

METODI STRUMENTALI-2

✧ POLARIMETRIA

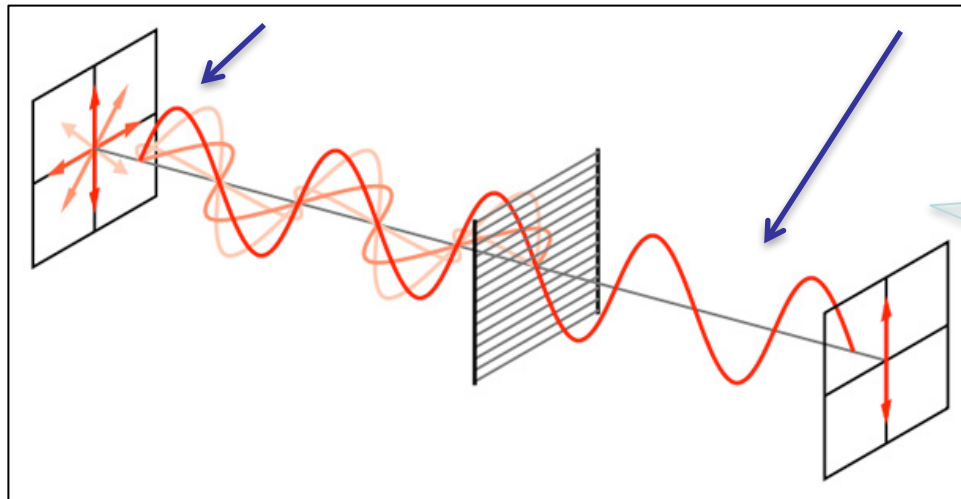
✧ RIFRATTOMETRIA

LUCE POLARIZZATA e POLARIMETRO

- ◆ La luce “ordinaria” ha infiniti piani di propagazione
- ◆ La luce “polarizzata” ha un unico piano di propagazione (verticale)
- ◆ Il polarizzatore (polarimetro se strumento di misura) rende la luce ordinaria in polarizzata
- ◆ Le molecole “chirali” ruotano il piano della luce polarizzata a causa di una interazione dei campi elettromagnetico della radiazione luminosa e quello degli elettroni della molecola dell'enantiomero;
- ◆ Se la rotazione è in senso orario (l'osservatore che guarda il raggio emergente dalla soluzione), l'enantiomero sarà destrogiro (+), se la rotazione è in senso antiorario, l'enantiomero sarà levogiro (-).

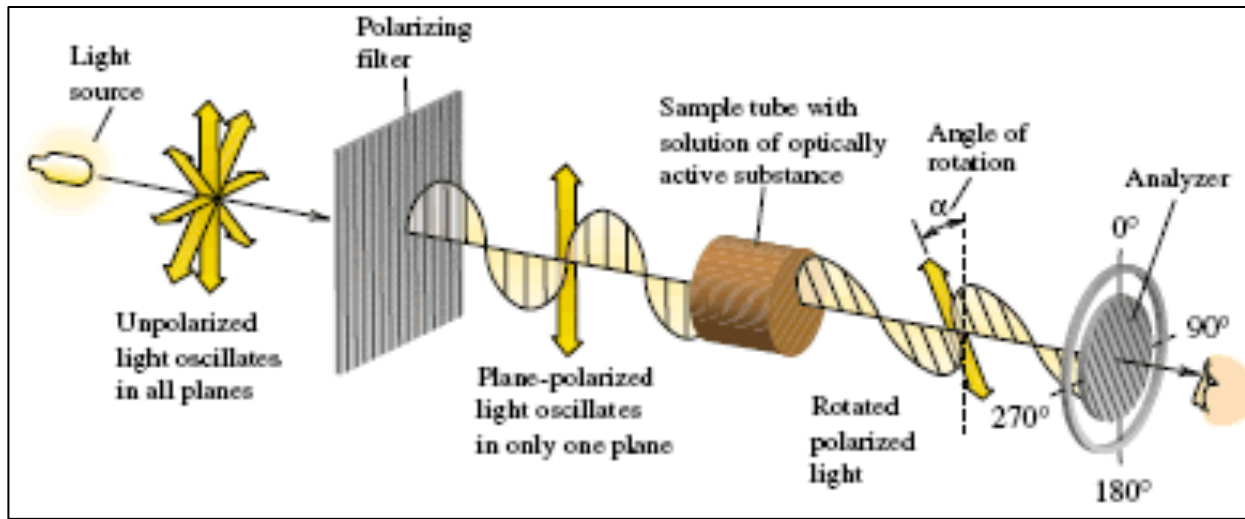
Luce ordinaria

Luce polarizzata



LUCE POLARIZZATA:
vettore campo elettrico
che vibra in un solo
piano

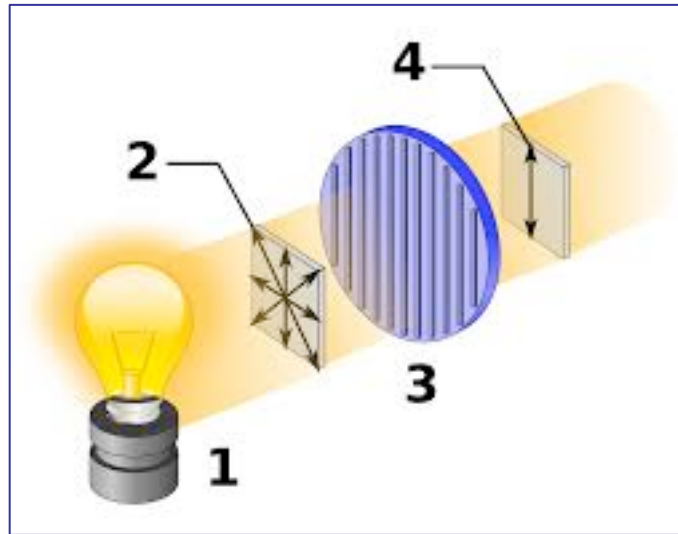
POLARIMETRO:



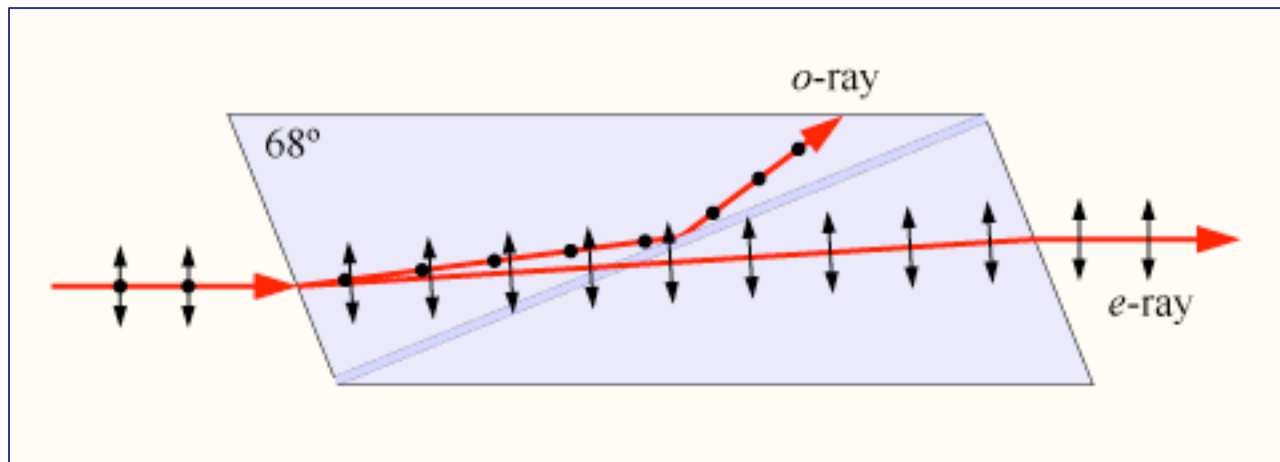
POLARIZZATORE (o filtro polarizzante)

Il polarizzatore ha la funzione di filtrare la radiazione e.m. ordinaria, in un unico piano (verticale) di oscillazione.

Attualmente i polarizzatori comuni (molto usati in ottica fotografica) sono formati da un filtro costituito da sottilissime lamelle spaziate fra loro dell'ordine della lunghezza d'onda della radiazione e.m. in esame (usualmente la λ del sodio a 589 nm), escludendo tutti gli altri piani non paralleli al loro asse di polarizzazione.

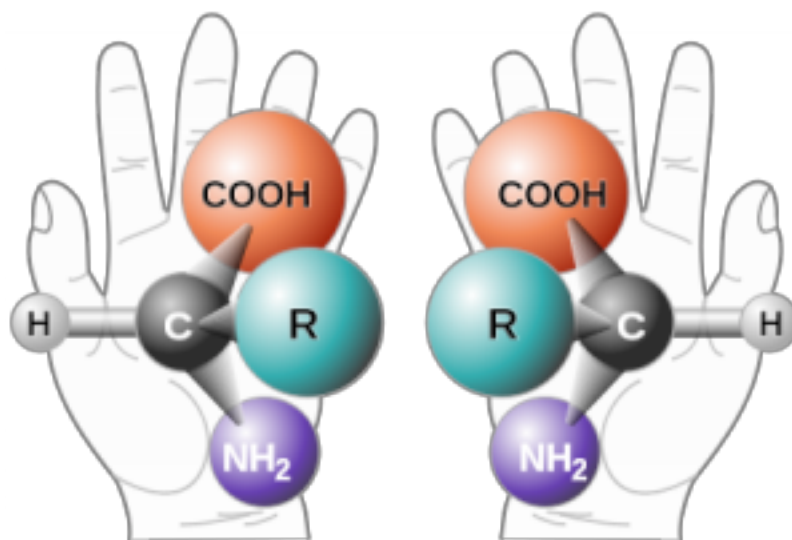


Il polarizzatore “storico” è il filtro di NICOL, costituito da due blocchi di spato d'Islanda (calcite: CaCO_3) tagliati con un angolo di 68° e incollati tra loro con del “balsamo del Canada” (resina). La luce NON polarizzata quando colpisce il cristallo **viene divisa in 2 raggi polarizzati**: uno “ordinario” che viene riflesso totalmente dal baslamo e deviato fuori dal cristallo; uno “straordinario” che attraversa il balsamo ed il secondo cristallo, fuoriuscendo con polarizzazione planare.



Sostanze con almeno un centro di asimmetria (composti “chirali”) sono in grado di ruotare il piano della luce polarizzata e si definiscono “OTTICAMENTE ATTIVE”.

Tali molecole sono “stereoisomeri” e vengono definite “enantiomeri”, nel senso che ogni enantiomero è l’immagine speculare dell’altro e, perciò, NON SOVRAPPONIBILE ad essa.



<http://urtoefficace.linxedizioni.it/tag/chiralita/>

Due enantiomeri hanno tutte le caratteristiche chimico-fisiche identiche tra di loro (p.f., densità, reattività, etc.) ad eccezione del verso di rotazione del piano della luce polarizzata, che sarà uguale di valore, ma di segno opposto!! Tale verso di rotazione è detto: **POTERE ROTATORIO SPECIFICO: $[\alpha]_{\lambda}^{\circ}$**

POTERE ROTATORIO SPECIFICO

Il POLARIMETRO è lo strumento usato per determinare il grado di rotazione del piano della luce polarizzata da parte di un enantiomero. Tale angolo è proporzionale al numero di molecole incontrate dal raggio, cioè alla concentrazione della soluzione dell'enantiomero e alla lunghezza del percorso (cammino ottico) del raggio all'interno della cella. Così si ha:

Legge di Biot:

$$\alpha = [\alpha]_{\lambda}^{T^{\circ}} \cdot l \cdot c$$

Dove:

α = potere rotatorio osservato (in gradi)

$[\alpha]_{\lambda}^{T^{\circ}}$ = potere rotatorio specifico

l = cammino ottico (in dm)

c = concentrazione (g/ml)

Il **potere rotatorio specifico** corrisponde al potere rotatorio della sostanza in condizioni di lunghezza e concentrazione unitari, ed è funzione della temperatura (si opera a T°C fissa), della lunghezza d'onda, λ (si usa la luce gialla del sodio; riga D del sodio) della concentrazione e del solvente. E' una caratteristica come il p.f., la densità, etc. che distingue (l'unica !!!) un enantiomero dall'altro.

- Dipendenza di $[\alpha]$ dalla temperatura

La T° influenzerà in primis la densità del mezzo e, quindi, le interazioni della molecola con il raggio polarizzato;

Vengono alterati anche le interazioni molecola-solvente (es. leg-H);

Alterazioni della conformazione (es. cis-trans)

- Dipendenza di $[\alpha]$ dalla concentrazione e dal solvente

Anche la variazione di concentrazione della molecola porta ad una variazione di densità della soluzione e, quindi, di interazione con il raggio e la misura di $[\alpha]$;

Interazioni diverse (con solventi diversi) portano a variazioni di $[\alpha]$ anche dovute a variazioni conformazionali

Anche il pH sarà importante come nel caso di specie ioniche

- Dipendenza dalla λ :

E', forse, il fattore più importante; si opera a l fissa proprio per assicurare

FUNZIONAMENTO DEL POLARIMETRO



Si usano “tubi polarimetrici”, cioè vaschette di contenimento della soluzione da analizzare, di lunghezza fissa (10 cm , cioè 1 dm oppure raramente da 20 cm), in modo da rendere proporzionale nell’equazione sopra, il potere rotatorio e il potere rotatorio specifico in funzione della concentrazione della sostanza.



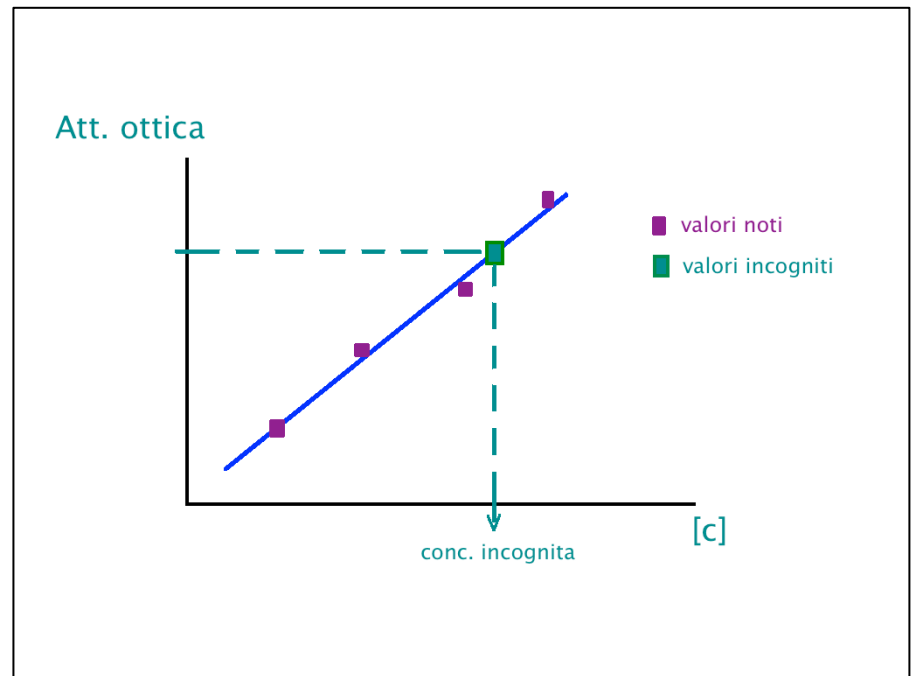
Dopo aver introdotto il campione e acceso la lampada (al sodio) si attende qualche minuto e poi si effettua la lettura dell’ α (in gradi) dallo strumento.

ANALISI QUANTITATIVA E QUALITATIVA

Il polarimetro è utilizzato in particolare come **tecnica quantitativa** per sostanze otticamente attive quali, zuccheri, oli essenziali, amminoacidi, etc.

Dalla relazione sopracitata si ricava la concentrazione di una sostanza (nota!) operando con rette di calibrazione della sostanza. Vengono costruite graficamente riportando concentrazioni note, crescenti, in ascissa e le corrispondenti α lette con il polarimetro. Successivamente si esegue la lettura dell' α dell'analita a concentrazione incognita. Quindi si esegue un'interpolazione del dato dalla retta di taratura.

RETTA DI TARATURA



L'uso del polarimetro come **tecnica qualitativa**, può servire a confermare l'identità della sostanza otticamente attiva eseguendo l'esperimento preparando una soluzione di concentrazione 1 g/ml e leggere il valore di α dallo strumento, che corrisponderà all' $[\alpha]_{\lambda}^{T^{\circ}}$ tabellato (alla stessa T°)!

E' utilizzata anche per la misura della PUREZZA OTTICA (P.O.) che equivale a:

$$P.O.\% = \frac{[\alpha]_{\text{misurato.miscela}}}{[\alpha]_{\lambda}^T \text{ enantiomero.puro}} \cdot 100$$

La purezza ottica corrisponde all'ECCESO ENANTIOMERICO (e.e.) che indica le % di eccesso di un isomero rispetto all'altro in miscela:

$$P.O.\% = e.e.\% = \frac{[R] - [S]}{[R] + [S]} \cdot 100 = \%R - \%S$$

Es. 80% di un enantiomero e 20% dell'altro = 60% e.e. (o P.O.%)

N.B.: Il racemo è una miscela 1:1 dei due enantiomeri (50% D e 50% L)!!!

VANTAGGI

- ✓ Il valore di α è un dato analitico che accompagna ogni composto chirale e, quindi, permette una comparazione con i dati in letteratura.
- ✓ E' uno standard di riferimento per la sintesi di nuovi composti.
- ✓ Nello studio della variazione di α con la λ (tecnica ORD: Dispersione Ottica Rotatoria) si può risalire alla configurazione assoluta delle molecole.

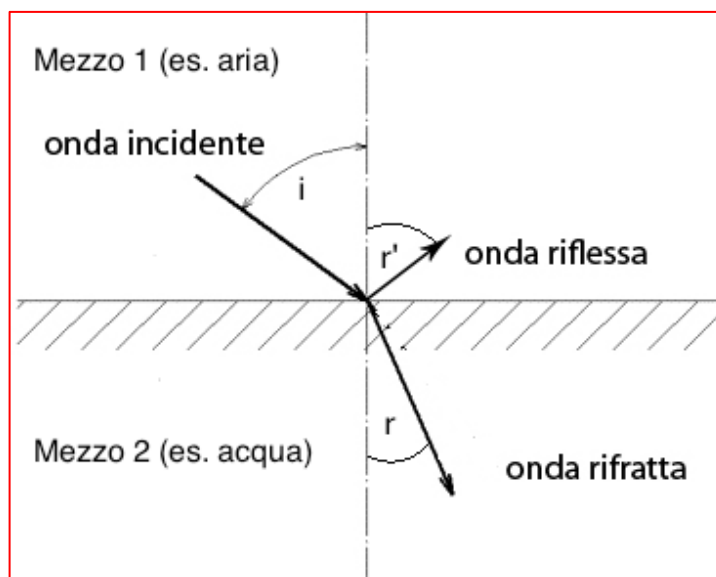
SVANTAGGI

- ✓ Servono quantità elevate di sostanza.
- ✓ Per una valutazione accurata servono valori alti di α
- ✓ Il composto chirale dev'essere puro ed isolato
- ✓ La determinazione di α è influenzata da T° , λ , solvente ed impurezze.

RIFRATTOMETRIA

Tecnica che consente di determinare l'indice di rifrazione, n , di sostanze liquide (eventualmente gas o solidi trasparenti).

La rifrattometria è una tecnica strumentale che si basa sulla determinazione di un parametro, l'Indice di rifrazione: n associato al fenomeno della rifrazione, cioè alla variazione subita dalla radiazione luminosa quando attraversa un mezzo più o meno trasparente



L'indice di rifrazione è una misura caratteristica di tutte le sostanze liquide o trasparenti e, quindi, può essere utilizzata per una determinazione di tipo qualitativo!

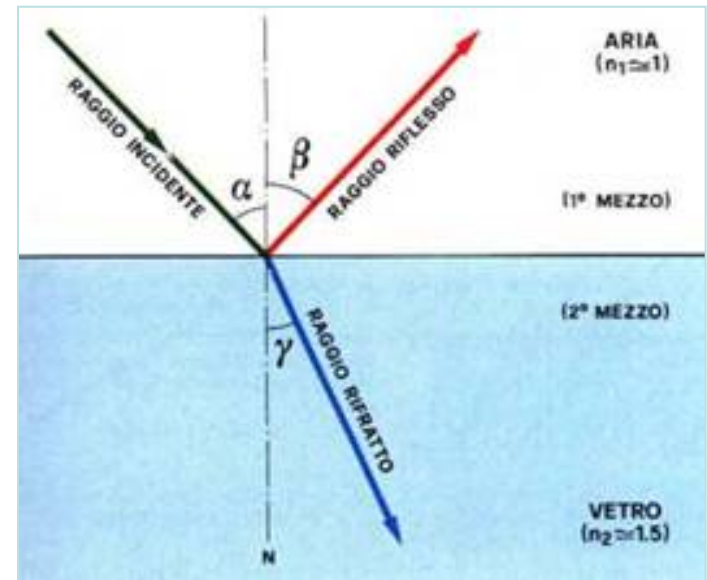
Indice di rifrazione: n

Si basa sul principio che l'indice di rifrazione di un solvente cambia in presenza di un soluto.

E' stabile, versatile e non distruttivo, ma poco sensibile e non utilizzabile per eluizioni in gradiente in quanto sensibile a variazioni di temperatura, pressione e flusso.

L'indice di rifrazione di un materiale è un parametro macroscopico, solitamente indicato col simbolo n , che rappresenta il fattore numerico per cui la velocità di propagazione di una radiazione elettromagnetica viene rallentata, rispetto alla sua velocità nel vuoto, quando questa attraversa un materiale. La rifrazione è governata dalla seguente legge:

$$n_1 \sin \alpha = n_2 \sin \gamma$$



Per la riflessione si avrà: $\alpha = \beta$

Nel passare dal primo al secondo mezzo, anche la velocità della luce subisce una variazione che è dipendente dalla densità del mezzo. Il rapporto delle velocità nei due mezzi coincide con l'indice di rifrazione **n** che è anche uguale al rapporto fra i seni dei due angoli di incidenza e di rifrazione ed è costante.

Essendo:

$$v = c/n$$

c: vel. luce nel vuoto

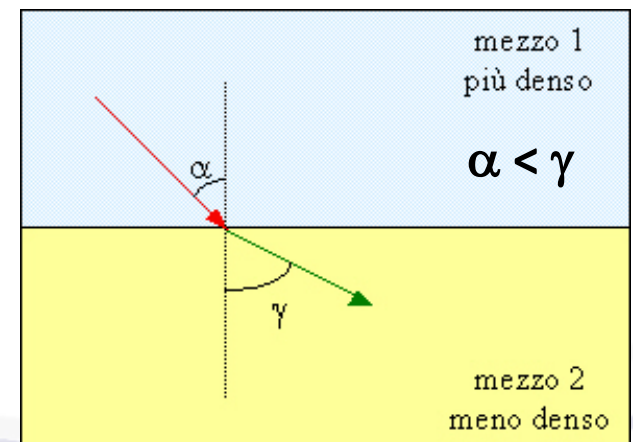
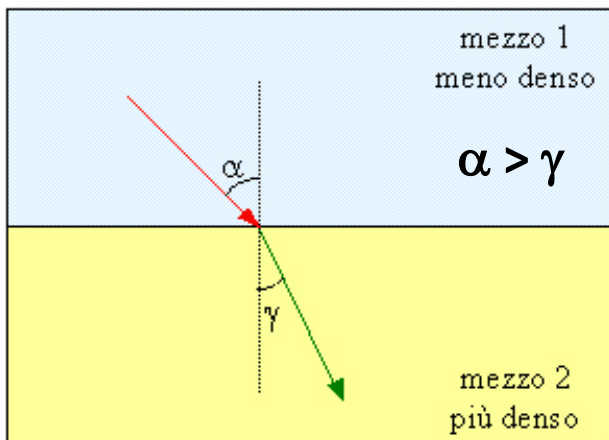
v: vel. luce nel mezzo

n: indice rifrazione

e approssimando : $c(\text{vuoto}) \approx c(\text{aria})$

Diventa: $n = c(\text{aria}) / v(\text{mezzo}) = \sin \alpha / \sin \gamma$

Legge di **SNELL**



Es. di rifrazione della luce



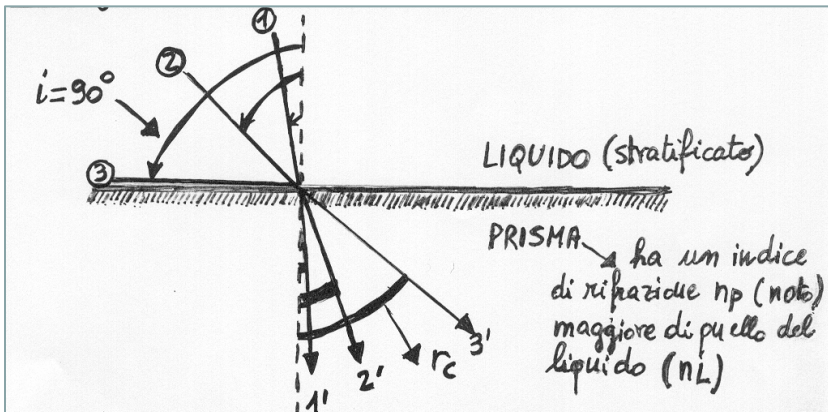
Es. di riflessione totale



www.it.wikipedia.org

Misura dell'indice di rifrazione

Nella pratica, la determinazione sperimentale dell'indice di rifrazione di un liquido si basa sulla ricerca dell'angolo limite di rifrazione r_c corrispondente ad un angolo di incidenza radente $i = 90^\circ$. Si sfrutta la rifrazione di un prisma a n noto (e molto maggiore della sostanza da analizzare) chiamato "prisma di Abbe"!



r_c è detto anche angolo critico di riflessione: se un raggio viene indirizzato dall'interno del prisma ad un angolo maggiore di r_c sarà riflesso totalmente all'interno del prisma

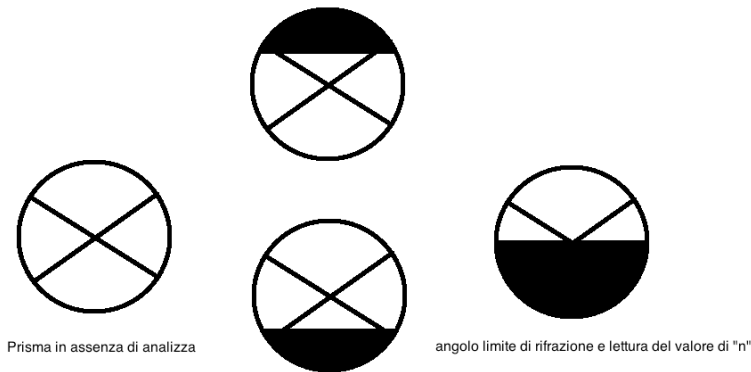
$$\frac{n_2}{n_1} = \frac{\sin i}{\sin r}$$

$$\frac{n_p}{n_r} = \frac{\sin 90}{\sin r_c}$$

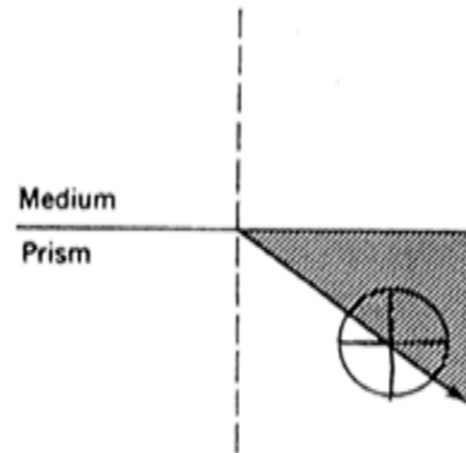
$$n_L = n_p \cdot \sin r_c$$

Ricerca dell'angolo limite:

Essendo la radiazione costituita da una banda luminosa, si avrà all'interno del prisma una zona illuminata e una oscura. La posizione del raggio critico verrà indicata da un passaggio netto luce-ombra.



Regolazione (con l'analisi) dei prismi per trovare l'angolo limite



Rifrattometro di abbe

Il rifrattometro di Abbe è formato da un sistema di due prismi (di Abbe, appunto), racchiusi in una scatola a cerniera che permette di allontanarli ed avvicinarli, lasciando fra essi una sottile intercapedine di qualche decimo di millimetro, che viene occupata dal liquido in esame. La scatola metallica che contiene i prismi permette la circolazione di acqua, proveniente da un ultratermostato, per mantenere la temperatura costante. Un termometro, situato sull'apparecchio, controlla che la temperatura sia stabile (termostato esterno).

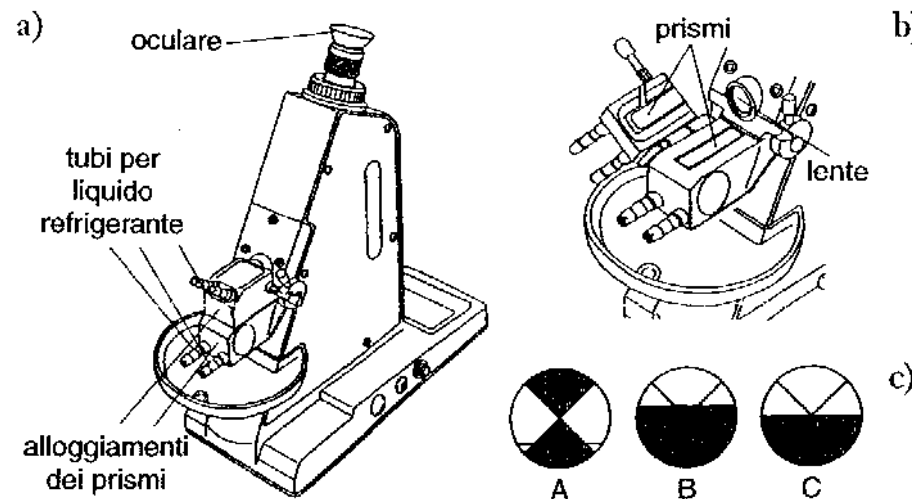
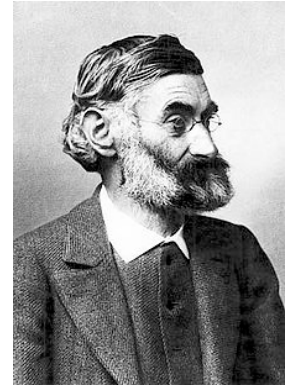
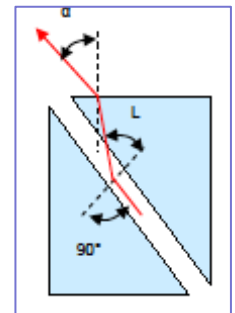
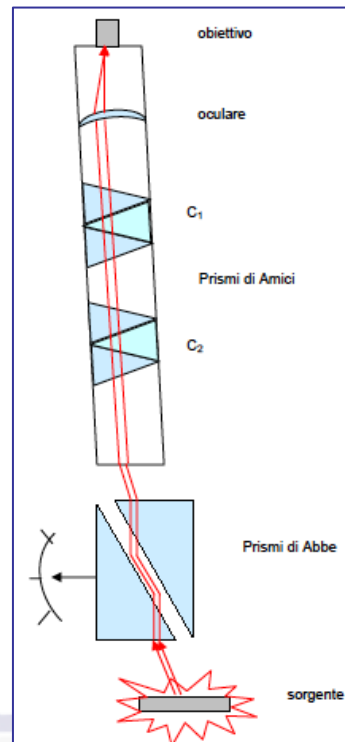


Fig. 2.1-9 - Rifrattometro di Abbé:
a chiuso;
b aperto;
c combinazione dei campi dell'ombra.

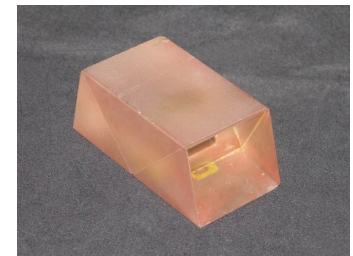
Prismi di Abbe



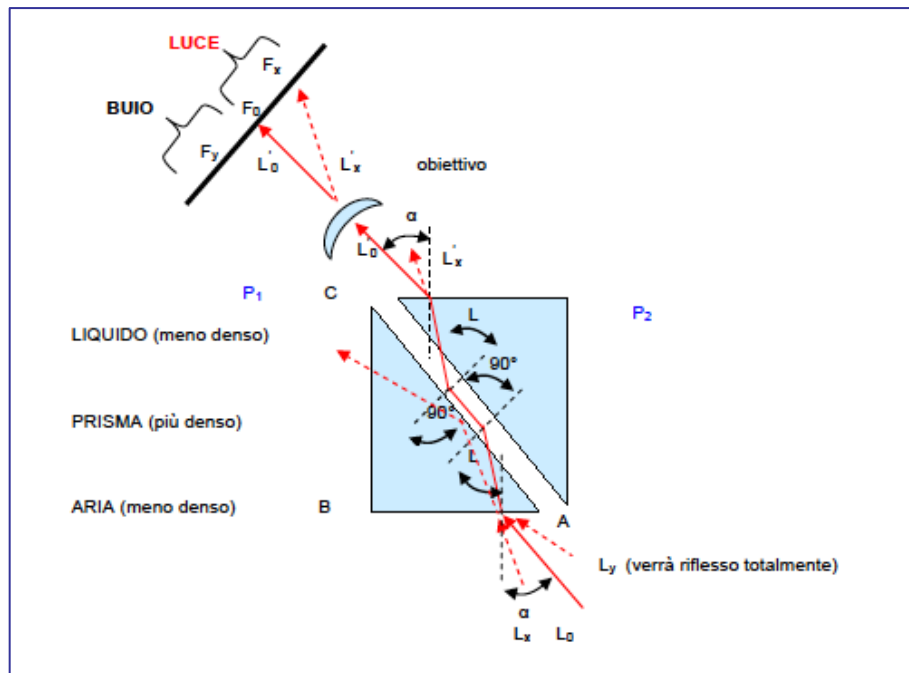
Alla base dei prismi di Abbe si trova una lampada ai vapori di sodio (riga gialla "D" a 589,3 nm) che illumina il campione (film liquido) posto tra i due prismi. Al di sopra dei due prismi si trova un cannocchiale comprendente: un obiettivo, un oculare e due prismi di Amici (ognuno formato da tre prismi incollati tra di loro), che funzionano da compensatori (meglio: da monocromatori per la radiazione D del sodio in uscita dai prismi di Abbe). Le misure condotte con quest'apparecchio sfruttano il metodo dell'angolo limite.



Prismi di Amici



www.lombardiabeniculturali.it



I raggi che attraversano il liquido in esame con angolo uguale o superiore (es. L_y in figura) all'angolo limite (L) verranno riflessi all'interno del prisma P_2 mentre tutti i raggi incidenti con angolo minore (es. L_x) attraverseranno il prisma P_2 , ma raggiungeranno l'oculare nel campo visivo "illuminato" (F_0 - F_x), mentre i raggi rifratti (che non saranno deviati dal prisma P_2 , ma spostati) verranno focalizzati nel punto di demarcazione dei due semicampi. Nell'oculare compare un campo bipartito ed una scala che permette la lettura diretta dell'indice di rifrazione della sostanza, dato dalla formula di Snell vista prima.

Le variabili che influenzano l'indice di rifrazione sono la temperatura e la frequenza della radiazione elettromagnetica incidente. Di solito le misure vengono fatte a $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e lunghezza d'onda $\lambda = 589,3\text{ nm}$: riga gialla D “doppietto” del sodio (in quanto raggi di lunghezze d'onda diversa subiscono rifrazioni differenti). Poiché ogni sostanza ha indice di rifrazione caratteristico, la misura di questa grandezza rappresenta una valutazione d'identificazione e di purezza.

Si indica con:



$$n_D^{20}$$



Esempi di rifrattometri di Abbe