

# **CHIMICA ANALITICA II**

## **CON LABORATORIO**

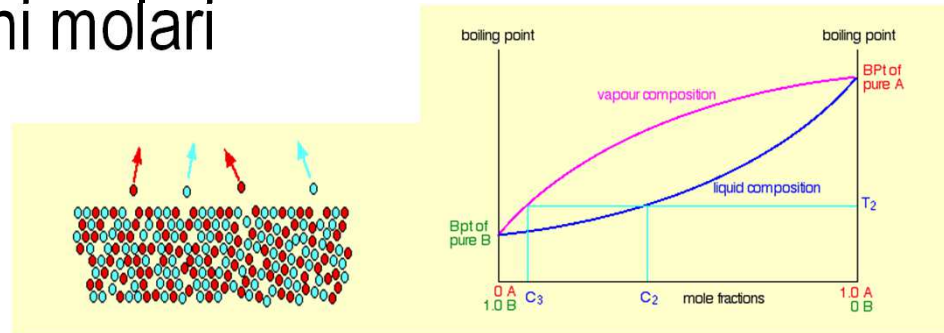
**(AA 2016-17)**

8 C.F.U. - Laurea triennale in Chimica

Sistemi eterogenei  
liquido-liquido  
e processi di partizione

Il chimico analitico è interessato a sistemi eterogenei primariamente dal punto di vista dello sviluppo di tecniche di separazione.

- Nelle **separazioni di fase all'equilibrio** (un liquido in eq. con il suo vapore), le fasi sono miscele in cui la sostanza di interesse rappresenta una componente maggiore; la composizione delle fasi è espressa come frazioni molari



- Nell'**equilibrio di distribuzione**, le fasi coinvolgono componenti diversi dall'analita. L'analita non è la componente maggiore e la composizione della fase è convenientemente espressa in termini di concentrazione dell'analita (e.g. mol L<sup>-1</sup>)

(Kellner, 2004 13.1 pag 352)

# Estrazioni Liquido-Liquido

- Una delle più comuni separazioni semplici
- Spesso impiegata per introdurre la ***teoria della partizione***
- L'attrezzatura è semplice (imbuti separatori o vials + siringhe)
- I due **liquidi devono essere immiscibili** (formare due fasi distinte)
- La fase più bassa è più densa (di solito acqua o un idrocarburo clorurato)
- Molto spesso con acqua (o tampone acquoso) e liquidi organici meno polari

# SEPARARE SOLUTI TRAMITE ESTRAZIONI

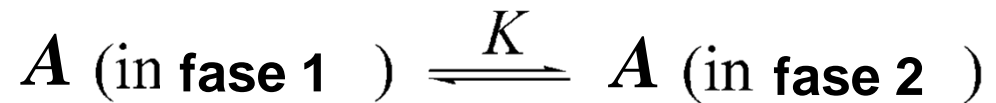
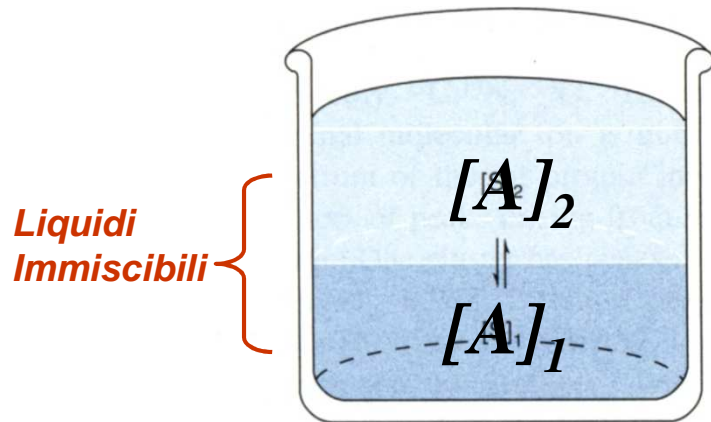
L'entità con cui soluti, sia inorganici che organici, si distribuiscono tra due liquidi immiscibili può essere molto varia, e queste differenze sono state impiegate per decenni per realizzare separazioni di specie chimiche.

# Introduzione alle Separazioni Analitiche

## Estrazioni

### 1.) Definizione

- Il trasferimento di un composto da una fase ad un'altra
  - Le due fasi impiegate possono essere liquido-liquido, liquido-solido, gas-solido, etc
  - Liquido-liquido è il tipo di estrazione più comune



$$K_d = \frac{[A]_2}{[A]_1}$$

- La ripartizione del soluto  $s$  tra due fasi chimiche (1 e 2) è descritta tramite la costante di equilibrio  $K$

$K$  è il coefficiente di partizione  $K_d$

$$K_d' = K_d (\gamma_{\text{fase 2}} / \gamma_{\text{fase 1}})$$

Es. fase 1 = acqua,  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$   
fase 2 =  $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ , etere di petrolio,  
 $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ ,  $(\text{C}_6\text{H}_6)$

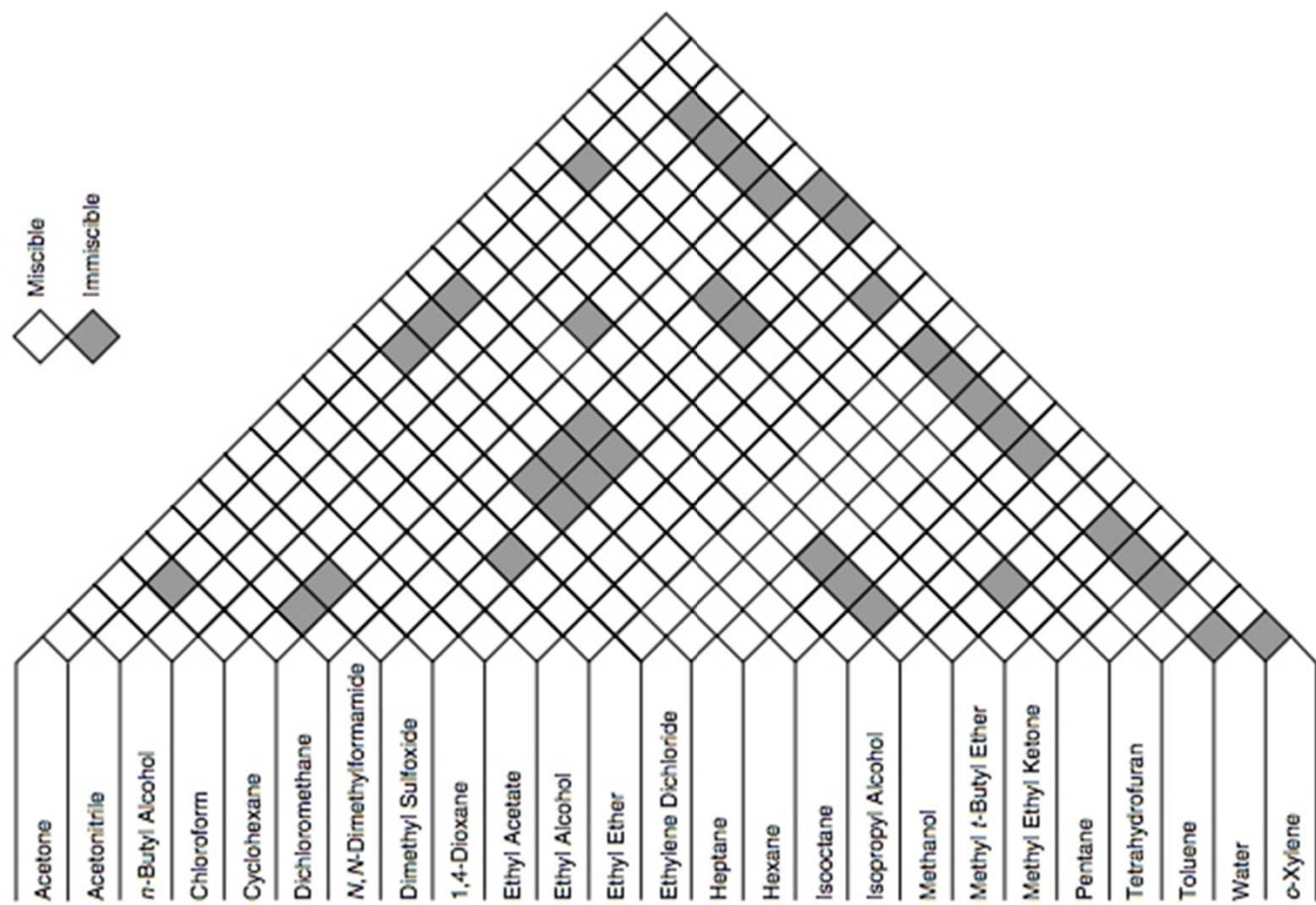


Figure 2.12. Solvent miscibility chart. (Reprinted with permission from Ref. 39. Copyright © 2002 Honeywell Burdick & Jackson.) Available online at

# Introduzione alle Separazioni Analitiche

## Estrazioni

### 2.) Efficienza di Estrazione

Si può determinare la frazione di moli di **A** rimanenti nella fase 1 dopo una estrazione

- Il valore di  $K$  e i volumi delle fasi 1 e 2 devono essere conosciuti



$$q = \frac{V_1}{(V_1 + KV_2)}$$

dove:  $q$  = frazione delle moli di S rimanente nella fase 1  
 $V_1$  = volume della fase 1  
 $V_2$  = volume della fase 2  
 $K_d$  = coefficiente di partizione

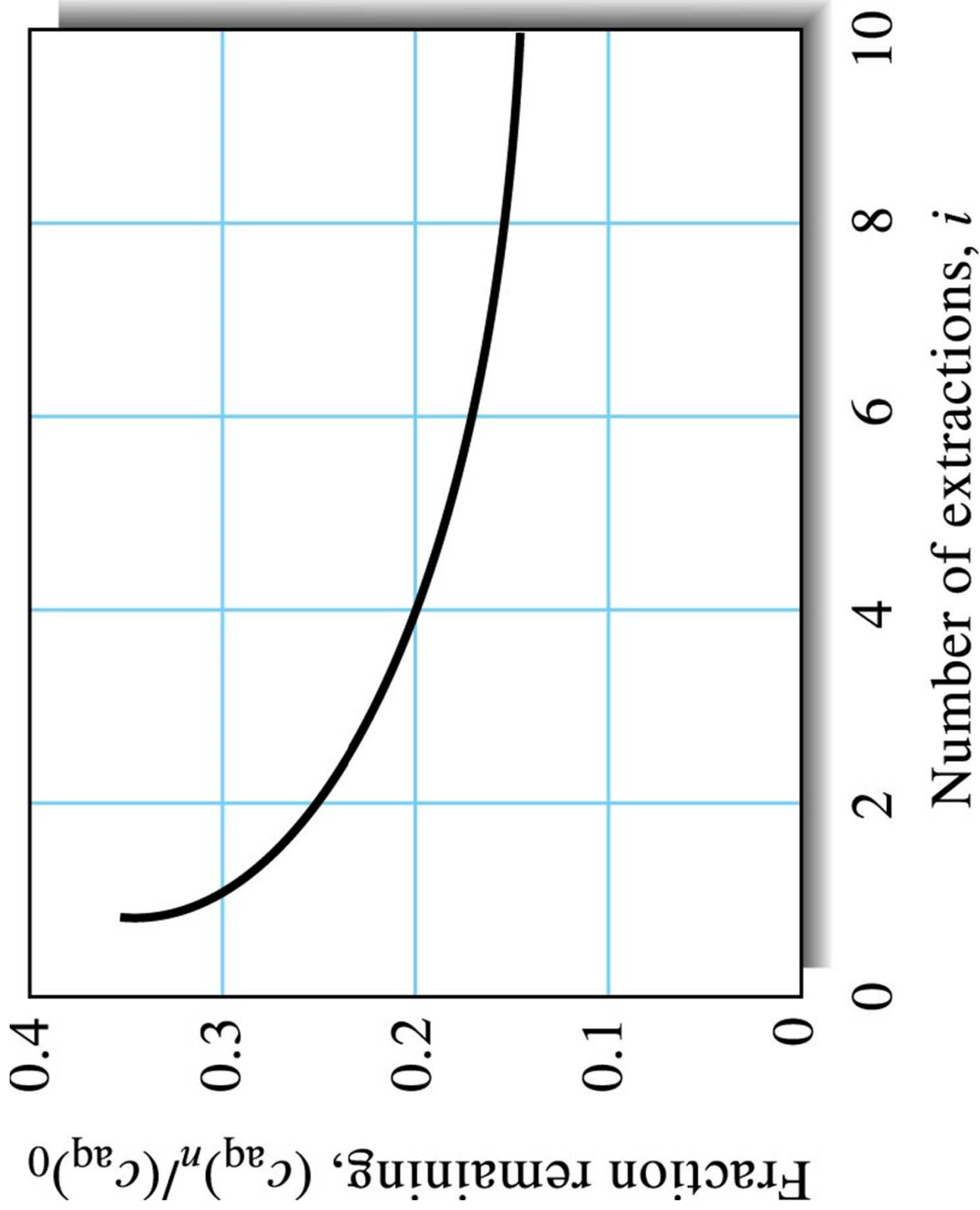
Se procedo a estrazioni ripetute **assumendo  $V_2$  costante**, ogni estrazione rimuove la stessa frazione di composto. La frazione di **A** rimanenti nella fase 1 dopo  $n$  estrazioni è

$$q_n = \left[ \frac{V_1}{(V_1 + KV_2)} \right]^n$$

[http://people.rit.edu/lprsch/scha312ext\\_a.html](http://people.rit.edu/lprsch/scha312ext_a.html)

<http://www2.sci.u-szeged.hu/inorg/Sample%20prep%20for%20organics.pdf>



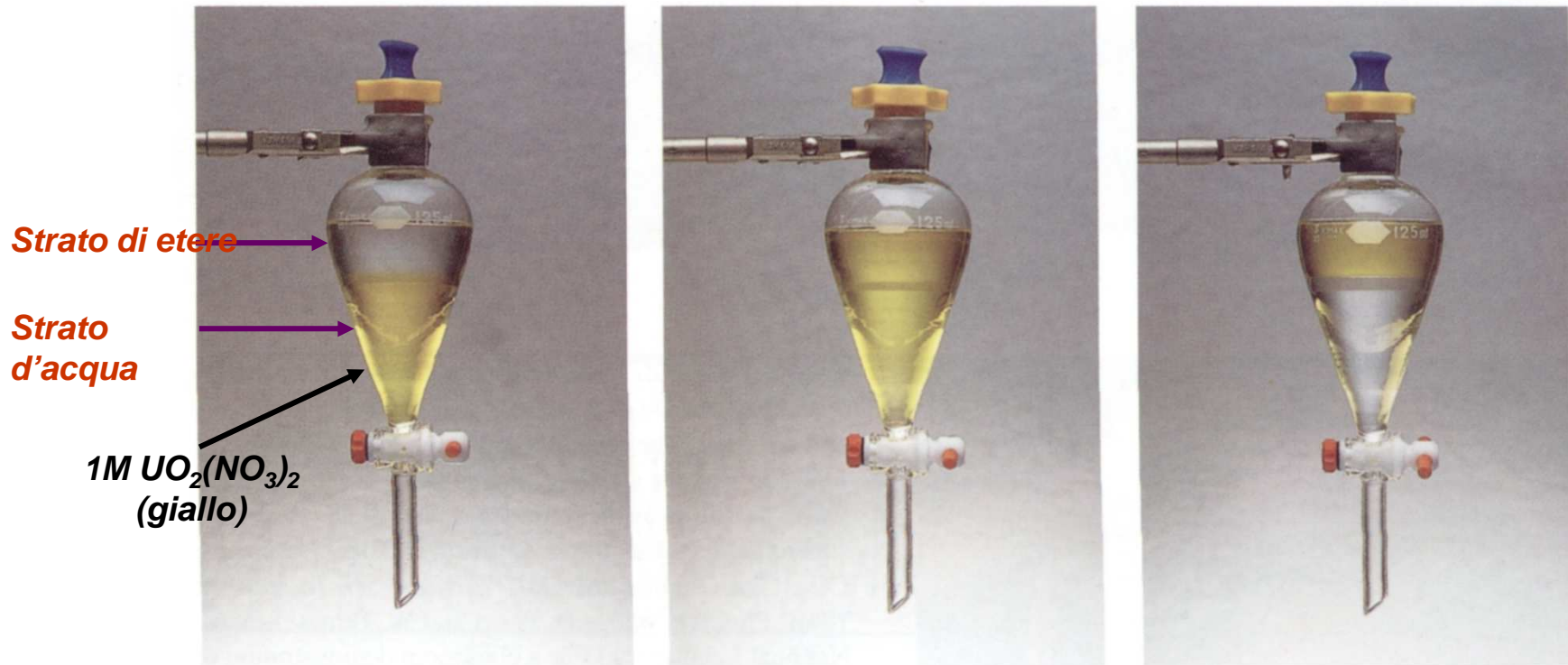


# Introduzione alle Separazioni Analitiche

## Estrazioni

### 2.) Efficienza di estrazione

➤ Illustrazione



Dopo mescolamento,  $UO_2(NO_3)_2$   
Si distribuisce in entrambi gli strati

Dopo 8 estrazioni,  $UO_2(NO_3)_2$   
è stato rimosso dall'acqua

# Introduzione alle Separazioni Analitiche

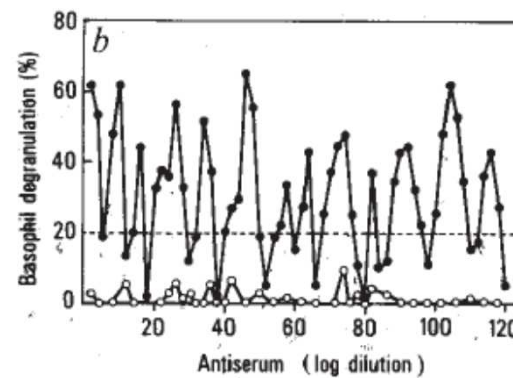
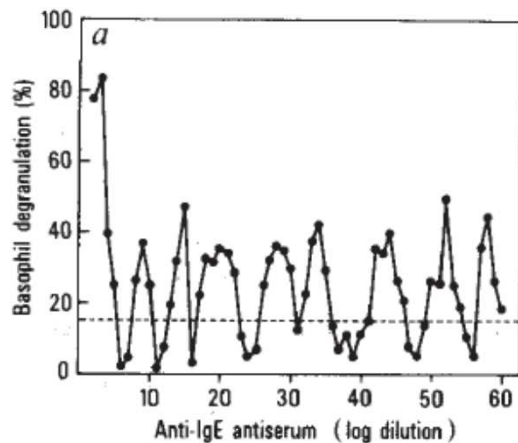
## Estrazioni

### 3.) che succede se $n$ tende ad infinito?

- Il quantitativo di **S** rimanente nella fase 1 diventa zero
  - La Soluzione è infinitamente diluita

### *This Situation Created a Strange Saga in Science – Water Memory*

- a founding principal of homeopathic medicine
- the claim is that water *remembers* the activity of the drug after it has been removed



**Nature (1988) 333:816-818**

Authors' claim to still observe antibody activity even after a  $1 \times 10^{120}$  fold dilution.

Less than 1 molecule is present with a  $1 \times 10^{14}$  dilution

# Introduzione alle Separazioni Analitiche

## Estrazione

### 4.) Esempio #1:

- Il Soluto A ha una  $K_d = 3$  per un'estrazione tra acqua (fase 1) e dicloro-metano (fase 2).

Se 100 mL di una soluzione 0.01M di A in acqua è sottoposta ad estrazione per una volta con 500 mL dicloro-metano, che frazione sarà estratta?

**Soluzione:** Prima determina la frazione non estratta (frazione ancora nella fase 1, q):

$$q_n = \left[ \frac{V_1}{(V_1 + KV_2)} \right]^n = \left[ \frac{100\text{mL}}{100\text{mL} + (3) \times (500\text{mL})} \right]^1 = 0.062 = 6.2\%$$

La frazione di S estratta (p) è semplicemente:

$$p = 1 - q = 1 - 0.062 = 0.938 = 93.8\%$$

# Introduzione alle Separazioni Analitiche

## Estrazioni

### 4.) Esempio #2:

- Per lo stesso esempio, che frazione sarà estratta se 5 estrazioni con 100 mL di dicloro-metano ciascuna vengono effettuate (invece di una estrazione con 500 mL)?

### Soluzione:

Determinare la frazione non estratta (frazione ancora nella fase 1, q):

$$q_n = \left[ \frac{V_1}{(V_1 + KV_2)} \right]^n = \left[ \frac{100\text{mL}}{100\text{mL} + (3) \times (100\text{mL})} \right]^5 = 0.00098 = 0,098\%$$

La frazione di S estratta (p) è:

$$p = 1 - q = 1 - 0.00098 = 0.99902 = 99.902\%$$

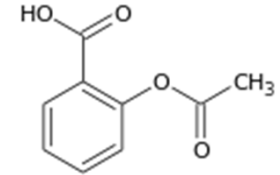
Nota: Per lo stesso volume totale di dicloro-metano (500 mL), si estrae più A se si impiegano molte piccole porzioni di dicloro-metano piuttosto che una unica grande aliquota.

# Introduzione alle Separazioni Analitiche

## Estrazioni

### 5.) Effetti del pH nelle Estrazioni

- Per acidi (HA) e Basi (B) deboli
  - Le forme protonate e non-protonate usualmente hanno diversi coefficienti di partizione ( $K_d$ )
  - Forme con carica ( $A^-$  or  $BH^+$ ) NON saranno estratte in fase organica
  - Forme neutre (HA or B) saranno estratte
  
- La Partizione è Descritta in Termini del Quantitativo Totale di Sostanza (*Total Amount of a Substance*)
  - Le concentrazioni individuali di B &  $BH^+$  o HA &  $A^-$  sono più difficili da determinare
  - La Partizione non dipende dalla forma in entrambe le fasi
  - E' descritta dal Coefficiente di Distribuzione (D)



$$D = \frac{\text{Concentrazione Totale di A nella Fase 2}}{\text{Concentrazione Totale di A nella Fase 1}}$$

# Introduzione alle Separazioni Analitiche

## Estrazioni

### 5.) Effetti del pH sulle Estrazioni

- La distribuzione di una base o di un acido deboli sono pH dipendenti

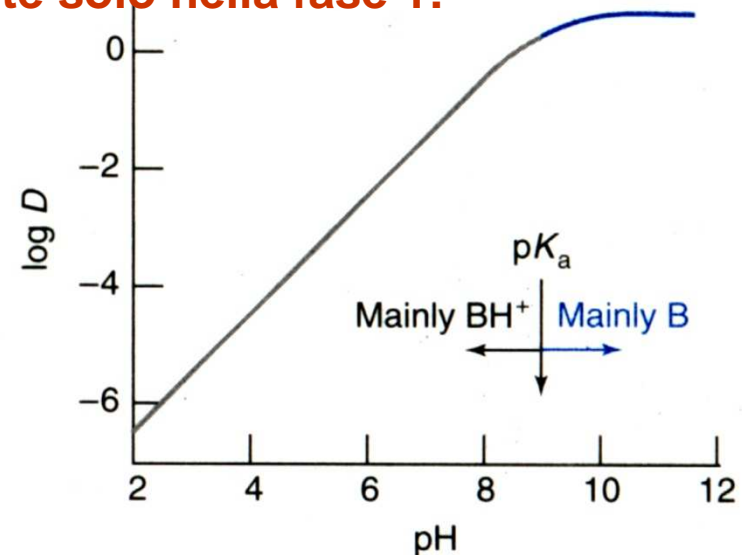
Per una base debole (B) per la quale  $BH^+$  esiste solo nella fase 1:

$$D = \frac{\text{Concentrazione Totale di A nella Fase 2}}{\text{Concentrazione Totale di A nella Fase 1}}$$

↓

$$K_{BH^+} = \frac{0}{[BH^+]_1} = 0$$

$$D = \frac{[B]_2}{[B]_1 + [BH^+]_1}$$



# Introduzione alle Separazioni Analitiche

## Estrazioni

### 5.) Effetti del pH sulle Estrazioni

- La distribuzione di una base o di un acido deboli sono pH dipendenti

Sostituire la definizione di  $K_B$  e  $K_a$  in  $D$ :

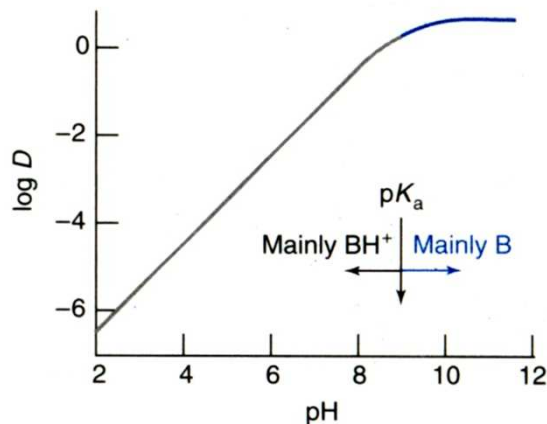
$$D = \frac{[B]_2}{[B]_1 + [BH^+]_1}$$

$$K_B = \frac{[B]_2}{[B]_1}$$

(coefficiente di partizione)

$$K_a = K_{\downarrow} K_b \equiv \frac{[H^+][B]}{[BH^+]}$$

(costante di equilibrio)



$$D = \frac{K_B K_a}{K_a + [H^+]}$$

*D è direttamente correlato a  $[H^+]$*



# Introduzione alle Separazioni Analitiche

## Estrazioni

### 5.) Effetti del pH sulle Estrazioni

- Una simile espressione può essere scritta per un acido debole (HA)

$$D = \frac{K_{HA} [H^+]}{K_a + [H^+]}$$

dove:  $K_{HA} = \frac{[HA]_2}{[HA]_1}$

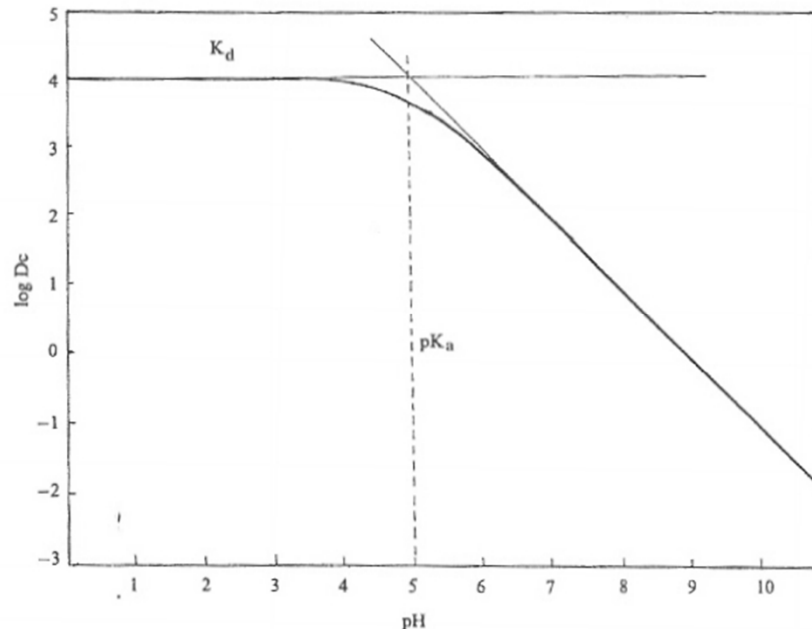


Figure 14.1. Distribution ratio as a function of pH in the partitioning of hypothetical carboxylic acid ( $pK_a/5$ ) between on organic phase and aqueous buffer solution ( $K_d = 10^4$ )

Quando  $[H^+] > K_a$ ,  
 $D \approx K_{HA}$

➤ **La possibilità di modificare - attraverso il pH - il rapporto di distribuzione di un acido debole o di una base debole, è utile per selezionare le condizioni che estrarranno alcuni composti ma non altri.**

**-Usa pH bassi per estrarre HA ma non BH<sup>+</sup> (estrazioni di acidi deboli)**

**-Usa pH elevati per estrarre B ma non A<sup>-</sup> (estrazioni di basi deboli)**

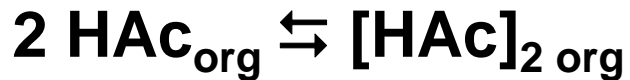
## Caso

La specie estratta polimerizza in fase organica

L'acido acetico in un solvente organico non polare dimerizza

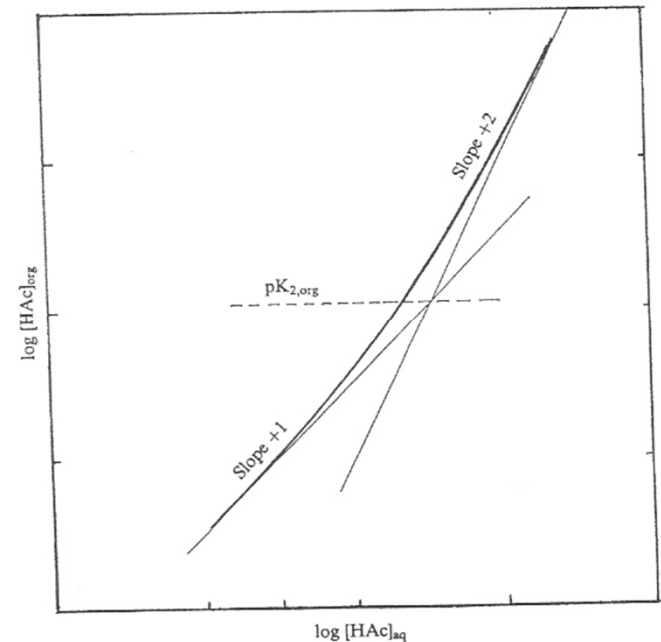


$$K_d = [\text{HAc}]_{\text{org}} / [\text{HAc}]_{\text{aq}}$$



$$K_{2,\text{org}} = [(\text{HAc})_2]_{\text{org}} / [\text{HAc}]_{\text{org}}^2$$

Figure 14.2. Hypothetical extraction of acetic acid from an aqueous phase into an organic solvent in which the acid forms a dimeric species



# Introduzione alle Separazioni Analitiche

## *Estrazioni*

### 6.) **Esempio**

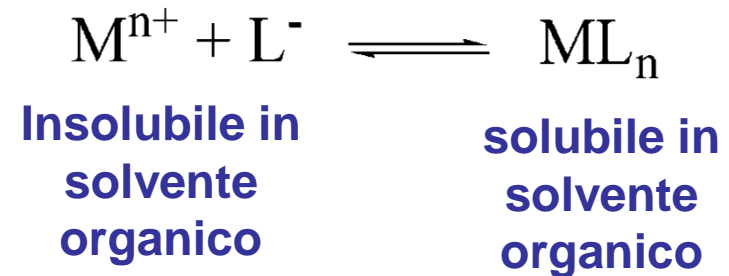
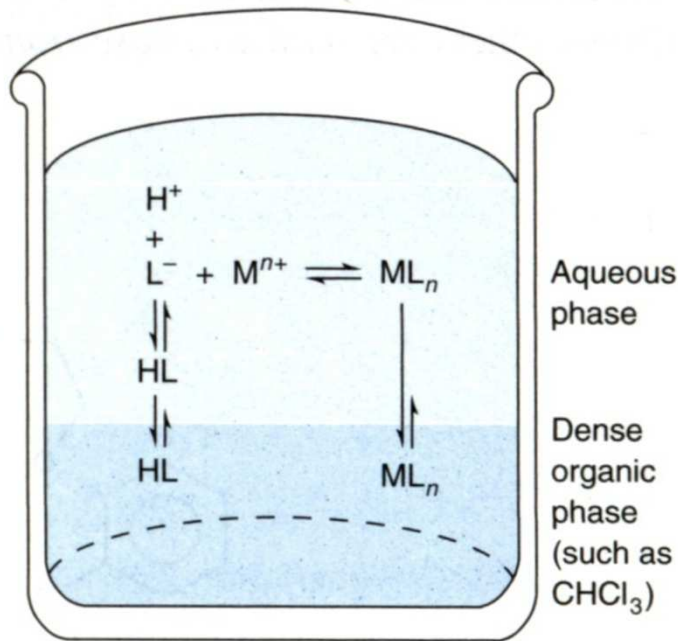
L'acido Butanoico quando si distribuisce tra acqua e benzene ha un coefficiente di 3.0 (a favore del benzene). Trova la concentrazione formale di acido butanoico in ciascuna fase quando 100 mL di acido butanoico acquoso 0.10 M sono estratti con 25 mL di benzene a pH 4.00 e pH 10.00

# Introduzione alle Separazioni Analitiche

## Estrazioni

### 7.) estrazioni con Chelanti per Metalli

- Ioni metallici possono essere separati uno dall'altro usando vari agenti complessanti organici.
  - Solubili in solventi organici

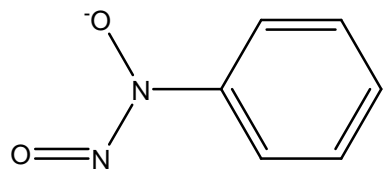


# Introduzione alle Separazioni Analitiche

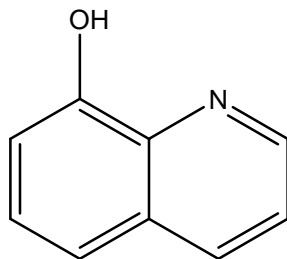
## Estrazioni

### 7.) Estrazioni con un Chelante per Metalli

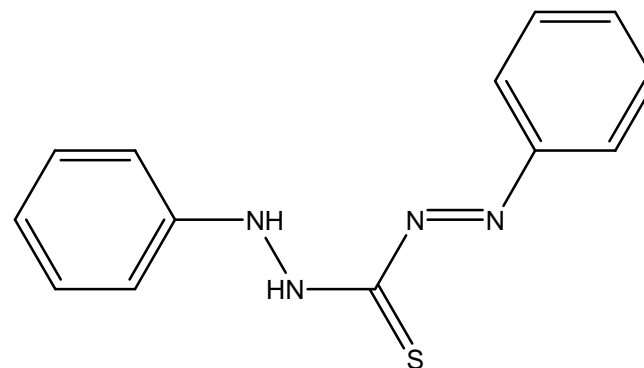
#### ➤ Agenti Complessanti comuni



cupferron

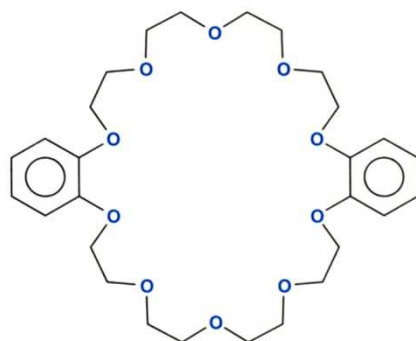


8-hydroxyquinoline

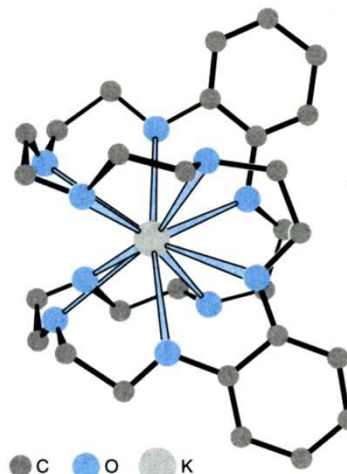


dithizone

#### Crown ethers



(a)



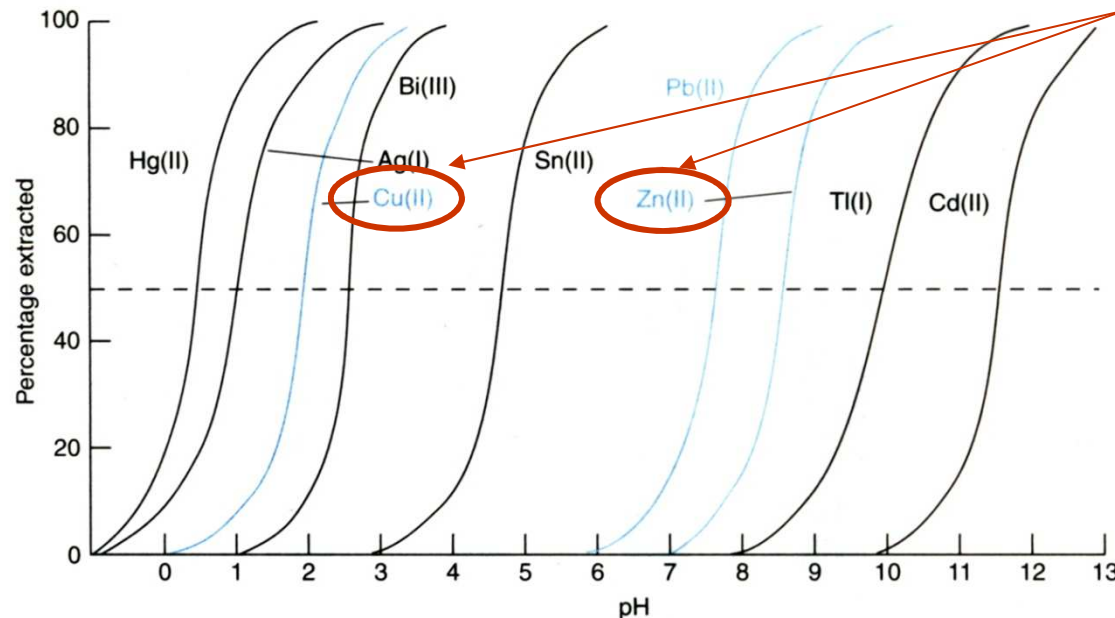
(b) ● C ● O ● K

# Introduzione alle Separazioni Analitiche

## Estrazioni

### 7.) Estrazioni con un Chelante per Metalli

- Molti agenti complessanti si legano a una varietà di metalli
  - Differente forza e costanti di equilibrio
- L'estrazione di uno ione metallico può essere resa selettiva per un particolare metallo attraverso:
  - La scelta di un agente complessante con elevata affinità per quel metallo (piccola  $K$ )
  - La regolazione del pH nell'Estrazione



**Cu<sup>2+</sup> è estratto completamente dalla soluzione a pH 5 mentre lo Zn<sup>2+</sup> rimane nella soluzione acquosa.**

**Selettività del pH per il ditizione per l'estrazione di ioni metallici**

# Equilibri Liquido-Solido

Sono equilibri eterogenei.

Oltre al campionamento, la preparazione del campione è ancora il passo più importante in un'analisi.

Estrazione di analiti in qualsiasi solido per mezzo di qualsiasi liquido, ma anche trasferimento selettivo di analiti da matrice liquida a fase solida.

Estrazione e arricchimento possono essere a volte combinati.

Risparmio di tempo.

Metodi di macro-estrazione e di micro-estrazione.

(Kellner, 2004 - Capitolo 15)



- Estrazione da un solido a un liquido; da un liquido a un solido
- A volte non è semplice distinguere tra sistemi liquido-solido e liquido-liquido (es liquido molto viscoso, liquido, ma se riveste una fibra di silice, simile a matrice solida attiva)
- Scambio ionico

# Scambio ionico

Solubilità per solidi cristallini

Soluzioni acquose: anioni e cationi

Minerali si comportano spesso diversamente: l'anione (es. silicati) è parte di una struttura cristallina

rigida e insolubile

(matrice) e i cationi

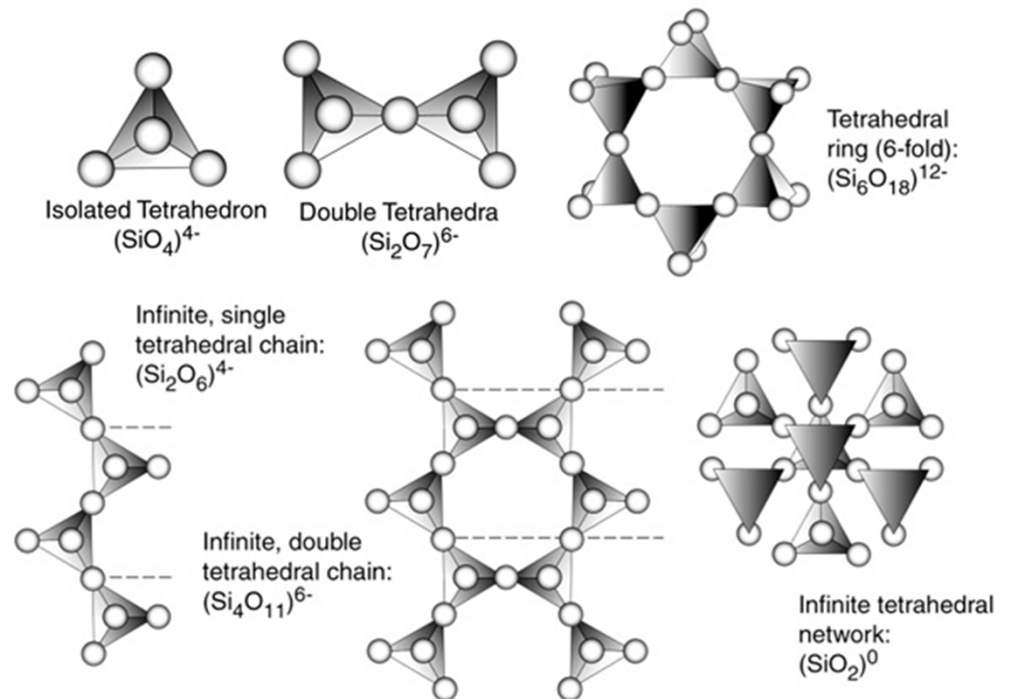
sono presenti solo per

compensare gli

eccessi di carica

negativa della

matrice.

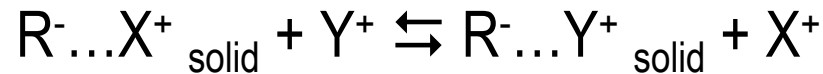


# Scambio ionico (continua)

Nella dissoluzione i dipoli sono facilmente rotti dai dipoli dell'acqua (simile scioglie simile)

Cationi occupano, interstizi e cavità del reticolo e possono esser facilmente rimpiazzati da cationi di simile carica e dimensioni (c. con carica elevata e piccolo raggio, meglio trattenuti su superficie della matrice rispetto a c. con carica bassa e grande raggio ionico). Argille (stechiometria non definita) possono scambiare c. nel reticolo con c. in una sol. acquosa: ***processo di scambio ionico.***

# Processo di scambio ionico



$$K_{eq} = \frac{Y^+_R[X^+]}{X^+_R[Y^+]}$$

$Y^+_R$  e  $X^+_R$  sono le frazioni di  $Y^+$  e  $X^+$  nei siti occupati

Nei laboratori usualmente gli scambiatori ionici naturali (argille e zeoliti) sono sostituiti da prodotti organici di sintesi, resine per scambio ionico.

Resine di scambio anionico e cationico commercializzate con diverse dimensioni (numero di mesh) e nomi commerciali (Dowex, Amberlite etc.)

What does **mesh** size mean?

Figuring out mesh sizes is simple. All you do is count the number of openings in one inch of screen (in the United States, anyway.) The number of openings is the mesh size.

Sieve Mesh #	Inches	Microns	Typical Material
14	.0555	1400	-
28	.028	700	Beach Sand
60	.0098	250	Fine Sand
100	.0059	150	-
200	.0029	74	Portland Cement
325	.0017	44	Silt
400	.0015	37	Plant Pollen
(1200)	.0005	12	Red Blood Cell
(2400)	.0002	6	-
(4800)	.0001	2	Cigarette Smoke

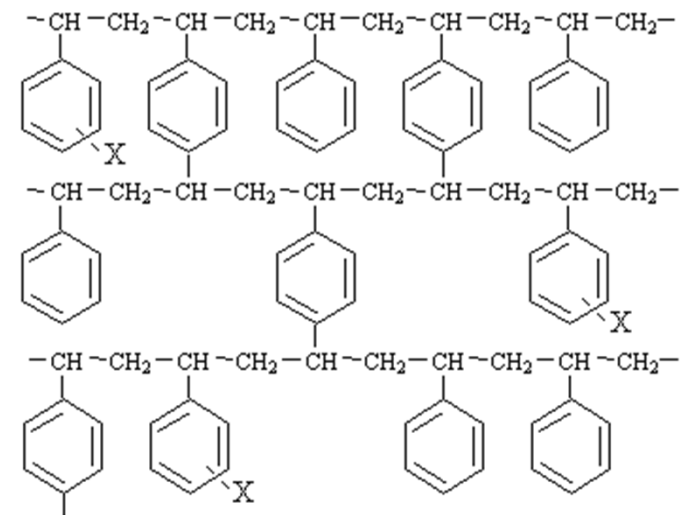
The mesh numbers in parentheses are too small to exist as actual screen sizes; they are estimates included for reference.

# Resine di scambio anionico e cationico

- La matrice è ottenuta in genere per polimerizzazione di stirene e divinil-benzene, formando strutture con gruppi ionici come  $\text{SO}_3^-$  (gruppi solfonici) o ammine terziarie ( $\text{CH}_2\text{-NR}_3^+$ , dove R può essere e.g.  $\text{CH}_3$ ). Se la superficie ha cariche negative si comporta come scambiatore cationico, se positive come scambiatore anionico.



Applicazioni: cromatografia di scambio ionico  
IEC o IE-SPE; produzione di acqua deionizzata



# Estrazione Soxhlet

- Estrazione è il trasferimento di un composto sospeso o disciolto in una fase in una fase liquida. Il trasferimento è possibile perché il composto è distribuito con un certo rapporto tra le due fasi. Si raggiunge un'estrazione completa con estrazioni multiple ripetute in un apparato "automatizzato", il "Soxhlet"

# ANALITI ORGANICI IN CAMPIONI SOLIDI

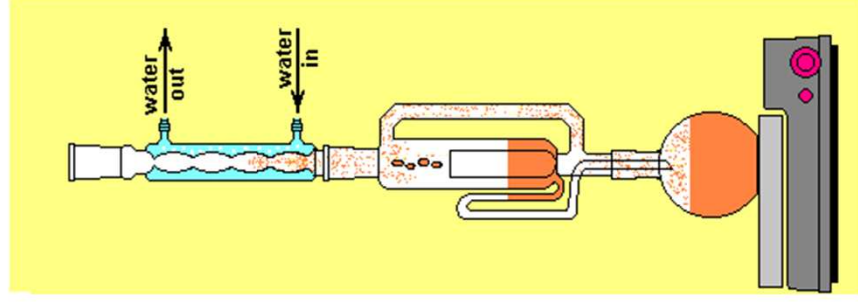
## Procedure di estrazione

L'analisi generalmente richiede il trasferimento a un liquido o ad una fase gassosa

La maggior parte dei metodi si basa su **un'estrazione solido-liquido**.

### Il metodo classico e l'estrazione Soxhlet:

F. Soxhlet, *Dingler's Polytech J.* 232, 461 (1879)



Con un estrattore Soxhlet si effettuano estrazioni multiple, mediante un sistema semplice che non richiede particolari controlli.

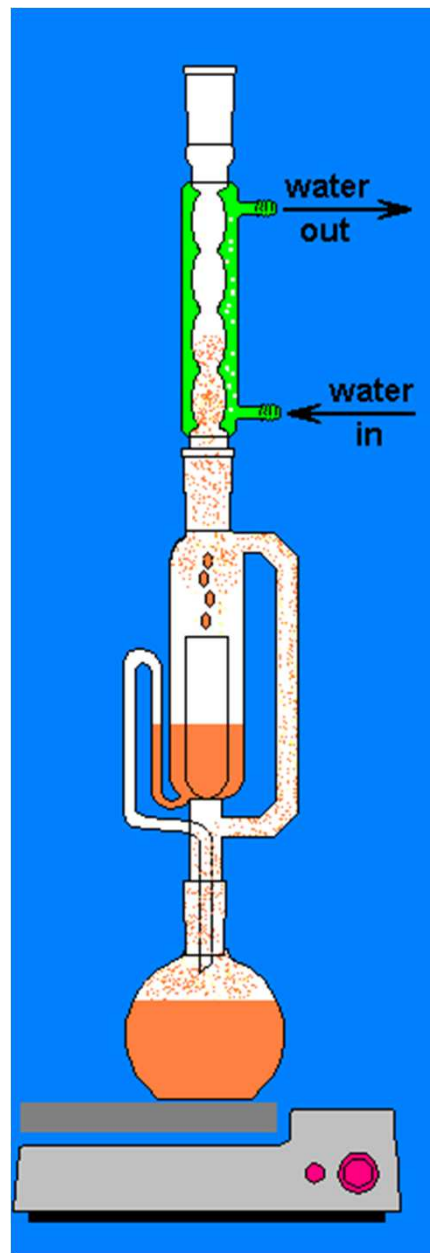
Il solvente, per distillazione, raggiunge il campione che è posto in un ditale in una camera filtrante.

Quando la camera filtrante è piena, il solvente è autodrenato nel pallone contenente il solvente posto nella parte inferiore del sistema.

Dopo vari cicli di riempimento e autodrenaggio della camera di filtrazione, gli analiti estratti vengono recuperati nel pallone.

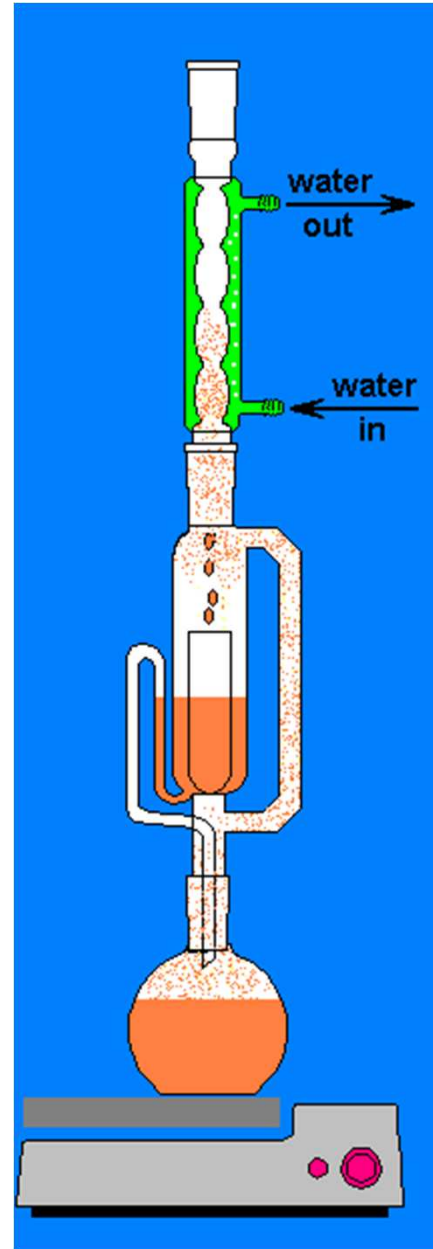
# THE SOXHLET EXTRACTOR

Continuous  
extraction of a  
component from a  
solid mixture.  
Boiling solvent  
vapors rise up  
through the larger  
side-arm

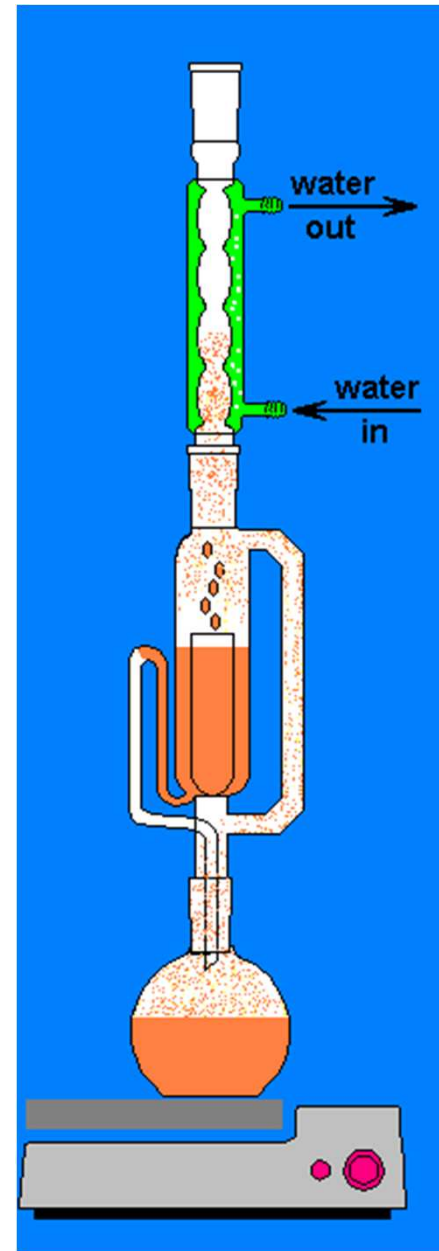




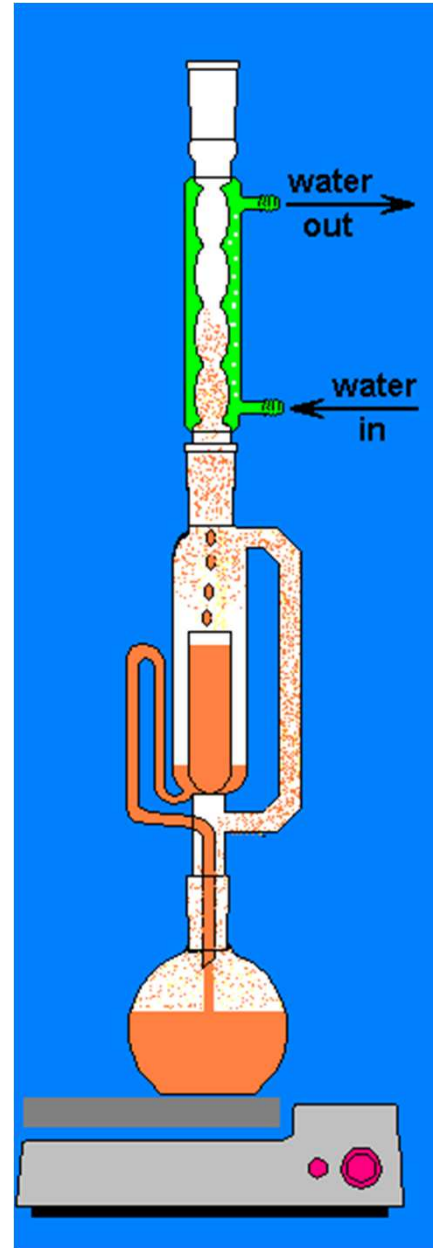
**Condensed drops of solvent fall into the porous cup, dissolving out the desired component from a solid mixture**



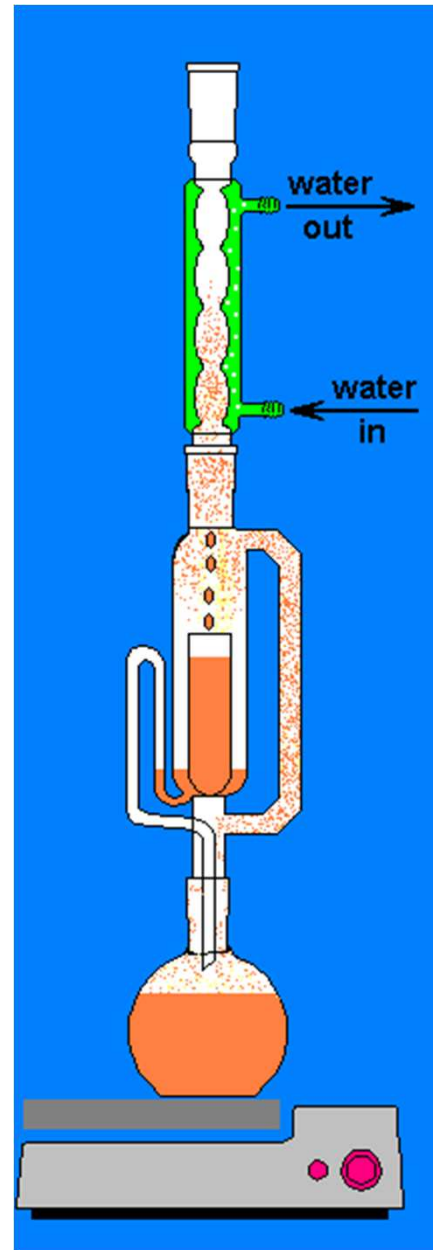
**When the smaller side-arm fills to overflowing, it initiates a siphoning action.**



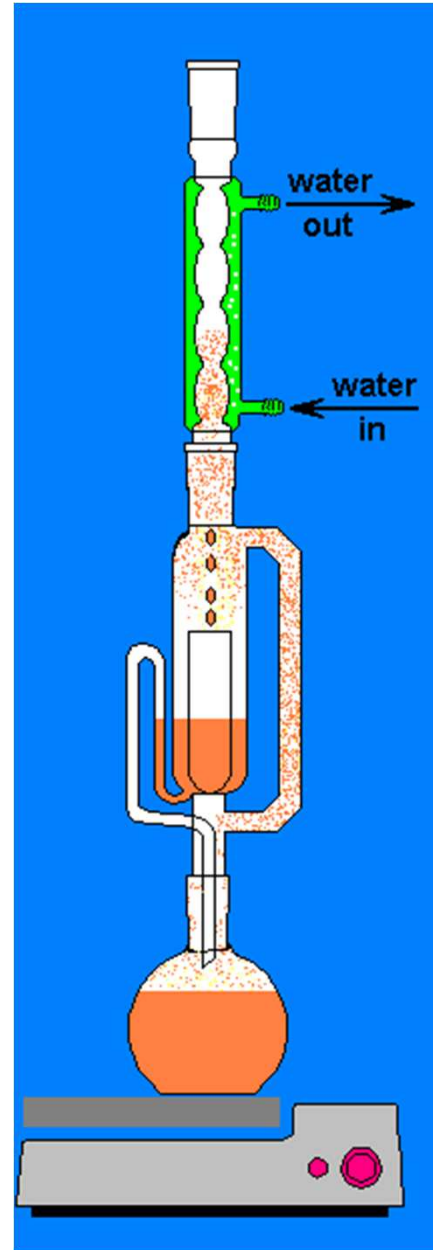
**The solvent,  
containing the  
dissolved  
component, is  
siphoned into  
the boiler below**



**Residual solvent  
then drains out of  
the porous cup,  
as fresh solvent  
drops continue to  
fall into the  
porous cup.**

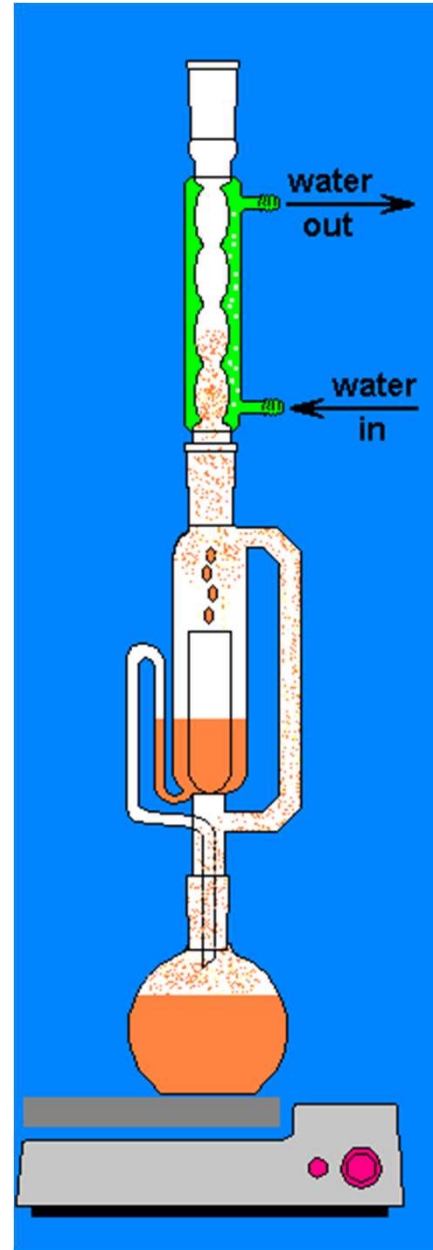


**. . . and the cycle repeats . . .**



**It should look  
something  
like THIS:  
(only much SLOWER)**

**This program will  
re-start in one minute.  
To terminate,  
press Esc**



## **Metodo Soxhlet**

Mediante estrazione con Soxhlet si può utilizzare qualunque solvente volatile. Vengono frequentemente impiegati **diclorometano** e miscela **cicloesano/acetone**. Quando necessario è possibile utilizzare anche altri solventi quali: **freon, benzene, acetoneitrile, metanolo, acqua** (da soli o in miscela).

Generalmente si pesano da 1 a 20 g di campione che vengono miscelati con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  o sabbia come disidratanti.

Si ottengono buone estrazioni con 100-500 mL di solvente e tempi di estrazione da 16 a 24 ore.

Gli estratti vengono preconcentrati mediante evaporazione del solvente (come in LLE)

L'estrazione di matrici complesse (es. Suoli) generalmente porta ad estrazione di molte impurezze ed è necessario eliminarle mediante procedure di *clean-up* (es. Estrazioni in fase solida SPE su colonne di allumina, silice o florisil)

Se si utilizzano solventi immiscibili in acqua, è necessario disidratare il campione ad es. con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  o  $\text{MgSO}_4$ .

Gli analiti devono essere stabili alle temperature di estrazione/distillazione. Generalmente si verificano perdite di analiti con volatilità simile o maggiore di quella del solvente.

Si ottengono basse rese di estrazione per argille o materiali adsorbenti che trattengono parte del solvente.

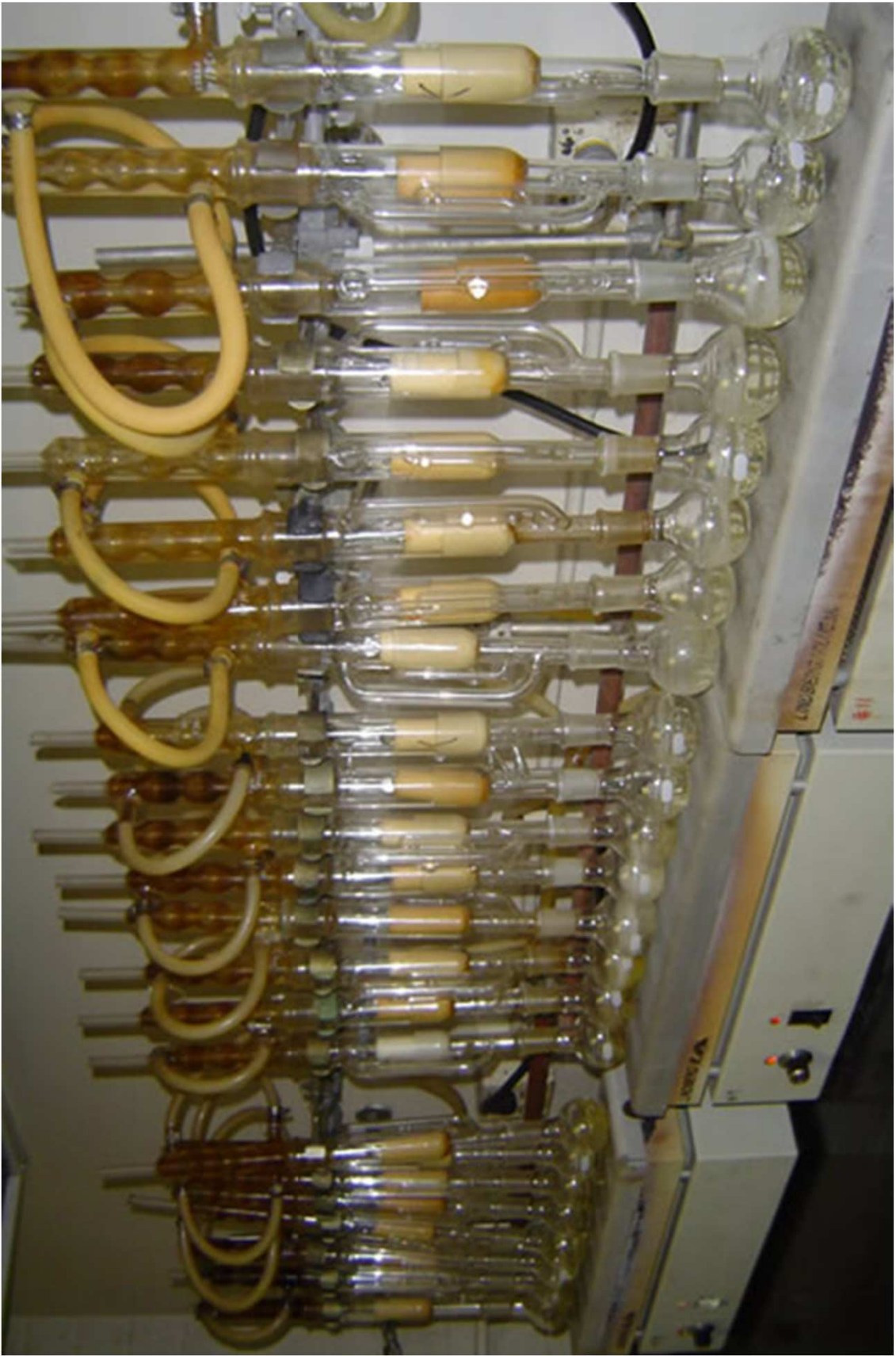
## Limiti dell'estrazione con Soxhlet

- ☹ Utilizzo di elevate quantità di solventi organici spesso anche tossici.
- ☹ Procedura lunga, richiede generalmente 12-24 ore.
- ☹ Difficoltà di automazione e perdita o contaminazioni durante la manipolazione del campione.

Fino a poco tempo fa, il metodo Soxhlet era considerato il metodo di estrazione per eccellenza, grazie al quale erano possibili estrazioni esaustive, e ci sono ancora molti a prediligere questa tecnica.

Tuttavia recenti lavori di molti ricercatori hanno dimostrato che spesso non è così e che la tendenza attuale è rivolta allo studio di metodi alternativi che possano dare risultati paragonabili o migliori del metodo Soxhlet.





# Estrazione con Microsoxhlet



Microsoxhlet

Strumento automatizzato  
che consente  
Un' estrazione in continuo

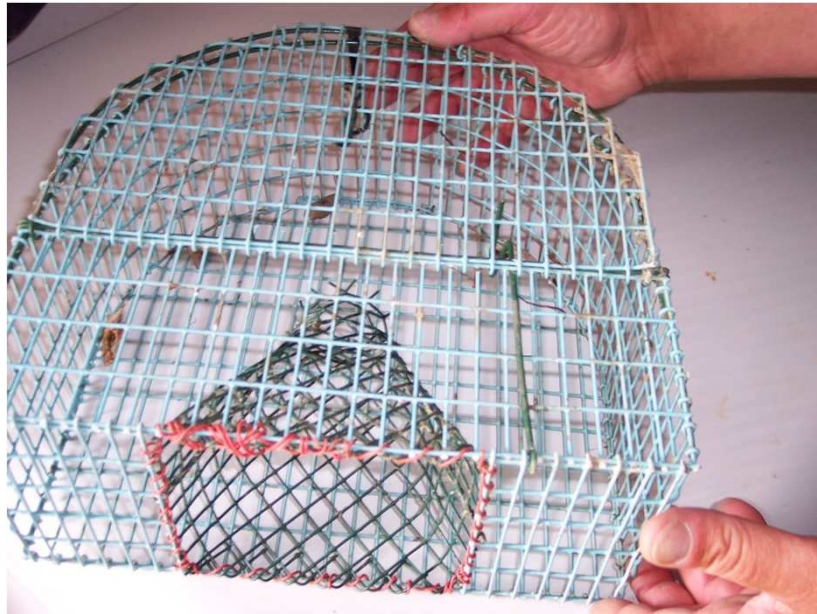
Vantaggi:

- Risparmio di tempo
- Risparmio di solvente

Alberto Penzo "Ottimizzazione sperimentale ed applicazione di metodologie cromatografiche per indagini sul bioaccumulo di inquinanti organici persistenti tossici in prodotti ittici e della maricoltura del golfo di Trieste"

Tesi di laurea in Chimica - AA 2005-2006

# SAMPLING

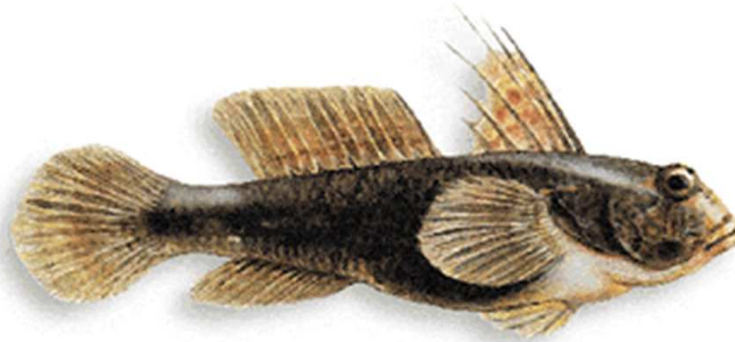


## MANTIS SHRIMP

*SQUILLA MANTIS*

**Pannocchia**

lunghezza: fino a 250 mm



## GOBIUS FISH

*GOBIUS NIGER*

**Ghiozzo**

lunghezza: fino a 15 cm



## SAMPLING CONTINUED



## MUSSEL

*MYTILUS*  
*GALLOPROVINCIALIS*  
**Mitilo**  
LENGHT: till 100 mm

## SEDIMENTS



# Trattamento e conservazione dei campioni

I campioni di biota sono stati subito puliti, omogeneizzati, riposti in becker di vetro e conservati in congelatore a  $-25^{\circ}$  C fino al momento della loro analisi

I campioni di sedimento vengono conservati alla temperatura di  $-25^{\circ}$  C in congelatore al buio per evitare perdite di composti fotosensibili

Prima di essere analizzati sono scongelati a temperatura ambiente e deumidificati in stufa ventilata a  $40^{\circ}$  C per 24 ore; omogeneizzati in mortaio e setacciati su setaccio da 200  $\mu\text{m}$

# Procedimento di estrazione

Lavaggio dei ditali e dei bicchieri del Soxhlet;  
50 ml di cicloesano a 165° C;  
40 min per immersione dei ditali nel solvente  
20 min ditali sospesi sul solvente lavati per ricaduta.

In un becker vengono mescolati:

- 2,5 g di campione (biota o sedimenti)
- Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro da 5g a 15g(a seconda della quantità di umidità presente nel tipo di campione)

Trasferimento nei ditali di cellulosa del soxhlet

Viene posto un pezzo di rame nei bicchieri di raccolta  
insieme al solvente per eliminare solfuri presenti

Estrazione:

60ml di cicloesano a 165° C per 5 ore;  
3 ore per immersione  
2 per ricaduta