

CHIMICA ANALITICA II

CON LABORATORIO

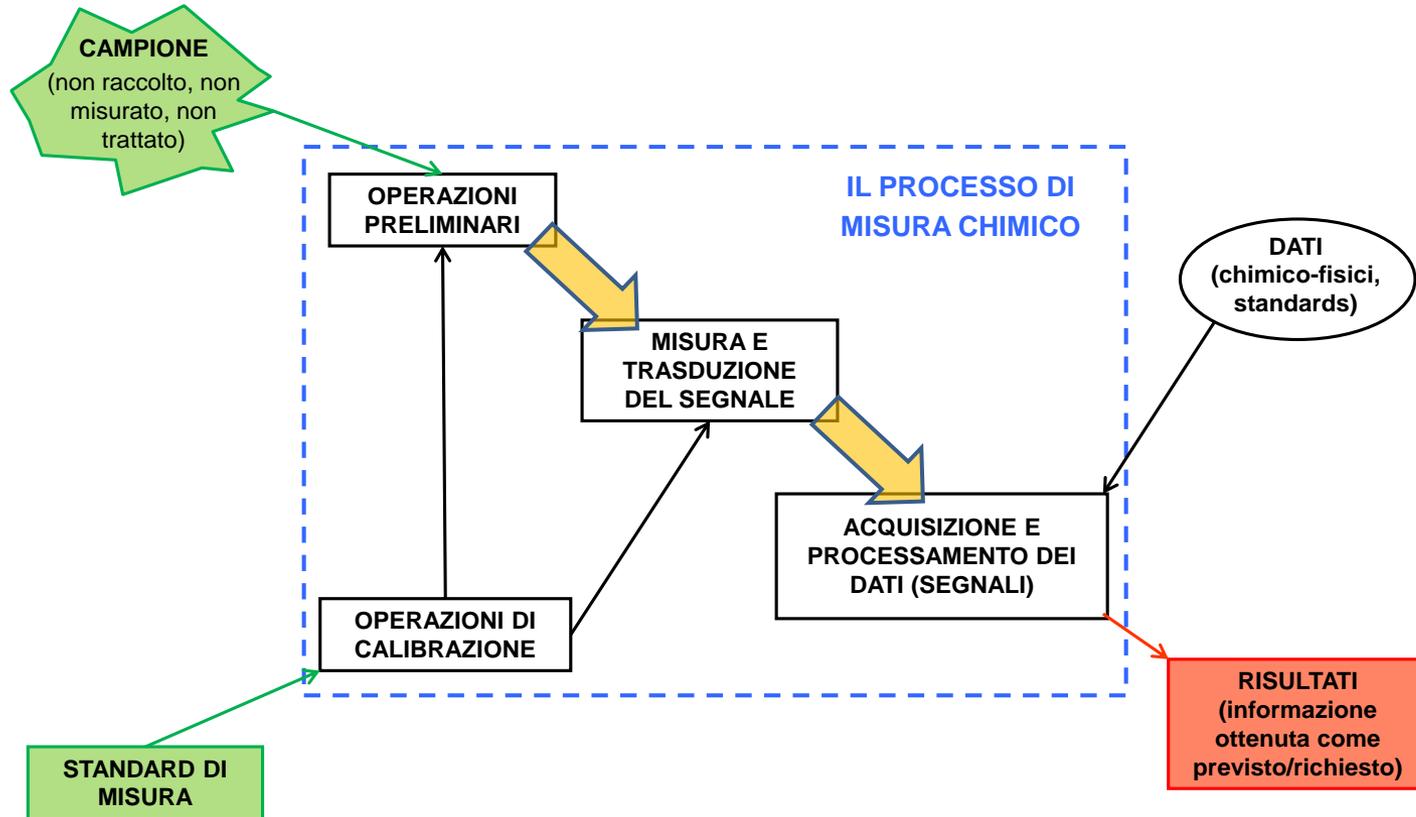
(AA 2019-20)

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

Preparazione del campione

INTRODUZIONE

Torniamo allo schema del processo di misura chimico, o processo analitico:



OPERAZIONI PRELIMINARI: questo stadio può coinvolgere una serie di sottopassaggi il cui scopo complessivo è di rendere il campione adatto alla misurazione. E' denominato anche **preparazione o trattamento del campione**

PRETRATTAMENTO 2

- *Macinazione, omogeneizzazione ed essiccazione;*
- *Dissoluzione e digestione;*
- *Filtrazioni;*
- *Spazio di testa (HS- Head Space);*
- *Estrazioni:*
 - ***LL con solventi immiscibili:** vedi slides equilibrio L-L;*
 - ***LS :** Soxhlet, ASE, Microonde, Ultrasuoni, Fluido supercritico;*
 - ***Intrappolamento su adsorbenti solidi:** SPE, SPME, SBSE*

❖ Estrazioni L-S

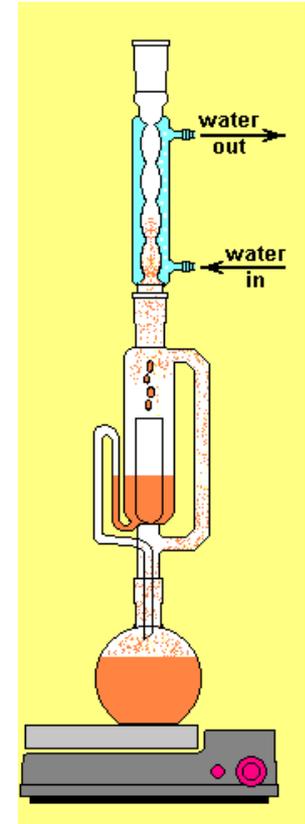
Estrazione in solvente di analiti da campione solido

Tecniche di estrazione L-S:

- Estrazione Soxhlet;
- ASE (*Accelerated Solvent Extraction*);
- MWAE (*Micro-Wave Assisted Extraction*);
- SAE (*Sonication Assisted Extraction*);
- SFE (*Supercritical Fluid Extraction*).

❖ Estrazione Soxhlet

- Viene utilizzata per estrarre analiti da matrici solide e semi-solide;
- L'apparecchiatura è formata da:
 - un sistema di **riscaldamento** (isomantello, bagno ad acqua o silicone termostato);
 - un pallone contenente il **solvente/i** per l'estrazione;
 - una **camera centrale** con sifone in cui viene alloggiato il campione (contenuto in un ditale, cioè un contenitore costituito da un materiale filtrante);
 - un **refrigerante** a bolle.
- Il solvente, per distillazione e condensazione ricade sul campione che è posto nel ditale alloggiato nella camera centrale dell'apparecchio;
- Quando la camera che contiene il ditale è piena di solvente, esso, tramite il sifone ricade nel pallone contenente il solvente posto nella parte inferiore del sistema;
- Grazie al processo di distillazione e ricondensazione **il campione viene continuamente estratto con solvente puro** (non contenente analita) aumentandone la capacità estrattiva;
- Dopo vari cicli il solvente posto nel pallone inferiore si "arricchisce" in contenuto di analiti;
- Dopo diversi cicli si raggiunge un'estrazione completa;
- Di solito si estraggono 1-20 g di campione con 100-500 mL di solvente/i per 16-24 h



segue →

Limiti dell'estrazione con Soxhlet:

- utilizzo di **elevate quantità di solventi organici**, spesso anche tossici (considerando che il sistema, prima dell'estrazione del campione viene "pulito" con un ciclo con solo solvente che poi deve essere gettato o, se possibile, ridistillato per riutilizzo);
- procedura **lunga** (16-24 h);
- possibilità di **perdita o contaminazioni** durante la manipolazione del campione;
- **difficoltà di automazione**



segue →

Estrazione con Microsoxhlet

Strumento automatizzato che consente un' estrazione in continuo



Microsoxhlet

Fase 1: Immersione dei ditali nel solvente caldo
Fase 2: lavaggio campione con solvente ricondensato (Soxhlet)

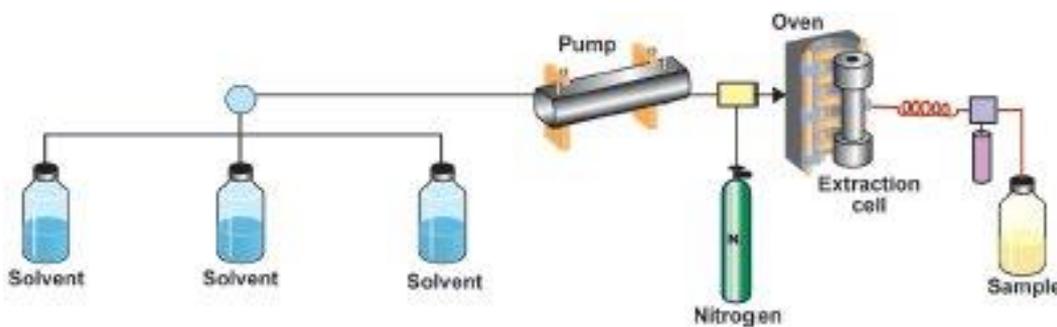
Vantaggi:

- Risparmio di tempo
- Risparmio di solvente

Es. <https://www.gerhardt.de/en/product-lines/solid-liquid-extraction/rapid-extraction-system-soxthermr/>

❖ Estrazione accelerata con solvente (ASE)

- Viene utilizzata per estrarre analiti da matrici solide e semi-solide;
- Viene definita anche PLE: *Pressurized Liquid Extraction*;
- Lo scopo di questa tecnica è aumentare il potere estraente utilizzando **temperatura e pressione**;
- Tipicamente l'estrazione viene effettuata ad una temperatura superiore a quella del punto di ebollizione del solvente (quindi la pressione serve a mantenere il solvente in fase liquida);
- La **solubilità** e la **diffusività** degli analiti aumenta con la temperatura, quindi queste estrazioni sono rapide ed efficienti;
- La quantità di solvente utilizzata è in genere minore rispetto ad es. ad estrazione Soxhlet;
- Un sistema ASE è costituito da: un forno, una cella di estrazione (di solito in acciaio), una pompa e un sistema di pressurizzazione, una serie di valvole e un contenitore per raccogliere l'estratto;
- Il sistema è automatizzabile con un autocampionatore.



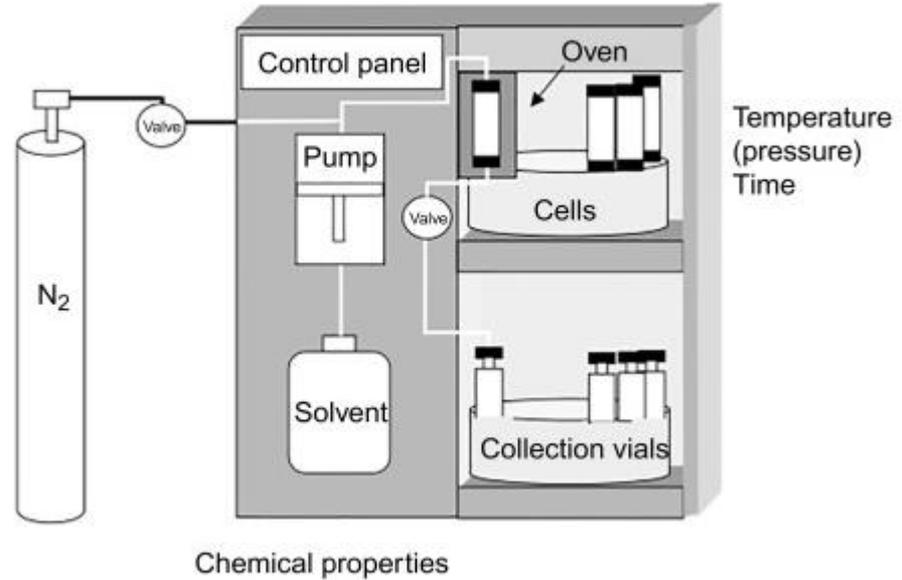
cella



- Estrazioni con 20-50 ml di solvente e durata 10-40 min.

Update 2020

<https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/pressurized-liquid-extraction>



<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3545a.pdf>

❖ Estrazione con solvente assistita dalle microonde (MWAE)

- Le microonde sono onde elettromagnetiche ad alta frequenza;
- In questo tipo di tecnica le microonde sono utilizzate per scaldare il solvente e conseguentemente anche il campione;
- L'energia delle microonde agisce sulle molecole attraverso due effetti: la **conducibilità ionica** e la **rotazione di dipolo**

Conducibilità ionica: Fenomeno per cui un elettrone o uno ione si muove in un mezzo a causa della mobilità ionica piuttosto che elettronica.

In MWAE il campo elettrico genera mobilità ionica poiché le *molecole cercano di orientarsi rispetto al campo elettrico*, causando quindi l'aumento di temperatura

Rotazione di dipolo: le molecole polari cercano di allinearsi con il campo elettrico applicato.

In MWAE il campo elettrico viene continuamente variato e il tentativo della molecola di allinearsi porta ad un trasferimento di energia (urti) . L'intensità dell'effetto dipende dalla polarità della molecola.

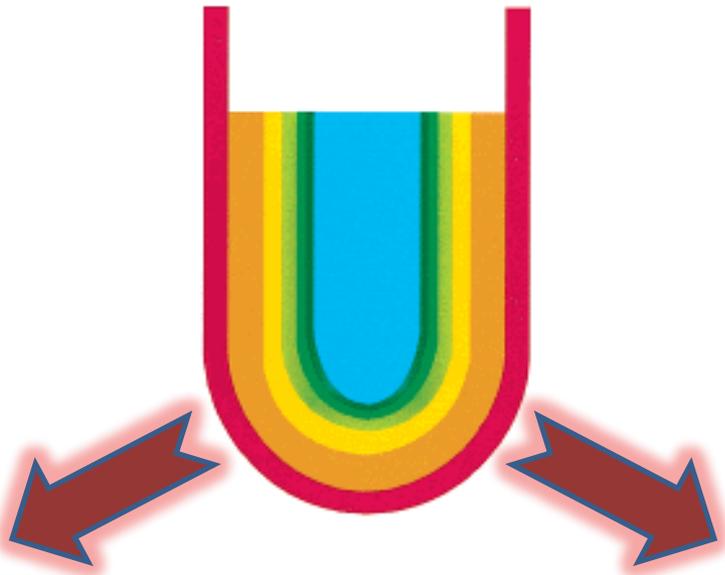
- La MWAE funziona bene se il solvente utilizzato è in grado di assorbire l'energia delle microonde e trasferirla al campione sotto forma di calore;
- Ottimi solventi sono molecole con grande momento di dipolo, come: acqua, metanolo e acetone;
- L'estrazione viene effettuata in un **contenitore chiuso (vessel)** di materiale inerte e resistente alla pressione interna che viene generata, poiché i solventi possono riscaldarsi anche al di sopra del loro punto di ebollizione;
- L'estrazione di solito richiede 20-50 ml di solvente e dura circa 20-40 minuti.

segue →

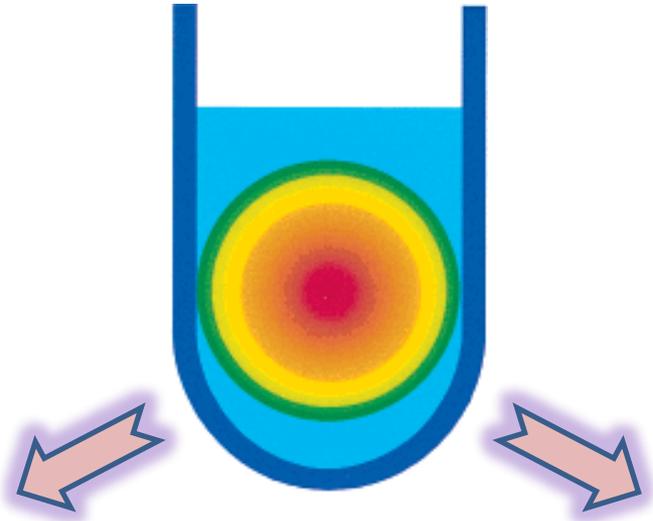
Vantaggi:

- riscaldamento diretto
- riduzione dei tempi di trasmissione del calore
- riduzione delle dispersioni di calore (80%, Diehlmann, 2002)
- precisione dell'azione di controllo termico

Riscaldamento con meccanismi di scambio termico



Riscaldamento con microonde



Esempio: digestione acida assistita dalle microonde per effettuare analisi di metalli in ICP-AES

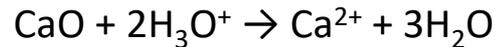
Si sceglie la miscela di acidi a seconda del tipo di matrice del campione:

- (a) per campioni abbastanza “puliti” e facilmente ossidabili si usa HNO_3
- (b) per matrici organiche facilmente ossidabili si usano $\text{HNO}_3\text{-HCl}$ or $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{SO}_4$
- (c) per matrici organiche refrattarie all’ossidazione si usano $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$
- (d) per dissoluzione totale di materiali contenenti silicati si usano HNO_3 (+HCl)-HF

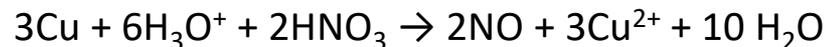
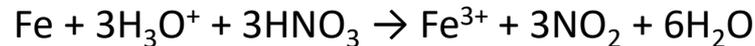
A volte si utilizza anche H_2O_2 combinata con miscele di acidi.

Perché HNO_3 è la scelta d’elezione per questa tecnica? perché HNO_3 agisce sia come acido che come agente ossidante.

Come acido dissolve gli ossidi inorganici:



Come agente ossidante, può ossidare metalli e non metalli a valenza zero, trasformandoli in ioni:



Inoltre HNO_3 , al contrario di H_2SO_4 ed HCl , non forma alcun composto insolubile con metalli o non-metalli.

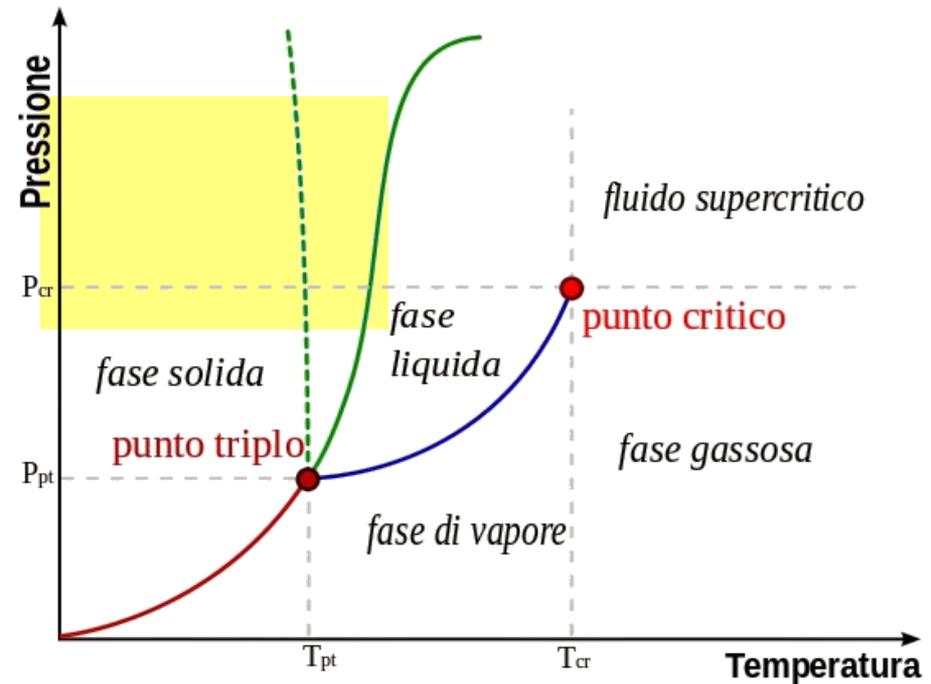
❖ Estrazione con ultrasuoni (SAE)

- In questa tecnica si utilizzano gli ultrasuoni, cioè le vibrazioni acustiche con frequenza superiore a 20 kHz;
 - Quando le vibrazioni vengono trasmesse attraverso il liquido e si propagano uniformemente formando onde di compressione e decompressione che danno origine alla formazione di microbolle (fenomeno della **cavitazione**) le quali implodono raggiungendo pressioni locali anche fino a 1000 bar;
 - Le sostanze e le particelle vengono rimosse meccanicamente dalla superficie della matrice e dai suoi siti adsorbenti a causa dello shock meccanico dovuto allo scoppio delle microbolle;
 - Inoltre, l'implosione delle cavità della matrice genera dei micro-ambienti in cui la temperatura e la pressione sono alte, così da accelerare il processo di estrazione;
-
- Questa tecnica può essere utilizzata sia con campioni solidi che liquidi e sia per l'estrazione di composti organici che inorganici;
 - Tipicamente il campione viene immerso in un solvente dentro ad una apposita fiala/provetta, la quale viene immersa nel bagno ad ultrasuoni che di solito contiene acqua deionizzata;
 - Si utilizzano 20-200 ml di solvente con tempi di estrazione di 2-20 minuti.

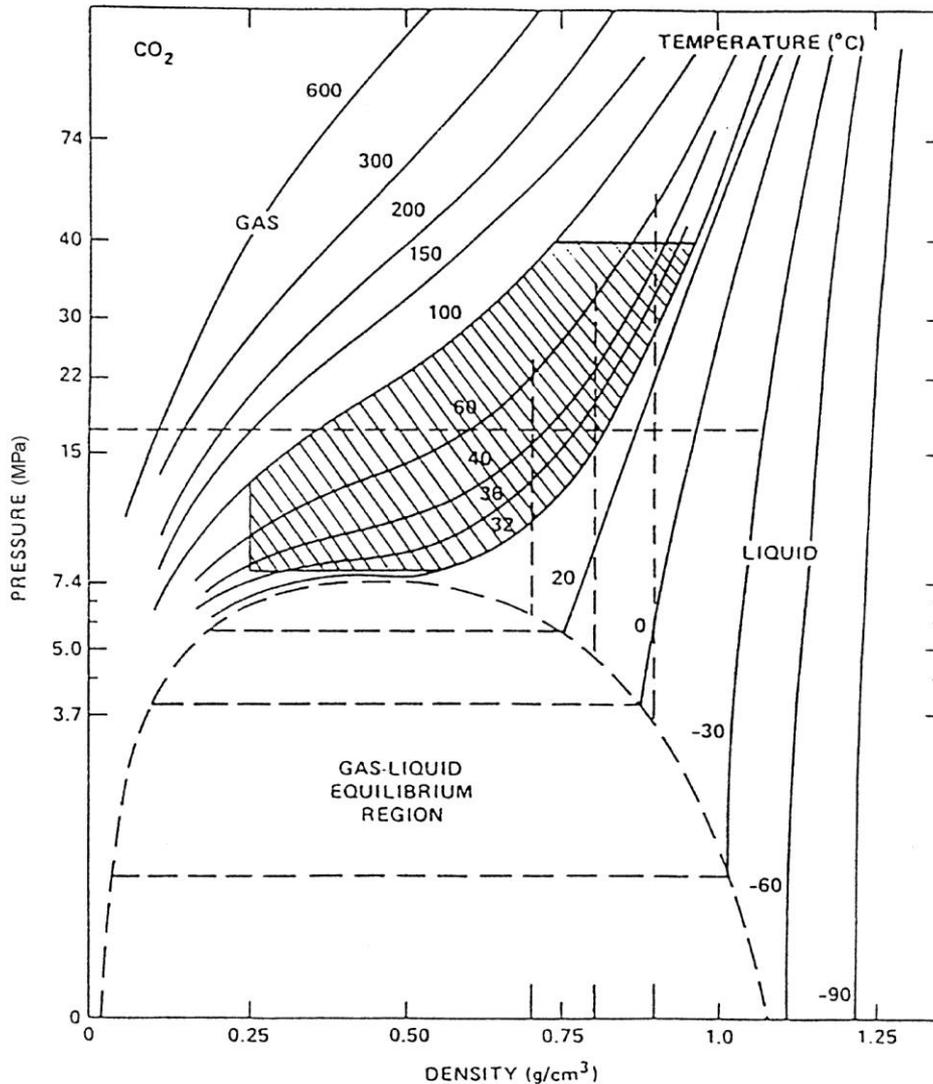


❖ Estrazione con fluido supercritico (SFE)

- Un fluido supercritico è una sostanza che si trova ad una temperatura superiore alla sua temperatura critica e viene mantenuto ad una pressione superiore alla sua pressione critica;
- Il fluido supercritico esiste in un'asingola fase (né gas né liquida) e non può essere liquefatto alzando la pressione o la temperatura;
- Quindi esso presenta proprietà intermedie tra quelle di un gas e quelle di un liquido, in particolare l'alta densità e il potere dissolvente di un liquido, assieme alla bassa viscosità, bassa tensione superficiale e alta velocità di diffusione di un gas;
- La densità può essere variata variando la temperatura;
- Quindi il fluido supercritico è un ottimo mezzo di estrazione;
- La sostanza più utilizzata è la **CO₂** supercritica, poiché ha basse temperatura e pressione critica, non è tossica, non è infiammabile ed è poco costosa.



segue →



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Fig-15-02

CO₂ supercritica

For CO₂, T_c=31°C, P_c=1100 psi

Diagramma di fase della CO₂ nella zona supercritica

Sono possibili grandi cambiamenti di densità per valori di P e T "raggiungibili"

Conversione psi --> atm:

1100

=

74,85056

Libbra-forza per pollice quadrato ↕

Atmosfera

segue →

- Questa tecnica viene effettuata tramite apparecchiature dedicate che siano in grado di sia di generare il fluido supercritico, sia di controllare la pressione, la temperatura e il suo flusso;
- L'estratto viene raccolto sia tramite un apposito solvente che tramite trappola adsorbente;
- L'estrazione di solito richiede 10-20 ml di solvente (per l'intrappolamento o l'eluizione) e tempi di circa 20-60 minuti;
- Questa tecnica è utile in caso di analiti termolabili che non possono essere estratti con tecniche che utilizzano calore/alte temperature.

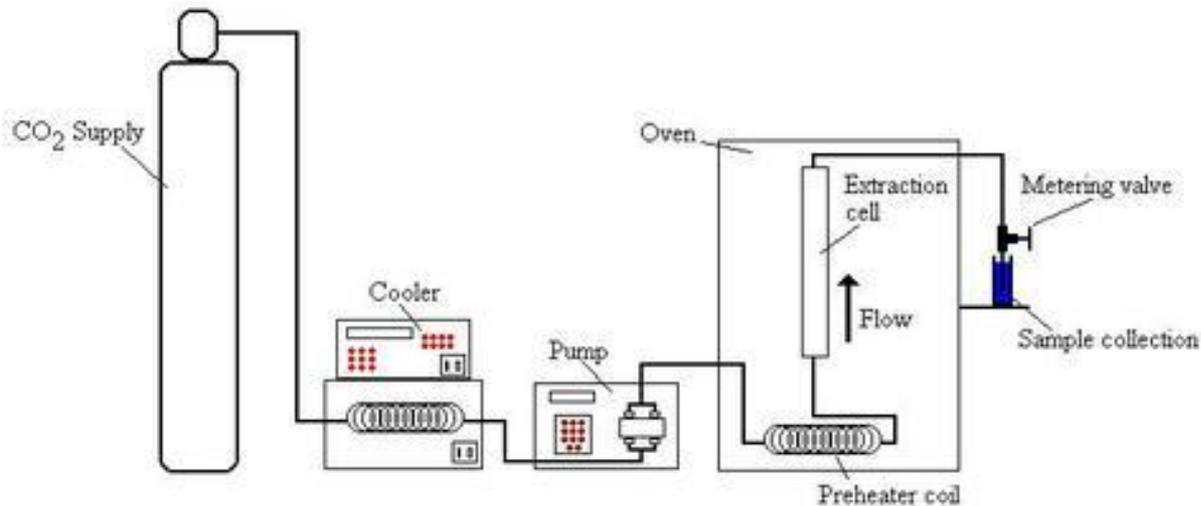


Table 1. Main characteristics, advantages and disadvantages of novel and conventional extraction technologies [3,5].

Characteristic	Novel Extraction Technology				Conventional Methods	
	Ultrasound-Assisted	Microwave-Assisted	Supercritical Fluids	Accelerated by Solvents	Mechanical Agitation	Soxhlet
Driving force	Acoustic cavitation	Microwave power	Pressure in conjunction with supercritical fluid	Heat in conjunction with the solvent under pressure	Solvent contact	Heat
Extraction time	10–60 min	3–30 min	10–60 min	10–20 min	Several hours	6–24 h
Sample size	1–30 g	1–10 g	1–5 g	1–30 g	1–30 g	1–30 g
Solvent amount	50–200 mL	10–40 mL	30–60 mL	15–60 mL	Large volume	150–500 mL
Power Amount	Moderate	High	Moderate	Moderate	High	High
Advantage	Easy to handle, safe (atmospheric pressure and ambient temperature), moderate use of solvent, reproducible	Fast, easy to handle, moderate use of solvent	Fast, safe, no filtering required, high selectivity	Fast, safe, no filtering required	Not use o sophisticated equipment	Not use of sophisticated equipment
Disadvantages	Required filtration step, possible degradation of compounds at high frequencies	Risk of explosion (solvent must absorb microwave power), expensive, required filtration step	Many parameters to optimize	Possible degradation of thermo-labiles compounds	Risk of spills and exposure to organic vapors, degradation of thermos-labiles compounds, required filtration step	Exposure risk to organic vapors, degradation of thermos-labiles compounds

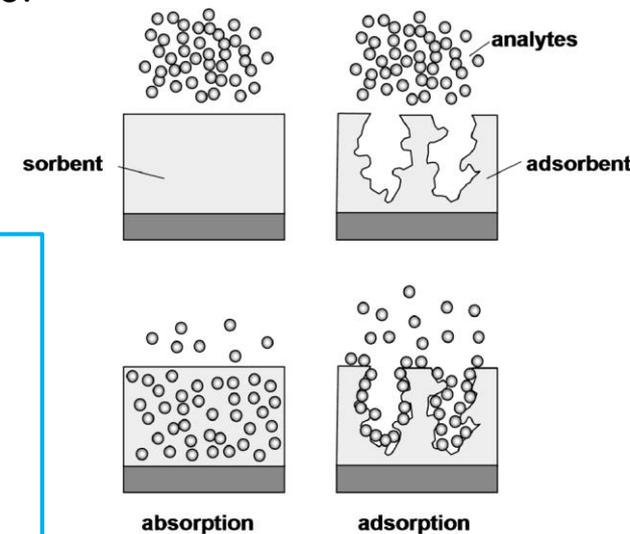
Estrazione su supporto solido di analiti da campione liquido

❖ Estrazioni per intrappolamento su solido (ad)sorbente

- Molte preparazioni del campione si basano sull'intrappolamento degli analiti di interesse su un **apposito materiale** (adsorbente o assorbente);
- Dopo l'intrappolamento gli analiti vengono **eluiti** o utilizzando un solvente o un innalzamento di temperatura (desorbimento termico) per essere analizzati;
- Per **eluizione** si intende il far fluire un liquido o un gas attraverso un solido adsorbente al fine di spostare gli analiti dalla fase stazionaria su cui sono stati precedentemente adsorbiti;
- I materiali **adsorbenti**, come silice ed allumina, sono materiali **porosi** con una estesa superficie interna;
- I materiali **assorbenti** sono materiali polimerici con la **consistenza di una gomma o di un liquido** e si comportano come solventi organici;

- La differenza tra i due materiali sta nel meccanismo di intrappolamento:

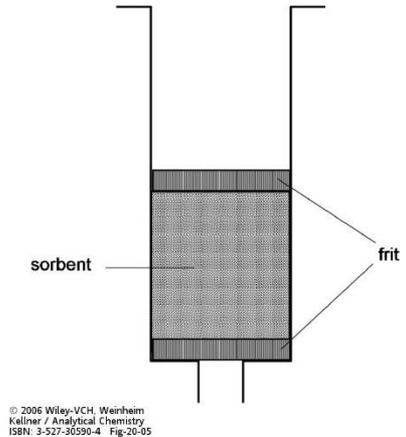
- nei **materiali adsorbenti** la ritenzione è basata sull'adsorbimento sulla superficie;
- nei **materiali assorbenti** il meccanismo principale è la **dissoluzione**;



© 2006 Wiley-VCH, Weinheim
Kellner / Analytical Chemistry
ISBN: 3-527-30590-4 Fig.20-04

❖ Solid Phase Extraction (SPE)

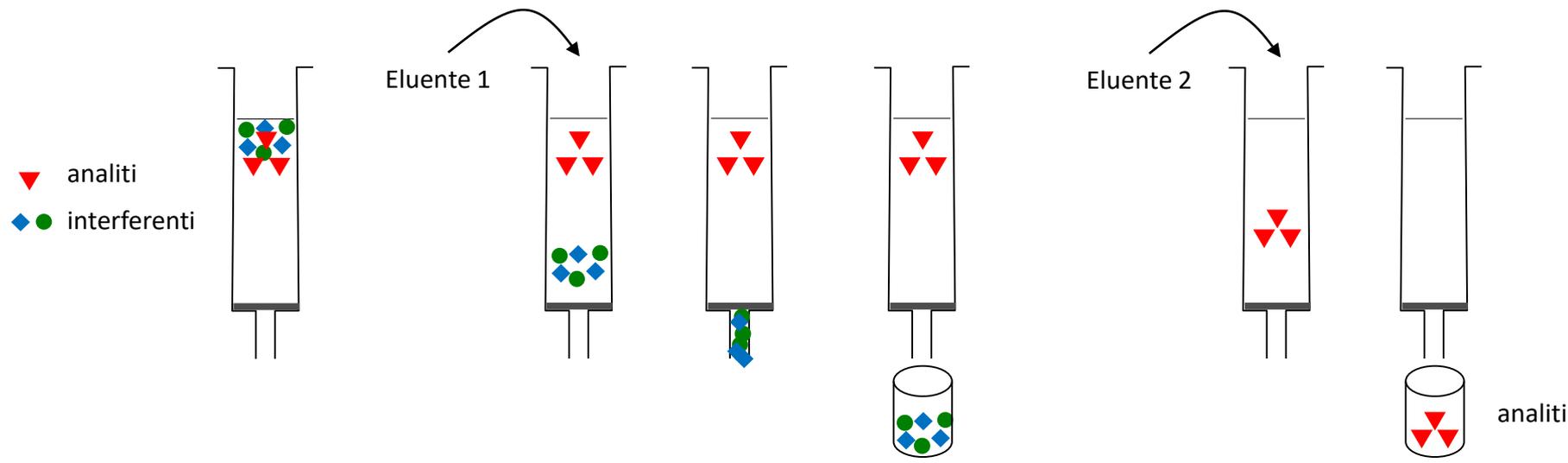
- Questo tipo di estrazione può essere usata sia per campioni liquidi che gassosi;
- E' spesso utilizzata anche per la fase di **purificazione (*clean-up*)** e **concentrazione di estratti** ottenuti con altre tecniche di preparazione del campione;
- La fase solida è di solito impaccata in una piccola cartuccia o colonna e delimitato da uno o due *frit* (cioè un "filtro poroso" di materiale vetroso);
- Vengono utilizzate fasi stazionarie simili a quelle per la cromatografia liquida;
- L'estrazione viene effettuata forzando il campione liquido o gassoso attraverso la fase stazionaria, utilizzando la pressione, il vuoto o la diffusione;
- Gli analiti si ripartiscono tra la fase stazionaria e la fase mobile in maniera simile ai meccanismi della cromatografia liquida: legami idrogeno, interazioni dipolo-dipolo, forze di dispersione idrofobica, interazioni elettrostatiche (ioniche);
- L'SPE può essere effettuata in tre modalità:
 - **Normal Phase** : la matrice adsorbente è polare (es. silica o allumina);
 - **Reverse Phase** : la matrice assorbente è non-polare;
 - **Ionic Exchange** : la matrice assorbente è formata da polimeri ionici legati ad una matrice solida.
- Sono ampiamente utilizzate anche fasi solide con caratteristiche miste



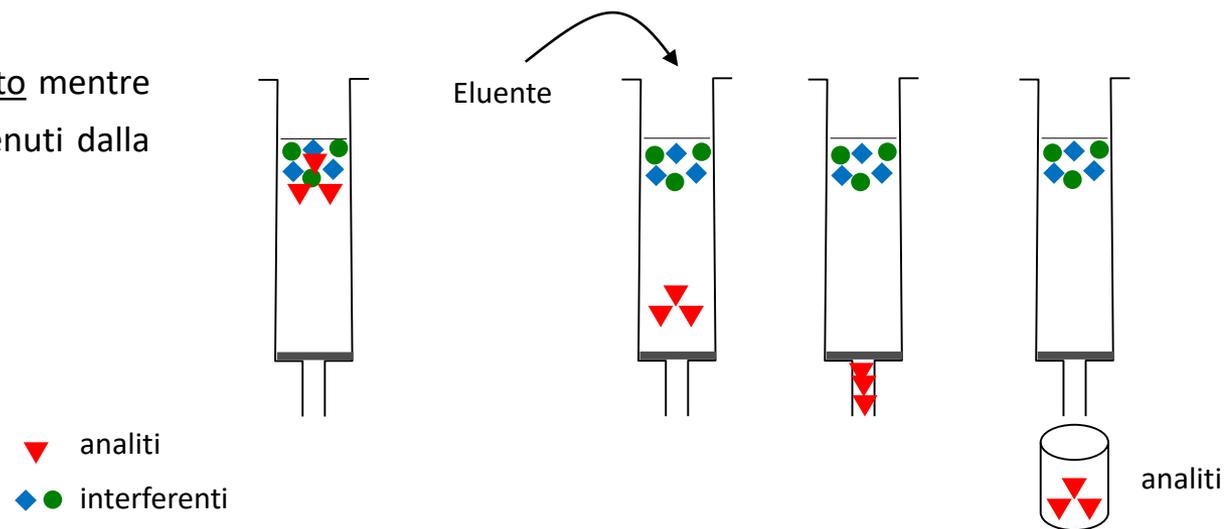
Approfondimento: <https://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4600/4538.pdf> segue →

➤ **Ci sono due metodi per separare gli interferenti della matrice dagli analiti:**

A) Gli analiti vengono trattenuti dalla fase stazionaria mentre gli interferenti vengono eluiti. Poi gli analiti vengono separatamente eluiti dalla fase stazionaria con altro solvente:



B) Gli analiti vengono eluiti subito mentre gli interferenti vengono trattenuti dalla fase stazionaria.

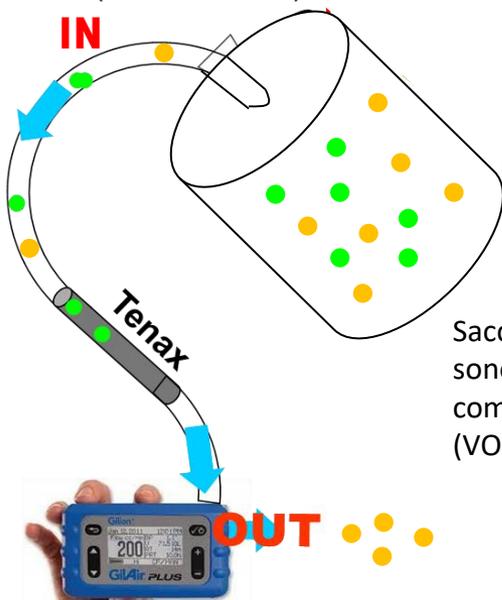


segue →

➤ **SPE di campioni gassosi:**

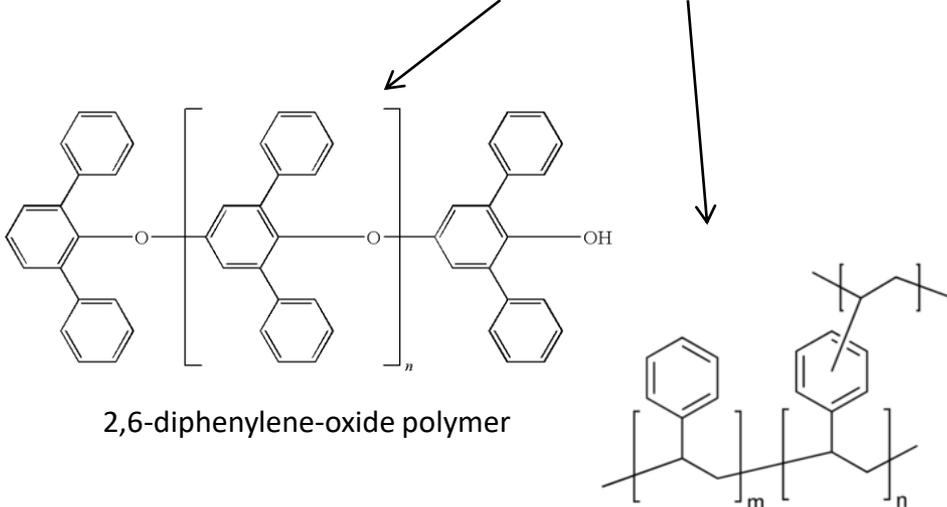
- Tipicamente l'adsorbente è impaccato in un tubo (di vetro o di acciaio) attraverso cui il campione gassoso viene fatto passare, di solito con l'ausilio di una pompa;
- Gli analiti vengono intrappolati mentre gli interferenti non vengono trattiene;
- In genere gli analiti vengono desorbiti per via termica;
- I materiali adsorbenti possono essere carboni attivi o adsorbenti polimerici come Tenax e Chromosorb 102

Esempio:



Sacca di Nalophan in cui sono stati campionati dei composti organici volatili (VOC)

Pompa aspirante portatile



2,6-diphenylene-oxide polymer

polimero poli aromatico prodotto di co-polimerizzazione di due diversi monomeri aromatici (styrene/divinylbenzene)

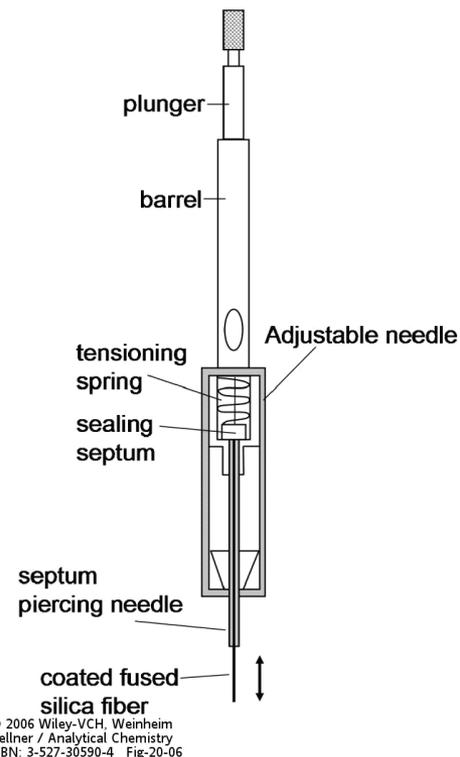
Approfondimento: https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Supelco/General_Information/t402025.pdf

❖ Solid Phase Micro-Extraction (SPME)

- Questa tecnica prevede di esporre una fibra di silice fusa ricoperta (*coating*) di un polimero al campione;
- E' una tecnica di assorbimento;
- Tipicamente la fibra è alloggiata su un dispositivo simile ad una siringa per facilitarne l'utilizzo sia manuale che su autocampionatore;
- Gli analiti si ripartiscono tra il campione e la fase stazionaria fino a raggiungimento dell'equilibrio, poi la fibra viene rimossa e, in genere, gli analiti vengono desorbiti dalla fase stazionaria tramite desorbimento termico, per effettuare l'analisi;
- Essendo una tecnica all'equilibrio, gli analiti non vengono estratti quantitativamente dal campione, quindi, pur essendo possibile effettuare analisi quantitativa è necessario valutare la sensibilità del metodo rispetto allo specifico bionomio analiti/matrice che si vuole analizzare;
- SPME può essere utilizzata sia su campioni gassosi che liquidi (in questo caso viene immersa nel liquido);
- SPME è una tecnica **solvent-free** che serve sia a separare gli analiti dalla matrice che a pre-concentrarli prima dell'analisi.

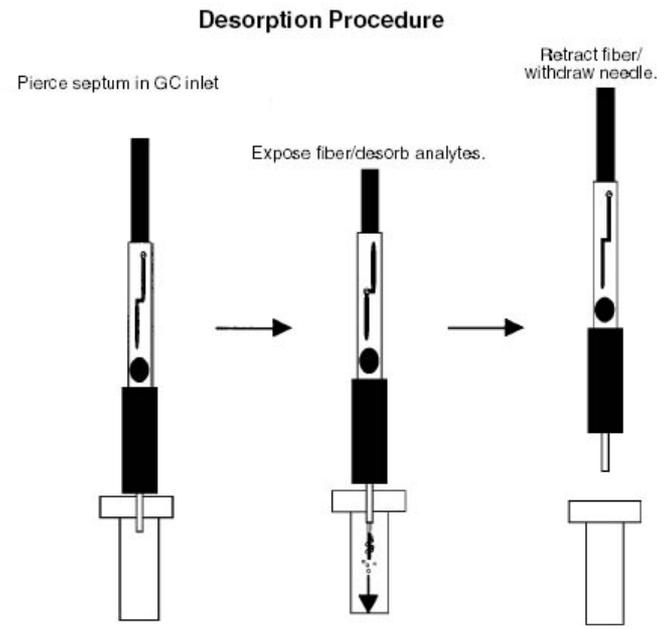
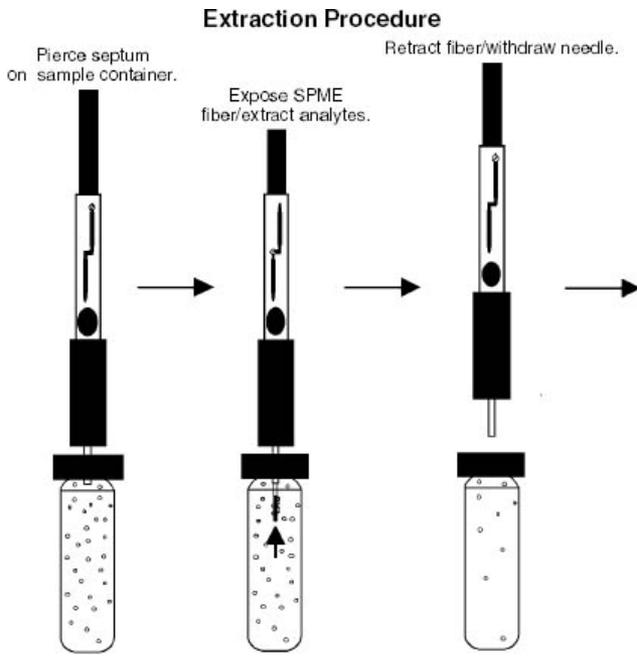
<https://uwaterloo.ca/pawliszyn-group/research/spme>

<https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/analytical/selecting-spme-fibers.html>

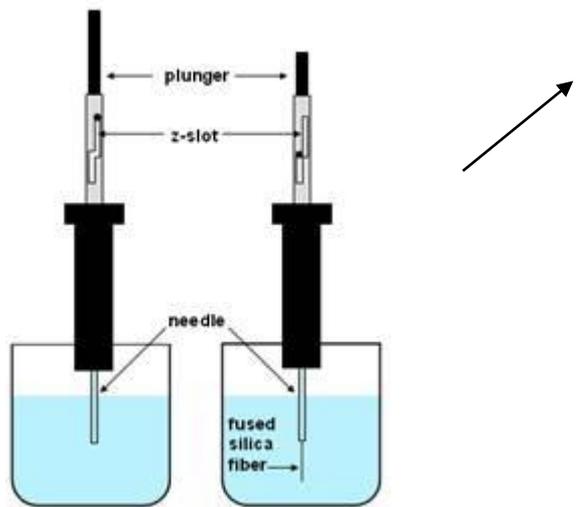


segue →

A) Estrazione in spazio di testa:



B) Estrazione per immersione:



segue →

Raggiungere l'equilibrio

L'estrazione è considerata completa quando raggiunge l'equilibrio e le condizioni possono essere descritte dalla seguente equazione in cui :

$$n = \frac{K_{fs} V_f C_0 V_s}{K_{fs} V_f + V_s}$$

n =massa dell'analita assorbito sul rivestimento

C_0 =concentrazione iniziale dell'analita

K_{fs} = coefficiente di partizione per l'analita tra il rivestimento e la matrice del campione

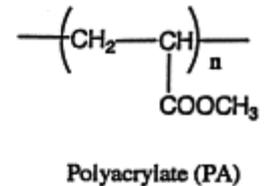
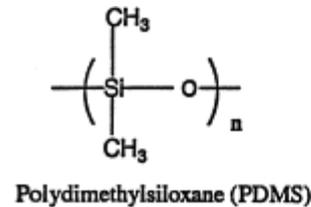
V_f = volume del rivestimento

V_s = volume del campione

- Questa equazione mostra la relazione tra la concentrazione dell'analita nel campione e il quantitativo estratto dalla fibra rivestita.
- Se il quantitativo di analita estratto sulla fibra è una porzione insignificante di quello presente nel campione (in pratica se $V_s \gg V_f$), questa equazione si semplifica a $n = K_{fs} V_f C_0$, in cui il quantitativo di analita estratto è indipendente dal volume di campione.
- Ciò significa che:
 - Non c'è bisogno di raccogliere un quantitativo definito di campione prima dell'analisi. La fibra può essere esposta alla matrice che si deve analizzare e
 - Il quantitativo di analita estratto corrisponderà direttamente alla sua concentrazione nella matrice.
- Ciò consente di evitare gli errori associati alla perdita di analita per decomposizione o per assorbimento sulle pareti del contenitore di campionamento.

➤ **Esempi di materiali polimerici per *coating* di fibre SPME**

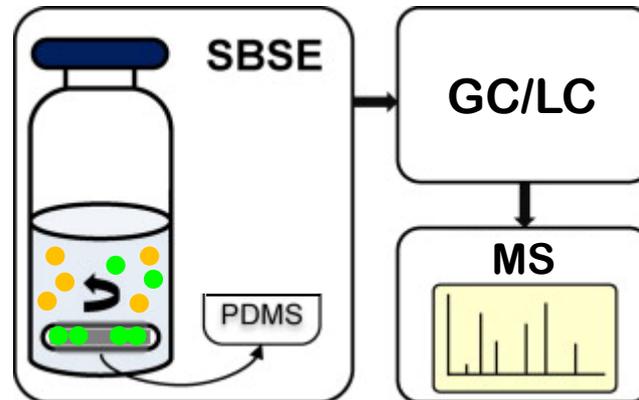
Polymer Coating and Thickness (microns)	Abbreviation	Recommended Applications and Molecular Weight (MW) Ranges
Polydimethylsiloxane, 100	PDMS	volatiles (MW 80–300)
Polyacrylate, 85	PA	polar semivolatiles (MW 80–300)
Carboxen-polydimethylsiloxane, 85	CAR-PDMS	gases and low molecular weight compounds (MW 30–225)
Carbowax-divinylbenzene, 70	CW-DVB	alcohols and polar compounds (MW 40–275)
Polydimethylsiloxane-divinylbenzene, 65	PDMS-DVB	volatiles, amines, and nitroaromatic compounds (MW 50–300)



Anche:
DVB/CAR/PDMS

❖ Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)

- E' una tecnica di assorbimento;
- E' un agitatore magnetico incapsulato in un rivestimento di vetro che a sua volta è ricoperto con uno spesso strato (circa 1 mm) di polimero assorbente, di solito polidimetilsilossano (PDMS);
- La SBSE viene immersa nel campione liquido (di solito acquoso) e assorbe gli analiti;
- Gli analiti vengono poi rimossi dalla SBSE o termicamente (per effettuare analisi in GC) o tramite estrazione con solvente (per effettuare analisi in LC);
- Questa tecnica consente un arricchimento circa 500 volte superiore del polimero rispetto a SPME, aumentando la sensibilità della successiva analisi.



Esempio di strategia di selezione per la preparazione del campione (solido o liquido)

