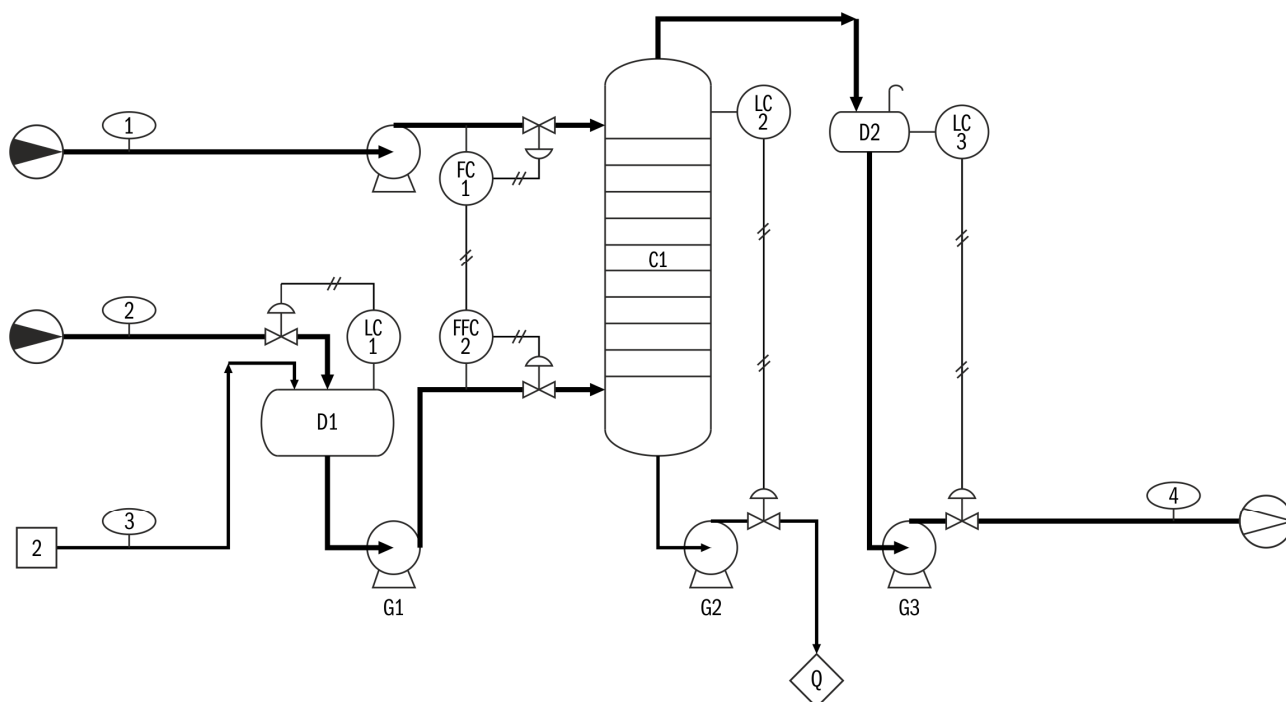


Prima parte

Schema



LEGENDA

C1	Colonna d'estrazione	2	Sezione recupero solvente
D1	Serbatoio del solvente	1	Alimentazione
D2	Accumulatore estratto	2	Solvente fresco
G1	Pompa solvente	3	Solvente di riciclo
G2	Pompa raffinato	4	Estratto
G3	Pompa estratto		
Q	Reflui a trattamento		

Quesito

La struttura del composto di interesse contiene un anello aromatico, questo consente di rilevarlo utilizzando uno spettrofotometro UV, assicurandosi comunque che il solvente usato per l'estrazione non assorba in quel campo.

La tecnica si basa sul fatto che una radiazione di opportuna lunghezza d'onda (per l'UV vicino compresa tra 200 a 380nm) è in grado di interagire con le molecole dell'analita provocando una transizione a livello degli orbitali molecolari.

Le transizioni possibili sono di diverso tipo, a seconda degli orbitali coinvolti (ad es. $\delta \rightarrow \delta^*$ - $\pi \rightarrow \pi^*$ - $n \rightarrow \pi^*$) e richiedono diversi valori di energia, che sono tanto maggiori quanto maggiore è la differenza tra due livelli energetici.

Quando l'energia associata alla radiazione corrisponde esattamente a quella necessaria alla transizione, la radiazione viene assorbita e si registra quindi una differenza tra radiazione incidente e radiazione in uscita.

Ad ogni radiazione è associata un'energia che dipende dalla frequenza, e quindi dalla lunghezza d'onda, secondo la legge di Planck, $E = h\nu$.

Le transizioni che coinvolgono gli orbitali π (presenti appunto nei composti aromatici) richiedono energie che ricadono nel campo delle radiazioni UV e per questo motivo tali composti assorbono in questo campo spettrale.

La tecnica si presta sia ad analisi qualitative che quantitative, in quanto l'assorbimento della radiazione dipende, tra l'altro, dalla concentrazione dell'analita nel campione.

Per effettuare l'analisi, nel caso specifico, è necessario determinare preventivamente la λ_{\max} (lunghezza d'onda di massimo assorbimento) dell'analita, effettuando una analisi UV a lunghezza d'onda variabile, in modo da individuare la λ più adatta all'analisi. Tale λ coincide in genere con la λ_{\max} , a meno che in corrispondenza di questa ci siano interferenze dovute all'assorbimento di altri composti.

Una volta determinata la λ di lavoro, per procedere all'analisi qualitativa sarebbe sufficiente controllare l'assorbimento delle soluzioni a quella lunghezza d'onda.

Per l'analisi quantitativa è necessario invece costruire una retta di taratura.

Tale metodo consiste nella preparazione di una serie di soluzioni a diversa concentrazione dell'analita, ottenute diluendo uno standard concentrato. I valori di tali concentrazioni devono ricadere nel limite di linearità dell'analisi.

Una volta lette le assorbanze delle diverse soluzioni si costruisce la retta, ponendo in ordinate i valori di assorbanza ed in ascisse quelli di concentrazione. Tale retta, oppure la relativa equazione, può essere utilizzata per determinare la concentrazione del campione, una volta letta la relativa assorbanza nelle stesse condizioni degli standard.

Questo procedimento è sicuramente adatto alla determinazione del composto di interesse nell'estratto. Per la soluzione di alimentazione è necessario valutare la complessità della matrice e, se necessario, utilizzare il metodo dell'aggiunta.

In tal caso le soluzioni utilizzate per la costruzione della retta vengono preparate a partire da un uguale volume di campione, a cui devono essere aggiunte aliquote crescenti della soluzione standard dell'analita.

La retta, costruita come sopra descritto, non passerà per l'origine degli assi, ma presenterà un'intercetta negativa sull'asse x. Il valore di tale intercetta rappresenta la concentrazione del campione.

In alternativa alla spettrofotometria UV si potrebbe ipotizzare anche l'uso dell'HPLC, soprattutto nel caso in cui la soluzione di alimentazione fosse una miscela complessa.

Per effettuare la determinazione quantitativa del composto di interesse, dopo aver ottimizzato la separazione, sarebbe necessario, anche in questo caso, procedere alla costruzione di una retta di taratura, riportando in ordinate l'area del picco ed in ascisse la concentrazione delle relative soluzioni standard.

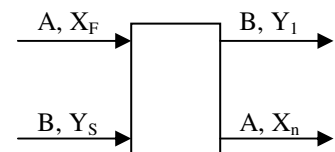
La Gascromatografia sembrerebbe invece meno adatta allo scopo, dal momento che si parla di un composto altobollente, anche se le informazioni contenute nella traccia non fanno cenno alla sua stabilità termica.

Seconda parte

1

Calcolo degli stadi teorici della colonna di estrazione

Oltre ai simboli riportati nella traccia, indichiamo con A, B e C, rispettivamente, il diluente acquoso, il solvente, il soluto da estrarre e le relative portate; indichiamo con K la costante di ripartizione e con ε la resa d'estrazione.



Dati

$$X_F = 0,12$$

$$Y_S = 0$$

$$K = Y/X = 8$$

$$\varepsilon \% = 92 \%$$

$$(A/B)_{\text{effettivo}} = 71\% (A/B)_{\text{MAX}}$$

Retta d'equilibrio

Si calcola la concentrazione di C nell'estratto (Y_0) in equilibrio con quella nell'alimentazione (X_F):

$$Y_0 = K \cdot X_F = 8 \cdot 0,12 = 0,96$$

Sul piano cartesiano si traccia la retta d'equilibrio dal punto (0 ; 0) al punto (0,12 ; 0,96)

Retta di lavoro

Si calcola la concentrazione di C che residua nel raffinato (X_n), in base alla resa d'estrazione.

$$X_n = (1 - \varepsilon) \cdot X_F = (1 - 0,92) \cdot 0,12 = 0,0096$$

Si calcola $(A/B)_{MAX}$ facendo il bilancio di C per la colonna nella condizione limite di $Y_1 = Y_0$.

$$A \cdot X_F + B \cdot Y_S = A \cdot X_n + B \cdot Y_0$$

$$A \cdot (X_F - X_n) = B \cdot (Y_0 - Y_S)$$

$$(A/B)_{MAX} = \frac{Y_0 - Y_S}{X_F - X_n} = \frac{0,96 - 0}{0,12 - 0,0096} = 8,70$$

Si calcola $(A/B)_{eff}$ e la concentrazione di C nell'estratto in uscita dalla colonna (Y_1).

$$(A/B)_{eff} = 71\% (A/B)_{max} = 0,71 \cdot 8,70 = 6,18$$

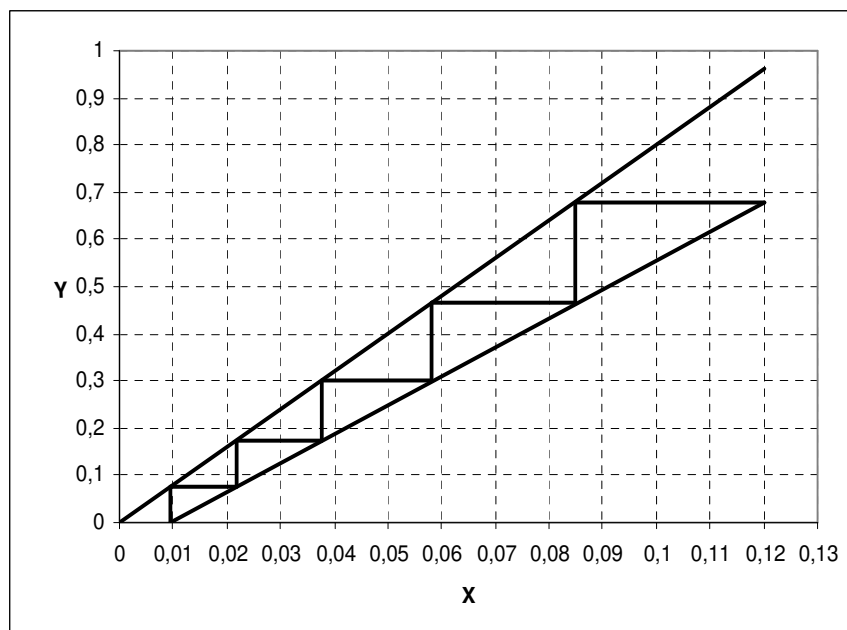
$$(A/B)_{eff} = \frac{Y_1 - Y_S}{X_F - X_n}$$

$$Y_1 = (A/B)_{eff} \cdot (X_F - X_n) + Y_S = 6,18 \cdot (0,12 - 0,0096) + 0 = 0,68$$

Si traccia la retta di lavoro dal punto (0,0096 ; 0) al punto (0,12 ; 0,68)

Numero degli stadi

Partendo dal punto ($X_F ; Y_1$) si traccia la spezzata che dà il numero degli stadi ideali fino a superare X_n . Risultano circa 5 stadi ideali (v. fig.).



2

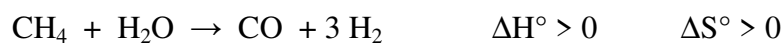
La combustione dell'idrogeno produce un unico prodotto: l'acqua. Costituirebbe, quindi, un combustibile "pulito". L'idrogeno è praticamente disponibile solo nei suoi composti come l'acqua e le sostanze organiche, specie gli idrocarburi.

La diretta decomposizione dell'acqua negli elementi è una reazione decisamente sfavorita termodinamicamente. La reazione è fortemente endotermica però, decorrendo con aumento del numero delle moli, presenta un ΔS leggermente positivo. Quindi, un aumento della temperatura la favorirebbe. In pratica la reazione diventa favorita solo a temperature di alcune migliaia di gradi, così elevate da renderla impraticabile. Un'altra possibilità è l'elettrolisi, con consumo di energia elettrica. Possibilità da valutare però tenendo conto dell'attuale sviluppo di batterie e motori elettrici e da considerare solo se l'energia elettrica fosse prodotta da fonti rinnovabili.

Un tipico metodo per realizzare una reazione termodinamicamente sfavorita è quello di accoppiarla con una reazione favorita. Nel caso dell'idrogeno si può fare reagire l'acqua con un materiale carbonioso che, ossidandosi, fornirebbe l'energia richiesta dalla decomposizione dell'acqua.

La materia prima preferita per produrre l'idrogeno con un processo chimico è il gas naturale per l'alto contenuto di metano che dà la migliore resa in idrogeno.

Nel processo di steam reforming il metano si fa reagire con vapor d'acqua ad alta temperatura su un opportuno catalizzatore. Avviene la reazione:

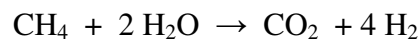


Nello stadio successivo si ossida ulteriormente il CO formatosi a dare altro idrogeno secondo la reazione:

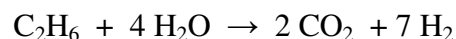


La reazione esotermica è favorita dalle basse temperature ma si realizza su opportuni catalizzatori in due stadi. Il primo, a più alta temperatura, per sfruttare una cinetica più favorevole lontano dall'equilibrio. Il secondo, a più bassa temperatura, per completare la reazione con una termodinamica più favorevole.

Tenendo conto delle due reazioni, complessivamente si ha:



Si ottengono così quattro moli di idrogeno da una di carbonio. Con un idrocarburo superiore, per es. l'etano, la reazione diventa:



In questo caso si ottengono solo 3,5 moli di idrogeno per mole di carbonio e il rendimento diminuisce con gli idrocarburi superiori.

Per separare l'idrogeno dalla CO_2 , dagli idrocarburi non convertiti e da altre impurezze si può ricorrere alla distillazione a bassissima temperatura qualora si voglia produrre idrogeno liquido, oppure si può ricorrere all'adsorbimento su adsorbenti selettivi o alla separazione su membrane per ottenere idrogeno gassoso.

3

Il calcolo della Risoluzione deve essere effettuato applicando la formula:

$$R_{s1-2} = 2 \frac{tr_2 - tr_1}{Wb_1 + Wb_2}$$

Dove tr_1 e tr_2 sono i tempi di ritenzione di due picchi successivi e Wb_1 e Wb_2 le relative ampiezze alla base.

Nel caso specifico si avrà:

$$R_{sA-B} = 2 \frac{tr_B - tr_A}{Wb_A + Wb_B} = 2 \frac{8,98 - 8,03}{0,32 + 0,43} = 2,53$$

$$R_{sB-C} = 2 \frac{t_{r_C} - t_{r_B}}{W_{b_B} + W_{b_C}} = 2 \frac{19,05 - 8,98}{0,43 + 0,58} = 19,9$$

La risoluzione tra i picchi è soddisfacente, dal momento che la separazione si può considerare completa se il valore della risoluzione è superiore a 1,5, tuttavia il terzo picco ha un tempo di ritenzione eccessivamente elevato, che prolunga inutilmente la durata dell'analisi e non è giustificato da altre esigenze.

Per migliorare la situazione sarebbe opportuno effettuare una eluizione in gradiente, iniziando con la miscela acqua/metanolo in uso, e diminuendo poi la polarità della miscela, in modo da accelerare l'uscita del terzo picco, cioè il meno polare dei tre. L'analisi è infatti in fase inversa: diminuendo la polarità dell'eluente si accentua la competizione di questo con i siti attivi della fase stazionaria, favorendo l'eluizione del terzo componente, che risulterà inoltre più affine alla fase mobile.

Dall'esame dei tempi di ritenzione si può affermare che l'analita presente nel campione in esame corrisponde al composto B.

Per determinarne la concentrazione approssimata si può far riferimento all'area del picco dello standard a 5 mg/L che è stato esaminato:

La concentrazione di B nell'estratto analizzato (volume = 20 mL) può essere calcolata come segue:

$$\text{Conc. B} = \frac{3870}{3250} \cdot 5 \text{ mg/L} = 5,95 \text{ mg/L}$$

In 20 mL di estratto sono quindi presenti $5,82 \text{ (mg/L)} \cdot 0,020 \text{ (L)} = 0,119 \text{ mg}$ di composto, inizialmente disciolti in 250 mL.

La concentrazione iniziale di B nel campione risulta quindi:

$$\frac{0,119 \text{ mg}}{0,250 \text{ L}} = 0,48 \text{ mg/L}$$

Per determinare più accuratamente tale concentrazione sarebbe necessario procedere costruendo una retta di taratura, utilizzando opportune soluzioni standard di B.

4

I metodi che possono essere utilizzati per passare dalla risposta strumentale alla concentrazione dell'analita sono numerosi. Quelli impiegati più frequentemente sono:

- Metodo della retta di taratura
- Metodo dello standard interno
- Metodo della Normalizzazione interna – con o senza fattore di risposta
- Metodo dell'aggiunta – semplice o multipla

Il quesito richiede la descrizione di uno dei metodi elencati, con una applicazione pratica, elencata di seguito a titolo puramente esemplificativo:

Il metodo della retta di taratura consiste nella costruzione di una retta, effettuata determinando la risposta strumentale di una serie di soluzioni a concentrazione nota, crescente, dell'analita.

Le soluzioni vengono preparate a partire da uno standard (che può essere, se necessario, preventivamente diluito): aliquote crescenti di soluzione vengono portate a volume in una serie di matracci.

Si prepara anche un bianco reagenti (cioè una soluzione che contenga tutti i reagenti ad eccezione dell'analita) e si legge la risposta strumentale relativa. Tale risposta andrà sottratta a quella delle soluzioni a concentrazione nota.

Si costruisce quindi la retta riportando in ordinate i valori della specifica variabile determinata (assorbanza per UV-vis, area del picco in GC etc.) ed in ascisse i valori della concentrazione degli standard.

Una volta costruita la retta questa potrà essere utilizzata per la determinazione della concentrazione dell'analita nel campione, operando graficamente per interpolazione, oppure ricavando l'equazione della retta e, da questa, ottenere il valore di concentrazione noto il valore della variabile misurata.

Esempio di applicazione: determinazione dell'azoto nitrico nelle acque potabili con spettrofotometria UV.

La determinazione viene effettuata costruendo una retta di taratura utilizzando una soluzione standard di N-NO₃ preparata a partire da KNO₃ in ambiente acido.

Sostanze organiche eventualmente presenti possono rappresentare una interferenza indesiderata, vengono quindi effettuate due letture a lunghezza d'onda diversa: una a 220 nm, dove si ha l'assorbimento sia dei nitrati sia delle eventuali sostanze organiche, e una a 275 nm, dove assorbono solo le sostanze organiche.

Con una formula empirica si determina quindi l'assorbanza netta, ma va evidenziato che il metodo è applicabile solo a campioni con un contenuto molto basso di sostanze organiche (come appunto le acque potabili).

Il **metodo dello standard interno** rappresenta una variante migliorativa del precedente: le soluzioni standard, e il campione, vengono preparate aggiungendo in ciascuna anche una quantità, uguale per tutte, di una sostanza che non sia presente nel campione, non interagisca con i componenti della soluzione e che dia un segnale vicino, ma ben distinto, da quello dello standard.

La retta sarà in questo caso costruita riportando in ordinate il rapporto tra il valore della specifica variabile relativo allo standard e quello relativo allo standard interno.

Tale metodo viene utilizzato soprattutto in GC, in cui la scarsa riproducibilità dell'iniezione può rappresentare un problema: in caso di iniezione non riproducibile l'errore compiuto influirà su entrambi i valori della variabile specifica, lasciando inalterato il rapporto.

Esempio di applicazione: determinazione gascromatografica di una miscela di alcoli.

Il cromatogramma della miscela in esame viene confrontato con quello di una miscela di alcoli a composizione nota. Si attribuiscono i picchi sulla base dei tempi di ritenzione e si individua l'alcol sicuramente non presente nella miscela in esame. Tale alcol viene utilizzato come standard interno (IS).

Si preparano quindi le soluzioni per la costruzione della retta di taratura: alle soluzioni a concentrazione crescente degli alcol viene aggiunto un volume, uguale per tutte, dell'alcol individuato come IS.

Le soluzioni possono contenere tutti gli alcol in esame, in modo da ottenere le rette relative a ciascuno di essi. Si determinano quindi le aree dei picchi e, in ordinate, si riportano i valori dei rapporti tra queste e le aree del picco relativo all'IS. In ascisse viene riportato il rapporto tra le masse degli alcol e dello standard interno.

Il campione viene addizionato di una data quantità di IS ed iniettato nelle stesse condizioni degli standard. Dal rapporto tra le aree dei picchi e quelle di IS si ricava quindi il rapporto in massa tra i singoli alcol e lo standard, da cui, tramite la retta di taratura, può essere determinata la concentrazione, noto il volume iniziale del campione.

Il metodo della **normalizzazione interna** può essere utilizzato in GC e in HPLC e consiste nel porre uguale a 100 il totale delle aree di tutti i picchi presenti nel cromatogramma. La percentuale dei diversi componenti viene quindi determinata con la formula:

$$\%C_i = \frac{S_i}{S_{\text{tot}}} \cdot 100$$

dove $\%C_i$ = percentuale del componente i-esimo
 S_i = area del picco del componente i-esimo
 S_{tot} = area totale dei picchi

Condizione necessaria per l'applicazione del metodo, è che tutte le sostanze presenti nella miscela siano presenti nel cromatogramma.

In pratica questo metodo viene utilizzato quasi esclusivamente per la determinazione gascromatografica degli esteri metilici degli acidi grassi alimentari.

Il metodo è così applicabile solo se la risposta strumentale è la medesima nei confronti di tutti i componenti, in caso contrario è necessario inserire un fattore di correzione (o fattore di risposta), che tenga conto appunto di questo fatto.

Per determinare i fattori di risposta si registra il cromatogramma di una miscela a composizione nota, come descritto nell'esempio di seguito.

Esempio di applicazione: determinazione della percentuale di 3 alcoli in miscela.

Si prepara una soluzione 1:1:1 dei tre alcoli e se ne registra il cromatogramma. Si individua l'alcol da usare come riferimento per il calcolo del fattore di risposta, che spesso è quello che fornisce il picco con area maggiore.

I singoli fattori di risposta vengono determinati con la formula:

$$f_{sa} = \frac{S_r}{S_a}$$

dove f_{sa} = fattore di risposta del componente A

S_r = area del picco di riferimento

S_a = area del picco del componente A

Si registra quindi il cromatogramma della miscela in esame e si calcolano tutte le aree corrette con i fattori di risposta, utilizzando la relazione:

$$S_{corretta a} = S_a \cdot f_{sa}$$

Si determina la somma di tutte le aree corrette e le singole percentuali sono determinate con la formula:

$$\%A = \frac{S_{corretta a}}{S_{corretta tot}} \cdot 100$$

Il **metodo dell'aggiunta** viene applicato in caso di matrici complesse, per eliminare le interferenze dovute ai vari componenti.

In questo caso le soluzioni per la costruzione della retta vengono preparati inserendo in ciascuno una uguale volume di campione. A ciascuna soluzione si aggiungono poi aliquote note, e diverse per tutti, dello standard corrispondente all'analita. Ciascuna soluzione conterrà alla fine una quantità totale di analita derivante da due contributi: uno incognito, ma uguale per tutti, e uno noto, crescente. Disegnando la retta riportando i valori relativi agli standard, questa non passerà per l'origine degli assi. L'intercetta negativa sull'asse x rappresenterà la concentrazione incognita dell'analita nella soluzione diluita.

Esempio di applicazione: determinazione del rame nel vino mediante AA.

Si preparano 5 matracci contenenti ciascuno un uguale volume di vino. In ciascun matraccio viene quindi aggiunta una aliquota crescente di soluzione standard di rame. Si porta a volume e si registra l'assorbanza delle soluzioni.

Si costruisce la retta riportando in ordinate l'assorbanza ed in ascisse la concentrazione delle soluzioni relative al solo standard aggiunto.

L'intercetta negativa su x rappresenta la concentrazione del rame nella soluzione diluita presente prima delle aggiunte, da cui è possibile risalire alla concentrazione nel vino utilizzando la seguente relazione

$$C_{Cu} \text{ nel vino} = C_{Cu} \text{ sol dil} \cdot \frac{V_{sol dil}}{V_{vino}}$$