

Luigia Sabbatini • Cosimino Malitesta • Paolo Pastore

Chimica Analitica



Accedi all'ebook e ai contenuti digitali

Espandi le tue risorse

un libro che **non pesa**
e si **adatta** alle dimensioni
del **tuo lettore!**



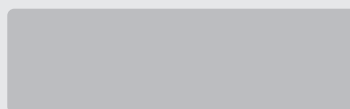
COLLEGATI AL SITO
EDISES.IT

ACCEDI AL
MATERIALE DIDATTICO

SEGUI LE
ISTRUZIONI

Utilizza il codice personale contenuto nel riquadro per registrarti al sito **edises.it** e attiva la tua **area riservata**. Potrai accedere alla **versione digitale** del testo e a ulteriore **materiale didattico**.

Scopri il tuo **codice personale** grattando delicatamente la superficie



Il volume NON può essere venduto, né restituito, se il codice personale risulta visibile.
L'**accesso al materiale didattico** sarà consentito **per 18 mesi**.

Per attivare i **servizi riservati**, collegati al sito **edises.it** e segui queste semplici istruzioni

Se sei registrato al sito

- clicca su *Accedi al materiale didattico*
- inserisci email e password
- inserisci le ultime 4 cifre del codice ISBN, riportato in basso a destra sul retro di copertina
- inserisci il tuo **codice personale** per essere reindirizzato automaticamente all'area riservata

Se non sei già registrato al sito

- clicca su *Accedi al materiale didattico*
- registrati al sito **edises.it**
- attendi l'email di conferma per perfezionare la registrazione
- torna sul sito **edises.it** e segui la procedura già descritta per *utenti registrati*



Ulteriori materiali e strumenti didattici sono accessibili dalla propria **area riservata** secondo la procedura indicata nel frontespizio.

Dalla sezione **materiali e servizi** della tua area riservata potrai accedere a:

- **Ebook**: versione digitale del testo in formato epub, standard dinamico che organizza il flusso di testo in base al dispositivo sul quale viene visualizzato. Fruibile mediante l'applicazione gratuita BookShelf, consente una visualizzazione ottimale su lettori e-reader, tablet, smartphone, iphone, desktop, Android, Apple e Kindle Fire.
- **Software di simulazione**: un database di quesiti a risposta multipla per effettuare esercitazioni sull'**intero programma** o su **argomenti specifici**.

L'accesso ai contenuti digitali sarà consentito per **18 mesi**.

Lungo le pagine del testo sono presenti dei **QRcode** (box, approfondimenti, paragrafi, esercizi di ricapitolazione, risposte agli esercizi di ricapitolazione, bibliografia), immediatamente visualizzabili su smartphone o tablet inquadrando il codice QR riportato alla pagina cartacea a cui si riferiscono. Potrai accedere a tali contenuti inserendo le tue credenziali solo al primo accesso (LOGIN).

Chimica Analitica

Coordinamento a cura di

Luigia Sabbatini
Cosimino Malitesta
Paolo Pastore



CHIMICA ANALITICA

Copyright © 2025 EdiSES Edizioni S.r.l. – Napoli

9 8 7 6 5 4 3 2 1 0
2029 2028 2027 2026 2025

Le cifre sulla destra indicano il numero e l'anno dell'ultima ristampa effettuata

A norma di legge è vietata la riproduzione, anche parziale, del presente volume o di parte di esso con qualsiasi mezzo.

L'Editore

L'Editore ha effettuato quanto in suo potere per richiedere il permesso di riproduzione del materiale di cui non è titolare del copyright e resta comunque a disposizione di tutti gli eventuali aventi diritto.

Fotocomposizione

Fotocomposizione TPM S.a.s. – Città di Castello (PG)

Stampato presso la

PrintSprint S.r.l. - Napoli

per conto della

EdiSES Edizioni S.r.l. – Piazza Dante Alighieri, 89 – Napoli

www.edises.it

assistenza.edises.it

ISBN 978 88 3623 194 2

I curatori, l'editore e tutti coloro in qualche modo coinvolti nella preparazione o pubblicazione di quest'opera hanno posto il massimo impegno per garantire che le informazioni ivi contenute siano corrette, compatibilmente con le conoscenze disponibili al momento della stampa; essi, tuttavia, non possono essere ritenuti responsabili dei risultati dell'utilizzo di tali informazioni e restano a disposizione per integrare la citazione delle fonti, qualora incompleta o imprecisa.

Realizzare un libro è un'operazione complessa e, nonostante la cura e l'attenzione poste dagli autori e da tutti gli addetti coinvolti nella lavorazione dei testi, l'esperienza ci insegna che è praticamente impossibile pubblicare un volume privo di imprecisioni. Saremo grati ai lettori che vorranno inviarci le loro segnalazioni e/o suggerimenti migliorativi sulla piattaforma assistenza.edises.it

Gli autori

Capitolo 1 – Elementi di statistica per la chimica analitica

PAOLO OLIVERI (COORDINATORE)

Università degli Studi di Genova

Professore Ordinario

paolo.oliveri@unige.it

MONICA CASALE

Università degli Studi di Genova

Professore Associato

monica.casale@unige.it

MICHELE FORINA

Università degli Studi di Genova

Già Professore Ordinario

michele.forina@alice.it

CRISTINA MALEGORI

Università degli Studi di Genova

Ricercatore

cristina.malegori@unige.it

Capitolo 2 – Validazione dei metodi analitici e controllo qualità

FEDERICA BIANCHI (COORDINATORE)

Università degli Studi di Parma

Professore Ordinario

federica.bianchi@unipr.it

MARIA CARERI

Università degli Studi di Parma

Professore Ordinario

maria.careri@unipr.it

SANDRA FURLANETTO

Università degli Studi di Firenze

Professore Ordinario

sandra.furlanetto@unifi.it

ALESSANDRO MANGIA

Università degli Studi di Parma

Già Professore Ordinario

mangia.alessandro@gmail.com

EMILIO MARENGO

Università del Piemonte Orientale

Professore Ordinario

emilio.marengo@uniupo.it

MONICA MATTAROZZI

Università degli Studi di Parma

Professore Associato

monica.mattarozzi@unipr.it

ELISA ROBOTTI

Università del Piemonte Orientale

Professore Associato

elisa.robotti@uniupo.it

Capitolo 3 – Campionamento, pretrattamento del campione e tecniche di estrazione

ALDO LAGANÀ (COORDINATORE)

Sapienza, Università di Roma

Professore Ordinario

aldo.lagana@uniroma1.it

LUIGI MONDELLO (COORDINATORE)

Università degli Studi di Messina

Professore Ordinario

luigi.mondello@unime.it

ANNA LAURA CAPRIOTTI
Sapienza, Università di Roma
Professore Associato
annalaura.capriotti@uniroma1.it

CHIARA CAVALIERE
Sapienza, Università di Roma
Professore Associato
chiara.cavaliere@uniroma1.it

CARMELA MARIA MONTONE
Sapienza, Università di Roma
Post-Doc
carmelamaria.montone@uniroma1.it

SUSY PIOVESANA
Sapienza, Università di Roma
Ricercatore
susy.piovesana@uniroma1.it

MARIOSIMONE ZOCCALI
Università degli studi di Messina
Ricercatore
mariosimone.zoccali@unime.it

Capitolo 4 – Equilibri chimici ed equilibri acido-base

VALERIO DI MARCO
Università degli Studi di Padova
Professore Associato
valerio.dimarco@unipd.it

PAOLO PASTORE
Università degli Studi di Padova
Professore Ordinario
paolo.pastore@unipd.it

Capitolo 5 – Equilibri di complessamento ed equilibri di precipitazione

VALERIO DI MARCO
Università degli Studi di Padova
Professore Associato
valerio.dimarco@unipd.it

PAOLO PASTORE
Università degli Studi di Padova
Professore Ordinario
paolo.pastore@unipd.it

Capitolo 6 – Equilibri redox ed equilibri di ripartizione

VALERIO DI MARCO
Università degli Studi di Padova
Professore Associato
valerio.dimarco@unipd.it

PAOLO PASTORE
Università degli Studi di Padova
Professore Ordinario
paolo.pastore@unipd.it

Capitolo 7 – Metodi volumetrici e titolazioni acido-base

VALERIO DI MARCO
Università degli Studi di Padova
Professore Associato
valerio.dimarco@unipd.it

PAOLO PASTORE
Università degli Studi di Padova
Professore Ordinario
paolo.pastore@unipd.it

Capitolo 8 – Titolazioni complessometriche, titolazioni per precipitazione e titolazioni redox

VALERIO DI MARCO
Università degli Studi di Padova
Professore Associato
valerio.dimarco@unipd.it

PAOLO PASTORE
Università degli Studi di Padova
Professore Ordinario
paolo.pastore@unipd.it

Capitolo 9 – Chimica elettroanalitica

SALVATORE DANIELE
Università Ca' Foscari Venezia
Già Professore Ordinario
sig@unive.it

COSIMINO MALITESTA
Università del Salento
Professore Ordinario
cosimino.malitesta@unisalento.it

GIUSEPPE EGIDIO DE BENEDETTO
Università del Salento
Professore Associato
giuseppe.debenedetto@unisalento.it

Capitolo 10 – Metodi spettroscopici di analisi

Sezione 10A – Introduzione ai metodi spettrochimici – Spettroscopie molecolari

MASSIMO BONINI
Università degli Studi di Firenze
Professore Associato
massimo.bonini@unifi.it

FRANCESCA RIDI
Università degli Studi di Firenze
Professore Associato
francesca.ridi@unifi.it

Sezione 10B – Spettroscopie atomiche

ORNELLA ABOLLINO
Università degli Studi di Torino
Professore Ordinario
ornella.abollino@unito.it

EMANUELE MAGI
Università degli Studi di Genova
Professore Ordinario
emanuelele.magi@unige.it

Capitolo 11 – Tecniche separative

ALBERTO CAVAZZINI (COORDINATORE)
Università degli Studi di Ferrara
Professore Ordinario
alberto.cavazzini@unife.it

MARTINA CATANI
Università degli Studi di Ferrara
Professore Associato
martina.catani@unife.it

LUIGI MONDELLO (COORDINATORE)
Università degli Studi di Messina
Professore Ordinario
luigi.mondello@unime.it

TATIANA CHENET
Università degli Studi di Ferrara
Ricercatore
tatiana.chenet@unife.it

CATIA CONTADO

Università degli Studi di Ferrara

Professore Associato

catia.contado@unife.it

PAOLA DONATO

Università degli Studi di Messina

Professore Associato

paolaagataeustochia.donato@unime.it

SIMONA FELLETTI

Università degli Studi di Ferrara

Ricercatore

simona.felletti@unife.it

LUISA PASTI

Università degli Studi di Ferrara

Professore Ordinario

luisa.pasti@unife.it

DANILO SCIARRONE

Università degli Studi di Messina

Professore Ordinario

danilo.sciarrone@unime.it

PETER TRANCHIDA

Università degli Studi di Messina

Professore Ordinario

peterquinto.tranchida@unime.it

MARIOSIMONE ZOCCALI

Università degli Studi di Messina

Ricercatore

mariosimone.zoccali@unime.it

Capitolo 12 – Spettrometria di massa

MARIA CARERI (COORDINATORE)

Università degli Studi di Parma

Professore Ordinario

maria.careri@unipr.it

CARLO BARBANTE

Università Cà Foscari Venezia

Professore Ordinario

barbante@unive.it

FEDERICA BIANCHI

Università degli Studi di Parma

Professore Ordinario

federica.bianchi@unipr.it

FEDERICA CAMIN

Università degli Studi di Trento

Professore Associato

federica.camin@unitn.it

TOMMASO CATALDI

Università degli Studi di Bari Aldo Moro

Professore Ordinario

tommaso.cataldi@uniba.it

ALESSANDRO MANGIA

Università degli Studi di Parma

Già Professore Ordinario

mangia.alessandro@gmail.com

Capitolo 13 – Tecniche ifenate

ALDO LAGANÀ (COORDINATORE)

Sapienza, Università di Roma

Professore Ordinario

aldo.lagana@uniroma1.it

LUIGI MONDELLO (COORDINATORE)

Università degli studi di Messina

Professore Ordinario

luigi.mondello@unime.it

ANNA LAURA CAPRIOTTI

Sapienza, Università di Roma

Professore Associato

annalaura.capriotti@uniroma1.it

CHIARA CAVALIERE

Sapienza, Università di Roma

Professore Associato

chiara.cavaliere@uniroma1.it

ANDREA CERRATO

Sapienza, Università di Roma

Post-Doc

andrea.cerrato@uniroma1.it

MONICA MATTAROZZI

Università degli Studi di Parma

Professore Associato

monica.mattarozzi@unipr.it

CARMELA MARIA MONTONE
Sapienza, Università di Roma
Post-Doc
carmelamaria.montone@uniroma1.it

SUSY PIOVESANA
Sapienza, Università di Roma
Ricercatore
susy.piovesana@uniroma1.it

PETER TRANCHIDA
Università degli studi di Messina
Professore Ordinario
peterquinto.tranchida@unime.it

Capitolo 14 – Chimica bioanalitica e biosensori

ALDO RODA (COORDINATORE)
Alma Mater Studiorum Università di Bologna
Professore Emerito
aldo.roda@unibo.it

LAURA ANFOSSI
Università degli Studi di Torino
Professore Ordinario
laura.anfossi@unito.it

FABIANA ARDUINI
Università degli Studi di Roma Tor Vergata
Professore Ordinario
fabiana.arduini@uniroma2.it

CLAUDIO BAGGIANI
Università degli Studi di Torino
Professore Ordinario
claudio.baggiani@unito.it

FRANCESCO BALDINI
CNR - IFAC
Dirigente di Ricerca
f.baldini@ifac.cnr.it

DARIO COMPAGNONE
Università degli Studi di Teramo
Professore Ordinario
dcompagnone@unite.it

AMBRA GIANNETTI
CNR - IFAC
Dirigente di Ricerca
a.giannetti@ifac.cnr.it

MARCO GIANNETTO
Università degli Studi di Parma
Professore Associato
marco.giannetto@unipr.it

GIOVANNA MARRAZZA
Università degli Studi di Firenze
Professore Ordinario
giovanna.marrazza@unifi.it

MARIA MINUNNI
Università degli Studi di Pisa
Professore Ordinario
maria.minunni@unipi.it

DANILA MOSCONE
Università degli Studi di Roma Tor Vergata
Già Professore Ordinario
danila.moscone@uniroma2.it

FRANCESCO RICCI
Università degli Studi di Roma Tor Vergata
Professore Ordinario
francesco.ricci@uniroma2.it

GIUSEPPE SPOTO
Università degli Studi di Catania
Professore Ordinario
giuseppe.spoto@unict.it

LUISA TORSI
Università degli Studi di Bari Aldo Moro
Professore Ordinario
luisa.torsi@uniba.it

PAOLO UGO
Università Ca' Foscari Venezia
Già Professore Ordinario
ugo@unive.it

Prefazione

La *Chimica Analitica* è giustamente definita disciplina *problem solving*, deputata, cioè, a raccogliere le sfide poste dalle esigenze sempre più complesse che emergono quotidianamente nel campo della Chimica, della Biologia, della Medicina, della Farmacologia, dei Beni Culturali, delle Scienze Ambientali, Agroalimentari, Forensi e dei Materiali, fornendo mezzi e competenze per individuare i problemi, razionalizzarli e suggerire soluzioni, attraverso la determinazione della composizione chimica dei sistemi d'interesse.

La richiesta sempre più pressante di analisi *in situ*, in *tempo reale*, su campioni complessi e spesso di dimensioni/quantità limitate è la spinta alla continua evoluzione della disciplina, sia dal punto di vista tecnico-strumentale che delle conoscenze di base: ogni tanto è quindi necessario *ripensare* un testo didattico che rappresenti un'*offerta* adeguata alla *domanda* di conoscenza posta da chi si accinge a diventare un operatore del settore.

Il testo è *multiautore*: i vari capitoli sono stati sviluppati da docenti e ricercatori selezionati in modo da garantire specifiche competenze negli argomenti, unitamente ad esperienza didattica. Impossibile ritenere di compendiare in un unico testo tutto il *sapere* relativo alla Chimica Analitica, occorre definire il target dei destinatari ed operare delle scelte. Il presente testo è rivolto agli studenti dei corsi di laurea in Chimica, Biologia, Biotecnologie, Scienze Ambientali, Farmacia, Scienze Alimentari e Scienze della Salute. Gli argomenti trattati possono coerentemente essere ripartiti tra i corsi del triennio di base e del successivo biennio di specializzazione. Il testo ha l'obiettivo di fornire, accanto ai fondamenti di conoscenza sul trattamento dei campioni, sull'approccio statistico per l'interpretazione e comprensione dei dati e sugli equilibri in soluzione, i principi e gli sviluppi delle tecniche strumentali di più largo impiego ed informazioni sui processi per l'assicurazione ed il controllo di qualità.

In particolare, i primi due capitoli descrivono strategie per trattare i dati delle analisi e massimizzare le informazioni, sottolineando l'importanza della qualità dei dati e della validazione dei metodi analitici al fine dell'attendibilità dei risultati.

Il terzo capitolo fornisce alcuni elementi di base per il campionamento, pretrattamento e conservazione del campione, descrivendo anche semplici dispositivi ed approcci operativi.

I capitoli dal quarto all'ottavo trattano gli equilibri in soluzione (acido-base, complessazione, precipitazione, ossido-riduzione) e le classiche tecniche di titolazione. Di rilievo in questa trattazione è l'approccio sistematico utilizzato per la definizione e risoluzione dei problemi. Gli autori desiderano far comprendere agli studenti che l'utilizzo di formule risolutive preconfezionate, a parte lo sforzo mnemonico richiesto, può non essere idoneo ad affrontare alcuni problemi che sono *out of the box*, che, cioè, non si collocano in tipologie ben definite. L'utilizzo di un approccio sistematico, la definizione del problema analitico attraverso la scrittura delle relazioni fra concentrazioni all'equilibrio e grandezze note e l'introduzione di ragionevoli approssimazioni per la semplificazione della risoluzione matematica, consente allo studente di risolvere problemi apparentemente molto complessi.

I capitoli dal nono al quattordicesimo sono dedicati alle tecniche strumentali di più largo impiego la cui conoscenza è imprescindibile bagaglio per chiunque operi in campo chimico analitico.

In particolare, il capitolo 9 è dedicato all'elettroanalisi: accanto alle tecniche elettroanalitiche classiche, a corrente zero o diversa da zero, sono descritti i metodi voltammetrici ad impulso ed un cenno alla coulometria.

Il capitolo 10 tratta i metodi spettroscopici di analisi ed è suddiviso in due sezioni: spettroscopia molecolare e spettroscopia atomica, con un panorama esaustivo sulle tecniche in assorbimento, emissione e fluorescenza.

Il capitolo 11 è dedicato alle tecniche di separazione, cromatografiche e non; quindi, accanto alla trattazione delle diverse tecniche di cromatografia gassosa e liquida, sia negli aspetti fondamentali che in quelli strumentali, sono descritte l'elettroforesi capillare e le tecniche di frazionamento in campo e flusso.

Il capitolo 12 riporta principi, dettagli strumentali e tecniche della spettrometria di massa, descrivendo le tre tipologie di interesse: la spettrometria di massa organica, inorganica per l'analisi elementare e a rapporto isotopico.

Il capitolo 13 rimarca come la sinergia fra le tecniche analitiche, realizzata con lo sviluppo delle cosiddette tecniche *ifenate*, consenta di affrontare lo studio di campioni di particolare complessità. In particolare, dimostra come la combinazione dei progressi tecnologici delle tecniche separative e della spettrometria di massa ad alta risoluzione sia stato determinante nello sviluppo delle scienze *-omiche*, che hanno come obiettivo la caratterizzazione dell'intero set di un gruppo di biomolecole di un sistema biologico, quali, ad esempio, proteine (proteomica) o metaboliti (metabolomica) o corredo genetico (genoma).

L'ultimo capitolo è sostanzialmente diviso in due sezioni: la prima parte è dedicata alla chimica bioanalitica e, dopo il richiamo a conoscenze di carattere generale su biomolecole, descrive i metodi di riconoscimento molecolare; la seconda parte è centrata sui sensori e, dopo una panoramica sulle varie tipologie, viene privilegiata la descrizione dei sensori di tipo elettrochimico ed ottico. Gli editori hanno voluto inserire questi argomenti che, tipicamente, sono trattati solo in testi di tipo specialistico, ritenendo che le caratteristiche di selettività, miniaturizzazione, capacità di misure in tempo reale ed in continuo, rendano i saggi bioanalitici ed i sensori strumenti insostituibili in numerosi campi applicativi.

Nei capitoli compaiono spesso *link* e *codici QR* che rinviano alla bibliografia specialistica e agli "APPROFONDIMENTI": qui vengono trattate tecniche strumentali importanti ma più *di nicchia* nel bagaglio classico del chimico analitico, aggiornamenti strumentali, note applicative di particolare rilievo, che integrano la panoramica sui vari argomenti, per quanti interessati appunto ad approfondire.

Molti capitoli sono corredati con esercizi/problemi a risposta aperta e tutti offrono, con collegamento ad apposito sito, un set di domande a risposta multipla, proposte con l'intento di consentire allo studente un'autovalutazione del livello di preparazione.

RINGRAZIAMENTI

I coordinatori ringraziano tutti i colleghi che si sono spesi nella scrittura del testo, soprattutto quanti hanno coordinato la stesura di alcuni capitoli di particolare complessità. Un sentito ringraziamento va anche ai colleghi Francesco Palmisano (UNIBA), Ilario Losito (UNIBA), Rosalba Calvini (UNIMORE), Gabriele Lando (UNIME) e Roberto Todeschini (UNIMIB) per la precisa e accurata revisione di alcune parti del testo e per i preziosi suggerimenti.

Indice generale

Capitolo 1

Elementi di statistica per la chimica analitica

1.1	Introduzione	1
1.2	Distribuzioni discrete e continue	3
1.3	Parametri statistici di posizione e dispersione	6
1.3.1	Parametri di posizione: media, mediana e moda	7
1.3.2	Parametri di dispersione: intervalli, varianza e deviazione standard	8
1.4	Tipologie di errori in chimica analitica	11
1.5	Legge di propagazione delle varianze	12
1.6	Le distribuzioni di probabilità	14
1.6.1	La distribuzione normale o gaussiana	14
1.6.2	Il teorema del limite centrale	15
1.6.3	Gli intervalli di fiducia	15
1.6.4	Le distribuzioni standardizzate	16
1.7	I test di significato	23
1.7.1	Test per il controllo della casualità	24
1.7.2	Test per l'identificazione di dati anomali (criterio Q e criterio G)	25
1.7.3	Test per il controllo della normalità	27
1.7.4	Test sulla media di un singolo campione (e caso limite su un singolo valore)	29
1.7.5	Test tra medie ottenute da due campioni differenti (e, caso limite, tra una media e un singolo valore)	32
1.7.6	Test per dati accoppiati	34
1.7.7	Test basati sulla variabile chi-quadrato	36
1.7.8	Test basati sulla variabile F di Fisher-Snedecor	37
1.8	Regressione univariata	41
1.8.1	Il metodo dei minimi quadrati	41

1.8.2	Effetto della progettazione (design) ..	46
1.8.3	Valutazione della qualità del modello ..	47
1.8.4	Metodo delle aggiunte standard e metodo dello standard interno	47
1.8.5	Regressione con il metodo di Passing-Bablok	50
1.8.6	Confronto tra metodi analitici	50
1.9	Cenni di analisi multivariata	51
1.9.1	Analisi delle componenti principali ...	51

QR1.1 Appendice 1.1 – Valori critici della distribuzione z

QR1.2 Appendice 1.2 – Valori critici della distribuzione t di Student

QR1.3 Appendice 1.3 – Valori critici della distribuzione η (test delle differenze quadratiche medie successive per il controllo della casualità)

QR1.4 Appendice 1.4 – Valori critici della distribuzione Q di Dixon

QR1.5 Appendice 1.5 – Valori critici della distribuzione G di Grubbs

QR1.6 Appendice 1.6 – Valori critici della distribuzione chi-quadrato

QR1.7 Appendice 1.7 – Valori critici della distribuzione F di Fisher

QR1.8 Esercizi di ricapitolazione

QR1.9 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

QR1.10 Bibliografia selezionata

Capitolo 2

Validazione dei metodi analitici e controllo qualità

2.1	Introduzione	57
2.2	Validazione dei metodi di analisi chimica ..	58
2.2.1	I metodi di prova	58

2.3	I diversi approcci alla validazione di un metodo analitico.....	60
2.4	Parametri di qualità.....	61
2.4.1	Selettività.....	62
2.4.2	Limite di rivelabilità e limite di quantificazione.....	62
2.4.3	Range dinamico e lineare.....	66
2.4.4	Accuratezza.....	67
2.4.5	Robustezza.....	71
2.5	Incertezza di misura nelle analisi chimiche..	71
2.5.1	Fondamenti della misurazione. Significato dell'incertezza di misura. Definizioni e riferimenti normativi....	71
2.5.2	Valutazione dell'incertezza di misura.....	73
2.5.3	Espressione del risultato analitico	77
2.5.4	Ruolo dell'incertezza nella dichiarazione di conformità e nei processi decisionali.....	78
2.6	Disegno degli esperimenti per la convalida analitica.....	79
2.6.1	Introduzione.....	79
2.6.2	Variabili indipendenti o fattori.....	79
2.6.3	Variabile dipendente o risposta.....	81
2.6.4	Tipologie di disegno sperimentale e corrispondenti modelli matematici ..	81
2.6.5	Piano sperimentale.....	83
2.6.6	Elaborazione dei dati.....	87
2.6.7	Considerazioni finali.....	91
2.7	Carte di controllo.....	92
2.7.1	Carte di Shewhart.....	92
2.7.2	Costruzione delle carte di controllo...	95
2.7.3	Uso efficace delle carte di controllo...	98
2.7.4	Altre carte di controllo.....	100

QR2.1 Box 2.10 Verifica della robustezza di un metodo di analisi

QR2.2 2.8 Chimica analitica di processo

QR2.3 Bibliografia selezionata

Capitolo 3

Campionamento, pretrattamento del campione e tecniche di estrazione.....

105

3.1	Campionamento, pretrattamento e conservazione del campione.....	105
-----	---	-----

3.2	Metodi di estrazione e fondamenti teorici.	106
3.2.1	Metodi di estrazione basati sull'utilizzo di solventi.....	109
3.2.2	Metodi di estrazione basati sull'utilizzo di adsorbenti.....	115
3.2.3	Metodi di estrazione basati sull'utilizzo di membrane.....	122
3.2.4	Metodi di estrazione diretti.....	125

QR3.1 Bibliografia selezionata

Capitolo 4

Equilibri chimici ed equilibri acido-base.....

127

4.1	Introduzione.....	127
4.2	Equilibrio chimico.....	128
4.2.1	La legge dell'azione di massa.....	128
4.2.2	Attività e concentrazione.....	129
4.2.3	Il principio di Le Chatelier.....	129
4.2.4	Operazioni sulle costanti di equilibrio.....	130
4.2.5	Calcolo delle concentrazioni all'equilibrio.....	132
4.3	Equilibri acido-base.....	138
4.3.1	Il pH.....	139
4.3.2	Autoprotolisi dell'acqua.....	139
4.3.3	Costante di acidità e costante di basicità.....	140
4.3.4	Soluzioni contenenti un acido forte...	141
4.3.5	Soluzioni contenenti una base forte..	144
4.3.6	Soluzioni contenenti un acido debole.....	146
4.3.7	Soluzioni contenenti una base debole.....	153
4.3.8	Soluzioni contenenti un acido debole carico (oppure una base debole carica).....	154
4.3.9	Soluzioni contenenti un acido debole e la sua base coniugata.....	155
4.3.10	Soluzioni contenenti due (o più) acidi forti (oppure due o più basi forti).	159
4.3.11	Soluzioni contenenti due (o più) acidi (o due o più basi) di cui almeno uno debole.....	159
4.3.12	Soluzioni contenenti un acido e una base non coniugata.....	162
4.3.13	Il bilancio protonico.....	168

4.3.14 Frazioni di distribuzione	171
4.3.15 Diagrammi di distribuzione	173
4.3.16 Tamponi.....	174
4.4 Equilibri acido-base dei sistemi diprotici	179
4.4.1 Soluzioni contenenti un acido diprotico	181
4.4.2 Soluzioni contenenti una base diprotica	183
4.4.3 Soluzioni contenenti un anfolita.....	184
4.4.4 Soluzioni contenenti miscele acido-base coniugate	186
4.4.5 Frazioni di distribuzione	188
4.4.6 Diagrammi di distribuzione	190
4.5 Equilibri acido-base di sistemi poliprotici...	191
4.5.1 Soluzioni contenenti specie acido-base poliprotiche.....	192
4.5.2 Frazioni e diagrammi di distribuzione...	194
4.6 Chimica in soluzione acquosa dell'anidride carbonica/idrogenocarbonato/carbonato....	196
4.6.1 Evaporazione.....	197
4.6.2 Carbonatazione.....	197
4.7 Equilibri acido-base in soluzioni non acquose.....	199
4.7.1 Autoprotolisi e "pH"	199
4.7.2 Soluzioni di acidi.....	200
4.7.3 Soluzioni di basi.....	201
4.7.4 Calcolo delle concentrazioni all'equilibrio	201

QR4.1 Approfondimento 4.1 – Metodi numerici iterativi

QR4.2 Approfondimento 4.2 – Diagramma di Flood per acidi deboli e per basi deboli

QR4.3 Approfondimento 4.3 – Soluzioni contenenti un acido debole e una base debole non equiconcentrati

QR4.4 Approfondimento 4.4 – Bilancio protonico

QR4.5 Approfondimento 4.5 – Potere tamponante di miscele di coppie acido-base e di acidi/basi poliprotici

QR4.6 Approfondimento 4.6 – Il sistema cromato/dicromato

QR4.7 Esercizi di ricapitolazione

QR4.8 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

Capitolo 5

Equilibri di complessamento ed equilibri di precipitazione

5.1 Equilibri di complessamento	203
5.1.1 Complessi metallo-legante	204
5.1.2 Effetto di chelazione ed effetto macrociclico.....	204
5.1.3 Costanti di equilibrio a stadi e costanti di equilibrio globali	206
5.1.4 Calcolo delle concentrazioni all'equilibrio	208
5.1.5 Frazioni di distribuzione	211
5.1.6 Diagrammi di distribuzione	212
5.2 Equilibri di complessamento in presenza di equilibri competitivi	214
5.2.1 Reazione di dissociazione basica dei leganti	215
5.2.2 Idrolisi degli ioni metallici	217
5.2.3 Reazioni di dissociazione acido-base dei complessi	218
5.3 Equilibri di complessamento in presenza di reazioni di dissociazione acido-base di Brønsted a pH noto	218
5.3.1 Concentrazioni condizionali	219
5.3.2 Costanti condizionali	220
5.3.3 Calcolo delle concentrazioni all'equilibrio	225
5.3.4 Diagrammi di distribuzione	226
5.4 Altre grandezze utilizzate per quantificare la stabilità di complessi	226
5.5 Acido etilendiamminotetracetico (EDTA)...	227
5.5.1 Altri chelanti di interesse chimico-analitico	228
5.6 Equilibri di precipitazione di composti molecolari poco solubili	229
5.6.1 Introduzione	229
5.6.2 Calcolo delle concentrazioni all'equilibrio	230
5.6.3 Presenza di equilibri competitivi acido-base	231
5.6.4 Presenza di equilibri competitivi di complessamento	235
5.6.5 Concentrazioni condizionali, costanti condizionali e diagrammi di distribuzione	236

5.7	Equilibri di precipitazione di sali poco solubili.....	237
5.7.1	Miscela di due sali poco solubili aventi uno ione in comune.....	241
5.7.2	Presenza di equilibri competitivi acido-base.....	242
5.7.3	Presenza di equilibri competitivi di complessamento.....	245
5.7.4	Formazione di complessi tra l'anione e il catione del sale.....	245
5.8	Soluzioni di idrossidi metallici poco solubili..	248
5.8.1	Presenza di idrolisi.....	249

QR5.1 Approfondimento 5.1 – Esempio di calcolo per tracciare il diagramma di $\log\beta'$ in funzione del pH

QR5.2 Approfondimento 5.2 – Calcolo delle concentrazioni all'equilibrio per un acido/base poco solubile a pH noto

QR5.3 Approfondimento 5.3 – Diagrammi di distribuzione di composti poco solubili in presenza di equilibri competitivi

QR5.4 Approfondimento 5.4 – Calcolo di pH e solubilità di un sale poco solubile nel quale l'anione e/o il catione sottostanno ad equilibri competitivi acido-base

QR5.5 Esercizi di ricapitolazione

QR5.6 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

Capitolo 6

Equilibri redox ed equilibri di ripartizione..... 255

6.1	Equilibri redox.....	255
6.1.1	Analogie e differenze con altre reazioni all'equilibrio.....	256
6.1.2	Celle galvaniche.....	257
6.1.3	Potenziale elettrodico e potenziali elettrodi standard.....	260
6.1.4	Misura, convenzioni e manipolazioni dei potenziali elettrodi.....	261
6.1.5	La condizione di equilibrio.....	264
6.1.6	Calcolo delle concentrazioni all'equilibrio in soluzioni contenenti due coppie redox.....	266
6.1.7	Diagrammi di distribuzione.....	268
6.2	Equilibri redox in presenza di equilibri competitivi.....	270
6.2.1	Equilibri competitivi di precipitazione..	270

6.2.2	Equilibri competitivi di complessamento.....	272
6.2.3	Equilibri competitivi acido-base.....	272
6.3	Stabilità di coppie redox in acqua.....	276
6.4	Diagrammi pH/potenziale.....	277
6.5	Equilibri di ripartizione.....	279
6.5.1	Costante di ripartizione.....	280
6.5.2	Efficienza estrattiva.....	281
6.6	Equilibri di ripartizione in presenza di reazioni competitive.....	284
6.6.1	Reazioni acido-base in fase acquosa.....	285
6.6.2	Formazione di dimeri in fase organica.....	290
6.6.3	Reazioni di complessamento in fase acquosa.....	293
6.6.4	Ditizione.....	295
6.7	Equilibri di ripartizione per la separazione tra due analiti.....	297
6.7.1	Effetto del coefficiente di distribuzione e dei volumi.....	297
6.7.2	Effetto della ripetizione delle estrazioni.....	299
6.7.3	Effetto del pH della fase acquosa.....	300

QR6.1 Approfondimento 6.1 – Diagramma pH/potenziale per il ferro

QR6.2 Approfondimento 6.2 – Separazione di due ioni metallici mediante variazione del pH sfruttando equilibri di ripartizione con ditizione

QR6.3 Esercizi di ricapitolazione

QR6.4 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

Capitolo 7

Metodi volumetrici e titolazioni acido-base..... 303

7.1	Metodi gravimetrici e metodi volumetrici.....	303
7.2	Generalità sulle titolazioni.....	304
7.2.1	Punto di equivalenza e punto di fine.....	304
7.2.2	Soluzioni a concentrazione accuratamente nota.....	305
7.2.3	Concentrazioni stechiometriche durante una titolazione.....	306
7.2.4	Grado di titolazione ed errore di titolazione.....	307

7.2.5	Curve di titolazione.....	308
7.2.6	Titolazioni di stechiometria diversa da 1:1.....	308
7.3	Titolazioni acido-base di un acido monoprotonico o di una base monoprotica.....	309
7.3.1	Titolazioni acido forte-base forte.....	310
7.3.2	Titolazioni base forte-acido forte.....	314
7.3.3	Titolazioni acido debole-base forte..	315
7.3.4	Titolazioni base debole-acido forte..	319
7.4	Caratteristiche grafiche delle curve di titolazione acido-base.....	321
7.4.1	Valore del pH al punto di equivalenza.....	321
7.4.2	Valore del pH a metà titolazione.....	322
7.4.3	Pendenza della curva di titolazione..	322
7.4.4	Salto di pH al punto di equivalenza..	325
7.4.5	Curvatura e flessi.....	326
7.4.6	Simmetria della curva di titolazione rispetto al punto di equivalenza.....	327
7.5	Quantitatività.....	327
7.6	Titolazioni di miscele di due acidi.....	328
7.6.1	Acidi di forza molto diversa.....	329
7.6.2	Acidi di forza simile.....	331
7.7	Titolazioni di altre miscele.....	331
7.8	Titolazioni di specie acido-base poliprotiche.....	332
7.8.1	Titolazioni di acidi diprotici.....	332
7.8.2	Titolazioni di basi diprotiche.....	333
7.8.3	Titolazioni di anfoliti di sistemi diprotici.....	333
7.8.4	Titolazioni di altre specie acido-base poliprotiche.....	335
7.9	Titolazioni acido debole-base debole e base debole-acido debole.....	335
7.10	Metodi per la determinazione sperimentale del punto di fine in una titolazione.....	335
7.10.1	Indicatori colorimetrici acido-base...	335
7.10.2	Misura del pH mediante elettrodo....	339
7.11	Esattezza e precisione delle titolazioni.....	343
7.11.1	Titolazioni acido forte-base forte e base forte-acido forte.....	344
7.11.2	Altre titolazioni.....	346
7.12	Titolazioni acido-base in solventi non acquosi.....	347

QR7.1 Approfondimento 7.1 – Utilizzo dell'errore di titolazione per il calcolo delle curve di titolazione acido-base

QR7.2 Approfondimento 7.2 – Calcolo delle derivate per una curva di titolazione acido forte-base forte

QR7.3 Approfondimento 7.3 – Titolazioni acido debole-base debole e base debole-acido debole

QR7.4 Approfondimento 7.4 – Esattezza e precisione di altre titolazioni

QR7.5 Esercizi di ricapitolazione

QR7.6 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

Capitolo 8

Titolazioni complessometriche, titolazioni per precipitazione e titolazioni redox..... **349**

8.1	Titolazioni complessometriche.....	349
8.1.1	L'EDTA come titolante.....	351
8.1.2	Titolazione di uno ione metallico.....	351
8.1.3	Titolazioni di miscele di ioni metallici.....	356
8.1.4	Titolazioni per mascheramento.....	359
8.1.5	Indicatori colorimetrici.....	360
8.1.6	Esattezza e precisione delle titolazioni.....	362
8.1.7	Scelta del pH opportuno.....	363
8.1.8	Titolazioni dirette, di ritorno e per spostamento.....	365
8.2	Titolazioni per precipitazione.....	367
8.2.1	Titolazioni di stechiometria 1:1.....	368
8.2.2	Titolazioni di stechiometria diversa da 1:1.....	371
8.2.3	Titolazioni di miscele.....	373
8.2.4	Controllo del pH.....	377
8.2.5	Indicatori colorimetrici e metodo di Mohr.....	378
8.2.6	Esattezza e precisione delle titolazioni.....	379
8.3	Titolazioni redox.....	380
8.3.1	Titolazioni di stechiometria 1:1.....	380
8.3.2	Titolazioni di stechiometria diversa da 1:1.....	386
8.3.3	Presenza di reazioni competitive.....	389
8.3.4	Altre titolazioni redox.....	390
8.3.5	Indicatori colorimetrici.....	391
8.3.6	Esattezza e precisione delle titolazioni.....	392
8.3.7	Titolazioni iodometriche indirette....	392

QR8.1 Approfondimento 8.1 – Determinazione del pH ottimale di una titolazione complessometrica in presenza di indicatore

QR8.2 Approfondimento 8.2 – Titolazioni redox con dicromato

QR8.3 Esercizi di ricapitolazione

QR8.4 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

Capitolo 9

Chimica elettroanalitica 397

9.1 Introduzione e classificazione dei metodi elettroanalitici.....	397
9.2 Celle elettrochimiche.....	399
9.2.1 Celle a concentrazione.....	402
9.2.2 Celle in condizioni di equilibrio - Misura del potenziale di cella.....	403
9.2.3 Potenziale di giunzione liquida - Celle con e senza giunzione liquida.....	403
9.3 Metodi elettroanalitici a corrente nulla (o statici).....	406
9.3.1 Potenziometria.....	407
9.4 Metodi elettroanalitici a corrente diversa da zero (o dinamici).....	420
9.4.1 Metodi elettroanalitici a potenziale controllato.....	422
9.4.2 Cinetica elettrodoica: trasferimento di carica all'interfase e trasferimento di massa. Processi elettrochimicamente reversibili e non reversibili.....	426
9.4.3 Tecniche a stato di diffusione costante (Tecniche voltammetriche di stato stazionario).....	437
9.4.4 Tecniche a stato di diffusione dipendente dal tempo. Curve voltammetriche con picco.....	443
9.4.5 Metodi di titolazione: titolazioni in cui vi è passaggio di corrente in cella.....	454
9.5 Cenni sulla strumentazione e condizioni sperimentali.....	460
9.5.1 Sistemi elettrodoici.....	460
9.5.2 Solventi ed elettroliti di supporto.....	462
9.5.3 Caratteristiche elettrochimiche del sistema solvente-elettrolita-elettrodo di lavoro.....	462
9.6 Campi di applicazione delle tecniche elettroanalitiche.....	464

9.6.1 Applicazioni della potenziometria	464
9.6.2 Applicazioni dei metodi di analisi voltammetrica.....	464

QR9.1 Approfondimento 9.1 – Conduttometria

QR9.2 Approfondimento 9.2 – Coulometria

QR9.3 Approfondimento 9.3 – Strumentazione (elettrodi di lavoro, celle elettrochimiche) e condizioni sperimentali

QR9.4 Esercizi di ricapitolazione

QR9.5 Risposte agli esercizi di ricapitolazione

Capitolo 10

Metodi spettroscopici di analisi 467

Capitolo 10A

Introduzione ai metodi spettrochimici – Spettroscopie molecolari..... 469

10A.1 Introduzione – Fondamenti.....	469
10A.1.1 La nascita della spettroscopia moderna.....	469
10A.1.2 Lo spettro elettromagnetico.....	470
10A.1.3 Tecniche spettroscopiche.....	479
10A.2 Fondamenti delle spettroscopie molecolari.....	480
10A.2.1 Livelli elettronici, vibrazionali e rotazionali.....	480
10A.2.2 Spettroscopie di assorbimento.....	480
10A.2.3 Spettroscopie di emissione.....	481
10A.2.4 La legge di Beer.....	482
10A.3 Spettroscopie di assorbimento molecolare nell'ultravioletto, nel visibile e nel vicino infrarosso.....	485
10A.3.1 Spettroscopie di assorbimento molecolare nell'ultravioletto e nel visibile.....	485
10A.4 Fotoluminescenza: fluorescenza molecolare, fosforescenza e chemiluminescenza.....	509
10A.4.1 Fluorescenza molecolare.....	509
10A.4.2 Fosforescenza.....	523
10A.4.3 Chemiluminescenza.....	525
10A.5 Spettroscopie vibrazionali: assorbimento nell'infrarosso e spettroscopia Raman.....	526

QR10A.1 Paragrafi 10A.5.1-10A.5.8. Assorbimento nell'infrarosso e spettroscopia Raman: principi base, aspetti strumentali ed esempi applicativi

QR10A.2 Bibliografia selezionata

Capitolo 10B

Spettroscopie atomiche 529

10B.1	Energia, specie atomiche, spettri.....	529
10B.1.1	Spettri atomici e ampiezza delle righe spettrali.....	531
10B.2	Equazione di Boltzmann e popolazione dei livelli energetici.....	533
10B.3	Spettroscopia di emissione atomica (<i>Atomic Emission Spectroscopy</i> , AES).....	535
10B.3.1	Sorgente a plasma.....	536
10B.3.2	Introduzione del campione.....	541
10B.3.3	Sistemi alternativi di introduzione del campione.....	543
10B.3.4	Selettori di lunghezza d'onda ed analisi multielemento.....	544
10B.3.5	Caratteristiche, vantaggi e limiti della spettroscopia atomica di emissione.....	545
10B.4	Spettroscopia di assorbimento atomico (<i>Atomic Absorption Spectroscopy</i> , AAS).....	546
10B.4.1	Introduzione.....	546
10B.4.2	Assorbimento di radiazioni da parte degli atomi.....	547
10B.4.3	Schema di uno spettrometro di assorbimento atomico.....	549
10B.4.4	Parametri di qualità delle analisi basate su AAS.....	560
10B.4.5	Applicazioni della spettroscopia di assorbimento atomico.....	561
10B.5	Le interferenze nella spettroscopia atomica di emissione e di assorbimento.....	562
10B.5.1	Interferenze fisiche.....	562
10B.5.2	Interferenze chimiche.....	563
10B.5.3	Interferenze da ionizzazione.....	565
10B.5.4	Interferenze spettrali.....	566
10B.6	Spettroscopia di fluorescenza atomica....	567
10B.6.1	Introduzione.....	567
10B.6.2	Emissione di radiazioni di fluorescenza.....	567
10B.6.3	Schema di uno spettrometro di fluorescenza atomica.....	569

10B.6.4	Interferenze e segnale di fondo.	571
10B.6.5	Considerazioni conclusive sulla AFS.....	572

QR10B1 Approfondimento 10B.1 – Nebulizzatori e camere di nebulizzazione

QR10B2 Approfondimento 10B.2 – Esempio applicativo della tecnica combinata HPLC-ICP

QR10B3 Approfondimento 10B.3 – Cause di errore nella misura strumentale

QR10B4 Approfondimento 10B.4 – Interferenze chimiche e metodo delle aggiunte standard

Capitolo 11

Tecniche separative 573

11.1.	Cromatografia.....	573
11.1.1	Introduzione alla cromatografia.....	573
11.1.2.	L'influenza della termodinamica in cromatografia: il concetto di ritenzione.....	575
11.1.3	L'influenza della cinetica in cromatografia: la forma del picco e il concetto di efficienza.....	578
11.1.4	Equazione di van Deemter.....	581
11.1.5	Selettività, risoluzione e capacità di picco.....	582
11.1.6	Analisi qualitativa e quantitativa.....	583
11.2	Cromatografia liquida.....	585
11.2.1	Strumentazione.....	585
11.2.2	Principali tecniche HPLC.....	592
11.2.3	Cromatografia preparativa.....	601
11.2.4	Miniaturizzazione della cromatografia liquida.....	603
11.3	Gascromatografia.....	604
11.3.1	Introduzione.....	604
11.3.2	Strumentazione.....	605
11.3.3	Iniettori per gascromatografia.....	605
11.3.4	Rivelatori per gascromatografia.....	610
11.3.5	Colonne per gascromatografia.....	617
11.3.6	Condizioni operative in GC.....	620
11.3.7	Allargamento di banda in gascromatografia - Teoria della velocità.....	629
11.3.8	Applicazioni della gascromatografia..	631
11.4	Cromatografia a fluido supercritico (SFC)..<	632
11.4.1	Applicazioni.....	633
11.5	Cromatografia chirale.....	634

11.6 Tecniche separative non cromatografiche: elettroforesi capillare	635
11.6.1 Introduzione	635
11.6.2 Principi base	635
11.6.3 Strumentazione	639
11.6.4 Modalità di funzionamento	640
11.6.5 Applicazioni	642
11.7 Tecniche separative non cromatografiche: frazionamento in campo e flusso	644
11.7.1 Introduzione	644

QR11.1 Approfondimento 11.1 – Iniettori e *liner* per gas-cromatografia

QR11.2 Approfondimento 11.2 – Allargamento di banda

QR11.3 Paragrafi 11.7.2-11.7.7 – Tecniche di frazionamento in campo e flusso

QR11.4 Bibliografia selezionata

Capitolo 12

Spettrometria di massa

12.1 Introduzione alla spettrometria di massa...	647
12.2 Spettrometria di massa organica: principi e strumentazione	648
12.2.1 Sistema di introduzione del campione.	650
12.2.2 Sorgenti di ionizzazione	651
12.2.3 Analizzatori di massa	662
12.2.4 Rivelatori di ioni in spettrometria di massa	678
12.3 Spettrometria di massa tandem ed analizzatori ibridi	681
12.3.1 Spettrometria di massa tandem nello spazio e nel tempo	682
12.3.2 Modalità operative MS/MS in spettrometria di massa tandem	684
12.4 Data system: controllo dello spettrometro di massa, acquisizione e memorizzazione degli spettri di massa	685
12.5 Elaborazione dei segnali negli spettri di massa	686
12.6 Analisi qualitativa e quantitativa	686
12.6.1 Analisi qualitativa: determinazione della formula empirica	687
12.6.2 Analisi qualitativa: determinazione della formula chimica dalla massa accurata	689

12.7 Spettrometria di massa per l'analisi elementare: principi e strumentazione	689
12.7.1 Spettrometria di massa con sorgente di ionizzazione al plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS) – Strumentazione	690
12.7.2 Interferenze	697
12.7.3 Metodi di analisi in ICP-MS	698
12.7.4 Confronto tra ICP-MS e tecniche spettroscopiche per l'analisi elementare	699

QR12.1 Approfondimento 12.1 – Confronto tra massa monoisotopica, massa molecolare e massa nominale di alcuni elementi e composti di varia natura

QR12.2 Approfondimento 12.2 – Applicazioni strumentali della spettrometria di massa per l'analisi elementare

QR12.3 Paragrafo 12.8 – Spettrometria di massa a rapporto isotopico: principi e strumentazione

Capitolo 13

Tecniche ifenate

13.1 Introduzione – Fondamenti	701
13.2 Accoppiamento della spettrometria di massa con le tecniche cromatografiche ed elettroforesi capillare	704
13.2.1 GC-MS	705
13.2.2 LC-MS	706
13.2.3 CE-MS	707
13.2.4 Acquisizione, elaborazione e interpretazione dei dati	709
13.2.5 Altre tecniche ifenate	710
13.3 Applicazioni	711
13.3.1 Analisi di inquinanti organici persistenti	712
13.3.2 Proteomica	712
13.3.3 Metabolomica	715

QR13.1 Approfondimento 13.1 – Esempi di applicazioni della GC-MS classificati sulla base dell'analizzatore di massa

QR13.2 Bibliografia selezionata

Capitolo 14**Chimica bioanalitica e biosensori**

14.1 Metodi bioanalitici.....	717
14.1.1 Biomolecole e riconoscimento molecolare.....	718
14.1.2 Principio della misura nei metodi ligando-legante.....	727
14.1.3 Esempi di applicazioni analitiche dei metodi immunologici.....	735
14.2 Biosensori.....	737
14.2.1 Introduzione e classificazione	737
14.2.2 Biosensori elettrochimici.....	738
14.2.3 Biosensori ottici.....	754
QR14.1 Approfondimento 14.1 – Produzione di anticorpi	
QR14.2 Approfondimento 14.2 – Struttura degli acidi nucleici e quantificazione del DNA	
QR14.3 Approfondimento 14.3 – Come si misura il tempo di decadimento	
QR14.4 Approfondimento 14.4 – (Bio)Sensori cellulari basati su tecnologia del <i>gene reporter</i>	

QR14.5 Approfondimento 14.5 – (Bio)Sensori SERS**QR14.6** Paragrafo 14.2.4 – Biosensori piezoelettrici**Appendici**

QRApp.A Valori delle costanti di acidità (pK_a) in soluzione acquosa per vari acidi raggruppati per tipologia ed elencati in ordine alfabetico. Per ogni acido poliprotico, la prima costante riportata è la pK_{a1} , la seconda è la pK_{a2} , e così via.

QRApp.B Costanti di formazione ($\log\beta$) dei complessi MY che si formano tra vari ioni metallici M^{r+} ed EDTA (Y^{4-}) in soluzione acquosa (le costanti sono riferite alla reazione $M^{r+} + Y^{4-} \rightleftharpoons MY^{r-4}$)

QRApp.C Costanti di solubilità (K_s) di sali e idrossidi poco solubili in soluzione acquosa

QRApp.D Semireazioni redox e valori dei rispettivi potenziali elettrodi standard (E^0) espressi in volt

QRApp.E Appendice E – Tavola periodica**Indice analitico** **779**



7

Metodi volumetrici e titolazioni acido-base

7.1 Metodi gravimetrici e metodi volumetrici

La conoscenza delle reazioni all'equilibrio viste nei Capitoli dal 4 al 6 ha permesso, fin dal secolo XIX, lo sviluppo di metodi analitici basati su tali equilibri. Questi metodi sono denominati *classici*, per distinguerli da quelli strumentali (inventati solo dopo la metà del XX secolo e qui trattati nei Capitoli dal 9 in poi), e possono essere suddivisi in due grandi categorie: i *metodi gravimetrici* (dal latino *gravis*, pesante), basati su misure di massa, e i *metodi volumetrici*, che invece sono basati su misure di volume.

I metodi gravimetrici, nella loro formulazione più generale, consistono nell'aggiunta di un eccesso di reattivo alla soluzione contenente l'*analita* (la sostanza da analizzare). Il reattivo reagisce con l'analita producendo un composto poco solubile che può essere separato dalla soluzione attraverso una filtrazione. La quantità di analita può essere quindi determinata mediante una pesata accurata del prodotto della reazione. Pur se concettualmente molto semplici, i metodi gravimetrici soffrono di alcune limitazioni pratiche molto serie, che includono in particolare la lentezza delle procedure e la facilità di incorrere in errori molto rilevanti nell'analisi. Per tali motivi essi, pur utilizzati in passato, rivestono oggi un interesse molto limitato. In questo testo non saranno trattati i metodi gravimetrici.

I metodi volumetrici, al contrario, restano a tutt'oggi molto utilizzati in virtù della loro semplicità, economicità, rapidità e della elevata accuratezza dei risultati ottenuti. Il presente capitolo e il Capitolo 8 sono dedicati ai metodi volumetrici di analisi, più semplicemente denominati *titolazioni*.

7.2 Generalità sulle titolazioni

Il metodo delle titolazioni prevede di aggiungere gradualmente una soluzione al campione contenente l'analita. La soluzione aggiunta contiene una sostanza, denominata *titolante*, che ha una concentrazione (*titolo*) accuratamente nota. Il titolante è scelto in maniera tale da reagire con l'analita (anche detto *titolando*) secondo la *reazione di titolazione*:



dove A è l'analita, T è il titolante e P è il prodotto (o i prodotti) della reazione. Ogni titolazione può avere stechiometria pari a 1:1 se ogni mole di analita è consumata da una mole di titolante, come la reazione (7.1); in alternativa la reazione di titolazione ha stechiometria diversa da 1:1.

La **Figura 7.1** mostra l'apparato sperimentale richiesto in una titolazione, che comprende essenzialmente due oggetti di vetreria, una buretta e una beuta (o un bicchiere). Nel seguito si assumerà sempre che il titolante sia contenuto nella buretta e l'analita nella beuta, come solitamente avviene nella pratica sperimentale (è comunque possibile condurre una titolazione anche ponendo il titolante nella beuta e l'analita in buretta). La buretta permette la misura accurata del volume erogato e regola la velocità di aggiunta del titolante nella beuta mediante un rubinetto posto nella parte inferiore.

La reazione (7.1) può essere una qualsiasi tra quelle viste nei Capitoli dal 4 al 6. Le titolazioni sono classificate in base alla natura della (7.1) e vi sono quindi le *titolazioni acido-base*, le *titolazioni complessometriche*, le *titolazioni per precipitazione* e le *titolazioni redox* (non esistono, invece, le ipotetiche "titolazioni di ripartizione", poiché l'equilibrio di ripartizione (6.33) non prevede una reazione tra due componenti).

7.2.1 Punto di equivalenza e punto di fine

Il *punto di equivalenza* di una titolazione, convenzionalmente abbreviato con la sigla *PE*, è la situazione nella quale il numero di moli di titolante aggiunte nella beuta, n_T , è stechiometricamente equivalente al numero di moli di analita inizialmente presenti nella beuta, n_A . In tale condizione, nelle titolazioni di stechiometria 1:1 si ha per definizione:

$$\text{al PE} \quad n_T = n_A \quad C_T v = C_A V^o \quad (7.2)$$

dove V^o è il volume iniziale della soluzione contenente l'analita (presente nella beuta), v è il volume di titolante aggiunto mediante la buretta, C_A è la concentrazione stechiometrica di analita (sperimentalmente incognita) nella soluzione da titolare e C_T è la concentrazione stechiometrica di titolante nella soluzione in buretta (**Figura 7.1**). Il PE

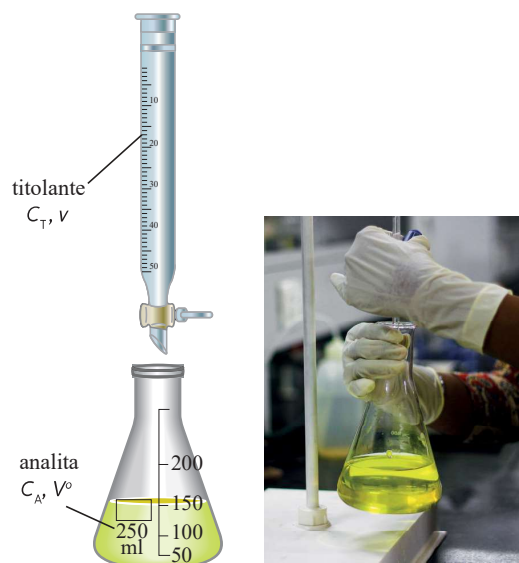


Figura 7.1 Vetreria richiesta per condurre una titolazione (disegno e foto) e simbologia utilizzata nei Capitoli 7 e 8 del testo.

ha un significato intuitivo ben definito: considerato che, come si vedrà meglio nel prosieguo del capitolo, le reazioni di titolazione (7.1) sono fortemente spostate verso destra, il PE rappresenta la situazione nella quale l'analita è stato completamente consumato dal titolante.

L'utilità pratica del PE si esplica nel fatto che esso permette la quantificazione dell'analita. Se si misura il volume di titolante aggiunto al PE di una titolazione, si può calcolare n_T (numero di moli del titolante) dato dal prodotto tra il volume e la concentrazione stechiometrica di titolante. Noto n_T , si ricava immediatamente la quantità incognita di analita (numero di moli n_A). I calcoli richiesti per calcolare n_A sono molto semplici e sono illustrati nel Box 7.1.

BOX 7.1

10 mL di una soluzione di analita A presenti in una beuta sono titolati da un titolante T a concentrazione $C_T = 0.01$ M (la stechiometria della reazione $A + T$ sia 1:1). Il PE si ha con l'aggiunta di 17.1 mL di soluzione di T. Calcolare il numero di moli di A presenti inizialmente nel campione e la sua concentrazione.

 n_T è pari a $C_T V$ e al PE risulta pari a $1.71 \cdot 10^{-4}$ moli. Per la (7.2) queste sono anche le moli di A:

$$n_A = 1.71 \cdot 10^{-4} \text{ moli.}$$

La concentrazione di A è pari alle moli diviso per il volume iniziale: $C_A = 1.71 \cdot 10^{-2}$ M

Si deve infine osservare che il PE di una titolazione è un valore vero; per quanto visto nel capitolo 1, esso non può essere sperimentalmente accessibile. In una titolazione è possibile ricavare solo una stima del PE, che è chiamata *punto di fine* (PF). Nel seguito si parlerà di PE quando si considerano valori teorici ottenuti da calcoli, e di PF quando invece si considerano risultati sperimentali oppure metodi per stimare il PE.

7.2.2 Soluzioni a concentrazione accuratamente nota

Poiché la quantità di analita incognita (n_A) si ricava dalle moli di titolante (n_T) aggiunte al PF e poiché a loro volta queste si ottengono da C_T , ne consegue che un'eventuale inaccuratezza di C_T si propagherebbe su n_A , cioè, se C_T fosse incerto anche n_A lo sarebbe (cfr. Paragrafo 1.5, propagazione delle varianze). È necessario quindi garantire che C_T sia noto con la massima accuratezza possibile per poter ottenere dati analitici affidabili per n_A . Le soluzioni aventi una concentrazione accuratamente nota di una determinata sostanza sono dette **soluzioni standard**.

La preparazione di una soluzione standard richiede innanzitutto che la sostanza sia pesata utilizzando una *bilancia analitica*, che è una bilancia (oggi quasi esclusivamente di tipo digitale) caratterizzata da una risoluzione non superiore a (non peggiore di) 0.1 mg e anche da ottime esattezza e precisione. Di norma il titolante non viene poi utilizzato tal quale, ma disciolto in una soluzione; a tale scopo la quantità pesata va trasferita in un recipiente avente a sua volta un volume molto accurato, il matraccio, e sciolta col solvente (solitamente acqua deionizzata o ultrapura).

Affinché la soluzione di titolante sia standard, è anche necessario che esso sia disponibile con una purezza elevatissima (almeno 99.9%) oppure che sia purificabile con facilità (ad esempio mediante un passaggio in stufa). Il titolante deve, inoltre, essere stabile all'aria, perlomeno nei tempi richiesti per preparare la soluzione e per il suo utilizzo, nonché in acqua (o nel solvente in cui si conduce la titolazione). Le sostanze che presentano questi requisiti sono dette *standard primari* e solo tali sostanze possono essere utilizzate per preparare soluzioni standard. È necessario sottolineare che i due requisiti dell'elevata purezza e della stabilità all'aria non sono facilmente verificabili, tanto che le sostanze considerabili come standard primari sono relativamente poche.

In vecchi libri di testo di analisi chimica può essere riportato un ulteriore requisito richiesto alle sostanze per essere considerate standard primari: avere un'elevata massa molecolare (MM). A parità di moli, infatti, una sostanza con elevata MM richiede di pesare masse maggiori di quelle di sostanze con MM più basse, e una pesata elevata mini-

mizza l'errore relativo (pari alla risoluzione della bilancia, che è una costante, divisa per la massa pesata), e quindi l'incertezza su n_T .

Oggi il requisito di un'elevata MM risulta poco rilevante, data la ottima (piccola) risoluzione che presentano le comuni bilance analitiche digitali. Resta comunque valida la raccomandazione che le soluzioni standard siano preparate pesando quantità sufficientemente elevate (pari ad almeno mille volte la risoluzione) di standard primario, in modo da non introdurre rilevanti errori relativi nella pesata.

Le soluzioni costituite da sostanze che non sono standard primari possono comunque essere usate per condurre titolazioni se esse sono state preventivamente sottoposte alla *standardizzazione*, cioè se per esse è stata determinata la concentrazione accurata (come suggerisce il termine, la standardizzazione rende standard una soluzione che inizialmente non lo è). La standardizzazione si esegue titolando la soluzione da standardizzare con un'altra soluzione costituita da uno standard primario. Si ottiene in tal modo il numero accurato delle moli e quindi la concentrazione della soluzione in esame; tale soluzione può poi essere utilizzata come titolante per gli analiti di interesse.

Svariate ditte commercializzano soluzioni standard di molti titolanti comuni, rendendo quindi non necessaria la loro standardizzazione. Tuttavia, poiché il costo di tali soluzioni supera quello richiesto per operare la standardizzazione, esse risultano convenienti solo in laboratori di analisi aventi un'elevata produttività.

Nel seguito, almeno nei casi più comuni, sarà evidenziato se i titolanti menzionati sono standard primari o se invece necessitano di una standardizzazione preventiva.

7.2.3 Concentrazioni stechiometriche durante una titolazione

Come tutte le reazioni all'equilibrio, anche per la reazione di titolazione (7.1) è possibile calcolare la concentrazione all'equilibrio per tutte le specie coinvolte nella reazione stessa. Si possono scrivere le leggi dell'azione di massa, i bilanci di materia e il bilancio di carica (o protonico, o elettronico), e operare le approssimazioni più opportune in dipendenza delle proprietà della reazione di titolazione. Il calcolo e i risultati sono sempre riferiti alla beuta, sede della reazione stessa (nella buretta non hanno luogo reazioni).

Vi è un'unica importante differenza da considerare rispetto a quanto fatto nei Capitoli dal 4 al 6: il volume totale nella beuta aumenta, e di conseguenza le concentrazioni stechiometriche cambiano, al procedere della titolazione. In particolare, la concentrazione stechiometrica di analita diminuisce per effetto della diluizione, mentre quella di titolante presente nella beuta, inizialmente nulla, aumenta.

BOX 7.2

Si raccomanda ancora una volta di non confondere le concentrazioni stechiometriche con le concentrazioni all'equilibrio. Ad esempio, durante la titolazione la concentrazione stechiometrica di A nella beuta è attesa diminuire per il solo effetto della diluizione, mentre quella all'equilibrio diminuisce anche per il decorso della reazione di titolazione (7.1).

Le concentrazioni stechiometriche di analita, $C_{A,i}$, e titolante, $C_{T,i}$, presenti nella beuta dopo l'aggiunta i -esima di titolante cambiano come segue:

$$C_{A,i} = \frac{C_A V^0}{V^0 + v} \quad C_{T,i} = \frac{C_T v}{V^0 + v} \quad (7.3)$$

BOX 7.3

Ad esempio, se la beuta contiene 20 mL di una soluzione di A 0.01 M e in essa si aggiungono 5 mL di una soluzione contenente T 0.02 M, dalle equazioni (7.3) si può calcolare che le nuove concentrazioni stechiometriche nella beuta che si hanno dopo l'aggiunta sono pari a:

$$C_{A,i} = 0.008 \text{ M}, C_{T,i} = 0.004 \text{ M}$$

Dalla (7.3) consegue che al PE deve anche essere:

$$C_{T,i} = C_{A,i} \quad (7.4)$$

7.2.4 Grado di titolazione ed errore di titolazione

Le equazioni (7.3) mostrano che $C_{A,i}$ e $C_{T,i}$ dipendono sia da v che da V^0 ; ovviamente anche le concentrazioni all'equilibrio devono dipendere dai volumi. V^0 è una costante nell'ambito della titolazione, per cui la variabile in funzione della quale sono espresse le concentrazioni è v (variabile indipendente).

Una variabile indipendente alternativa, rigorosa e più semplice al tempo stesso, è il *grado di titolazione*, o *frazione titolata*. Il grado di titolazione si indica con Φ (talvolta con x) e per titolazioni di stechiometria 1:1 è definito dalla relazione:

$$\Phi = \frac{n_T}{n_A} = \frac{C_T v}{C_A V^0} = \frac{C_{T,i}}{C_{A,i}} \quad (7.5)$$

Φ è un numero puro, talvolta espresso in percentuale, che indica quanto titolante è stato aggiunto rispetto all'analita presente all'inizio della titolazione. La comodità della definizione di Φ consiste nel fatto che i suoi valori dipendono dal rapporto delle concentrazioni stechiometriche e dei volumi, ma non dipendono dai singoli valori e dalla natura di titolante e analita. Il grado di titolazione rappresenta dunque una variabile normalizzata che conferisce generalità alla trattazione e sarà utilizzato in questo capitolo e nel successivo. La scelta di v come variabile indipendente, che invece è preferita in ambito sperimentale, non comporta comunque alcuna modifica delle proprietà delle titolazioni così come verranno definite nel seguito, in quanto Φ e v sono direttamente proporzionali tra loro a meno di costanti, come mostra la (7.5).

BOX 7.4

Calcolare il valore di Φ nella situazione descritta dal Box 7.3.

 n_T è pari a $C_T v$ e risulta pari a 10^{-4} moli; n_A è dato da $C_A V^0$ e vale $2 \cdot 10^{-4}$ moli. Quindi si ha:

$$\Phi = 0.5 \text{ (o 50\%).}$$

Lo stesso risultato si ottiene ovviamente anche rapportando i valori di $C_{T,i}$ e $C_{A,i}$ ottenuti nel Box 7.3, e indica che è stato aggiunto un numero di moli di titolante pari al 50% delle moli iniziali di analita.

Dalle equazioni (7.2) e (7.5) segue che al PE si ha $\Phi = 1$.

In generale quindi, secondo la definizione di Φ si ha:

conversione esterna; questo fenomeno è comunque più frequente per alte concentrazioni. Il secondo processo è l'*auto-assorbimento*: questo si verifica quando la lunghezza d'onda della radiazione emessa corrisponde a quella di un salto energetico di una banda di assorbimento; in questo caso l'emissione di fluorescenza non ha luogo perché viene assorbita dalla molecola stessa.

► Microscopie e fluorescenza

La combinazione tra spettroscopia di fluorescenza e microscopia ottica ha aperto la strada a numerosi e rilevanti esperimenti, soprattutto nello studio di sistemi di interesse biologico, al punto che la presenza di un microscopio a fluorescenza è scontata in qualsiasi laboratorio biomedico, biochimico o biofisico.

Un microscopio a fluorescenza per molti versi rappresenta la somma di un microscopio ottico e di uno spettrofluorimetro. La radiazione proveniente da una sorgente luminosa viene selezionata in termini di lunghezza d'onda e focalizzata sul campione. La luce emessa dal campione a causa della fluorescenza viene quindi raccolta, selezionata in modo da eliminare la radiazione usata per l'eccitazione e quindi quantificata utilizzando un rivelatore. Sorgente, selettori/monocromatori, lenti e rivelatori sono in tutto e per tutto analoghi a quelli utilizzati in uno spettrofluorimetro. La tipologia di microscopio comunemente usata è il **microscopio invertito** (altrimenti detto a epifluorescenza), chiamato così in quanto gli obiettivi si trovano al di sotto del campione e la radiazione di eccitazione colpisce il campione dal basso, mentre la luce bianca utilizzata per le misure in trasmissione in campo chiaro proviene tipicamente dall'alto (**Figura 10A.55**).

Un componente ottico fondamentale per il funzionamento di questo tipo di microscopio è il cosiddetto cubo per fluorescenza, rappresentato in **Figura 10A.55b**. Questo dispositivo viene costruito combinando tre dispositivi ottici. Il filtro di eccitazione seleziona la radiazione proveniente dalla sorgente, lasciando passare unicamente la banda spettrale utilizzata per eccitare il campione. La radiazione passante colpisce uno specchio dicroico, venendo indirizzata verso il campione. La radiazione di fluorescenza viene emessa in tutte le direzioni, inclusa la direzione dello specchio dicroico da cui proviene la radiazione di eccitazione. Lo specchio dicroico è trasparente rispetto alla radiazione dovuta alla fluorescenza, che raggiunge quindi il rivelatore (tipicamente una fotocamera CCD).

Nella microscopia a fluorescenza convenzionale il segnale di fluorescenza che raggiunge il rivelatore non proviene da un unico piano focale: infatti, quando il campione ha uno spessore maggiore rispetto al piano focale dell'obiettivo del microscopio, il segnale proviene da diverse profondità all'interno del campione. Un miglioramento estremamente rilevante della tecnica è stato apportato dall'introduzione della **geometria confocale**: grazie alla presenza di un foro stenopeico (detto anche apertura confocale) posto ad una distanza opportuna in prossimità del rivelatore, il segnale di fluorescenza proveniente dal piano focale viene registrato, mentre il segnale fuori fuoco, proveniente da diverse profondità all'interno del campione, viene bloccato permettendo l'ottenimento di immagini

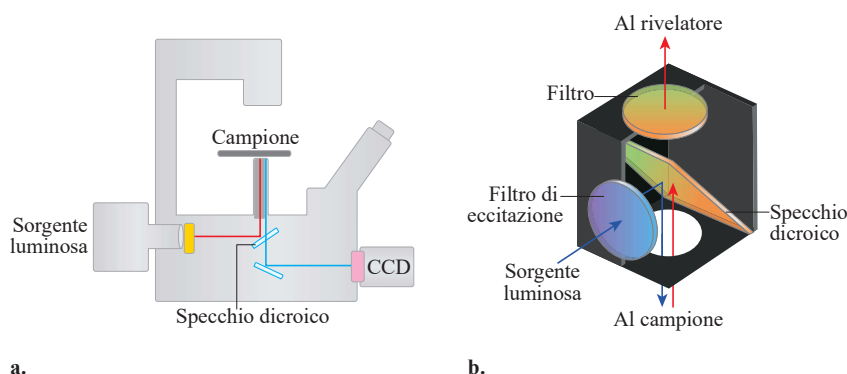


Figura 10A.55 (a) Schema di un microscopio invertito per misure in fluorescenza. (b) Cubo per microscopia in fluorescenza (la visione è rovesciata rispetto alla posizione occupata nel microscopio).

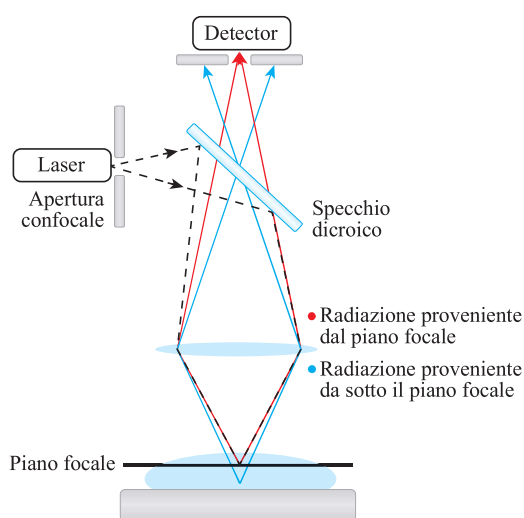


Figura 10A.56 Geometria utilizzata per la microscopia in fluorescenza confocale: la radiazione emessa da regioni del campione al di fuori del piano focale non raggiunge il rivelatore grazie all'effetto barriera dell'apertura confocale.

nettamente più risolte (**Figura 10A.56**). Sebbene la microscopia confocale fosse stata descritta già a metà anni '50 del secolo scorso, è stata ampiamente adottata solo a partire dalla fine degli anni '70, in parallelo allo sviluppo delle sorgenti laser ed alle tecniche di scansione.

L'approccio confocale consente non solo di raccogliere la radiazione emessa da un singolo piano, ma anche di illuminare/osservare un volume ridotto del campione, tipicamente nell'ordine di pochi femtolitri. L'investigazione di un volume così piccolo di una soluzione diluita di fluorofori (vale a dire, un numero relativamente piccolo di molecole fluorescenti) può dare origine a fluttuazioni nel segnale di fluorescenza a causa della diffusione browniana di particelle dentro e fuori il volume di osservazione (**Figura 10A.57**). Questa è l'idea alla base delle spettroscopie basate sulla fluttuazione della fluorescenza (Fluorescence Fluctuation Spectroscopies, FFS); tuttavia tali fluttuazioni possono derivare anche da altre cause, quali ad esempio variazioni della resa quantica legate a variazioni conformazionali di un fluoroforo o a fluttuazioni intrinseche del fluoroforo stesso. Nonostante le fluttuazioni di fluorescenza possano apparire all'occhio inesperto come rumore casuale, spesso la loro analisi permette di estrarre molte informazioni sui sistemi oggetto di studio.

10A.4.2 Fosforescenza

La fosforescenza è un altro fenomeno di fotoluminescenza. *Capire la distinzione fra fluorescenza e fosforescenza richiede una comprensione degli spin degli elettroni e della differenza fra stato di singoletto e stato di tripletto.* Le molecole ordinarie (che non abbiano radicali liberi) si trovano nello stato fondamentale con spin elettronici appaiati.

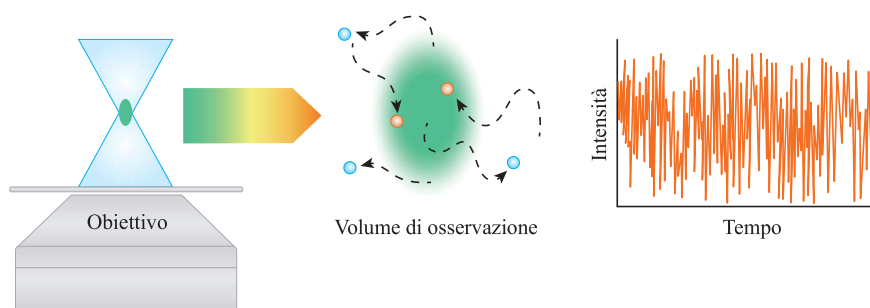


Figura 10A.57 Fluttuazioni nel segnale di fluorescenza a causa della diffusione Browniana di particelle dentro e fuori il volume di osservazione.

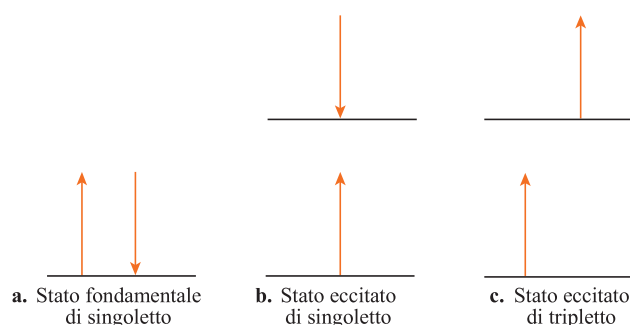


Figura 10A.58 Stati di spin elettronico delle molecole. In **(a)** viene mostrato lo stato elettronico fondamentale. Nello stato più basso di energia o stato fondamentale, gli spin sono sempre appaiati: questa configurazione si dice stato di singoletto. In **(b)** e **(c)** sono mostrati gli stati elettronici eccitati. Se gli spin rimangono appaiati nello stato eccitato, la molecola è in uno stato eccitato di singoletto **(b)**. Se gli spin diventano spaiati, la molecola è in uno stato eccitato di tripletto **(c)**.

Uno stato elettronico molecolare in cui tutti gli spin elettronici sono appaiati si dice stato di singoletto. Lo stato fondamentale di un radicale libero, d'altra parte, è uno stato di doppietto, perché l'elettrone spaiato può assumere due orientazioni in un campo magnetico.

Quando uno di una coppia di elettroni in una molecola viene eccitato ad un livello di energia più elevato, può essere prodotto uno stato di singoletto o di tripletto. Nello stato di singoletto eccitato, lo spin dell'elettrone promosso è ancora opposto a quello dell'elettrone rimanente. Nello stato di tripletto, invece, gli spin dei due elettroni diventano spaiati e sono quindi paralleli. Questi stati possono essere rappresentati come illustrato nella **Figura 10A.58**. Lo stato di tripletto eccitato è meno energetico del corrispondente stato di singoletto eccitato.

La *fluorescenza* delle molecole coinvolge una transizione da un singoletto eccitato allo stato di singoletto fondamentale. Questa transizione è altamente probabile e quindi la vita di uno stato di singoletto eccitato è molto breve (10^{-5} secondi o meno). La *fosforescenza* molecolare, d'altra parte, comporta una transizione da uno stato di tripletto eccitato allo stato di singoletto fondamentale. Poiché questa transizione produce un cambiamento nello spin degli elettroni, è molto meno probabile. Quindi, lo stato di tripletto ha una vita molto più lunga (tipicamente da 10^{-4} a qualche secondo). Fosfori allo stato solido vengono usati per rivestire lo schermo di tubi catodici e permettono di osservare l'azione dei fasci di elettroni in molti oscilloscopi, televisori e monitor di computer.

La lunga durata della fosforescenza è anche uno dei suoi svantaggi. Infatti, a causa di questa lunga durata, processi non radiativi possono competere con essa per disattivare lo stato eccitato. Pertanto, l'efficienza del processo di fosforescenza, e di conseguenza l'intensità di fosforescenza, è relativamente bassa. Per aumentare questa efficienza, la fosforescenza viene osservata comunemente a bassa temperatura in mezzi rigidi, come i vetri. Negli ultimi anni, sono state messe a punto strategie per misurare la fosforescenza a temperatura ambiente. In particolare, la molecola di cui si vuole monitorare la fosforescenza viene adsorbita su una superficie solida o confinata a livello molecolare (per esempio nelle cavità delle ciclodestrine o in micelle) in modo da proteggere il *fragile* stato di tripletto.

BOX 10A.10

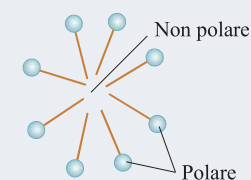
SISTEMI MICELLARI: FOSFORESCENZA E FLUORESCENZA

Nella fosforescenza a temperatura ambiente, lo stato di tripletto dell'analita può essere protetto incorporando l'analita stesso in una micella formata da un tensioattivo. Nelle soluzioni acquose le micelle hanno un nucleo apolare, perché il tensioattivo tende a esporre la testa polare verso il solvente. Il contrario si verifica nei solventi non polari.

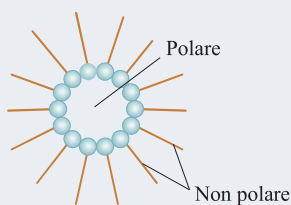
La capacità delle micelle di influenzare le proprietà ottiche di alcune molecole è usata anche nei fluorofori per determinare la concentrazione critica micellare di un tensioattivo: in questi esperimenti, la concentrazione del tensioattivo viene progressivamente aumen-

tata in presenza di un fluoroforo, fino a che non si osserva una variazione delle proprietà di emissione di quest'ultimo. La concentrazione a cui questo avviene, corrisponde alla concentrazione minima a cui si ha formazione di micelle da parte del tensioattivo.

Struttura delle micelle



Micella in solvente
acquoso



Micella in solvente
non acquoso

A causa della sua debole intensità, la fosforescenza è molto meno utilizzata rispetto alla fluorescenza. Tuttavia, la *fosforimetria* viene utilizzata per la determinazione di specie organiche e biochimiche, tra cui acidi nucleici, amminoacidi, pirina e pirimidina, enzimi, idrocarburi policiclici e pesticidi. Anche molti composti farmaceutici presentano segnali di fosforescenza misurabili.

La strumentazione per la fosforescenza è un po' più complessa di quella per la fluorescenza. Di solito un fosforimetro consente la discriminazione della fosforescenza dalla fluorescenza ritardando la misurazione della fosforescenza fino a quando la fluorescenza è decaduta quasi a zero. Molti spettrofluorimetri sono dotati di accessori, chiamati *fosforoscopi*, che consentono di utilizzare lo stesso strumento per le misure di fosforescenza.

10A.4.3 Chemiluminescenza

La chemiluminescenza viene prodotta quando una reazione chimica genera una molecola eccitata elettronicamente, che emette luce quando ritorna allo stato fondamentale. Le reazioni di chemiluminescenza si riscontrano in un certo numero di sistemi biologici, dove il processo è spesso chiamato *bioluminescenza*. Esempi di specie che mostrano bioluminescenza sono: la lucciola, la viola del pensiero, alcune meduse, batteri, protozoi e crostacei.

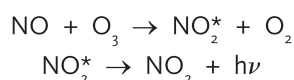
La lucciola produce luce dal fenomeno della bioluminescenza. Diverse specie di lucciole lampeggiano con frequenze diverse e questa frequenza è utilizzata come metodo di riconoscimento, perché le lucciole si accoppiano solo con la propria specie.



Una caratteristica interessante della chemiluminescenza per usi analitici è la semplicità della strumentazione. Poiché non è necessaria alcuna sorgente esterna di radiazione per l'eccitazione, lo strumento può consistere solo in un recipiente di reazione e in un tubo fotomoltiplicatore. Generalmente, non è necessario alcun dispositivo di selezione della lunghezza d'onda perché l'unica fonte di radiazione è la reazione chimica.

I metodi di chemiluminescenza sono noti per la loro elevata sensibilità. I limiti di rivelazione tipici variano da parti per milione (ppm) a parti per miliardo (ppb) o inferiore. Le applicazioni includono la determinazione di gas, come ossidi di azoto, ozono e composti dello zolfo, determinazione di specie inorganiche, come il perossido di idrogeno e alcuni ioni metallici, tecniche di immunodosaggio, DNA probe assay e metodi PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

Diversi analizzatori commerciali per la determinazione dei gas si basano sulla chemiluminescenza; ad esempio, la concentrazione di monossido di azoto (NO) presente in aria viene determinata mediante questa tecnica. Per la determinazione di NO, l'aria in esame viene miscelata con ozono in una cella di reazione. L'ozono reagisce rapidamente con il monossido di azoto formando biossido di azoto eccitato e instabile (NO_2^*) che, ritornando nel suo stato fondamentale (NO_2), emette una radiazione elettromagnetica ultravioletta ($h\nu$).



La radiazione di chemiluminescenza viene misurata mediante un rivelatore ed è direttamente correlata alla concentrazione di monossido di azoto presente in aria.

La determinazione della concentrazione totale di ossidi di azoto (NO_x) viene eseguita facendo convertire tutti gli ossidi di azoto a NO per via catalitica (generalmente viene usato molibdeno come catalizzatore, a temperature di circa 400 °C) e procedendo poi con la reazione chemiluminescente con ozono.

La semplicità della strumentazione richiesta nelle misure di chemiluminescenza e l'elevata sensibilità hanno reso possibile la realizzazione di biosensori con elevate prestazioni per la determinazioni di numerosi analiti (vedi Capitolo 14).

10A.5 Spettroscopie vibrazionali: assorbimento nell'infrarosso e spettroscopia Raman

La regione infrarossa dello spettro elettromagnetico ha energie che corrispondono a quelle delle transizioni fra livelli energetici vibrazionali/rotazionali delle molecole. Questa regione si estende fra 0.8 e 1000 μm (vale a dire tra 10 e 12500 cm^{-1} in numeri d'onda (*ricordiamo che il numero d'onda è l'inverso della lunghezza d'onda*), ed è suddivisa in tre sotto-regioni (**Figura 10A.59**), che sono utilizzate in tecnologie diverse fra loro dal punto di vista teorico e applicativo, e richiedono strumentazioni apposite.

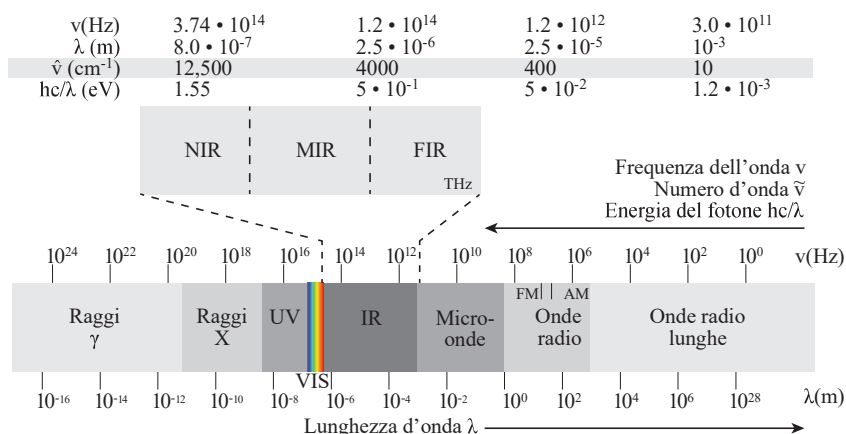


Figura 10A.59 Regione infrarossa dello spettro elettromagnetico.

La regione di gran lunga più importante dal punto di vista analitico è il *medio IR* (*mid infrared*, MIR), che si estende approssimativamente tra 2.5 e 25 μm (corrispondenti a 4000-400 cm^{-1}): questa regione costituisce l'intervallo dove cade la maggior parte delle bande di assorbimento fondamentali e viene utilizzata per l'analisi qualitativa e quantitativa fin dagli anni '50 del secolo scorso. La spettroscopia nel *vicino infrarosso* (*near infrared*, NIR) identifica il range di lunghezze d'onda da circa 0.8 a circa 2.5 μm (pari a 12500-4000 cm^{-1}): questa tecnica ha guadagnato popolarità dalla metà degli anni '80 e attualmente costituisce un ramo importante della spettroscopia IR, che copre un'ampia gamma di metodi di analisi qualitativi e quantitativi. Ad esempio, riveste un ruolo importante in settori industriali, dove viene utilizzata come metodo rapido per l'identificazione, la classificazione e il controllo di qualità di prodotti, nonché per la determinazione delle proprietà chimiche e fisiche di prodotti e delle concentrazioni di componenti nelle applicazioni di processo. Tuttavia, l'utilizzo della tecnica NIR è importante anche per la ricerca scientifica di base, come sarà mostrato più avanti fra le applicazioni. Il *lontano infrarosso* (*far infrared*, FIR), infine, si estende fra 25 μm e 1 mm (400-10 cm^{-1}). È stato di interesse principalmente accademico in passato; in tempi più recenti, la messa a punto di nuova strumentazione ha reso molto più facile l'accesso alla regione FIR e a quella ad essa adiacente, delle microonde, che vengono identificate complessivamente col termine *spettroscopia terahertz*, la quale ha subito un notevole sviluppo di applicazioni che ne fanno uso.

Fra le spettroscopie vibrazionali si annovera, inoltre, la spettroscopia Raman, la quale si distingue dalla spettroscopia IR sia per l'origine dei fenomeni che studia sia per la strumentazione con cui essi vengono osservati. Tuttavia, le due tecniche sono accomunate dal fatto che entrambe forniscono uno spettro prodotto da transizioni vibrazionali. Nei paragrafi successivi, accessibili tramite il codice QR10A.1 sottostante, saranno presentati i principi di base di entrambe, assieme agli aspetti strumentali e ad alcuni esempi applicativi.



QR10A.1

Paragrafi 10A.5.1-10A.5.8

Assorbimento nell'infrarosso e spettroscopia Raman: principi base, aspetti strumentali ed esempi applicativi

QR10A.2

Bibliografia selezionata



Luigia Sabbatini • Cosimino Malitesta • Paolo Pastore

Chimica Analitica

Accedi all'ebook e ai
contenuti digitali

» Espandi le tue risorse »

con un libro che **non pesa** e si **adatta**
alle dimensioni del tuo **lettore**



All'interno del volume il **codice personale** e le istruzioni per accedere alla versione **ebook** del testo e agli ulteriori servizi.
L'accesso alle risorse digitali è **gratuito** ma limitato a **18 mesi dalla attivazione del servizio**.

