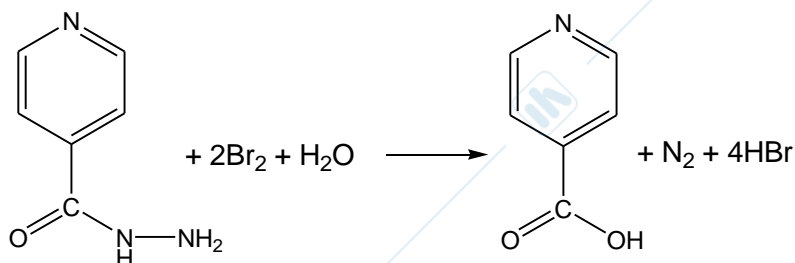
Titolare goccia a goccia con potassio bromato 0,0167 M, agitando continuamente, fino a scomparsa del colore rosso.

1 ml di potassio bromato 0,0167 M equivale a 3,429 mg di $\text{C}_6\text{H}_7\text{N}_3\text{O}$.

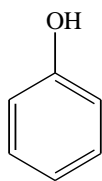
Il bromo è prodotto dalla ossidazione del bromuro ad opera del bromato :



Il bromo reagisce con l'isoniazide ossidando l'azoto idrazidico (-2) a azoto elementare (0).



FENOLO (Bromometria per ritorno(retrotitolazione))
Phenolum

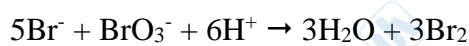


C₆H₆O

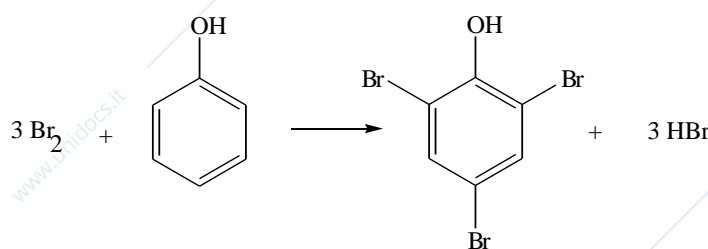
Mr 94,1

Disciogliere 2,000 g in acqua R e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Trasferire 25,0 ml della soluzione in una beuta con tappo a smeriglio e aggiungere 50,0 ml di bromuro-bromato 0,0167 M e 5 ml di acido cloridrico R. Tappare la beuta, lasciare a riposo agitando di tanto in tanto per 30 min e quindi lasciare a riposo per ulteriori 15 min. Aggiungere 5 ml di una soluzione (200 g/l) di potassio ioduro R, agitare e titolare con sodio tiosolfato 0,1 M fino ad ottenere un colore giallo pallido. Aggiungere 0,5 ml di amido soluzione R e 10 ml di cloroformio R e continuare la titolazione agitando energicamente. Effettuare una titolazione in bianco. 1 ml di bromuro-bromato 0,0167 M equivale a 1,569 mg di C₆H₆O.

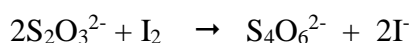
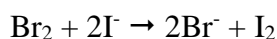
Il bromo è prodotto dalla reazione bromato – bromuro :



Il bromo esegue una sostituzione elettrofila sull'anello aromatico con formazione di acido bromidrico. Il C aromatico (-1) viene ossidato, legandosi con un Br, a +1, scambiando in totale 6 elettroni



Il bromo in eccesso è retrotitolato “iodometricamente” :



Terza parte : ANALISI QUANTITATIVA con metodi ottici

SPETTROFOTOMETRIA in ASSORBIMENTO

Si possono eseguire sia *analisi qualitative* che *analisi quantitative*.

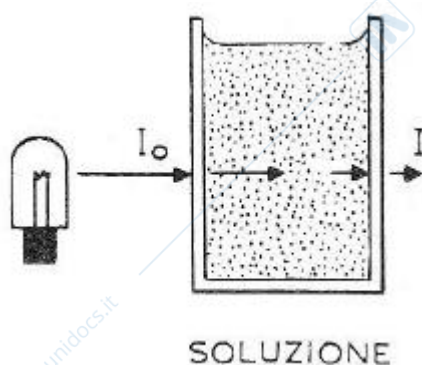
L'*analisi qualitativa* è fondata sulla proprietà delle sostanze di assorbire radiazioni che sono caratteristiche delle molecole assorbenti, e consiste nell'esaminare qualitativamente la composizione della luce che ha attraversato la sostanza ovvero determinare le lunghezze d'onda delle radiazioni trasmesse dalla sostanza in esame.

L'*analisi quantitativa* consiste invece nel sottoporre la sostanza in esame all'azione di radiazioni di appropriata lunghezza d'onda, scelte tra quelle che la sostanza è in grado di assorbire, misurando successivamente la percentuale di energia raggiante che la sostanza ha trasmesso. Questo, nel caso di soluzioni, è in relazione con la concentrazione della sostanza assorbente.

Leggi sull'assorbimento

Trasmittanza

Quando una radiazione luminosa incide su un mezzo trasparente, in parte viene riflessa, mentre in parte si rifrange nel mezzo. L'intensità di quest'ultima frazione diminuisce man mano che la radiazione si propaga, a causa dell'assorbimento molecolare.



Nella figura I_0 è l'intensità della luce incidente, ed infine I è quella della luce trasmessa. Il rapporto I/I_0 è definito come *trasmittanza* (T).

$$T = \frac{I}{I_0}$$

La trasmittanza è in relazione con la concentrazione del analita in soluzione.

È da notare che essendo certamente $I \leq I_0$, sarà anche $T \leq 1$, cioè la trasmittanza è espressa da un numero positivo minore di 1 e pertanto nell'uso comune viene espressa in percento.

Assorbanza

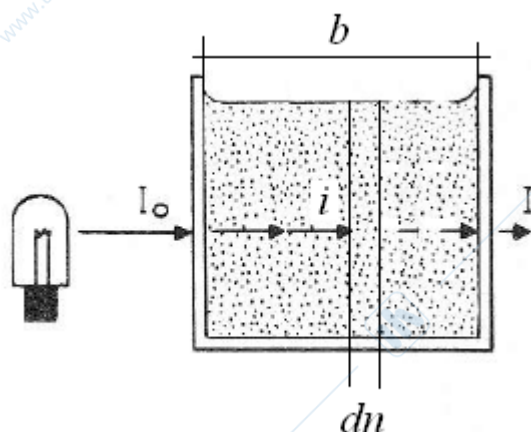
Il logaritmo decimale del reciproco della trasmittanza prende indifferentemente i nomi di *assorbanza*, *estinzione*, *densità ottica*:

$$A = \log \frac{1}{T} = \log \frac{I_0}{I}$$

Poiché T varia da 1 a 0, l'assorbanza può variare tra 0 e ∞ .

Legge di Lambert-Beer

È la legge fondamentale della spettrofotometria in assorbimento. Essa stabilisce una relazione fra l'estinzione e la concentrazione di una sostanza disciolta.



Sia I_0 l'intensità di un raggio luminoso incidente su una soluzione nella quale le molecole del soluto determinano l'assorbimento. Consideriamo un tratto di questa soluzione di spessore infinitesimo in cui si trovano dn molecole di sostanza disciolta. L'intensità della luce che giunge su questo tratto è ridotta ad i . Le dn molecole ne assorbiranno una piccolissima frazione $-di$ (il segno meno sta ad indicare che si ha una diminuzione di intensità luminosa). Il rapporto di/dn misura l'attitudine delle molecole ad assorbire l'energia raggiante. Questo assorbimento è di natura probabilistica ed è proporzionale al numero degli urti fra fotoni incidenti e molecole assorbenti. Pertanto sarà anche proporzionale all'intensità i della luce che incide sulle dn molecole.

Ovvero:

$$-\frac{di}{dn} = Ki$$

Separando le variabili si può eseguire l'integrazione, tenendo presente che al variare di n tra 0 ed N (indicando con N il numero totale di molecole interposte sul cammino dei raggi luminosi), i varia in corrispondenza fra I_0 ed I (intensità del raggio trasmesso):

$$\frac{di}{i} = -Kdn$$

$$\int_{I_0}^I \frac{di}{i} = -K \int_0^N dn$$

$$\ln \frac{I}{I_0} = -KN$$

In pratica il numero N è proporzionale alla concentrazione c e allo spessore b della soluzione attraversata dalla radiazione.

$$N = K'bc$$

Inglobando le costanti K e K' in un'unica costante a si ha:

$$\ln \frac{I}{I_0} = -abc$$

In forma esponenziale diventa:

$$\frac{I}{I_0} = e^{-abc}$$

Ovvero la trasmittanza T :

$$T = e^{-abc}$$

È questa una delle tante formulazioni matematiche della legge di Lambert-Beer. Dalla precedente formula, passando ai logaritmi decimali e ponendo $\varepsilon = a \log e$, avremo:

$$\log \frac{I}{I_0} = -\varepsilon bc$$

o anche:

$$\log \frac{I_0}{I} = \varepsilon bc$$

Per definizione $\log I_0/I$ è l'assorbanza A della soluzione, per cui:

$$A = \varepsilon bc$$

che è un'altra formulazione molto usata della legge di Lambert-Beer.

Se b e c sono uguali a 1, la costante ε è uguale all'assorbanza, pertanto la costante ε misura l'assorbimento di una soluzione di spessore e concentrazione unitari.

La costante ε è caratteristica di una data sostanza e dipende dalla lunghezza d'onda della radiazione, dal solvente e dalla temperatura. La costante ε è chiamata *coefficiente di assorbimento o assorbanza molare* se b è espresso in centimetri e c in moli per litro.

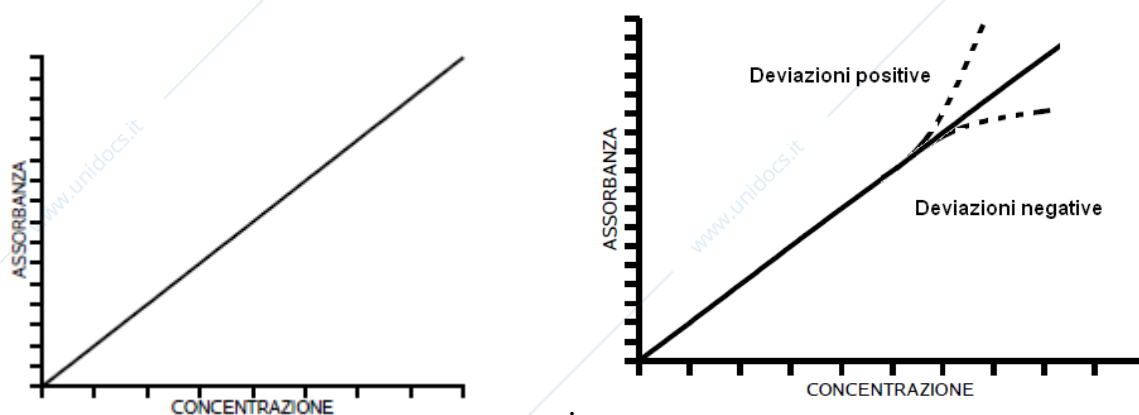
Nella Farmacopea Ufficiale è riportata anche l'espressione "*assorbanza specifica di una sostanza disciolta*" che si riferisce all'assorbanza di una soluzione avente la concentrazione di 10 g/l, in una cella di 1 cm e misurata ad una data lunghezza d'onda:

$$A_{1cm}^{1\%} = \frac{10 \cdot \epsilon}{PM}$$

Scostamenti dalla legge di Lambert-Beer

La legge di Lambert-Beer stabilisce dunque una proporzionalità diretta fra assorbanza e concentrazione di una sostanza disciolta.

La legge di Lambert-Beer è rappresentata dall'equazione di una retta che passa dall'origine.



In particolari condizioni si possono avere notevoli deviazioni dalla linearità.

- *Concentrazione delle soluzioni.* La legge di Lambert-Beer è una legge limite, verificata perfettamente solo a basse concentrazioni (< 0.01 M) dove esiste una proporzionalità diretta tra assorbanza e concentrazione.

La legge è strettamente applicabile a soluzioni in cui le interazioni tra i soluti siano minime.

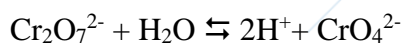
Infatti, all'aumentare della concentrazione aumenta anche il numero di urti fra le molecole o ioni del soluto e questo può portare alla formazione di aggregati di particelle. In queste condizioni le conformazioni delle molecole possono modificarsi con conseguente variazione della natura della radiazione assorbita (spostamento del massimo di assorbimento).

E' da ricordare anche che all'aumentare della concentrazione si ha un *aumento dell'indice di rifrazione* e quindi una maggior dispersione del raggio nell'attraversare la soluzione stessa.

Quindi, un aumento di concentrazione comporta, comunque, sempre uno scostamento dalla linearità. Le condizioni di lavoro usuali prevedono che le soluzioni siano sempre diluite al massimo, compatibilmente con la sensibilità dello strumento, per avere di valori accettabili di assorbanza.

- *Effetti chimici.* Ad esempio, variazioni di pH possono provocare deviazioni alla linearità. Questo si verifica quando il pH influenza l'equilibrio di due specie che assorbono la stessa radiazione (stessa lunghezza d'onda) ma con diverso ϵ .

Nel caso dell'equilibrio degli ioni cromato e bicromato la variazione di ϵ è dovuta anche ad una variazione del massimo di assorbimento.



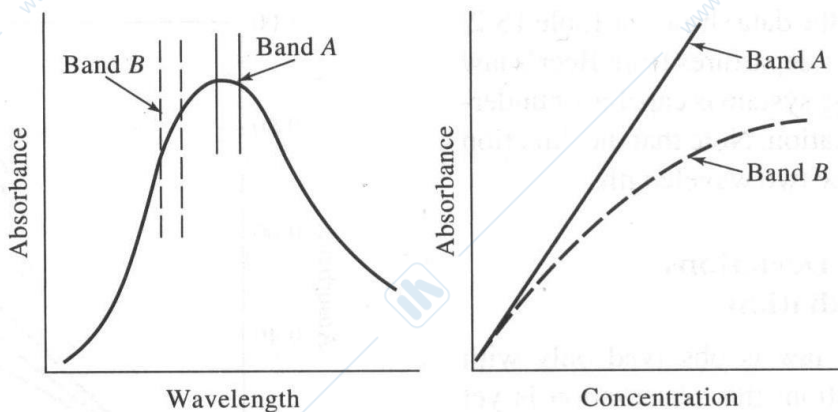
La forma gialla CrO_4^{2-} assorbe a 375 nm, la forma $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ (rossa-arancio) presenta due massimi di assorbimento a 350 e 450 nm.

Supponendo di avere effettuato una misura ad un certo pH a 350 o 450 nm, dopo aver diluito di 10 volte si può verificare che l'assorbanza non risulta 10 volte inferiore al valore iniziale ma mostra un valore ancora più basso. Questo fenomeno è dovuto alla modifica del pH per diluizione. L'assorbanza di $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ si abbassa dato che la sua concentrazione diminuisce sia per azione diretta della diluizione che per effetto dell'equilibrio, infatti una diminuzione della concentrazione di H^+ dovuta alla diluizione, sposta l'equilibrio verso la formazione della specie CrO_4^{2-} .

- *Radiazione monocromatica.* La proporzionalità che la legge di Lambert-Beer stabilisce fra c ed A sussiste solo se si opera con luce monocromatica.

In realtà le radiazioni impiegate non sono mai rigorosamente monocromatiche a causa, soprattutto, di difficoltà strumentali. E' comunque sufficiente, per ottenere risultati corretti, che la banda continua di radiazioni (banda strumentale), centrata attorno ad un valore nominale, sia la più ristretta possibile.

Deviazioni significative si hanno soltanto quando la radiazione usata comprende una regione dello spettro in cui ci sono grandi variazioni di assorbanza in funzione della lunghezza d'onda della radiazione.



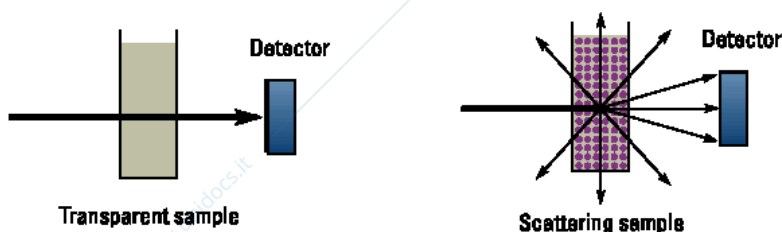
- *Luce diffusa dovuta a cause strumentali.* La luce diffusa sommandosi alla radiazione monocromatica in uscita dalla fenditura attraversa il campione e ne altera l'assorbanza, soprattutto se il campione è molto concentrato.

La luce diffusa è dovuta a radiazioni diverse da quelle provenienti dalla sorgente luminosa per diffusione da parte dei componenti e della parete dello spettrofotometro. Può provenire sia dall'interno che anche dall'esterno dello spettrofotometro determinando una falsa lettura di bassa assorbanza per un campione in quanto fa apparire che il campione assorbe meno luce di quanta ne assorbe in realtà.

La curva assorbanza/concentrazione assume pendenza negativa.

Per essere trascurabile la luce diffusa deve essere $< 0.01\%$.

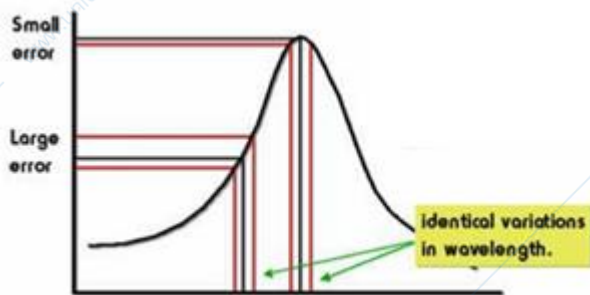
- *Torbidità della soluzione.* Deviazioni sono dovute anche alla presenza di torbidità nella soluzione. In questo caso una parte della radiazione incidente viene deviata (scattering).



L'analisi quantitativa nella spettrofotometria in assorbimento

Scelta della lunghezza d'onda

Nell'analisi in assorbimento, le determinazioni quantitative devono essere effettuate ad una lunghezza d'onda appropriata, che si sceglie in relazione alla sostanza da determinarsi. Questa lunghezza d'onda corrisponde quasi sempre al massimo di assorbimento della sostanza, in modo da aumentare la percentuale delle radiazioni assorbite e di conseguenza la sensibilità della determinazione. Inoltre per una variazione della lunghezza d'onda rispetto al valore nominale (in caso di spettrofotometri non particolarmente efficienti) e in caso di bande strumentali non sufficientemente strette, comporta minori variazioni di assorbanza.



La lunghezza d'onda corrispondente al massimo d'assorbimento è determinata previa registrazione di uno spettro di assorbimento. Lo spettro di assorbimento per una sostanza è rappresentato da un grafico che mette in relazione l'assorbanza in funzione della lunghezza d'onda della radiazione.

Metodi per la determinazione della concentrazione

- Misura diretta dell'assorbanza

La misura diretta dell'assorbanza è usata nella per ricavare la concentrazione di una soluzione, quando è noto il coefficiente di assorbimento ϵ .

In questo caso alla assorbanza A_x corrisponderà una concentrazione dell'analita c_x secondo l'equazione:

$$c_x = \frac{A_x}{\epsilon b}$$

Qualora il coefficiente di assorbimento ϵ non sia noto è necessario preparare una soluzione a titolo noto (soluzione standard) dell'analita. Confrontando l'assorbanza A_0 ottenuta con la soluzione standard di concentrazione c_0 con l'assorbanza della soluzione a concentrazione incognita dell'analita A_x si può determinare la concentrazione dell'analita c_x .

$$\frac{A_x}{A_0} = \frac{c_x}{c_0}$$

In questi casi è molto importante che la concentrazione della soluzione standard sia molto vicina alla concentrazione della soluzione incognita e che la matrice (presenza nella soluzione di altri componenti oltre all'analita) sia la stessa.

- Metodo della curva (o retta) di taratura o di lavoro

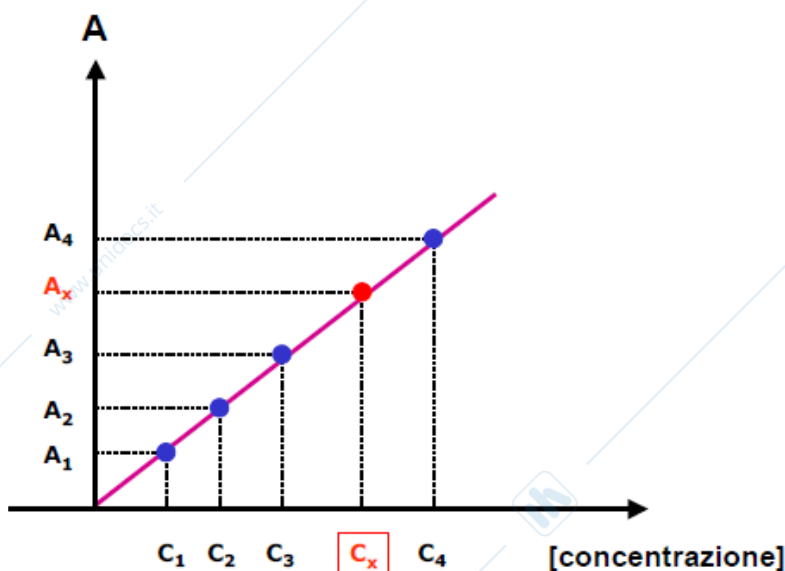
Le sostanze in soluzione seguono la legge di Lambert-Beer ma spesso non si può essere certi delle condizioni di proporzionalità diretta (linearità) tra assorbanza e concentrazione.

Si preparano quindi un certo numero di soluzioni contenenti la sostanza in esame a concentrazioni diverse e note e si misura la loro assorbanza.

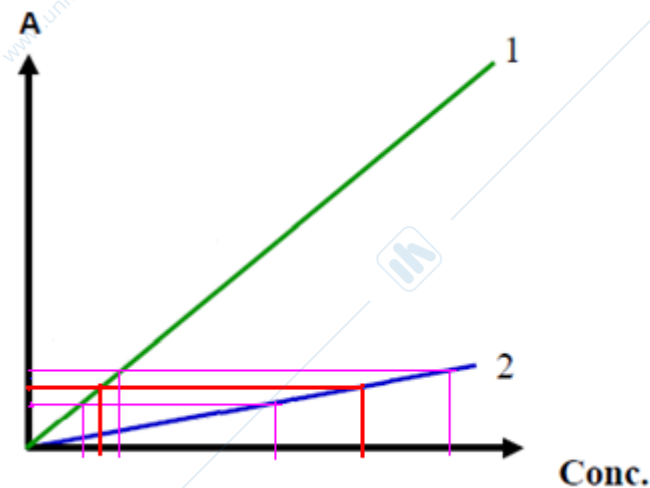
Si avranno quindi una serie di valori di concentrazione ($C_1, C_2, C_3, C_4, \dots$) associati ai rispettivi valori di assorbanza ($A_1, A_2, A_3, A_4, \dots$); riportando questi valori in un grafico cartesiano si ottiene la *curva (o retta) di lavoro*.

In pratica:

- 1) si preparano vari campioni contenenti *quantità note* (C_i) di analita (campioni *standard*) nella stessa *matrice* del campione incognito o in una matrice equivalente (variazioni nella composizione della matrice possono portare a inaccuratezza nella misura sperimentale).
- 2) Si sottopone ciascuno *standard* alla misura della assorbanza (A_i)
- 3) Si riportano in grafico i punti sperimentali (C_i, A_i).
- 4) Si applica un metodo statistico (*regressione lineare - metodo dei minimi quadrati*) per determinare la curva che meglio si adatta ai punti sperimentali (*fitting*).
- 5) Si sottopone il campione incognito alla misura dell'assorbanza A_x .
- 6) Si esegue una *interpolazione* sulla curva di taratura per calcolare il valore di della concentrazione incognita C_x , che corrisponde all'assorbanza A_x .



La pendenza ideale della retta di taratura non deve discostarsi troppo da 45° . Nel caso delle due curve riportate nel grafico seguente, la retta 1 è più "sensibile" della curva 2 a pendenza minore. Infatti a parità di valori di concentrazione, la differenza di assorbanza misurata è maggiore nel caso della retta 1. Inoltre a parità di valori di errore sulla assorbanza, derivano errori sulla concentrazione minori nel caso della retta 1.



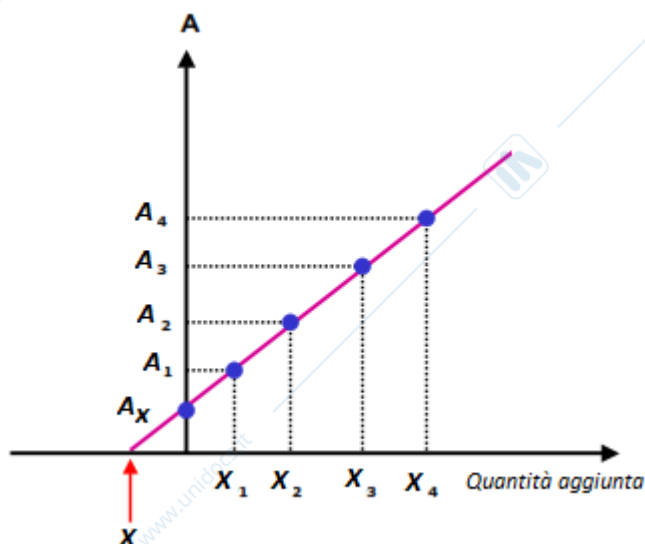
Per poter applicare il metodo della curva di taratura è necessario scegliere i valori delle concentrazioni delle soluzioni a titolo noto in un intervallo che comprenda il valore della/e concentrazioni delle soluzioni da analizzare.

- Metodo delle aggiunte

Questo metodo presenta il vantaggio di poter eseguire una determinazione senza conoscere la natura della matrice nel quale è disciolto l'analita.

Si opera come segue:

- 1) Si preparano n aliquote uguali dello stesso campione incognito.
- 2) Alle aliquote dalla 2 alla n si aggiungono quantità note di analita puro, mentre non si fa alcuna aggiunta all'aliquota 1 (campione tal quale).
- 3) Si portano tutte le aliquote allo stesso volume. Il volume può essere uguale a quello iniziale se le aggiunte sono state tali da non modificare significativamente il volume delle aliquote. Si ottengono così n standard caratterizzati da una certa *quantità aggiunta* x_i .
- 4) Si sottopone ciascuno *standard* alla determinazione dell'assorbanza. Per lo standard i -esimo si rileverà una assorbanza A_i .
- 5) Si riportano in grafico i punti sperimentali (x_i, A_i)
- 6) Si applica un metodo statistico (*regressione lineare – metodo dei minimi quadrati*) per determinare la retta che meglio si adatta ai punti sperimentali.
- 7) Si esegue una *estrapolazione* della retta in modo da determinare *l'intercetta sulle ascisse*. Si ottiene così il valore incognito x .



Per calcolare il valore delle ascisse nel punto di intercetta con la retta è necessario porre a 0 il valore dell'ordinata :

$$y = mx + b \quad 0 = mx + b \quad x = -b / m$$

Per poter applicare il metodo delle aggiunte è necessario lavorare all'interno dell'intervallo lineare.

Additività delle assorbanze e determinazione quantitativa di due o più sostanze in soluzione

In una soluzione di due o più sostanze che abbiano la proprietà di assorbire radiazioni aventi una data lunghezza d'onda λ_0 , l'assorbanza di questa soluzione alla lunghezza d'onda λ_0 è data dalla somma delle assorbanze parziali dovute a ciascun componente.

In sostanza, le assorbanze godono di proprietà additive.

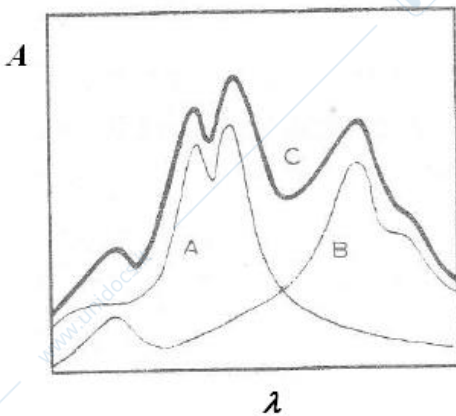
Indicando con A_i l'assorbanza prodotta dalla i -esima sostanza, in base alla abbiamo:

$$A_i = \varepsilon_i b c_i$$

per cui l'assorbanza totale A sarà data dalla relazione:

$$A = \sum_i A_i = b \sum_i \varepsilon_i c_i$$

Nella figura seguente sono riportate le curve di assorbimento relative a due soluzioni di sostanze diverse A e B. Sommando punto per punto queste due curve, se ne ottiene una terza (indicata con lettera C la quale rappresenta l'assorbimento di una soluzione comune di A e di B.



Nel caso di due sostanze, X e Y ad una lunghezza d'onda:

$$A = A_x + A_y = b(\varepsilon_x c_x + \varepsilon_y c_y)$$

Se le due sostanze assorbono alle lunghezze d'onda λ' e λ'' con una assorbanza rispettivamente A' e A'' , si ha:

$$\begin{cases} A' = b(\varepsilon'_x c_x + \varepsilon'_y c_y) \\ A'' = b(\varepsilon''_x c_x + \varepsilon''_y c_y) \end{cases}$$

Con ε'_x , ε''_x e ε'_y , ε''_y si identificano i coefficienti di assorbimento della sostanze x e y alle λ' e λ'' rispettivamente.

Risolviendo il sistema rispetto a c_x e c_y si trova:

$$c_x = \frac{A' \varepsilon''_y - A'' \varepsilon'_y}{\varepsilon''_y \varepsilon'_x - \varepsilon'_x \varepsilon''_y} \cdot \frac{1}{b}$$

$$c_y = \frac{A'' \varepsilon'_x - A' \varepsilon''_x}{\varepsilon''_y \varepsilon'_x - \varepsilon'_x \varepsilon''_y} \cdot \frac{1}{b}$$

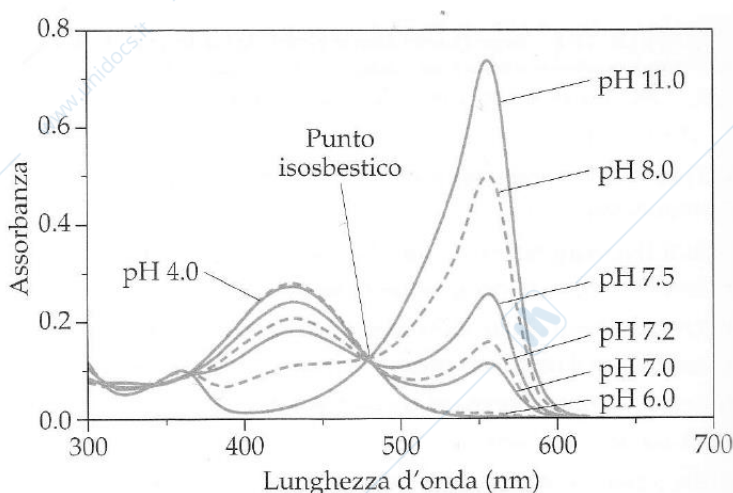
Per una determinazione accurata delle concentrazioni dei due componenti è necessario che i rapporti:

$$\frac{A'/A''}{\varepsilon''_x/\varepsilon'_x} \text{ e } \frac{\varepsilon''_y/\varepsilon'_y}{A''/A'}$$

siano inferiori a 0.1 oppure superiori a 2.0.

Questo criterio è soddisfatto quando le λ' e λ'' di assorbimento dei due componenti sono sufficientemente distanti e quando i due componenti non interagiscono chimicamente.

Nel caso in cui si debba determinare la concentrazione di due specie che interagiscono chimicamente come nel caso di un indicatore acido-base non è possibile utilizzare una lunghezza d'onda in corrispondenza della quale si intersecano gli spettri di assorbimento delle due forme. Tale punto di intersezione tra gli spettri di due specie assorbenti in equilibrio tra di loro prende il nome di *punto isosbastico* (vedi figura) e rappresenta il punto in cui queste due specie hanno un identico coefficiente di assorbimento molare. La lunghezza d'onda al punto isosbastico, al contrario, può tornare utile se si vuole determinare la concentrazione totale delle due specie oppure se si vuole lavorare ad una lunghezza d'onda alla quale non si verificano cambiamenti della misura di assorbanza a causa della variazione del rapporto tra le due specie.



Variazione dello spettro di assorbimento del rosso fenolo in funzione del pH (posizione del punto isosbastico a 480 nm).

L'esistenza di un punto isosbastico quando si varia un parametro come il pH, il potenziale di ossido-riduzione o la concentrazione di un ligando, indica la transizione 1:1 tra due specie.

Validazione dei metodi spettrofotometrici

Le metodologie seguite per definire *accuratezza*, *precisione*, *limiti di rilevazione (limits of detection LOD)*, *limiti di quantificazione (limits of quantitation LOQ)*, *linearità*, *Intervallo di applicabilità della procedura analitica e robustezza* sono tratte dalle linee-guida del ICH (*International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH Harmonisation Tripartite Guideline, Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R 1), Complementary Guideline on Methodology dated 06 November 1996, incorporated in November 2005, London*).

Accuratezza

L'accuratezza di una procedura analitica esprime il grado di concordanza tra il valore reale o un valore accettato (valore di riferimento) e il valore trovato.

L'accuratezza dovrebbe essere stabilita su l'insieme del procedimento analitico.

Sono applicabili diversi metodi :

- preparare campioni contenenti quantità esatte di analita di purezza nota
- preparare miscele sintetiche del campione contenenti l'analita e matrice.
- aggiungere quantità note dell'analita al campione, nei casi in cui è impossibile ottenere miscele di tutti i componenti della matrice.
- confrontare i risultati ottenuti con la procedura analitica proposta con quelli di una seconda procedura di cui è conosciuta l'esattezza.
- desumere dalla precisione e linearità.

Precisione

La precisione di una procedura analitica esprime il grado di concordanza tra una serie di misurazioni ottenute da un campionamento multiplo. La precisione di una procedura analitica è generalmente espressa come la varianza, deviazione standard o coefficiente di variazione di una serie di misurazioni.

Dovrebbe essere valutata utilizzando:

- a) un minimo di 9 determinazioni all'interno dell'intervallo specificato per la procedura (ad esempio, 3 concentrazioni replicate 3 volte ciascuna)
- b) un minimo di sei determinazioni al 100% della concentrazione standard.

Per valutare la precisione devono essere calcolati la deviazione standard, la deviazione standard relativa (coefficiente di variazione) e l'intervallo di confidenza.

Limite di rilevazione

Il limite di rilevazione di una procedura di analisi rappresenta la più bassa quantità di analita in un campione che può essere rilevato ma non necessariamente quantificata come valore esatto.

Sono possibili diversi approcci per determinare il limite di rilevazione:

- valutazione visiva

Il limite è determinato mediante l'analisi di campioni con concentrazioni di analita note per stabilire la quantità minima rilevabile.

- rapporto segnale-rumore

Questo approccio può essere applicato solo a procedure analitiche che presentano rumore sulla linea di base.

La determinazione del rapporto segnale-rumore viene eseguita confrontando valori dei segnali ottenuti da campioni con basse concentrazioni di analita con quelli ottenuti con il bianco (solo solvente).

Un rapporto segnale-rumore di 3 o 2:1 è generalmente considerato accettabile come stima per il limite di rilevazione.

- rapporto tra deviazione standard della risposta e pendenza della curva di taratura
Il limite di rivelazione (*detection limit DL*) può essere espresso come:

$$DL = 3,3 \sigma / S$$

dove σ = la deviazione standard della risposta

S = la pendenza della curva di taratura

La pendenza S può essere stimata dalla curva di taratura dell'analita.

La stima di σ può essere effettuata in vari modi, ad esempio:

- in base alla deviazione standard del bianco ottenuta attraverso una serie di misure (del rumore di fondo)
- si può usare la deviazione standard dei residui della curva di taratura o la deviazione standard della intercetta sull'asse y.

In una validazione analitica deve essere riportata la valutazione del limite di rivelazione.

Limite di quantificazione

Il limite di quantificazione di una procedura di analisi è la più bassa quantità di analita in un campione che può essere determinata quantitativamente con precisione e accuratezza.

Anche in questo caso sono possibili diversi approcci per valutare il limite di quantificazione:

- valutazione visiva

Il limite è generalmente determinato dalla analisi di campioni con concentrazioni note di analita e per identificare la quantità minima determinabile con accuratezza e precisione accettabile.

- rapporto segnale-rumore

La determinazione del rapporto segnale-rumore viene eseguita confrontando valori dei segnali ottenuti da campioni con basse concentrazioni di analita con quelli ottenuti con il bianco (solo solvente).

Un rapporto segnale-rumore di 10:1 è generalmente considerato accettabile come stima per il limite di quantificazione.

- rapporto tra deviazione standard della risposta e pendenza della curva di taratura

Il limite di quantificazione (*quantitation limit QL*) può essere espresso come:

$$QL = 10 \sigma / S$$

dove σ = la deviazione standard della risposta

S = la pendenza della curva di taratura

La pendenza S può essere stimata dalla curva di taratura dell'analita.

La stima di σ può essere effettuata in vari modi, ad esempio:

- in base alla deviazione standard del bianco ottenuta attraverso una serie di misure (del rumore di fondo)
- si può usare la deviazione standard dei residui della curva di taratura o la deviazione standard della intercetta sull'asse y.

In una validazione analitica deve essere riportata la valutazione del limite di quantificazione.

Linearità

La linearità di una procedura analitica è la sua capacità (in un dato intervallo) di ottenere risultati direttamente proporzionali alla concentrazione (quantità) di analita nel campione.

La linearità dovrebbe essere valutata su tutto l'intervallo di determinazione quantitativa della concentrazione dell'analita.

La relazione lineare (curva di taratura) deve essere valutata con metodi statistici appropriati mediante calcolo di una retta di regressione con il metodo dei minimi quadrati.

Per validare la determinazione analitica occorre presentare i dati relativi alla curva di taratura ovvero il coefficiente di correlazione, l'intercetta y, la pendenza della retta di regressione e somma dei quadrati dei residui.

Intervallo di applicabilità della procedura analitica

È l'intervallo tra la parte superiore e inferiore di concentrazione (quantità) di analita nel campione per il quale è stato dimostrato che la procedura analitica ha un livello adeguato di precisione, accuratezza e linearità.

L'intervallo è normalmente definito da studi di linearità

Si è stabilito che la procedura analitica fornisce un grado accettabile di linearità, precisione e accuratezza quando è applicata a campioni contenenti quantità di analita all'interno o alle estremità del intervallo specificato della procedura stessa.

Per il dosaggio di un farmaco o una sostanza, l'intervallo minimo di linearità deve normalmente essere compreso tra 80 e il 120% della concentrazione della soluzione standard.

Robustezza

La robustezza di una procedura analitica è una misura della sua capacità di rimanere influenzata da piccole variazioni di parametri e metodologie. Fornisce una indicazione della sua affidabilità.

La valutazione della robustezza deve essere valutata durante la fase di sviluppo del metodo analitico e dipende dal tipo di procedura in studio e dovrebbe mostrare l'affidabilità di un'analisi rispetto alle variazioni deliberate di alcuni parametri.

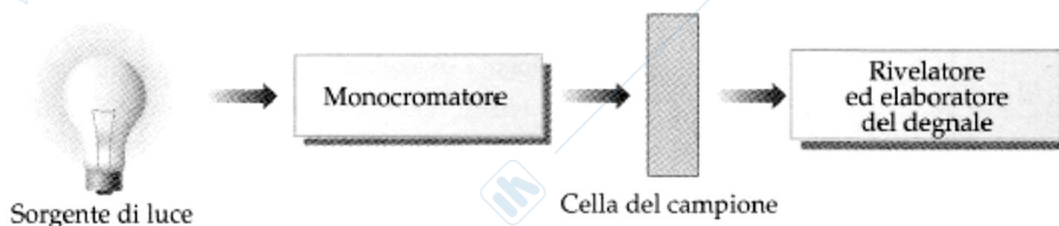
Se i risultati sono suscettibili alle variazioni delle condizioni analitiche (stabilità delle soluzioni, tempi di estrazione ...), tali condizioni devono essere opportunamente controllata o un consiglio di prudenza dovrebbe essere incluso nella procedura.

SPETTROFOTOMETRIA in ASSORBIMENTO molecolare (UV-Vis)

Lo strumento

Gli spettrofotometri risultano composti dalle seguenti parti:

- 1) *Sorgenti* di energia raggianti, la cui funzione è quella di fornire uno spettro continuo di radiazioni.
- 2) *Monocromatori*, che permettono di selezionare la lunghezza d'onda più opportuna per l'analisi.
- 3) *Celle* contenenti le soluzioni in esame e quelle di riferimento.
- 4) *Rivelatori*, ovvero dispositivi fotosensibili, atti a fornire una misura oggettiva della luce ricevuta.



Sorgenti

Il campo d'uso dalla maggior parte degli spettrofotometri per visibile ed ultravioletto si estende da circa 180 a 200 nm (che rappresenta approssimativamente il limite al di sotto del quale l'aria assorbe le radiazioni rendendo impossibili le misure), fino al rosso o vicino infrarosso (800 - 1000 nm). Non è possibile abbracciare un campo così vasto, disponendo di una sola sorgente, senza compromettere la qualità dei risultati. Questi strumenti pertanto sono quasi sempre corredate

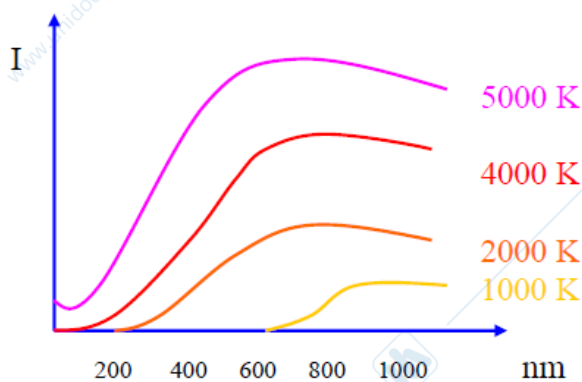
da due sorgenti facilmente intercambiabili tra loro, ciascuna delle quali opera in un campo spettrale definito. In genere si ha una lampada ad incandescenza che viene usata per determinazioni nel visibile, mentre nell'ultravioletto si usano soprattutto le lampade a deuterio.

Nella regione del visibile una sorgente di largo impiego è quella costituita da una lampada a filamento di tungsteno. La radiazione emessa è il risultato dell'alta temperatura a cui è sottoposto il materiale del filamento solido. Queste sorgenti forniscono una radiazione continua da circa 320 ÷ 3000 nm, la maggior parte della quale nel visibile e soprattutto nel vicino infrarosso.

L'intensità della radiazione emessa e la sua composizione spettrale (vedi figura), sono in stretta relazione con la temperatura del filamento, la quale a sua volta è in relazione alla tensione applicata. Tra tensione applicata (V) e intensità di radiazioni emesse (I) sussiste la relazione:

$$I = KV^n$$

Dove n , per le lampade a tungsteno varia da 3 a 4



Aumentando la temperatura, la λ di intensità massima si sposta verso valori più bassi; alla temperatura usuale di funzionamento di circa 3000 K, solo il 15% dell'energia radiante totale cade nel visibile.

La vita media di una lampada a tungsteno aumenta notevolmente in presenza di I_2 o di Br_2 , a bassa pressione, all'interno della lampada (quarzo – alogeno).

Nella regione dell'UV si utilizzano lampade a deuterio; si tratta di lampade ad arco, in cui il bulbo di quarzo è riempito di gas deuterio il quale, eccitato dalle scariche elettriche, emette uno spettro continuo di radiazioni al di sotto dei 400 nm.

Per particolari impieghi vengono utilizzate come sorgenti lampade a vapori di Hg o di Cd; queste sorgenti emettono spettri a righe.

Monocromatori

Sono sistemi dispersivi che hanno il compito di isolare radiazioni il più possibile monocromatiche (unica lunghezza d'onda) necessarie per il processo analitico. La precisione di una analisi dipende dalla monocromaticità della radiazione che incide sul campione.

La qualità di un sistema dispersivo è definita dal potere risolvete che rappresenta la differenza di λ tra due radiazioni che sono separate di 1 mm sul piano della fenditura in uscita.

Un altro parametro importante è l'ampiezza della banda passante, definita come l'ampiezza effettiva della banda, cioè l'intervallo di λ della banda di radiazioni che emergono con energia pari o superiore al 50% dell'energia della radiazione nominale, si misura in nm.

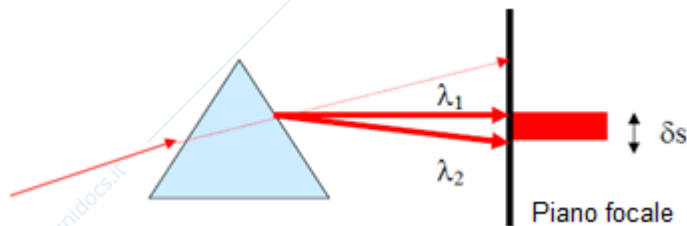
Monocromatori a prisma.

Questi monocromatori utilizzano come mezzo dispersivo un prisma di vetro o di quarzo. È noto che un raggio luminoso incidente su un prisma subisce per effetto della *rifrazione*, una deviazione che è

funzione dell'angolo d'incidenza i , dell'angolo del prisma A e dell'indice di rifrazione n del prisma. Poiché l'indice di rifrazione è a sua volta funzione della lunghezza d'onda della luce incidente, ne segue che, a parità di altre condizioni, le varie radiazioni risultano diversamente deviate (*dispersione*).

La dispersione del prisma presenta la caratteristica di non essere costante in funzione di λ , ma è inversamente proporzionale alla λ .

In altre parole, a parità di differenza di lunghezza d'onda, due radiazioni rosse sono meno separate angularmente di due radiazioni violette.



Si definisce *dispersione lineare reciproca (DLR)*, il rapporto tra intervallo di radiazioni (intervallo di lunghezze d'onda) e risultante dispersione sul piano focale. DLR è espressa in nm/mm .

$$DLR = \delta\lambda/\delta s$$

Le radiazioni rosse presentano una DLR grande, cioè per ogni mm si avranno bande ampie con conseguente bassa risoluzione.

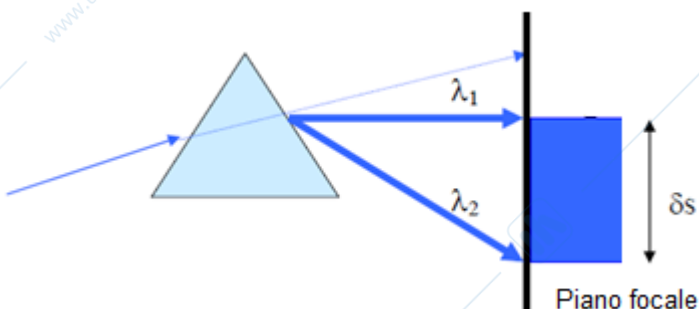
Se DLR è 5 nm/mm significa che in ogni millimetro del piano focale si avranno bande da 5 nm.

Se cioè la fenditura è larga 1 mm, usciranno bande da 5 nm, se si restringe la fenditura a 0,5 mm, usciranno bande da 2,5 nm:

Quindi per avere radiazioni il più possibile monocromatiche (alta risoluzione) si dovrebbe restringere la fenditura fino a larghezze infinitesime; ma restringere la fenditura significa aver minor energia e maggior rumore di fondo per alta amplificazione.

Al contrario, per il violetto aumenta la dispersione e di conseguenza la purezza della luce ottenibile.

Per le radiazioni violette presentano una DLR piccola, cioè per ogni mm si avranno bande piccole.

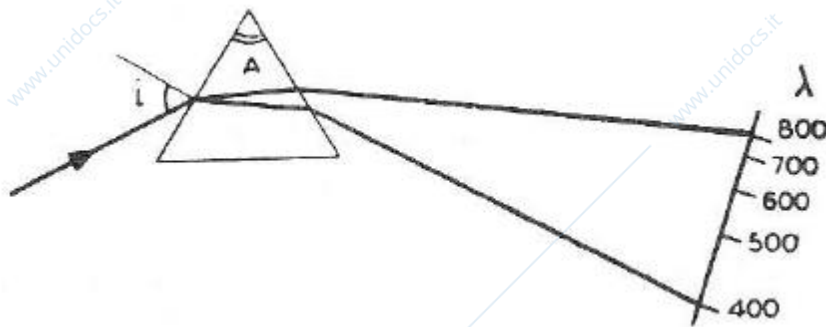


Se $DLR = 1 \text{ nm/mm}$ significa che in ogni millimetro del piano focale si avranno bande da 1 nm, se si apre la fenditura a 2 mm, usciranno bande da 2 nm.

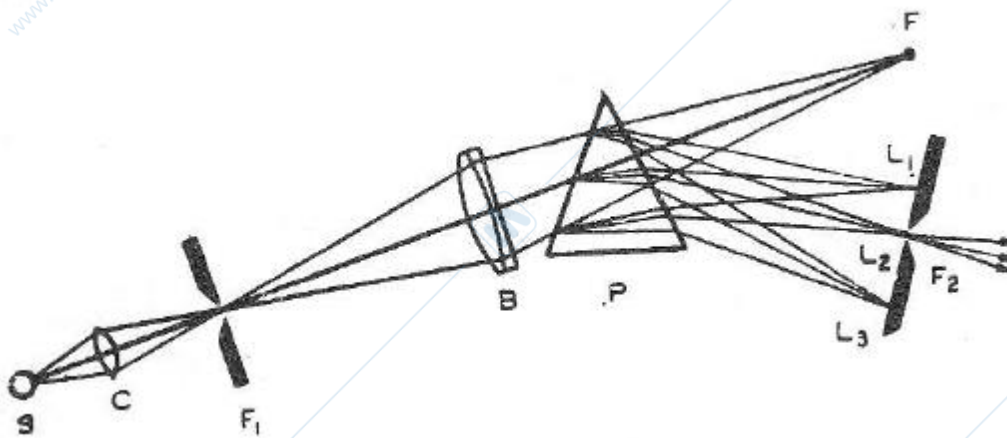
La dimensione della fenditura determina la dispersione sul piano focale ed è direttamente proporzionale alla ampiezza della banda, all'energia trasmessa e inversamente proporzionale alla risoluzione e al rumore di fondo (dovuto all'amplificazione).



Pertanto lo spettro che ne risulta non è lineare in funzione di λ , come schematizzato nella figura seguente.



Lo schema tipo di questi monocromatori è rappresentato nella figura seguente. La luce emessa dalla sorgente S viene convogliata dal condensatore C sulla fenditura primaria F_1 . L'obiettivo acromatico B tenderebbe a produrre un'immagine di questa fenditura sul piano focale di B in F , ma la presenza del prisma fa sì che l'immagine si formi più in basso. Se la sorgente S emette luce policromatica si formeranno sul piano focale di B tante immagini della fenditura primaria L_1, L_2, L_3, L_n quante sono le λ presenti nella luce emessa da S in particolare, se sul prisma incide luce bianca, si otterrà sul piano focale uno spettro continuo. Ponendo in questo piano la fenditura secondaria F_2 , potremo raccogliere, di là, da questa, luce quasi monocromatica; inoltre, spostando F_2 , lungo il piano focale di B , otterremo la luce del colore desiderato.



La risoluzione spettrale della luce ottenuta con questi monocromatori a prisma è funzione dell'ampiezza delle due fenditure.

La forte differenza di risoluzione che si ha tra visibile ed ultravioletto, è compensata variando l'ampiezza della fenditura primaria. Nelle zone dello spettro dove la dispersione è bassa, si ha anche di conseguenza una maggiore concentrazione di energia, per cui è possibile operare con fenditure molto strette.

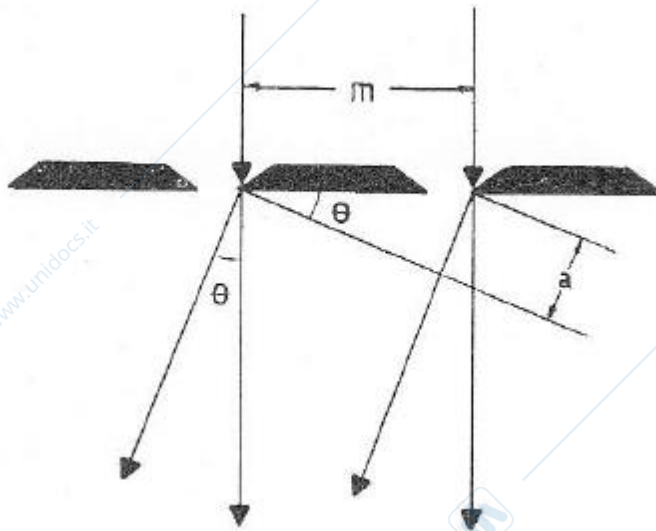
Al contrario, spostandosi verso lunghezze d'onda inferiori, aumenta la dispersione e di conseguenza la risoluzione; ma per ottenere lo stesso segnale al rivelatore (ovvero la stessa energia) è necessario aprire maggiormente la fenditura, per cui l'ampiezza della banda spettrale che ne risulta non subisce notevoli variazioni.

Monocromatori a reticolo

Un reticolo di diffrazione è costituito da una serie di fenditure sottilissime ed equidistanti praticate su uno schermo opaco. Se l'ampiezza di queste fenditure e la loro distanza, sono dello stesso ordine di grandezza della lunghezza d'onda della luce, un raggio di luce monocromatica incidente ortogonalmente sulla superficie del reticolo, lo attraversa senza subire alcuna deviazione; accanto a questo raggio fondamentale, emergono dal reticolo altri raggi, la cui direzione è funzione della lunghezza d'onda della luce incidente e della distanza tra le fenditure.

Questo può essere spiegato, ammettendo che ogni fenditura si comporti da vera e propria sorgente luminosa, che irradia in tutte le direzioni (*diffrazione*); tuttavia, i raggi provenienti da queste sorgenti secondarie, si elidono parzialmente o totalmente per interferenza nella maggior parte dei casi, mentre sommano i loro effetti solo in alcune direzioni privilegiate, per le quali viene soddisfatta una particolare relazione. Indicando con θ la direzione di un fascio di raggi diffratti, con m la distanza tra due punti omologhi di due fenditure consecutive (passo del reticolo) e con a la differenza di cammino ottico tra due raggi uscenti da due di tali punti, si ha la seguente relazione:

$$a = m \sin\theta$$

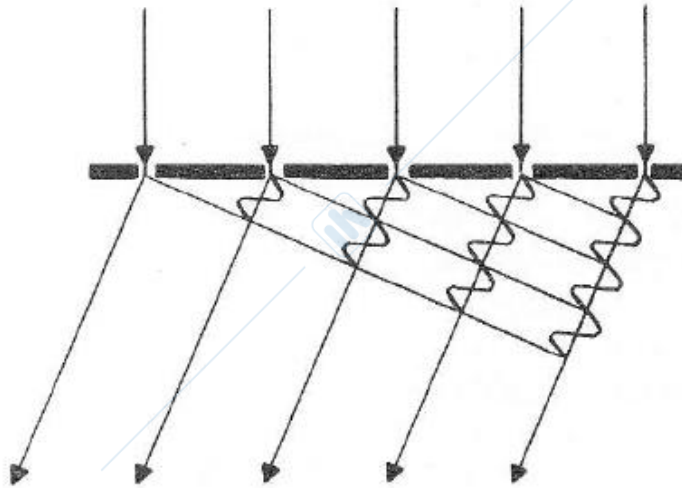


Quando i raggi diffratti formano con la direzione dei raggi incidenti un angolo θ tale che a risulti uguale a un numero intero K di lunghezze d'onda, allora è verificata la condizione di rinforzo dei raggi ed in quella direzione si avrà luce. Pertanto la condizione di luce sarà, espressa dalla seguente relazione generale:

$$m \sin\theta = K \lambda$$

con $K \geq 0$ e intero

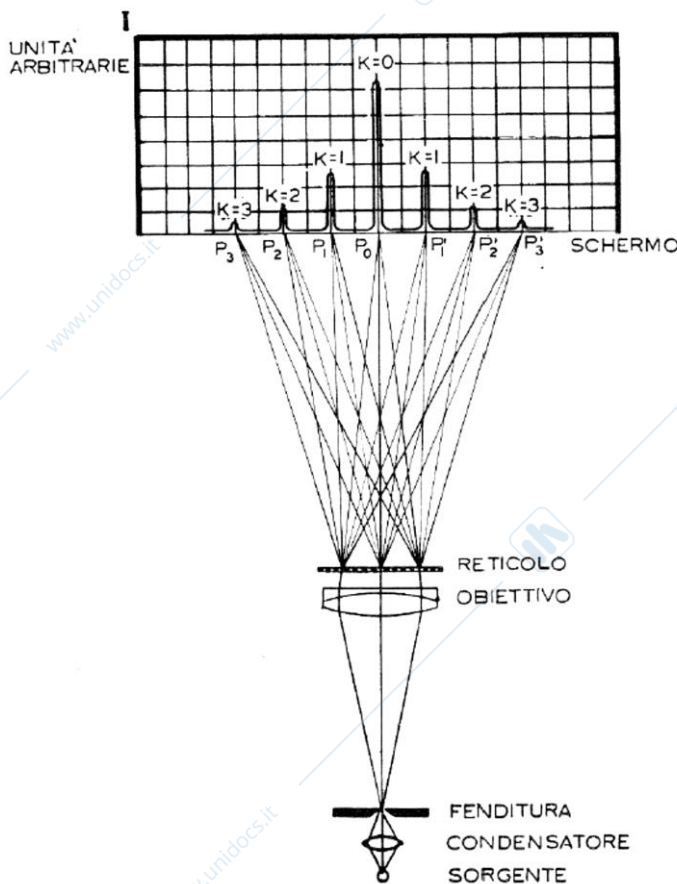
Questa situazione è rappresentata in figura seguente.



Per tutti gli altri valori di θ i raggi si elidono per interferenza e nelle corrispondenti direzioni si avrà buio.

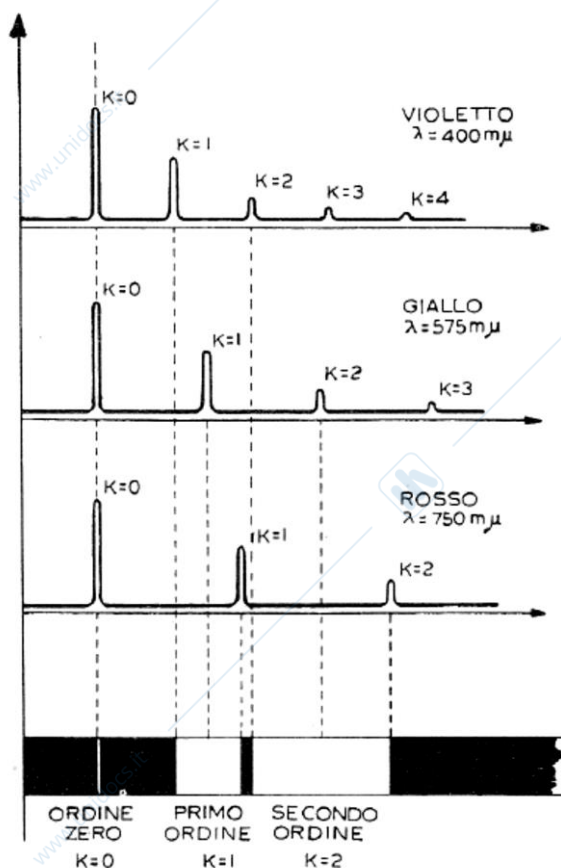
I raggi che emergono normali alla superficie del reticolo sono tutti in concordanza di fase, essendo $\theta = 0$ per essi la relazione generale risulta soddisfatta ponendo $K = 0$ e pertanto in questa direzione si ha luce. Le altre direzioni di luce sono disposte simmetricamente intorno a questa e corrispondono a quei valori di θ per cui $\sin\theta$ è multiplo di λ/m . Il loro insieme costituisce le *frange di diffrazione* che sono localizzate all'infinito.

Nel caso di luce monocromatica le frange di diffrazione si disporranno come riportato nella figura seguente:



Nella frangia centrale è concentrata la maggior parte dell'energia emessa dalla fenditura; le altre frange laterali risultano tanto meno intense quanto più si discostano da quella centrale. A ogni coppia di frange, corrisponde un valore del parametro K che prende il nome di "ordine della frangia".

Nel caso di luce policromatica, a parità di altre condizioni, θ è funzione di λ . In altre parole, le direzioni θ di rinforzo dei raggi (*massimi*), non coincidono per i vari colori dello spettro e sullo schermo ogni frangia, ottenuta con luce monocromatica, sarà sostituita da tante frange quante sono le lunghezze d'onda, contenute nella luce policromatica ad eccezione della frangia centrale (di ordine zero), per la quale si annullano ambo i membri della equazione $m \sin \theta = K \lambda$ e pertanto la condizione di massimo è in questo caso indipendente dalla lunghezza d'onda.



Questa situazione è rappresentata nella precedente figura, nella quale sono riportati tre grafici corrispondenti a tre diverse lunghezze d'onda, rispettivamente nel violetto nel giallo e nel rosso. Si nota che i massimi di ordine zero coincidono perfettamente per i tre colori considerati, mentre questa condizione non è più verificata per i massimi di ordine superiore, che risultano tanto più sfasati quanto maggiore è il corrispondente valore di K . Pertanto, con una sorgente in luce bianca, sullo schermo si noterà una frangia centrale bianca intensa, dovuta alla sovrapposizione di tutte le frange colorate di ordine zero (spettro di ordine zero). A destra e a sinistra di questa, si avranno due zone scure di eguale estensione, corrispondenti alle direzioni in cui tutte le radiazioni luminose, di qualsiasi lunghezza d'onda, si estinguono per interferenza. Allontanandosi ulteriormente dalla frangia centrale, compariranno progressivamente i massimi del primo ordine dei vari colori dello spettro. Poiché l'angolo di diffrazione θ è funzione crescente di λ , ne segue che i massimi delle radiazioni a lunghezza d'onda minore si trovano più vicini al massimo centrale. Si avranno così dapprima le frange nel violetto, seguite da quelle degli altri colori dello spettro, in ordine di λ crescente sino al rosso. L'insieme di queste frange costituisce lo "spettro del primo ordine". A

questo segue una zona di oscurità di limitata estensione, oltre la quale compare il massimo del secondo ordine, relativo al violetto. Anche in questo caso, seguiranno i massimi degli altri colori sino al rosso ed il loro insieme costituisce lo "spettro del secondo ordine".

Esaminando da un punto di vista quantitativo la formazione degli spettri, si perviene alle seguenti conclusioni:

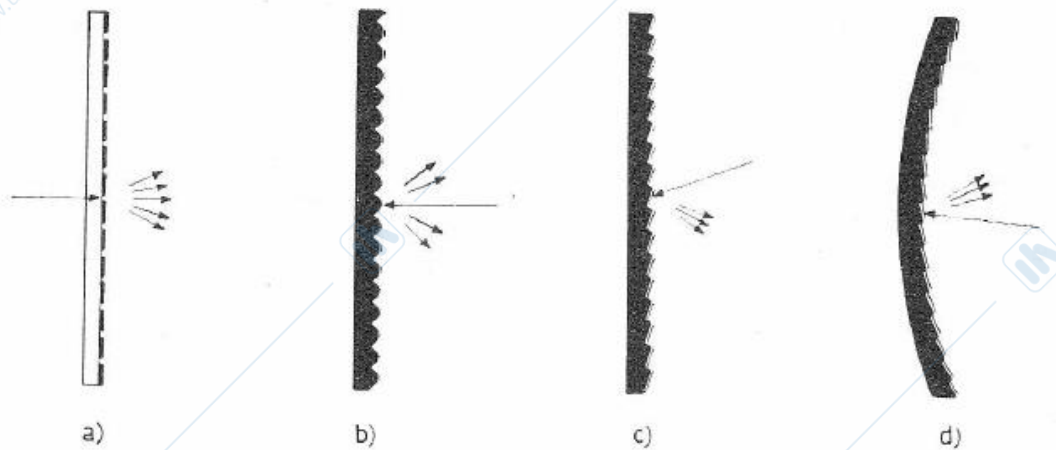
- 1) un reticolo di diffrazione illuminato in luce bianca produce una frangia centrale, la cui composizione spettrale è identica a quella della sorgente e a fianco della quale si trovano simmetricamente disposte due serie di spettri.
- 2) L'estensione dei vari spettri è direttamente proporzionale al loro ordine K , mentre la loro intensità decresce rapidamente al crescere di K .
- 3) Limitandosi alle sole radiazioni visibili, gli spettri del primo e del secondo ordine risultano nettamente separati da una zona scura, mentre gli spettri di ordine superiore sono in parte sovrapposti. Questa sovrapposizione è tanto più accentuata, quanto maggiore è l'ordine degli spettri.
- 4) Nel vicino infrarosso e nell'ultravioletto, si trova una parziale sovrapposizione anche tra gli spettri dei primi due ordini.
- 5) Gli spettri dei vari ordini sono tutti lineari in funzione della lunghezza d'onda; cioè la dispersione è costante in tutte le zone dello spettro, a differenza di quanto si è constatato a proposito del prisma.
- 6) A parità di altre condizioni la dispersione risulta inversamente proporzionale al passo m del reticolo. Per avere risultati soddisfacenti i valori di m devono essere dello stesso ordine di grandezza della lunghezza d'onda della luce.
- 7) Il reticolo, analogamente al prisma, fornisce unicamente una separazione angolare delle varie radiazioni; perciò l'estensione degli spettri ottenuti cresce, a parità di altre condizioni, col crescere della distanza tra il reticolo e lo schermo.

In base alle considerazioni fin qui esposte, si comprende facilmente che un reticolo di diffrazione costituisce un ottimo mezzo dispersivo della luce policromatica e rispetto ai monocromatori a prisma, presentano il notevole vantaggio della linearità dello spettro. Tuttavia è bene tener presente, che la molteplicità degli spettri forniti dal reticolo costituisce un aspetto negativo, sia per la parziale sovrapposizione, sia per la notevole frazione di energia che è distribuita fra tutti gli spettri non utilizzati e che pertanto va perduta.

Dal punto di vista costruttivo i reticoli possono essere realizzati secondo criteri notevolmente diversi, che a loro volta comportano delle differenze nei relativi schemi ottici.

I tipi più comuni dei reticoli ottici sono:

- a) *Reticoli piani in trasmissione.* Consistono in una serie di righe molto sottili e molto vicine (intorno a 1000 per millimetro), tracciate su una pellicola opaca, depositata su un supporto rigido e trasparente. La luce riesce solo ad attraversare il sistema in corrispondenza di queste righe producendo i fenomeni di diffrazione descritti in precedenza.
- b) *Reticoli piani in riflessione.* Si ottengono tracciando una serie di linee sopra una superficie speculare; in corrispondenza di queste incisioni il sistema perde le sue proprietà riflettenti, mentre le rimanenti zone assumono il ruolo che avevano le fenditure del caso precedente. Naturalmente in questo caso le frange di diffrazione si formano dalla stessa parte della luce incidente.
- c) *Reticoli a gradinata.* Nei reticoli a gradinata, si realizza la possibilità di concentrare la maggiore parte dell'energia raggiante diffratta dal reticolo (circa l'80%) nello spettro di un dato ordine prestabilito.
- d) *Reticoli concavi.* Fin dal 1881 Rowland concepì l'idea di tracciare dei reticoli su superfici sferiche anziché piane. Il sistema così ottenuto somma le proprietà dispersive dei reticoli e quelle focalizzatrici degli specchi concavi, col vantaggio di raggruppare in un unico elemento le due funzioni del reticolo e della lente.

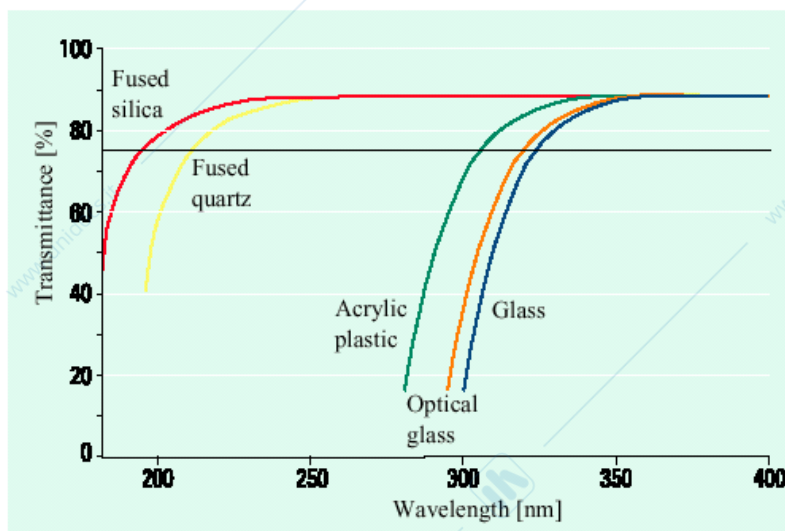


Celle

Hanno la funzione di contenere le soluzioni in esame e quelle di riferimento.

Il fattore che influenza e limita l'uso di una cella è la natura chimica del mezzo con cui la cella è costruita.

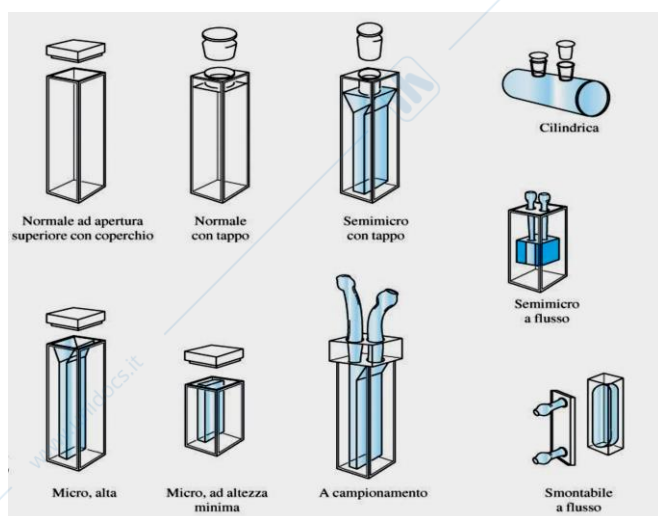
Il vetro e anche la plastica trasmettono ottimamente nel campo del visibile, mentre sono completamente opache per le radiazioni ultraviolette ed infrarosse. Il campo di impiego risulta pertanto limitato tra i 360 e i 1200 nm. Il quarzo fuso e la silice fusa e, più ancora, i cristalli di quarzo naturali tagliati perpendicolarmente all'asse ottico, presentano una buona trasmittanza nell'ultravioletto anche sotto i 200 nm e pertanto costituiscono praticamente l'unico mezzo usato in questo campo.



Le celle usate in spettrofotometria hanno di solito la forma di parallelepipedo; le due facce attraversate dalle radiazioni devono essere rigorosamente piane, parallele e lavorate otticamente; inoltre devono essere perfettamente omogenee ed uniformi in modo che la trasmittanza risulti costante in ogni punto della loro superficie.

Per quanto riguarda lo spessore del liquido attraversato dalle radiazioni, occorre tener presente la necessità di non effettuare letture di assorbanza né troppo alte né troppo basse, che porterebbero a risultati poco attendibili. Perciò vengono costruite celle a diverso spessore, che vengono scelte in

relazione alla trasparenza del liquido da esaminare. Inoltre in taluni casi è possibile disporre di celle micrometriche a spessore variabile. Tuttavia la maggior parte delle determinazioni viene eseguita con celle a spessore costante di 1 cm, provvedendo a opportune diluizioni nel caso che la soluzione presenti una trasmittanza eccessivamente bassa.



Rivelatori

Sono dispositivi capaci di produrre un segnale elettrico che dipende dall'intensità delle radiazioni che lo investono. Tale segnale elettrico (proporzionale all'intensità luminosa) viene poi trasferito a un indicatore analogico o elaborato per via elettronica in modo più o meno complesso.

Rappresentano una parte molto importante dello strumento, in particolare per quanto riguarda la sensibilità e l'accuratezza della misura.

In UV-visibile si possono utilizzare:

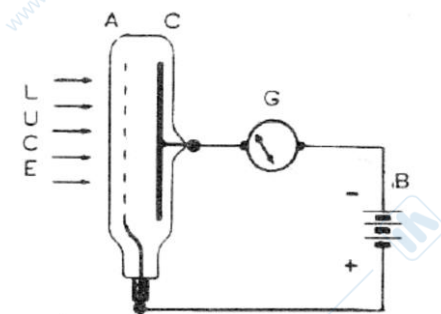
- celle fotoelettriche
- fotomoltiplicatori
- celle fotoconduttive
- fotodiodi.

Celle fotoelettriche

Le celle fotoelettriche trasformano l'energia raggiante in energia elettrica. che si basano effetto fotoelettrico, consistente nell'emissione di elettroni da parte di superfici metalliche colpite da energia raggiante. Affinché l'elettrone possa essere "strappato" dal metallo è necessaria una energia raggiante $h\nu$ in modo da superare l'energia di ionizzazione (energia potenziale) dell'elettrone E_0 e imprimergli una certa quantità di energia cinetica $\frac{1}{2}mv^2$:

$$h\nu = E_0 + \frac{1}{2}mv^2$$

E_0 varia da sostanza a sostanza e per una data sostanza, varia in relazione alla frequenza della luce incidente; esiste cioè un valore limite della frequenza ν_0 detto "soglia fotoelettrica" al di sotto della quale non si ha emissione di elettroni e ciò indipendentemente dall'intensità della luce incidente. La soglia fotoelettrica è quasi sempre nell'ultravioletto o addirittura nel campo dei raggi X; fanno eccezione i metalli alcalini per i quali, dato il basso potenziale di ionizzazione, tale soglia si trova nel campo del visibile.



Le celle fotoelettriche sono costituite da un catodo (C) di materiale fotosensibile e da un conduttore che funge da anodo (A) posti in una “ampolla” sottovuoto. Tra anodo e catodo viene generata una differenza di potenziale di alcune decine di volt.

Normalmente il circuito è interrotto, per cui non si registra passaggio di corrente. Se sul catodo giunge un segnale luminoso, si ha l'emissione fotoelettrica. Gli elettroni espulsi dal catodo vengono raccolti dall'anodo e nel circuito si avrà passaggio di corrente. L'intensità di questa corrente è, entro certi limiti molto ampi, proporzionale all'intensità della luce incidente.

La sensibilità cromatica di queste celle dipende principalmente dalla composizione del fotocatodo; al riguardo il metallo più usato è il cesio, quasi sempre combinato chimicamente con l'antimonio (Cs_3Sb). Con questi catodi il massimo della sensibilità spettrale si trova quasi sempre nel giallo verde.

Fotomoltiplicatori

Quando un raggio luminoso incide sul catodo di una cella fotoelettrica si ha emissione di elettroni i quali, accelerati dal campo elettrico presente, vengono intercettati dall'anodo producendo una debole corrente elettrica (circa 50 microampère per lumen) ed il fenomeno che l'ha originata prende il nome di *emissione primaria*.

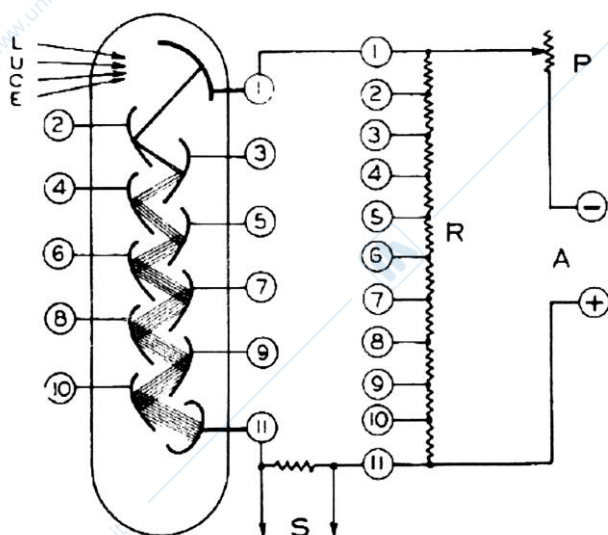
I fotomoltiplicatori sono dispositivi estremamente sensibili alla luce e si basano sul fenomeno dell'*emissione secondaria*.

Gli elettroni che giungono all'anodo, da una emissione primaria, hanno una energia cinetica sufficiente per espellerne altri: per ogni elettrone incidente si ha l'emissione di 3-5 nuovi elettroni.

In una comune cella fotoelettrica non dà luogo ad alcun fenomeno particolare in quanto l'anodo, che è l'unico elettrodo positivo presente, si riprende gli elettroni che aveva emessi.

Inserendo invece nella cella un terzo elettrodo ad un potenziale più positivo rispetto all'anodo, gli elettroni espulsi per emissione secondaria, verranno accelerati dal nuovo campo elettrico ed intercettati dal terzo elettrodo, dando luogo ad una corrente che fluisce nel circuito esterno. A parità, di luce incidente, la corrente prodotta da questa cella risulta più intensa di quella prodotta da una normale cella fotoelettrica. In pratica questo effetto viene sfruttato più volte successivamente.

I fotomoltiplicatori producono correnti anche un milione di volte più intense di quelle fornite dalle normali celle, per cui la sensibilità può raggiungere valori dell'ordine di qualche ampere per lumen.



Il fotomoltiplicatore è costruito in modo che ciascun elettrodo, denominato *dinodo*, sia collegato in punti diversi di una resistenza in modo tale che ognuno assumerà potenziali crescenti; in questo modo ciascun elettrodo si comporterà da anodo nei confronti del precedente e da catodo nei confronti del successivo.

Celle fotoconduttive

Si basano sull'effetto fotoelettrico interno nei semiconduttori. Tale effetto comporta un allontanamento degli elettroni dal nucleo, con conseguente allentamento della forza di legame ed aumento della loro mobilità. Ciò significa che un semiconduttore si comporta come una resistenza variabile, il cui valore è funzione della luce ricevuta (fotoresistenza). Le sostanze più usate per la sono i solfuri di piombo e di cadmio, disposti in sottile strato, fra due elettrodi alimentati da una differenza di potenziale di pochi volts. La sensibilità di queste celle è dell'ordine dei 100 milliamperere per lumen, maggiore rispetto alle celle fotoelettriche.

Fotodiodi

Sono microscopici circuiti su chip di silicio (o germanio) che variano la loro d.d.p. se investiti da radiazioni luminose. Hanno sensibilità inferiore ai fotomoltiplicatori, ma presentano il vantaggio di poter essere inseriti in grande numero su un singolo chip di silicio, prestandosi così in modo efficace alla costruzione di spettrofotometri a serie di diodi (*diode array*)

Tipi di spettrofotometri UV-visibile

Gli spettrofotometri per visibile ed ultravioletto coprono un campo che si estende da circa 200 nm fino intorno ai 1000 nm, comprendente quindi le radiazioni ultraviolette trasmesse dall'aria, tutte le radiazioni visibili, nonché una ristretta banda di radiazioni infrarosse.

Un tale campo può essere coperto con l'impiego di un solo monocromatore, per es. a prisma di quarzo o più monocromatori a reticolo con passi diversi in modo da avere dispersioni ottimali in tutto il campo spettrale.

Per quanto riguarda le sorgenti, gli spettrofotometri dispongono generalmente di una lampada a filamento di tungsteno utilizzabile dai 1000 ai 350 nm e di una lampada ad idrogeno per il restante campo spettrale.

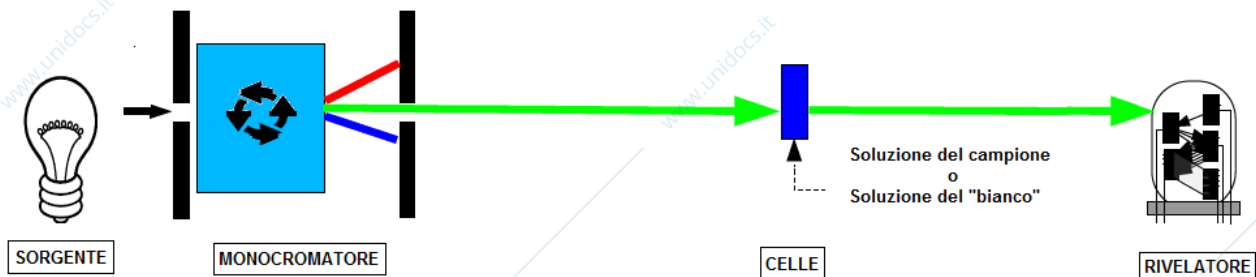
Anche il rivelatore è generalmente costituito da due elementi intercambiabili, ciascuno agente nel proprio campo di sensibilità. Infatti, le normali fotocelle a vuoto, rispondono in modo soddisfacente a segnali luminosi sino a circa 600 nm.

Per lunghezze d'onda maggiori, si ricorre a fotocelle il cui catodo, sempre a base di cesio, è costruito con tecniche speciali, in modo da abbassarne ulteriormente il potenziale di ionizzazione. Esistono diversi tipi di spettrofotometro, a seconda di come sono organizzate le varie componenti:

- *monoraggio*
- *doppio raggio*
- *serie di diodi* (solo UV-visibile)

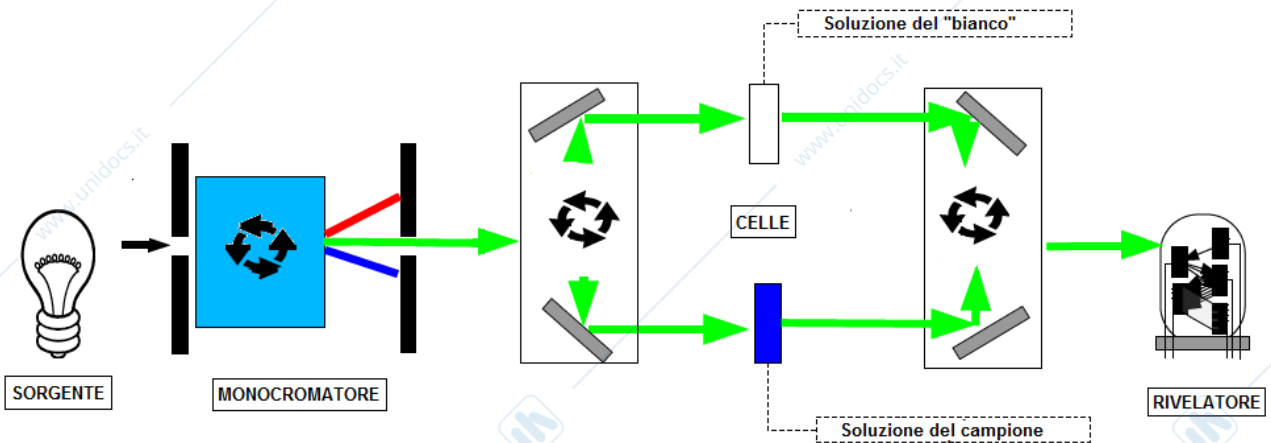
Spettrofotometro monoraggio

Usato prevalentemente in analisi qualitativa e non, di solito, per ottenere spettri di assorbimento. La difficoltà nell'ottenere uno spettro sta nel fatto che per ogni misura ad ogni λ si deve ripetere l'azzeramento contro il bianco, oppure registrare prima lo spettro del bianco, poi lo spettro del campione ed infine sottrarre al secondo il primo (procedura che può risultare macchinosa).

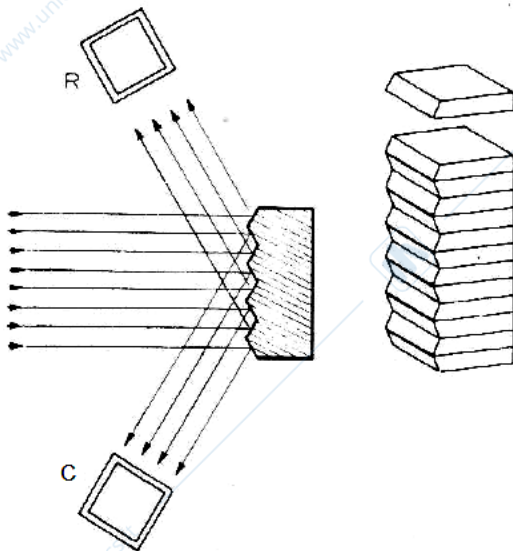


Spettrofotometro a doppio raggio

Sistema che invia due raggi, identici per frequenza e intensità, uno attraverso il campione e l'altro attraverso il bianco, per cui si ha un confronto continuo tra l'assorbanza del campione e quella del bianco.



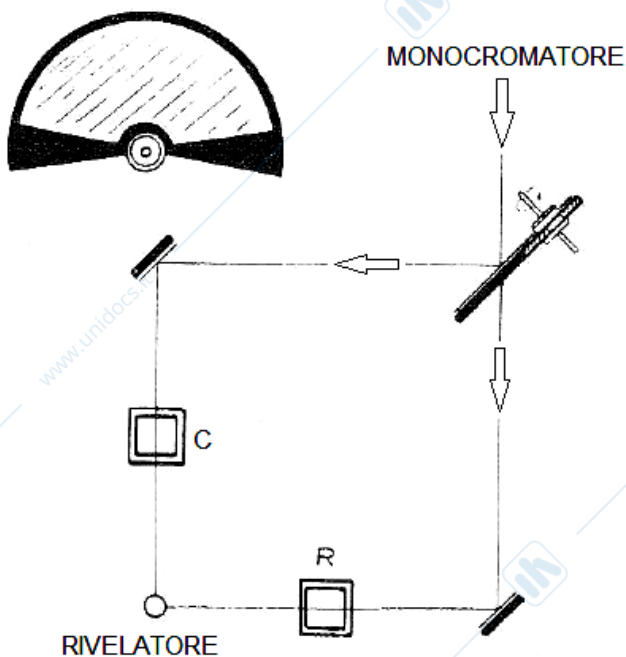
Gli spettrofotometri a doppio raggio si ha lo sdoppiamento del raggio dopo che questo ha attraversato il monocromatore. Allo scopo, il raggio monocromatico si fa incidere sopra una superficie speculare avente il profilo particolare in modo che il raggio incidente possa essere riflesso secondo due diverse direzioni.



Dispositivo per il doppio raggio nello spazio.

Ottenuto così lo sdoppiamento, uno dei due raggi verrà utilizzato per la cella del campione e l'altro per la cella del bianco (*doppio raggio nello spazio*).

Un secondo metodo, ancora più diffuso del primo, consiste nell'inviare sul rivelatore il raggio proveniente dal monocromatore, dopo che questo ha attraversato un sistema ottico avente la funzione di renderlo intermittente. Questo sistema consiste in un disco rotante di cui metà superficie è trasparente, mentre l'altra metà è riflettente.



Disco a settori per la modulazione e lo sdoppiamento del raggio (chopper).

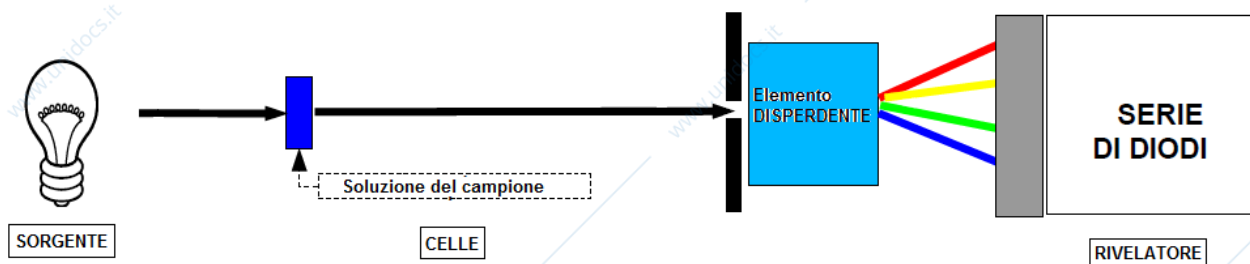
Nel semiperiodo in cui la parte speculare si trova sul cammino ottico, il raggio A viene riflesso verso il monocromatore ed il raggio R viene disperso. Durante l'altro semiperiodo, il raggio R attraversa il disco e passa al monocromatore, mentre A viene eliminato. Sul rivelatore giunge così una rapida successione di segnali, provenienti alternativamente dalla cella dell'analita e da quella del bianco. I due raggi verranno confrontati e all'intensità del raggio proveniente dalla cella

dell'analita verrà sottratta l'intensità del raggio proveniente dalla cella del bianco (*doppio raggio nel tempo*).

Gli spettrofotometri a doppio raggio hanno, rispetto a quelli a raggio singolo, la possibilità di effettuare misure a qualsiasi λ senza ripetere azzeramenti, e quindi poter registrare in modo continuo uno spettro di assorbimento (fondamentale ai fini qualitativi).

Spettrofotometri a serie di diodi (diode array)

In questo caso il rivelatore è costituito da un chip con centinaia di fotodiodi allineati, ognuno dei quali misura la particolare banda di radiazione inviata dall'elemento disperdente (prisma o reticolo). Tali strumenti non hanno una risoluzione elevata, ma presentano però una caratteristica notevole: registrano simultaneamente (in 1/10 di secondo) tutto lo spettro (non ci sono parti in movimento che selezionino le radiazioni); grazie a questo sono adatti come rivelatori per cromatografie liquide (HPLC) in modo da registrare l'intero spettro della miscela in uscita.



SPETTROFOTOMETRIA in ASSORBIMENTO molecolare (IR)

Introduzione

La spettrofotometria nell'infrarosso possiede molte analogie con quella nel visibile e nell'ultravioletto. Si ricorda che l'assorbimento di radiazioni infrarosse produce un incremento di energia vibro-rotazionale delle molecole e non un aumento dell'energia associata agli elettroni come nel caso della spettroscopia UV-Vis.

Dal punto di vista pratico, le divergenze sono principalmente dovute al diverso comportamento delle radiazioni appartenenti ai due campi spettrali in questione, divergenze che riguardano ad es. i dispositivi atti a produrre tali radiazioni, i mezzi ottici per la loro trasmissione e dispersione, e infine i rivelatori, destinati ad effettuarne la misura. Tutto ciò, si traduce in una strumentazione che, pur conservando lo stesso schema di principio degli altri strumenti per l'analisi in assorbimento, differisce nettamente nei particolari costruttivi.

Non tutto il campo dell'infrarosso, che si estende sino alle radiazioni di 1 mm di lunghezza d'onda, viene normalmente usato per scopi analitici.

Pertanto, l'infrarosso "analitico" viene comunemente suddiviso nei seguenti campi spettrali:

- IR vicino (*NIR*, Near InfraRed) da 0,78 a 2,5 μm (ovvero da circa 13000 a 4000 cm^{-1})
- IR medio (*MIR*, Mid InfraRed) da 2,5 a 50 μm (ovvero da 4000 a 200 cm^{-1})
- IR lontano (*FIR*, Far InfraRed) da 50 a 100 μm (ovvero da 200 a 100 cm^{-1})

SPETTROFOTOMETRIA IR (medio infrarosso MIR)

Le misure di assorbimento nell'infrarosso, possono essere effettuate indifferentemente su sostanze allo stato solido, liquido, gassoso, oppure in soluzione. In ogni caso, è bene che il campione sia esaminato con spessori e concentrazioni adeguate, in modo che la sua trasmittanza sia compresa fra il 25 e il 50%. Si dimostra infatti che in questo intervallo, un certo errore nella trasmittanza, comporta il minimo errore nel corrispondente valore della concentrazione.

Per le sostanze gassose, questo criterio comporta l'uso di spessori variabili tra 1-20 cm, inoltre, la trasmittanza del campione può essere facilmente variata, agendo sulla pressione del gas.

Più complicato è il problema dei liquidi, i quali richiedono celle di spessori talvolta dell'ordine di grandezza di 0,01 mm e comunque raramente superiori al millimetro.

I solidi sono solubilizzati in solventi con basso assorbimento nell'IR e posti in celle, o dispersi in liquidi viscosi o in solidi come il KBr. In questo caso, il solido è mescolato accuratamente con quantità di KBr da 100 a 1000 volte superiore e compresso sotto fortissime pressioni, ottenendo così dei dischi trasparenti, che vengono sottoposti ad esame.

Per le sostanze in soluzione, si ha il vantaggio di poter scegliere la concentrazione più appropriata, senza dover ricorrere a spessori troppo bassi.

Ai fini dell'analisi qualitativa, lo spettro IR rappresenta un elemento indispensabile per il riconoscimento univoco di una sostanza.

Anche l'analisi quantitativa trova applicazioni in questo campo in quanto risulta sempre valida la legge di Lambert-Beer.

Lo strumento

Esistono due tipi di spettrofotometri :

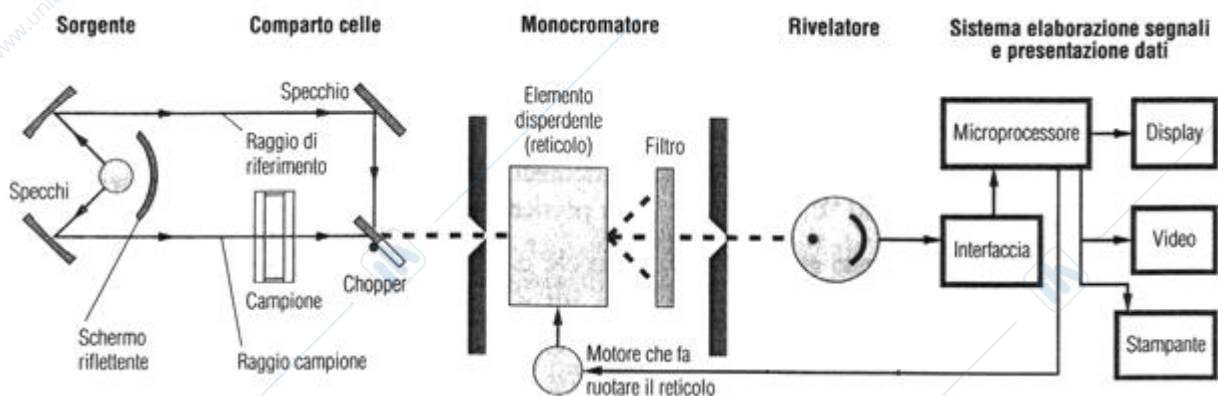
- a *dispersione* o in *onda continua*
- a *interferenza (FT-IR)*

Spettrofotometro a dispersione

Sono spettrofotometri a doppio raggio. Analogamente a quanto avviene negli strumenti UV-Vis, è presente un sistema che invia due raggi identici, uno attraverso il campione e l'altro attraverso il bianco, per cui si ha un confronto continuo tra l'assorbanza del campione e quella del bianco.

Contrariamente agli spettrofotometri UV-Vis il raggio che incide sul campione è costituito dall'intera banda di radiazioni prodotta dalla sorgente. Dopo che il raggio ha attraversato il campione, giunge all'elemento disperdente che costituisce il monocromatore e infine, separate le radiazioni, arriva al rivelatore.

La differenza di architettura è giustificata dal fatto che la sensibilità della spettroscopia IR non è molto alta e quindi l'intensità della radiazione che colpisce il campione deve essere la più alta possibile. Invece la spettroscopia UV-Vis è molto più sensibile e quindi non è necessario usare radiazioni intense per l'interazione con il campione, anzi essendo le radiazioni molto più energetiche di quelle infrarosse, una eccessiva intensità aumenta la possibilità di provocare alterazioni sul campione e per questo è preferibile far interagire sul campione radiazioni monocromatiche e di bassa intensità.



Sorgenti

Si usano sorgenti del tipo ad incandescenza.

Global. È un piccolo cilindro (6 mm di diametro) in carburo di silicio che viene riscaldato a 1200-1800°C; un dispositivo di raffreddamento ne impedisce il surriscaldamento. Richiede una elevata potenza di alimentazione (oltre 200 W) e perciò è stato praticamente abbandonato.

Filamento di Nernst. È un piccolo cilindro (1-2 mm di diametro) costituito da una miscela di ossidi fusi (di Zr, Y, Th, Ce); viene riscaldato a 1200- 1700 °C, secondo il tipo di metallo. È un isolante elettrico a temperatura ambiente e perciò richiede un preriscaldamento; inoltre è fragile, soprattutto nei punti di giunzione elettrica. A differenza del global, però, non si ossida.

Striscia (o avvolgimento) di nichel-cromo. È sempre più usata, anche se la sua intensità di emissione non è elevata (si lavora a 1200 °C). È molto robusta, assorbe una bassa potenza (10+20 W), è poco costosa e perciò particolarmente adatta ai lavori di routine.

Filamento di ceramica. Viene riscaldato a circa 1200 °C e comprende un sistema di controllo e stabilizzazione della temperatura; è il dispositivo più usato nei moderni spettrofotometri.

Monocromatori

Si usano elementi disperdenti a prisma o a reticolo.

L'uso del *prisma* è legato alla trasparenza e al potere disperdente del materiale. Il vetro e il quarzo non sono trasparenti. Un mezzo completamente trasparente nel IR non esiste tuttavia gli alogenuri alcalini hanno una buona trasparenza, ciascuno in un proprio campo ben definito. Per questo motivo l'uso del prisma è caduto in disuso.

Il cloruro di sodio trasmette radiazioni lungo un campo abbastanza vasto ed infatti è la sostanza più usata a questo proposito. Tuttavia, sotto i 5 μm , dove la sua dispersione risulta assai scarsa, per lavori di precisione in questo campo, sono usati i fluoruri di litio o di calcio.

Tra i 15 ed i 25 μm , è particolarmente indicato l'uso del bromuro di potassio, mentre sopra i 25 μm , e non oltre i 40, può essere usato il bromuro di cesio o il bromo-ioduro di tallio.

Come si vede, in tutto il campo del vicino e medio infrarosso, possono essere impiegati dei monocromatori a prisma, ma non sopra i 50 μm .

I tipi di *reticoli a diffrazione* più usati sono i reticoli a gradinata, la cui prerogativa è quella di concentrare l'energia nello spettro prescelto.

I reticoli sono in grado di dare una migliore dispersione, rispetto ai prismi, però a causa della notevole estensione della regione spettrale IR, un singolo reticolo non può dare buoni risultati.

Negli strumenti più economici il problema viene risolto prelevando alcune bande spettrali nelle frange di ordine superiore dello spettro di diffrazione, sacrificando però così l'omogeneità della resa energetica. Per ovviare a questo inconveniente vengono adoperati due reticoli, e anche di più negli strumenti più sofisticati, così da coprire in maniera adeguata tutta la zona spettrale anche se in questo modo cresce la complessità costruttiva dell'apparecchio.

La carenza di mezzi ottici trasparenti in tutto l'infrarosso, ha rappresentato un problema non solo per i monocromatori, ma anche per tutte le altre parti dello strumento che devono essere attraversate dalle radiazioni, come le lenti. Queste difficoltà sono state facilmente superate con una soluzione, spesso adottata anche negli spettrofotometri per UV-Vis e cioè l'adozione di specchi sferici ed asferici al posto delle lenti.

Rivelatori

Per il vicino infrarosso possono essere usati dispositivi basati sull'effetto fotoelettrico. Al di sopra dei 3 μm , tali dispositivi non sono più sensibili alle radiazioni IR e pertanto, per rivelare queste ultime, si utilizzeranno altre proprietà, come ad esempio loro capacità di provocare un innalzamento termico.

Su questo principio sono basate speciali "termocoppie" ad alta sensibilità. I metalli usati per la costruzione di termocoppie per infrarosso sono di solito leghe a base di bismuto, stagno, ed antimonio.

I rivelatori oggi più usati sono i *cristalli piroelettrici*, questi hanno la proprietà di manifestare una tensione elettrica fra due facce opposte quando vengono riscaldati.

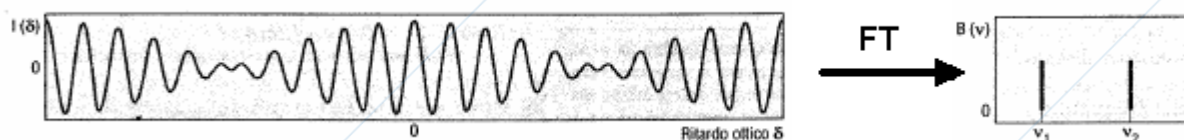
Spettrofotometro a interferenza (FT-IR)

Gli spettrofotometri a interferenza o a trasformata di Fourier (FT), diversamente da quelli a dispersione, registrano lo spettro in modo quasi simultaneo alle varie lunghezze d'onda dell'intervallo spettrale.

Questi strumenti differiscono da quelli a dispersione in quanto al posto del monocromatore hanno un interferometro. Il più usato è quello di Michelson e si basa sul principio che se una radiazione elettromagnetica proveniente da un'unica sorgente viene sdoppiata in due treni d'onda i quali poi vengono riuniti dopo aver percorso una lunghezza diversa, si ha il fenomeno dell'*interferenza*. Con ciò si intende il fenomeno per cui i due treni d'onda che in partenza erano sicuramente in fase (coerenti), in quanto provenienti dalla stessa sorgente, al momento del ricongiungimento possono essere o no in fase per cui l'ampiezza complessiva dell'onda può subire un aumento o una diminuzione: i due fasci possono *interferire* in modo costruttivo o in modo distruttivo dando così luogo a bande intense e bande deboli chiamate frange di interferenza. Se la luce è monocromatica si ha un sistema di frange chiare e scure mentre se la luce è policromatica, si ha un sistema di frange variamente colorate.

Il nuovo sistema di onde opportunamente riportate su un *diagramma intensità/tempo* (ritardo ottico), costituiscono l'*interferogramma* della sorgente. Il ritardo ottico è il ritardo con cui le radiazioni si ricongiungono formando le frange d'interferenza. *Tale ritardo dipende dallo spostamento dello specchio mobile.*

La trasformata di Fourier dell'interferogramma produce un *diagramma intensità/frequenza*.

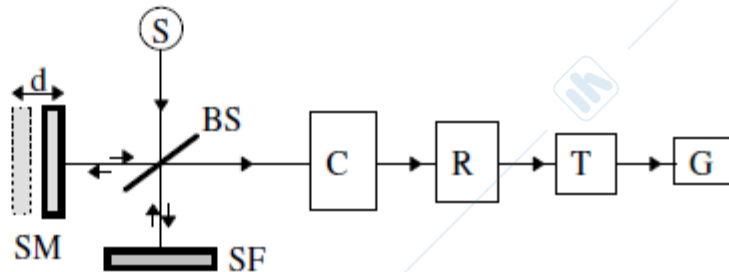


$I(\delta)$ è l'intensità della radiazione che giunge al rivelatore (che varia in funzione del ritardo ottico δ).

$B(\nu)$ l'intensità luminosa della sorgente in funzione della frequenza ν . $I(\delta) = B(\nu) \cos(2\pi\delta\nu)$

La trasformata di Fourier dell'interferogramma delle radiazioni, dopo che queste hanno attraversato il campione e subito i vari assorbimenti, genera un normale spettro di assorbimento IR. Uno spettrofotometro a interferenza può essere così schematizzato :

S - Sorgente luminosa
 BS - Specchio semitrasparente
 SF - Specchio fisso
 SM - Specchio mobile
 C - Campione
 R - Rivelatore
 T - Apparato elettronico
 G - Registratore



La sorgente luminosa **S**, invia un fascio luminoso sullo specchio semitrasparente **BS** (*beam splitter*) costituito da una lastra di CsBr rivestita con germanio. Tale specchio ha la caratteristica di essere trasparente per il 50% e riflettente per il resto per cui metà fascio luminoso andrà sullo specchio fisso **SF** e l'altra metà sullo specchio mobile **SM**.

I due fasci riflessi da questi due specchi, si ricongiungono sul dispositivo **BS** per dare di nuovo un unico fascio che quindi procede verso il campione **C**.

Se lo specchio **SM** si trova alla stessa distanza di **SF** dal beam splitter, il raggio derivante dal ricongiungimento sarà praticamente identico a quello emesso dalla sorgente **S**. Se invece lo specchio mobile subisce certo movimento **d**, ad esempio si allontana, esattamente perpendicolare alla direzione del raggio, l'onda riflessa percorrerà un cammino ottico maggiore dell'altro semiraggio per cui all'atto del ricongiungimento possono non essere più in fase e dare così luogo al fenomeno dell'interferenza.

Se la differenza tra i cammini ottici è un multiplo pari di mezza lunghezza d'onda il fenomeno sarà costruttivo mentre se è multiplo dispari sarà distruttivo; ovviamente un dato spostamento **d** dello specchio mobile potrà essere costruttivo per valore di λ e distruttivo per un altro.

Il fascio luminoso derivante dall'interferenza attraversa quindi il campione **C** e va al rivelatore **R** il quale fornisce l'intensità della luce in arrivo in funzione, non della lunghezza d'onda, ma dello spostamento dello specchio mobile (ritardo ottico).

I rivelatori più usati sono di tipo fotoconduttivo o piroelettrico. Il relativo grafico si chiama, come già detto, *interferogramma*.

Dal punto di vista pratico viene prima registrato l'interferogramma del bianco (e dell'atmosfera presente nel compartimento del campione. La CO_2 assorbe nell'IR!), viene calcolata la trasformata di Fourier in modo da ottenere lo spettro di assorbimento, poi si effettua la medesima misura per il campione. Dal confronto dei due spettri di assorbimento, viene calcolato lo spettro di assorbimento IR del campione privo degli assorbimenti dovuti all'ambiente.

Questo tipo di spettrofotometro usa anche un raggio laser per il controllo della posizione e della velocità dello specchio.

Rispetto agli spettrofotometri a dispersione, gli FT-IR offrono numerosi vantaggi:

- non ha parti in movimento escluso lo specchio mobile
- sorgente e campione sono distanti per cui non vi è riscaldamento di quest'ultimo
- è trascurabile la quantità di luce diffusa
- il potere risolutivo è costante in tutte la regione spettrale
- la valutazione dell'assorbimento avviene per tutte le lunghezze d'onda in qualche secondo contro i tempi notevolmente più lunghi, minuti o addirittura ore, degli spettrofotometri tradizionali.

Questo ultimo aspetto è molto importante infatti il rivelatore riceve circa il 25% dell'energia emessa dalla sorgente contro circa l'1% negli strumenti a monocromatore per cui il rapporto segnale-

rumore è notevolmente elevato; negli strumenti a dispersione, il rivelatore riceve solo l'energia posseduta dalla banda passante.

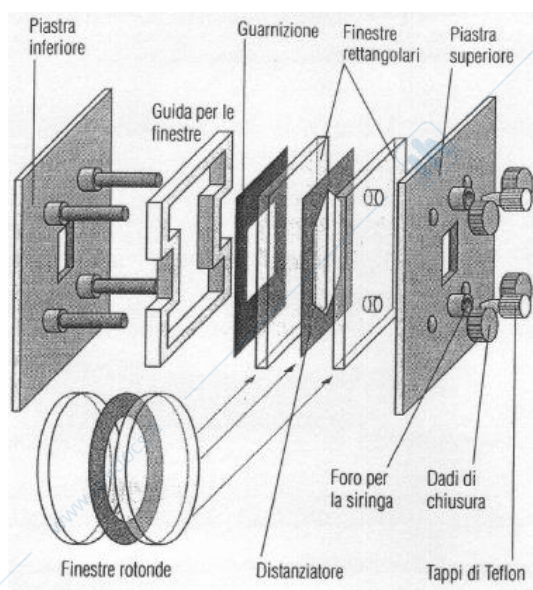
C'è da considerare, inoltre, che una scansione completa negli spettrofotometri FT-IR, corrispondente al movimento complessivo dello specchio mobile, è di solo qualche secondo e pertanto è possibile effettuare più scansioni e sommarle algebricamente; in questo modo i segnali dovuti all'assorbimento vengono "rafforzati" essendo coerenti, mentre il rumore, essendo casuale, viene ridotto (*smoothing*) migliorando ulteriormente il rapporto segnale-rumore.

Infine, data la rapidità di scansione, uno spettrofotometro a interferenza può essere comodamente e vantaggiosamente utilizzato rivelatore-analizzatore per un gascromatografo o un HPLC.

Tecniche e dispositivi per la preparazione dei campioni

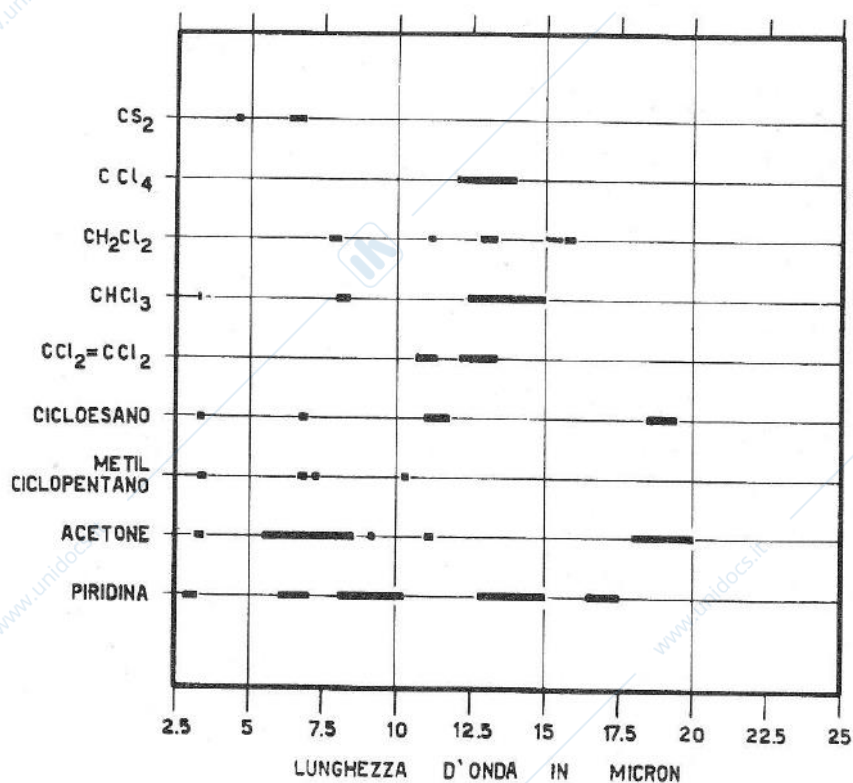
Dispositivi per campioni liquidi puri o in soluzione.

Celle. I principali problemi che devono essere affrontati nella costruzione di celle per l'esame nell'infrarosso, sono legati principalmente alla trasparenza delle pareti attraversate dalle radiazioni, alla loro inattaccabilità da parte delle sostanze esaminate ed alla necessità di ottenere spessori perfettamente riproducibili, come è richiesto dalla analisi quantitativa. Anche in questo caso, la sostanza più usata è il cloruro sodico, ma anche altre sostanze, come il KBr, vengono impiegate in relazione al campo spettrale esplorato.



Tuttavia la presenza del solvente può esercitare un'influenza alquanto negativa, in quanto non esiste infatti un solvente, che risulti completamente trasparente in tutto l'infrarosso. L'acqua, diventa completamente opaca al di sopra dei $2,7 \mu\text{m}$.

I solventi più usati sono il tetracloruro ed il solfuro di carbonio, in quanto il primo possiede una sola banda di assorbimento tra i 12 e i $14 \mu\text{m}$, mentre il secondo ha due bande, una a $4,5 - 4,7 \mu\text{m}$ e l'altra a $6,3 - 6,9 \mu\text{m}$.



Per rendersi comunque indipendenti dall'assorbimento del solvente basta usare quest'ultimo come bianco cosicché lo strumento automaticamente detrae il relativo assorbimento dallo spettro e fornisce quello relativo al solo composto. Questo modo di procedere va bene se le bande del solvente non hanno picchi molto intensi altrimenti al rivelatore giunge una quantità di energia così bassa da non essere in grado di produrre segnali.

Se il soluto è polare può essere necessario usare un solvente polare come ad esempio acqua; in tal caso occorre usare finestre di cloruro di argento AgCl o fluoruro di bario BaF₂ e non, ovviamente di cloruro di sodio.

Dispositivi per campioni solidi

Dispersioni in fase liquida. Il campione viene finemente macinato in mortaio fino ad ottenere particelle di dimensioni di circa 1-2 μm , quindi emulsionato (impastato) con olio di paraffina (Nujol) (una miscela di idrocarburi saturi da C₂₀ a C₃₀ circa) oppure con un perfluoroidrocarburo (Fluorolube) fino ad ottenere una pasta omogenea.

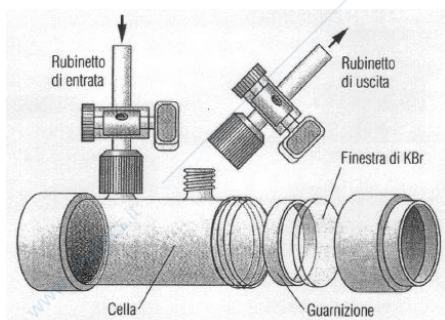
È importante effettuare una buona macinazione in modo che le particelle abbiano diametro inferiore alla lunghezza d'onda della radiazione incidente (compresa tra 2,5 e 25 μm) in quanto, se di dimensioni più elevate, si avrebbero fenomeni di riflessione e di rifrazione con distorsione delle bande di assorbimento (scattering). Gli mezzi disperdenti devono, ovviamente, presentare un basso assorbimento nell'IR.

Dispersioni in fase solida. Consiste nel macinare finemente una piccola quantità di campione insieme a KBr (o CsI o NaCl) essiccato, in modo da ottenere una miscela all'1% circa (da 0,1 a 2%). La giusta porzione di miscela viene posta in uno stampo e sottoposta, mediante una pressa, ad una pressione di circa 5 tonn/cm². Contemporaneamente la miscela viene sottoposta a depressione, fino a qualche mmHg, in modo da eliminare qualsiasi traccia di umidità che altrimenti potrebbe creare problemi di trasparenza.

Si ottiene così un disco trasparente che può essere collocato nel comparto campioni e sottoposto a misurazione di assorbimento con aria come riferimento. In questo caso sono praticamente assenti assorbimenti estranei.

Dispositivi per campioni gassosi

Celle per gas. Celle cilindriche di vetro Pyrex, di capacità compresa tra 20 e 200 ml, dotate di due rubinetti e di due finestre trasparenti all'IR (KBr, NaCl, CsI ecc.) come basi del cilindro.



Normalmente il cammino ottico è di circa 10 cm. Prima di introdurre il campione, viene creato il vuoto collegando una pompa ad uno dei due rubinetti, quindi mediante il secondo rubinetto, già collegato al contenitore del campione viene fatto aspirare il gas.

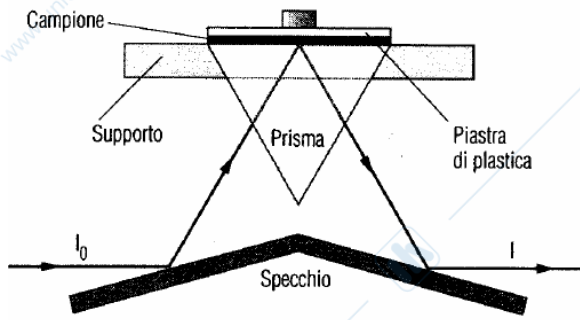
Analisi in riflettanza per liquidi opachi e solidi

Le misure in riflettanza consentono di registrare lo spettro IR di sostanze liquide opache usando un dispositivo, che non prevede l'attraversamento del campione da parte delle radiazioni IR. Trova applicazioni soprattutto nella analisi di polveri, o di sostanze riducibili in polvere; in analisi non distruttive di superfici ruvide, come materie plastiche, vernici o dipinti, e anche di superfici lisce come per esempio nel caso delle pietre preziose dove attraverso una spettro IR in riflettanza è possibile distinguere abbastanza agevolmente le pietre naturali da quelle sintetiche

Riflettanza totale attenuata (ATR)

La sostanza in polvere è depositata su un prisma costituito da materiale ad elevato indice di rifrazione (AgCl o una miscela di bromuri e ioduri di tallio) per tutte le radiazioni IR. Ad ogni riflessione una piccola parte della radiazione viene assorbita. Per rendere maggiore la quantità di radiazione assorbita e quindi rilevabile l'assorbimento, è necessario che il raggio venga riflesso più volte (10-25 volte).

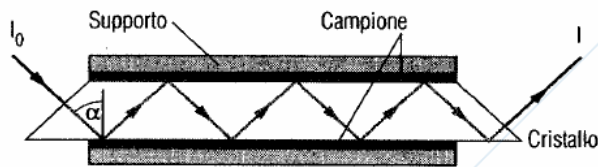
La tecnica ATR però determina uno spostamento delle lunghezze d'onda di assorbimento e una distorsione delle bande pertanto per l'interpretazione qualitativa degli spettri bisogna fare riferimento a cataloghi registrati in ATR. Inoltre gli spettri delle sostanze sono confrontabili solo se registrati con lo stesso angolo di incidenza.



Riflettanza interna multipla (MIR)

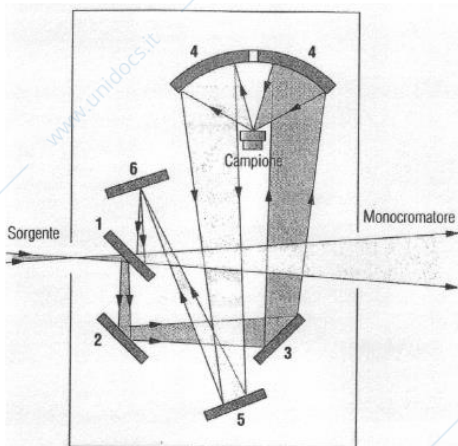
Il campione è posizionato in modo che un cristallo, di materiale ad elevato indice di rifrazione, vi si trovi immerso.

La radiazione esce dal cristallo dopo aver compiuto un certo numero di riflessioni sulla superficie del campione. La quantità della radiazione assorbita dipende dal numero di riflessioni sul campione e il numero di riflessioni è inversamente proporzionale al valore dell'angolo d'incidenza (α). Anche in questo caso si hanno distorsioni delle bande di assorbimento e per l'interpretazione qualitativa degli spettri bisogna fare riferimento a cataloghi registrati in MIR.



Riflettanza diffusa (DR).

Il raggio proveniente dalla sorgente, dopo diverse e complicate riflessioni, che hanno lo scopo di diffondere la radiazione in modo da focalizzarla sul campione dal quale viene riflessa e in parte assorbita. A seguito di questa riflessione la radiazione viene diffusa in tutte le direzioni, raccolta e inviata al monocromatore e al rivelatore.



Analisi quantitativa IR

Come già accennato gli spettri IR sono usati soprattutto per una *analisi qualitativa* e rappresentano un mezzo talvolta indispensabile per l'identificazione e il riconoscimento di molecole.

L'analisi quantitativa mediante la spettrofotometria si basa sulla legge di Lamber-Beer e sugli stessi principi della spettrofotometria UV-VIS e anche i metodi sono gli stessi (*confronto con uno standard, metodo della retta di taratura (o di lavoro) e metodo delle aggiunte interne*).

Lavorando in questa zona delle onde elettromagnetiche però si incontrano diversi problemi e i risultati non sempre sono soddisfacenti. Oltre alla difficoltà di trovare solventi trasparenti, le principali cause che incidono negativamente sull'affidabilità di questa tecnica di dosaggio di sostanze sono tre :

- *Lunghezza d'onda (o frequenza) di lavoro*

Il picco di cui si intende seguire l'intensità in funzione della concentrazione si deve trovare in una zona libera da bande di altre sostanze presenti nel campione e ciò non è facile tenendo conto della complessità di uno spettro IR ; è ovvio quindi che le difficoltà crescono se la miscela da esaminare è complessa.

- *Spessore della cella*

Le misure di assorbimento di luce IR vengono spesso effettuate con cammini ottici piccolissimi, (frazioni di millimetro), per cui una pur minima variazione incide notevolmente sul risultato finale. Se si usa il metodo della curva di taratura il problema può essere risolto effettuando le misure di T% (o A) sempre con la stessa cella, sia per gli standard che per il campione in esame.

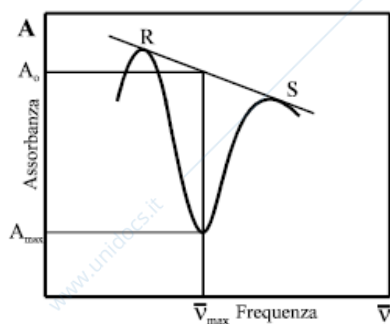
- *Assorbanza netta*

A differenza degli spettri UV-VIS, nella zona dell'IR non è immediato dedurre il valore dell'assorbanza dall'osservazione di uno spettro. Questo perché gli spettri IR sono caratterizzati da elevato rumore di fondo per cui non sempre è facile rilevare il valore dell'assorbanza relativa alla linea di base A_0 da detrarre a valore di A_{max} del picco per ottenere l'assorbanza netta

$$A_{netta} = A_{max} - A_0.$$

Se il picco è regolare, ma ciò non accade molto spesso, A_0 si può facilmente ricavare poiché equivale al valore corrispondente ai minimi ai lati del picco.

Se il picco invece non è regolare, come nel seguente disegno :



il valore di A relativo alla linea di base si può ricavare graficamente tracciando prima la tangente ai due minimi R e S ai lati del picco, poi la perpendicolare all'asse delle ascisse in corrispondenza della frequenza di massimo assorbimento.

Inoltre, solo gli spettrofotometri più moderni forniscono il grafico sia in assorbimento che in trasmittanza percentuale ; poiché è l'assorbimento direttamente proporzionale alla concentrazione, è necessario trasformare il valore di percentuale di trasmittanza ($T\%$) in assorbimento (A).

$$A = 2 - \log T\%$$

SPETTROFOTOMETRIA IR (vicino infrarosso NIR)

I picchi di assorbimento nella regione NIR sono più larghi e meno intensi rispetto alla regione MIR, inoltre, anche se l'assegnazione dei picchi a particolari vibrazioni, risulta impossibile, l'intensità

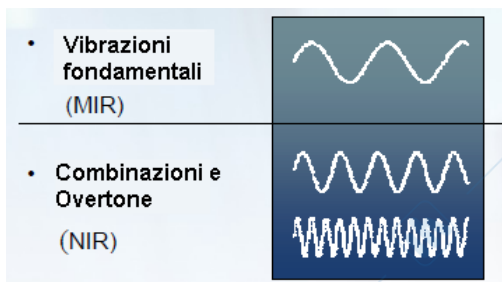
della radiazione riflessa è più alta rispetto alle altre regioni del IR permettendo di ottenere una elevata sensibilità nelle analisi su campioni per i quali non è necessaria una adeguata preparazione. Questa ultima caratteristica ha reso la spettroscopia NIR molto vantaggiosa nelle analisi di routine a livello industriale.

La spettroscopia NIR si basa sull'assorbimento di radiazioni elettromagnetiche caratterizzate nella zona del vicino infrarosso ($12800 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ ovvero $780-2500 \text{ nm}$).

Lo spettro di assorbimento non è dovuto a specifici gruppi funzionali. Nell'intervallo spettrale del vicino infrarosso si collocano le bande di assorbimento dovute ad *overtone* (armoniche) o a *combinazioni di vibrazioni fondamentali* di molti legami.

Le bande overtone, dovute a transizioni tra stati vibrazionali non contigui, hanno una frequenza approssimativamente multipla delle frequenze vibrazionali fondamentali. Inoltre, esse sono molto meno probabili delle transizioni fondamentali, pertanto queste bande sono molto più deboli (la banda per la prima armonica è, a seconda del tipo di legame, 10-100 volte più debole rispetto alla frequenza fondamentale). Queste bande appaiono tra 780 e 2000 nm .

Nelle molecole poliatomiche, due o più modi vibrazionali possono interagire in modo tale da causare cambiamenti simultanei di energia e dare origine a bande di assorbimento chiamate bande di combinazione, le cui frequenze sono somme di multipli di ciascuna frequenza interagente. Le bande di combinazione appaiono tra 1900 e 2500 nm .



L'intensità delle bande NIR dipende dalle variazioni del *momento dipolare* e dalla *anarmonicità* del legame.

Il legame tra un atomo pesante e l'idrogeno è interessato ad ampie vibrazioni e a grandi deviazioni dalla armonicità, pertanto, le bande principali tipicamente osservata nella regione NIR corrispondono alle vibrazioni di legami C-H, N-H, OH, P-H e S-H. Le bande per i legami come C=O, C-C e C-Cl sono molto più deboli o addirittura assenti.

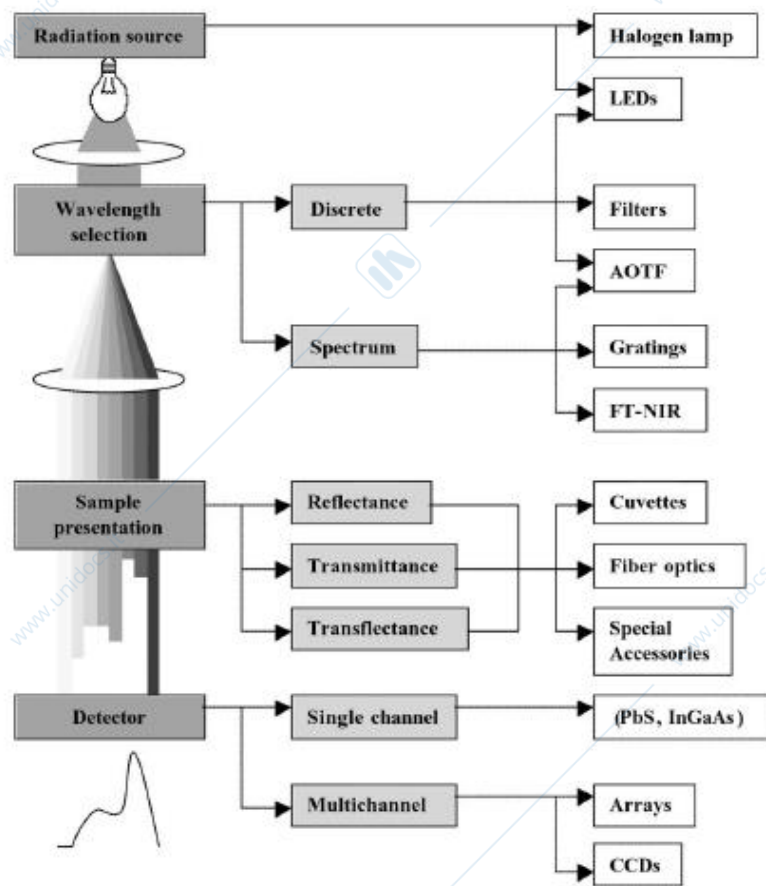
Interazioni tra atomi in molecole diverse (per esempio legami idrogeno e interazioni dipolari) alterano gli stati di energia vibrazionale spostando le bande di assorbimento esistenti e generandone delle nuove. Questo permette di distinguere forme cristalline diverse e di determinare proprietà fisiche (come densità, viscosità, e le dimensioni delle particelle in solidi polverulenti).

In altre parole, lo spettro NIR contiene non solo informazioni strutturali tali da essere utilizzate per determinare la composizione di un campione, ma anche informazioni fisiche che possono essere impiegate per determinare le proprietà fisiche dei campioni.

Lo strumento

E' simile allo spettrofotometro IR che opera nella regione MIR. Esistono, infatti, strumenti in grado di effettuare misure MIR e NIR.

In sintesi uno strumento MIR può includere una varietà di dispositivi a seconda delle caratteristiche del campione, delle particolari condizioni analitiche e esigenze (quali velocità, complessità campione e condizioni ambientali).



Gli spettrofotometri NIR possono essere di due tipi, a *lunghezza d'onda fissa o variabile*. I primi sono più semplici, e permettono di irradiare campioni con solo poche lunghezze d'onda e pertanto si possono usare solo per applicazioni di routine su gli stessi campioni.

Gli strumenti a lunghezza d'onda fissa possono utilizzare sorgenti basate su LED che emettono bande strette di radiazioni. L'assenza di parti in movimento rende questi spettrofotometri semplici e robusti ideali per apparecchiature *portatili*.

Gli spettrofotometri a lunghezza d'onda variabile, hanno un sistema dispersivo costituito da un monocromatore a *reticolo a diffrazione* oppure un *interferometro* (FT-NIR).

Questi apparecchi sono, ovviamente, molto più flessibili rispetto a quelli a lunghezza d'onda fissa e possono essere utilizzati in una più ampia varietà di situazioni.

Recentemente, come monocromatori, sono stati introdotti anche i *filtri sintonizzabili acusto-ottici* (AOTF). Questi filtri selezionano le lunghezze d'onda utilizzando segnali a radio-frequenza per alterare l'indice di rifrazione di un cristallo birifrangente (solitamente TeO_2) in modo da trasmettere la luce di una data lunghezza d'onda. Con questi dispositivi la scansione di lunghezze d'onda è molto più rapida rispetto ai monocromatori a reticolo e agli interferometri, inoltre l'assenza di parti in movimento rende gli AOTF più affidabili e le scansioni risultano più riproducibili rispetto agli altri dispositivi.

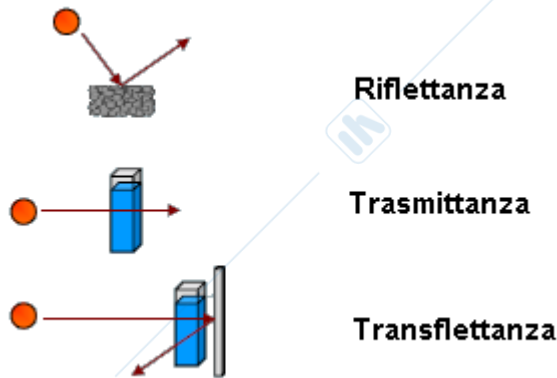
I rivelatori sono costituiti da dispositivi *semiconduttori* costituiti da PbS o InGaAs.

Sono usati anche rivelatori multicanale quali *diodi* disposti in *righe* (*diode array*) o in *piano* (dispositivi *Charged Coupled (CCD)*). Questi sistemi permettono di registrare molte lunghezze d'onda in una sola volta, aumentando la velocità con cui l'informazione spettrale può essere acquisita.

L'analisi NIR è veloce non solo perché è possibile registrare spettri rapidamente ma anche perché non vi è praticamente alcun bisogno di pretrattare campioni. L'interazione tra materia e radiazione avviene, a seconda delle caratteristiche del campione, solitamente per *riflettanza* in caso

di solidi, *trasmissione* per liquidi, e *transflettanza* per emulsioni e liquidi torbidi.

Un altro fattore che influenza la velocità di analisi è la capacità di effettuare misure “in campo” invece di dover raccogliere campioni per la successiva analisi in laboratorio.



Elaborazione delle informazioni derivanti dagli spettri

Le informazioni analitiche contenute nelle bande di spettri NIR, di solito ampiamente sovrapposte, sono difficilmente selettive e influenzate dalle caratteristiche fisiche, chimiche e strutturali. Inoltre, le differenze tra i campioni possono causare lievi differenze spettrali difficili da distinguere ad occhio nudo.

Per questi motivi, la spettroscopia NIR richiede delle *procedure chemiometriche* per estrarre quante più informazioni pertinenti possibile dai dati spettrali.

Le due tecniche, NIR e chemiometria, sono strettamente correlati. La spettroscopia NIR non avrebbe mai raggiunto il suo attuale stadio di sviluppo senza la chemiometria.

Le informazioni analitiche contenute negli spettri NIR possono essere estratte con vari *metodi di analisi multivariata* correlando diverse variabili analitiche (come le frequenze e le intensità di assorbimento) a proprietà (come concentrazione) dell'analita.

Lo scopo dei metodi di analisi multivariata è la costruzione di *modelli* in grado di garantire precisione e accuratezza nel prevedere le caratteristiche e le proprietà di campioni sconosciuti. Il processo del metodo è descritto nella tabella seguente.

	<i>Passo</i>	<i>Scopo</i>
1	Scelta dei campioni di riferimento (trainig set)	Raccogliere un insieme di campioni rappresentativi dell'intera popolazione
2	Registrazione gli spettri NIR	Raccogliere informazioni chimico-fisico in modo riproducibile
3	Eseguire appropriati trattamenti degli spettri (eliminare contributi indesiderati (come spostamenti e dispersione)).	Ridurre il numero delle variabili.
4	Costruzione del modello	Correlare le proprietà dello spettro con la struttura dei campioni con metodi multivariati
5	Validazione del modello	Garantire il grado di predizione del modello in campioni diversi da quelli di riferimento (test set)

Un certo numero di metodi di analisi multivariata possono essere classificati in base al loro scopo e agli algoritmi o procedure di calcolo che usano.

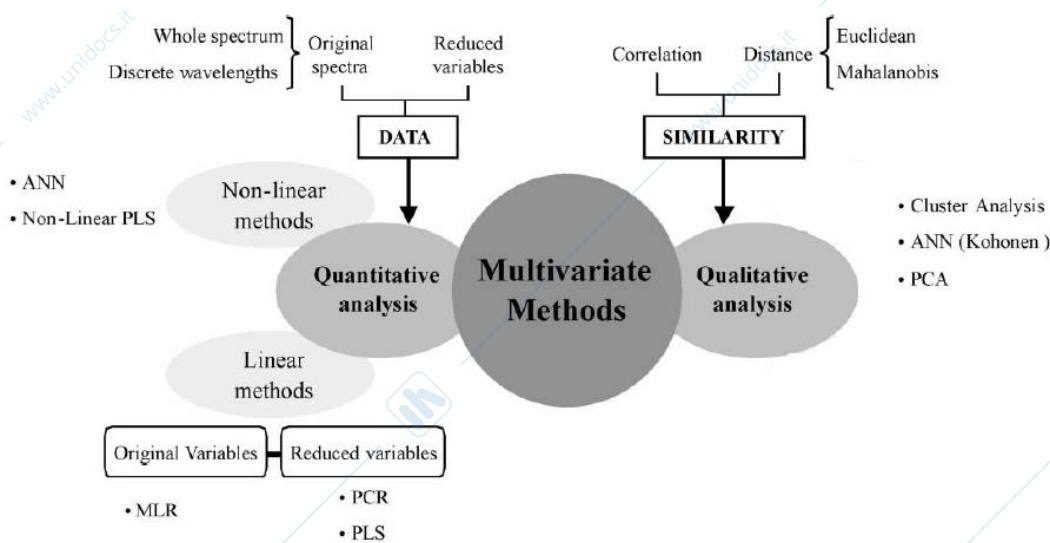
La figura seguente mostra i metodi più utilizzati. Il metodo di scelta dipenderà dalle caratteristiche dei campioni e dalla complessità del sistema in questione (ad esempio la sua non-linearità).

Una volta che i modelli sono costruiti, è necessario controllare la loro *capacità predittiva* su campioni, diversi da quelli utilizzati per la costruzione del modello ma sottoposti allo stesso trattamento .

I *metodi qualitativi multivariati* di analisi sono conosciuti collettivamente come “metodi di riconoscimento di forme” (*pattern-recognition*).

Questi metodi stabiliscono con criteri matematici, le somiglianze tra due campioni, o tra un campione e una classe.

Solitamente, la somiglianza è espressa come *coefficiente di correlazione* tra i campioni o come *misura di distanza* (*Mahalanobis o euclidea*) usando come variabili le grandezze (intensità e frequenza) ricavabili dagli spettri (*variabili originali*) o una elaborazione di queste (*componenti principali o variabili latenti*) ottenuta attraverso una *PCA (analisi delle componenti principali)*. Attraverso la PCA si procede ad una diminuzione del numero delle variabili senza perdere la qualità dell'informazione.



La più semplice analisi multivariata è il metodo della *regressione lineare multipla* (MLR), che di solito usa un numero limitato di variabili (meno di cinque valori di assorbimento a lunghezze d'onda ritenute più descrittive).

I metodi di regressione multivariata, più frequentemente utilizzati nella spettroscopia NIR sono la *regressione sulle componenti principali* (PCR) e la *regressione parziale sui minimi quadrati* (PLS). Entrambi i metodi possono essere utilizzati in specifiche regioni spettrali o sull'intero spettro, e permettono di inserire più informazioni nella costruzione del modello.

La PCR utilizza i componenti principali calcolati con la PCA, mentre PLS trova le indicazioni di maggiore variabilità delle proprietà (variabili) spettrali e delle proprietà (variabili) dei campioni in uno spazio descritto da nuove variabili (componenti PLS o fattori PLS) allo scopo di massimizzare l'informazione ed calcolando, infine, la migliore correlazione tra proprietà spettrali e quelle dei campioni quali la concentrazione o altro.

In alcuni casi, tuttavia, i dati spettrali e le proprietà dei campioni (come la concentrazione) non sono linearmente correlati (ciò può essere dovuto a fattori strumentali o alla natura chimica del campione). In questi casi si possono usare metodi non lineari quali le reti neurali artificiali (ANN). Gli ANN sono algoritmi iterativi di calcolo che correlano delle variabili sperimentali a una specifica risposta eseguendo una “correlazione a strati” utilizzando funzioni non lineari.

In alcuni casi, le variabili originali possono essere trasformate utilizzando una funzione non-lineare (logaritmica, esponenziale o quadratica) e fare la regressione con uno dei metodi lineari citati sopra.

Applicazioni della spettroscopia NIR nel settore farmaceutico

Le aziende farmaceutiche usano la spettroscopia NIR per il controllo dei prodotti nelle varie fasi del processo di fabbricazione.

Utilizzando i dispositivi disponibili in commercio, gli spettri delle materie prime può essere registrato senza la necessità di trasferire campioni al laboratorio.

Biblioteche di spettri NIR permettono di identificare qualitativamente le materie prime. In alcuni casi, gli spettri delle materie prime, possono anche essere registrati attraverso il film di protezione degli imballaggi.

Alcuni metodi di spettroscopia NIR, permettono in modo attendibile, di controllare la composizione chimica in vari tipi di preparati in diverse forme (come granuli, compresse, o compresse rivestite); in questo caso è sufficiente una singola calibrazione per determinare il contenuto del principio attivo in ogni forma farmaceutica.

Anche se alcune farmacopee hanno adottato i metodi NIR per l'identificazione di prodotti farmaceutici, la tecnica non è ancora stata ufficialmente approvata per le determinazioni quantitative.

APPLICATIONS OF NIR SPECTROSCOPY	
<p><u>AGRICULTURAL FOOD SECTOR</u></p> <ul style="list-style-type: none"> •Composition { <ul style="list-style-type: none"> •Grain: % moisture and protein •Milk and dairy products •Fruits and vegetables •Adulteration { <ul style="list-style-type: none"> •Beef hamburgers containing other types of meat •Orange juice with sugar •Quality { <ul style="list-style-type: none"> •Industrial vs. Slow-growing chicken •Fruit ripeness •Crop infections 	<p><u>PETROCHEMICAL SECTOR</u></p> <ul style="list-style-type: none"> •Petroleum fractions { <ul style="list-style-type: none"> •Light alkenes mixtures •Physical properties of bitumens •Fuels { <ul style="list-style-type: none"> •Chemical composition and additives •Gasoline octane index Diesel cetane index •Physical properties •Polymers { <ul style="list-style-type: none"> •Physical properties •Polymerization monitoring
<p><u>PHARMACEUTICAL SECTOR</u></p> <ul style="list-style-type: none"> •Manufacturing steps { <ul style="list-style-type: none"> •Raw materials •Intermediate products •End Products { <ul style="list-style-type: none"> •Active principles •Excipients •Intact Tablets •Packaged products 	<p><u>CLINICAL SECTOR</u></p> <ul style="list-style-type: none"> •Human serum { <ul style="list-style-type: none"> •Glucose •Proteins •Tumours •Tissue oxigenation <p style="text-align: right;">} In-vitro and In-vivo assays</p>
<p><u>ENVIRONMENTAL SECTOR</u></p> <ul style="list-style-type: none"> •Recycling: Characterization of plastics (PVC, PET, PS, ...) •Soil contamination { <ul style="list-style-type: none"> •Motor oils •Fuels 	<p><u>MISCELLANEOUS</u></p> <ul style="list-style-type: none"> •Process control •Textiles { <ul style="list-style-type: none"> •Cotton fibers •Finishing oils in fibres •Leather tanning

SPETTROFOTOMETRIA in ASSORBIMENTO ATOMICO

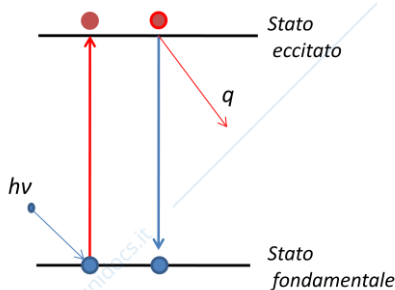
L'assorbimento atomico (AAS) è una delle tecniche più usate per l'analisi degli elementi in tracce in matrici di ogni genere (acque, terreni, alimenti, leghe metalliche, nell'analisi farmaceutica per effettuare la determinazione dei metalli residui nei farmaci provenienti da processi di fabbricazione). L'AAS è usata quasi esclusivamente per l'analisi quantitativa, ma anche qualitativa essendo gli spettri di assorbimento atomico caratteristici per ogni atomo (questo è dovuto alla specifica distribuzione energetica degli orbitali).

Questa tecnica è altamente specifica (e questo è un indubbio vantaggio), ma ha dei limiti in quanto è applicabile quasi esclusivamente ad elementi metallici e ciascun elemento richiede una diversa sorgente di radiazione (lampada a catodo cavo)

L'elemento in esame viene atomizzato e bersagliato con radiazioni di lunghezza d'onda opportuna; per effetto dell'assorbimento atomico, l'intensità del raggio diminuisce e l'attenuazione può essere correlata alla quantità o concentrazione dell'elemento nel campione mediante una legge formalmente analoga alla legge di Lambert-Beer.

Le righe di risonanza

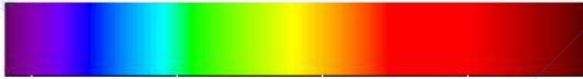
Quando un atomo viene posto nelle condizioni di acquistare energia elettromagnetica di energia (frequenza) adeguata, uno o più elettroni esterni possono venire promossi ad orbitali con maggiore energia. Pertanto l'atomo, che si trovava nella sua configurazione elettronica normale (o *stato energetico fondamentale*) raggiunge un livello energetico maggiore e quindi meno stabile (*stato eccitato*). Da questo stato eccitato decade rapidamente, tornando allo stato fondamentale e restituendo all'ambiente l'energia appena acquistata .



Questo processo di decadimento energetico, che consiste nel ritorno degli elettroni eccitati agli orbitali primitivi, avviene con un meccanismo di rilassamento non radiante (*quenching*) ovvero prevalentemente per via termica, nel senso che l'energia accumulata viene dispersa mediante urti tra particelle.

Per ogni atomo sono, pertanto, possibili spettri di assorbimento atomico caratteristici, costituiti da una serie di righe, dette *righe di risonanza*, la cui intensità è proporzionale alla probabilità della transizione elettronica corrispondente.

Spettro continuo



Righe di emissione



Righe di assorbimento



Il termine riga di risonanza sta ad indicare in generale tutte le transizioni che partono dal livello fondamentale.

Le righe che si osservano non sono veramente monocromatiche ma hanno un'ampiezza di circa 2×10^{-3} nm. L'allargamento della riga spettrale deriva dalla somma di tre contributi:

- *allargamento di Lorentz* : gli atomi si urtano continuamente e le collisioni fanno variare, anche se di poco, i livelli energetici degli atomi stessi (di conseguenza l'assorbimento delle radiazioni avviene a frequenze non rigorosamente esatte, ma entro una ristrettissima gamma di queste). Dato che gli urti sono casuali, si avrà una banda (banda molto ristretta di frequenze) con andamento gaussiano.

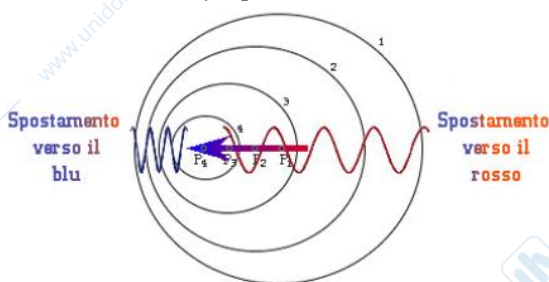
- *allargamento Doppler* : gli atomi sono in movimento con velocità diverse e quindi sono soggetti all'effetto Doppler, ovvero "vedranno" i fotoni spostati verso il rosso o verso il blu, assorbendo fotoni di energie (frequenza) diverse nel sistema di riferimento dell'osservatore.

Più è alta la temperatura alla quale si trovano gli atomi, più è grande la differenza di velocità, e più larga sarà la riga.

L'effetto Doppler è un cambiamento apparente della frequenza o della lunghezza d'onda di un'onda percepita da un osservatore che si trova in movimento rispetto alla sorgente delle onde.

Quindi, se la sorgente della radiazione è in movimento rispetto all'osservatore, allora le righe dello spettro si spostano in funzione della velocità relativa. Questo avviene perché cambia il numero di onde intercettate nell'unità di tempo, come si vede dalla figura in basso.

Se la sorgente si avvicina all'osservatore, la frequenza osservata aumenta (osservatore a sinistra). Se invece si allontana, allora la frequenza osservata diminuisce (osservatore a destra).



- *allargamento naturale* : secondo il principio di indeterminazione di Heisenberg (il principio sostiene che non è possibile conoscere simultaneamente la posizione e la velocità di un dato oggetto con precisione arbitraria) esiste una precisa relazione tra il tempo, non che un atomo trascorre in un determinato stato quantico (come lo stato eccitato) e l'energia di tale stato.

L'energia non ha un valore ben definito, ma si colloca in un intervallo di possibili valori:

$$\Delta E \cdot \Delta t \geq \frac{h}{2\pi}$$

per cui: $\Delta E \rightarrow 0$ per $\Delta t \rightarrow \infty$ e $\Delta E \rightarrow \infty$ per $\Delta t \rightarrow 0$ dove ΔE rappresenta la differenza di energia tra stato eccitato e stato fondamentale.

Relazione tra assorbimento atomico e concentrazione

Per determinare la quantità di un elemento è necessario atomizzare il campione in cui è contenuto, eccitare i suoi atomi con radiazioni di opportuna lunghezza d'onda e misurare la quantità della radiazione assorbita.

L'atomizzazione del campione si ottiene sottoponendolo in un apposito bruciatore o fornello ad una temperatura di 2000-3000°C. A queste temperature di esercizio (relativamente basse!) la maggior parte degli atomi si trova nello stato fondamentale e una minima parte in uno stato termicamente eccitato; questi atomi, eccitati, non partecipano al processo di assorbimento.

Il rapporto tra numero di atomi eccitati rispetto al numero degli atomi allo stato fondamentale è dato dall'espressione:

$$\frac{N_{eccitati}}{N_{stato\ fondamentale}} = e^{\frac{\Delta E}{kT}}$$

Dove ΔE rappresenta la differenza di energia tra stato eccitato e stato fondamentale

L'assorbimento, che dipende dal numero di atomi nello stato fondamentale, è direttamente proporzionale all'intera popolazione di atomi presenti sul cammino ottico della radiazione e quindi alla quantità o concentrazione dell'elemento presente nel campione.

In queste condizioni l'assorbimento atomico sia pure in un intervallo di linearità abbastanza ristretto segue la legge di Lambert-Beer, descritta per l'assorbimento molecolare.

Per un generico elemento eccitato da una radiazione monocromatica i cui atomi siano dispersi in fase gassosa abbiamo che l'assorbanza (A) è data da:

$$A = x \cdot b \cdot N$$

Dove:

x è il coefficiente di assorbimento (atomico) per la specifica radiazione

b lo spessore dello strato assorbente (*cammino ottico*)

N il numero totale di atomi liberi

La legge di Lambert-Beer è rispettata anche in questo caso :

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

Dove:

I_0 è l'intensità della radiazione entrante nel cammino ottico

I è l'intensità della radiazione emergente dal cammino ottico

Lo spettrometro

La spettrometria di assorbimento atomico (AAS) è ancora oggi (l'introduzione come procedura analitica è avvenuta intorno al 1955) una tecnica irrinunciabile per qualunque laboratorio di analisi, nonostante l'introduzione di tecniche alternative basate sull'emissione in plasma (ICP).

Questo è dovuto principalmente alla sua elevata specificità e selettività, nonché al fatto che è una strumentazione d'uso relativamente semplice.

Nella spettrometria AAS, l'intervallo utile di lunghezze d'onda dipende dalla sorgente della radiazione, dai componenti del cammino ottico e dal rivelatore.

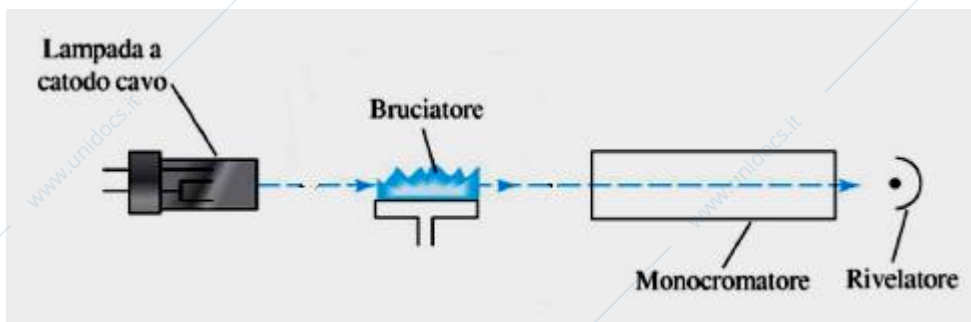
In pratica il campo spettrale va da 852,1 nm, la lunghezza d'onda più sensibile per il cesio, a 193,7 nm, la lunghezza d'onda più usata per l'arsenico: lo spettrometro per AAS opera perciò nel campo spettrale degli spettrofotometri UV-vis.

Lo spettrometro è costituito da:

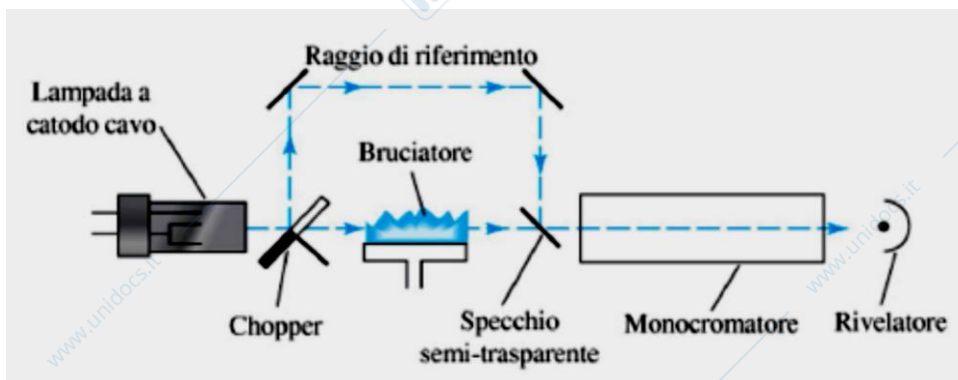
- sorgente di radiazioni
- sistema di atomizzazione
- monocromatore
- rivelatore

Lo spettrometro per assorbimento atomico può essere di tipo *monoraggio* o *doppio raggio*.

Nella versione *monoraggio* la sorgente emette solo le radiazioni (pressoché monocromatiche) dell'elemento da determinare.



Nello strumento a *doppio raggio* le differenze sono limitate alla presenza ed alla funzione del raggio di riferimento (vedi illustrazione schematica riportata nella figura seguente).



Come si noterà, qui il raggio di riferimento non passa attraverso la zona di atomizzazione. Il suo compito, infatti, non è quello di passare attraverso il bianco (per avere un "bianco" sarebbe necessario avere due bruciatori identici, ma questo sarebbe impossibile perché la fiamma non è assolutamente uniforme in ogni suo punto) quanto quello di compensare le variazioni di intensità della sorgente, di sensibilità del rivelatore e le fluttuazioni del sistema elettronico in genere.

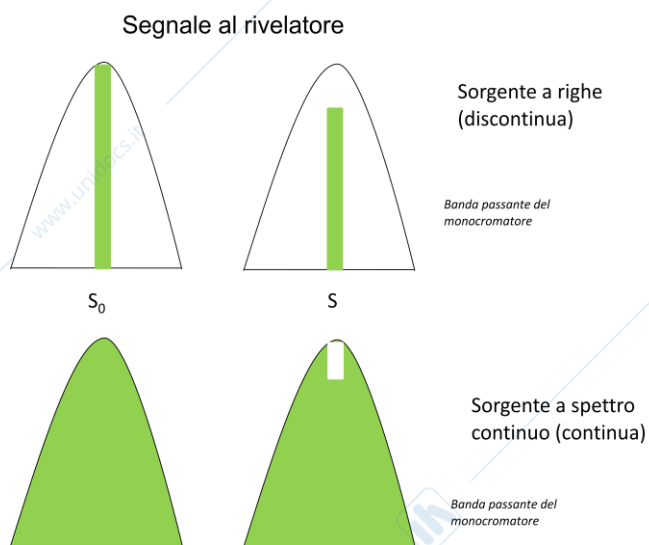
La qualità di uno spettrometro è, in gran parte, funzione del rapporto segnale/rumore (S/N), che dipende principalmente dalla qualità della sorgente luminosa, dal sistema di atomizzazione, dall'apparato di dispersione spettrale, e dalla qualità dei pezzi che compongono il sistema ottico.

Le sorgenti

In AAS la sorgente di radiazioni è un dispositivo in grado di generare radiazione elettromagnetica, generalmente mediante una scarica elettrica nel vuoto o in un plasma a bassa pressione. Le sorgenti poste in contenitori sigillati con un gas di riempimento stazionario sono chiamate *lampade*. In AAS

si preferiscono sorgenti che generano radiazioni discontinue a linee discrete in grado di emettere le linee spettrali di uno o più elementi: di questo tipo le più usate sono le lampade a *catodo cavo* e lampade a *scarica* senza elettrodi. Le sorgenti a spettro continuo trovano applicazioni, in genere, solo nella correzione del fondo.

La predilezione per le sorgenti a spettro discontinuo (spettro a righe) è essenzialmente dovuto al fatto che con sorgenti a spettro continuo in genere si ottengono bande molto larghe rispetto alle bande di assorbimento atomico e la differenza di intensità tra banda con radiazione specifica (riga) parzialmente assorbita e banda senza assorbimento è praticamente nulla e quindi difficilmente rilevabile. Quando la sorgente emette una specifica riga, la differenza tra assorbimento e non assorbimento è molto più evidente e quindi l'errore del rivelatore decisamente basso.



Se la sorgente è continua l'energia delle radiazioni che raggiungono il rivelatore (energia proporzionale alle aree S e S_0), in presenza o meno di assorbimento, è praticamente uguale. In queste condizioni risulta difficile misurare con adeguata precisione l'entità dell'assorbimento. Quando invece la sorgente emette uno spettro a righe, la misura dell'assorbimento è più agevole perché S e S_0 sono molto diverse fra loro.

Operativamente è fondamentale che il rivelatore possa "distinguere" la radiazione emessa dalla lampada rispetto a quella generata dall'eccitazione dell'elemento sottoposto all'atomizzazione con fiamma o altri sistemi generanti calore. A tale scopo la radiazione della lampada viene modulata per diversificarla dall'emissione dovuta dal sistema di atomizzazione che è ovviamente continua.

La modulazione può essere ottenuta o per mezzo di un settore rotante (*chopper*) o alimentando la sorgente con corrente alternata.

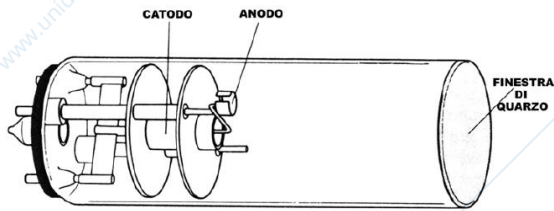
I tipi di sorgente discontinua (sorgenti a righe) più usati sono due:

- lampade a catodo cavo
- lampade a scarica di radiofrequenza

Lampade a catodo cavo (HCL)

Contengono un catodo cavo, generalmente cilindrico, composto dallo stesso elemento da analizzare, o da una sua lega. L'anodo è in genere di tungsteno o nichel.

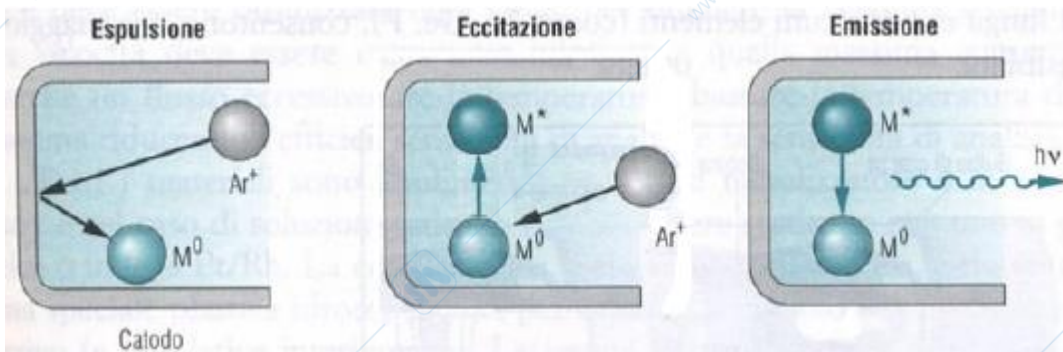
Il tutto è contenuto in un cilindro di vetro con una estremità di quarzo trasparente, riempito con un gas inerte (neon o argon) a una pressione di 1 kPa.



Applicando agli elettrodi una differenza di potenziale di 100-200V si verifica una parziale ionizzazione del gas di riempimento (nel caso di Ar si formano ioni Ar^+).

Gli ioni positivi Ar^+ , accelerati dal campo elettrico, urtano il catodo e provocano l'espulsione di atomi di metallo (corrispondente all'analita da determinare) allo stato fondamentale (*sputtering*) che collidendo successivamente con altri atomi di Ar^+ , si eccitano.

In seguito all'eccitazione e al conseguente rilassamento questi atomi emettono energia luminosa come banda spettrale a righe discrete.

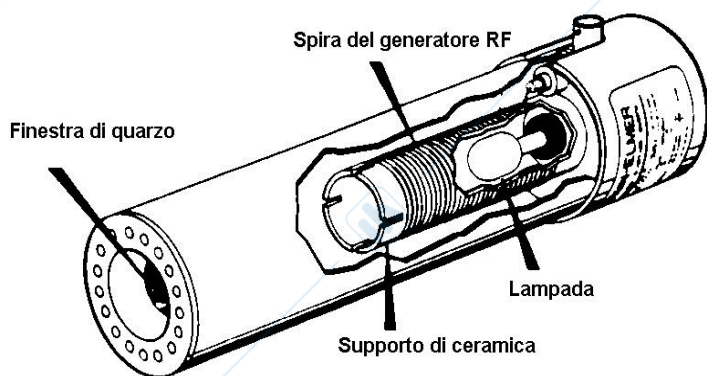


Esistono due tipi di lampade a catodo cavo, *lampade a singolo elemento* e *lampade multielemento*. Con lampade a singolo elemento si analizza un solo elemento e risultano più sensibili rispetto alle lampade multielemento. Con le lampade multielemento è possibile analizzare più elementi in successione. Il catodo in questo caso è ricoperto da più elementi (ovviamente compatibili) in lega. Sono più versatili delle prime perché consentono un certo risparmio, ma oltre ad una minore sensibilità presentano, talvolta, problemi di sovrapposizione delle righe spettrali. Le lampade hanno un periodo di esaurimento dipendente dalla velocità di vaporizzazione del elemento o gli elementi in lega di cui è costituito il catodo.

Lampade a scarica di radiofrequenza (RFL)

Sono costituite da un bulbo di vetro nel quale si trova la bobina di un generatore di radiofrequenza. All'interno del generatore si trova poi un bulbo di quarzo sigillato contenente a sua volta l'elemento da analizzare.

L'energia generata dal campo di radiofrequenza vaporizza l'elemento e ne eccita gli atomi provocando l'emissione dello spettro caratteristico con una intensità superiore a quello generato dalle lampade a catodo cavo.



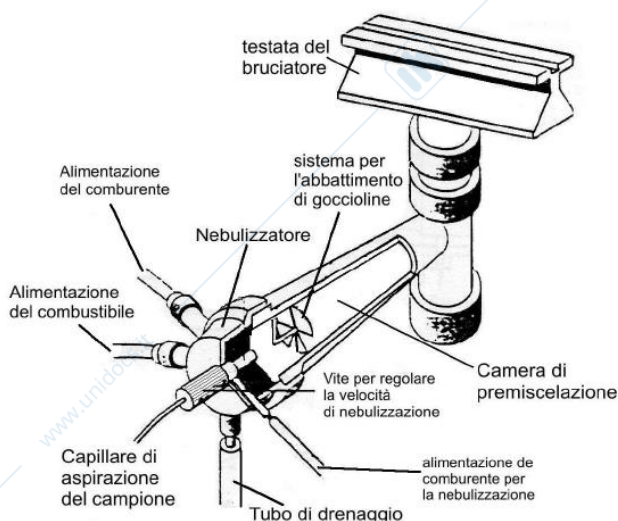
Sistemi di atomizzazione

I principali sistemi di atomizzazione usati nella pratica analitica sono l'atomizzazione con *fiamma*, con *fornetto di grafite*, attraverso un sistema *vapori freddi* e con formazione di *idruri volatili*.

Atomizzazione in fiamma

È il sistema di atomizzazione più comune.

Il dispositivo più utilizzato è un bruciatore a premiscelazione e a flusso laminare.



Il processo si basa sulla nebulizzazione di una aliquota di campione (sempre in soluzione) in una fiamma, la quale deve avere abbastanza energia per vaporizzarlo e atomizzarlo.

La soluzione viene aspirata attraverso un *nebulizzatore*, la cui velocità di aspirazione deve essere regolata ed ottimizzata; la velocità non deve superare un certo valore perché altrimenti si avrebbe un abbassamento della temperatura della fiamma, riducendo così l'efficienza dell'atomizzazione e quindi, la sensibilità dell'analisi.

Dal nebulizzatore la soluzione viene introdotta come spray di aerosol fine nella *camera di premiscelazione* dove l'aerosol del campione viene mescolato con una miscela combustibile-comburente.

Il gas comburente (aria o protossido di azoto) serve anche da gas di trasporto per il nebulizzatore.

La miscela ottenuta viene quindi trasferita nel *bruciatore* vero e proprio dove avviene la volatilizzazione e l'atomizzazione.

I materiali con cui sono costruiti i dispositivi del bruciatore sono studiati per essere i più inerti possibili, così il nebulizzatore è di acciaio inox mentre la testata è di titanio.

Possono essere usati vari tipi miscele combustibile-comburente per ottenere fiamme a diversa temperatura utilizzabili a seconda dell'elemento da analizzare, le miscele più comuni sono riportate nella tabella seguente.

TIPO DI FIAMMA	TEMPERATURE RAGGIUNTE	ELEMENTI ANALIZZABILI
Aria – acetilene	≈ 2300° C	La più usata, è per tutti i metalli
Aria – idrogeno	≈ 2050° C	Metalli alcalini
Protossido d'azoto – acetilene	≈ 2800° C	Per elementi difficilmente ionizzabili perché tendono a dare composti indissociati (ossidi)

Affinché si realizzi il processo di assorbimento atomico è necessario che la specie chimica interessata venga trasformata in atomi individuali, a partire da ioni.

Il campione nebulizzato viene aspirato nel bruciatore dove si miscela con il combustibile e il comburente. Sulla fiamma il solvente evapora ed il sale disciolto fonde, evaporando poi a sua volta. L'elemento in esame si trova legato ad un anione allo stato gassoso e attraverso l'energia fornita, dalla fiamma (o del fornello) si ha la dissociazione in atomi, e la successiva eccitazione.

La fiamma aria-acetilene è in genere sufficiente per atomizzare la maggior parte degli elementi determinabili via assorbimento atomico.

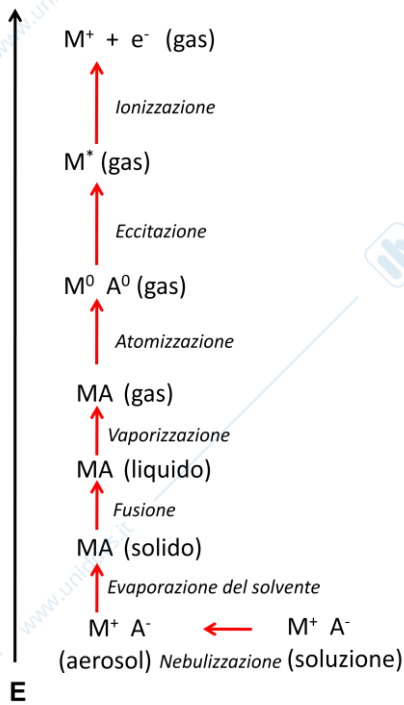
Le fiamme più calde sono necessarie per gli elementi più refrattari (con alte temperature di vaporizzazione) o per decomporre composti come ossidi metallici (Al_2O_3 , BaO ,...) formati durante il passaggio attraverso la fiamma.

Con temperature troppo basse si può avere scarsa atomizzazione con formazione di specie molecolari e composti refrattari. Pertanto fiamme meno calde aumentano le interferenze perché l'energia che forniscono è insufficiente all'atomizzazione completa.

Le fasi, dipendenti dall'energia fornita, che portano alla atomizzazione e infine alla ionizzazione di un elemento sono riportate nello schema seguente. E' ovvio che l'unica fase "utile" per questa tecnica è l'atomizzazione dell'elemento. L'eccitazione e la ionizzazione sono eventi da ridurre al minimo perché provocano interferenze con l'assorbimento delle specie atomizzate.

I requisiti essenziali di un bruciatore devono essere i seguenti:

- sicurezza operativa in un ampio intervallo di rapporto ossidante/combustibile
- alta stabilità termica e ridotto tempo di riscaldamento
- resistenza alla corrosione
- geometria della fiamma stabile
- lunghezza massima possibile per sfruttare al massimo la legge di Lambert-Beer
- bassa tendenza a formare incrostazioni anche con soluzioni con solidi sospesi.



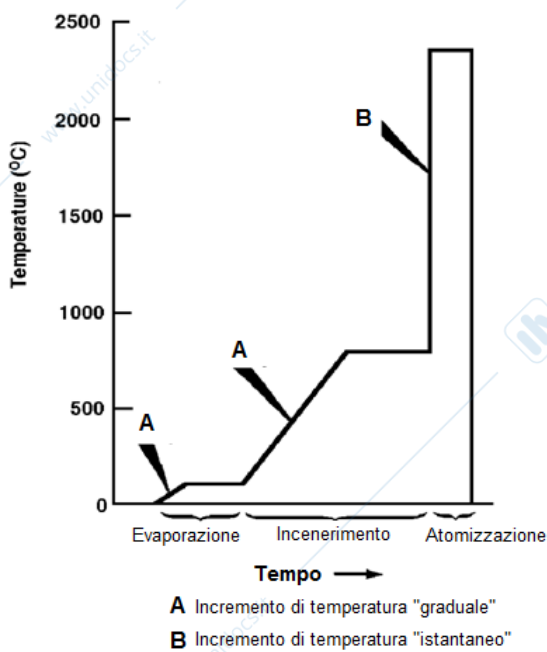
Atomizzazione in fornello di grafite

Si tratta di un apparato che consente di lavorare su aliquote molto piccole di campione, di abbassare notevolmente (1000 volte) i limiti di rivelabilità e di avere tempi brevi di analisi.

Un piccolo volume di campione, allo stato solido o in soluzione (20 – 100 μl), viene introdotto nel tubo di grafite, posto sul cammino ottico della radiazione emessa dalla sorgente.

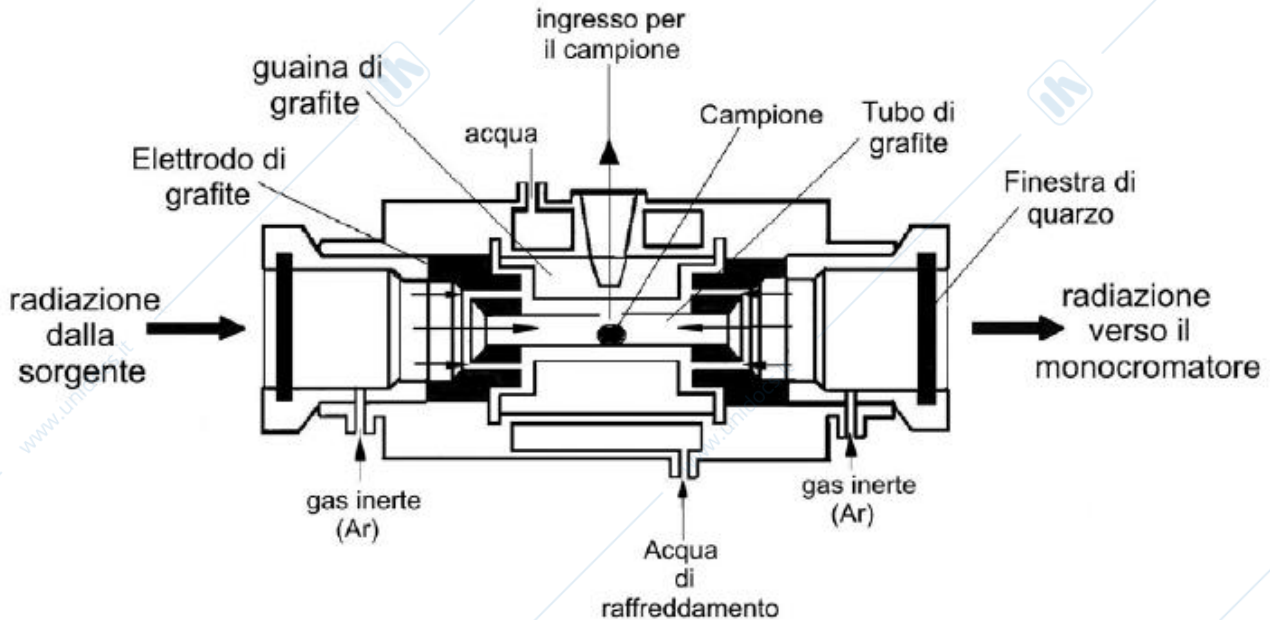
Nel tubo fluisce un gas inerte, rendendo l'atmosfera non ossidante e quindi adatta a far rimanere gli atomi del campione allo stato fondamentale.

Il tubo (essendo di grafite, cioè un materiale inerte ad alta conducibilità) viene riscaldato elettricamente secondo un programma a tre stadi, condotti a temperature crescenti, che portano alla *evaporazione* del solvente, all'*incenerimento* e alla successiva *atomizzazione* del campione.



La misura di assorbimento viene fatta sui vapori atomici che si liberano rapidamente nello stadio finale del riscaldamento.

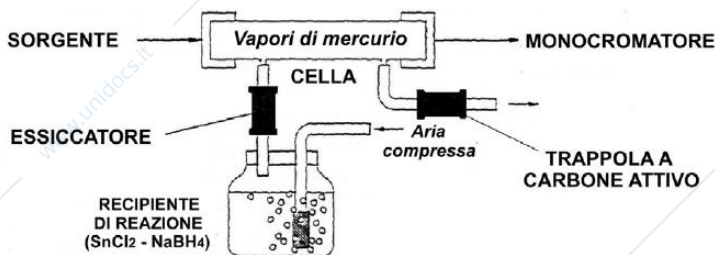
Il segnale che si ottiene è un picco la cui area (altezza) è direttamente proporzionale alla concentrazione dell'analita presente allo stato atomico nel tubo di grafite.



Sistema a vapori freddi

È un sistema usato prevalentemente per la determinazione del Mercurio. Il campione viene fatto reagire con un potente riducente (SnCl_2 o NaBH_4) che riduce l' Hg^+ a Hg^0 .

Gli atomi di mercurio (Hg^0) vengono allontanati dalla soluzione facendovi gorgogliare dell'aria, che viene successivamente essiccata e indirizzata su una cella a tubo orizzontale di uno spettrofotometro AAS attraversata dalla radiazione prodotta da una lampada a Mercurio. Con questo metodo è possibile rilevare tracce di mercurio fino a 9 ng/l.



Sistema con formazione di idruri volatili

Si preparano gli idruri dei metalli da determinare (As, Se, Sb, Bi, Ge, Pb, Sn, Te) per reazione con NaBH_4 in recipienti sigillati.

Gli idruri vengono trascinati, mediante correnti di Argon, su una fiamma a bassa temperatura aria/argon-idrogeno ($300-800^\circ\text{C}$) su cui vengono bruciati.

Il segnale è un picco, la cui altezza è direttamente proporzionale alla concentrazione del metallo nel campione.

Con questa tecnica i limiti di rivelabilità si abbassano fino al di sotto dei $\mu\text{g/l}$ e si riducono le interferenze dovute alle matrici

Interferenze nelle determinazioni e sistemi di correzione del assorbimento di fondo

Il numero di atomi che si formano nella fiamma determina la quantità di luce assorbita. Se un componente qualsiasi presente nella soluzione modifica il comportamento (e il numero) degli atomi che arrivano alla fiamma, le letture di assorbanza possono risultare anche molto diverse.

È quindi molto importante che le soluzioni standard usate per costruire la retta di taratura siano il più possibile simili alla soluzione da analizzare.

Durante un'analisi mediante spettrofotometria di assorbimento atomico possono verificarsi numerose interferenze; queste vengono distinte in *interferenze spettrali* e *interferenze non spettrali*.

Le interferenze non spettrali si riferiscono alle interferenze *chimiche*, *fisiche* e da *ionizzazione*.

Interferenze chimiche

Le interferenze chimiche sono spesso dovute a reazioni indesiderate quali la formazione, durante le fasi che precedono l'atomizzazione, di *sali termicamente molto stabili* che non rendono possibile l'atomizzazione del metallo in esame.

Se si conduce un'analisi spettroscopica mediante utilizzo di atomizzatore a fiamma, questo tipo di interferenza può essere eliminato:

- scegliendo la *fiamma che meglio si adatta al problema*
- usando un metallo che fornisca uno *ione competitivo*. In questo caso le soluzioni dell'analita vengono addizionate con un catione che, rispetto al catione in esame, subisca preferibilmente l'azione dell'anione interferente rendendo così disponibile l'analita.
- proteggendo l'elemento in esame mediante *formazione di un complesso* molto stabile con un complessante di natura organica (spesso con EDTA) che impedisca, o comunque riduca, le reazioni tra il catione e gli anioni interferenti. Il complesso così trattato, al momento dell'atomizzazione nella fiamma, sarà circondato da una nube di sostanze riducenti che vanificherà le aggressioni da parte di anioni interferenti.

Ad esempio le interferenze dovute alla formazione di composti refrattari all'atomizzazione, come nel caso della determinazione del calcio in presenza di fosfati, il pirofosfato di calcio, si possono eliminare usando *una fiamma più calda*, aggiungendo una piccolissima quantità di *lantano*, che dà un fosfato più stabile di quello di calcio oppure aggiungendo un eccesso di EDTA che complessa il calcio, dando il chelato Ca-EDTA che si decompone facilmente e rapidamente in fiamma, e quindi non interferisce.

Interferenze fisiche

Queste derivano dalle caratteristiche fisiche della matrice in cui si trova l'elemento da analizzare.

Se la soluzione è più o meno viscosa degli standard, o se ha una tensione superficiale diversa, il comportamento nella fase di nebulizzazione sarà differente.

Si può migliorare la resa di nebulizzazione con l'aggiunta di solventi organici (etanolo) o estraendo il campione in solventi organici (come il metil-etil-chetone) dopo averlo opportunamente complessato, diminuendo, in questo modo, la viscosità della soluzione.

In questi casi è necessario preparare gli standard opportunamente, in modo che siano il più possibile simili al campione (questo mediante l'impiego del metodo delle aggiunte. Vedi § *determinazione della concentrazione*).

Interferenze da ionizzazione

La fiamma aria-acetilene, avendo temperature relativamente elevate, può causare una parziale ionizzazione degli atomi di elementi alcalini e alcalino-terrosi.

Per ovviare a questo problema si usa aggiungere al campione e agli standard un diverso metallo alcalino (*agente schermante*) in concentrazione massiccia; in tal modo sarà quest'ultimo a ionizzarsi

principalmente, creando al contempo, a causa del grande eccesso di elettroni nella fiamma, un'atmosfera riducente che inibirà la ionizzazione dell'elemento che interessa.

Le interferenze spettrali sono dovute alla sovrapposizioni di segnali di assorbimento del campione e delle sostanze interferenti alla lunghezza d'onda analitica.

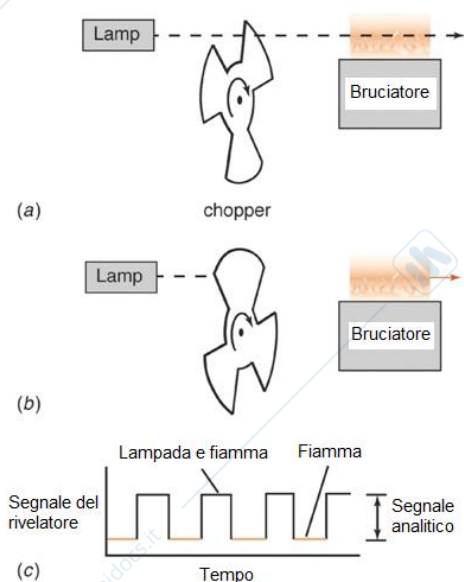
Possono avere interferenze spettrali da *emissione, atomiche, molecolari, di scattering e interferenze non specifiche*.

Interferenze spettrali da emissione

Sono dovute all'emissione o dell'elemento eccitato oppure delle molte specie che si formano durante i processi in fiamma. Si può evitare usando luce pulsata.

Come rappresentato nella figura seguente il raggio proveniente dalla lampada viene interrotto periodicamente dal chopper rotante. Quando il raggio è interrotto, il segnale che raggiunge il rivelatore è dovuto alle emissioni della fiamma, mentre quando il raggio non è interrotto, al rivelatore giungono la somma dei segnali provenienti dalla lampada e dalla fiamma. La differenza tra questi due segnali è il segnale analitico desiderato.

Anche il fornello di grafite ha problemi analoghi.



Interferenze spettrali atomiche

Avvengono quando nella matrice si trova un elemento, diverso dall'analita, che dà una riga spettrale vicino alla riga analitica; questo causa un aumento dell'assorbanza.

Le sovrapposizioni non sono molto frequenti perché la lampada fornisce bande passanti molto strette (0,002 nm).

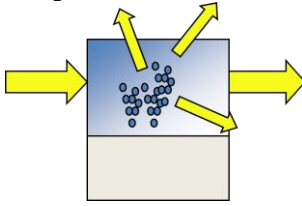
Interferenze spettrali molecolari

La presenza di specie molecolari presenti nella fiamma può generare notevoli errori nell'analisi. Per esempio la presenza di calcio nella matrice di un campione di bario può provocare un errore (in eccesso) nella determinazione del bario. Infatti, la specie molecolare CaOH assorbe 554 nm, molto vicino alla riga di assorbimento del bario (553,6).

Questo tipo di interferenza può essere minimizzato usando fiamme con temperature più elevate, migliorando l'efficienza di atomizzazione.

Interferenze spettrali da scattering

Nella fiamma possono esservi particelle solide o gocce di soluzione non perfettamente vaporizzate che provocano fenomeni di diffusione della luce (scattering), aumentando l'assorbimento.



L'intensità della radiazione diffusa è inversamente proporzionale alla quarta potenza della lunghezza d'onda. Questo fatto può creare problemi a lunghezze d'onda piccole (< 250 nm). Questo tipo di interferenza può essere minimizzato cambiando il rapporto combustibile-comburente per ottenere una completa distruzione della matrice. Non si può ovviare a questo problema in caso di analisi di un metallo volatile in matrice termoresistente.

Interferenze non specifiche (assorbimento o rumore di fondo)

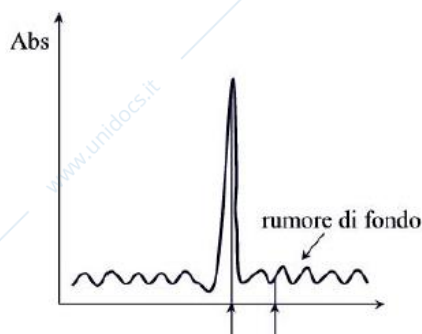
Le interferenze derivanti dall'assorbimento di radiazioni da parte di molecole e radicali presenti nella fiamma sono dette anche non specifiche. Questo assorbimento si somma a quello specifico del solo analita ed è detto *assorbimento del fondo*.

L'assorbimento di fondo si manifesta sulla radiazione di risonanza emessa dalla lampada, quindi risulta modulata dal chopper.

I metodi per eliminare questa interferenza sono il *metodo delle linee*, l'uso di un sistema a *sorgente continua di una lampada al deuterio* nel caso che la lunghezza d'onda dell'analisi sia nell'UV, *l'effetto Zeeman* o più semplicemente con il *metodo delle aggiunte* (Vedi § *determinazione della concentrazione*).

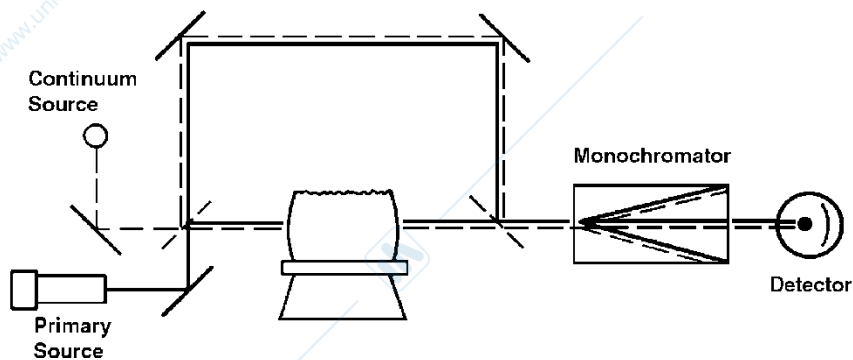
Correzione del fondo con il Metodo delle linee

Per eliminare il rumore di fondo si misura l'assorbimento vicino al picco di assorbimento dell'analita, dovuto solo al fondo, e si sottrae all'assorbimento dell'analita.

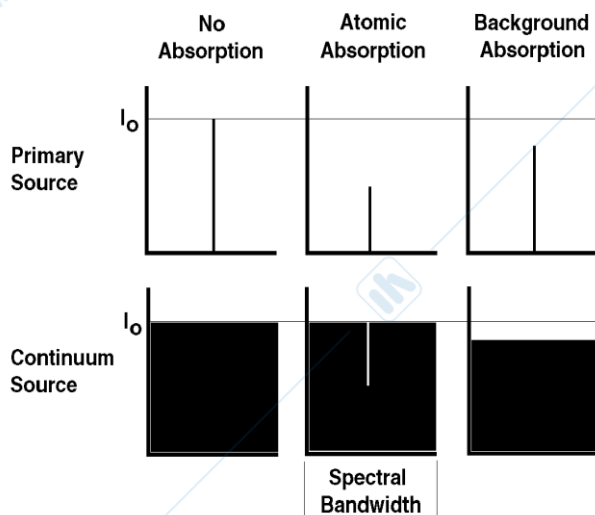


Correzione del fondo con un Sistema a sorgente continua (lampada al deuterio)

In questo caso deve essere disponibile uno strumento doppio raggio nel quale affiancare una sorgente continua al deuterio (banda passante 0,2 nm) alla normale sorgente a catodo cavo (banda passante 0,002 nm).



Le due diverse sorgenti risponderanno in modo diverso all'assorbimento specifico dovuto all'analita rispetto a quello aspecifico dovuto al fondo. L'assorbimento specifico è trascurabile sulla sorgente continua mentre l'assorbimento di fondo, a banda larga, assorbe in maniera significativa la luce di entrambi le sorgenti e le decurta approssimativamente della stessa percentuale.



In questo modo è possibile determinare, sull'intensità della banda della sorgente continua, la percentuale di assorbimento dovuto al fondo in quanto, data la banda molto larga è trascurabile l'assorbimento specifico dell'analita. Visto che l'assorbimento di fondo si presenta nella stessa percentuale in entrambe le sorgenti si può calcolare l'assorbimento dovuto all'analita sulla radiazione emessa dalla sorgente primaria (lampada a catodo cavo).

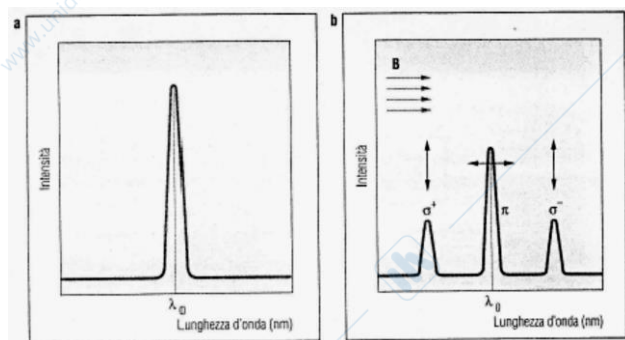
$$\% A_{\text{netto}} = \% A_{\text{catodo cavo}} - \% A_{\text{deuterio}}$$

Correzione del fondo con l'Effetto Zeeman

Questo sistema si presta particolarmente per analisi condotte con il fornello di grafite.

Quando un atomo è immerso in un campo magnetico (B) di elevata intensità, le righe spettrali di assorbimento (o di emissione) si suddividono in più componenti, diversamente polarizzate.

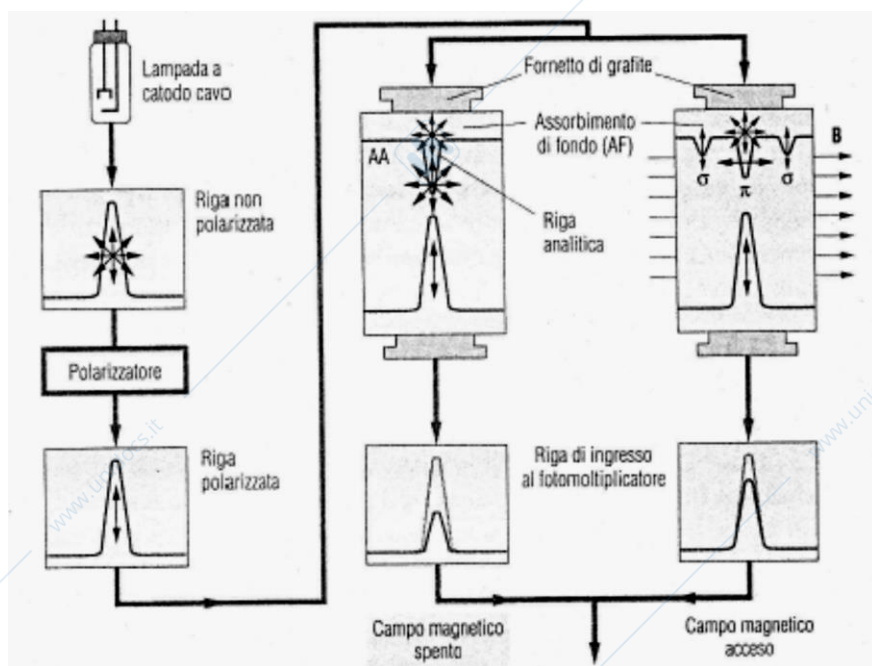
Nel caso più semplice (effetto Zeeman normale), la riga spettrale, osservata in direzione perpendicolare al campo magnetico appare suddivisa in tre componenti; una centrale (π), che cade alla frequenza di assorbimento (o emissione), e due laterali (σ), simmetriche rispetto alla prima.



La componente centrale è linearmente polarizzata, con il campo elettrico (E) che oscilla nella stessa direzione del campo magnetico; anche le due componenti laterali sono linearmente polarizzate, ma in una direzione ruotata di 90° .

Per sfruttare questo fenomeno, si usa un dispositivo che consente di applicare un campo magnetico trasversale, rispetto al sistema di atomizzazione, e pulsato a intervalli di pochi millisecondi. La riga emessa dalla sorgente viene linearmente polarizzata, in modo che il campo elettrico oscilli in direzione perpendicolare al campo magnetico.

Quando il campo magnetico è spento, la radiazione emessa dalla lampada subisce sia l'assorbimento del fondo sia quello dovuto all'analita.



Quando il campo magnetico è attivato, le righe di assorbimento risentono dell'effetto Zeeman e si suddividono in diverse componenti, ma solo la componente centrale (π) ha la lunghezza d'onda adatta per indurre assorbimento. Questa riga, però, è polarizzata in direzione perpendicolare alla riga emessa dalla lampada e quindi quest'ultima subisce solo l'assorbimento di fondo (non polarizzato).

Un sistema elettronico di elaborazione dei segnali esegue la differenza fra i due segnali, con e senza campo magnetico e calcola l'assorbimento netto dovuto all'analita.

Analisi quantitativa in AAS

Si usano le stesse metodologie viste per la spettroscopia di assorbimento UV-Vis ovvero:

- *Misura diretta dell'assorbanza*

In questo caso è necessario confrontare l'assorbanza della soluzione contenente l'analita con l'assorbanza di una soluzione dello standard

$$\frac{A_x}{A_0} = \frac{c_x}{c_0}$$

In questi casi è molto importante che la concentrazione della soluzione standard sia molto vicina alla concentrazione della soluzione incognita e che la matrice (presenza nella soluzione di altri componenti oltre all'analita) sia la stessa.

- *Metodo della curva (o retta) di taratura o di lavoro*

Anche in questo caso per poter applicare il metodo della curva di taratura è necessario scegliere i valori delle concentrazioni delle soluzioni a titolo noto in un intervallo che comprenda il valore della/e concentrazioni delle soluzioni da analizzare.

- *Metodo delle aggiunte*

È sicuramente il metodo consigliato per analisi con l'AAS perché questo metodo presenta il vantaggio di poter eseguire una determinazione senza conoscere la natura della matrice nel quale è disciolto o miscelato l'analita. In AAS il problema derivante dalla complessità delle matrici risulta maggiormente significativo.

La Farmacopea Ufficiale prevede solo il metodo della *curva di taratura* e il delle *aggiunte* standard.

SPETTROFOTOMETRIA in EMISSIONE

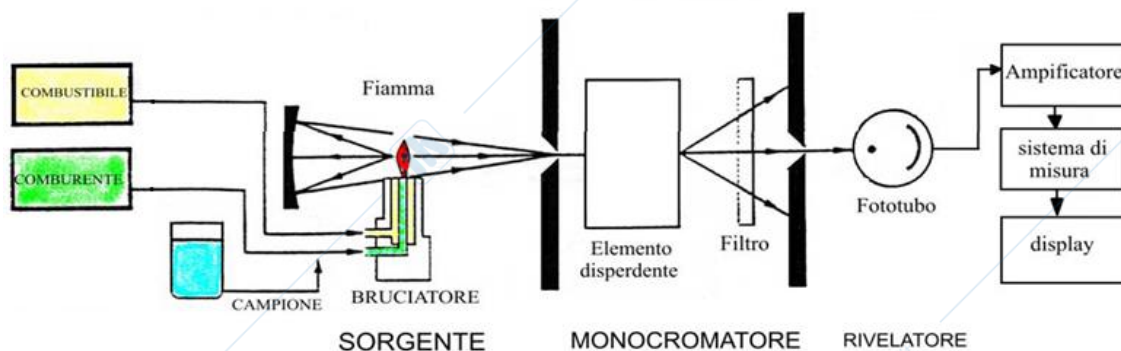
Spettroscopia in emissione in fiamma

La spettroscopia di emissione atomica che usa la fiamma (chiamata anche spettroscopia di emissione in fiamma o fotometria di fiamma), ha trovato larga applicazione per l'analisi elementare. Gli usi più importanti sono quelli della determinazione del sodio, potassio, litio e calcio, particolarmente in fluidi e tessuti biologici. Per la convenienza, velocità e relativa mancanza di interferenze, la spettroscopia di emissione di fiamma è diventato il metodo più usato per questi elementi, difficili da determinare con altre procedure.

Tale tecnica è stata usata anche, forse con meno successo, per la determinazione di oltre metà degli elementi della tabella periodica.

Lo strumento

Gli strumenti per lavorare in emissione di fiamma hanno un disegno simile a quelli dell'assorbimento atomico con fiamma, eccetto che in essi la fiamma agisce come sorgente di radiazioni; la lampada ad emissione a righe ed il chopper non sono perciò necessari.



Molti strumenti moderni sono adattabili sia a misure di emissione sia a misure di assorbimento.

Fotometri.

Per la determinazione di routine di metalli alcalini ed alcalinoterrosi spesso sono sufficienti semplici fotometri a filtro. Si usano fiamme a bassa temperatura per eliminare l'eccitazione della maggior parte degli altri metalli. Di conseguenza gli spettri sono semplici e si possono usare filtri ad interferenza per isolare la linea di emissione desiderata.

Diverse ditte di strumentazione forniscono fotometri a fiamma progettati specificamente per l'analisi del sodio, potassio e litio nel siero del sangue ed altri campioni biologici.

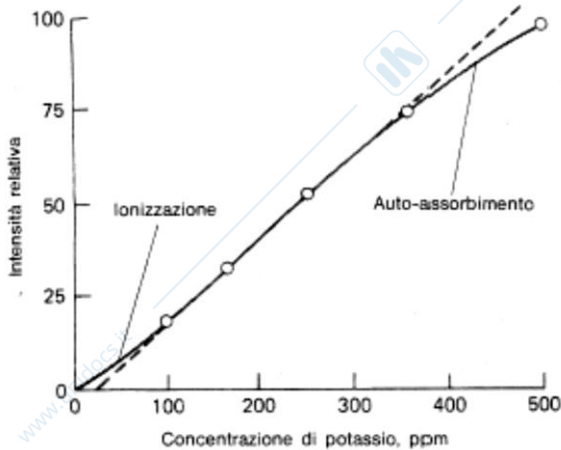
Interferenze

Le interferenze che si incontrano in spettroscopia di emissione di fiamma hanno la stessa natura, anche se incidenza diversa, di quelle dei metodi di assorbimento atomico.

Una interferenza tipica delle tecniche di emissione atomica è l'*autoassorbimento*.

Questo fenomeno è dovuto alle differenze di temperatura del sistema di eccitazione. Il centro di una fiamma è più caldo dell'esterno, cosicché gli atomi che emettono nel centro sono circondati da una regione più fredda che contiene una più grande frazione di atomi allo stato fondamentale; di conseguenza, si ha autoassorbimento della lunghezza d'onda di risonanza da parte degli atomi nello strato più freddo.

L'autoassorbimento e la ionizzazione producono una curva di taratura a forma di S che ha tre distinti segmenti.



Si osserva una relazione lineare fra intensità e concentrazioni solo a concentrazioni intermedie. La curvatura a basse concentrazioni è dovuta al grado sempre più alto di ionizzazione a mano a mano che le soluzioni sono più diluite. L'autoassorbimento causa deviazioni negative ad alte concentrazioni.

Analisi quantitativa in fotometria di fiamma

Le tecniche analitiche per la spettroscopia di emissione di fiamma sono simili a quelle descritte precedentemente per la spettroscopia di assorbimento atomico. Si usa, ed anche la Farmacopea Ufficiale lo prescrive, sia la *curva di taratura* che il *metodo delle aggiunte standard* (per compensare le variabili della fiamma).

Spettroscopia in emissione in sorgenti al plasma

Le sorgenti a plasma offrono diversi vantaggi sia rispetto ai metodi basati sulla emissione in fiamma, che a quelli basati sull'assorbimento atomico.

Per definizione, un plasma è una miscela di gas elettricamente conduttrice contenente una concentrazione significativa di elettroni e cationi. Nel plasma ad argon usato per analisi di emissione, le principali specie conduttrici sono gli ioni argon e gli elettroni, anche se possono contribuire alla conduzione anche i cationi del campione.

Una volta formati nel plasma, gli ioni argon sono in grado di assorbire sufficiente potenza dalla fonte di alimentazione tanto da mantenere la temperatura ad un livello al quale una ulteriore ionizzazione sostiene il plasma indefinitamente; si possono raggiungere temperature anche di 10000°K.

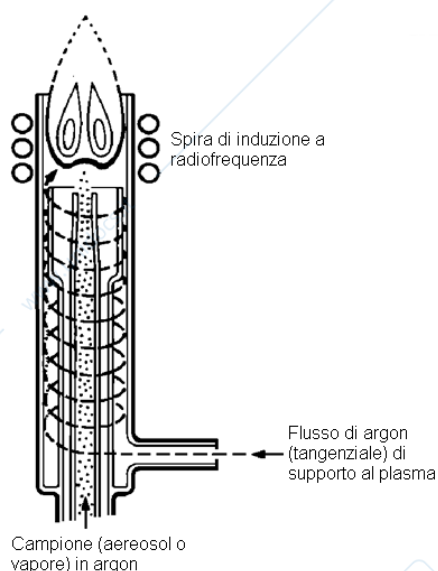
Nella spettroscopia a plasma con argon sono stati usati due tipi di alimentazione. Una è l'alimentazione in corrente continua, capace di mantenere una corrente di parecchi ampere fra elettrodi immersi in un plasma di argon. L'altra consiste in potenti generatori di radiazioni elettromagnetiche nel campo delle radio-frequenze e delle micro-onde.

La sorgente a radio-frequenze, o plasma ad accoppiamento induttivo (ICP) sembra essere quello che offre i maggiori vantaggi in termini di sensibilità e mancanza di interferenze. D'altra parte la

sorgente a plasma in corrente continua (DCP) ha il vantaggio della semplicità e di un più basso costo.

Sorgente al plasma ad accoppiamento induttivo (ICP)

Consiste di tre tubi di quarzo concentrici attraverso i quali fluisce argon con un flusso totale fra 11 e 17 l/min. Il diametro del tubo più largo è circa 2.5 cm. Alla sommità di questo tubo c'è una bobina (fatta solo di due spire) raffreddata ad acqua che è alimentata da un generatore a radio frequenza, capace di erogare una potenza di circa 2 kW ad una frequenza di circa 27 MHz.



La ionizzazione dell'argon che fluisce nel tubo centrale viene indotta dalle radiofrequenze. Il campo magnetico fluttuante induce ioni e elettroni presenti nel plasma, a compiere un percorso anulare. Il movimento del plasma genera il riscaldamento (dovuto alla resistenza al movimento stesso, (riscaldamento "ohmico"))

La temperatura del plasma (diverse migliaia di gradi Kelvin) da richiede un isolamento termico del cilindro esterno di quarzo ottenuto attraverso un flusso di argon tangenziale.

Il flusso di argon serve anche a centrare radialmente il plasma.

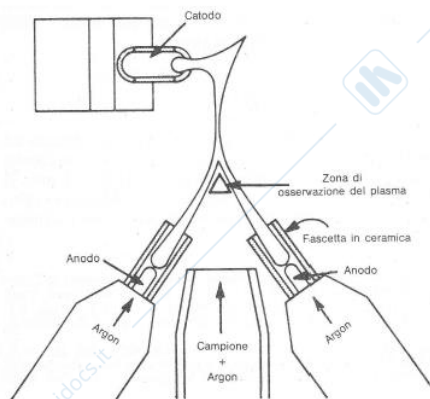
Il campione viene portato nella zona calda del plasma nella parte superiore dei tubi dall'argon, con un flusso di circa 1 l/min. attraverso il tubo centrale di quarzo. Il campione può essere sotto forma di aerosol, di vapore generato termicamente o di polvere finemente suddivisa.

Quando gli atomi del campione raggiungono il punto di osservazione del plasma, 15-20 mm sopra la bobina di induzione (dove la radiazione del fondo è libera dalla linea dell'argon) hanno totalizzato un tempo di residenza di circa 2 msec. a temperature che vanno da 6000 a 8000°K. Questi tempi e temperature sono da due a tre volte più grandi di quelli ottenibili con le fiamme di combustione più calde (acetilene-ossido diazoto). In queste condizioni l'atomizzazione è più completa e le interferenze chimiche che si incontrano sono minori. Gli effetti della interferenza da ionizzazione sono piccoli, o inesistenti, forse a causa della grande concentrazione di elettroni provenienti dalla ionizzazione dell'argon che reprime la ionizzazione dei componenti del campione.

Inoltre la temperatura del plasma, sui piano orizzontale, è relativamente uniforme e pertanto non si hanno effetti di auto-assorbimento; per questo motivo le curve di taratura tendono a rimanere lineari per diversi ordini di grandezza di concentrazione.

Sorgente al plasma in corrente continua (DCP)

Un disegno schematico di una sorgente a plasma a corrente continua è riportato nella figura seguente.



Questa sorgente di plasma a getto consiste di tre elettrodi disposti come una Y invertita.

Due anodi di grafite si posizionano sulle due braccia della Y mentre il catodo di tungsteno si posiziona sulla base invertita. L'argon fluisce dai due blocchi anodici verso il catodo. Il plasma a getto si forma portando per un istante il catodo a contatto con gli anodi. Si ha ionizzazione dell'argon e si sviluppa una corrente (di circa 14 A) che genera altri ioni in modo da sostenere la corrente indefinitamente. La temperatura al centro dell'arco è intorno a 10.000°K e nella zona di osservazione di circa 5.000°K. Il campione viene aspirato nell'area tra le due braccia della Y, dove è atomizzato, eccitato ed osservato.

Gli spettri prodotti dal plasma a getto tendono ad avere meno linee di quelli prodotti dai plasmi ad accoppiamento induttivo e le linee che si formano sono generalmente quelle degli atomi, piuttosto che degli ioni.

Le sensibilità che si ottengono con il plasma a getto sono di circa un ordine di grandezza più basse di quelle che si hanno con i plasmi ad accoppiamento induttivo.

La riproducibilità nei due sistemi è simile.

Il plasma a corrente continua richiede molto meno argon e l'alimentazione ausiliaria è più semplice e meno costosa. In compenso, gli elettrodi di grafite devono essere cambiati dopo poche ore, mentre con le sorgenti con accoppiamento induttivo è richiesta poca o nessuna manutenzione.

Applicazioni quantitative

Le sorgenti a plasma ad accoppiamento induttivo o a corrente continua forniscono risultati analitici quantitativi significativamente migliori delle altre sorgenti di emissione.

L'eccellenza di questi risultati deriva dalla alta stabilità, basso rumore, bassa emissione di fondo e mancanza di interferenze.

I limiti di rivelabilità forniti dalla sorgente a plasma ad accoppiamento induttivo sono un po' migliori rispetto a quelle della sorgente a plasma a corrente continua. Quest'ultima tuttavia è meno costosa in termini di costo iniziale e manutenzione.

In generale, i limiti di rivelabilità della sorgente a plasma con accoppiamento induttivo sembrano confrontabili o migliori di altri metodi spettrali atomici. Le sensibilità di alcuni di questi metodi sono riportati nella tabella seguente.

Sensibilità (ng/ml)* per alcuni elementi**.

Elemento	AAS Fiamma	AAS Elettrotermico	AES Fiamma	AES ICP
Al	30	0,005	5	2
As	100	0,02	0,0005	40
Ca	1	0,02	0,1	0,02
Cd	1	0,0001	800	2
Cr	3	0,01	4	0,3
Cu	2	0,002	10	0,1
Fe	5	0,005	30	0,3
Hg	500	0,1	0,0004	1
Mg	0,1	0,00002	5	0,05
Mn	2	0,0002	5	0,06
Mo	30	0,005	100	0,2
Na	2	0,0002	0,1	0,2
Ni	5	0,02	20	0,4
Pb	10	0,002	100	2
Sn	20	0,1	300	30
V	20	0,1	10	0,2
Zn	2	0,00005	0,0005	2

* Nanogrammo/millilitro = 10^{-3} $\mu\text{g/ml}$ = 10^{-3} ppm.

** AAS = Spettroscopia di Assorbimento Atomico; AES = Spettroscopia di Emissione Atomica;
ICP = Plasma ad Accoppiamento Induttivo.

FLUORIMETRIA (SPETTROFLUORIMETRIA)

La fluorimetria è un metodo analitico qualitativo e quantitativo di considerevole precisione, basato sulla misurazione della fluorescenza.

Quando una sostanza (fluorescente) è attraversata da una opportuna radiazione, emette radiazioni di lunghezza d'onda caratteristica la cui intensità è proporzionale alla quantità di sostanza emittente. Il fenomeno è definito *fluorescenza* e fluorescente la sostanza emittente. L'emissione di luce cessa istantaneamente al cessare della causa eccitatrice; questo differenzia la fluorescenza dalla fosforescenza.

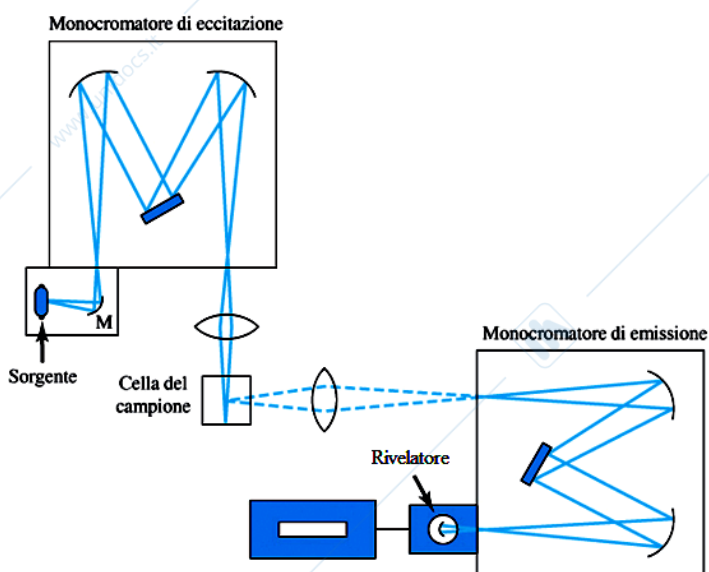
Le radiazioni di eccitazione sono di solito ad alta energia; la radiazione emessa dalla sostanza fluorescente ha una energia inferiore alla radiazione eccitante e la differenza di energia viene dissipata sotto forma di calore (collisioni tra molecole). Le radiazioni emesse appaiono come spettri a bande.

Naturalmente il metodo è applicabile soltanto alle sostanze fluorescenti, il cui numero non è troppo elevato. La sostanza da analizzare, viene irradiata con luce emessa da adatta sorgente, il fascio emergente, con direzione a 90° rispetto al raggio incidente, viene condotto sul fotomoltiplicatore. La sensibilità del metodo permette di determinare quantità di sostanza estremamente piccole.

Lo strumento

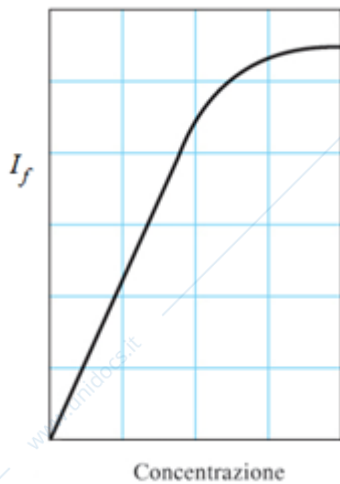
Gli spettrofluorimetri sono strumenti fotoelettrici destinati alla misurazione della fluorescenza di soluzioni convenientemente irradiate. Lo schema fondamentale di uno spettrofluorimetro è rappresentato nella figura seguente.

La *sorgente* è costituita da una lampada a vapori di mercurio o lampade allo xenon (devono emettere nell'UV). I *monocromatori*, uno per il lato di eccitazione e l'altro per quello di emissione, sono costituiti da filtri (fluorimetri) o reticoli (spettrofluorimetri). La *cella* contenente il campione è di solito in vetro e soltanto quando la sorgente eccitatrice emette radiazioni di lunghezza d'onda inferiore ai 300 nm, si deve ricorrere a sistemi in quarzo. Il *rivelatore* è costituito da un fotomoltiplicatore.



Analisi quantitativa fluorimetrica

La relazione tra l'intensità dell'emissione fluorescente (I_f) e la concentrazione della sostanza, risulta lineare per le basse intensità di emissione (bassa concentrazione dell'analita).



$$I_f = 2.3 \cdot I_0 \cdot \epsilon_\lambda \cdot c \cdot d \cdot Q$$

Dove

c è la concentrazione del analita

d è il cammino ottico della luce nella soluzione fluorescente

ϵ_λ è il coefficiente di emissione molare del analita

I_0 è l'intensità della radiazione incidente

Q è l'efficienza quantica (indipendente dalla lunghezza d'onda di eccitazione)

$$Q = \frac{\text{quanti di fluorescenza emessi}}{\text{quanti assorbiti}}$$

I fattori che influenzano l'emissione fluorescente sono molteplici:

1) Temperatura: la fluorescenza cresce al diminuire della temperatura.

2) pH: il pH del mezzo può influenzare la fluorescenza fino ad inibirla anche per minime variazioni.

3) Solvente: anche il solvente può esercitare notevoli effetti di assorbimento o di spostamento della banda di emissione fluorescente.

4) Quenching (processi di spegnimento): Processi nei quali l'emissione da parte di una molecola eccitata diminuisce in intensità a causa del trasferimento di energia ad un'altra molecola (spegnitore o *quencher*). Lo spegnitore eccitato può quindi dissipare la sua energia attraverso altri processi.

Autospegnimento (self-quenching). Una molecola di analita assorbe energia da un'altra molecola di analita eccitata con trasferimento di energia non radiante che alla fine viene dissipata sotto forma di calore. Aumenta con la concentrazione

Autoassorbimento. Si verifica quando la λ di emissione si sovrappone ad una banda di assorbimento. Aumenta anch'essa con la concentrazione.

Poiché la misura della fluorescenza è una misura relativa è necessario procedere alla preparazione di standard di riferimento.

Per determinazioni quantitative, la Farmacopea Ufficiale prevede il metodo diretto :

$$c_x = \frac{I_x \cdot c_s}{I_s}$$

dove :

c_x = concentrazione della soluzione in esame,

c_s = concentrazione della soluzione di riferimento,

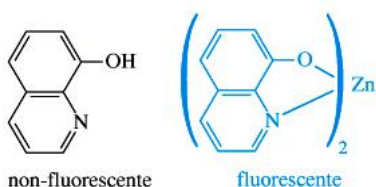
I_x = intensità della luce emessa dalla soluzione in esame,

I_s = intensità della luce emessa dalla soluzione di riferimento.

Nei casi in cui l'intensità della fluorescenza emessa non è direttamente proporzionale alla concentrazione, la misura può essere effettuata usando una curva di taratura.

Applicazioni della fluorimetria

Pur se di uso meno esteso rispetto alla spettrofotometria, la fluorimetria può essere applicata a numerosi composti sia organici che inorganici. Per questi ultimi si ricorre ad agenti complessanti come ad esempio:



I vantaggi di questa tecnica sono riconducibili a una selettività e a una sensibilità alla spettrofotometria. La maggiore sensibilità è ottenuta aumentando l'intensità della radiazione di eccitazione I_0 (limite di rivelabilità 10^{-8} - 10^{-9} M).

TURBIDIMETRIA e NEFELOMETRIA

La turbidimetria e la nefelometria sono due metodi ottici molto affini che permettono di valutare i sistemi dispersi presenti in soluzioni molto diluite.

Quando un fascio di luce attraversa un mezzo contenente in sospensione una fase dispersa finemente, si verificano fenomeni di diffusione della luce incidente.

La diffusione della luce da parte di particelle sospese in un mezzo non comporta, normalmente, eccitazione della materia. I fenomeni di diffusione sono classificati in *diffusione di Rayleigh*, *Mie* e *di Tyndall* (per sospensioni colloidali). I fenomeni differiscono tra loro per i valori relativi del rapporto tra il *diametro medio delle particelle e la lunghezza d'onda della radiazione incidente*.

Si ha *diffusione di Rayleigh* quando il diametro medio delle particelle è di 1/20 della lunghezza d'onda della radiazione incidente. L'intensità della luce diffusa in questo caso, è inversamente proporzionale alla quarta potenza della lunghezza d'onda della radiazione incidente. Per questo tipo di diffusione l'intensità della luce diffusa a 90° rispetto alla direzione di propagazione del raggio è di circa la metà di quella diffusa nella stessa direzione di propagazione.

Si ha *diffusione Mie* quando il diametro medio delle particelle risulta > 1/20 della lunghezza d'onda della radiazione incidente. La relazione di proporzionalità precedente non è più rispettata e l'intensità maggiore della luce diffusa si registra nella stessa direzione di propagazione del raggio incidente e cambia con l'angolo di osservazione.

Si ha *diffusione Tyndall* si riferisce alle sospensioni colloidali le cui particelle hanno valori di diametro medio dello stesso ordine di grandezza della lunghezza d'onda della radiazione incidente.

In questo caso l'intensità della luce diffusa risulta inversamente proporzionale al quadrato della lunghezza d'onda della radiazione incidente (diffusione di opalescenza).

Anche se i fenomeni descritti spesso coesistono si verifica sempre che un tipo di effetto prevale in genere sugli altri.

Turbidimetria

Nel caso in cui si abbia una netta prevalenza della diffusione di Rayleigh si verifica una rilevante attenuazione dell'intensità della luce trasmessa dalla sospensione nella direzione di propagazione della luce incidente. L'effetto della diffusione potrà valutarsi pertanto misurando la *trasmittanza* della sospensione o un parametro analogo all'assorbanza, cioè la *turbidanza* (S) mediante una tecnica analoga alla spettrofotometria chiamata *Turbidimetria*.

La *turbidanza* (S) o "scattering power" è definita, analogamente all'assorbanza, come il logaritmo del rapporto tra intensità della radiazione incidente (I_0) e radiazione diffusa (I_d):

$$S = \log \frac{I_0}{I_d} = k \cdot \frac{\phi^3}{\phi^4 + \alpha \cdot \lambda^4} \cdot b \cdot c$$

dove S = *turbidanza*

I_0 = intensità della radiazione incidente

I_d = intensità della radiazione diffusa dalla sospensione nella stessa direzione della radiazione incidente

ϕ = diametro medio delle particelle sospese

λ = lunghezza d'onda della radiazione incidente

b = spessore della cella porta-campione

c = concentrazione della sospensione

k = costante di proporzionalità che dipende dalla natura della sospensione e dal metodo di misura

α = costante di proporzionalità che dipende solo dal metodo di misura

Pertanto, per una sospensione misurata con una radiazione monocromatica incidente avente lunghezza d'onda λ , poiché a e k sono delle costanti l'espressione riportata sopra si può scrivere:

$$S = K b c$$

che è analoga alla legge di Lambert-Beer per l'assorbimento molecolare.

Nefelometria

Nel caso che l'intensità della radiazione trasmessa nella stessa direzione di incidenza sia poco diversa da quella della stessa radiazione incidente, si misura la luce diffusa a 90° rispetto alla radiazione incidente. Questa tecnica prende il nome di *Nefelometria*.

In questo caso si è trovato che esiste una proporzionalità tra intensità della luce diffusa a 90° e concentrazione della sospensione:

$$I_{90^\circ} = K \cdot I_0 \cdot c$$

dove: I_{90° = intensità della luce diffusa misurata a 90° rispetto alla direzione della radiazione incidente

I_0 = intensità della radiazione incidente

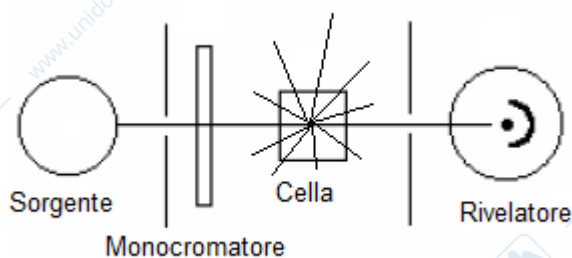
K = costante di proporzionalità che dipende dalla natura della sospensione e dal metodo di misura

c = concentrazione della sospensione

Questa legge mostra una buona linearità entro certi limiti.

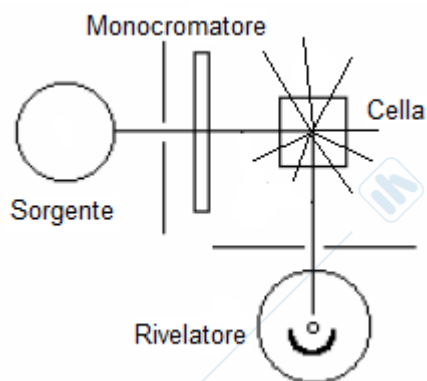
Gli strumenti

Nella *Turbidimetria* si misura l'intensità della luce trasmessa da una sospensione; allo scopo possono essere usati i normali spettrofotometri UV-VIS per la misura dei valori di T% o di assorbanza (in questo caso chiamata turbidanza). Non c'è bisogno pertanto di apparecchiature particolari o dedicate a questa tecnica. Uno schema semplificato di un turbidimetro è riportato nella figura seguente.



Nella *Nefelometria* viene misurata l'intensità della luce diffusa dalla sospensione in una direzione a 90° rispetto a quella della radiazione incidente. E' necessario quindi che il sistema di rivelazione sia posizionato in modo da raccogliere la radiazione diffusa a 90° rispetto al raggio entrante nella cella. L'apparecchiatura deve essere perciò di tipo dedicato, con un'architettura che preveda questo uso.

Uno schema semplificato di nefelometro è riportato nella figura seguente.



Analisi quantitativa turbidimetrica e nefelometrica

Le tecniche turbidimetriche e nefelometriche sono applicabili all'analisi di sistemi dispersi. La nefelometria è più indicata per sospensioni le cui particelle hanno un diametro medio molto piccolo e, soprattutto per sospensioni colloidali che presentano un effetto Tyndall di rilevante entità. Queste tecniche tuttavia risentono molte volte di una insoddisfacente riproducibilità dovuta essenzialmente alle dimensioni diverse delle particelle che costituiscono la sospensione, al diametro medio diverso tra le sospensioni standard e il campione e alla stabilità delle sospensioni nel tempo.

Per minimizzare questi effetti, occorre che le soluzioni standard impiegate per la costruzione delle rette di taratura e i campioni incogniti, siano trattati allo stesso modo e che siano rispettate rigorosamente tutte le condizioni operative; le sospensioni devono essere inoltre addizionate di colloido-protettori per la stabilizzazione.

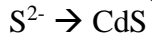
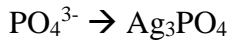
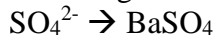
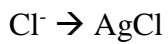
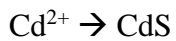
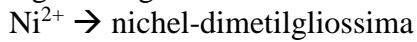
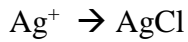
Gli stabilizzanti possono essere costituiti da soluzioni acquose molto concentrate di elettroliti forti (per es. NaCl e HCl) addizionati a solventi organici come etanolo e glicerina e da polimeri del tipo polivinilpirrolidone che aumentando la viscosità del mezzo, rallentano i processi di aggregazione e di precipitazione delle particelle.

Per la costruzione delle rette di taratura si riportano sugli assi, nel caso della turbidimetria, i valori di turbidanza S (in pratica assorbanza) in funzione delle concentrazioni dell'analita (soluzioni standard); nel caso della nefelometria, si riportano i valori delle intensità di luce diffusa a 90° (I_d) rispetto alla direzione della radiazione incidente in funzione delle concentrazioni di analita (soluzioni standard).

Le applicazioni analitiche delle due tecniche possono avere come scopo o la determinazione di parametri non specifici come la torbidità nelle acque o parametri specifici come le concentrazioni di alcuni cationi o anioni.

Per la determinazione di cationi e anioni è necessario che le concentrazioni dell'analita siano basse (per ottenere con il reattivo precipitante, solo sospensioni e non precipitati), esista un reattivo precipitante capace di formare con l'analita un composto poco solubile in sospensione e infine che le sospensioni ottenute siano dotate di buona stabilità con l'eventuale aggiunta di un colloido-protettore.

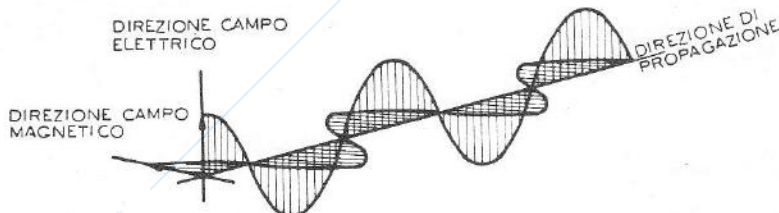
Gli ioni che sono in grado di formare composti insolubili possono essere determinati con queste due tecniche. I casi più comuni sono:



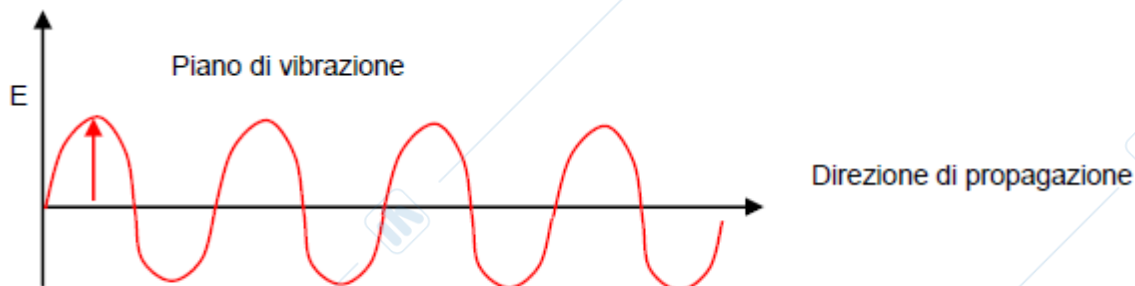
Una interessante applicazione biologica riguarda l'esame del comportamento e della crescita dei batteri. L'accrescimento viene seguito nello stesso terreno di coltura, misurandone la torbidità.

POLARIMETRIA

I fenomeni relativi alla polarizzazione della luce possono essere spiegati con la teoria ondulatoria. Le onde elettromagnetiche sono dovute alla combinazione di un campo elettrico e di un campo magnetico che vibrano, in fase, su due piani ortogonali. Le componenti dell'onda luminosa sono quindi due: una elettrica ed una magnetica.



In un'onda occorre distinguere una *direzione di vibrazione* ed, una *direzione di propagazione*. Se le due direzioni sono ortogonali, si ha il caso di onde trasversali (onde luminose). Se le due direzioni sono coincidenti, si ha il caso di onde longitudinali (onde acustiche).

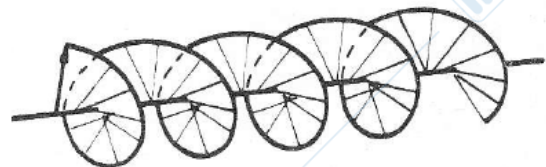
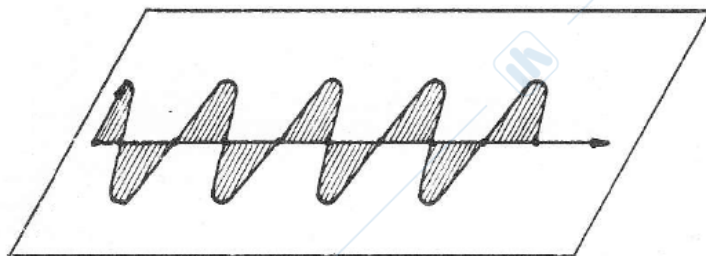


Nella *luce ordinaria* i piani di vibrazione sono infiniti.

Nella *luce polarizzata rettilineamente* il piano di vibrazione è unico (come schematizzato nella figura successiva).

Nella *luce polarizzata circolarmente* il piano di vibrazione ruota continuamente con regolarità periodica attorno alla direzione di propagazione, per cui il vettore rappresentativo del campo elettrico, descrive una spirale a proiezione circolare (come schematizzato nella figura successiva).

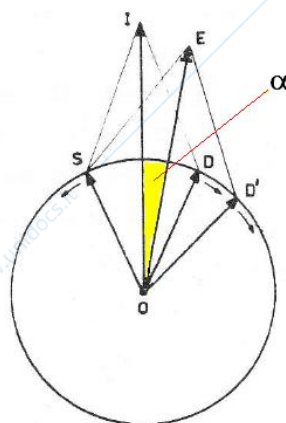
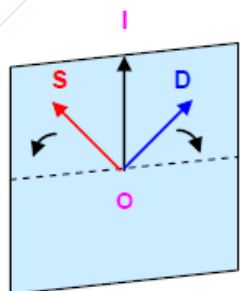
Nella *luce polarizzata ellitticamente* si ha una situazione analoga al precedente caso, con la differenza che la spirale descritta dal vettore, ha una proiezione ellittica.



Potere rotatorio

Le sostanze dotate di asimmetria cristallina (*anisotrope*) o molecolare (*chirali*) possiedono la proprietà di far ruotare il piano della luce polarizzata. Tali sostanze si dicono *otticamente attive*. Tra esse annoveriamo il quarzo, il cui potere rotatorio è legato all'asimmetria cristallina e gli zuccheri, il cui potere rotatorio è legato all'asimmetria della molecola.

Un raggio polarizzato rettilineamente (vettore OI) può essere considerato ad ogni istante come la risultante di due componenti (vibrazioni polarizzate circolarmente, vettori OS e OD), ruotanti in senso opposto, di uguale frequenza ed ampiezza e in concordanza di fase.



Nelle sostanze otticamente attive, le due componenti si propagano con velocità diverse, cioè quella componente che ha più affinità elettrica con la distribuzione elettronica del composto, reagirà in modo diverso rispetto all'altra componente. Pertanto il vettore somma delle due componenti non sarà più nel piano iniziale ma in un altro piano: il piano è ruotato.

Quindi se il mezzo è anisotropo si crea una differenza di fase tra le due componenti dovuta alla diversa velocità con cui procedono nel mezzo stesso. Questa differenza di fase provoca una rotazione α del piano della luce polarizzata rettilineamente.

L'angolo α di cui è ruotato il piano di polarizzazione si chiama *potere rotatorio* della sostanza considerata.

Questo fenomeno è dovuto alla asimmetria molecolare e si verifica ogniqualvolta nella molecola è presente almeno un atomo di carbonio asimmetrico (ovvero legato a quattro gruppi diversi).

Se nella molecola sono presenti più atomi di carbonio asimmetrici, il potere rotatorio finale sarà la somma algebrica dei poteri rotatori dei singoli atomi di carbonio. In alcune molecole questa somma può risultare nulla ed allora la molecola si dice inattiva per compensazione interna.

Il potere rotatorio dipende dalla *natura chimica* della sostanza, dalla *concentrazione* della sostanza in soluzione, *dal percorso ottico* (distanza percorsa dal raggio polarizzato nella soluzione), dalla *temperatura*, dal *solvente*, dal *pH* e infine dalla *lunghezza d'onda della radiazione* incidente.

Potere rotatorio specifico

Si definisce *potere rotatorio specifico* quello misurato con luce gialla del sodio (riga D, 589 nm), per una soluzione contenente 1g/ml di sostanza attiva, posta in un tubo polarimetrico da 1 dm alla temperatura di 20°C e si indica come:

$$[\alpha]_D^{20}$$

Nel sistema convenzionale adottato dalla Farmacopea Ufficiale, il potere rotatorio specifico α_m è espresso in gradi per millilitri per decimetro per grammo $[(^{\circ})\text{ml}\cdot\text{dm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}]$.

Il fattore di conversione dal Sistema Internazionale a quello della Farmacopea è il seguente:

$$[\alpha_m]_{\lambda}^t = [\alpha]_{\lambda}^t \cdot 0.1745$$

Analisi quantitativa polarimetrica

L'analisi quantitativa si basa sulla misura del potere rotatorio α .

Per una soluzione il potere rotatorio è direttamente proporzionale alla concentrazione C (espressa in g/ml) ed allo spessore del tubo polarimetrico L (lunghezza dello strato di liquido in dm):

$$\alpha = [\alpha]_D^{20} \cdot L \cdot C$$

Questa relazione è nota come legge di Biot.

Per la determinazione quantitativa si procede attraverso la misura del potere rotatorio (α_n) di una soluzione a titolo noto (C_n) dell'analita e del potere rotatorio (α_x) della soluzione a concentrazione (C_x) incognita del campione. Le misure devono essere effettuate nelle stesse condizioni.

$$\alpha_n = [\alpha_n]_D^{20} \cdot L \cdot C_n$$

$$\alpha_x = [\alpha_n]_D^{20} \cdot L \cdot C_x$$

Da cui:

$$[\alpha_n]_D^{20} = \frac{\alpha_n}{L \cdot C_n} = \frac{\alpha_x}{L \cdot C_x}$$

$$\frac{\alpha_n}{C_n} = \frac{\alpha_x}{C_x}$$

Quindi :

$$C_x = \frac{\alpha_x}{\alpha_n} \cdot C_n$$

Lo strumento

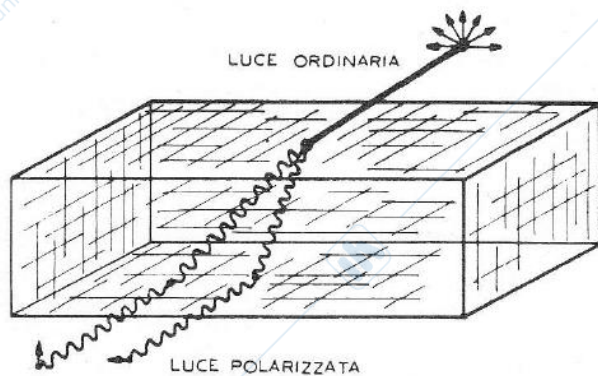
La parte essenziale di un polarimetro è costituito da componenti ottici in grado di polarizzare la luce (*polarizzatori*).

Un polarizzatore è formato da sostanze anisotrope (anisotropa : sostanza che non presenta le stesse proprietà fisiche in tutte le direzioni).

Nei mezzi anisotropi, un raggio di luce incidente subisce uno sdoppiamento (*birifrangenza*) per cui all'emergenza si avranno due raggi, uno *ordinario O* e uno *straordinario S polarizzati rettilineamente su piani ortogonali e con diverso indice di rifrazione*.

Per il raggio ordinario l'indice di rifrazione è indipendente dalla direzione di propagazione, mentre per il raggio straordinario varia con la direzione.

I fenomeni di birifrangenza sono largamente sfruttati per ottenere luce polarizzata.



I polarizzatori sono costituiti da sostanze birfrangenti come il *prisma di Nicol* o il *prisma di Thompson* o Glazebrook e da sostanze dicroiche come la *tormalina* e le *Herapatiti*.

Una sostanza dicroica ha la proprietà di trasmettere le radiazioni il cui piano di polarizzazione è individuato dall'asse di simmetria ternaria e dalla direzione di propagazione (raggio straordinario), mentre assorbe le altre.

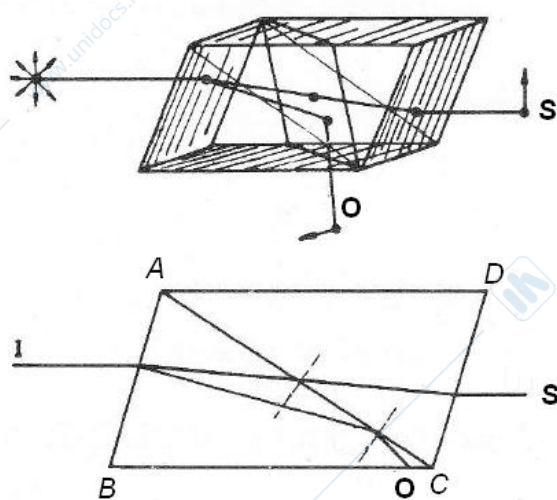
Il *prisma di Nicol* è costituito da *spato d'Islanda* (*calcite romboedrica*) una sostanza birfrangente ma non dicroica. Perciò, per ottenere un polarizzatore, un pezzo di calcite, a forma di parallelepipedo è tagliato secondo una diagonale e le due parti incollate esattamente con *Balsamo del Canada*.

Lo strato di balsamo costituisce una sottile lamina a facce piane e parallele di diverso indice di rifrazione.

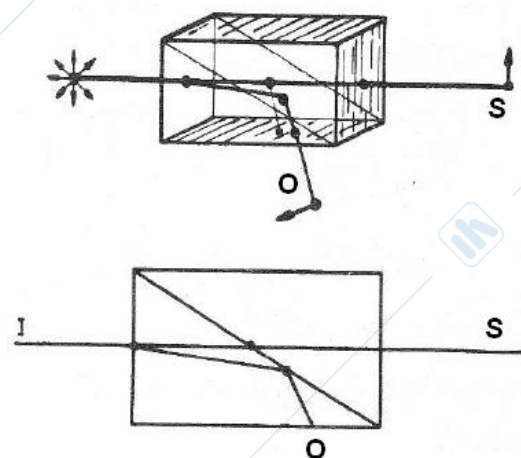
L'inclinazione del raggio incidente è scelta in modo tale che il raggio ordinario O, incidendo sulla superficie AC (vedi schema seguente) con un angolo superiore all'angolo limite (relativo alla coppia spato-balsamo), viene riflesso totalmente dalla superficie del balsamo e assorbito dalla faccia BC colorata di nero.

Il raggio straordinario S, incidendo su AC con un angolo inferiore all'angolo limite, riuscirà ad entrare nel balsamo e quindi nella seconda metà del prisma, da cui uscirà spostato ma non deviato.

Un prisma che elimina anche l'inconveniente dello spostamento del raggio emergente è quello di Glan Thompson (o Glazebrook) che ha la forma di un parallelepipedo rettangolo ed essendo l'incidenza normale, non si ha spostamento del raggio.



Prisma di Nicol



Prisma di Thompson

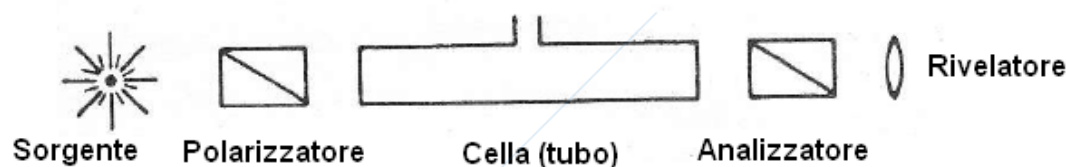
La *Tormalina* (sostanza dielettrica) ha un uso limitato dal fatto che la trasmissione del raggio straordinario è selettiva rispetto alla lunghezza d'onda (massimo di trasmittanza nel verde).

Le *Herapatiti* sono sostanze dielettriche ottenute artificialmente per azione dello iodio sul solfato di chinino. Si ottengono così dei microcristalli polari, che possono essere isorientati dall'azione di campi elettrici o magnetici, comportandosi i singoli microcristalli come dei minuscoli dipoli, suscettibili all'azione di detti campi.

Per bloccare stabilmente e permanentemente l'orientazione anche in assenza di campo elettrico o magnetico, si sospendono i cristalli in gelatine opportune che, per successiva coagulazione, conferiscono rigidità, al sistema.

Questi sistemi, protetti da due lamine di vetro sottile e otticamente lavorato, producono così luce polarizzata rettilineamente e sostituiscono i Nicols con notevole vantaggio economico.

Per poter misurare il potere rotatorio è necessario usare *due polarizzatori in serie*. Un polarizzatore è posto tra la sorgente e il tubo contenente la soluzione del campione e l'altro è posizionato tra il tubo con il campione e il rivelatore. Il primo è chiamato *polarizzatore* ed è fisso mentre il secondo è chiamato *analizzatore* e può ruotare rispetto al precedente.



In un sistema di due polarizzatori in serie ed attraversati da un raggio di luce naturale, l'intensità del raggio emergente è funzione dell'angolo formato dai due polarizzatori secondo la relazione:

$$I = K \cdot I_0 \cdot \cos^2 \alpha$$

dove

I_0 = intensità raggio incidente

I = intensità raggio emergente

K = fattore di proporzionalità molto vicino a 1 (tiene conto delle perdite di energia raggiante per riflessione ed assorbimento)

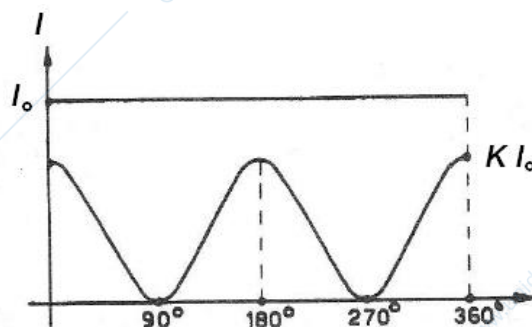
α = angolo tra i due polarizzatori

Dall'equazione si nota che:

per $\alpha = 0$ $\cos \alpha = 1$ e $I = K I_0$

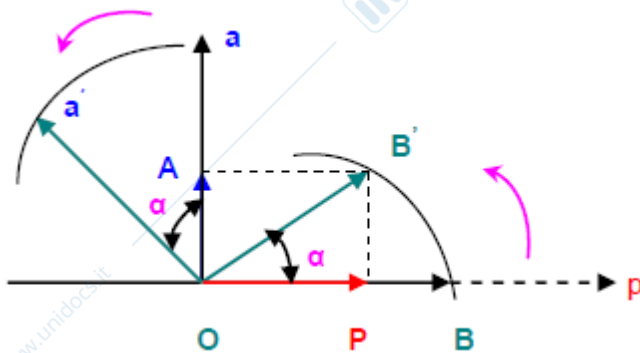
per $\alpha = 90^\circ$ $\cos \alpha = 0$ e $I = 0$

L'andamento dell'intensità della luce emergente I in funzione di α è rappresentato dal grafico:



Quando il polarizzatore e l'analizzatore sono ortogonali, con il tubo polarimetrico vuoto, si ha l'estinzione del raggio luminoso e al rivelatore non arriverà luce. Interponendo una sostanza otticamente attiva, ruotante il piano di polarizzazione di un angolo α , al rivelatore giungerà una certa intensità di luce. Ruotando l'analizzatore dello stesso angolo α si avrà nuovamente la completa estinzione del raggio.

Uno schema di misura del potere rotatorio è rappresentato dallo schema seguente



“p” e “a” rappresentano le direzioni ortogonali di vibrazione del polarizzatore e dell'analizzatore. La radiazione incidente è rappresentata dal vettore **OB** nel piano del polarizzatore. Se nel tubo polarimetrico non è presente sostanze otticamente attive l'analizzatore, essendo ortogonale, estinguerà completamente la luce. Se nel tubo polarimetrico è presente una sostanza otticamente attiva, la direzione del vettore **OB** risulterà ruotata di un angolo α e la radiazione sarà rappresentata dal nuovo vettore **OB'**.

La radiazione **OB'** ammette due componenti: la **OA** secondo la direzione dell'analizzatore, la **OP** secondo quella del polarizzatore.

La componente **OP** viene estinta dall'analizzatore, perché la direzione di vibrazione di quest'ultima è ad esso normale.

La componente **OA** vibra invece nel piano dell'analizzatore e pertanto riesce a passare con intensità inferiore rispetto a quella incidente, e giungere al rivelatore.

Ruotando ora l'analizzatore dello stesso angolo α , la nuova direzione **a'** di quest'ultima risulta normale al vettore **OB'**, per cui vengono di nuovo realizzate le condizioni di estinzione totale del raggio.

Misurando quindi la rotazione α dell'analizzatore si determina il potere rotatorio della sostanza in esame.

Il funzionamento di uno spettro polarimetro con rivelatore fotoelettrico è di seguito descritto.

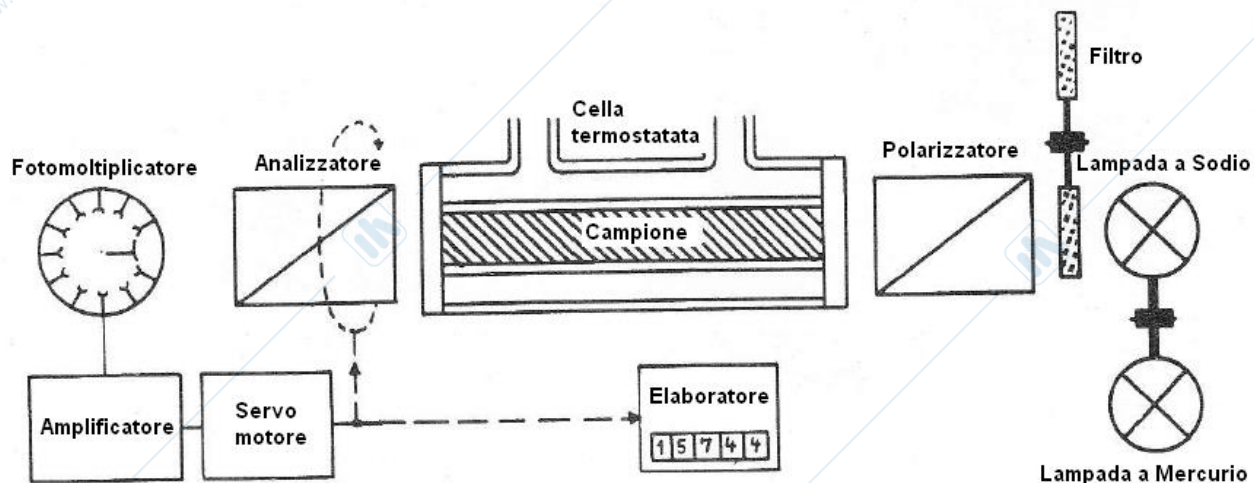
La radiazione monocromatica emessa dalla sorgente attraversa il polarizzatore.

La radiazione, dopo aver attraversato il tubo polarimetrico e l'analizzatore, giunge sul fotomoltiplicatore. Questo segnale, opportunamente amplificato, attraverso un servomotore, fa ruotare l'analizzatore fino alla posizione di bilanciamento (assenza di segnale).

La posizione assunta dall'analizzatore per equilibrare il segnale, dà la misura della rotazione prodotta dalla sostanza.

In figura è rappresentato lo schema di questo polarimetro. In esso sono riportate due lampade (al sodio e a vapori di mercurio) che costituiscono la normale dotazione dello strumento. Queste lampade sono accoppiate a dei filtri interferenziali che permettono di isolare le radiazioni con le lunghezze d'onda di 365, 436, 546 e 578nm prodotte con la lampada a vapori di mercurio e 589nm prodotta con la lampada a sodio.

In alternativa le lampade possono essere sostituite da un monocromatore, che rende possibile l'uso dello strumento come spettropolarimetro.



RIFRATTOMETRIA

L'indice di rifrazione

La *definizione fisica dell'indice di rifrazione* di una sostanza o soluzione di sostanze (genericamente definita "mezzo"), fa riferimento alla diversa velocità della luce tra l'aria (o il vuoto) e il mezzo.

Come è noto, la velocità di tutte le radiazioni luminose nel vuoto è di circa 300.000 Km/s.

Negli altri mezzi la velocità della luce risulta minore e dipende dalla:

- natura chimica del mezzo
- temperatura del mezzo (influisce soprattutto sui liquidi e sui gas perché varia la densità).
- pressione del mezzo (influisce sui mezzi gassosi; un aumento di pressione produce una diminuzione di velocità).
- concentrazione del mezzo quando si considerano le soluzioni
- frequenza delle radiazioni (le radiazioni con frequenza elevata (violetto) sono più lente di quelle a frequenza minore, questo produce la "dispersione" delle radiazioni).

Si definisce *indice di rifrazione assoluto (N)* di un mezzo A il rapporto tra la velocità della luce nel vuoto C_0 e nel mezzo considerato C_A

$$N_A = \frac{C_0}{C_A}$$

Per i liquidi, le variabili che influenzano l'indice di rifrazione sono la temperatura e la frequenza della luce, di cui occorre tenere conto nell'esprimere i risultati di una misura.

L'indice di rifrazione assoluto N è riferito alla temperatura di 20° e ad una radiazione della riga D del sodio (589.3 nm) e viene indicato dall'espressione:

$$N_D^{20}$$

Quando la luce passa da un mezzo A ad un mezzo B (diversi dal vuoto) l'indice di rifrazione relativo (n) del mezzo B rispetto ad A risulta definito dal rapporto delle due velocità C_A e C_B della luce nei mezzi considerati.

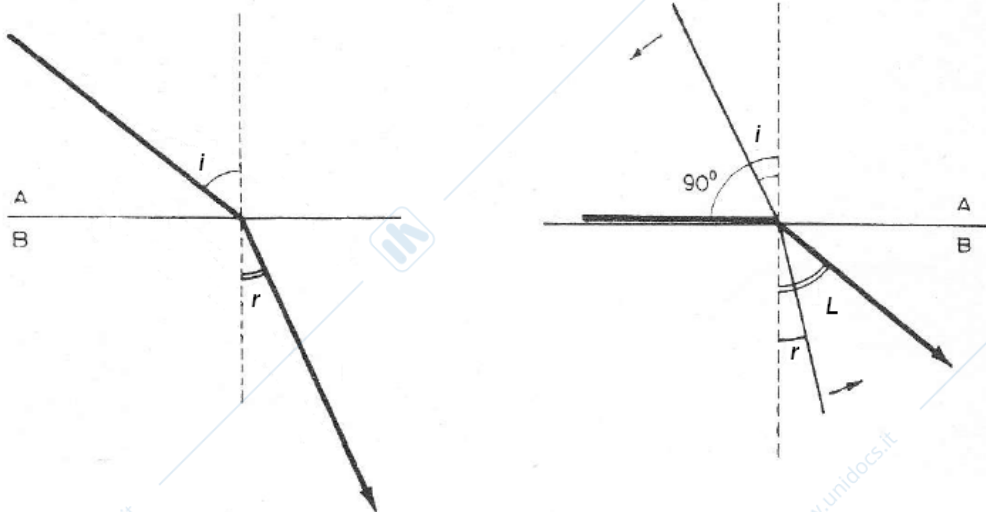
$$n_{B/A} = \frac{C_A}{C_B} = \frac{N_B}{N_A}$$

Si verifica facilmente che l'indice di rifrazione relativo $n_{B/A}$ corrisponde al rapporto tra gli indici di rifrazione assoluti N_B ed N_A .

La definizione geometrica dell'indice di rifrazione di un mezzo, fa riferimento alla diversa direzione che la luce assume tra l'aria (o il vuoto) e il mezzo.

Per il passaggio di una radiazione monocromatica da un mezzo A ad un mezzo B con $C_A > C_B$ si ha:

$$\frac{\text{sen } i}{\text{sen } r} = \frac{C_A}{C_B} = \frac{N_B}{N_A} = n_{B/A}$$



Aumentando gradualmente l'angolo di incidenza i aumenta in corrispondenza l'angolo di rifrazione r (pur mantenendosi sempre inferiore ad i) ed al tendere di i a 90° (massima incidenza), r tende al valore L . Il valore L dell'angolo di rifrazione prende il nome di *angolo limite*.

In questo caso, essendo $N_B > N_A$, si ha:

$$\frac{\text{sen } 90^\circ}{\text{sen } L} = \frac{N_B}{N_A} = n_{B/A}$$

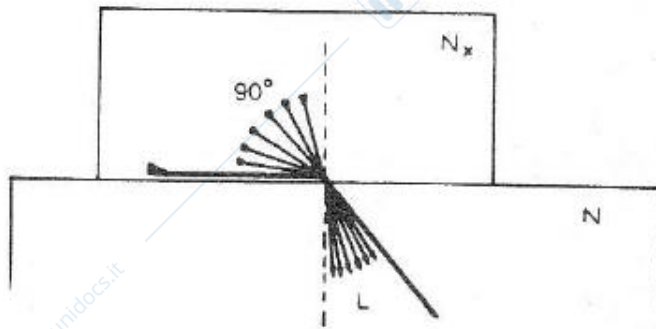
Da cui:

$$\text{sen } L = \frac{1}{n_{B/A}}$$

Misura dell'indice di rifrazione

Il metodo dell'angolo limite si basa sul confronto fra l'indice di rifrazione incognito N_x della sostanza in esame con quello noto N di altra sostanza e tale che sia sempre $N > N_x$.

Il confronto si realizza ponendo a contatto due superfici perfettamente piane delle due sostanze.



Illuminando con fascio monocromatico la superficie di separazione dei due diversi mezzi dalla parte del mezzo meno rifrangente, al raggio avente angolo di incidenza di 90° , corrisponde nel secondo mezzo il raggio limite avente come angolo di rifrazione L . Nel secondo mezzo passeranno soltanto i raggi il cui angolo di rifrazione sia minore di L .

L'angolo di rifrazione L individua, pertanto, una direzione limite che separa direzioni illuminate da direzioni in ombra.

Poiché:

$$\frac{\text{sen } 90^\circ}{\text{sen } L} = \frac{N}{N_x}$$

Si ha:

$$N_x = N \text{ sen } L$$

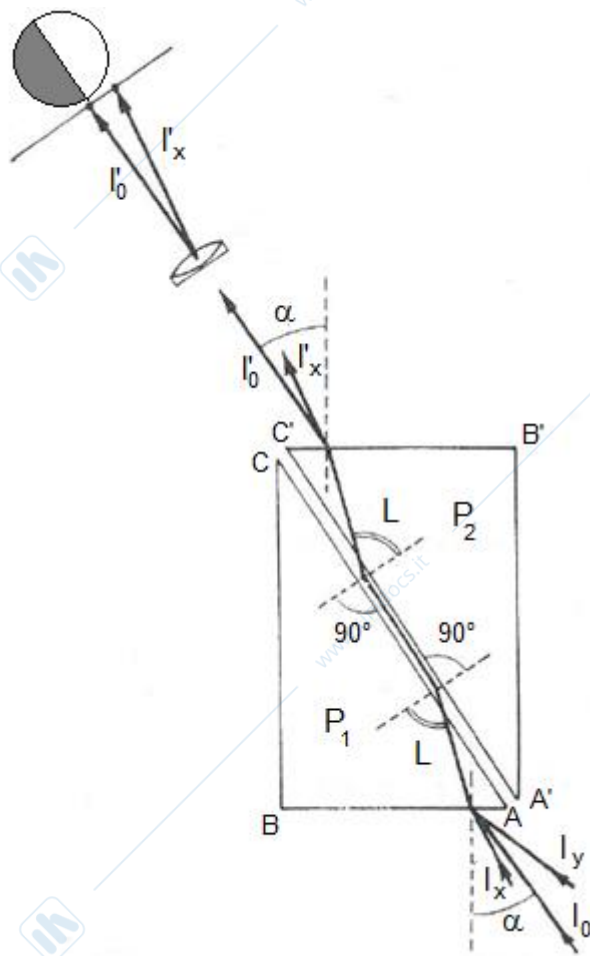
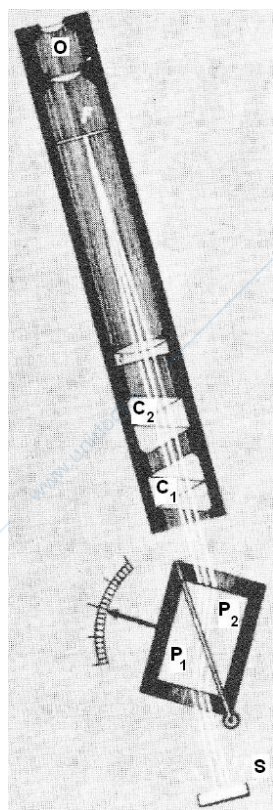
Lo strumento (rifrattometro tipo Abbe)

Lo strumento è costituito essenzialmente delle seguenti parti:

- una sorgente a luce diffusa S ,
- un sistema di due prismi di Abbe ad alto indice di rifrazione $P1$ e $P2$ aventi gli angoli rispettivamente di 30° e di 60° .
- un cannocchiale comprendente un obiettivo, un oculare e due prismi di Amici $C1$, e $C2$, costituenti il compensatore.

I prismi di Abbe sono racchiusi in una scatola a cerniera, che permette di allontanarli e di avvicinarli lasciando tra essi una sottile intercapedine di qualche decimo di millimetro, che viene occupata dal liquido in esame.

La scatola può ruotare rispetto al cannocchiale e permette anche di far circolare attorno ai prismi, acqua a temperatura costante.



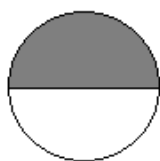
Poiché S è una sorgente a luce diffusa, sul cateto AB del prisma inferiore giungeranno raggi con qualsiasi incidenza. Il raggio l_0 che incide sulla faccia AB con angolo α è rifratto nell'interno del prisma P_1 e incide sull'ipotenusa AC con l'angolo di incidenza limite L (relativo alla coppia vetro-prisma-lamina liquida).

Il relativo raggio rifratto percorrerà lo strato liquido in direzione radente, penetrerà nel prisma P_2 , da cui emergerà nell'aria con la direzione l'_0 e con angolo di emergenza uguale ad α (vedi figura). Il raggio emergente l'_0 risulta spostato rispetto ad l_0 ma non deviato, in quanto sia la lamina liquida che l'insieme dei prismi rappresentano un sistema di lamine a facce piane e parallele.

Risulta evidente che tutti i raggi l_x incidenti su AB con angolo di incidenza minore di α riusciranno ad attraversare il sistema, emergendo dal prisma P_2 (cateto $C'B'$) con direzione l'_x parallela a l_x . Per la stessa ragione tutti i raggi l_y , aventi incidenza maggiore di α , incidendo sullo strato liquido AC con un angolo di incidenza maggiore di L , verranno riflessi totalmente.

In sostanza solo i raggi aventi angolo di incidenza, sul lato AB , compresi tra 0 e α riescono ad attraversare il sistema.

Quando, ruotando opportunamente il sistema dei prismi di Abbe, l'oculare appare esattamente illuminato a metà (vedi figura), il valore dell'angolo della rotazione dei prismi è uguale all'angolo limite.



Le considerazioni riportate sopra, si riferiscono all'impiego di luce monocromatica. In realtà gli strumenti permettono di operare anche in luce bianca essendo provvisti di un sistema compensatore della dispersione cromatica.

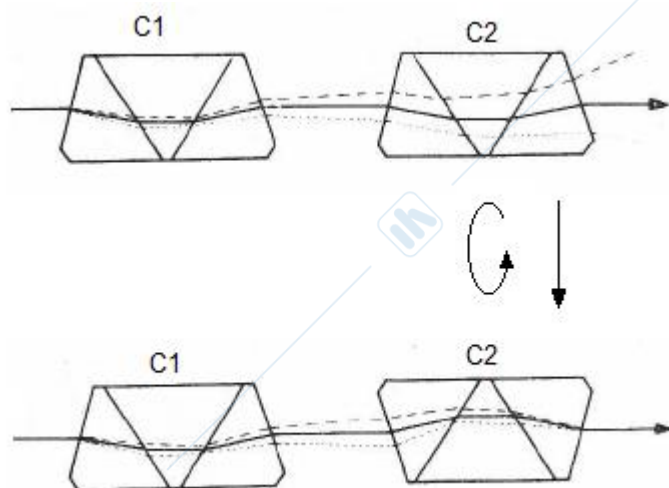
Il compensatore è rappresentato da una coppia di prismi di Amici di cui uno è fisso mentre l'altro può ruotare attorno all'asse del cannocchiale.

Ogni prisma di Amici è ottenuto incollando tre prismi nel modo indicato nella figura seguente.

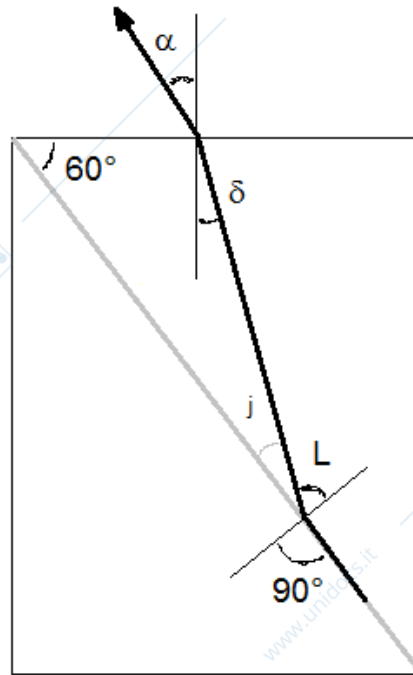
Il prisma centrale ha indice di rifrazione e potere dispersivo diverso rispetto ai due laterali. Gli indici di rifrazione ed i poteri dispersivi dei tipi di vetro, sono scelti in modo tale che i prismi, pur producendo la dispersione della luce, hanno la proprietà specifica di non deviare il raggio giallo (riga D del sodio).

Nell'accoppiamento dei due prismi di Amici C1 e C2, il prisma C2 mobile, può aumentare, diminuire o addirittura annullare la dispersione prodotta da C1, a seconda della posizione assunta, ferma restando la direzione del raggio centrale giallo.

In sostanza il compensatore è un sistema con potere dispersivo variabile da zero ad un massimo, che ha la funzione di annullare la dispersione prodotta dalla sostanza in esame e dal sistema ottico e pur operando in luce bianca, viene determinato l'angolo α , della radiazione gialla del sodio per la quale il compensatore è stato calcolato.



Il rifrattometro ci permette di misurare l'angolo α che è in diretta relazione con l'indice di rifrazione N_x del campione in esame.



Poiché (vedi figura) :

$$\frac{\text{sen } 90^\circ}{\text{sen } L} = \frac{N_0}{N_x}$$

$$\frac{\text{sen } \alpha}{\text{sen } \delta} = \frac{N_0}{1}$$

Dove N_0 è l'indice di rifrazione del prisma e 1 è l'indice di rifrazione dell'aria

Inoltre l'angolo L e l'angolo δ sono legati dalla relazione geometrica :

$$L = 60^\circ + \delta$$

$$(60 + (90 + \delta) + j = 180 = 90 + L + j)$$

La relazione tra N_x e α risulta:

$$N_x = N_0 \text{sen} \left[60^\circ + \text{arc sen} \left(\frac{\text{sen } \alpha}{N_0} \right) \right]$$

Dalla formula appare evidente che esiste una proporzionalità tra N_x e $\text{sen } \alpha$. La scala dello strumento è tarata in base alla proporzionalità e fornisce direttamente il valore di N_x .

Analisi quantitativa rifrattometrica

Le applicazioni della rifrattometria riguardano i campi più disparati, rappresentando la determinazione dell'indice di rifrazione un dato sicuro ed efficace per la risoluzione di determinati problemi analitici. Per questo la pratica rifrattometrica trova utili applicazioni nelle seguenti principali determinazioni:

- Determinazioni delle concentrazioni in genere.
- Determinazione della concentrazione di soluzioni zuccherine.
- Analisi di grassi (burro, olio, ecc.).
- Determinazione dell'alcool in soluzioni idroalcoliche

- Indagini biochimiche (per esempio il dosaggio dell'albumina nel siero del sangue).
L'indice di rifrazione di una soluzione è in genere funzione lineare della concentrazione secondo la relazione:

$$n = n_0 + K \cdot C$$

Dove n_0 è l'indice di rifrazione del solvente e K è una costante caratteristica del soluto. Per alcune sostanze si ha tuttavia qualche scostamento dalla legge sopraindicata, specie se esaminata in campi di concentrazioni molto estesi. In tal caso è bene costruire una curva di lavoro, determinando l'indice di rifrazione di alcune soluzioni a concentrazione nota.

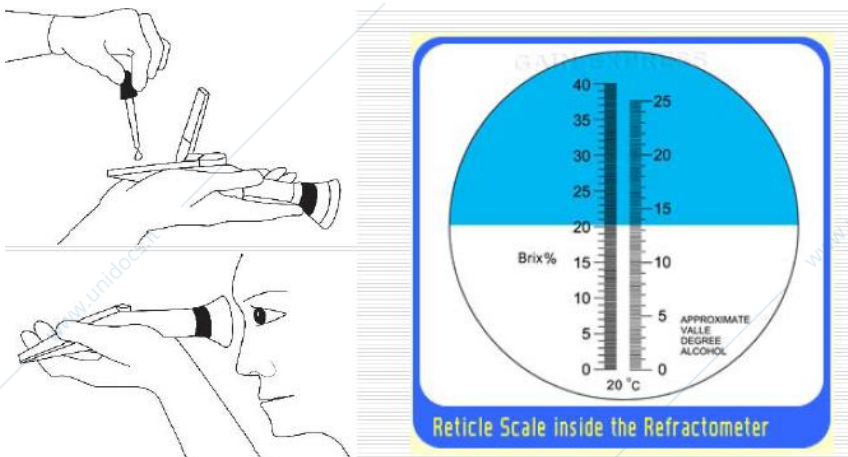
Talvolta la concentrazione è espressa in *gradi Brix*.

Il Brix è una misura delle sostanze allo stato solido dissolte in un liquido. Il nome deriva da Adolf Ferdinand Wenceslaus Brix. Un grado Brix (simbolo °Bx) corrisponde a 1 parte di sostanza solida (peso secco) in 100 parti di soluzione.

Poiché il Brix viene comunemente misurato attraverso un rifrattometro, è corretto parlare di sostanza secca rifrattometrica (in inglese *refractometric dried substance*, abbreviato: *RDS*) e si usa perciò il simbolo °Bx *RDS*. La tabella seguente mette in relazione i gradi Brix con l'indice di rifrazione misurato a 20° e con una radiazione di 589.3 nm (riga D del sodio).

°Bx	2,6	15,6	30,3	42,1	67,0	79,7	85,0
<i>n</i>	1,337	1,357	1,382	1,404	1,458	1,490	1,504

La concentrazione zuccherina può essere determinata direttamente sul campione senza alcun trattamento.



ESERCITAZIONI SPETTROFOTOMETRICHE

ACIDO ASCORBICO

Trasferire quantitativamente il campione in un matraccio da 100 ml. Diluire a volume con acqua bollita. Omogeneizzare (*soluz. C*).

Determinazione spettrofotometrica di ACIDO ASCORBICO con standard esterno

La determinazione diretta per assorbimento UV dell'acido ascorbico non è facile in quanto è instabile in soluzione acquosa. L'instabilità è dovuta all'ossidazione a acido deidroascorbico (reazione reversibile) e successivamente a acido 2,3-dicheto-gulonico (reazione irreversibile). Per evitare l'ossidazione dell'acido ascorbico, la determinazione viene effettuata in presenza di sodio ossalato in soluzione tampone.

La lunghezza d'onda della radiazione assorbita, dall'acido ascorbico, dipende dal pH della soluzione. A pH superiori a 5, l'acido ascorbico esiste prevalentemente come mono-anione ed ha un massimo di assorbimento a 266 nm. A pH più acidi, l'acido ascorbico, si presenta nella forma indissociata con un massimo di assorbimento di 245 nm.

L'acido ascorbico è misurato in soluzione tamponata a pH 5.4, pertanto le misure si effettuano a 266 nm.

Reagenti

a) Soluzione di sodio ossalato 0.0056 M in tampone a pH 5.4

b) Soluzione standard di acido ascorbico

Pesare con precisione, in un matraccio da 100 ml, circa 500 mg di acido ascorbico. Portare a volume con acqua deionizzata bollita (*soluz. A*). Omogeneizzare.

Procedura

Preparazione degli "standard" per la curva di taratura

Prelevare con precisione, 1.00 ml della *soluzione A* in un matraccio da 25 ml. Portare a volume con la soluzione tamponata di sodio ossalato (*soluz. B*). Omogeneizzare.

Prelevare con precisione, in matracci da 25 ml, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5 ml di *soluzione B* e portare a volume con la soluzione tamponata di sodio ossalato. Omogeneizzare.

(Se sono pesati esattamente 500 mg di acido ascorbico, la concentrazione nei matracci sarà rispettivamente di 2, 4, 6, 8, 12 ppm).

Preparazione del "bianco"

Il bianco è costituito dalla soluzione tamponata di sodio ossalato.

Preparazione del campione incognito

Soluzione per la misura spettrofotometrica: prelevare con precisione, in un matraccio da 25 ml, 1 ml della *soluzione C* e portare a volume con la soluzione tamponata di sodio ossalato. Omogeneizzare.

Misure spettrofotometriche ed elaborazione dei risultati

Misura dell'assorbanza

Impostare nello spettrofotometro la frequenza di assorbimento a 266 nm. Se lo spettrofotometro è a singolo raggio, azzerare lo strumento posizionando il bianco nel compartimento del campione; se lo spettrofotometro è a doppio raggio posizionare il bianco nel compartimento del "riferimento" e gli standard o i campioni, nel compartimento riservato al "campione", in questo caso per tutte le letture, non bisogna azzerare lo strumento.

In questo caso è necessario usare celle di quarzo.

Misurare l'assorbanza degli standard cominciando dal più diluito e terminare con quello più concentrato, avvinando ogni volta la cella. Attenzione a manipolare la cella prendendolo dalla parte superiore per evitare di lasciare impronte digitali sul percorso ottico. Inoltre posizionare, ogni volta, le celle nella esatta posizione poiché il vetro può avere effetti di "scattering" non omogenei in tutta la superficie.

Calcolo dei risultati

Calcolare l'equazione della retta di taratura (concentrazione espressa in $\mu\text{g/ml}$ (ppm) vs assorbanza) con il metodo dei minimi quadrati. La retta deve passare per l'origine (intercetta).

Sulla base dei coefficienti calcolati (pendenza e intercetta), determinare la concentrazione del campione incognito.

E' importante che il coefficiente di correlazione R^2 , sia prossimo a 1 e che il valore dell'assorbanza del campione sia compreso nell'intervallo descritto dalla curva di taratura.

In alternativa è sufficiente costruire la retta di taratura in un foglio di carta millimetrata.

Espressione dei risultati

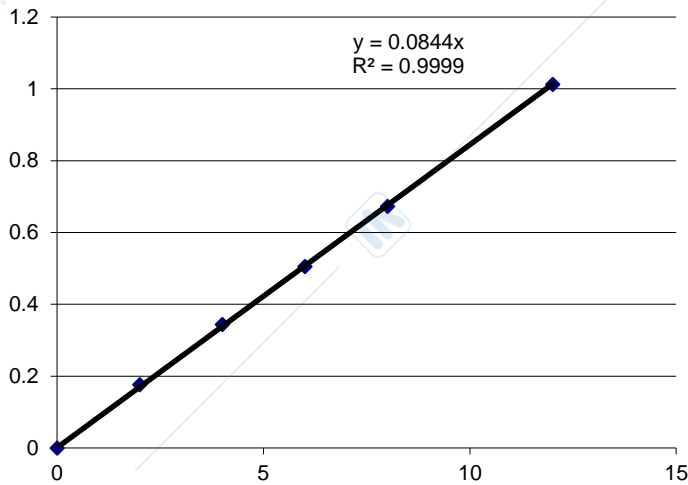
Esprimere i risultati in mg di ACIDO ASCORBICO nel campione.

Esempio di curva di taratura

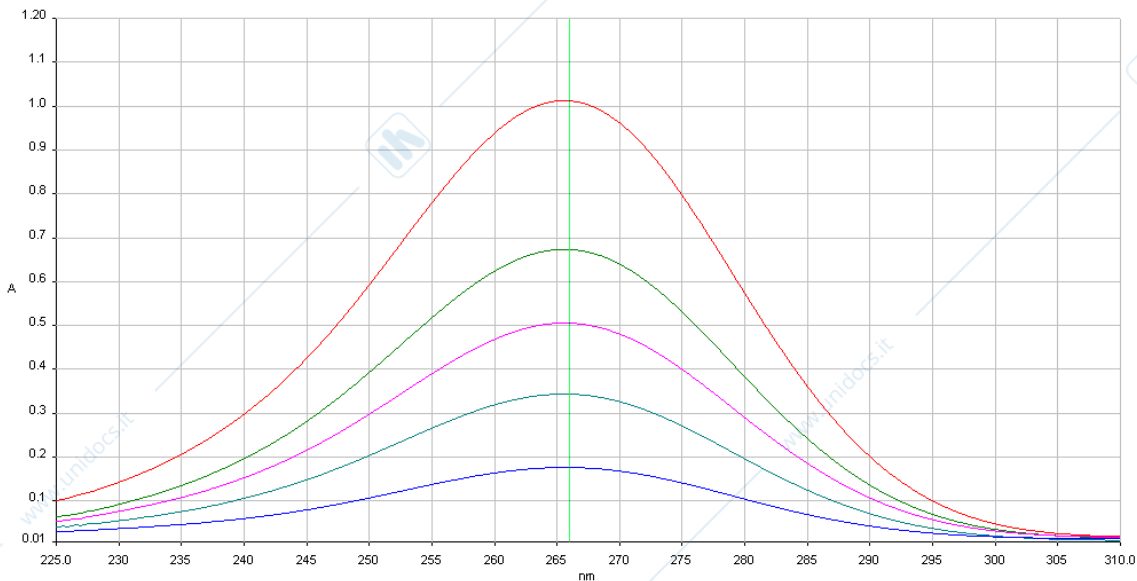
500.1 mg di Ac.Ascorbico \rightarrow 100 ml (5.001 mg/ml) soluzione A

1 ml (sol. A) \rightarrow 25 ml (0.20004 mg/ml) soluzione B

ml(B) \rightarrow 25	ppm	A (266 nm)
0	0	0
0.25	2.0004000	0.17620
0.5	4.0008000	0.34367
0.75	6.0012000	0.50500
1	8.0016000	0.67316
1.5	12.0024000	1.01230



Pendenza	0.083928	Intercetta	0.004015
SD (pend.)	0.000412	SD (inter.)	0.002736
R2	0.999903	SD (A)	0.003985



Amra Selimović, Mirsad Salkić, Amel Selimović. Direct spectrophotometric determination of L-ascorbic acid in pharmaceutical preparations using sodium oxalate as a stabilizer. *International Journal of Basic & Applied Sciences IJBAS-IJENS*. 2011, 11(2), 125-131

Determinazione spettrofotometrica di ACIDO ASCORBICO in compresse di CEBION

con standard interno

Reagenti

a) Soluzione di sodio ossalato 0.0056 M in tampone a pH 5.4

b) Soluzione standard di acido ascorbico

Pesare con precisione, in un matraccio da 100 ml, circa 500 mg di acido ascorbico. Portare a volume con acqua deionizzata bollita (*soluz. A*). Omogeneizzare.

Procedura

Preparazione del campione con aggiunte standard

Prelevare con precisione, 1 ml di *soluz. A* e diluire, con soluzione tamponata di sodio ossalato, a 25 ml in matraccio tarato (*soluzione standard*).

Mettere la compressa di *CEBION* in una beuta e solubilizzare con acqua deionizzata. Trasferire quantitativamente, il contenuto della beuta, in un matraccio da 100 ml e portare a volume con acqua deionizzata (*soluz. B*).

Se la soluzione non è limpida è necessario filtrare.

Prelevare con precisione, 1 ml di *soluz. B* (*soluzione contenente il campione!*) e diluire, con soluzione tamponata di sodio ossalato, a 50 ml in matraccio tarato (*soluz. C*).

Soluzione per la misura spettrofotometrica : prelevare, con precisione, in matracci da 25 ml, 0, 0.25, 0.5, 0.75, ml di *soluzione standard* . In ogni matraccio aggiungere, con precisione, 0.5 ml di *soluzione C* . Portare a volume con soluzione tamponata di sodio ossalato. Omogeneizzare.

Preparazione del "bianco"

Il bianco è costituito dalla soluzione tamponata di sodio ossalato.

Misure spettrofotometriche ed elaborazione dei risultati

Misura dell'assorbanza

Impostare nello spettrofotometro la frequenza di assorbimento a 266 nm. Se lo spettrofotometro è a singolo raggio, azzerare lo strumento posizionando il bianco nel compartimento del campione; se lo spettrofotometro è a doppio raggio posizionare il bianco nel compartimento del "riferimento" e gli standard o i campioni, nel compartimento riservato al "campione", in questo caso per tutte le letture, non bisogna azzerare lo strumento.

Misurare l'assorbanza dei campioni cominciando da quello con aggiunta di standard più bassa e terminare con quello con aggiunta maggiore, avvinando ogni volta la cella. Attenzione a manipolare la cella prendendolo dalla parte superiore per evitare di lasciare impronte digitali sul percorso ottico. Inoltre posizionare, ogni volta, le celle nella esatta posizione poiché il vetro può avere effetti di "scattering" non omogenei in tutta la superficie.

Calcolo dei risultati

Calcolare l'equazione della retta con il metodo dei minimi quadrati mettendo in relazione i mg di acido Ascorbico aggiunti (x) con i valori di assorbanza (y).

(Se sono stati pesati esattamente 500 mg di acido Ascorbico, le aggiunte, in matracci da 25 ml, di 0, 0.25, 0.5, 0.75, ml di soluzione standard corrispondono a 0, 0.05, 0.10, 0.15 mg di acido Ascorbico.)

La retta NON deve passare per l'origine (intercetta).

La quantità di acido Ascorbico nella soluzione (1 ml di *soluz. C*) è calcolato dall'equazione della retta:

$$y = mx + b$$

Per $y = 0$ si calcola il valore dell'intercetta sull'asse x ovvero la quantità incognita di analita:

$$0 = mx + b \quad x = -b / m$$

E' importante che il coefficiente di correlazione R^2 , sia prossimo a 1 e che il valore dell'assorbanza del campione sia compreso nell'intervallo descritto dalla curva di taratura.

In alternativa è sufficiente costruire la retta di taratura in un foglio di carta millimetrata.

Espressione dei risultati

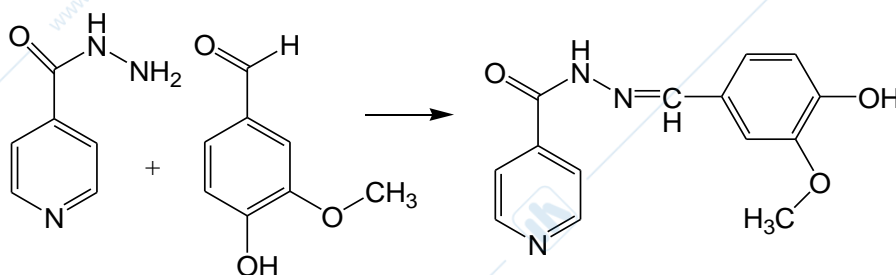
Esprimere i risultati in mg di ACIDO ASCORBICO nella compressa.

ISONIAZIDE

Trasferire quantitativamente il campione in un matraccio da 100 ml. Diluire a volume con acqua. Omogeneizzare (*soluz. C*).

Determinazione spettrofotometrica di ISONIAZIDE con standard esterno (nel visibile "colorimetrica")

Il metodo si basa sulla formazione di un idrazone (di colore giallo) tra isoniazide e vanillina. L'idrazone presenta un massimo di assorbimento a 365 nm.



Reagenti

- Soluzione alcolica di vanillina al 3%
- HCl 1 M
- Etanolo
- Soluzione standard di Isoniazide

Pesare con precisione, in un matraccio da 250 ml, circa 250 mg di isoniazide. Sciogliere e portare a volume con acqua deionizzata (*soluz. A*).

Procedura

Preparazione degli "standard" per la curva di taratura

Prelevare con precisione, 10 ml di *soluz. A* e diluire, con acqua deionizzata, a 100 ml in matraccio tarato (*soluz. B*).

Prelevare con precisione, in matracci da 25 ml, 1, 2, 3, 4, 5 ml di *soluzione B*. In ogni matraccio aggiungere 4 ml di soluzione alcolica di vanillina, 5 ml di etanolo e 10 ml di HCl 1M. Agitare e diluire a volume con acqua. Omogeneizzare. Lasciare a riposo per 10' prima di effettuare le misure spettrofotometriche.

(Se sono pesati esattamente 250 mg di isoniazide, la concentrazione nei matracci sarà rispettivamente di 4, 8, 12, 16, 20 ppm).

Preparazione del "bianco"

Aggiungere, in un matraccio da 25 ml, 4 ml di soluzione alcolica di vanillina, 5 ml di etanolo e 10 ml di HCl 1M. Agitare e diluire a volume con acqua. Omogeneizzare.

Preparazione del campione incognito

Soluzione per la misura spettrofotometrica: prelevare con precisione, in un matraccio da 25 ml, 1 ml della *soluzione C* e aggiungere 4 ml di soluzione alcolica di vanillina, 5 ml di etanolo e 10 ml di HCl 1M. Agitare e diluire a volume con acqua. Omogeneizzare. Lasciare a riposo per 10' prima di effettuare la misura con lo spettrofotometro.

Misure spettrofotometriche ed elaborazione dei risultati

Misura dell'assorbanza

Impostare nello spettrofotometro la frequenza di assorbimento a 365 nm. Se lo spettrofotometro è a singolo raggio, azzerare lo strumento posizionando il bianco nel compartimento del campione; se lo spettrofotometro è a doppio raggio posizionare il bianco nel compartimento del "riferimento" e gli standard o i campioni, nel compartimento riservato al "campione", in questo caso per tutte le letture, non bisogna azzerare lo strumento.

Misurare l'assorbanza degli standard cominciando dallo standard più diluito e terminare con quello più concentrato, avvinando ogni volta la cella. Attenzione a manipolare la cella prendendolo dalla parte superiore per evitare di lasciare impronte digitali sul percorso ottico. Inoltre posizionare, ogni volta, le celle nella esatta posizione poiché il vetro può avere effetti di "scattering" non omogenei in tutta la superficie.

Calcolo dei risultati

Calcolare l'equazione della retta di taratura (concentrazione espressa in $\mu\text{g/ml}$ (ppm) vs assorbanza) con il metodo dei minimi quadrati. La retta deve passare per l'origine (intercetta).

Sulla base dei coefficienti calcolati (pendenza e intercetta), determinare la concentrazione del campione incognito.

E' importante che il coefficiente di correlazione R^2 , sia prossimo a 1 e che il valore dell'assorbanza del campione sia compreso nell'intervallo descritto dalla curva di taratura.

In alternativa è sufficiente costruire la retta di taratura in un foglio di carta millimetrata.

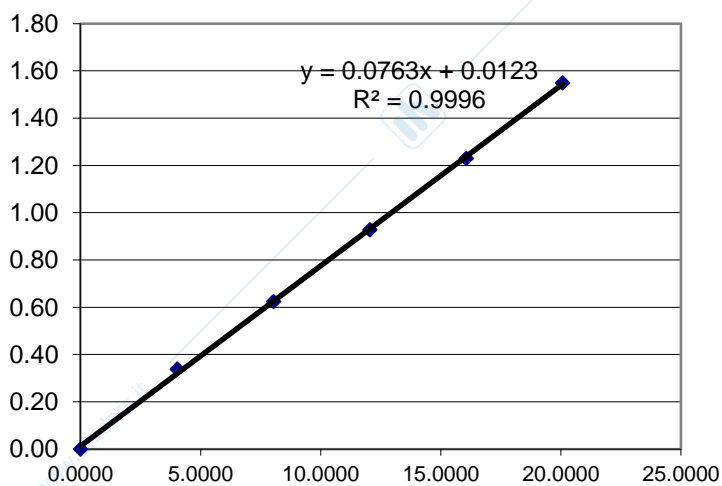
Espressione dei risultati

Esprimere i risultati in mg di ISONIAZIDE nel campione.

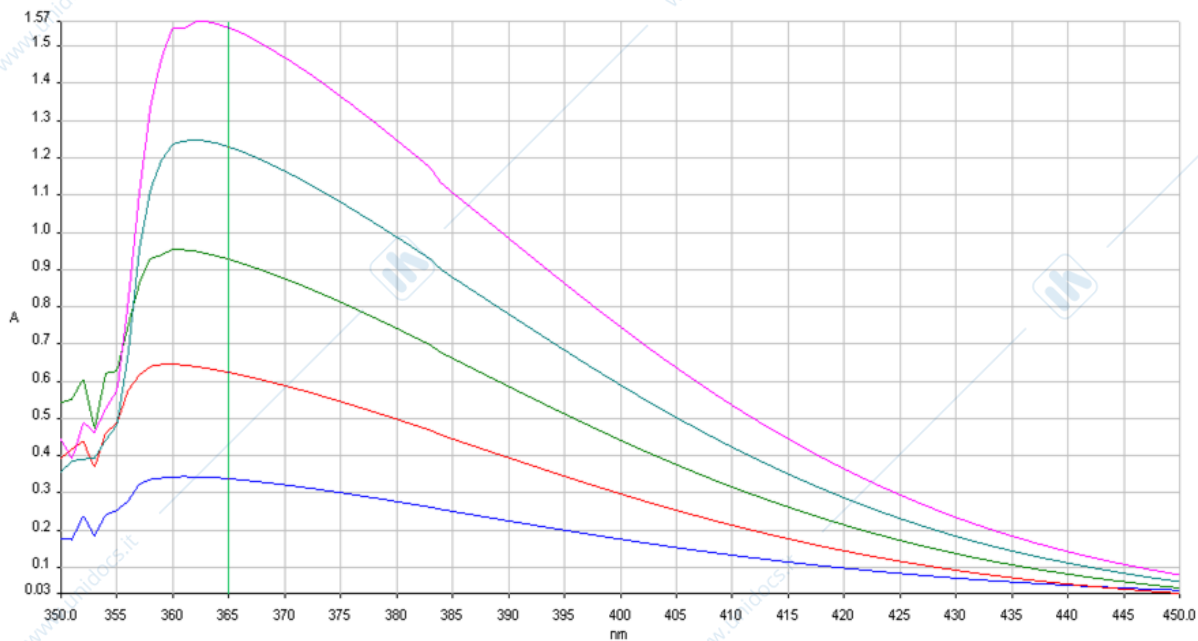
Esempio di curva di taratura

250.8 mg di Isoniazide → 250 ml (1.00 mg/ml) soluzione A
10 ml (sol. A) → 100 ml (0.10032 mg/ml) soluzione B

ml(B) →25	ppm	A (365 nm)
0	0	0
1	4.0128000	0.33855
2	8.0256000	0.62380
3	12.0384000	0.92754
4	16.0512000	1.22910
5	20.0640000	1.54860



Pendenza	0.076316	Intercetta	0.012332
SD (pend.)	0.000764	SD (inter.)	0.009278
R2	0.9996	SD (A)	0.012819



Enoche Florence Oga. Spectrophotometric determination of Isoniazid in pure and pharmaceutical formulations using vanillin. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2010, 2(1), 55-58

Determinazione spettrofotometrica di ISONIAZIDE in compresse di NICOZID con standard interno (nel visibile “colorimetrica”)

Reagenti

- Soluzione alcolica di vanillina al 3%*
- HCl 1 M*
- Etanolo*
- Soluzione standard di Isoniazide*

Pesare con precisione, in un matraccio da 250 ml, circa 250 mg di isoniazide. Sciogliere e portare a volume con acqua deionizzata (*soluz. A*).

Procedura

Preparazione del campione con aggiunte standard

Prelevare con precisione, 10 ml di *soluz. A* e diluire, con acqua deionizzata, a 100 ml in matraccio tarato (*soluzione standard*).

Mettere una compressa di *NICOZID* in una beuta e solubilizzare con acqua deionizzata. Trasferire quantitativamente, il contenuto della beuta, in un matraccio da 250 ml e portare a volume con acqua deionizzata (*soluz. B*).

Se la soluzione non è limpida è necessario filtrare.

Prelevare con precisione, 10 ml di *soluz. B* (*soluzione contenente il campione!*) e diluire, con acqua deionizzata, a 100 ml in matraccio tarato (*soluz. C*).

Soluzione per la misura spettrofotometrica: prelevare con precisione, in matracci da 25 ml, 0, 1, 2, 3 ml di *soluzione standard*. In ogni matraccio aggiungere 2 ml di *soluzione C*, 4 ml di soluzione

alcolica di vanillina, 5 ml di etanolo e 10 ml di HCl 1M. Portare a volume, con acqua deionizzata. Omogeneizzare. Lasciare a riposo per 10' prima di effettuare le misure spettrofotometriche.

Preparazione del "bianco"

Aggiungere, in un matraccio da 25 ml, 4 ml di soluzione alcolica di vanillina, 5 ml di etanolo e 10 ml di HCl 1M. Agitare e diluire a volume con acqua. Omogeneizzare.

Misure spettrofotometriche ed elaborazione dei risultati

Misura dell'assorbanza

Impostare nello spettrofotometro la frequenza di assorbimento a 365 nm. Se lo spettrofotometro è a singolo raggio, azzerare lo strumento posizionando il bianco nel compartimento del campione; se lo spettrofotometro è a doppio raggio posizionare il bianco nel compartimento del "riferimento" e gli standard o i campioni, nel compartimento riservato al "campione", in questo caso per tutte le letture, non bisogna azzerare lo strumento.

Misurare l'assorbanza dei campioni cominciando da quello con aggiunta di standard più bassa e terminare con quello con aggiunta maggiore, avvinando ogni volta la cella. Attenzione a manipolare la cella prendendolo dalla parte superiore per evitare di lasciare impronte digitali sul percorso ottico. Inoltre posizionare, ogni volta, le celle nella esatta posizione poiché il vetro può avere effetti di "scattering" non omogenei in tutta la superficie.

Calcolo dei risultati

Calcolare l'equazione della retta con il metodo dei minimi quadrati mettendo in relazione i mg di Isoniazide aggiunti (x) con i valori di assorbanza (y).

(Se sono stati pesati esattamente 250 mg di Isoniazide, le aggiunte di 0, 1, 2, 3 ml di soluzione standard corrispondono a 0, 0.1, 0.2, 0.3 mg di Isoniazide.)

La retta NON deve passare per l'origine (intercetta).

La quantità di Isoniazide nella soluzione (2 ml di soluz. C) è calcolato dall'equazione della retta:

$$y = mx + b$$

Per $y = 0$ si calcola il valore dell'intercetta sull'asse x ovvero la quantità incognita di analita:

$$0 = mx + b \quad x = -b / m$$

E' importante che il coefficiente di correlazione R^2 , sia prossimo a 1 e che il valore del'assorbanza del campione sia compreso nell'intervallo descritto dalla curva di taratura.

In alternativa è sufficiente costruire la retta di taratura in un foglio di carta millimetrata.

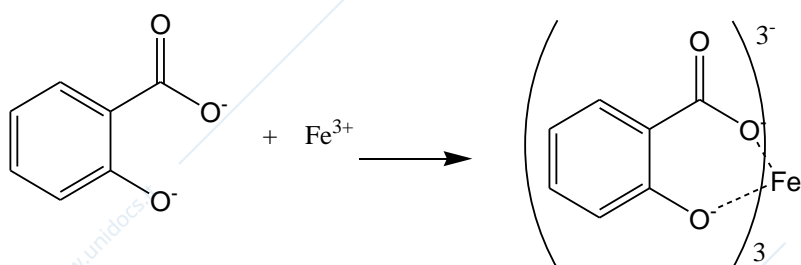
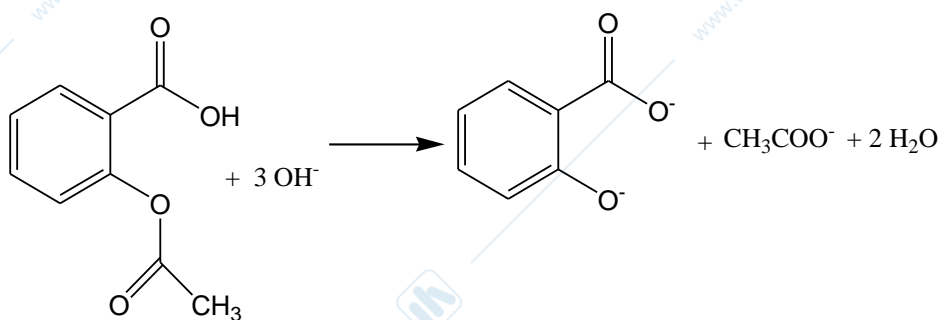
Espressione dei risultati

Esprimere i risultati in mg di ISONIAZIDE nella compressa.

ACIDO ACETILSALICILICO

Determinazione spettrofotometrica di ACIDO ACETILSALICILICO con standard esterno (nel visibile "colorimetrica")

L'acido acetilsalicilico è idrolizzato quantitativamente, con idrossido di sodio, nello ione salicilato e acetico. Lo ione salicilato è successivamente complessato con Fe^{3+} . Il complesso ferrico è colorato in violetto ed ha un massimo di assorbimento nel verde (530 nm).



Affinché sia possibile la complessazione è necessario che il pH sia compreso tra 0.5 e 2.0. A pH troppo alti il ferro potrebbe precipitare e a pH troppo bassi l'anione salicilato sarebbe protonato. Il pH è controllato con HCl.

Reagenti

- NaOH 1 M
- FeCl_3 0.025 M (soluzione acida)
- Soluzione standard di acido acetilsalicilico

Pesare con precisione, in una beuta da 250 ml, circa 400 mg di acido acetilsalicilico, aggiungere 15 ml di soluzione di NaOH 1 M e scaldare all'ebollizione.

Raffreddare e trasferire quantitativamente, il contenuto della beuta, in un matraccio tarato da 500 ml e portare a volume con acqua deionizzata (soluz. A).

Procedura

Preparazione degli "standard" per la curva di taratura

Prelevare, con precisione, 10 ml della *soluzione A* e diluirla a 100 ml, con acqua, in matraccio tarato (*soluz. B*)

Prelevare con precisione, in matracci da 25 ml, 2, 4, 6, 8, 10 ml di *soluzione B*. In ogni matraccio aggiungere 15 ml di soluzione di FeCl_3 0.025 M agitare e diluire, se necessario, a volume con acqua. Omogeneizzare.

(Se sono pesati esattamente 400 mg di acido acetilsalicilico, la concentrazione nei matracci sarà rispettivamente di 6.4, 12.8, 19.2, 25.6, 32 ppm).

Preparazione del "bianco"

Aggiungere, in un matraccio da 25 ml, 1 goccia di NaOH 1M, 15 ml di soluzione di FeCl_3 0.025 M. Agitare e diluire a volume. Omogeneizzare.

Preparazione del campione incognito

Aggiungere al campione 10 ml di soluzione di NaOH 1 M e scaldare all'ebollizione. Raffreddare e trasferire quantitativamente, il contenuto della beuta, in un matraccio tarato da 250 ml e portare a volume con acqua deionizzata (*soluz. C*).

Soluzione per la misura spettrofotometrica: prelevare, con precisione, in un matraccio da 25 ml, 2 ml della *soluzione C* e aggiungere 15 ml di soluzione di FeCl_3 0.025 M. Agitare e diluire a volume. Omogeneizzare.

Misure spettrofotometriche ed elaborazione dei risultati

Misura dell'assorbanza

Impostare nello spettrofotometro la frequenza di assorbimento a 530 nm. Se lo spettrofotometro è a singolo raggio, azzerare lo strumento posizionando il bianco nel compartimento del campione; se lo spettrofotometro è a doppio raggio posizionare il bianco nel compartimento del "riferimento" e gli standard o i campioni, nel compartimento riservato al "campione", in questo caso per tutte le letture, non bisogna azzerare lo strumento.

Misurare l'assorbanza degli standard cominciando dallo standard più diluito e terminare con quello più concentrato, avvinando ogni volta la cella. Attenzione a manipolare la cella prendendolo dalla parte superiore per evitare di lasciare impronte digitali sul percorso ottico. Inoltre posizionare, ogni volta, le celle nella esatta posizione poiché il vetro può avere effetti di "scattering" non omogenei in tutta la superficie.

Calcolo dei risultati

Calcolare l'equazione della retta di taratura (concentrazione espressa in $\mu\text{g/ml}$ (ppm) vs assorbanza) con il metodo dei minimi quadrati. La retta deve passare per l'origine (intercetta).

Sulla base dei coefficienti calcolati (pendenza e intercetta), determinare la concentrazione del campione incognito.

È importante che il coefficiente di correlazione R^2 , sia prossimo a 1 e che il valore dell'assorbanza del campione sia compreso nell'intervallo descritto dalla curva di taratura.

In alternativa è sufficiente costruire la retta di taratura in un foglio di carta millimetrata.

Espressione dei risultati

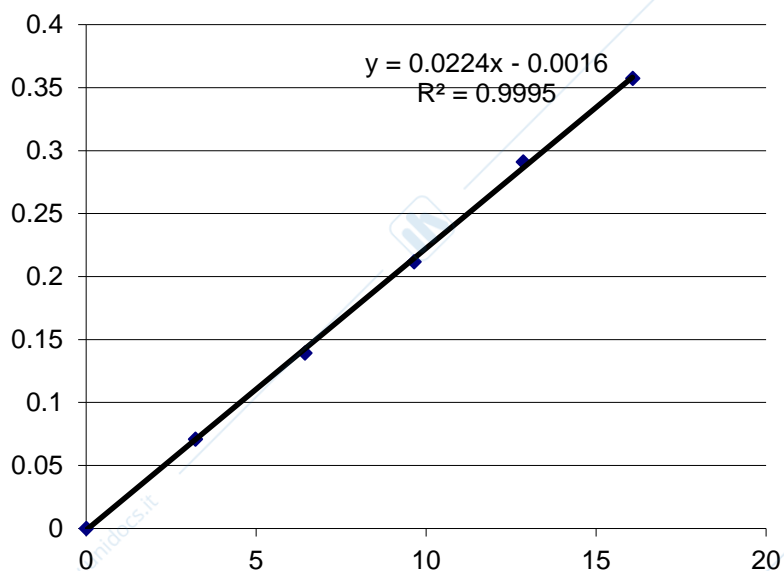
Esprimere i risultati in mg di ACIDO ACETILSALICILICO nel campione .

Esempio di curva di taratura

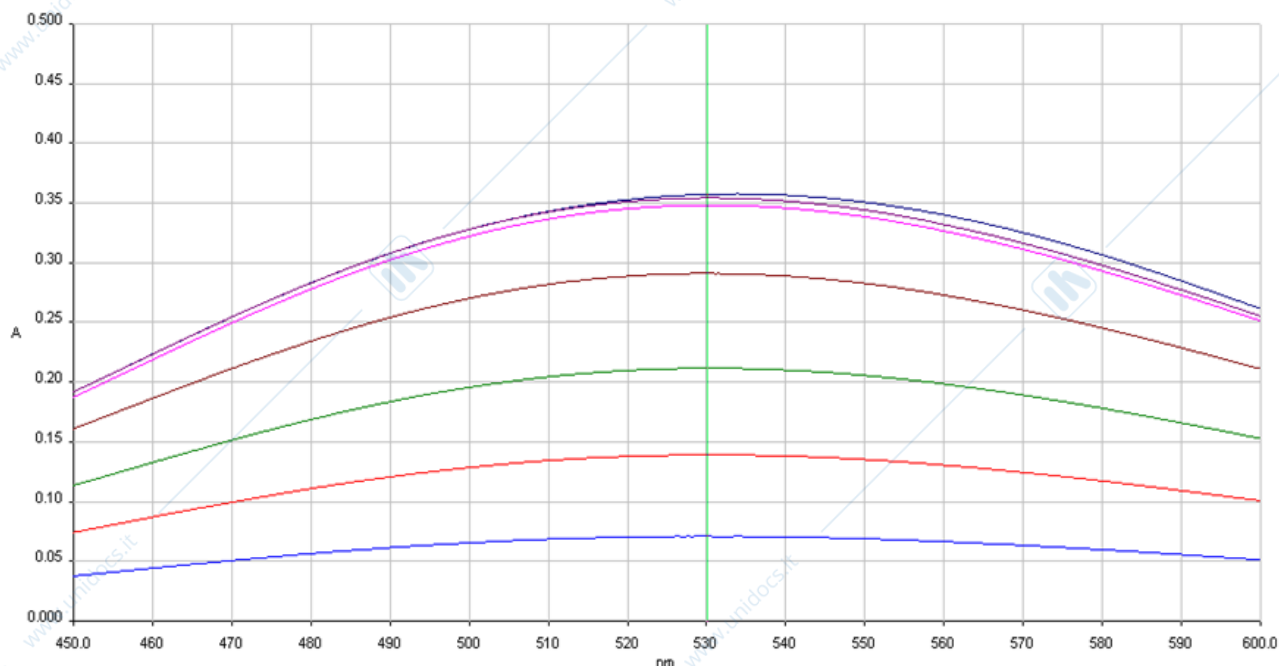
401.8 mg di Ac.Acetilsalicilico → 500 ml (0.8036 mg/ml) soluzione A

10 ml (sol. A) → 100 ml (0.08036 mg/ml) soluzione B

ml(B) →25	ppm	A (530nm)
0	0	0
1	3.2144000	0.07095
2	6.4288000	0.13924
3	9.6432000	0.21165
4	12.8576000	0.29106
5	16.0720000	0.35739



Pendenza	0.022396475	Intercetta	-0.0016
SD (pend.)	0.000244231	SD(Inter.)	0.002377
R2	0.999524561	SD(A)	0.003284



Determinazione spettrofotometrica di ACIDO ACETILSALICILICO in compresse di ASPIRINA con standard interno (nel visibile “colorimetrica”)

Reagenti

- NaOH 1 M
- FeCl₃ 0.025 M
- Soluzione standard di acido acetilsalicilico

Pesare con precisione, in una beuta da 250 ml, circa 400 mg di acido acetilsalicilico, aggiungere 15 ml di soluzione di NaOH 1 M e scaldare all'ebollizione.

Raffreddare e trasferire quantitativamente, il contenuto della beuta, in un matraccio da 500 ml e portare a volume con acqua deionizzata (*soluz. A*).

Procedura

Preparazione del campione con aggiunte standard

Prelevare, con precisione, 10 ml della *soluzione A* e diluirla a 100 ml, con acqua, in matraccio tarato (*soluzione standard*)

Mettere una compressa di ASPIRINA in una beuta. Aggiungere 15 ml di soluzione di NaOH 1 M. Scaldare all'ebollizione.

Raffreddare e trasferire quantitativamente, il contenuto della beuta, in un matraccio da 250 ml e portare a volume con acqua deionizzata *soluz. B* (*soluzione contenente il campione!*).

Se la soluzione non è limpida è necessario filtrare.

Soluzione per la misura spettrofotometrica: prelevare con precisione, in matracci da 25 ml, 0, 2, 4, 6 ml di *soluzione standard*. In ogni matraccio aggiungere, con precisione, 3 ml di *soluzione B* e 15 ml di soluzione di FeCl₃ 0.025 M. Agitare e diluire a volume. Omogeneizzare.

Preparazione del "bianco"

Aggiungere, in un matraccio da 25 ml, 1 goccia di NaOH 1M, 15 ml di soluzione di FeCl₃ 0.025 M. Agitare e diluire a volume. Omogeneizzare.

Misure spettrofotometriche ed elaborazione dei risultati

Misura dell'assorbanza

Impostare nello spettrofotometro la frequenza di assorbimento a 530 nm. Se lo spettrofotometro è a singolo raggio, azzerare lo strumento posizionando il bianco nel compartimento del campione; se lo spettrofotometro è a doppio raggio posizionare il bianco nel compartimento del "riferimento" e gli standard o i campioni, nel compartimento riservato al "campione", in questo caso per tutte le letture, non bisogna azzerare lo strumento.

Misurare l'assorbanza dei campioni cominciando da quello con aggiunta di standard più bassa e terminare con quello con aggiunta maggiore, avvinando ogni volta la cella. Attenzione a manipolare la cella prendendolo dalla parte superiore per evitare di lasciare impronte digitali sul percorso ottico. Inoltre posizionare, ogni volta, le celle nella esatta posizione poiché il vetro può avere effetti di "scattering" non omogenei in tutta la superficie.

Calcolo dei risultati

Calcolare l'equazione della retta con il metodo dei minimi quadrati mettendo in relazione i mg di acido Acetilsalicilico aggiunti (x) con i valori di assorbanza (y).

(Se sono stati pesati esattamente 400 mg di acido Acetilsalicilico, le aggiunte di 0, 2, 4, 6 ml di soluzione standard corrispondono a 0, 0.16, 0.32, 0.48 mg di acido Acetilsalicilico.)

La retta NON deve passare per l'origine (intercetta).

La quantità di acido Acetilsalicilico nella soluzione (in 1 ml di *soluz.B*) è calcolato dall'equazione della retta:

$$y = mx + b$$

Per $y = 0$ si calcola il valore dell'intercetta sull'asse x ovvero la quantità incognita di analita:

$$0 = mx + b \quad x = -b / m$$

E' importante che il coefficiente di correlazione R^2 , sia prossimo a 1 e che il valore dell'assorbanza del campione sia compreso nell'intervallo descritto dalla curva di taratura.

In alternativa è sufficiente costruire la retta di taratura in un foglio di carta millimetrata.

Espressione dei risultati

Esprimere i risultati in mg di ACIDO ACETILSALICILICO nella compressa.

Calcolo della quantità di campione con il metodo delle aggiunte interne.

E' opportuno che il numero di aggiunte di standard al campione siano ≥ 2 .

E' necessario preparare:

- bianco
- campione
- campione + aggiunta standard (1)
- campione + aggiunta standard (2)
-

Calcolo con metodo 1

Calcolo della retta di regressione A vs quantità di standard aggiunto

In questo caso la retta NON passa per lo 0. Al punto con 0 quantità di aggiunta di standard, corrisponde l'assorbanza del campione.

Indicando con:

X = quantità di campione

S = quantità di aggiunta standard (0, 1, 2,)

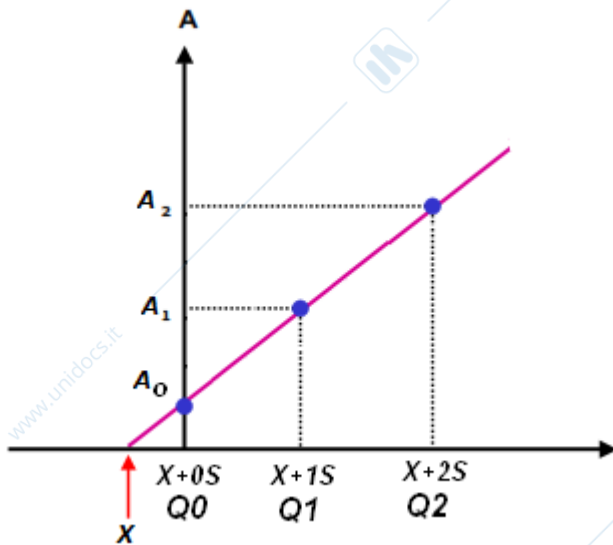
Si hanno le corrispondenti assorbanze

$$Q_0 = X + 0S \rightarrow A_0$$

$$Q_1 = X + 1S \rightarrow A_1$$

$$Q_2 = X + 2S \rightarrow A_2$$

.....



$$A = mQ + b$$

Per $A = 0$ si calcola il valore dell'intercetta sull'asse x ovvero la quantità di campione:

$$0 = mQ + b \quad Q = -b / m$$

Ovviamente si assume il valore Q come positivo

Calcolo con metodo 2

Calcolo della retta di regressione $A - A_0$ vs quantità di standard aggiunto

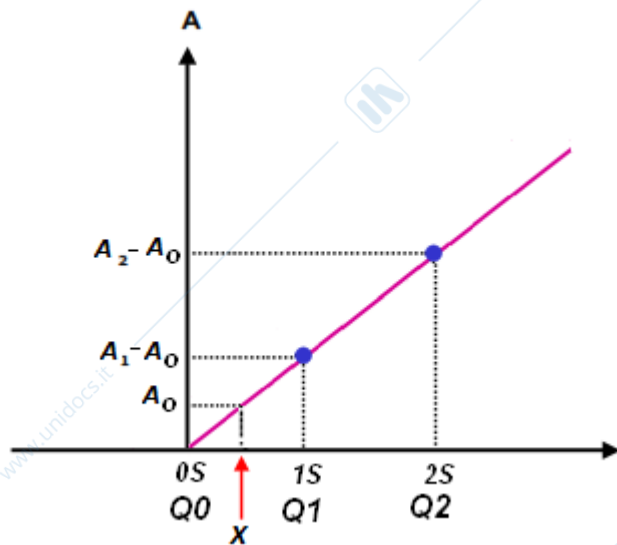
In questo caso la retta passa per lo 0. Indicando con:

X = quantità di campione

S = quantità di aggiunta standard (0, 1, 2,)

Si hanno le corrispondenti assorbanze

$$\begin{aligned} Q_0 = 0S &\rightarrow A_0 - A_0 = 0 \\ Q_1 = 1S &\rightarrow A_1 - A_0 = A_1' \\ Q_2 = 2S &\rightarrow A_2 - A_0 = A_2' \\ \dots \end{aligned}$$



Dalla retta di regressione:

$$A = mQ + b$$

si estrapola il valore della quantità del campione:

$$Q = (A_0 - b)/m$$

Calcolo con metodo 3

Calcolo del valore medio

Indicando con:

X = quantità di campione

S = quantità di aggiunta standard (0, 1, 2, ...)

Si hanno le corrispondenti assorbance

$$X+0S \rightarrow A_0$$

$$X+1S \rightarrow A_1$$

$$X+2S \rightarrow A_2$$

.....

Calcolo della quantità di campione sulla base dell'aggiunta 1

$$X_1 = \frac{1S}{(A_1 - A_0)} \cdot A_0$$

Calcolo della quantità di campione sulla base dell'aggiunta 2

$$X_2 = \frac{2S}{(A_2 - A_0)} \cdot A_0$$

Media dei valori

$$X = \frac{X_1 + X_2}{2}$$