

Università degli Studi di Milano-Bicocca



PROGETTO LAUREE SCIENTIFICHE Area CHIMICA

Obiettivo del Progetto Lauree Scientifiche – Chimica è quello di promuovere l'orientamento degli studenti delle scuole superiori verso i Corsi di laurea della Classe 21 – Chimica, avviando un'attività coordinata a livello nazionale di sperimentazione didattica, di formazione degli insegnanti e di promozione generale.

In questa dispensa sono riportate le tracce delle esperienze svolte dagli studenti provenienti da diverse scuole superiori di Milano e Provincia nel corso di alcuni pomeriggi passati nei laboratori chimici della Bicocca nel mese di febbraio del 2007.

Le esperienze qui riportate sono state selezionate dai docenti universitari insieme agli insegnanti delle scuole superiori con l'obiettivo di proporre agli studenti attività che li avvicinassero agli aspetti sperimentali delle scienze chimiche.

L'auspicio è che il materiale qui raccolto possa offrire spunti per approfondimenti da riprendere nel corso dell'attività curricolare svolta nelle classi.

Il docente responsabile del Progetto Lauree Scientifiche – Area Chimica

Prof. Ugo Cosentino

Indice

1. METODI CHIMICI PER IL RILEVAMENTO DELLE IMPRONTE DIGITALI
2. IL METODO DEL LUMINOL PER LA RILEVAZIONE DI TRACCE EMATICHE
3. LA CHIMICA E I COLORI
 - 3.1 **Analisi spettroscopica di coloranti**
 - 3.2 **Separazione di miscele di coloranti**
 - 3.3 **Approfondimento dei metodi di analisi spettroscopica**
 - 3.3.1 *Approfondimento dei metodi di analisi spettroscopica*
 - 3.3.2 *Assorbimento ed emissione di una radiazione elettromagnetica*
 - 3.3.3 *Assorbimento di una radiazione nella regione del visibile*
 - 3.3.4 *La legge di Lambert-Beer*
4. LEGGE DI CONSERVAZIONE DELLA MASSA:
LA SINTESI DELLO IODURO DI ZINCO, ZnI_2
5. LE REAZIONI OSCILLANTI
6. SEPARAZIONE PER CRISTALLIZZAZIONE DI ACIDO BENZOICO
7. ESPERIENZE DI LABORATORIO AVANZATE
 - 7.1 **Riduzione del benzofenone**
 - 7.2 **Determinazione della caffeina nella coca-cola mediante HPLC**
 - 7.3 **Analisi quantitativa di idrocarburi mediante GC-TCD**

1. METODI CHIMICI PER IL RILEVAMENTO DELLE IMPRONTE DIGITALI

Toccando con le punte delle dita una superficie, il sudore secreto dalle ghiandole lascia una traccia che può essere rilevata utilizzando diversi composti chimici in grado di reagire selettivamente con i principali costituenti del sudore (parte acquosa 98%, lipidica e proteica 1%, inorganica 1%) rendendo visibile l'immagine "latente" delle impronte digitali.

L'uso di un determinato reattivo dipende dalla "storia" vissuta dall'oggetto che si vuole analizzare per la ricerca di impronte. Ad esempio, è del tutto inutile utilizzare il metodo che utilizza la ninidrina (vedi dopo) se l'oggetto da analizzare è venuto a contatto con acqua (o comunque inumidito) dato che le componenti del sudore evidenziate dalla ninidrina (parte proteica) sono solubili in acqua e quindi non più fissate sull'oggetto.

Per essere visibile, un'impronta digitale deve essere differenziata dalla superficie su cui è stata impressa. Nella maggior parte dei casi, tale scopo è raggiunto per mezzo di materiali colorati attraverso processi di tipo fisico o chimico.

In generale, la procedura migliore per l'analisi delle impronte è di solito l'uso combinato di metodi ottici (diffusione della luce, luminescenza, assorbimento UV), fisici (uso di polveri) e chimici (ninidrina e suoi analoghi, formazione di complessi con metalli dopo il trattamento con ninidrina, DFO, argento nitrato, ecc.).

In questa esperienza si utilizzeranno due diversi metodi per rilevare impronte su superfici di carta: polveri e ninidrina.

POLVERI

È uno dei metodi più tradizionali, più utilizzati e facilmente disponibili per il rilevamento di impronte, basato sull'uso di una polvere fine colorata che aumenta il contrasto tra l'impronta e la superficie. La polvere aderisce "meccanicamente" alle tracce di sudore dell'impronta digitale, in particolare, alla miscela di umidità e componenti oleosi del sudore. Questo metodo non può quindi essere utilizzato su impronte vecchie di più di due o tre giorni perché le componenti oleose e l'umidità evaporano facilmente.

La polvere è di solito costituita da un sale inorganico (in questa esperienza carbonato di bario, BaCO_3), che è adsorbito dalla miscela di umidità e componenti oleosi del sudore, e da un composto colorante (in questa esperienza ossido di ferro, Fe_2O_3) adsorbito sul sale inorganico che mette in evidenza le linee dell'impronta digitale.

NINIDRINA

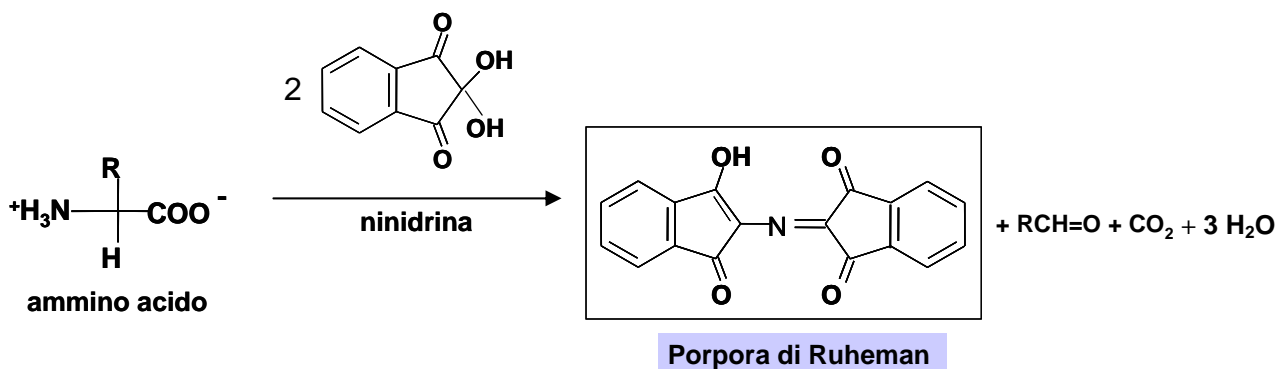
La ninidrina reagisce con ammine, aminoacidi, peptidi e composti simili formando un prodotto colorato che prende il nome di porpora di Ruhemann (Siegfried Ruhemann, 1910).

L'utilizzo della ninidrina per lo sviluppo delle impronte risale al 1954 ed è attualmente il metodo più utilizzato per rilevare impronte su carta, anche se certe superfici (ad esempio alcune banconote) reagiscono fortemente con il reattivo.

Particolarmente importante è il fatto che questo metodo può essere utilizzato anche su impronte "vecchie"; infatti, la ninidrina reagisce con i derivati a base di aminoacidi del sudore. Gli aminoacidi sono composti stabili che, a causa della loro elevata affinità con la cellulosa, tendono a rimanere immobilizzati sulla superficie cartacea anche con il passare del tempo. Se i campioni cartacei sono conservati in modo opportuno, si possono rilevare impronte vecchie anche di 30 anni.

Le reazioni chimiche coinvolte nell'uso della ninidrina sono piuttosto complicate; di conseguenza, le condizioni "sperimentali" devono essere controllate per ottenere risultati ottimali.

Di seguito è riportato lo schema della reazione.



Operazioni sperimentali

Soluzioni/composti da utilizzare

Mescolare in un mortaio 1 parte in peso di ossido di ferro (Fe_2O_3) con 3 parti di una miscela carbonato di bario (BaCO_3) e talco, fino ad ottenere una miscela omogenea.

Pesare 0.5g di ninidrina e trasferirli in 30mL di etanolo (alcol etilico)

Operazioni sperimentali

- Premere la punta di un dito su un foglio di carta (privo di impronte) in modo da raccogliere un certo numero di impronte digitali che verranno evidenziate con i due metodi.

Metodo della polvere

- Versare la polvere, preparata precedentemente, sull'impronta e spargerla delicatamente con un pennello.
- Rimuovere l'eccesso di polvere dall'impronta.
- Per proteggere l'immagine dell'impronta, coprirla con del nastro adesivo trasparente.

Metodo della ninidrina

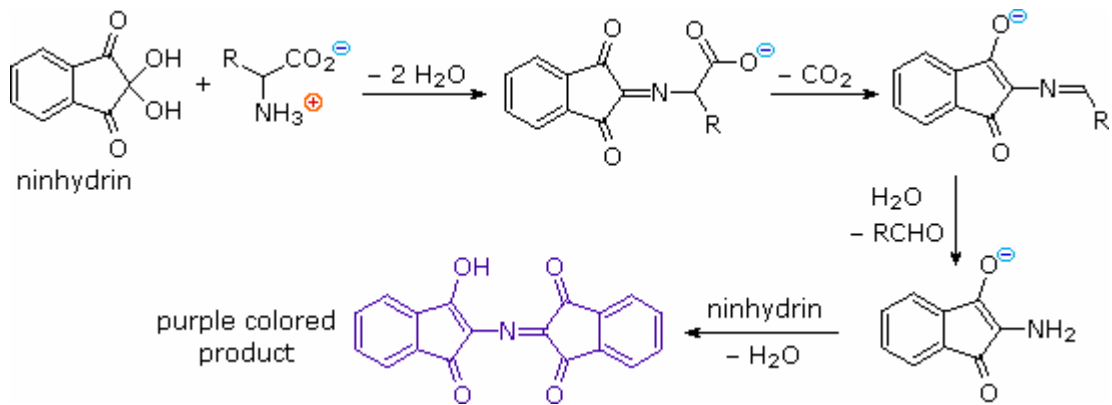
- Trasferire la soluzione di ninidrina, preparata precedentemente, in uno spruzzatore.
- Spruzzare la soluzione sull'impronta da una distanza di circa 20 cm.
- Attendere fino a quando il solvente è completamente evaporato e, quindi, spruzzare una seconda volta.
- Attendere fino a quando il campione è completamente asciutto (circa 1 ora). L'immagine dell'impronta, infatti, compare solo quando la superficie è secca. Per velocizzare l'operazione di essiccamento è possibile utilizzare una stufa a 50-70 °C.

Identificazione

- Applicare uno dei due metodi per evidenziare un'impronta incognita (ad esempio di un indice destro) su un pezzo di carta.
- Confrontare l'impronta ottenuta con un certo numero di impronte di indici destri appartenenti a persone diverse.
- Tentare di identificare chi ha lasciato l'impronta incognita confrontando le caratteristiche salienti delle impronte.

La natura del fenomeno

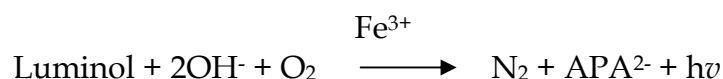
Un meccanismo semplificato della reazione della ninidrina con un aminoacido è il seguente:



2. IL METODO DEL LUMINOL PER LA RILEVAZIONE DI TRACCE EMATICHE

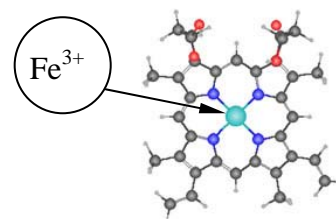
Il luminol è una sostanza in grado di ossidarsi in ambiente basico reagendo con l'ossigeno (ad esempio quello che si produce con H_2O_2) in presenza di un metallo come catalizzatore, ad esempio il Fe^{3+} .

Come conseguenza della reazione si ha emissione di energia sotto forma di luce azzurra, $h\nu$ (chemiluminescenza).



Il catalizzatore non forma direttamente un composto con il luminol ma riveste un ruolo fondamentale perché è in grado di promuovere la reazione rendendola più rapida.

Poiché uno dei costituenti del sangue è l'emoglobina, che contiene Fe^{3+} , la reazione del luminol è in grado di evidenziare anche minime tracce ematiche non visibili a occhio nudo.



emoglobina

Per effettuare questa prova, bisogna spargere il luminol sulla superficie interessata e, in assenza di luce, sarà possibile evidenziare la tipica luce azzurra dovuta alla reazione:

L'emissione della luce azzurra, tuttavia, non è una prova certa della presenza di sangue perché il Fe^{3+} può essere presente anche in altre sostanze e perché altri metalli (ad esempio Cu^{2+} e Co^{2+}) possono fungere da catalizzatori della reazione.

In caso di reazione negativa, quindi, sicuramente non è presente sangue; in caso di reazione positiva, invece, sono necessarie altre analisi per confermare che le tracce individuate siano dovute effettivamente a sangue.

Lo scopo dell'esperienza è quello di mostrare la reazione del luminol dovuta a tracce ematiche e a soluzioni di metalli.

Operazioni sperimentali

Soluzioni da utilizzare

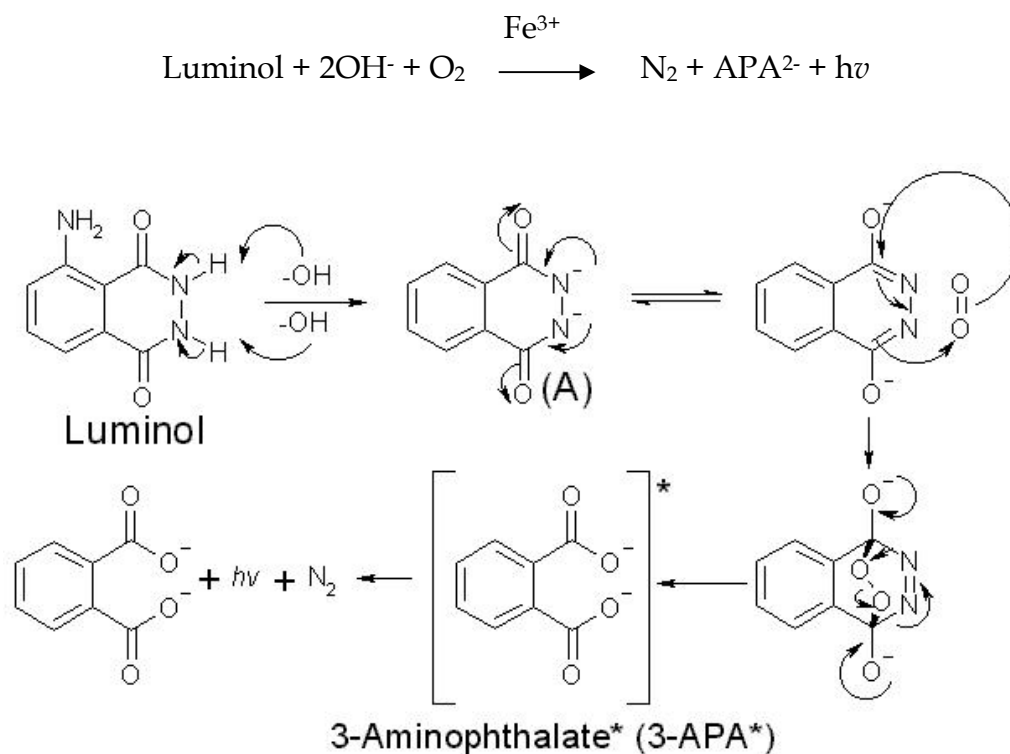
- Soluzione di luminol:
0.4g di Na_2CO_3 ; 0.02g di Luminol; 2.4g di NaHCO_3 ; 0.05g di $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ in 100mL di acqua (La soluzione è un tampone a pH ~10.5)
- Soluzione 0.1M di Fe^{3+}
- Soluzione di acqua ossigenata, H_2O_2 (5mL al 3% diluiti a 100 mL)

Operazioni sperimentali

- La soluzione basica di luminol e la soluzione di H_2O_2 , precedentemente preparate dall'esercitatore, sono poste in due spruzzatori.
- Spruzzare la soluzione di luminol sul campione avendo cura di impregnare tutta l'area interessata. Al buio spruzzare la soluzione di acqua ossigenata.
- In corrispondenza delle macchie o delle tracce di sangue, sarà visibile un'emissione di luce azzurra.
- Ripetere l'operazione su campioni impregnati con soluzioni contenenti metalli in grado di reagire con il luminol.
- Verificare che l'emissione di luce non avviene ripetendo la prova su una macchia non contenente tracce ematiche o metalli.

La natura del fenomeno

Un possibile meccanismo della reazione è il seguente:



la base rimuove i protoni legati agli atomi di azoto “liberando” cariche negative; la molecola si modifica formando un enolato (è la versione con cariche del tautomerismo cheto-enolico). A questo punto si ha la reazione con l’ossigeno molecolare con formazione di un perossido a struttura ciclica (intermedio di reazione) che porta alla formazione dell’anione carbossilato, 3-APA* e azoto gassoso. Il composto 3-APA* è una forma instabile del prodotto finale della reazione (chimicamente è lo stesso composto ma la molecola si trova in uno “stato eccitato”, in cui gli elettroni sono disposti in maniera differente intorno ai nuclei). È questa forma instabile che emette energia sotto forma di luce con formazione del prodotto stabile.

Da notare che, spesso, le reazioni che danno chemiluminescenza comportano la formazione di un perossido organico caratterizzato da un legame debole tra due atomi di ossigeno che può facilmente evolvere verso altre molecole. In questo caso la presenza del perossido si accoppia con la presenza di un buon gruppo uscente (N-N) rendendo la reazione particolarmente efficiente.

Il meccanismo di reazione proposto è stato confermato sperimentalmente utilizzando l’isotopo ^{18}O nella sorgente di ossigeno molecolare (H_2O_2); l’ossigeno marcato è stato ritrovato nel prodotto di reazione come previsto.

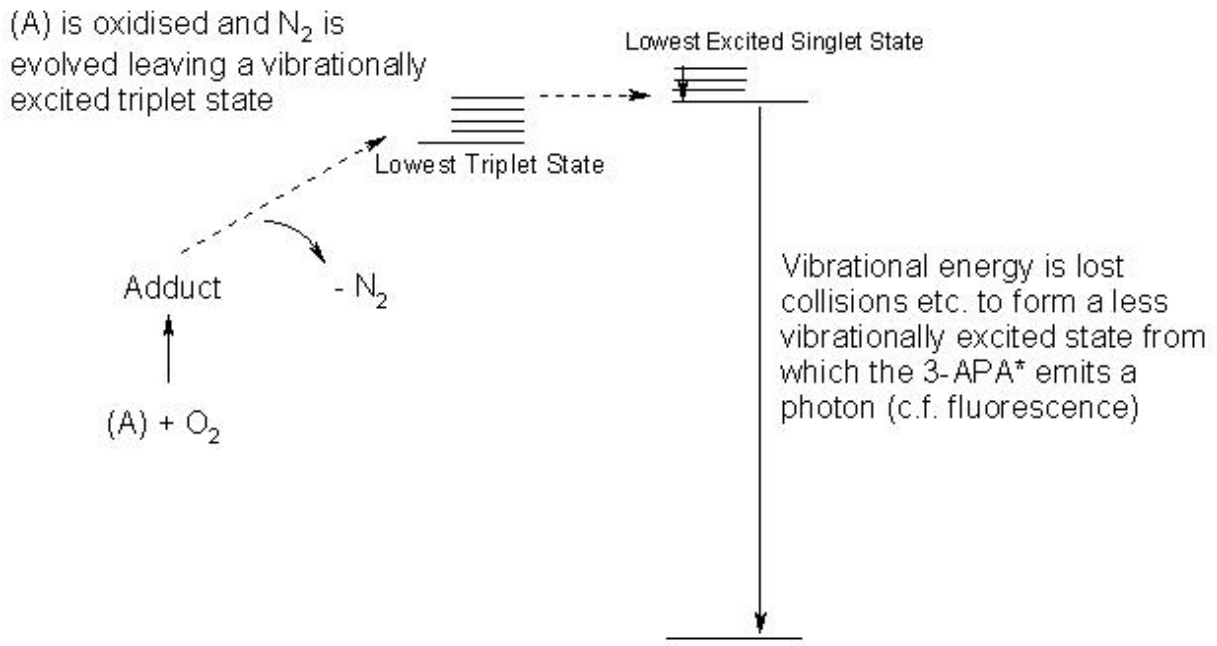
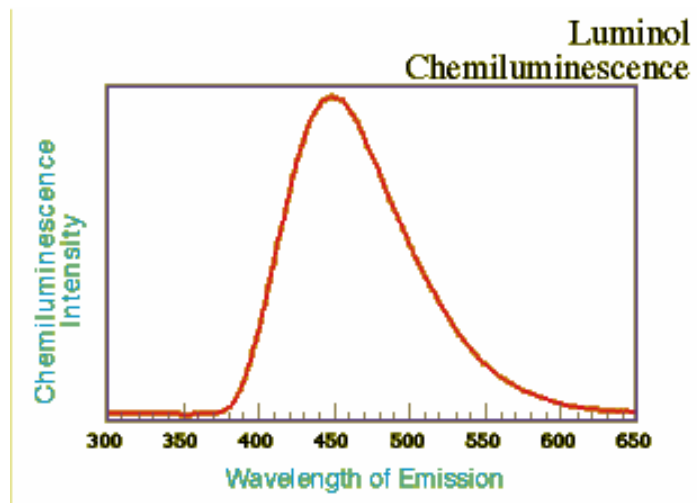


Diagramma energetico qualitativo della reazione in esame

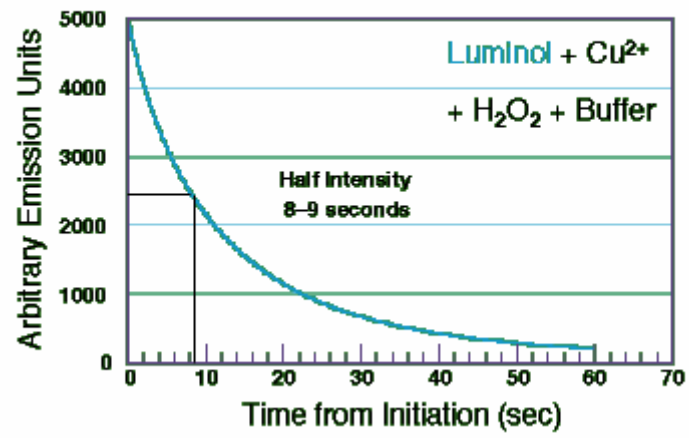
La chemiluminescenza del luminol presenta uno spettro di emissione con un picco a 450 nm.



La luminescenza decade nel tempo abbastanza rapidamente: in circa 8 secondi. si ha un decadimento del 50% dell'intensità di luce prodotta.

Sia l'intensità iniziale che la velocità di decadimento dipendono dalla concentrazione dell'acqua ossigenata e del metallo che catalizza la reazione.

Luminal Emission Time Profile



3. LA CHIMICA E I COLORI

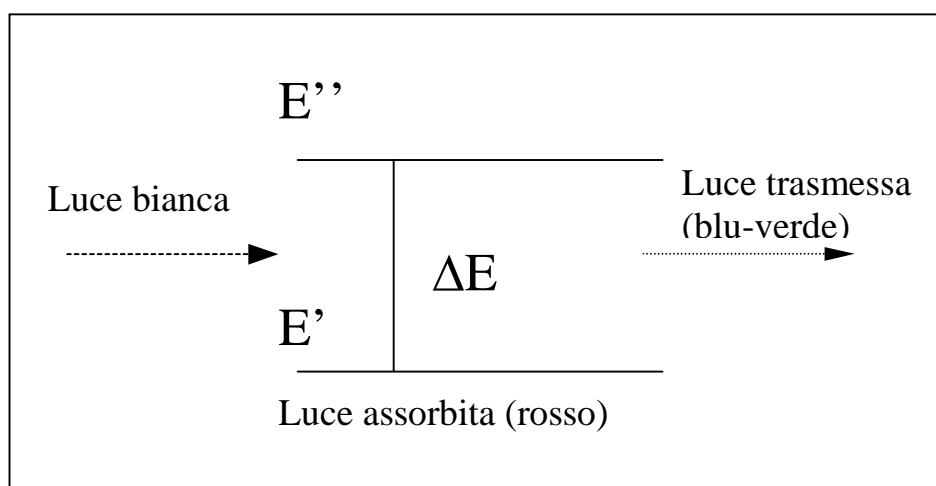
La luce bianca visibile è composta da tutte le radiazioni luminose dei diversi colori che compongono la scala cromatica visibile. Una dimostrazione di questo si può ricavare dalla scomposizione di un fascio luminoso passante attraverso un prisma nelle sue diverse componenti o nella scomposizione della luce solare dovuta alle gocce d'acqua, che forma l'arcobaleno nel cielo.

Poichè una radiazione luminosa ha le proprietà di un'onda, ogni colore ha una propria lunghezza d'onda (indicata con la lettera greca lambda, λ) che lo caratterizza e la luce bianca è l'insieme di tutte queste radiazioni aventi lunghezza d'onda diversa.

Il colore, caratteristico di alcune sostanze/molecole, è dovuto alla capacità delle stesse di assorbire solo alcune di queste componenti "colorate" della luce. Irraggiando un campione con una luce bianca, infatti, la radiazione non assorbita passa attraverso il campione e può essere misurata da un rivelatore. Il colore del campione, quindi, è dovuto alle componenti colorate della luce non assorbite. Se, ad esempio, un campione viene irraggiato con luce bianca ed assorbe la radiazione rossa, la radiazione luminosa non assorbita trasmessa appare di colore blu-verde.

Maggiore è la concentrazione della sostanza che assorbe nel rosso, più intenso è il colore blu-verde emesso.

Quando si parla di assorbimento di una radiazione luminosa si intende che il composto colorato è in grado di assorbire una certa quantità di energia dalla luce e di aumentare la sua energia (la molecola passa da uno stato ad energia inferiore, E' , ad uno di energia superiore, E''). L'energia assorbita $\Delta E = E'' - E'$ è tipica della radiazione colorata assorbita (ad un'opportuna lunghezza d'onda, nell'esempio in figura luce rossa). L'eccesso di energia assorbito dalla molecola viene poi rilasciato con emissione di luce ad una lunghezza d'onda diversa (nell'esempio luce blu-verde).



La lunghezza d'onda della radiazione assorbita e la sua quantità può essere misurata da uno strumento detto *spettrofotometro* in grado di rivelare la lunghezza d'onda della luce assorbita.

Quando guardiamo un oggetto colorato, è il nostro occhio a funzionare da rivelatore della radiazione luminosa riflessa dall'oggetto che ha assorbito solo una parte della luce bianca.

Nella tabella di seguito sono riportate le lunghezze d'onda dei diversi colori (1 nm = 10⁻⁹ m) e i colori della radiazione trasmessa in seguito ad assorbimento di un colore.

TABELLA Lunghezze d'onda nella regione del visibile

Lunghezza d'onda [nm]	Colore	Colore della radiazione trasmessa
380 - 420	Violetto	Giallo - verde
410 - 440	Violetto - blu	Giallo
440 - 470	Blu	Arancione
470 - 500	Blu - Verde	Rosso
500 - 520	Verde	Porpora
520 - 550	Giallo - verde	Violetto
550 - 580	Giallo	Violetto - blu
580 - 620	Arancione	Blu
620 - 680	Rosso	Blu - Verde
680 - 780	Porpora	Verde

Quando una radiazione elettromagnetica viene assorbita da un campione, l'intensità del raggio dopo il passaggio attraverso il campione, I_t , risulta inferiore a quella del raggio incidente, I_o . Viene definita una grandezza che indica la quantità di radiazione assorbita; tale grandezza è l' *assorbanza* (A):

$$A = \log (I_o/I_t)$$

Quando non vi è assorbimento di luce $I_t = I_o$ e, di conseguenza, $A = 0$. Se il 90% della radiazione viene assorbito ed il 10% trasmesso, $I_t = 0.10 I_o$ e $A=1$.

L'assorbanza è direttamente proporzionale alla concentrazione della specie, C, che assorbe la radiazione nel campione:

$$A \propto C$$

Questa relazione viene utilizzata nell'analisi quantitativa perchè misurando l'assorbanza di un campione è possibile ricavare la quantità del campione che ha dato l'assorbimento.

3.1 Analisi spettroscopica di coloranti

Scopo dell'esperienza è quello di verificare l'assorbimento di radiazione luminosa da parte di coloranti alimentari, sia nel caso di coloranti puri che di miscele degli stessi.

Verrà analizzata la composizione incognita di un colorante di una caramella per confronto con l'assorbimento dovuto alle miscele di coloranti preparate precedentemente. Si verificherà anche la proporzionalità tra l'intensità della radiazione luminosa assorbita e la quantità di colorante.

Operazioni sperimentali

Soluzioni

- Soluzioni di coloranti puri (*blu, rosso e giallo*) in acqua in rapporto 1:50.
- Prelevare il volume opportuno di soluzioni di coloranti e preparare miscele secondo la composizione riportata in tabella:

Soluzione	giallo / ml	rosso / ml	blu / ml
1	3.0	-	-
2	-	3.0	-
3	-	-	3.0
4	-	1.5	1.5
5	-	2.0	1.0
6	-	2.7	0.3
7	1.0	2.0	1.0

- Registrare lo spettro dei campioni dei coloranti puri 1, 2, 3 e delle miscele di coloranti 4 e 7 utilizzando uno spettrofotometro UV-Vis. Per effettuare la misura porre alcuni ml di soluzione da analizzare nelle cuvette porta-campioni.
- Verificare che i colori puri assorbono la luce a lunghezze d'onda diverse e che le miscele di coloranti che alla nostra vista "sembrano" un colore puro, assorbono la luce alle lunghezze d'onda dei colori puri che le compongono.

Analisi dei colori delle caramelle

- Prelevare una caramella e porla in 10 ml di acqua. Agitare per circa 20 secondi. L'acqua scioglie il colorante della caramella.
- Filtrare la soluzione torbida con un filtro per siringa direttamente nella cuvetta per la misura. Misurare l'assorbanza della soluzione.
- Confrontare lo spettro ottenuto con quello delle soluzioni preparate precedentemente. Identificare i coloranti puri che compongono il colore della caramella.

Intensità del colore e assorbanza

- Misurare l'assorbanza a 620 nm dei campioni 3, 4, 5, 6.
- Costruire un grafico dell'assorbanza dovuta al colorante blu in funzione della % del colorante nella miscela.

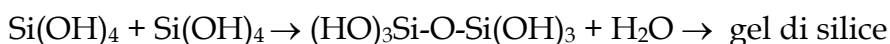
3.2 Separazione di miscele di coloranti

È possibile separare miscele di coloranti nelle loro componenti pure utilizzando dei metodi *cromatografici*. Il metodo che verrà utilizzato in questa esperienza è la cromatografia su strato sottile, detta TLC.

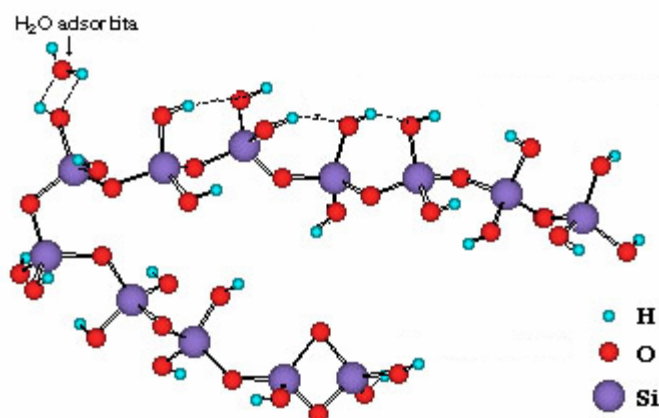
Il metodo TLC si basa sull'utilizzo di una materiale granulare omogeneo deposto come strato sottile su una superficie piana (*fase stazionaria*). Immergendo la base della lastrina cromatografica in un solvente opportuno (*fase mobile*), il solvente risale la fase stazionaria per capillarità. Ponendo una macchia di campione da separare alla base della lastrina, il solvente o *eluente* trascina con se il campione nel suo scorrimento all'interno della fase stazionaria. L'eluente e le varie componenti della miscela da separare interagiscono in modo diverso con la fase stazionaria. In genere l'eluente serve solo come fase di trasporto delle sostanze da separare; le differenti componenti, invece, si muovono lungo la fase stazionaria a differenti velocità in base alla forza dell'interazione con la fase stazionaria, consentendo, quindi, la loro separazione.

Scopo dell'esperienza è la separazione di miscele di coloranti nelle loro componenti pure mediante l'utilizzo di lastrine TLC a base di gel di silice depositato su allumina.

Il gel di silice è costituito da acido silicico H_4SiO_4 che condensa in grosse strutture formando catene Si-O-Si-O-Si con molti siti attivi Si-OH che sono in grado di interagire con i composti da separare. La reazione di condensazione si ripete coinvolgendo tutti i gruppi OH presenti:



Un esempio di struttura del gel di silice è la seguente:



Soluzioni da utilizzare

- Coloranti alimentari puri ed in miscela
E 104 - giallo di chinolina
E 122 - rosso azorubina
E 131 - blu patent V

Operazioni sperimentali

- Depositare una goccia per ognuno dei coloranti puri ed una goccia per ogni miscela di coloranti alla base di una lastrina cromatografica.
- Immergere la lastrina nell'eluente.
- Interrompere l'eluizione quando il solvente ha percorso quasi interamente la lastrina.
- Estrarre la lastrina e porla qualche minuto in stufa per farla essiccare.
- Confrontare la posizione delle macchie dovute ai coloranti puri con quelle dovute alle miscele di coloranti ed identificare la composizione di queste ultime.

3.3 Approfondimento dei metodi di analisi spettroscopica

I metodi di analisi spettroscopica si basano sull'interazione di una radiazione elettromagnetica con la materia. Ogni radiazione elettromagnetica è costituita da un campo magnetico ed un campo elettrico oscillanti perpendicolari fra loro e mostra sia le proprietà tipiche di un'onda che quelle di una particella discreta.

La lunghezza d'onda λ di una radiazione elettromagnetica è la distanza tra due massimi dell'oscillazione del campo elettrico e del campo magnetico; la frequenza ν è il numero di oscillazioni complete che l'onda compie nell'unità di tempo e si esprime in s^{-1} o hertz (Hz). Esiste una relazione tra λ e ν :

$$\lambda \nu = c \quad (1)$$

dove c è la velocità della luce ($2.99792458 \times 10^8 \text{ ms}^{-1}$ nel vuoto).

L'energia di un'onda elettromagnetica può essere trasferita alla materia solo in forma di unità discrete dette quanti o fotoni, ognuno dei quali ha un'energia E proporzionale alla frequenza secondo la relazione:

$$E = h\nu \quad (2)$$

dove h è la costante di Planck ($6.626176 \times 10^{-34} \text{ Js}$).

Combinando le due equazioni si ha:

$$E = hc/\lambda = h\nu \quad (3)$$

dove $\nu = 1/\lambda$ è detto numero d'onda. L'energia di una radiazione elettromagnetica è, quindi, direttamente proporzionale alla frequenza ed al numero d'onda ed inversamente proporzionale alla lunghezza d'onda. In Tabella 1 sono indicate le regioni dello spettro elettromagnetico ed i relativi valori di λ (espressa in m), ν (espressa in Hz) ed E (espressa in J/mol). Le regioni UV, visibile ed IR sono quelle più comunemente usate nell'analisi spettroscopica. Le radiazioni nel campo del visibile sono quelle percepite dall'occhio umano.

TABELLA 1 - Regioni dello spettro elettromagnetico

	λ [m]	ν [Hz]	E [J/mol]
Raggi Cosmici	$< 10^{-12}$	$> 3.00 \cdot 10^{20}$	$> 1.2 \cdot 10^{11}$
Raggi γ	$10^{-12} - 10^{-11}$	$3.00 \cdot 10^{20} - 3.00 \cdot 10^{19}$	$1.2 \cdot 10^{11} - 1.2 \cdot 10^{10}$
Raggi X	$10^{-11} - 10^{-8}$	$3.00 \times 10^{19} - 3.00$	$1.2 \cdot 10^{10} - 1.2 \cdot 10^7$
Ultravioletto	$10^{-8} - 3.80 \cdot 10^{-7}$	$3.00 \times 10^{16} - 7.89$	$1.2 \cdot 10^7 - 3.1 \cdot 10^5$
Visibile	$3.80 \cdot 10^{-7} - 7.80$	$7.89 \times 10^{14} - 3.84$	$3.1 \cdot 10^5 - 1.5 \cdot 10^5$
Infrarosso (IR)	$7.80 \cdot 10^{-7} - 10^{-3}$	$3.84 \times 10^{14} - 3.00$	$1.5 \cdot 10^5 - 120$
Microonde	$10^{-3} - 10^{-1}$	$3.00 \times 10^{11} - 3.00 \cdot 10^9$	$120 - 1.2$
Onde Radio	$> 10^{-1}$	$< 3.00 \times 10^9$	< 1.2

3.3.1 Assorbimento ed emissione di una radiazione elettromagnetica

Ogni specie chimica (atomo, molecola, ione) ha una serie caratteristica di livelli energetici (elettronici, vibrazionali, rotazionali). Generalmente ad una temperatura opportunamente bassa, caratteristica per ogni sistema, i livelli ad energia inferiore sono occupati mentre i livelli ad energia più elevata sono vuoti. Lo stato a minor contenuto energetico viene detto *stato fondamentale*, mentre gli altri vengono detti *stati eccitati*.

Se ΔE è la differenza di energia tra un livello occupato ad energia inferiore (E') ed un livello non occupato ad energia superiore (E''), è possibile indurre una transizione da E' a E'' irraggiando il sistema con una radiazione elettromagnetica di energia ΔE (Figura 1), cui corrisponde una frequenza ν :

$$\Delta E = h \nu \quad (4)$$

Quando un sistema assorbe un fotone di energia opportuna, può aver luogo una transizione (*assorbimento*) e l'energia del sistema aumenta. Se un sistema in uno stato eccitato emette un fotone (*emissione*), la sua energia diminuisce.

Le radiazioni elettromagnetiche delle varie regioni spettrali determinano transizioni tra livelli energetici di tipo diverso. Ad esempio, l'energia delle radiazioni IR è in grado di modificare lo stato vibrazionale dei legami nelle molecole; le radiazioni nel visibile determinano transizioni elettroniche tra lo stato fondamentale e quelli eccitati, in generale da un orbitale d ad un altro nel caso dei metalli di transizione; le radiazioni UV interessano transizioni elettroniche nella sfera degli elettroni di valenza.

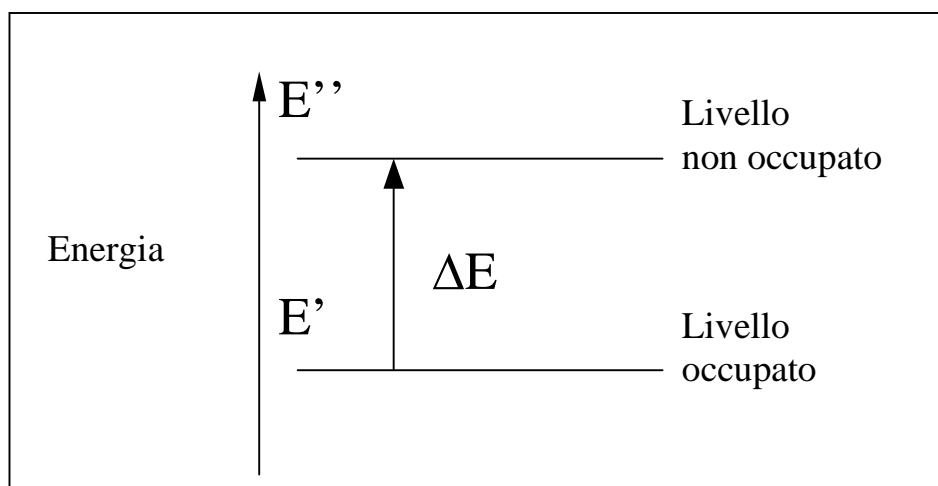


Figura 1

3.3.2 Assorbimento di una radiazione nella regione del visibile

Nel processo di assorbimento di una radiazione elettromagnetica da parte di un campione, si è visto che l'energia della radiazione assorbita è uguale alla differenza tra due livelli energetici del sistema.

La radiazione non assorbita passa attraverso il campione e può essere misurata da un rivelatore. Nella regione del visibile i colori che possono essere osservati da uno strumento (o dall'occhio umano) sono radiazioni elettromagnetiche non assorbite dal campione. In altre parole il colore del campione è dovuto alla radiazione complementare a quella assorbita. Se, ad esempio, un campione viene irraggiato con luce bianca (radiazione con tutte le frequenze nel campo del visibile) ed assorbe energia nella regione del rosso dello spettro visibile, la radiazione non assorbita viene trasmessa ed appare di colore blu-verde (Figura 2). Maggiore è la concentrazione della sostanza che assorbe nel rosso, più intenso è il colore blu-verde emesso.

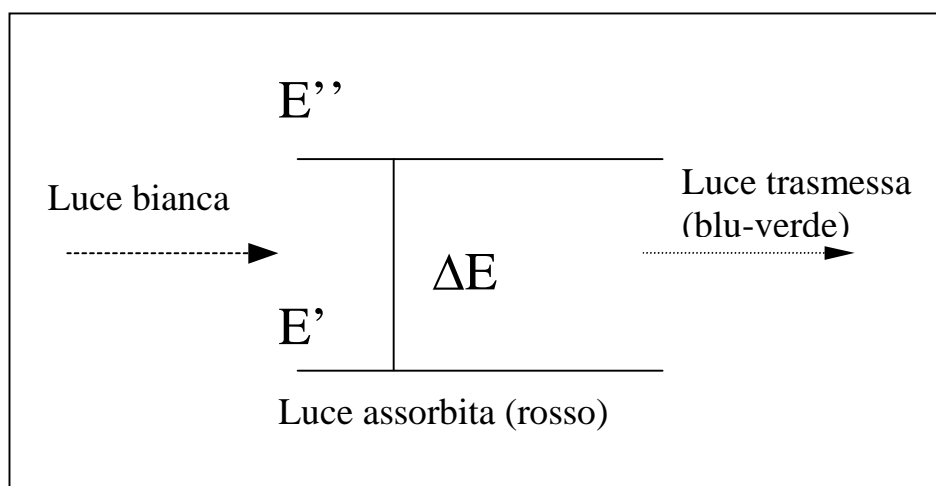


Figura 2

In tabella 2 sono riportati i colori delle diverse regioni della radiazione visibile e le relative lunghezze d'onda espresse in nm ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$); sono riportati anche i colori della radiazione trasmessa in seguito ad assorbimento di una radiazione visibile nella regione indicata.

TABELLA 2 - Lunghezze d'onda nella regione del visibile

Lunghezza d'onda [nm]	Colore	Colore della radiazione trasmessa
380 - 420	Violetto	Giallo - verde
410 - 440	Violetto - blu	Giallo
440 - 470	Blu	Arancione
470 - 500	Blu - Verde	Rosso
500 - 520	Verde	Porpora
520 - 550	Giallo - verde	Violetto
550 - 580	Giallo	Violetto - blu
580 - 620	Arancione	Blu
620 - 680	Rosso	Blu - Verde
680 - 780	Porpora	Verde

3.3.3 La legge di Lambert-Beer

Quando una radiazione elettromagnetica viene assorbita da un campione, l'intensità del raggio dopo il passaggio attraverso il campione, I_t , risulta inferiore a quella del raggio incidente, I_o . In realtà tale differenza di intensità non si verifica solo per l'assorbimento della radiazione elettromagnetica da parte del campione, ma anche per altri fattori quali la riflessione, che si verifica all'interfaccia fra l'aria, le pareti della cella porta-campione e la soluzione, oppure la diffusione, dovuta alla disomogeneità composizionale. Riflessione e diffusione sono effetti trascurabili nelle condizioni in cui si esegue la misura spettroscopica, quindi si può considerare che l'assorbimento sia dovuto esclusivamente alla soluzione.

Si definisce come *trasmissione* (T) la frazione della radiazione trasmessa dal campione:

$$T = \frac{I_t}{I_o} \quad (5)$$

con $0 \leq T \leq 1$.

Analogamente si può definire una *trasmissione percentuale* (%T):

$$\%T = \frac{I_t}{I_o} \times 100 \quad (6)$$

E' più utile però definire una grandezza che correli la quantità di radiazione assorbita alla quantità di campione analizzata. Viene definita come *assorbanza* (A) la grandezza:

$$A = \log\left(\frac{I_o}{I_t}\right) = -\log T \quad (7)$$

o, nel caso si utilizzi %T:

$$A = -\log \frac{\%T}{100} \quad (8)$$

Quando non vi è assorbimento di luce $I_t = I_o$ e, di conseguenza, $A = 0$.

Se il 90% della radiazione viene assorbito ed il 10% trasmesso, $I_t = 0.10 I_o$ e $A=1$.

Secondo la *legge di Lambert-Beer*, l'assorbanza è direttamente proporzionale alla concentrazione della specie che assorbe la radiazione nel campione,

$$\boxed{A = \varepsilon \cdot b \cdot C} \quad (9)$$

dove C è la *concentrazione della specie* espressa in moli l^{-1} ; b è il *cammino ottico* ossia lo spessore della soluzione attraversata dal raggio, espresso in cm (vedi Figura 3); ε è il *coefficiente di assorbimento molare o di estinzione molare* ed è espresso nelle unità $mol^{-1} l \text{ cm}^{-1}$. La grandezza A è adimensionale.

ϵ è un coefficiente di proporzionalità tra A ed il prodotto ($b C$) e dipende dalla lunghezza d'onda: maggiore è il valore di ϵ , più elevata sarà l'assorbanza. Uno *spettro di assorbimento* è un grafico che mostra come A varia con la lunghezza d'onda.

Ad una data lunghezza d'onda il valore di ϵ per una data specie è costante. Poiché anche il cammino ottico b , determinato dalle dimensioni del porta-campione o cuvetta, è costante si ha che l'assorbanza dipende unicamente dalla concentrazione della specie responsabile dell'assorbimento della luce che per questo motivo viene detta *cromoforo*.

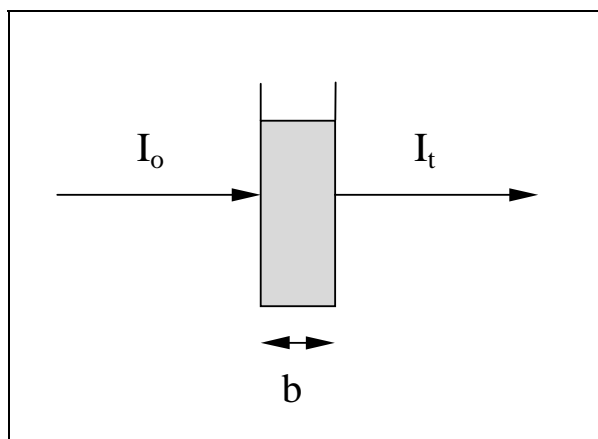


Figura 3

Questa relazione viene utilizzata nell'analisi quantitativa con metodi spettroscopici.

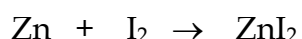
La legge di Lambert-Beer è generalmente rispettata per soluzioni diluite (≤ 0.01 M) di gran parte delle sostanze. A concentrazioni più elevate l'influenza reciproca delle molecole di soluto determina la non linearità della dipendenza tra assorbanza e concentrazione.

In generale l'assorbanza è influenzata da tutti i fenomeni in cui la specie che assorbe la radiazione interagisce fisicamente o chimicamente. Un soluto che non assorbe la radiazione, ad esempio, può interagire con la specie assorbente e modificarne il coefficiente di assorbimento ϵ . Un altro esempio è quello di un acido debole HA in soluzione acquosa. In soluzione concentrata la forma non dissociata HA è predominante, mentre in soluzione diluita la dissociazione è maggiore ed aumenta la concentrazione della base coniugata A^- . Se i valori di ϵ di HA e A^- non sono uguali, si ha una deviazione dalla legge di Lambert-Beer dovuta all'equilibrio di dissociazione.

4. LEGGE DI CONSERVAZIONE DELLA MASSA SINTESI DELLO IODURO DI ZINCO, ZnI₂

Scopo di questa esercitazione è la dimostrazione della legge di conservazione della massa secondo la quale la materia si trasforma durante una reazione chimica ma la sua quantità totale rimane costante.

La reazione che prendiamo in considerazione è la sintesi di ioduro di zinco ZnI₂ a partire dagli elementi zinco Zn e iodio I₂ secondo la reazione:



La reazione viene condotta operando con un eccesso di zinco rispetto allo iodio; lo iodio agisce quindi da reagente limitante. Al termine della reazione, si avrà una soluzione acquosa incolore di ZnI₂ ed un residuo solido di Zn non reagito (la quantità iniziale di Zn è maggiore di quella di I₂).

L'evolvere della reazione nel tempo può essere seguito dalle variazioni di colore della soluzione acquosa. All'inizio, quando tutto lo iodio si è sciolto, la soluzione assume una colorazione rosso-bruna. Man mano che la reazione avanza, la soluzione diventa di colore arancio, poi giallo ed infine incolore. Questi cambiamenti di colore indicano che lo iodio sta reagendo e la sua concentrazione diminuisce progressivamente; quando la soluzione diventa incolore, tutto lo iodio ha reagito.

Come dimostrazione della legge di conservazione della massa, si può verificare che la somma delle masse di Zn e I₂, pesate prima della reazione, è uguale a quella delle masse del prodotto ZnI₂ e dello Zn non reagito in eccesso al termine della reazione.

Operazioni sperimentali

- Pesare 2.00 g di Zn granulare e 2.00 g di cristalli di I_2 e metterli in un bicchiere.
- Preparare in un'altra provetta una soluzione con 5.0 ml di H_2O e tre gocce di acido acetico.
- Aggiungere la soluzione di acqua e acido a Zn e I_2 , sotto agitazione. La soluzione diventa di colore rosso-bruno per la dissoluzione di I_2 .
- Zn e I_2 reagiscono in soluzione con produzione di calore (reazione esotermica), come si può notare toccando il bicchiere. Lo Zn si ossida a ione Zn^{2+} mentre I_2 si riduce a ione ioduro I⁻. Il colore della soluzione diventa arancio, giallo e, quindi, scompare indicando che la reazione è terminata (circa 10 minuti). Nel bicchiere rimangono grani di Zn non reagito, mentre sono completamente scomparsi i cristalli di I_2 , reagente limitante completamente reagito. Anche la temperatura progressivamente diminuisce con il progredire della reazione.
- Decantare la soluzione di ZnI_2 in un altro bicchiere.
- Lavare lo Zn rimasto nel bicchiere/provetta per tre volte con 1.0 ml di acqua e acido. Aggiungere le acque di lavaggio alla soluzione di ZnI_2 per non perdere prodotto.
- Mettere il residuo di Zn in stufa a 200°C ad essiccare (15 minuti circa). Al termine pesare lo Zn. Attenzione: prima della pesata il campione deve essere raffreddato in un essiccatore per impedire che assorba l'umidità dell'aria.
- Mettere la soluzione di ZnI_2 in un pallone e portarla a secco con un evaporatore rotante (operazione eseguita dall'esercitatore). Quando tutta l'acqua viene eliminata, nel pallone rimane un polvere bianca di ZnI_2 .
- Mettere la polvere di ZnI_2 in stufa a 200°C ad essiccare (15 minuti circa). Al termine pesare lo ZnI_2 . Attenzione: prima della pesata il campione deve essere raffreddato in un essiccatore per impedire che assorba l'umidità dell'aria.
- Verificare che la somma delle masse di Zn e I_2 , pesate prima della reazione, è uguale a quella delle masse del prodotto ZnI_2 e dello Zn non reagito in eccesso al termine della reazione.

Massa di Zn g
Massa di I_2 g
Massa di Zn residuo dopo la reazione g
Massa di ZnI_2 prodotto g
Somma massa di Zn + massa di I_2 g
Somma massa di ZnI_2 + massa di Zn residuo g

5. LE REAZIONI OSCILLANTI

Le reazioni oscillanti rappresentano un aspetto un po' insolito della Chimica. In realtà, i processi oscillanti di natura chimica sono costantemente presenti in natura (sistemi biologici, clima, ecosistemi, fluidi in movimento, fiamme, ecc.).

Le reazioni oscillanti sono un esempio di sistemi chimici inizialmente omogenei che si autorganizzano sia nel tempo (disomogeneità temporale delle concentrazioni) che nello spazio (disomogeneità spaziale delle concentrazioni, morfogenesi).

Lo studio sistematico di tali processi è relativamente recente (metà anni '70), ma la loro storia scientifica parte da lontano.

- 1828 - una cella elettrochimica produce una corrente oscillante.
la superficie di un pezzo di ferro in HNO_3 conc. oscilla da scuro a brillante.
- 1834 - luminescenza intermittente del fosforo
- 1896 - una goccia di AgNO_3 su $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ immobilizzato in gelatina, da origine ad anelli (anelli di Liesegang).
- 1899 - la velocità di dissoluzione del Cr in acidi aumenta e diminuisce periodicamente.
- 1921 - prime oscillazioni chimiche in fase omogenea in soluzione.
- 1950 - B. P. Belousov cerca di simulare in provetta il ciclo di Krebs. Per ossidare l'acido citrico utilizza bromati e come catalizzatore ioni Ce^{IV} . Con sua sorpresa la soluzione oscilla dal giallo del Ce^{IV} all'incolore del Ce^{III} . Il fenomeno dura per più di un'ora (a T amb.). I suoi lavori non vengono accettati dalla comunità scientifica, perché il verificarsi di oscillazioni nelle concentrazioni appariva in contrasto con il secondo principio della termodinamica.
- 1961 - A. M. Zhabotinsky, durante il suo il dottorato, contatta Belousov, che gli fornisce tutti i dati. Sostituisce l'acido citrico con l'acido malonico e pubblica il primo lavoro, senza difficoltà, nel 1964.
- 1967 - Prigogine (sviluppando la termodinamica dei sistemi lontani dall'equilibrio) dimostra la compatibilità termodinamica delle oscillazioni chimiche.

Fin dagli anni '40, si sono sviluppate un gran numero di ricerche sui fenomeni oscillanti in ambito biologico, e sulle reazioni biochimiche che li generano. La propagazione degli impulsi nervosi, il battito cardiaco, la glicolisi sono solo alcuni esempi che rendono conto dell'importanza delle reazioni oscillanti in biologia.

In questa esperienza viene presentata la reazione oscillante di Belousov- Zhabotinsky, BZ, in due differenti versioni.

La reazione, che consiste nell'ossidazione dell'acido malonico da parte del bromato di potassio, presenta un meccanismo alquanto complesso con la formazione di diversi intermedi di reazione (composti chimici che si formano durante la reazione prima della formazione definitiva dei prodotti) e l'utilizzo di catalizzatori (composti chimici che influenzano la velocità della reazione).

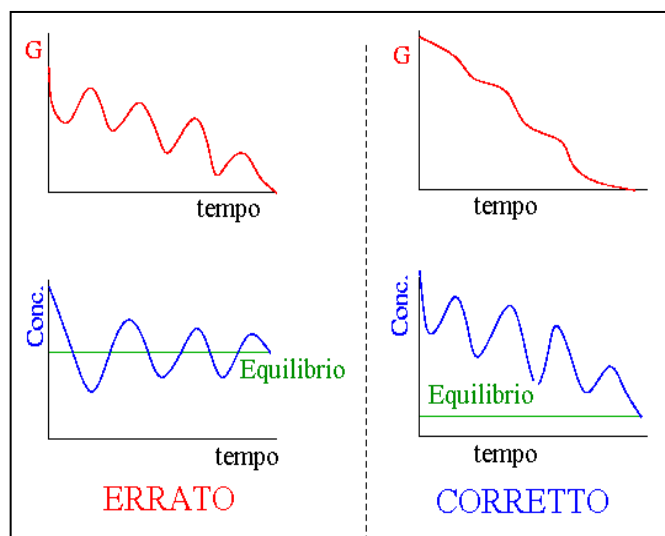
Nelle reazioni oscillanti si verificano variazioni periodiche, sia temporali sia spaziali, della concentrazione degli intermedi di reazione e di quella dei catalizzatori.

Le diverse ricerche effettuate hanno permesso di stabilire in quali condizioni, in un sistema chimico, si possono verificare oscillazioni nelle concentrazioni degli intermedi e dei catalizzatori.

La variazione della concentrazione delle diverse specie può avvenire, in alcuni casi, in modo molto complesso, con alti livelli di non linearità e in maniera caotica.

Innanzitutto, si possono osservare oscillazioni solo se il sistema è lontano dall'equilibrio.

Le leggi della termodinamica stabiliscono infatti che, in un sistema chiuso in soluzione, è inevitabile che prima o poi (secondi o ere) si raggiunga l'equilibrio in cui nessuna variazione spaziale o temporale delle concentrazioni è possibile. Per mantenersi lontano dall'equilibrio è però sufficiente operare in un sistema aperto in cui l'energia e/o la massa del sistema è continuamente rinnovata dall'esterno, ottenendo uno stato stazionario lontano dall'equilibrio.



L'energia libera in un sistema chiuso e oscillante deve in ogni caso diminuire continuamente (è previsto dalle leggi della termodinamica), ma lo fa con velocità oscillante.

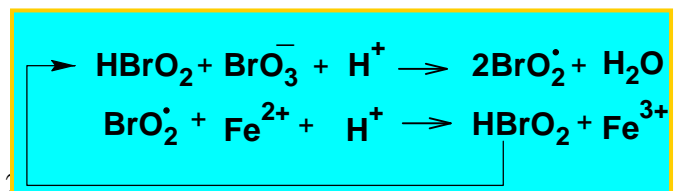
L'osservazione di strutture chimiche spatio-temporali è una conseguenza diretta della non linearità con cui i diversi composti chimici "diffondono" nella soluzione. Vicino all'equilibrio si può assumere che la diffusione segua una legge di tipo lineare; non si possono quindi osservare fenomeni di autorganizzazione vicino all'equilibrio.

Da ciò deriva il fatto che reazioni oscillanti sono di solito osservate in sistemi aperti.

Un'altra caratteristica importante è che il sistema possa esistere in due stadi diversi; il passaggio periodico dall'uno all'altro stadio è determinato dal raggiungimento di una concentrazione massima o minima di un intermedio di reazione.

Infine, il meccanismo di reazione deve comprendere stati autocatalitici o autoinibitori.

Nelle reazioni autocatalitiche il prodotto di uno stadio della reazione è anche un reagente di uno stadio precedente.



Si parla di retroazione chimica, che può essere sia positiva che negativa.

Se la variazione della concentrazione dei componenti è accompagnata da cambiamenti di colore, le oscillazioni possono essere facilmente osservate.

Reazione oscillante di Belousov-Zhabotinsky in soluzione omogenea

In questa variante della reazione di Belousov-Zhabotinskii condotta in un bicchiere, si noterà l'oscillazione periodica della colorazione della soluzione dal rosato-violaceo al verde-azzurro e viceversa. Tali oscillazioni dovrebbero persistere almeno per 30 minuti.

Reazione oscillante di Belousov-Zhabotinsky in strato sottile

In questa variante della reazione di Belousov-Zhabotinsky, condotta con uno strato sottile di soluzione in una capsula di Petri, vengono generate spettacolari figure geometriche.

In questo caso la reazione autocatalitica e oscillante, la cui colorazione varia fra il rosso e l'azzurro, viene osservata in assenza di agitazione e su uno strato sottile di soluzione.

All'inizio ci sarà una miscela di reagenti uniformemente colorata in rosso; esistono tuttavia, a livello microscopico, fluttuazioni di concentrazione che possono provocare, in una posizione qualsiasi, il verificarsi della reazione con cambiamento di colore dal rosso all'azzurro. A questo punto la diffusione tenderà a disperdere l'azzurro nella massa della soluzione e, dal momento che la reazione è autocatalitica, la presenza della specie azzurra catalizzerà la variazione di colore dal rosso all'azzurro nelle zone di soluzione confinante. Il risultato è che la zona azzurra, all'inizio puntiforme, si allargherà per assumere l'aspetto di un disco. La reazione, però, è anche oscillante, quindi il materiale al centro del disco, che per primo era diventato azzurro, tenderà per primo a tornare al rosso e il disco azzurro diventerà un anello.

Man mano che le oscillazioni continuano, si formerà una serie di anelli concentrici che, allargandosi e interferendo fra loro, daranno vita a immagini particolari.

Dopo un certo periodo, ovviamente, i reagenti si esauriranno, la reazione cesserà di oscillare, non si formeranno più nuovi anelli e le immagini saranno sempre più confuse e, alla fine, totalmente eliminate dalla diffusione.

In condizioni adatte, si possono generare figure che persistono per diverse decine di minuti.

Operazioni sperimentali

Reazione oscillante di Belousov-Zhabotinsky in soluzione omogenea

Soluzioni da utilizzare

- H_2SO_4 1M
- Soluzione di acido malonico:
7.15g di acido malonico in c.ca 50mL di H_2SO_4 1M
- Soluzione bromato:
2.61g di KBrO_3 in c.ca 50mL di H_2SO_4 1M
- Soluzione di cerio^{IV}:
0.274g di $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$ in c.ca 50mL di H_2SO_4 1M
- Soluzione di ferroina 25mM:
1.485g 1,10-fenantrolina + 0.685g FeSO_4 monoidrato in 100 mL H_2O

Parte sperimentale

Versare, sotto agitazione, le 3 soluzioni in un recipiente che possa contenere almeno 150 mL nell'ordine:

- 1) bromato
- 2) Ac Malonico
- 3) sale di cerio^{IV}

Alla fine aggiungere 1mL di soluzione di Ferroina.

La soluzione dovrebbe oscillare all'inizio (piuttosto velocemente) tra i colori rosa-violaceo, verde-azzurro e blu.

Le oscillazioni (sempre più lente) dovrebbero durare almeno 30 min.

Reazione oscillante di Belousov-Zhabotinsky in strato sottile

Soluzioni da utilizzare

- H_2SO_4 1M
- Soluzione bromato (soluzione A):

2.1g di KBrO_3 in 25mL di H_2O

- Soluzione di acido malonico (soluzione B):

1.3g di acido malonico in c.ca 25mL di H_2O

- Soluzione di bromuro (soluzione C):

1.17g di KBr in 10mL di H_2O

- Soluzione di ferroina 25mM:

1.485g 1,10-fenantrolina + 0.685g FeSO_4 monoidrato in 100 mL H_2O

Parte sperimentale

Versare, nell'ordine, 7 mL sol A + 3.5 mL sol B + 1mL sol C.

Tappare e agitare fino a scomparsa del colore giallo/marrone del Br_2 che si è formato.

Aggiungere 1 mL di sol di Ferroina sempre sotto agitazione.

La reazione comincia ad oscillare tra rosso e blu.

Trasferire una piccola quantità della soluzione in una capsula di Petri (lo spessore della soluzione deve essere di 1-2 mm) e coprire la capsula.

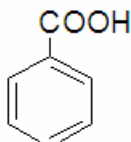
Si formano anelli e onde in pochi minuti.

Per creare delle spirali bisogna rompere un'onda con una pipetta pasteur (molto delicatamente). Dovrebbero formarsi due spirali che ruotano in senso opposto.

6. SEPARAZIONE PER CRISTALLIZZAZIONE DI ACIDO BENZOICO

Scopo di questa esperienza è la separazione di acido benzoico da una miscela di acido benzoico e carbone.

L'acido benzoico è un composto solido bianco di formula:

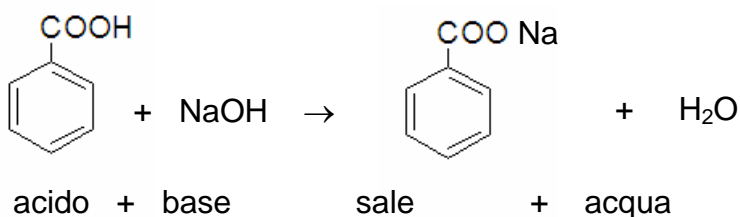


acido benzoico
(p.f. = 122 °C)

Per effettuare la separazione dei due componenti, si sfruttano le diverse proprietà acide degli stessi e, quindi, la diversa reattività nei confronti di una base.

La separazione viene effettuata in soluzione acquosa. A temperatura ambiente la solubilità dell'acido benzoico è molto bassa in acqua, mentre il carbone è insolubile.

Aggiungendo alla miscela una base, l'idrossido di sodio NaOH, l'acido benzoico reagisce formando il sale benzoato di sodio, solubile in acqua:

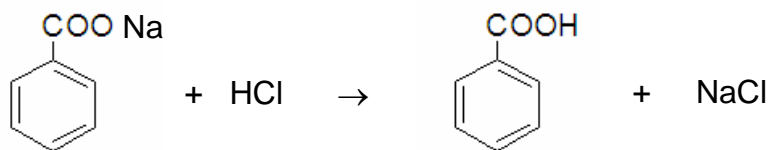


Il carbone, costituito principalmente da carbonio C, non è un acido. Pertanto, non reagendo con la base, non si scioglie in soluzione acquosa. Si ottiene, quindi, una soluzione del sale benzoato di sodio nella quale è sospeso il carbone insolubile.

Il carbone viene separato dalla soluzione mediante filtrazione in modo che la soluzione limpida contenga solo il sale disciolto in acqua.

Tale soluzione è basica come si può notare aggiungendo alla stessa qualche goccia di metilarancio, un indicatore che assume una colorazione gialla in ambiente basico e rossa in ambiente acido.

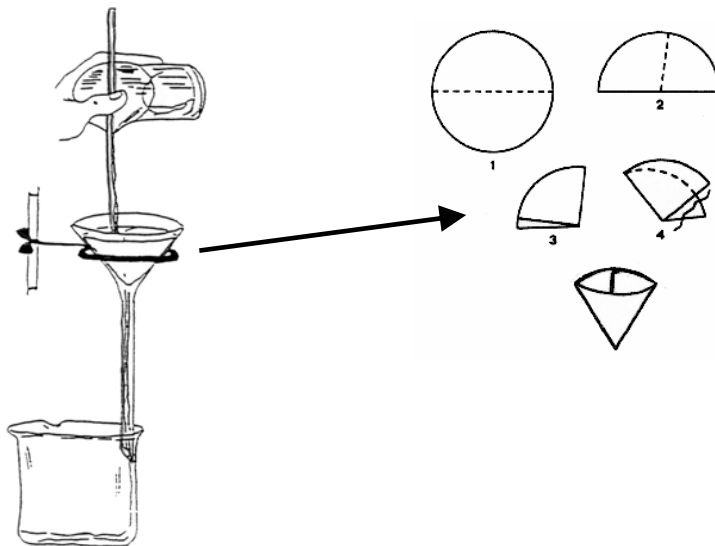
Aggiungendo acido cloridico, HCl, a tale soluzione, il benzoato di sodio reagisce formando nuovamente l'acido benzoico



Quando la soluzione diventa acida e il colore dell'indicatore vira dal giallo al rosso, l'acido benzoico precipita come solido bianco cristallino e può essere separato per filtrazione.

Operazioni sperimentali

- Pesare 0.5 g di miscela di acido benzoico e carbone e aggiungerli a 20 ml di acqua in un bicchiere
- Aggiungere 15 ml circa di una soluzione di NaOH e mantenere sotto agitazione fino alla dissoluzione dell'acido benzoico
- Filtrare la soluzione per eliminare il carbone

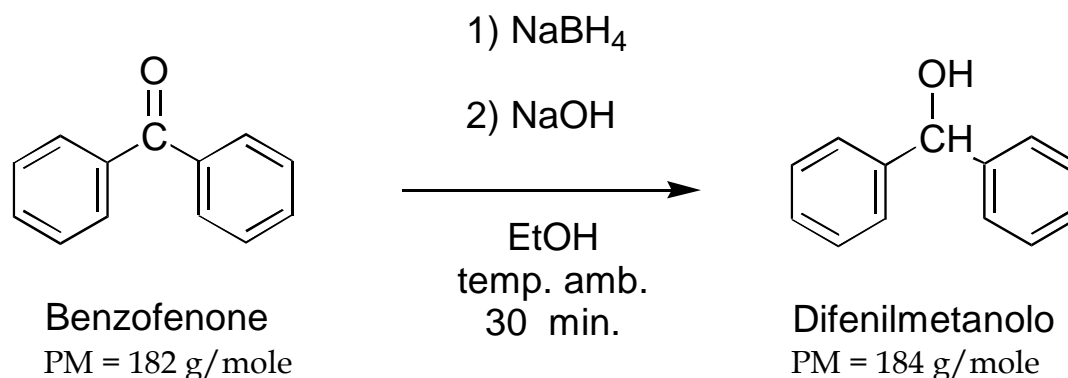


- Aggiungere alla soluzione limpida qualche goccia di metilarancio; la soluzione si colora di giallo (soluzione basica).
- Aggiungere gradualmente una soluzione di HCl (circa 15 ml).
- Quando la soluzione si colora di rosso (soluzione acida) precipita l'acido benzoico, solido bianco.
- Filtrare l'acido benzoico ottenuto

7. ESPERIENZE DI LABORATORIO AVANZATE

7.1 Riduzione del benzofenone

REAZIONE:



Questa è una reazione di riduzione in cui un chetone viene ridotto ad alcool utilizzando come riducente uno ione idruro. Lo ione idruro passa da una carica formale -1 a +1, mentre l'atomo di carbonio contenente il gruppo carbonilico passa da una carica formale di +2 a 0. Il difenilmetanolo è più polare del benzofenone e questo consente una facile separazione dei due composti per via cromatografica.

Si ricorda che la resa della reazione si calcola a partire dalle moli:

moli = peso (grammi) / peso molecolare (grammi mol⁻¹)

resa della reazione = (moli di difenilmetanolo / moli benzofenone) x 100

PROCEDURA:

* Tenere una piccola quantità di chetone da parte.

- 1) Introdurre in pallone da 100 cc, **182 mg di Benzofenone** e scioglierli in **10 mL di etanolo (EtOH 96%)**;
- 2) Pesare **76 mg di sodio-boro idruro (NaBH₄)** ed aggiungerlo sotto agitazione alla soluzione a piccole spatolate;
- 3) Controllare il decorso reattivo utilizzando la cromatografia su strato sottile TLC, utilizzando come fase eluente etere di petrolio: Acetato d'etile = 7 : 3;
- 4) A reazione terminata (dopo circa 30 min), aggiungere lentamente 10 mL di NaOH 0.1 M
- 5) Trasferire la miscela in un imbuto separatore ed estrarre con DCM (diclorometano CH₂Cl₂; fase sottostante nell'imbuto separatore);

- 6) Raccogliere la fase organica in una beuta.
Poi ripetere l'estrazione con altri 10 mL di DCM fresco.
- 7) Riunire le fasi organiche in una beuta, anidrificarle con sodio solfato, filtrarle su cotone e raccoglierle in un pallone TARATO. Evaporare il solvente con evaporatore rotante.

DETERMINARE DEL PRODOTTO:

- Peso e calcolare la resa di reazione ottenuta
- Calcolare il fattore di ritenzione, R_f , del benzofenone e del difenilmetanolo

7.2 Determinazione della caffeina nella coca-cola mediante HPLC

Tra le tecniche separative, le più moderne ed ampiamente diffuse sono sicuramente le tecniche cromatografiche, i cui dettagli variano enormemente, pur essendo basate sul medesimo principio: la separazione viene ottenuta sulla base delle differenti velocità di migrazione delle sostanze entro una fase stazionaria, sotto l'influenza di una fase mobile.

La cromatografia liquida ad alta prestazione (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) è una valida tecnica separativa per l'analisi dei composti organici polari.

Tre fattori influiscono sull'ottimizzazione di una tecnica HPLC: la scelta della fase stazionaria, della fase eluente e del detector.

Fase stazionaria: si tratta di una colonna (250 mm * 4,6 mm) impaccata con silice sferica regolare, funzionalizzata con una catena a 18 atomi di carbonio e definita C18, con diametro delle particelle di 5 µm e porosità 100Å.

Fase mobile: il tipo di fase mobile che, insieme ad un'adeguata fase stazionaria, ottimizza la separazione dei composti di interesse, è quella che garantisce la totale risoluzione dei singoli picchi cromatografici, senza fenomeni di coeluzione dei composti, o di "fronting" e "tailing" dei picchi, insieme ad un tempo d'analisi non eccessivamente lungo.

Le modalità di eluizione possono essere di tipo isocratico (la fase mobile non cambia la polarità durante l'analisi) o a gradiente, dove la polarità della fase cambia durante l'analisi (utile nel caso di miscele molto complesse in cui i composti da separare siano inclusi in un ampio intervallo di polarità). La fase eluente utilizzata è isocratica costituita da una miscela di H₂O : AcCN al 50 : 50 %.

Il flusso totale è di 1 ml / min.

Detector: la strumentazione HPLC è in questo caso accoppiata ad un detector che opera nell'UV, sfruttando le caratteristiche di assorbimento dei composti organici. I massimi di assorbimento sono a 270 nm per la caffeina.

Per il composto di interesse viene costruita la curva di calibrazione, ottenuta iniettando in HPLC un certo volume (es. 20 µl) di soluzioni standard a concentrazione nota. I valori di area dei picchi (integrati, per ciascun composto, in corrispondenza della massima λ di assorbimento) vengono riportati in un sistema di assi cartesiani in ordinata, contro i corrispondenti quantitativi iniettati (concentrazione * volume iniettato) in ascissa, ottenendo un insieme di punti sperimentali che sono interpolati con il metodo dei minimi quadrati.

Procedura

- Si prelevano 25 ml di campione e si degasano in un becker con agitazione magnetica
- Vengono alcalinizzati con qualche goccia di ammoniaca (NH₃)
- Si porta a volume di 100 ml in un matraccio
- Si prelevano 25 ml e si fanno 3 estrazioni con 20 ml di CHCl₃ l'una
- Le 3 fasi estratte vengono unite e trattate con sodio solfato anidro per eliminare l'acqua
- Si filtra in un pallone e si porta a secco.
- Si solubilizza in 25ml di Acetonitrile
- Si procede con l'analisi spettrofotometrica

7.3 Analisi quantitativa di idrocarburi mediante GC-TCD

Il detector a conducibilità termica (Thermal Conductivity Detector, TCD) è un rivelatore universale che misura la differenza di conducibilità termica tra un gas di trasporto come l'elio e i composti eluiti dalla colonna. Viene utilizzato come detector interfacciato ad un gas cromatografo, GC. Il GC attraverso l'uso di una colonna e di un preciso controllo della temperatura, è in grado di separare i composti in funzione della volatilità e della polarità. I sistemi GC sono molto utilizzati per composti apolari.

L'analisi viene eseguita su un campione incognito contenente tre idrocarburi lineari. Gli idrocarburi analizzati sono classificati in funzione del numero di carboni presenti nella catena lineare. Verranno analizzati composti C18, C22 e C26.

La procedura di analisi prevede i seguenti passaggi:

- Vengono preparati degli standard a concentrazione nota di idrocarburi attraverso diluizione delle soluzioni madre fornite (1 mg/ml). Gli standard da preparare sono a concentrazione di 10, 50 e 100 µg/ml.
- Si eseguono le analisi degli standard e si ricavano le area dall'integrazione dei picchi cromatografici con il Tr (tempo di ritenzione).
- Si calcola la retta di taratura.
- Si esegue l'analisi del campione incognito
- Tramite il valore di Tr si individua il picco relativo al composto e tramite la retta di calibrazione si calcola la concentrazione nel campione.