

L'**ANALISI CHIMICA** si occupa di:

- separazione di miscele nei loro componenti originali;
- identificazione e dosamento dei singoli componenti.

Le miscele possono essere costituite da liquidi, solidi o gas e si dividono in:

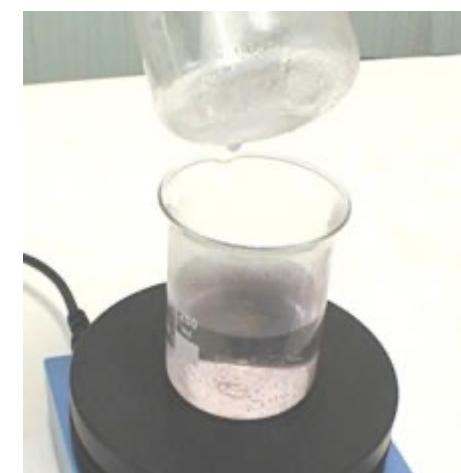
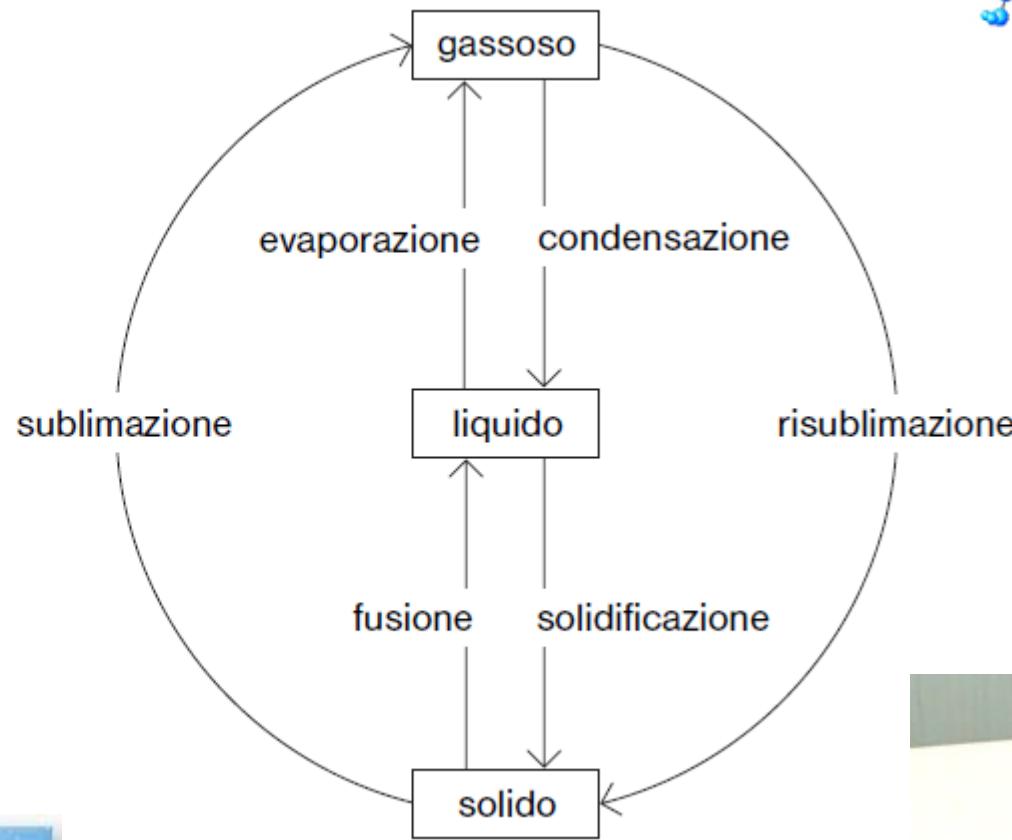
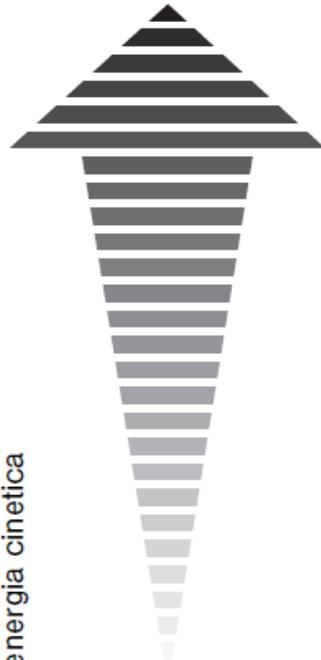
- **miscele omogenee**: sono quei sistemi nei quali i singoli componenti non sono più distinguibili tra di loro e si presentano in un'unica fase.
- **miscele eterogenee**: sono quei sistemi nei quali i componenti differiscono per proprietà fisiche e/o stato della materia. Una miscela eterogena è costituita da due o più componenti facilmente distinguibili.

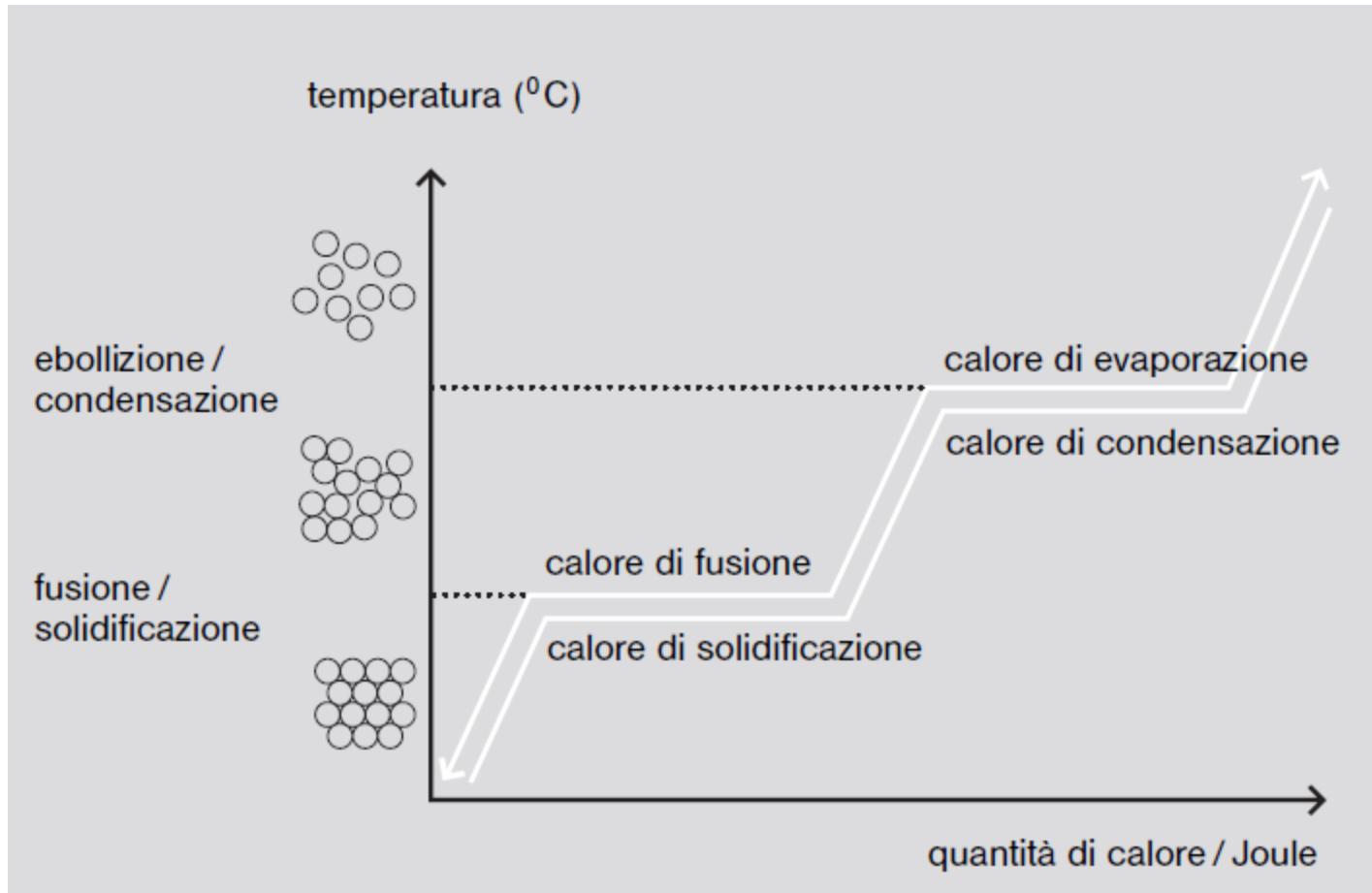
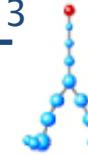
Per le miscele omogenee le tecniche di separazione più comuni sono:

- estrazione con solvente;
- cristallizzazione;
- distillazione;
- cromatografia.

Per le miscele eterogenee le tecniche di separazione più comuni sono:

- evaporazione;
- filtrazione;
- centrifugazione.

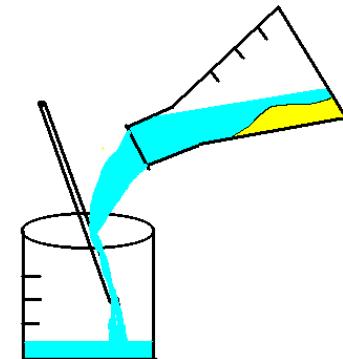
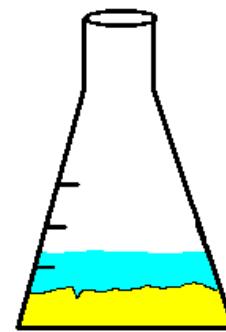
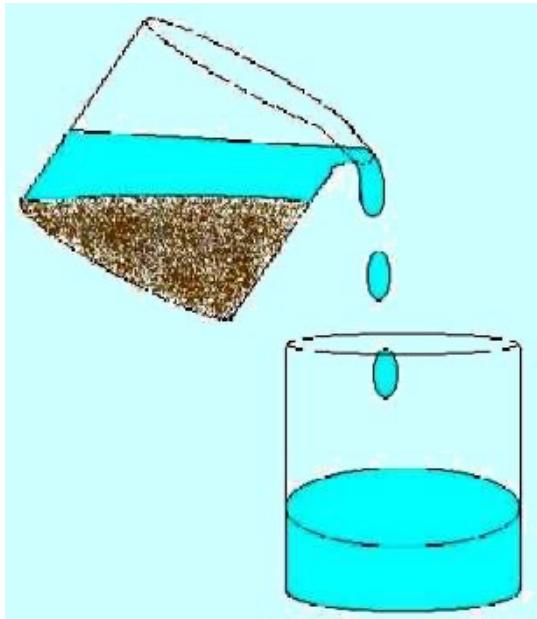






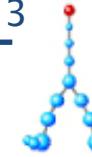
DECANTAZIONE

Consiste nell'eliminazione del liquido sovrastante il solido (insolubile) per semplice travaso in un altro recipiente



Difetti:

- è difficile da effettuare bene
- il solido rimane impregnato di liquido
- parte del solido può essere travasata con il solvente



Particelle in sospensione, se lasciate in stato di quiete, tenderanno a sedimentare per effetto della gravità (sedimentazione).

La **SEDIMENTAZIONE** consiste nella separazione di materiale solido dal liquido in cui si trova in sospensione.

È ottenuta per caduta spontanea delle particelle solide per azione della gravità.

La velocità di sedimentazione dipenda da:

- densità del liquido e del solido;
- dimensione delle particelle solide;
- viscosità del liquido.

È un processo lento e molte volte incompleto.

Le tecniche di separazione per centrifugazione si basano sul comportamento delle particelle quando vengono sottoposte ad un campo centrifugo. Lo scopo della centrifugazione è quello di aumentare la velocità di sedimentazione, sottponendo le particelle ad una forza maggiore di quella gravitazionale.



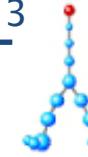
Nella **centrifugazione** la velocità di sedimentazione di ogni particella è proporzionale alla forza centrifuga applicata. Le particelle sedimentano a velocità diverse a seconda della loro forma, densità, dimensioni e possono così essere separate.

La centrifuga è costituta da un rotore, con alloggiamenti per le provette, posizionato centralmente sull'albero motore. Alle particelle viene applicato un campo gravitazionale artificiale (campo centrifugo) ottenuto attraverso la rotazione ad alta velocità del rotore. E' fondamentale ricordarsi di bilanciare le provette, se i campioni non sono in numero pari si possono utilizzare tubi da centrifuga contenenti acqua distillata



Il campo centrifugo è funzione della velocità angolare del rotore (ω) e della distanza dall'asse di rotazione (r). La velocità può essere espressa in radianti al secondo, ma più comunemente è espressa in RPM (rotations per minute)

$$\text{G force} = \omega^2 r \text{ (RPM}^2 \text{ cm)}$$



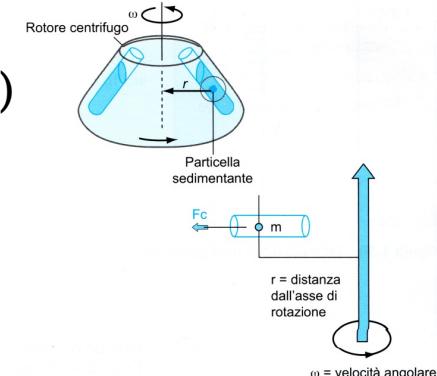
Una particella solida m , sospesa nel tubo da centrifuga a una distanza r dall'asse di rotazione del rotore che gira con velocità angolare ω è soggetta ad una forza centrifuga pari a :

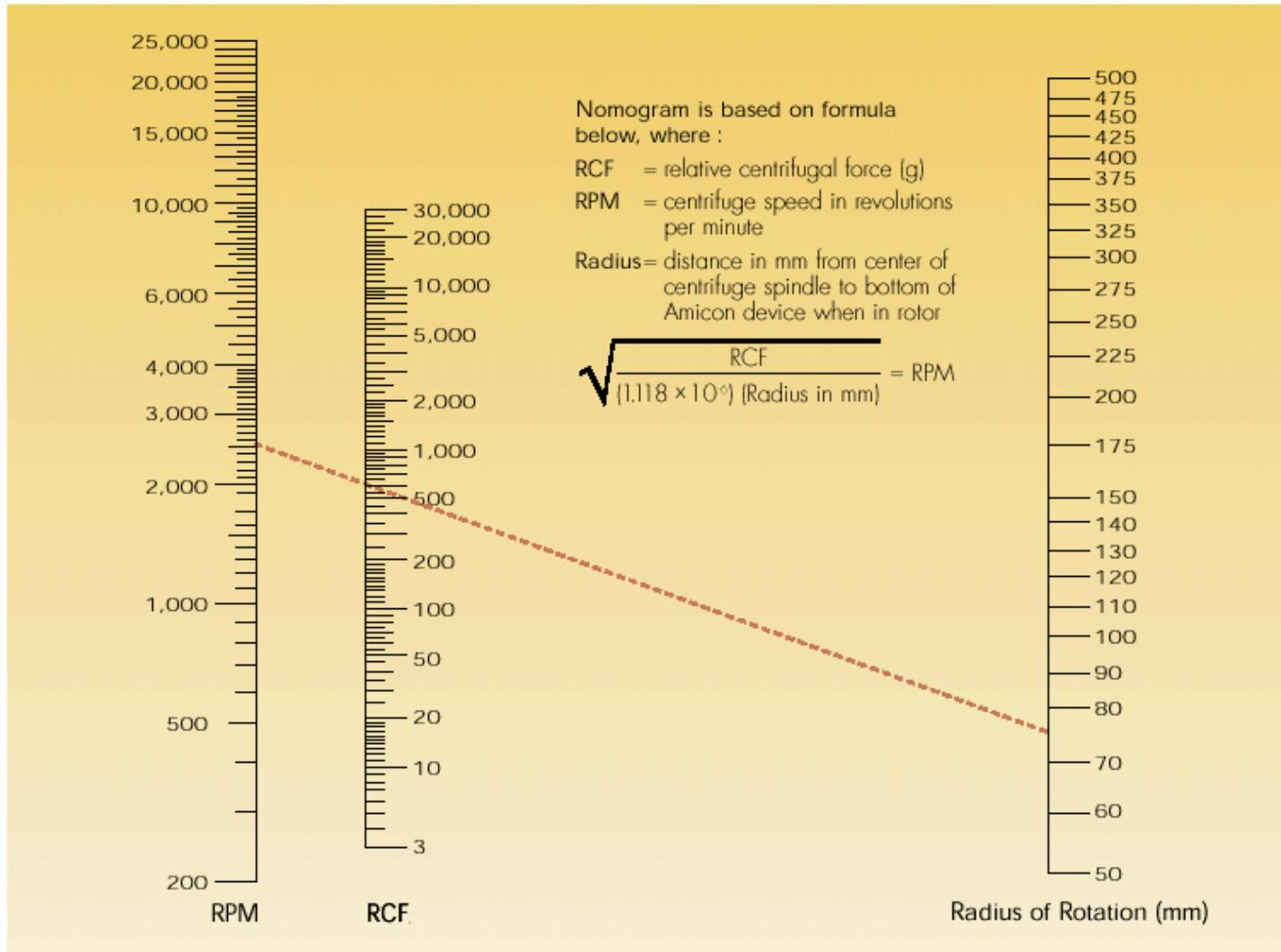
$$F_c = m \omega^2 r$$

Il campo centrifugo può essere espresso come multiplo della forza gravitazionale terrestre, cioè come rapporto fra il peso della particella sottoposta al campo centrifugo (mw^2r) e il peso della stessa sottoposta alla sola forza di gravità ($F_g = m g$).

Viene definito **campo centrifugo relativo** (RCF = relative centrifugal force) o più semplicemente come *numero di g*.

$$RCF = F_c/F_g = mw^2r/mg = \omega^2 r/g = 1.118 \times 10^{-6} \text{ RPM}^2 r(\text{cm})$$

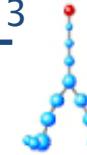






Le centrifughe sono suddivise in centrifughe a bassa, media, alta velocità ed ultracentrifughe.

Il sedimento ottenuto per centrifugazione (PELLET) è molto più compatto di quello ottenuto per sedimentazione naturale. Questo permette di separare facilmente il pellet dal SURNATANTE (la fase liquida sopra il pellet) per semplice decantazione. Per ottenere una separazione perfetta è necessario risospendere il pellet nel solvente, agitare bene e ricentrifugare. Dopo avere ripetuto il lavaggio per 3 o 4 volte il pellet sarà bagnato solo di solvente.



La filtrazione serve per allontanare una sostanza insolubile in un mezzo liquido disperdente sia che occorra recuperare il solido, sia che occorra recuperare il liquido o entrambe.

Le tecniche di filtrazione si suddividono in:

- filtrazione per gravità (con carta fa filtro);
- filtrazione in depressione (sotto vuoto, con filtro di Büchner);
- filtrazione selettiva per membrane filtranti.





Si esegue con filtro a pieghe o a cono su imbuchi di vetro.

Si usano filtri di cellulosa (carta) a diversa porosità, in funzione della dimensione dei pori variano:

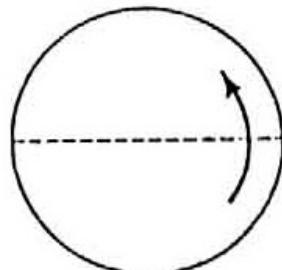
- la velocità di filtrazione;
- la dimensione delle particelle trattenute dal filtro.

Tipi di carta da filtro (un esempio di classificazione)

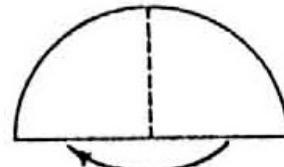
| | |
|--------------|--|
| Rapida L | resistente a lavaggi ripetuti |
| Rapida A | adatta per precipitati fini |
| Extra rapida | adatta per precipitati non troppo fini |



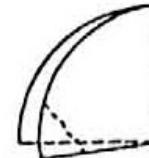
Il filtro liscio permette il recupero del precipitato.



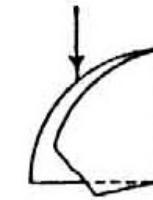
(a)



(b)

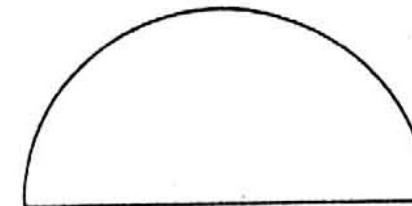


(c)

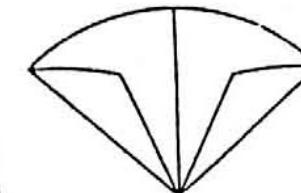


(d)

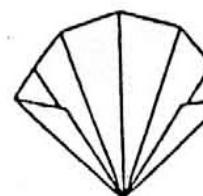
Il filtro a pieghe non permette il recupero del precipitato.



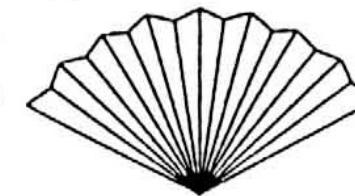
1.



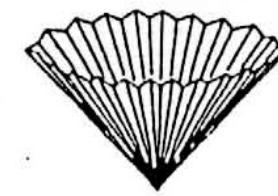
2.



3.



4.



5.

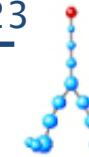
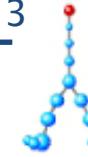


Figura 1.46 La filtrazione su imbuto per gravità viene eseguita utilizzando un filtro di carta possibilmente “a pieghe” in modo da aumentare la superficie filtrante. Il soluto solido rimarrà sul filtro, mentre il solvente passerà nella beuta inferiore.

Il modo corretto per filtrare per gravità è:

- si bagna il filtro con una piccola quantità di solvente di cui è costituita la fase liquida della miscela da filtrare per far aderire il filtro alle pareti dell'imbuto e per saturare i pori del filtro
- si tiene il filtro fermo con una bacchetta di vetro
- si decanta la maggior parte del surnatante lungo la bacchetta poi si trasferisce il solido aiutandosi con la bacchetta
- si lava il residuo solido per 3 o 4 volte con il solvente



È usata quando bisogna conservare il solido filtrato e/o il liquido, per effettuarla occorre una vetreria apposita:

- 1) Pompa da vuoto
- 2) Beuta codata o provetta codata
- 3) Imbuti di vetro o porcellana (Büchner)
- 4) Cono in gomma (coni Güko)



La filtrazione sotto vuoto permette di aumentare la velocità di filtrazione, soprattutto quando si devono filtrare sistemi finemente dispersi. Il vuoto serve per creare un gradiente pressorio ai due lati del filtro in modo che la pressione atmosferica esterna spinga il solvente attraverso il filtro aumentando la velocità di filtrazione



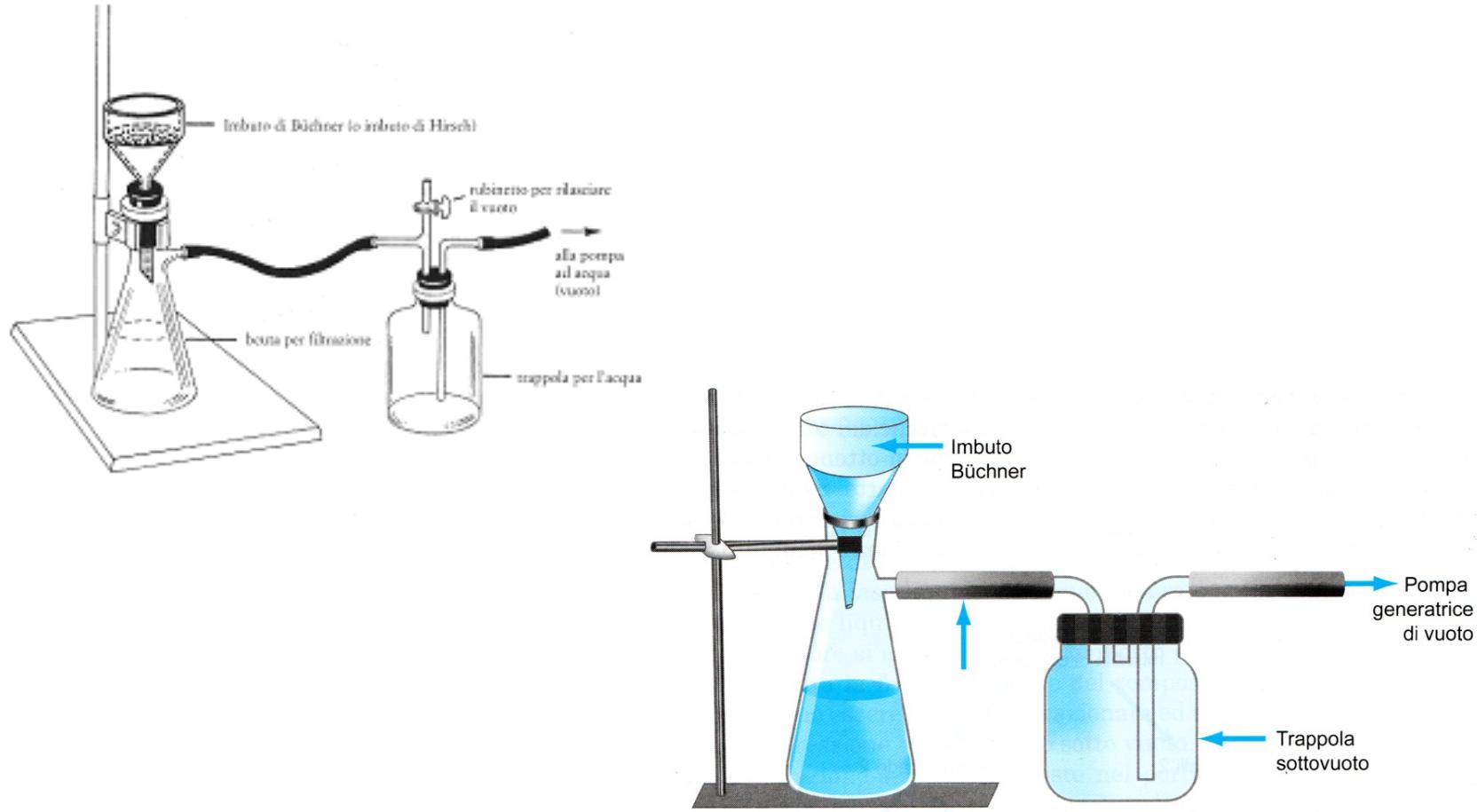
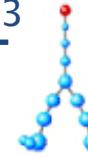


Figura 1.7 Filtrazione dei cristalli sotto vuoto.



- ritagliare e posizionare il filtro di cellulosa all'interno dell'imbuto prescelto;
- azionare il vuoto;
- inumidire il filtro con il solvente;
- versare la miscela mantenendola sotto costante agitazione;
- lavare il precipitato raccolto con un po' di solvente o **con le acque di filtrazione**;
- lasciare il precipitato sotto azione del vuoto per farlo asciugare;
- spegnere il vuoto (mai prima di aver ventilato l'apparecchiatura!)
- trasferire il solido dal filtro ad un apposito contenitore con una spatolina.



Filtrazione selettiva per membrane filtranti

Viene effettuata sotto vuoto o esercitando una pressione sopra il filtro costituito da membrane di materiale plastico a porosità variabile. È molto usata in campo biologico ed immunologico.

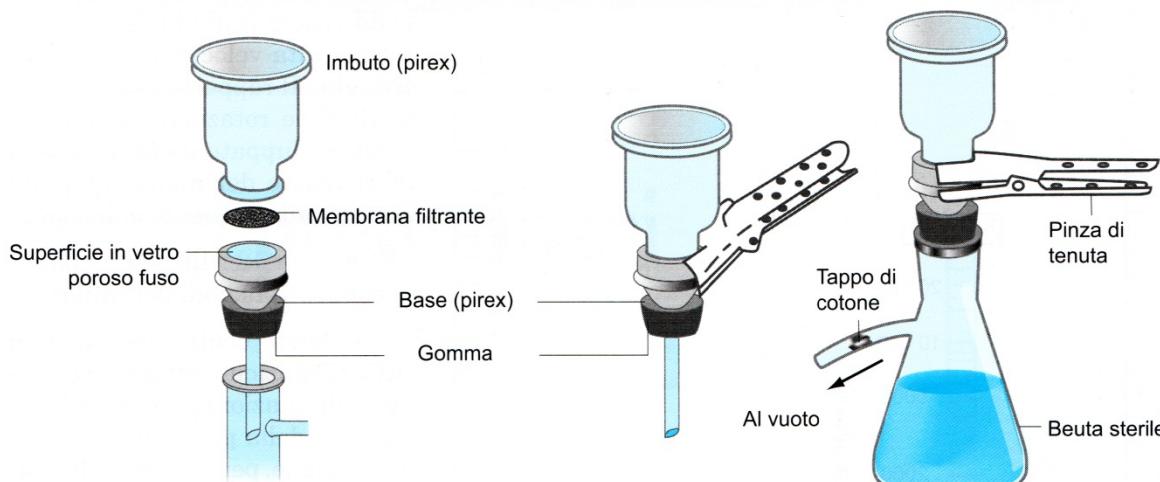
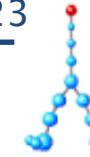


Figura 1.48 Filtrazione selettiva su membrane filtranti. Questa tecnica è molto simile alla precedente, ma consente un'elevata filtrazione ed è utile per separare particelle molto piccole o per purificare solventi utili per tecniche più sensibili.





La **cristallizzazione** è una tecnica di purificazione di **miscele omogenee** di solidi. Ci consente di ottenere una sostanza solida, allo stato cristallino, separandola da una soluzione in cui restano disciolte le impurezze.

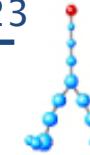
Le impurezze possono derivare dalla decomposizione della sostanza o essere contaminanti derivanti dal processo di estrazione o di sintesi.

La cristallizzazione sfrutta la variazione di solubilità in funzione della temperatura. Normalmente la solubilità aumenta con l'aumentare della temperatura, quindi se si scioglie una sostanza portando all'ebollizione in un piccolo volume di solvente nel quale essa è poco solubile a temperatura ambiente, per raffreddamento si assisterà alla precipitazione della sostanza sotto forma di solido cristallino.

Una sostanza solida può essere purificata mediante:

- **cristallizzazione semplice**: se le impurezze costituiscono al massimo il 5–10 %;
- **cristallizzazione frazionata**: se le impurezze sono presenti in percentuale maggiore.

Dopo aver sciolto una sostanza a caldo portando all'ebollizione nella minor quantità di solvente possibile si ha una **soluzione sovrassatura**, ossia una soluzione in cui la quantità di soluto dissolto è superiore a quella che il solvente è in grado di solvatare a freddo. La cristallizzazione ha inizio quando durante il processo di raffreddamento si raggiungerà la temperatura alla quale la sostanza non è più solubile nel solvente scelto.

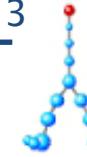


La cristallizzazione ha due fasi distinte:

- **nucleazione**: si formano aggregati microscopici di atomi o ioni che mostrano già la struttura regolare del cristallo;
- **accrescimento**: i nuclei più grandi si accrescono formando i cristalli veri e propri, quelli più piccoli spesso si ridisciolgono.

Per la cristallizzazione di un composto da un solvente sono necessarie le seguenti condizioni:

- il composto da cristallizzare deve essere più solubile nel solvente a caldo che a temperatura ambiente;
- il composto da purificare non deve reagire con il solvente;
- le impurezze solubili nel solvente a caldo lo devono essere anche a freddo;
- le impurezze insolubili anche a caldo nel solvente devono essere eliminate per filtrazione;
- la volatilità del solvente non deve essere eccessiva per evitare che cristallizzino anche le impurezze per evaporazione rapida del solvente;
- il composto deve precipitare allo stato cristallino.



COMPOSTO

Impurezze solubili a caldo

Impurezze insolubili a caldo

La miscela nel solvente è
filtrata a caldo

Le impurezze insolubili a caldo,
raccolte sul filtro, sono eliminate

Il filtrato contiene il composto e
le impurezze solubili a caldo

- a) Raffreddamento e precipitazione dei cristalli
- b) Separazione dei cristalli per filtrazione

Acque madri
Impurezze



- a) Raffreddamento e precipitazione dei cristalli
- b) Separazione dei cristalli per filtrazione



Acque madri
Impurezze



Cristalli bagnati
delle acque madri

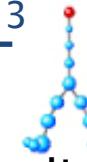
Precipitazione ulteriore
di cristalli, raccolta dei
cristalli ed eventuale
ricristallizzazione



Essiccamiento



Cristalli
Controllo della
purezza



La cristallizzazione viene effettuata secondo una sequenza di passaggi:

- scelta del solvente;
- solubilizzazione a caldo, seguita da filtrazione e da decolorazione con carbone attivo, se necessario;
- raffreddamento della soluzione;
- filtrazione dei cristalli formatisi;
- essicramento dei cristalli;
- controllo della purezza dei cristalli ottenuti.

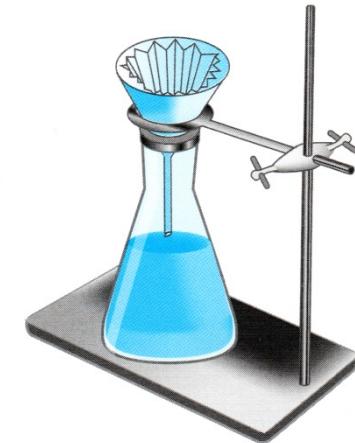


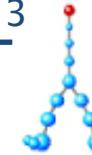
Figura 1.5 Filtrazione a caldo su filtro a pieghe.

Il solvente di cristallizzazione ideale deve:

- essere inerte nei confronti della sostanza da cristallizzare;
- essere caratterizzato da volatilità intermedia;
- possedere elevato potere solvente a caldo e basso a freddo;
- essere poco tossico.

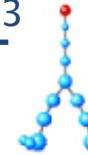


| Solvente | T ebollizione (°C) | Solvente | T ebollizione (°C) |
|------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|
| Acetato di etile | 78 | Esano | 68 |
| Acetone | 56 | Etanolo | 78 |
| Acetonitrile | 82 | Etere di petrolio | 40–60 |
| Acido acetico | 118 | Etere etilico | 35 |
| Acqua | 100 | Etilmetilchetone | 80 |
| Cicloesano | 80 | Metanolo | 65 |
| Cloroformio | 61 | Tetracloruro di carbonio | 77 |
| Diclorometano | 41 | Piridina | 115 |
| Diossano | 101 | Tetraidrofurano | 66 |

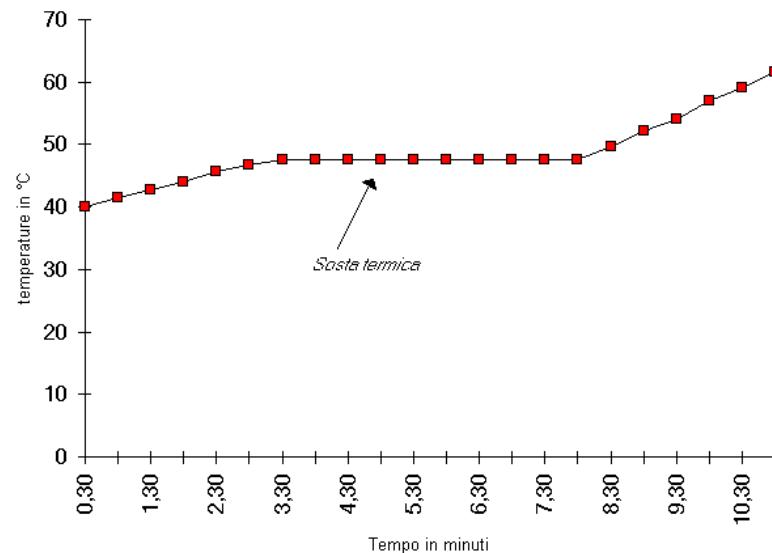


Per migliorare la cristallizzazione evitando la formazione di olii e la non riprecipitazione del solido si possono eseguire alcuni accorgimenti:

- si può aggiungere alla soluzione sovrassatura fredda un cristallo di composto puro;
- la cristallizzazione può iniziare grazie ad un sito di cristallizzazione, quale una bacchetta di vetro con una superficie irregolare;
- si può indurre la cristallizzazione sfregando il campione oleoso con una bacchetta di vetro;
- si può abbassare la temperatura della soluzione per diminuire la solubilità del campione;
- si può provare a concentrare a caldo la soluzione e successivamente raffreddare lentamente.

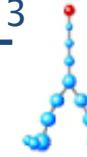


La fusione di un solido consiste nella distruzione della sua struttura cristallina quindi nella sua trasformazione in un liquido. La temperatura alla quale avviene tale passaggio è il punto di fusione.



Questa temperatura è caratteristica di una sostanza e può costituire un **elemento di identificazione** perché è praticamente indipendente dalla pressione esterna, mentre varia in presenza di sostanze estranee e per questo può costituire un **criterio di purezza**.

Le sostanze pure hanno un punto di fusione netto esattamente definito: il cambiamento di temperatura da solido a liquido avviene in 0.5–1 °C.



Le sostanze **solide amorfe** non hanno un punto di fusione netto, fondono in un intervallo di temperatura più ampio, il corpo amorfico prima diventa molle e poi un liquido.

Nelle **sostanze impure** l'intervallo di fusione può essere anche di alcuni gradi centigradi. Di regola un **intervallo di fusione** ampio indica che la sostanza è impura, ma può anche indicare che la sostanza si decompone durante la fusione.

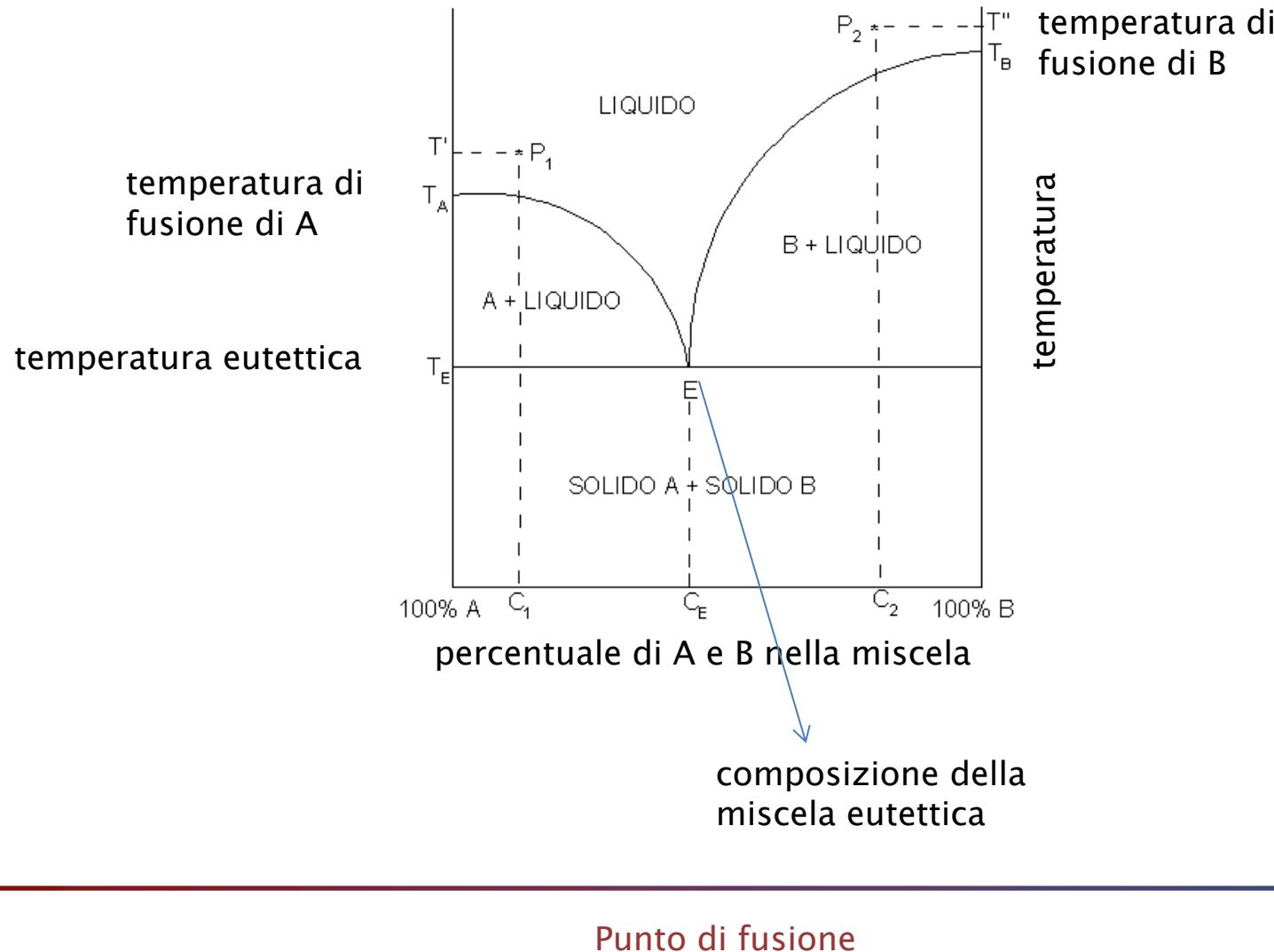
Nel punto di fusione la tensione di vapore del solido e del liquido si uguaggiano, se ci sono delle impurezze la tensione di vapore si abbassa e così farà anche il punto di fusione.

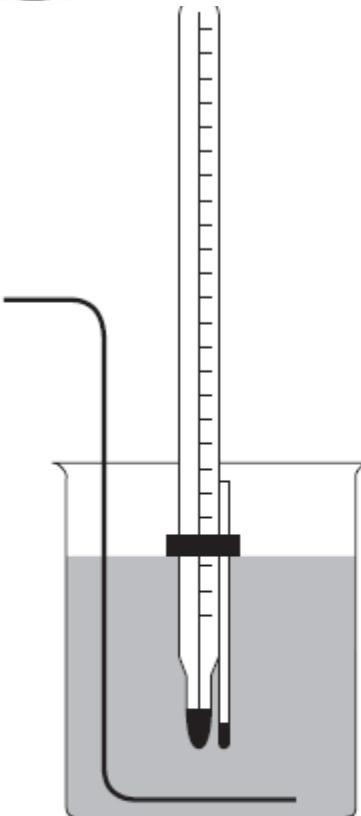
Nel caso di un **sistema binario** (miscela di due composti) al variare della composizione della miscela varia il valore del punto di fusione di entrambi i composti e la miscela fonderà in un intervallo più o meno ampio di temperatura.

In alcuni casi particolari, in corrispondenza di un definito valore della composizione della miscela, esiste un minimo della temp. di fusione detto **Temperatura eutettica**. Ciò significa che esiste un rapporto di miscelazione di queste due sostanze che durante la fusione si comportano come una sostanza pura e che hanno quindi un punto di fusione definito con precisione. Se il rapporto di miscelazione delle sostanze non è quello della miscela eutettica, la miscela inizia a fondere alla temperatura eutettica in una quantità corrispondente al rapporto eutettico. Successivamente i cristalli di uno dei due composti puri fonderanno all'interno di un intervallo di fusione.

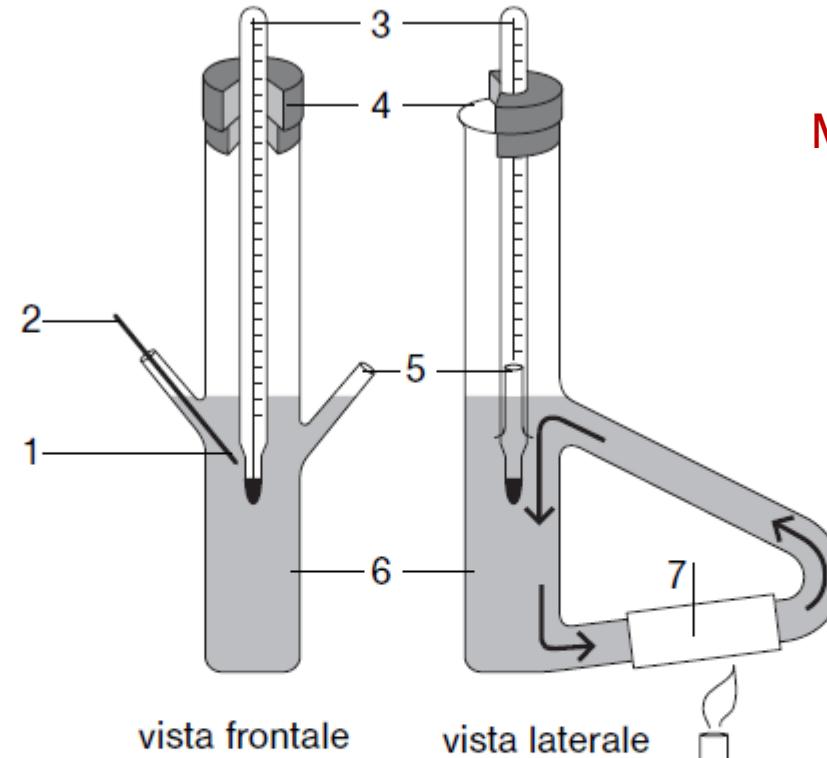


Diagramma di stato di una miscela binaria di A e B con punto eutettico



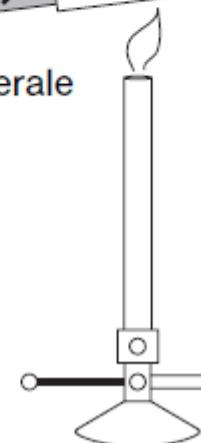


punto di fusione
in bicchiere



Metodi obsoleti

1. sostanza
2. tubo capillare
3. termometro
4. tappo in gomma con tacca
5. apertura per l'inserimento dei tubi capillari
6. liquido del bagno
7. rivestimento protettivo in lamiera



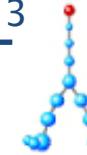


Ci sono sostanze che durante il processo di fusione si decompongono o che hanno la tendenza ad effettuare modificazioni polimorfe. Per queste sostanze la farmacopea prevede il **metodo del punto di fusione immediato**. Con questo metodo non si ha alcun effetto della temperatura sulla sostanza prima del raggiungimento del punto di fusione.

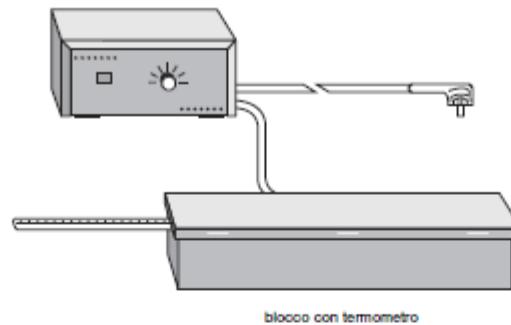
Il metodo si basa sul principio di un blocco di metallo riscaldabile che viene riscaldato in modo uniforme. Alcuni cristalli della sostanza da analizzare vengono sparsi su questo blocco ad intervalli regolari. La prima temperatura alla quale la sostanza fonde viene letta come t_1 . Il riscaldamento viene disinserito e durante il raffreddamento si continuano a spargere piccoli campioni della sostanza sul blocco ad intervalli regolari. t_2 è la temperatura alla quale la sostanza smette di fondere immediatamente quando tocca il metallo.

Il punto di fusione immediato risulta quindi dalla formula:

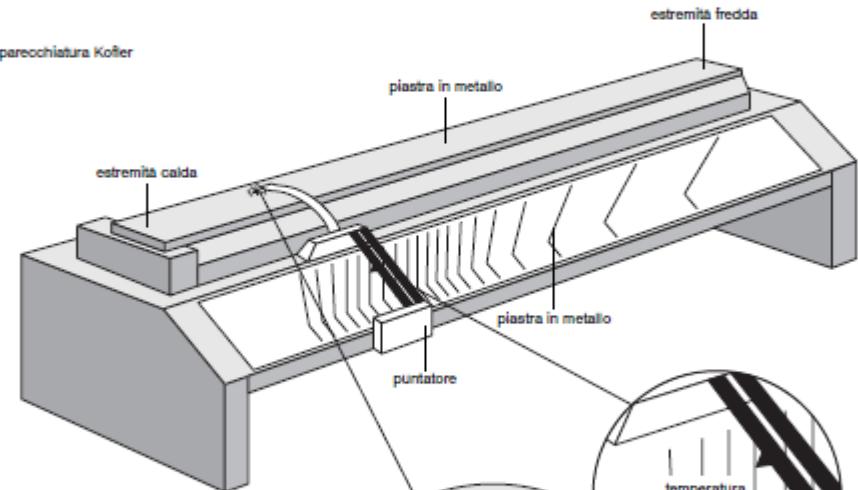
$$\frac{t_1 + t_2}{2}$$



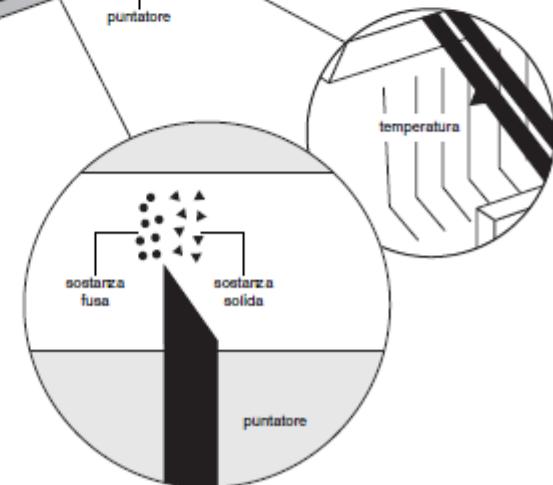
a) Bloc Maquenne

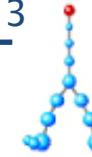


b) apparecchiatura Kofler



c) determinazione della temp. con il puntatore





Poiché il punto di fusione dipende dal metodo di determinazione (punto iniziale, velocità di riscaldamento, metodo di misurazione della temperatura) la Farmacopea ha previsto un metodo standard che prevede l'utilizzo dell'apparecchio per il punto di fusione dotato di fornetto elettrico, alloggiamento per tre capillari aperti e un oculare per osservare la fusione

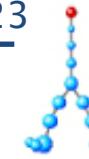
Metodo di farmacopea: inserire il campione a temperatura inferiore del p.f. di 10 °C, velocità di riscaldamento 1 °C / min

Sostanze chimicamente molto diverse possono avere punti di fusione molto simili.

Il punto di fusione diviene un sicuro mezzo di identificazione di un composto incognito solo se si ha a disposizione un campione autentico come confronto con cui effettuare il punto di fusione in miscela inserendo in un capillare il campione incognito, in uno lo standard e nel terzo la miscela e misurando in contemporanea il punto di fusione dei tre campioni



| Sostanza | Punto di fusione (°C) |
|-----------------------------------|-----------------------|
| Metano | -182.5 |
| Acqua | 0 |
| D(+)–Glucosio | 150-152 |
| Aldeide cinnamica | -7.5 |
| Eugenolo | -12 - -10 |
| Vanillina | 80-81 |
| Caffeina | 227-228 |
| Cloruro di sodio (sale da tavola) | 801 |



È il passaggio di una sostanza direttamente dallo stato solido a quello gassoso.

È applicabile solo a sostanze termostabili e dotate di **tensione di vapore sufficientemente elevata a temperatura inferiore a quella di fusione**.

I solidi, come i liquidi possiedono una tensione di vapore i cui valori risultano generalmente piccoli essendo le energie di legame maggiori nei solidi che nei liquidi.

Esistono tuttavia sostanze solide caratterizzate da alte tensioni di vapore.

Essenzialmente tale apparecchio è costituito da un tubo chiuso e munito di connessione per praticare il vuoto. Nel suo interno è inserito un condensatore raffreddato ad acqua. L'esterno del tubo è riscaldato nella parte terminale dove si trova la sostanza da sublimare.

