

CHIMICA ANALITICA II

CON LABORATORIO

(AA 2018-19)

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

L'Analisi Chimica Quantitativa

Le tecniche analitiche strumentali sono quasi tutte delle **tecniche analitiche relative** in cui la concentrazione dell'analita NON può essere calcolata direttamente dal risultato della misura effettuata sul campione. E' necessario effettuare una misura su uno standard a concentrazione nota dell'analita. La concentrazione dell'analita nel campione si ottiene dalla comparazione della misura effettuata sul campione con quella effettuata sullo standard. La misura in questo tipo di tecniche è la **registrazione di un segnale**. Gli strumenti per analisi sono composti da quattro parti fondamentali:

- a) un **generatore di segnale** in cui la presenza dell'analita nel campione dà come risultato la produzione di un certo tipo di energia (es. luce o calore);
- b) un **trasduttore o detector** che trasforma l'energia prodotta dal generatore (a) in un segnale elettrico (di solito un voltaggio o una corrente);
- c) una successione di diverse **componenti elettroniche**, come amplificatori e filtri, che "puliscono" il segnale elettrico;
- d) un **dispositivo di lettura**, come un registratore su carta, un oscilloscopio o ormai più comunemente un **computer** che converte il segnale elettrico in una forma leggibile e utilizzabile dall'operatore.

Quindi dal segnale determinato dalla presenza dell'analita fino al dispositivo (d) ci sono molti passaggi che fanno sì che la relazione tra la concentrazione dell'analita nel campione e ciò l'operatore "legge" sul dispositivo (d) sia complessa per cui NON è possibile ricorrere a semplici relazioni matematiche per ottenere il risultato.

E' quindi necessario disporre di soluzioni a concentrazione nota dell'analita (standard) per ottenere il valore della concentrazione dell'analita nel campione dalla **comparazione** con i segnali registrati sulle soluzioni standard.

Metodi di calibrazione

I **due metodi** più comuni di calibrazione in analisi strumentale sono:

- la costruzione di **curve di calibrazione**;
- il metodo delle **aggiunte standard**.



PRECISAZIONE (dovuta a traduzioni non appropriate dall'inglese all'italiano):

- la **calibrazione** propriamente detta in italiano, in inglese è definita come "**equipment calibration**", termine con cui si denota la procedura che serve a ottenere o verificare una corretta risposta della strumentazione. E' una procedura che si fa prima di effettuare analisi su campioni e lo standard utilizzato in questa procedura non contiene l'analita specifico che si andrà poi a ricercare nel campione. Alcuni esempi sono: la taratura del pH-metro con soluzioni tampone a pH noto o un filtro di olmio o didimio (praseodimio+neodimio) per calibrare uno spettrofotometro UV-visibile;
- invece il termine "**method calibration**" viene tradotto in italiano con **taratura**, con cui si intende lo stabilire una relazione tra la risposta strumentale e la concentrazione dello specifico analita nel campione, tramite l'utilizzo di soluzioni standard dell'analita.

Quindi da qui in avanti parleremo di: **curve di taratura**



RIF: <http://www.misurando.org/forum/T-differenza-taratura-vs-calibrazione>

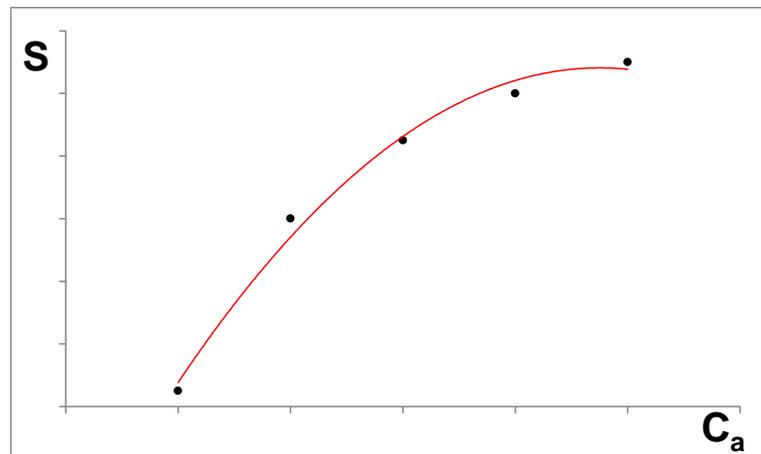
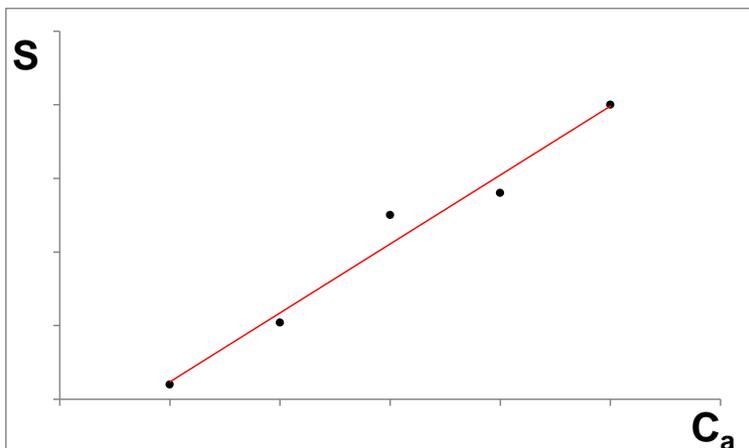
https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/TAM_2011_IT.pdf (BIPM, VIM)

La curva di taratura

La costruzione di una curva di taratura consiste nell'individuazione (o stima) della funzione matematica che correla il segnale strumentale S alla concentrazione di analita C_a :

$$S = f(C_a)$$

Nella pratica una serie di soluzioni standard a diversa concentrazione vengono analizzate alle stesse condizioni strumentali (parametri) con cui si intende analizzare il campione e si costruisce un grafico segnale vs. concentrazione. A questo punto, con l'ausilio di software si ricerca la curva che approssima meglio l'andamento dei dati ottenuti, la cui espressione matematica consentirà di ricavare la concentrazione dell'analita dal segnale che esso produce.

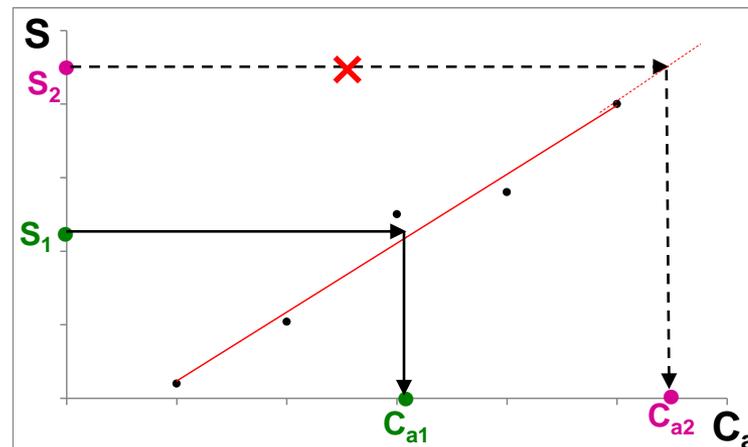


Per costruire una curva di taratura bisogna considerare che:

- la **funzione** che descrive la relazione tra il segnale e la concentrazione dell'analita nelle soluzioni standard deve essere applicata a tutti i campioni che devono essere analizzati alle medesime condizioni (parametri strumentali);
- una **funzione lineare** (retta) è preferibile perché si ottengono alta accuratezza e alta precisione di misura con un ridotto numero di soluzioni standard;
- idealmente **la concentrazione di analita** dovrebbe essere calcolata per interpolazione e non per estrapolazione. In altre parole la concentrazione dell'analita nel campione dovrebbe rientrare nell'intervallo di concentrazioni delle soluzioni standard. Se la concentrazione dell'analita è troppo alta bisogna diluire il campione; se è troppo bassa bisogna modificare l'intervallo di concentrazioni degli standard.

Es. Campione 1 (interpolazione)

Campione 2 (estrapolazione)



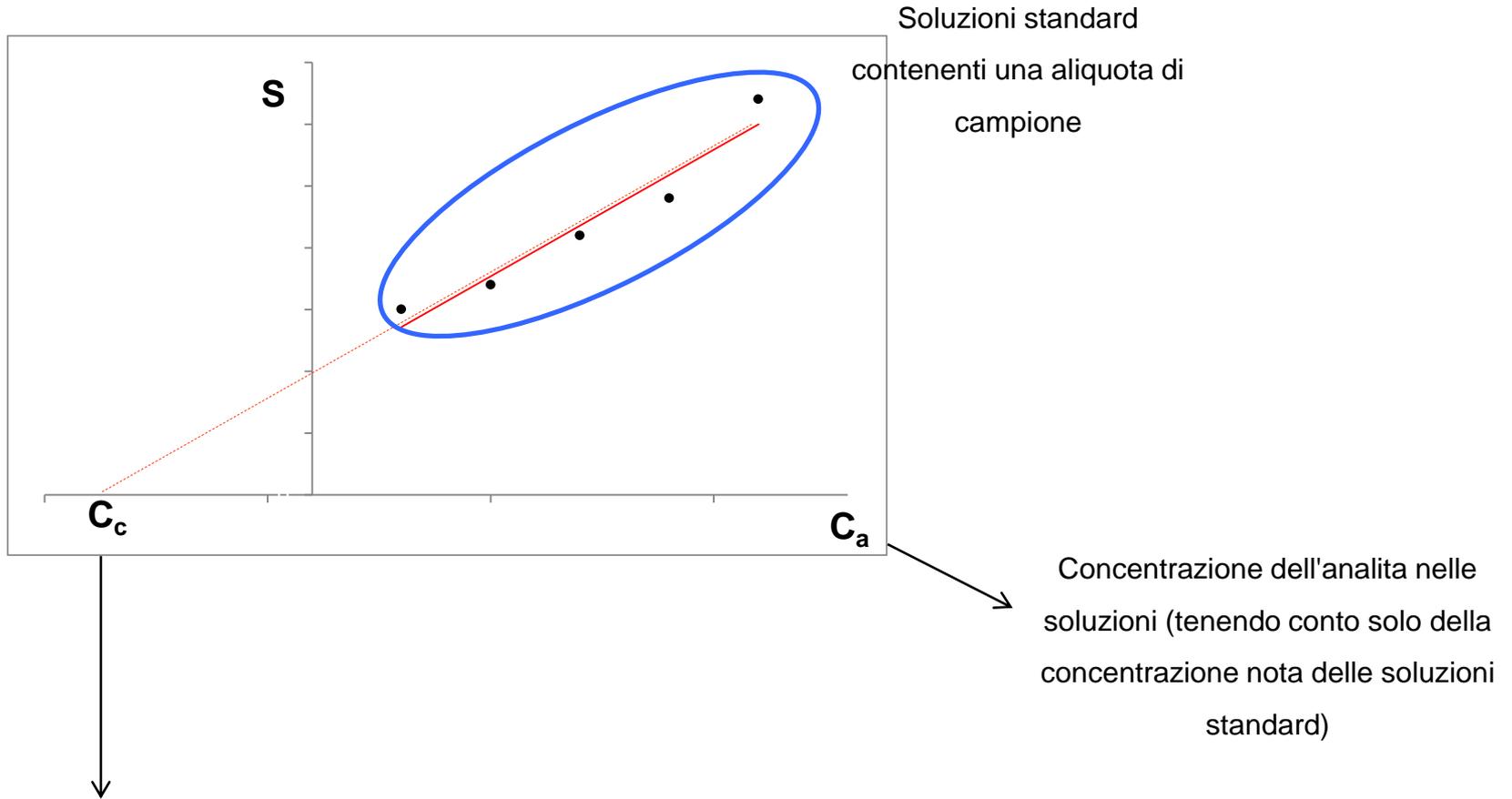
Il metodo delle aggiunte standard (o multiple)

Quando si utilizza una curva di calibrazione si assume che l'analita si comporti (rispetto al tipo di analisi strumentale) allo stesso modo sia in soluzione standard sia nel campione in presenza della matrice. tuttavia il campione può essere complesso e contenere una grande varietà di molecole che potrebbero alterare il segnale di risposta dell'analita quando è immerso nella matrice rispetto all'analita in soluzione standard. Quindi, in questo caso, la curva di calibrazione non descrive la relazione tra la concentrazione dell'analita nel campione e il segnale generato.

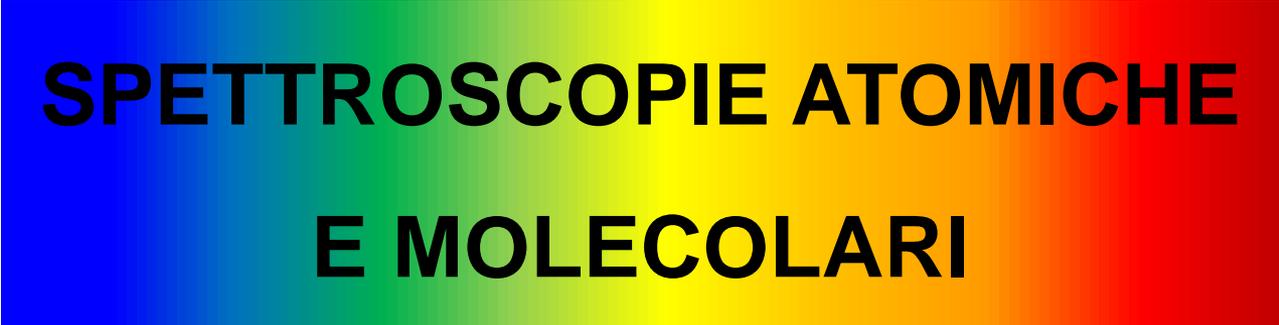
*Questo fenomeno è noto con il nome di **effetto matrice**.*

Per ovviare a questo problema si utilizzano delle soluzioni standard di analita che contengano anche una quantità nota (aliquota) di soluzione del campione. Quindi in ogni soluzione ci sarà una concentrazione nota di analita+una concentrazione incognita di analita dovuta al campione. Inoltre, dato che in tutte le soluzioni sarà presente la matrice, si riesce a minimizzare l'effetto della stessa sull'analisi.

In questo si otterrà un grafico di questo tipo (supponendo che la curva di interpolazione sia una retta):



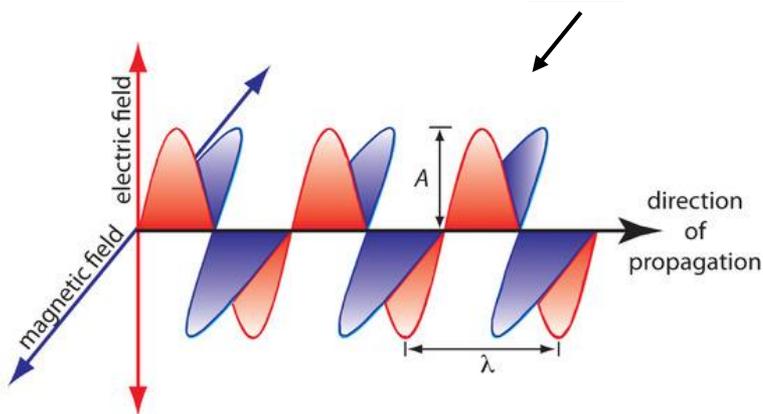
C_c = concentrazione incognita dell'analita nel campione (invertita di segno)



**SPETTROSCOPIE ATOMICHE
E MOLECOLARI**

LA RADIAZIONE ELETTROMAGNETICA

Il comportamento della radiazione elettromagnetica è duale, cioè essa è una forma di energia che può essere descritta sia come onda che come particella, cioè essa ha una natura duale.



Se considerata un'onda essa consiste in un campo elettrico e un campo magnetico oscillanti, tra di loro perpendicolari e che si propagano nello spazio mantenendosi perpendicolari anche alla direzione di propagazione.

Se l'onda si propaga nel vuoto la sua velocità sarà pari alla velocità della luce c . Le sue proprietà fondamentali comprendono: velocità, ampiezza (A), frequenza (ν), lunghezza d'onda (λ) e direzione di propagazione

$$\lambda = \frac{c}{\nu}$$

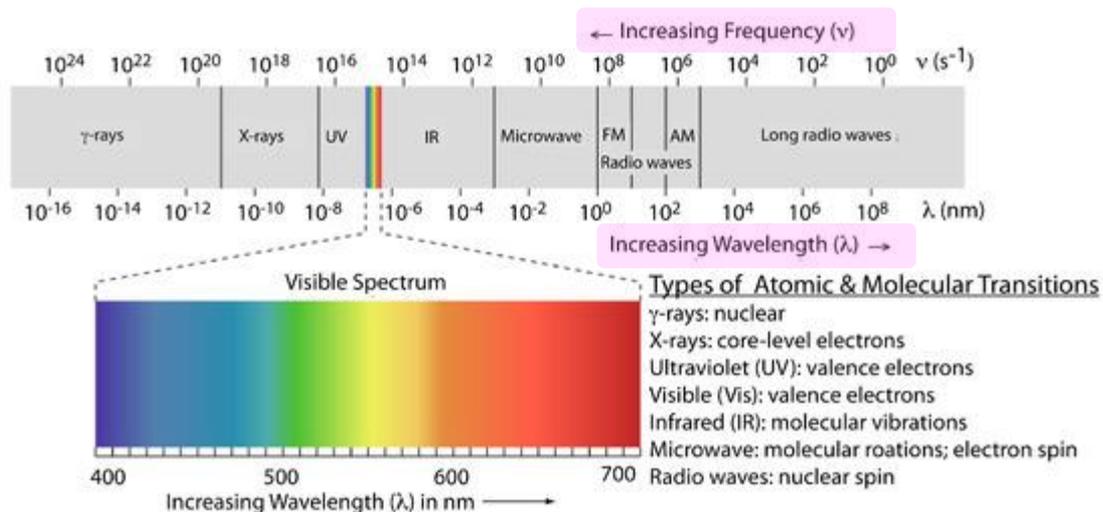


Se considerata una particella si intende la radiazione elettromagnetica come un "pacchetto" (raggio) di fotoni che si muovono nella direzione di propagazione della luce. I fotoni possiedono una quantità di energia ben definita dall'equazione:

$$E = h \cdot \nu$$

dove h è la costante di Planck, pari a 6.626×10^{-34} J·s. L'interazione tra la radiazione elettromagnetica e la materia è più semplice da interpretare se si considera la natura particellare della luce.

La frequenza e la lunghezza d'onda della radiazione elettromagnetica possono variare in un intervallo ampio, di molti ordini di grandezza. Per convenienza si divide la radiazione elettromagnetica in diverse regioni, che compongono lo **spettro elettromagnetico**, e sono basate sul tipo di transizione atomica o molecolare che viene indotta dai fotoni ad ogni intervallo di frequenza (o lunghezza d'onda):



$$E = h \cdot \nu$$



Al diminuire della frequenza (o all'aumentare della lunghezza d'onda) diminuisce l'energia che i fotoni possono trasferire alla materia. I confini tra le diverse regioni dello spettro elettromagnetico non sono ben definiti; è possibile la sovrapposizione tra le regioni spettrali.

Come anticipato, fotoni a diversa energia inducono tipi di transizione atomica o molecolare diverse, in particolare:



Regione	Lunghezza d'onda (λ)	Transizione	Specie analizzabile
raggi γ	<0,1 nm	emissione nucleare	atomi
raggi X	0,1 – 10 nm	transizioni elettroniche (elettroni interni)	atomi
UV	10 – 380 nm	transizioni elettroniche (elettroni di valenza)	atomi e molecole
Vis	380 – 800 nm	transizioni elettroniche (elettroni di valenza)	atomi e molecole
IR	800 nm – 100 μ m	transizioni vibrazionali	molecole
microonde	100 μ m – 1 cm	transizioni rotazionali	molecole
onde radio	1 cm – metri	transizioni spin nucleare	molecole

LE TECNICHE SPETTROSCOPICHE

Una **misura spettroscopica** è possibile solo se l'interazione tra il fotone e il campione porta ad uno o più cambiamenti nelle proprietà della radiazione elettromagnetica (energia, velocità, frequenza, etc...).

La spettroscopia si può dividere in **due grandi classi**:

- una in cui c'è un trasferimento di energia tra il fotone e il campione e
- un'altra in cui la radiazione elettromagnetica cambia una (o più) delle sue proprietà quando incontra il campione, ma passando per processi quali la rifrazione, la riflessione, la diffrazione e la dispersione (non trattati in questo Corso).

Esempi di Tecniche Spettroscopiche che implicano uno scambio di energia tra un fotone e il campione:

Tipo di trasferimento energetico	Regione	Tecnica spettroscopica
ASSORBIMENTO	raggi γ	spettroscopia raggi γ ad alta risoluzione
	raggi X	spettroscopia di assorbimento raggi X
	UV-Vis	spettroscopia di assorbimento atomico spettroscopia UV-Vis
	IR	spettroscopia infrarosso spettroscopia Raman
	microonde	spettroscopia a microonde
	onde radio	spettroscopia di risonanza magnetica nucleare
EMISSIONE (per eccitazione termica)	UV-Vis	spettroscopia atomica di emissione
FOTOLUMINESCENZA	raggi X	fluorescenza ai raggi X
	UV-Vis	spettroscopia di fluorescenza spettroscopia di fosforescenza
CHEMILUMINESCENZA	UV-Vis	spettroscopia di chemiluminescenza

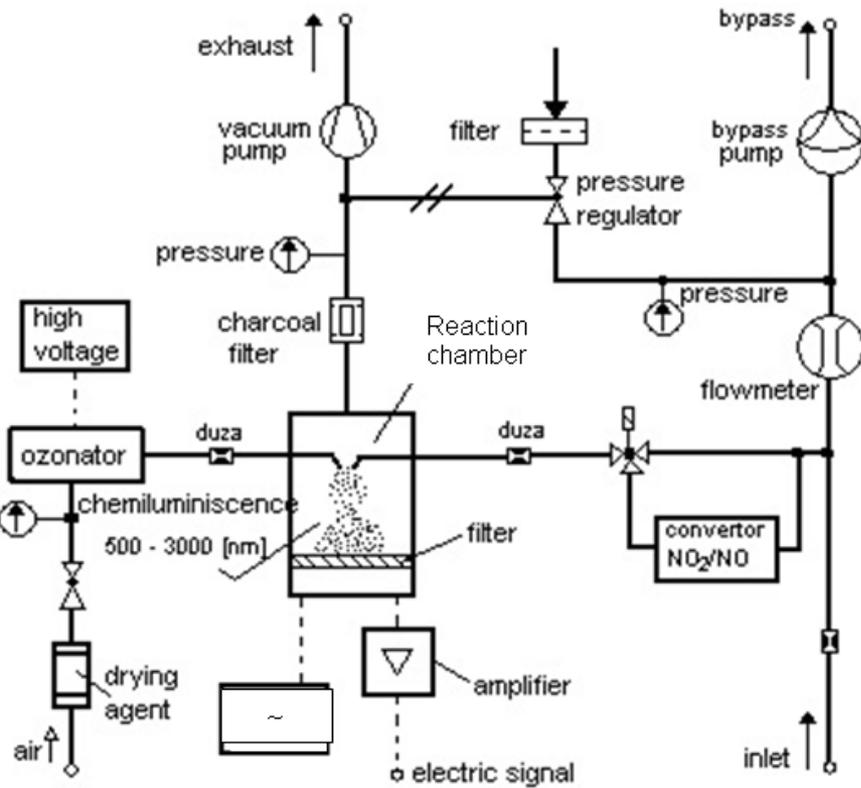
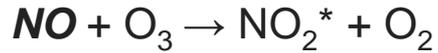
N.B.: le tecniche indicate in rosso verranno trattate in questo Corso

Chemiluminescenza



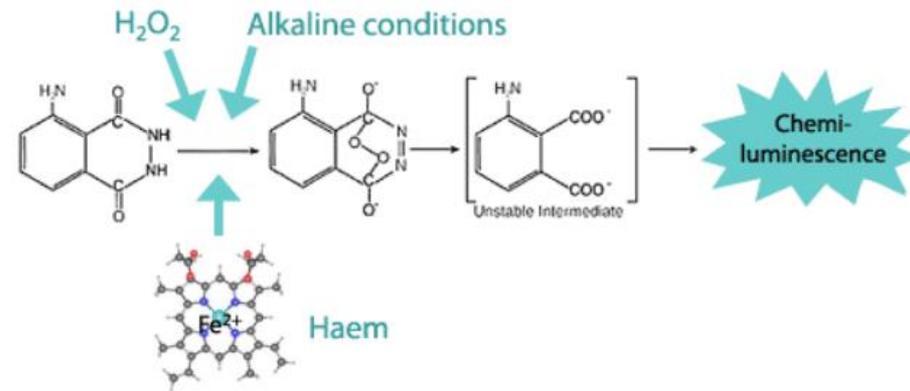
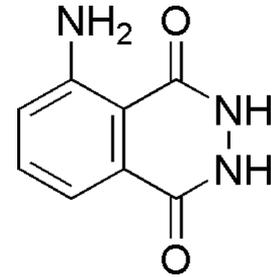
Es

1) determinazione del monossido di azoto NO



2) determinazione presenza di sangue

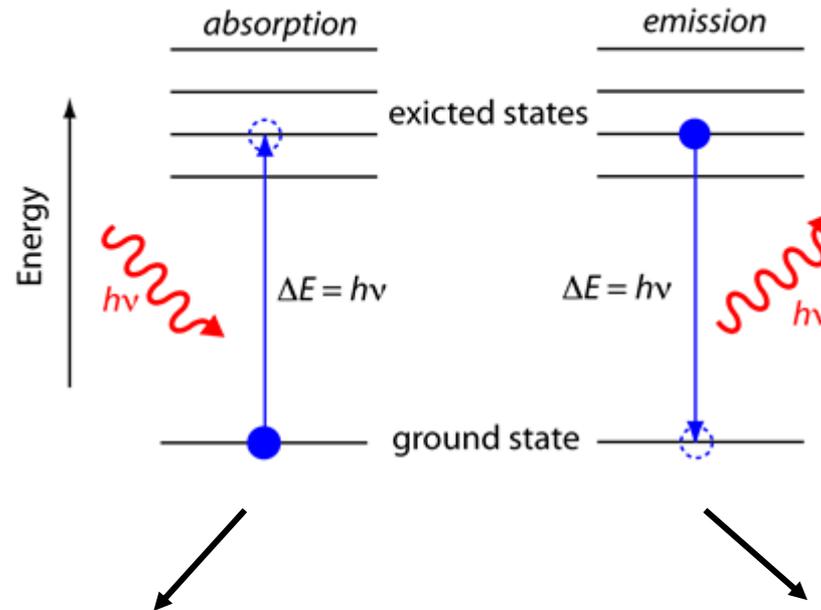
Emoglobina+ luminol



<https://www.chem.fsu.edu/chemlab/chm1020c/Lecture%205/04.php>

Le Spettroscopie Atomiche

Le Spettroscopie Atomiche possono essere di Assorbimento o di Emissione a seconda del processo che avviene, cioè l'assorbimento di un fotone o l'emissione di un fotone

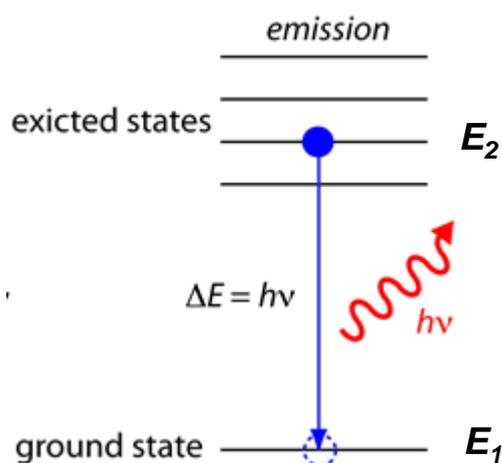


Nella **Spettroscopia Atomica di Assorbimento** un fotone viene assorbito dall'atomo che quindi passa da uno stato a più bassa energia ad uno a più alta energia.

Nella **Spettroscopia Atomica di Emissione** un atomo emette un fotone dopo essere stato portato ad uno stato eccitato fornendogli energia termica

La Spettroscopia Atomica di Emissione

Nella **Spettroscopia Atomica di Emissione** un atomo emette un fotone dopo essere stato portato ad uno stato eccitato fornendogli energia termica



Un atomo in uno stato eccitato possiede una energia E_2 più alta della sua energia allo stato fondamentale E_1 . Quando l'atomo ritorna allo stato fondamentale rilascia la differenza di energia:

$$\Delta E = E_2 - E_1$$

con un processo detto **rilassamento**.

Nel processo di emissione atomica

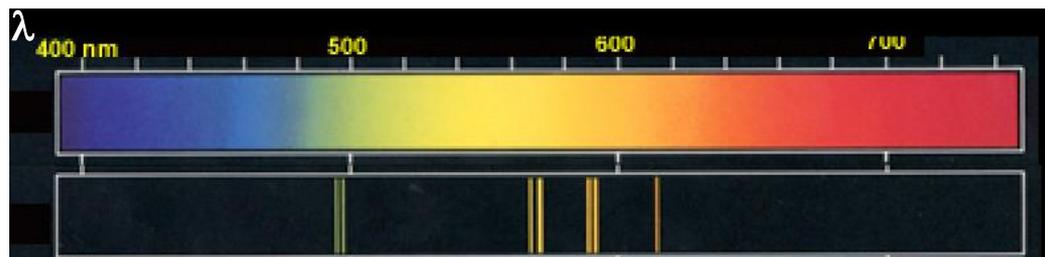
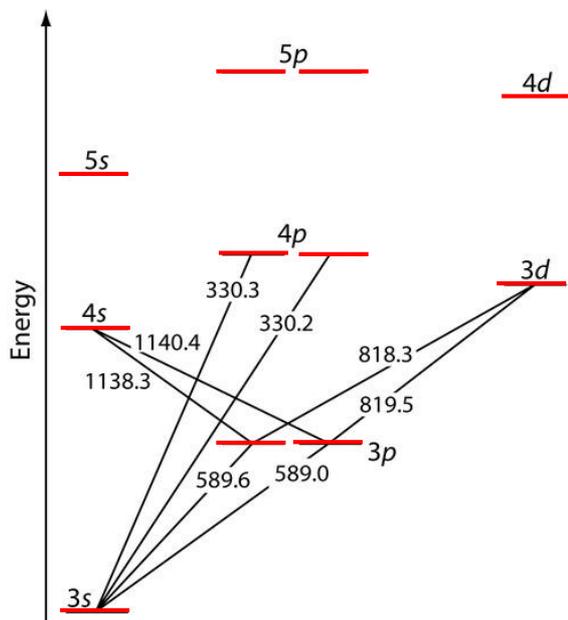
il rilassamento comporta l'emissione di un fotone la cui energia è pari a

$\Delta E = h \cdot \nu$, cioè avviene il processo:



Lo spettro di emissione di una specie atomica

Lo spettro di emissione interessa gli elettroni di valenza di un atomo. A causa della struttura ad orbitali l'energia che accompagna il rilassamento di un elettrone in un atomo è quantizzata, cioè per ogni salto quantico (da uno stato a più alta energia ad uno a più bassa) viene emesso un fotone ad una determinata lunghezza d'onda. Ciò comporta che gli atomi abbiano degli spettri di emissione a bande molto strette, i così detti **spettri a righe**.



Spettro di emissione a righe del sodio

$$\lambda = \frac{c}{\nu} \longrightarrow \Delta E = h \frac{c}{\lambda}$$

Guscio di valenza dell'atomo di sodio

L'analisi quantitativa in spettroscopia atomica di emissione

La quantificazione è possibile poiché l'intensità dell'emissione (I_λ) per ogni riga dello spettro (quindi per ogni λ) è proporzionale al numero di atomi n^* presenti allo stato eccitato A^* .

$$I_\lambda \sim \Delta E_\lambda \cdot A_\lambda \cdot n_\lambda^*$$

dove ΔE_λ è la differenza di energia tra il livello energetico superiore e quello inferiore della transizione a lunghezza d'onda λ e A_λ è la probabilità della transizione (cioè il numero di possibili transizioni tra i due livelli per unità di tempo – è stata definita da Einstein).

L'intensità dell'emissione può essere misurata sperimentalmente, quindi è necessario trovare la relazione matematica che correla n^* con N numero totale di atomi del campione, come segue. La relazione tra la popolazione di due livelli energetici E_1 (inferiore) ed E_2 (superiore) viene descritta dall'equazione di Boltzmann:

$$\frac{n_2}{n_1} = \frac{g_2 \cdot e^{-E_2/kT}}{g_1 \cdot e^{-E_1/kT}}$$

(equazione relativa ad una riga dello spettro a lunghezza d'onda λ , che corrisponde ad un'emissione di energia $\Delta E_\lambda = E_2 - E_1$)

dove n_2 è la popolazione dello stato ad energia superiore (eccitato) e n_1 quella dello stato ad energia inferiore; k è la costante di Boltzmann ($0,695 \text{ cm}^{-1} \text{ K}^{-1}$); T è la temperatura della sorgente di radiazione termica; g_1 e g_2 sono fattori statistici che dipendono dal numero di livelli energetici equivalenti dello stato energetico più alto e più basso, rispettivamente.

Dato che la popolazione del livello energetico più alto (n_2) è proporzionale a $e^{-E_2/kT}$, a parità di temperatura T , più alto è il valore di E_2 meno sarà popolato il livello rispetto a E_1 . Per aumentare n_2 bisogna aumentare T in modo da ridurre il fattore $e^{-E_2/kT}$. Quindi è necessario utilizzare sorgenti di radiazione termica ad alta temperatura.

segue →

Per correlare n^* (indicato in precedenza come n_2 nelle formule) con la popolazione totale di tutti i livelli $N = (n_0 + n_1 + \dots + n_i)$ utilizzando l'equazione di Boltzmann, è prima necessario definire la somma di tutti i termini $g_i \cdot e^{-E_i/kT}$ per tutti i possibili livelli definendo la funzione di partizione Z come segue:

$$Z = g_0 + g_1 \cdot e^{-E_1/kT} + \dots + g_i \cdot e^{-E_i/kT}$$

Quindi l'equazione di Boltzmann diventa:

$$\frac{n^*}{N} = \frac{g^* \cdot e^{-E^*/kT}}{Z}$$

quindi la funzione di partizione Z è funzione di T . Tuttavia a temperature molto alte (2000 – 7000 K, o più) la variazione di T porta a variazioni trascurabili di Z . Pertanto a valori molto alti e pressoché costanti di T anche Z è costante. Per cui ne deriva che l'intensità di emissione ad una determinata λ è esprimibile come:

$$I_\lambda = k \left(\frac{h \cdot c}{\lambda} \right) \cdot A_\lambda \cdot \left(N \cdot \frac{g^* \cdot e^{-E^*/kT}}{Z} \right) \quad (I_\lambda \sim \Delta E_\lambda \cdot A_\lambda \cdot n_\lambda^*)$$

dove k è una costante che tiene conto del fatto che l'emissione è isotropica in tutte le direzioni.

Infine, dato che ad una determinata lunghezza d'onda (riga di emissione) g^*, A_λ e E^* sono costanti e che T e Z sono considerabili costanti nelle condizioni sperimentali per quanto affermato in precedenza, l'equazione soprastante si può ridurre a:

segue →

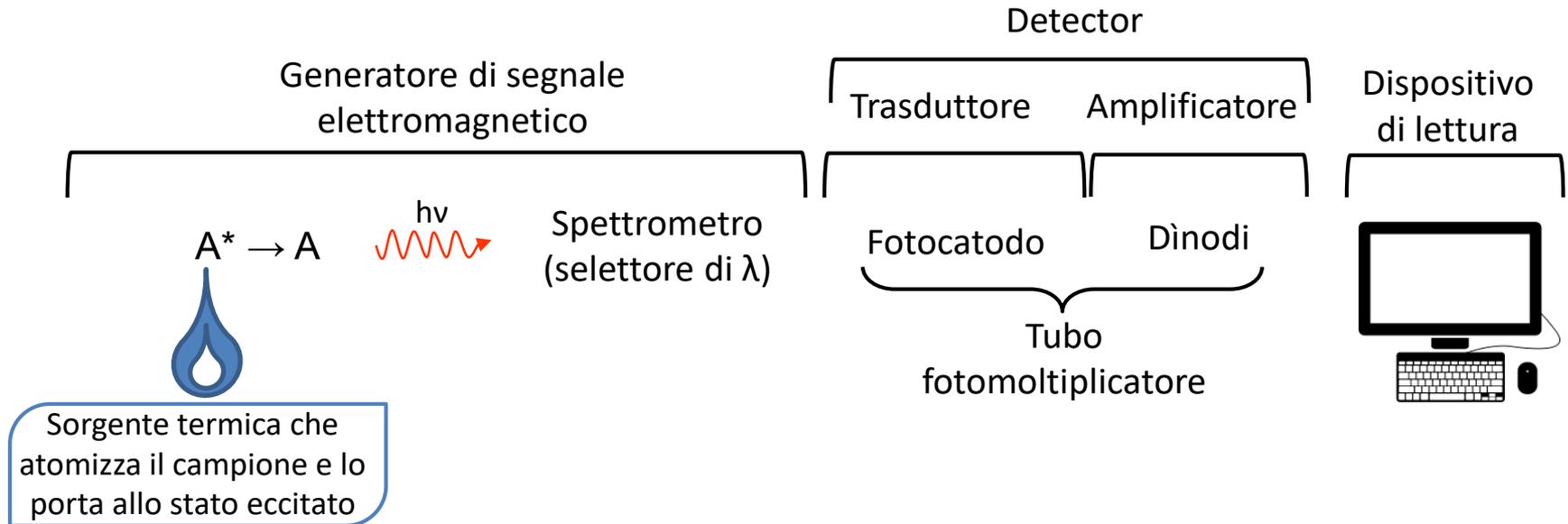
$$I_{\lambda} = \text{cost} \cdot N$$

$$\left(\text{con } \text{cost} = k \left(\frac{h \cdot c}{\lambda} \right) \cdot A_{\lambda} \cdot \left(\frac{g^* \cdot e^{-E^*/kT}}{Z} \right) \right)$$

N è il numero di atomi presenti nel campione, quindi correlabile con la concentrazione dell'analita nel campione stesso.

Questa tecnica è di fatto **una tecnica analitica relativa**, quindi è necessario costruire una curva di taratura con soluzioni standard dell'analita, poiché sarebbe molto difficile determinare il valore esatto della costante (*cost*) dell'equazione che coinvolge molti parametri sia fisici che strumentali.

Spettroscopia atomica di emissione: la strumentazione



Le **sorgenti** termiche verranno discusse in dettaglio nelle prossime slides.

Il funzionamento dello **Spettrometro** verrà discusso nella trattazione della Spettroscopia di assorbimento atomico.

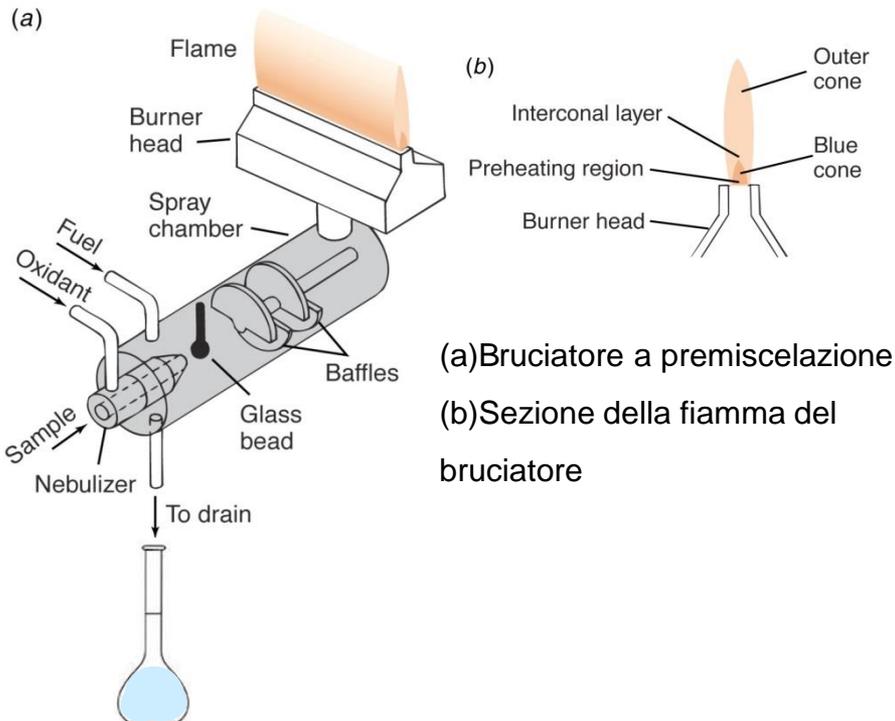
Il funzionamento dello **Tubo fotomoltiplicatore** verrà discusso nelle prossime slides. Altri tipi di detector verranno discussi nella trattazione della Spettroscopia di assorbimento atomico

Le sorgenti termiche di atomizzazione ed eccitazione

Le **sorgenti** termiche di atomizzazione ed eccitazione sono classificate in due categorie:

- Le sorgenti per analizzare analiti in soluzione (fiamma e plasma)
- Le sorgenti per analisi diretta di analiti in solidi (arc e spark)

Sorgenti a fiamma



Una fiamma è una reazione chimica esotermica controllata ottenuta dalla miscelazione di uno o più gas combustibili (acetilene, propano, idrogeno) e un gas ossidante (ossigeno – anche in aria, protossido di azoto). Il tipo di miscela determina la temperatura della fiamma.

Maximum flame temperatures

Fuel	Oxidant	Temperature (K)
Acetylene, $\text{HC}\equiv\text{CH}$	Air	2 400–2 700
Acetylene	Nitrous oxide, N_2O	2 900–3 100
Acetylene	Oxygen	3 300–3 400
Hydrogen	Air	2 300–2 400
Hydrogen	Oxygen	2 800–3 000
Cyanogen, $\text{N}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{N}$	Oxygen	4 800

Sorgenti al plasma induttivamente accoppiato (ICP)

Il **plasma** è un gas ionizzato "macroscopicamente" neutro, cioè possiede lo stesso numero di particelle positive (ioni) e particelle negative (elettroni). Per il plasma alcune proprietà generali dei gas come la pressione ed il volume possono ancora essere applicate, altre come la viscosità e la conduttività termica differiscono significativamente da quelle dei gas ideali a causa della presenza di particelle cariche.

Il plasma di solito si ottiene dalla ionizzazione di gas rari (usualmente Ar).

Per ionizzare il gas e mantenere il plasma a T costante è necessaria una **fonte esterna di energia** nella forma di un campo elettrico che trasferisce energia al plasma, il quale poi utilizza parte di questa energia per atomizzare e portare allo stato eccitato gli analiti del campione.

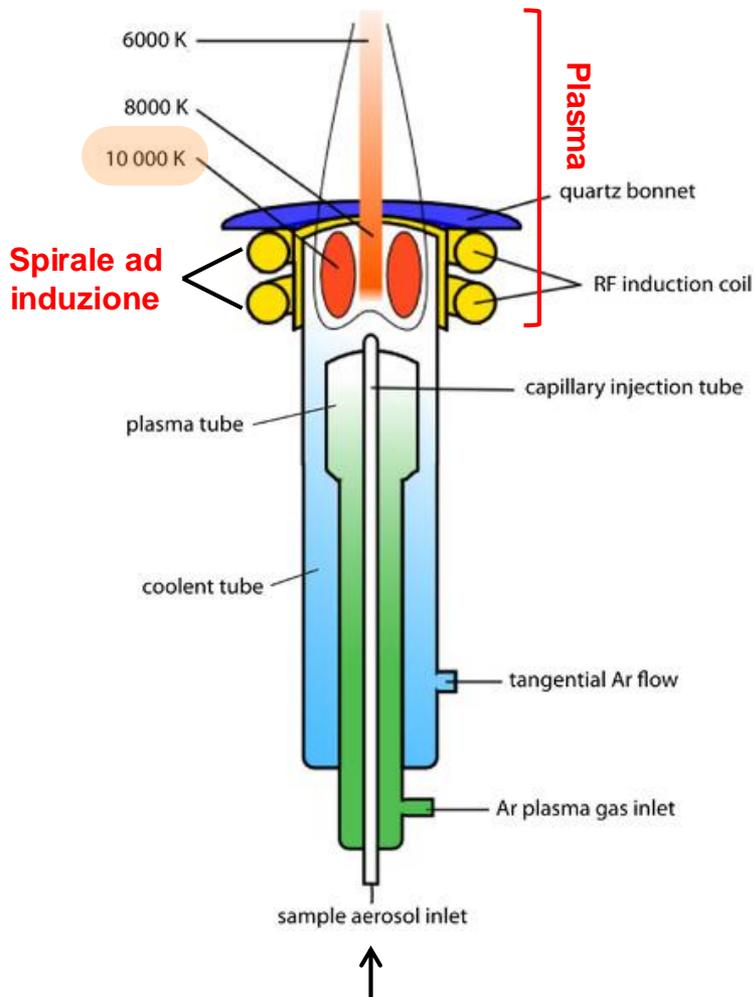
Nel plasma induttivamente accoppiato (ICP) viene applicato un campo elettrico ad alta frequenza (**radiofrequenza**) attraverso l'utilizzo di una **spirale ad induzione**.

Il campo elettrico applicato deve essere in grado di compensare perturbazioni indotte nel plasma dall'introduzione del campione, così da mantenere stabili le proprietà del plasma stesso per avere elevate prestazioni analitiche di misura.

Il plasma consente di generare temperature (10000 K)

molto più alte di una fiamma (max 4800 K)

Il plasma viene generato in una **torcia**.



Il campione introdotto deve essere sotto forma di aerosol. L'aerosol si ottiene tramite un nebulizzatore alimentato da una pompa peristaltica

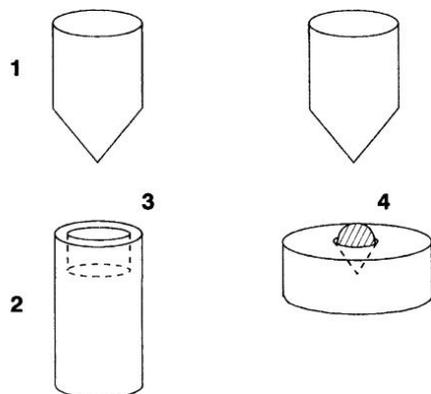


Il campo a radiofrequenza alternata nella spirale di induzione genera un campo magnetico al suo interno e conseguentemente nella corrente di gas (Ar) che passa all'interno della torcia. Il campo magnetico induce gli ioni Ar e gli elettroni a muoversi secondo una corrente circolare. **Le collisioni tra ioni Ar⁺ e gas ancora non ionizzato dà origine ad una emissione termica che porta il plasma a temperature di circa 10 000 K, nella base al centro del plasma.** Per dare inizio alla scarica di generazione del plasma (cioè per generare i primi ioni Ar⁺ che verranno indotti a muoversi dal campo magnetico), al gas viene applicata una scintilla (tramite una "spirale di Tesla").

L'utilizzo di Ar consente di:

- conoscere le interferenze di background dovute alla sorgente di atomizzazione (lo spettro di emissione di Ar è noto e semplice, rispetto a quello di una fiamma);
- eccitare e ionizzare la maggior parte degli elementi della tavola periodica, grazie alle proprietà intrinseche di Ar;
- evitare la formazione di composti stabili che interferiscano con la misura, poiché Ar è inerte.

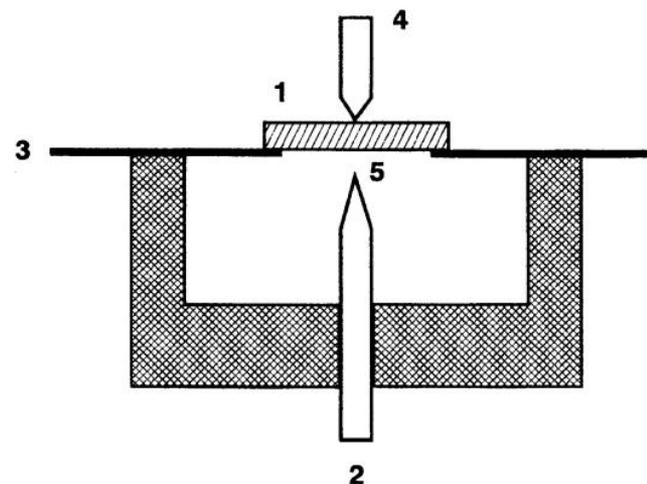
Sorgenti arc e spark (per campioni solidi)



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-24-02-04

Atomizzatore ad Arco (arc) :

*standard – a sinistra → (1)
controelettrodo di grafite (2) elettrodo
(3) “coppa” porta campione;
campione globulare – a destra → (4)*



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-24-02-05

Atomizzatore a scintilla (spark):

*(1) campione conduttivo che agisce come
elettrodo (2) controelettrodo di tungsteno (3)
porta campione fatto di materiale isolante, a
destra (4) contatto elettrico (5) gap analitico*