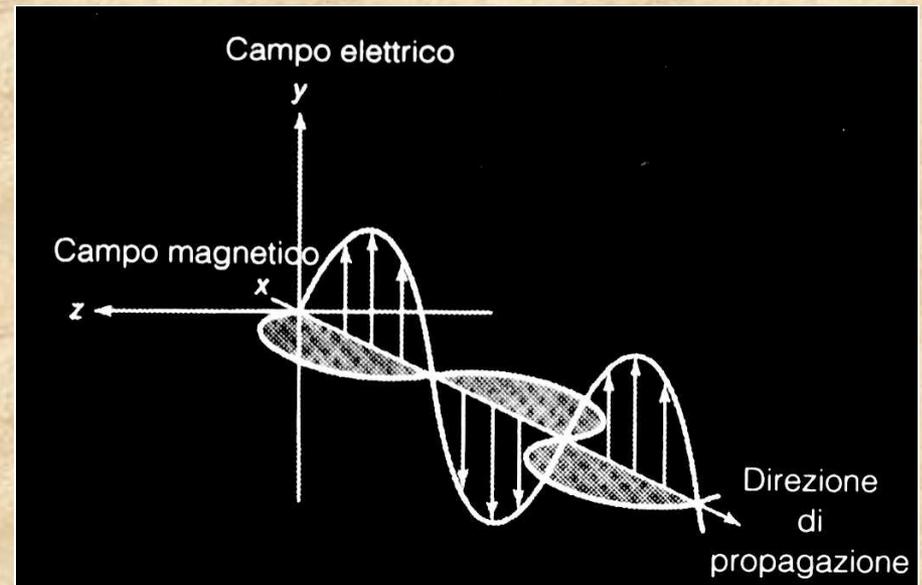
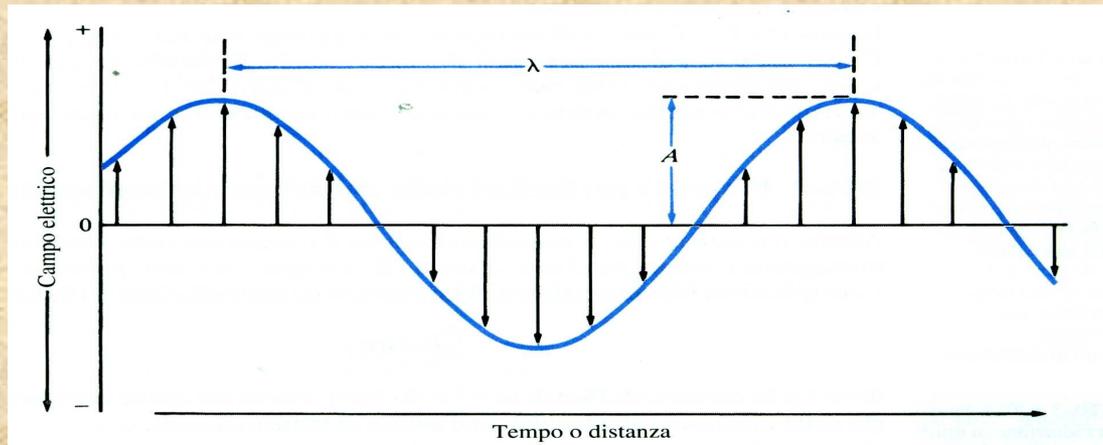


# LA SPETTROSCOPIA

Le tecniche spettroscopiche si basano sull'assorbimento o sulla emissione di una radiazione elettromagnetica da parte di un atomo o di una molecola

La radiazione elettromagnetica è una forma di energia che si propaga, cioè un fenomeno ondulatorio dovuto alla propagazione contemporanea nello spazio di un campo elettrico ed un campo magnetico oscillanti, perpendicolari tra loro.

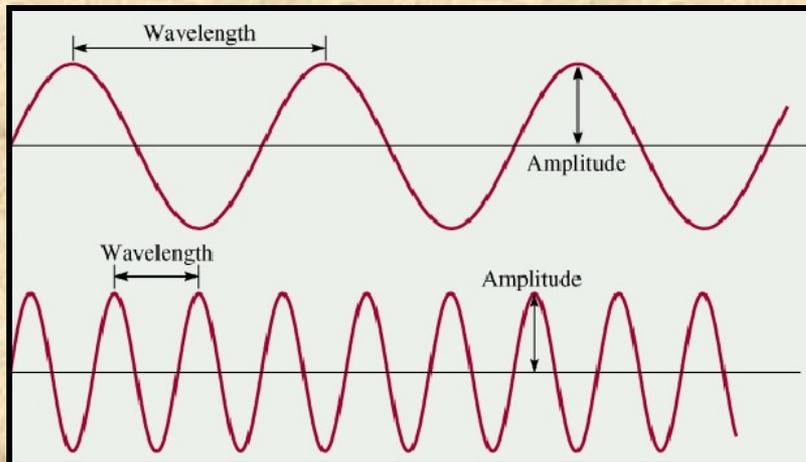




**Ampiezza  $A$ :** lunghezza del vettore elettrico al massimo dell'onda.

**Lunghezza d'onda  $\lambda$ :** distanza tra due massimi successivi dell'onda

**Frequenza  $\nu$ :** numero di oscillazioni complete che l'onda compie in un secondo. E' determinata dalla sorgente e rimane costante. Si esprime in  $s^{-1}$  o in hertz (Hz)



**Velocità di propagazione  $v_i$ :** è data dal prodotto della frequenza ( $\nu$ ) per la lunghezza d'onda ( $\lambda$ ):

$$v_i = \nu \lambda$$

$v_i$  dipende dalla composizione del mezzo che attraversa

Energia, lunghezza d'onda e frequenza della radiazione elettromagnetica sono tra loro correlate.

L'energia associata all'onda è, secondo la legge di Planck, direttamente proporzionale alla sua frequenza ed inversamente proporzionale alla lunghezza d'onda:

$$E \text{ (eV)} = h \nu = h c / \lambda = 1241.6 / \lambda \text{ (nm)}$$

$$h = 6.63 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s} \text{ (costante di Planck)}$$

$$c = 2.99792 \cdot 10^{10} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$$

L'unità di misura "eV" si legge elettron-volt ed è tipicamente usata per misurare le energie implicate nella fisica atomica.

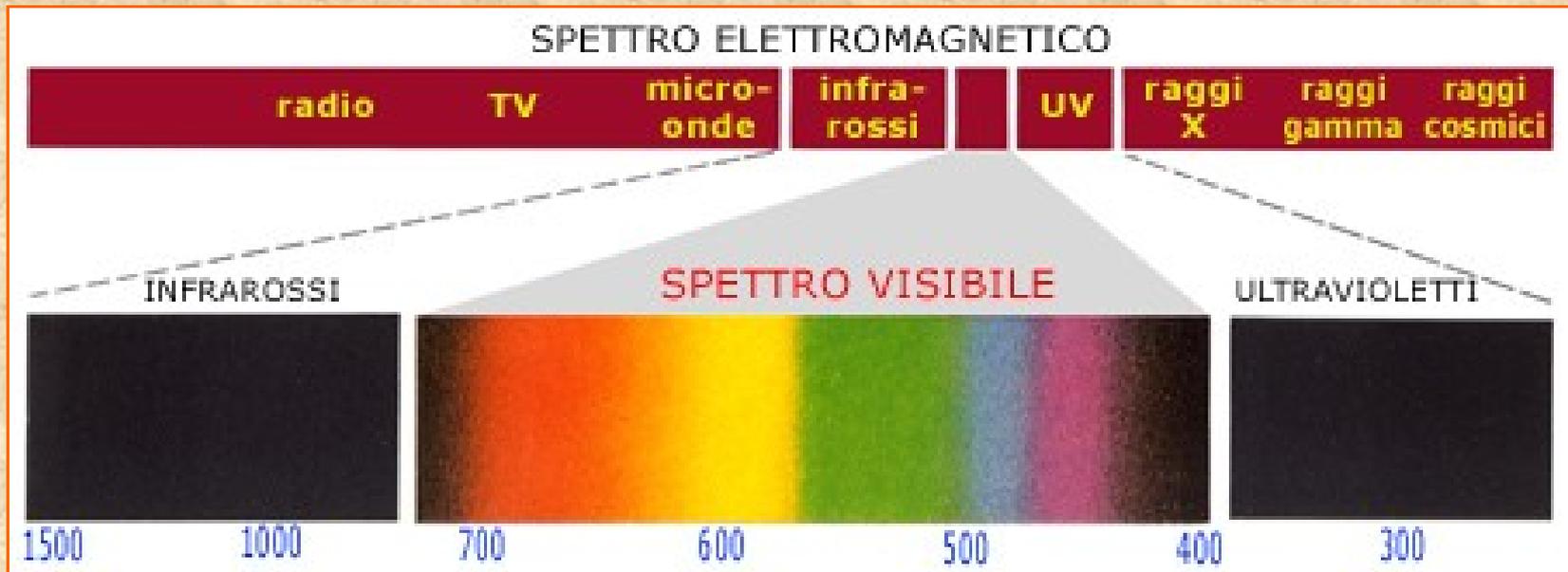
La definizione di eV è la seguente:

1 eV è l'energia acquistata da un elettrone che percorre una distanza di 1 metro in un campo elettrico generato da una differenza di potenziale di 1 volt.



# Lo spettro elettromagnetico

I vari intervalli dello spettro elettromagnetico sono sfruttati a scopo analitico per ottenere informazioni strutturali quali-quantitative sulla materia analizzata



**UV lontano (10÷200 nm)**  
**UV vicino (200÷380 nm)**  
**VIS (380÷780 nm)**

# Le regioni dello spettro elettromagnetico

Gli intervalli di lunghezza d'onda (o di frequenza) della radiazione elettromagnetica definiscono le differenti regioni dello spettro elettromagnetico.

Le regioni dello spettro elettromagnetico				
Regione dello spettro	Lunghezza d'onda (nm)	Lunghezza d'onda (centimetri)	Frequenza (Hz)	Energia (eV)
Radio	$> 10^8$	$> 10$	$< 3 \times 10^9$	$< 10^{-5}$
Microonde	$10^8 - 10^5$	$10 - 0.01$	$3 \times 10^9 - 3 \times 10^{12}$	$10^{-5} - 0.01$
Infrarosso	$10^5 - 700$	$0.01 - 7 \times 10^{-5}$	$3 \times 10^{12} - 4.3 \times 10^{14}$	$0.01 - 2$
Visibile	$700 - 400$	$7 \times 10^{-5} - 4 \times 10^{-5}$	$4.3 \times 10^{14} - 7.5 \times 10^{14}$	$2 - 3$
Ultravioletto	$400 - 1$	$4 \times 10^{-5} - 10^{-7}$	$7.5 \times 10^{14} - 3 \times 10^{17}$	$3 - 10^3$
Raggi X	$1 - 0.01$	$10^{-7} - 10^{-9}$	$3 \times 10^{17} - 3 \times 10^{19}$	$10^3 - 10^5$
Raggi Gamma	$< 0.01$	$< 10^{-9}$	$> 3 \times 10^{19}$	$> 10^5$

# Classificazione delle tecniche spettroscopiche

- In base al **meccanismo**
  - *assorbimento*
  - *emissione*
  - *fluorescenza*
- In base alla **specie interessata**
  - *atomica*
  - *molecolare*
- In base alla **regione spettrale** impiegata
  - *raggi g* ( $0.01 \text{ \AA}$ )  $\Rightarrow$  PIGE
  - *raggi X* ( $0.01 \text{ \AA} - 100 \text{ \AA}$ )  $\Rightarrow$  XRF, PIXE
  - *UV-Visibile* ( $10 \text{ nm} - 800 \text{ nm}$ )  $\Rightarrow$  AAS, ICP-AES
  - *IR* ( $800 \text{ nm} - 0.4 \text{ mm}$ )  $\Rightarrow$  FT-IR
  - *microonde* ( $0.4 \text{ mm} - 0.25 \text{ m}$ )  $\Rightarrow$  EPR
  - *radiofrequenze* ( $> 0.25 \text{ m}$ )  $\Rightarrow$  NMR

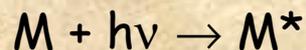
# Interazione tra radiazioni e materia

Secondo *la teoria quantistica*, gli atomi e le molecole possiedono un numero limitato di livelli energetici discreti.

A temperatura ambiente, la maggior parte delle molecole o atomi esistono nello *stato fondamentale*, lo stato cioè a più bassa energia (elettronica, rotazionale e vibrazionale).

Quando la radiazione passa attraverso una sostanza alcune frequenze possono essere assorbite  $\Rightarrow$  l'energia elettromagnetica viene trasferita agli atomi o ioni o molecole che costituiscono il campione.

La molecola assorbe cioè energia e può passare dallo stato fondamentale ad uno *stato eccitato* ad energia superiore ( $M^*$ )



**assorbimento**

Il tempo di vita nello stato eccitato è molto breve ( $10^{-6}$ - $10^{-14}$  s)  $\Rightarrow$  la specie si rilassa e ritorna al suo stato fondamentale cedendo energia sotto diverse forme.



**emissione**

Le possibili transizioni energetiche corrispondono alle diverse combinazioni di energia elettronica, vibrazionale e rotazionale. L'energia totale associata ad una molecola è data da:

$$E = E_{\text{elettronica}} + E_{\text{vibrazionale}} + E_{\text{rotazionale}}$$

$E_{\text{elettronica}}$ : E associata agli elettroni negli orbitali esterni della molecola

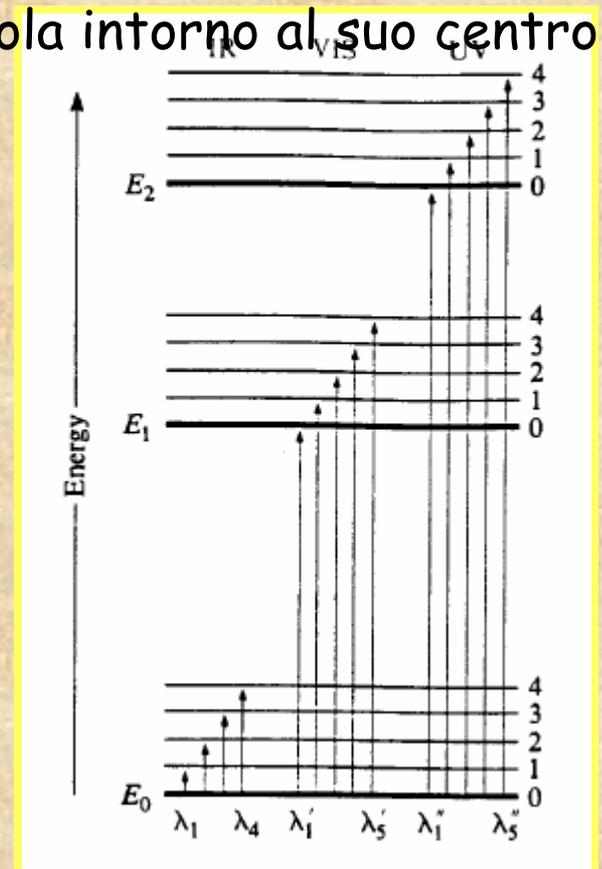
$E_{\text{vibrazionale}}$ : E dovuta alle vibrazioni interatomiche

$E_{\text{rotazionale}}$ : E associata alla rotazione della molecola intorno al suo centro di gravità

• **Assorbimento di radiazione infrarossa:** provoca transizioni negli stati rotazionali e vibrazionali dello stato elettronico fondamentale della molecola

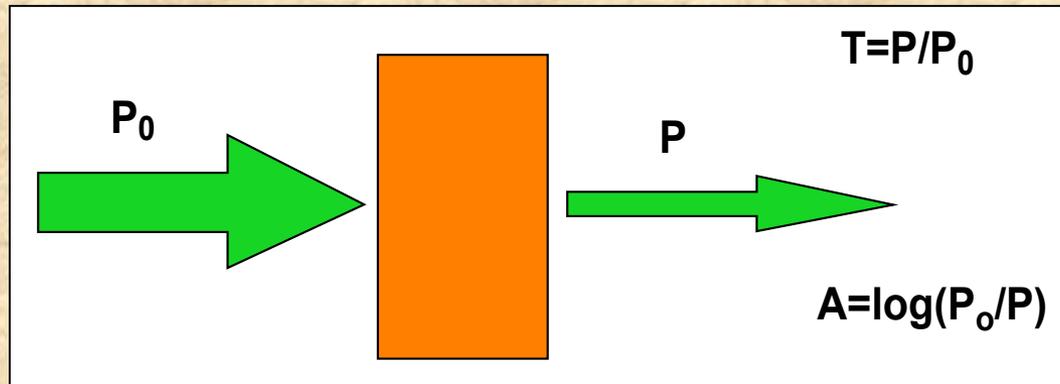
• **Assorbimento di radiazione UV e Vis:** provoca transizioni elettroniche

• **Processi di rilassamento:** possono essere non radioattivi (rilassamenti vibrazionali) e fluorescenti



# Assorbimento

L'*assorbimento* è quindi un processo in cui una specie chimica in un mezzo trasparente attenua (cioè diminuisce di intensità) alcune frequenze della radiazione elettromagnetica



L'irradianza  $P$  (o potenza radiante o intensità) è l'energia del raggio luminoso per unità di tempo e per unità di superficie ( $W \cdot m^{-2}$ )

Quantitativamente l'attenuazione della radiazione è espressa tramite la trasmittanza ( $T$ ) e l'assorbanza ( $A$ )

**Trasmittanza:**

$$T = \frac{P}{P_0}$$

**Trasmittanza percentuale:**

$$T \% = T \times 100$$

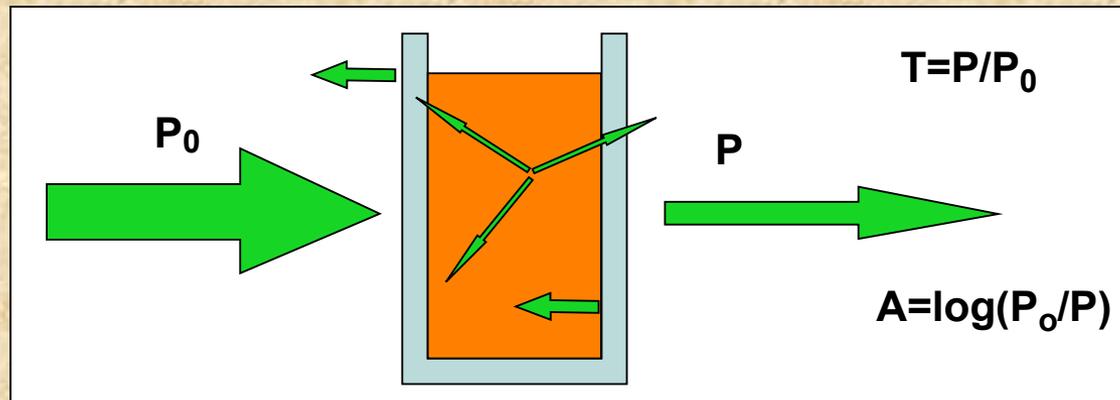
**Assorbanza:**

$$A = -\log T = \log(P_0/P)$$

## Misura sperimentale di A e di T

Oltre che all'assorbimento da parte della soluzione, l'attenuazione del fascio luminoso può essere dovuta a:

- riflessione all'interfaccia aria/parete e parete soluzione
- diffusione da parte di grosse molecole
- assorbimento da parte delle pareti del contenitore



Per tenere conto di questi effetti la potenza del fascio trasmesso dalla soluzione di analita è solitamente paragonata con quella dello stesso fascio trasmesso da una identica cella contenente la sola matrice (o bianco).

$$A = - \log \frac{P_{\text{soluzione}}}{P_{\text{bianco}}}$$

# Legge di Lambert Beer

$$A = \epsilon b c$$

$A$  = assorbanza

$\epsilon$  = assorbività molare (in  $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

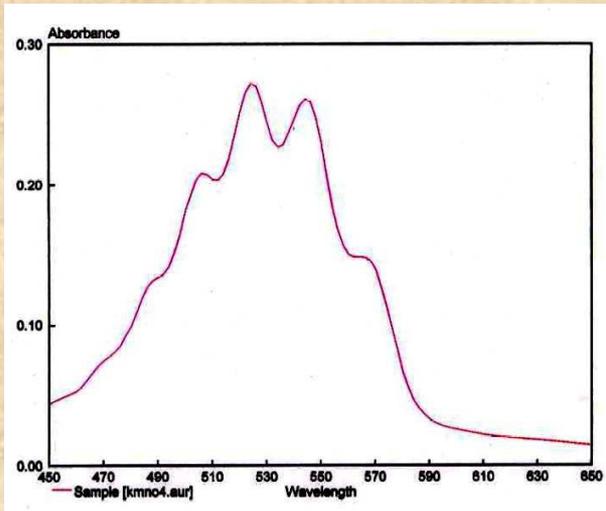
$b$  = spessore della cella o cammino ottico (in cm)

$c$  = concentrazione (in  $\text{mol L}^{-1}$ )

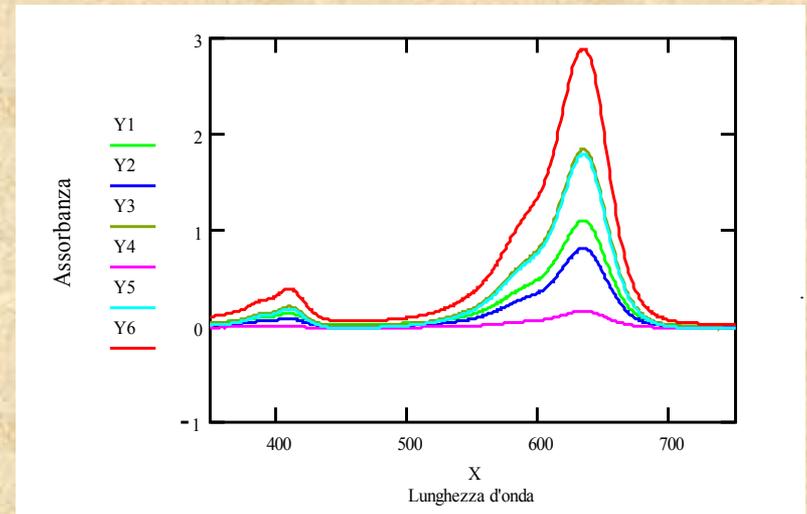
$\epsilon$  dipende dalla lunghezza d'onda della radiazione assorbita, dal solvente e dalla specie chimica che assorbe

# Spettri di assorbimento

Il grafico dell'assorbanza di una specie chimica in funzione della lunghezza d'onda è detto *spettro di assorbimento*



Spettro VIS di una sol.  $10^{-5}$  M di  $\text{KMnO}_4$



Spettri VIS del colorante E131

- ◆  $C = 3,3 \cdot 10^{-5} \text{ M}$
- ◆  $C = 2,6 \cdot 10^{-5} \text{ M}$
- ◆  $C = 2,2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$
- ◆  $C = 1,4 \cdot 10^{-5} \text{ M}$
- ◆  $C = 1,1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$
- ◆  $C = 2,2 \cdot 10^{-6} \text{ M}$

# **SPETTROFOTOMETRIA MOLECOLARE di ASSORBIMENTO UV/Vis**

## **APPLICAZIONI ANALITICHE**

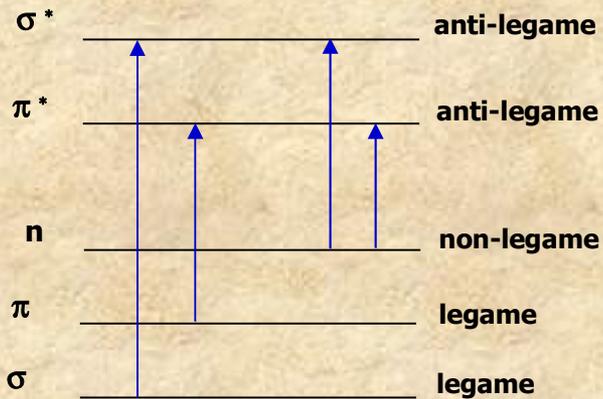
- 5. Analisi qualitativa**
- 6. Analisi quantitativa**
- 7. Titolazioni**
- 8. Identificazione di un complesso**

# ANALISI QUALITATIVA

La spettroscopia UV-visibile è detta anche *spettroscopia elettronica* perchè è basata su transizioni di elettroni tra livelli energetici diversi

Le transizioni elettroniche possono coinvolgere elettroni:

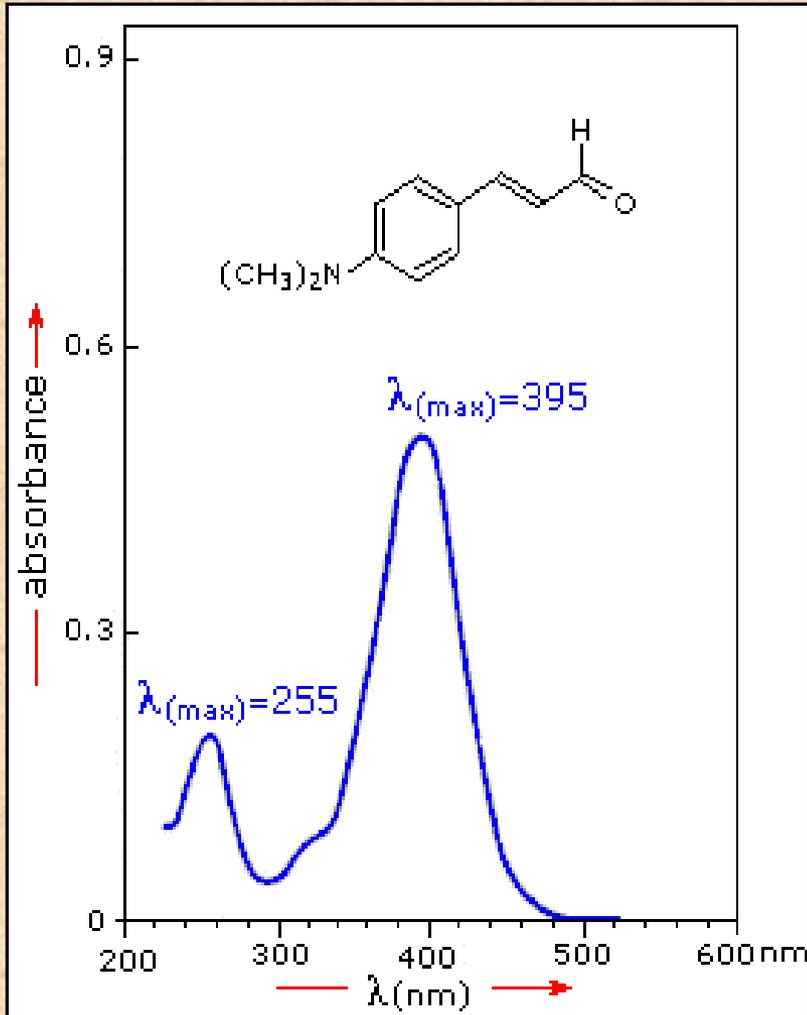
1.  **$\pi$ ,  $\sigma$  e  $n$**  (contenuti soprattutto in molecole organiche ed in qualche anione inorganico)



*Solo le transizioni di elettroni  $n$  e  $\pi$  hanno energie nel range 200-780 nm*

2.  **$d$  e  $f$**  (nella maggior parte dei metalli di transizione)
3. **Complessi a trasferimento di carica**

# Esempio di spettro UV-visibile



Esempio di spettro UV-visibile di un'aldeide insatura. La banda a 395 nm rende conto del fatto che il composto è colorato in arancio, colore complementare rispetto al violetto che corrisponde alla regione spettrale interessata ( $\sim 400$  nm).

*Le bande di assorbimento registrate sono in numero minore rispetto all'IR, tuttavia è possibile utilizzarle per effettuare determinazioni quantitative secondo la legge di Lambert-Beer*

# Applicabilità della legge di Lambert-Beer e deviazioni

## a. È valida solo per soluzioni diluite ( $< 10^{-2} M$ )

- ❖ All'aumentare della concentrazione aumenta il numero di particelle in soluzione ed aumenta anche il numero di urti fra queste; le forze interioniche e/o intermolecolari aumentano e possono formarsi molecole o aggregati di particelle più complesse, diverse per struttura da quelle in esame, per cui si potrà avere uno spostamento del massimo di assorbimento.
- ❖  $\epsilon$  dipende dall'indice di rifrazione del mezzo che, per concentrazioni elevate, dipende a sua volta dalla concentrazione.

## b. Deviazioni chimiche

Avvengono quando un analita si dissocia, si associa o reagisce con il solvente dando un prodotto con uno spettro diverso da quello dell'analita. Ad esempio per gli indicatori acido-base



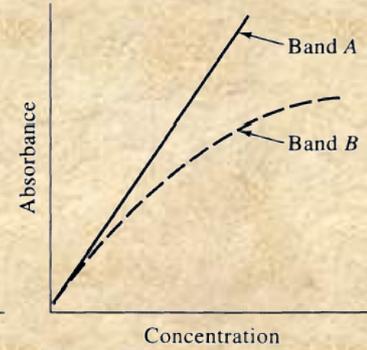
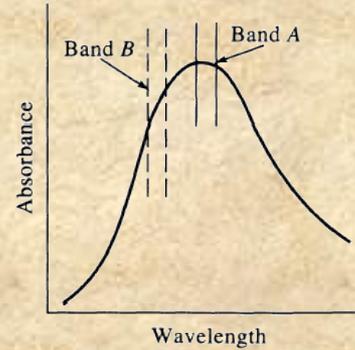
colore 1

colore2

lo spostamento dell'equilibrio provoca deviazioni dalla legge

### *c. Limiti strumentali*

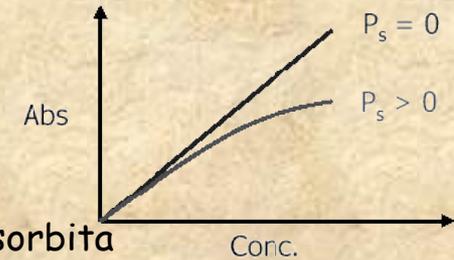
❖ Radiazione incidente non perfettamente monocromatica →



❖ Radiazioni parassite raggiungono il rivelatore che →

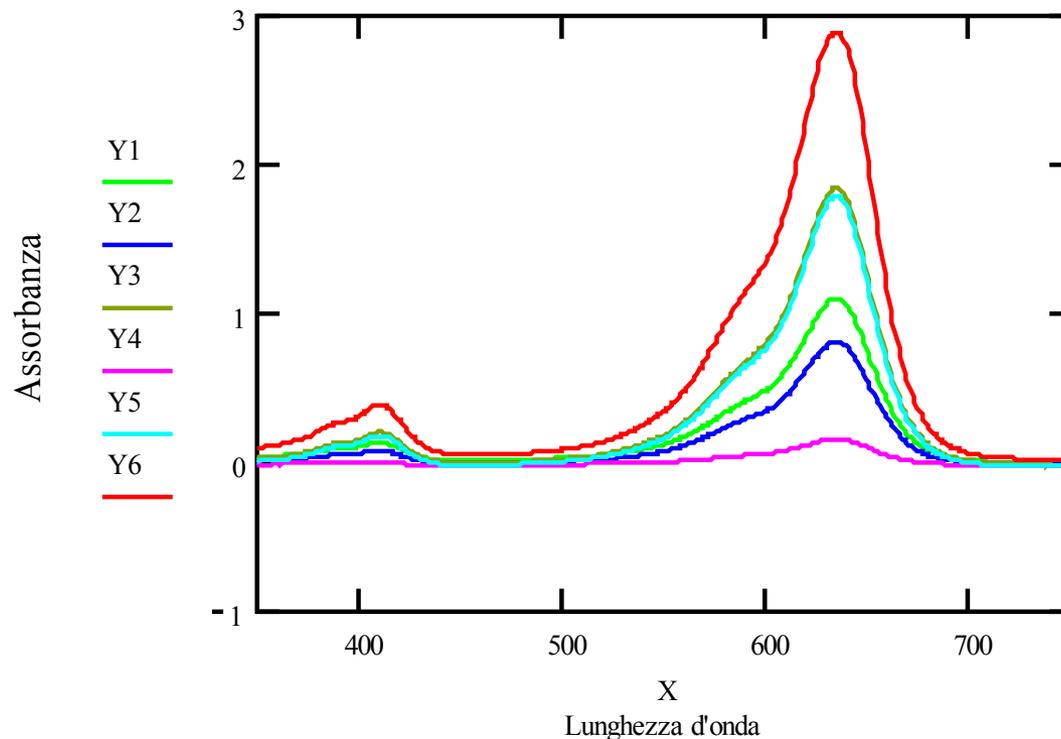
$$A' = \log \frac{P_0 + P_s}{P + P_s}$$

$P_s$  = radiazione parassita non assorbita



# Condizioni per l'analisi quantitativa

- la specie da determinare deve essere un cromoforo o poter essere trasformata in cromoforo
- le specie devono assorbire in modo rilevante nell'intervallo spettrale degli strumenti
- la relazione A vs c deve essere lineare (intervallo ottimale 0.4-0.9)

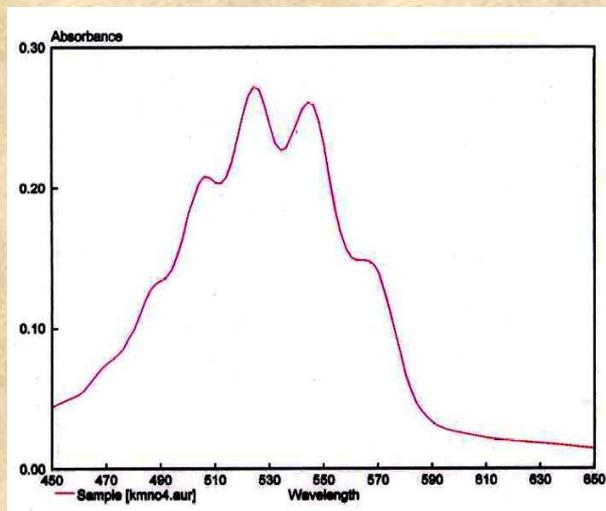


## Spettri VIS del colorante E131

- ◆  $C = 3,3 \cdot 10^{-5} M$
- ◆  $C = 2,6 \cdot 10^{-5} M$
- ◆  $C = 2,2 \cdot 10^{-5} M$
- ◆  $C = 1,4 \cdot 10^{-5} M$
- ◆  $C = 1,1 \cdot 10^{-5} M$
- ◆  $C = 2,2 \cdot 10^{-6} M$

# Procedura per il dosaggio analitico

1. Scelta della lunghezza d'onda di massimo assorbimento: (i) curva di assorbimento relativamente piatta e (ii) massima sensibilità analitica



Spettro VIS di una sol.  $10^{-5}$  M di  $\text{KMnO}_4$

2. messa a punto delle condizioni di analisi (poiché l'assorbanza è influenzata da solvente, pH, temperatura, sostanze interferenti)

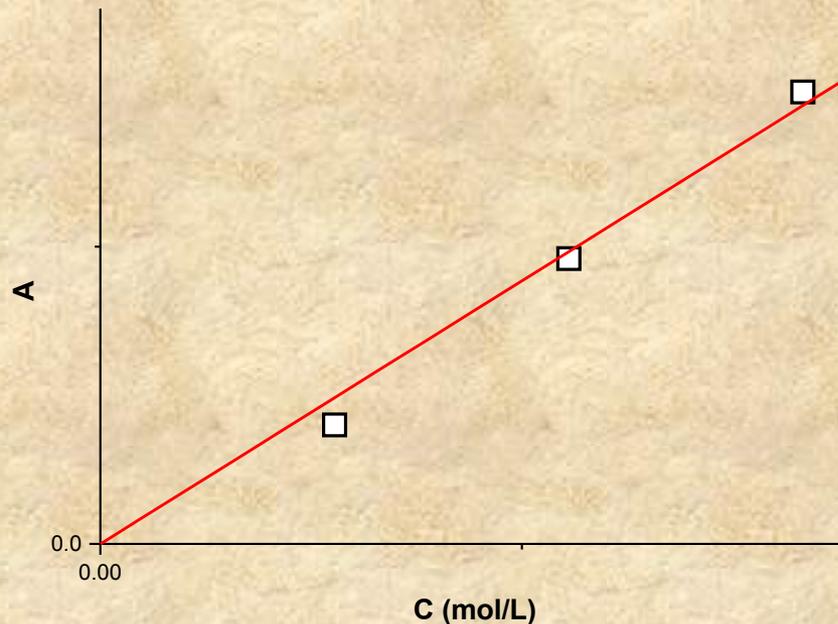
3. scelta del metodo:

- a. curva di taratura
- b. metodo dell'aggiunta standard

## a. CURVA DI TARATURA

Consiste nella **preparazione di soluzioni standard** aventi composizione simile a quella del campione incognito e **del bianco dei reagenti** (che li contiene tutti tranne l'analita) e nella misura della loro assorbanza.

È fondamentale che la composizione degli standard sia il più possibile vicino a quella del campione incognito



## CARATTERISTICHE DEI METODI SPETTROFOTOMETRICI

- **AMPIA APPLICABILITÀ:** un elevato numero di specie inorganiche, organiche e biochimiche assorbono nell'UV
- **ALTA SENSIBILITÀ:** il limite di rivelabilità è, mediamente,  $10^{-4}$ - $10^{-5}$  M. Si può arrivare con opportune modifiche fino a  $10^{-6}$ - $10^{-7}$ M
- **SELETTIVITÀ DA MODERATA AD ALTA**
- **BUONA ACCURATEZZA:** gli errori relativi in concentrazione sono tra l'1 ed il 5%. Si può arrivare fino a pochi decimi di %

# SPETTROFOTOMETRI

## *SCHEMA A BLOCCHI DI UNO SPETTROFOTOMETRO*



# Sorgenti luminose

Una sorgente luminosa per essere idonea in spettroscopia deve:

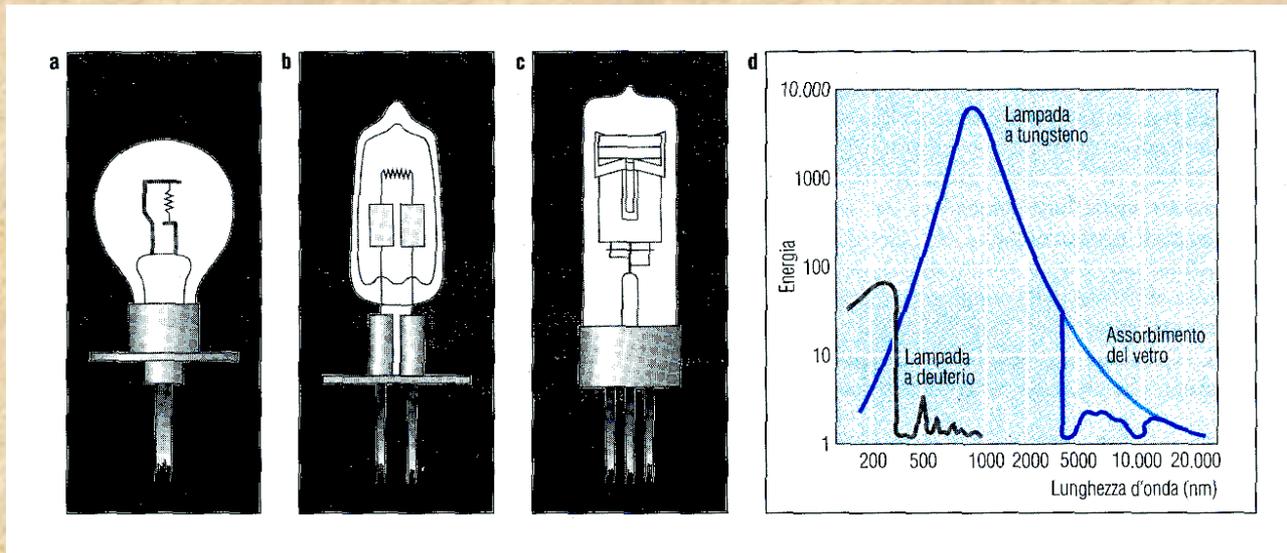
- generare un fascio di radiazioni di potenza sufficiente affinché siano facili sia la rivelazione sia la misurazione
- la potenza sviluppata deve essere stabile per un tempo adeguato

## Sorgenti nel VIS:

lampada a filamento di tungsteno (a).  
lampada a tungsteno alogeno (b).

## Sorgenti nell'UV:

lampada a deuterio (c).



## Selettore di lunghezza d'onda ( $\lambda$ ):

Serve ad isolare una regione limitata dello spettro, in modo da aumentare la selettività e la sensibilità di uno strumento.

I selettori possono essere:

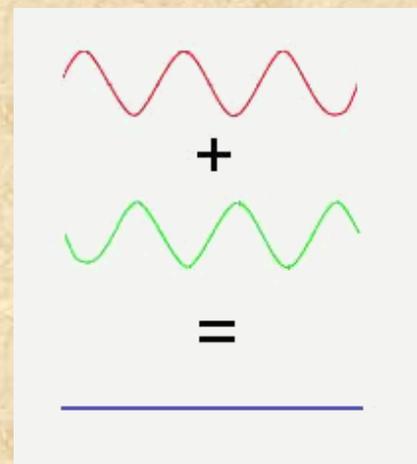
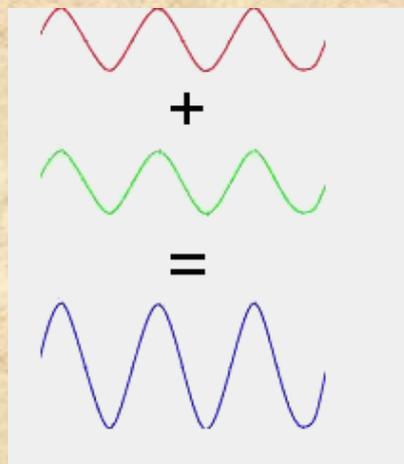
1. Filtri
2. Monocromatori

# 1. Filtri

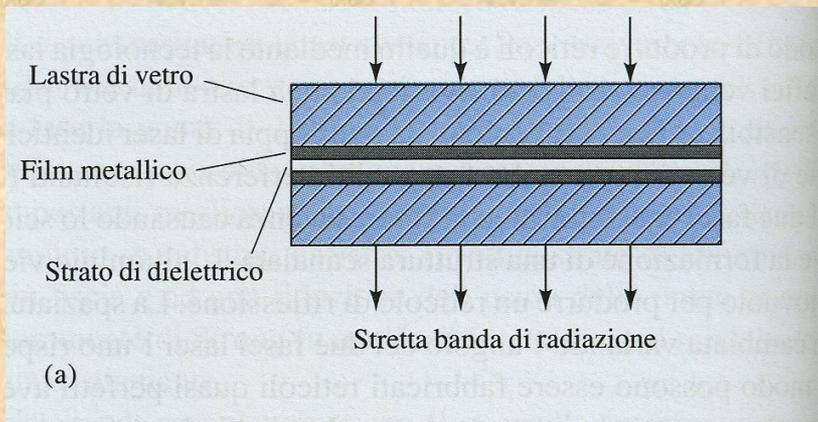
a) *filtri ad assorbimento*: Sono costituiti da un vetro colorato o da un colorante disperso in gelatina e posto tra due lamine di vetro

b) *filtri ad interferenza*: Sfruttano l'interferenza ottica per fornire bande relativamente strette di radiazioni

Quando due o più onde interagiscono tra di loro possono intensificarsi o indebolirsi; si può avere cioè una *interferenza costruttiva o distruttiva*



L'interferenza costruttiva è massima quando le due onde arrivano in fase: la differenza di cammino tra le due onde deve essere un numero intero  $n$  di lunghezze d'onda



Lo spessore dello strato dielettrico (sostanza non conduttrice o isolante, in genere trasparente otticamente) è calibrato e determina la lunghezza d'onda della radiazione trasmessa.

Le lunghezze d'onda delle radiazioni trasmesse dal filtro sono date da:

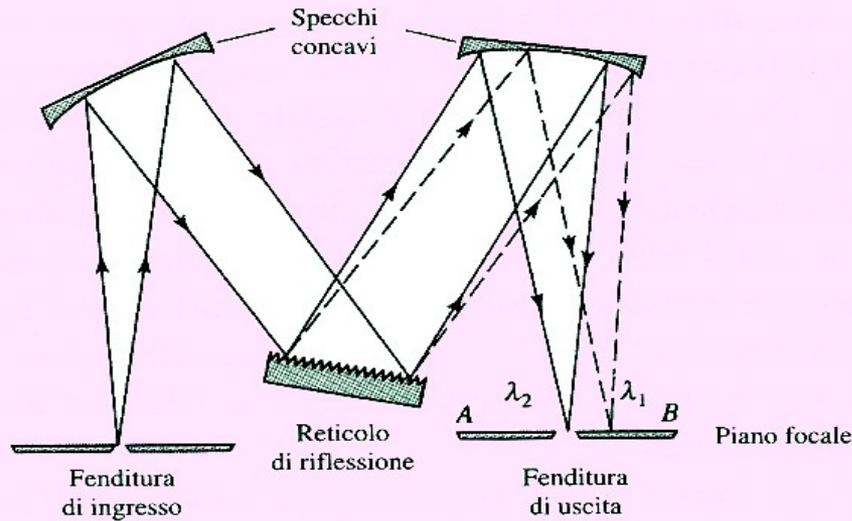
$$\lambda = \frac{2t\eta}{n}$$

t: spessore dello strato dielettrico

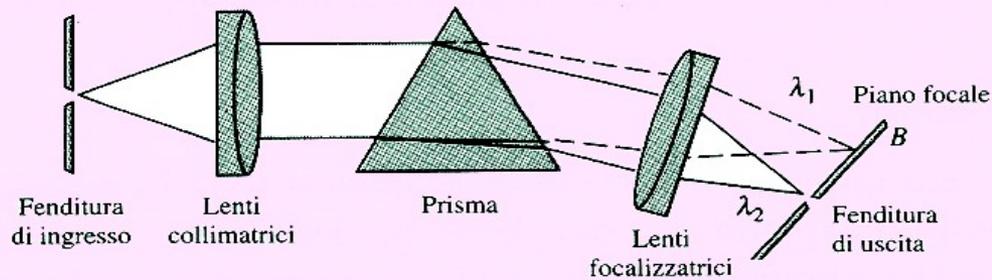
$\eta$ : indice di rifrazione del dielettrico

n: numero intero detto ordine di interferenza

## 2. Monocromatori



(a)



(b)

Sono costituiti da:

- una fenditura di entrata
- un collimatore (lente o specchio) che rende parallelo il fascio dei raggi di luce (radiazione policromatica)
- un reticolo o un prisma che disperdono la radiazione nelle sue lunghezze d'onda componenti (raggi monocromatici)
- un elemento focalizzante che riforma l'immagine della fenditura e la mette a fuoco su una superficie piana detta piano focale
- una fenditura di uscita nel piano focale che isola la banda spettrale desiderata

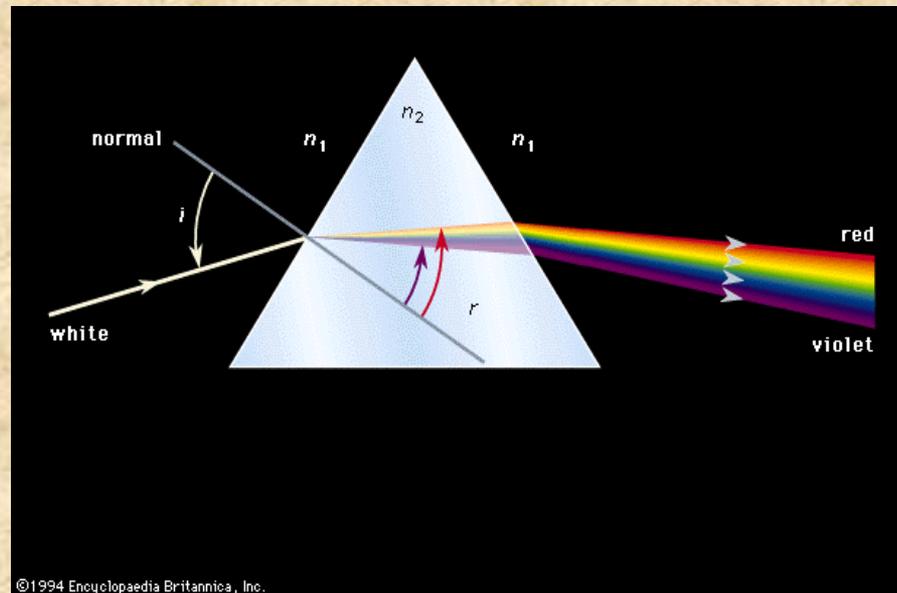
## ***Monocromatori a prisma:***

la dispersione angolare è dovuta a rifrazione

Sono costituiti da materiali diversi a seconda se essere utilizzati per disperdere radiazioni UV, vis o IR

*La dispersione è provocata dalla rifrazione sulle due facce del prisma*

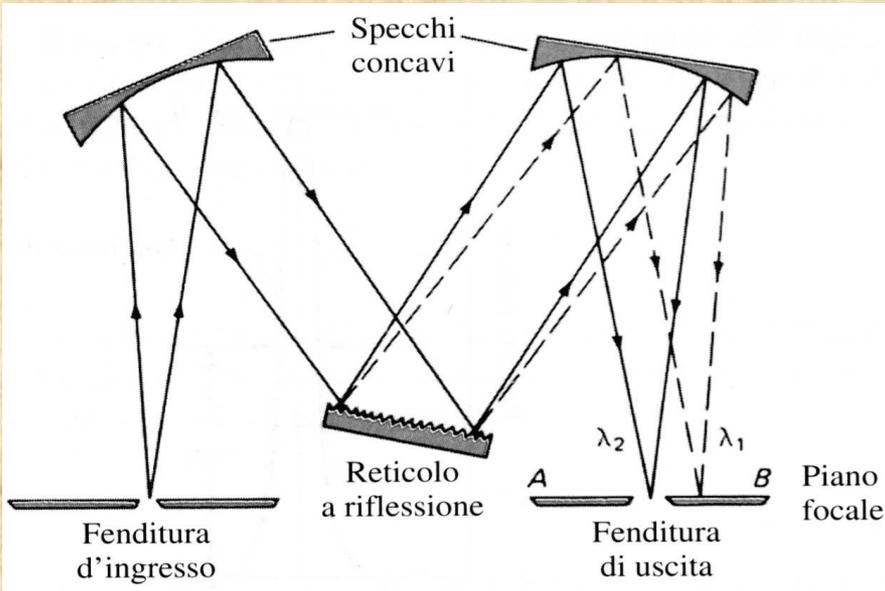
all'aumentare di  $\lambda$  l'indice di rifrazione diminuisce  $\Rightarrow$  le lunghezze d'onda maggiori sono rifratte meno fortemente di quelle minori



## Monocromatori a reticolo:

la dispersione angolare è dovuta a diffrazione

Il reticolo utilizzato è in genere una superficie dura, otticamente piana e lucida sulla quale è stato inciso un numero elevato di scanalature di dimensioni identiche, parallele ed equidistanti:



L'angolo di riflessione del fascio diffratto dipende dalla lunghezza d'onda della radiazione.

I raggi riflessi percorrono distanze differenti e possono interferire tra loro. L'interferenza è costruttiva quando la differenza di percorso dei due raggi è uguale ad un multiplo intero di  $\lambda$ , cioè

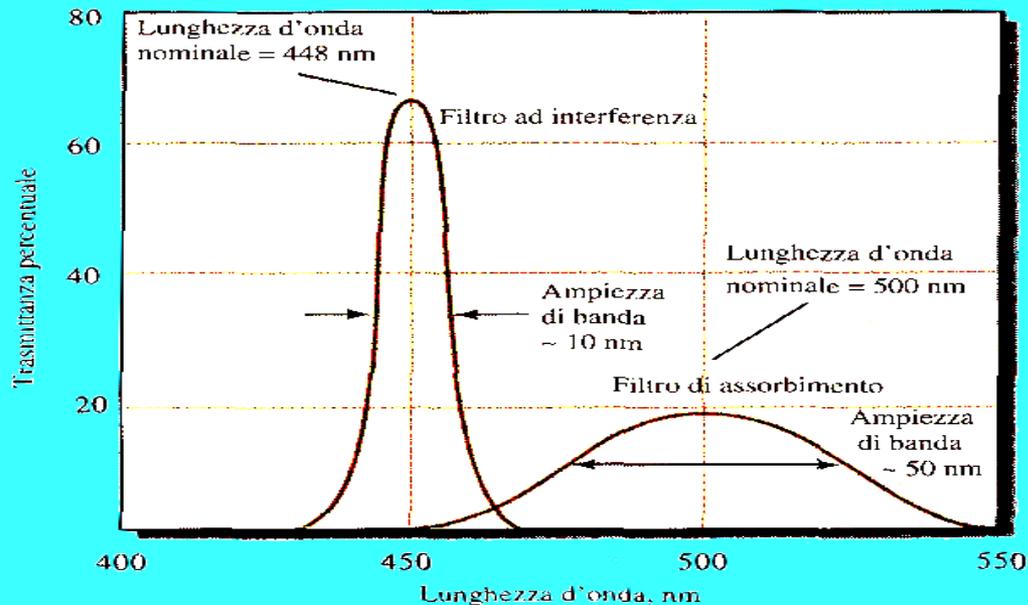
$$n \lambda = CD - AB$$

poichè  $CD = d \sin i$ ;  $AB = -d \sin r$

$$n \lambda = d (\sin i + \sin r)$$

( $d$  = distanza tra le due superfici riflettenti)

Idealmente, il segnale in uscita da un selettore di lunghezza d'onda dovrebbe essere una radiazione di una sola lunghezza d'onda (luce monocromatica). In realtà si ottiene una banda (cioè un fascio di radiazioni costituito da un gruppo continuo, stretto e limitato di lunghezze d'onda). La larghezza della banda è una misura inversa della qualità dello strumento



In generale:

*banda stretta*  $\Rightarrow$   
*selettività più elevata*

# I CONTENITORI DEL CAMPIONE

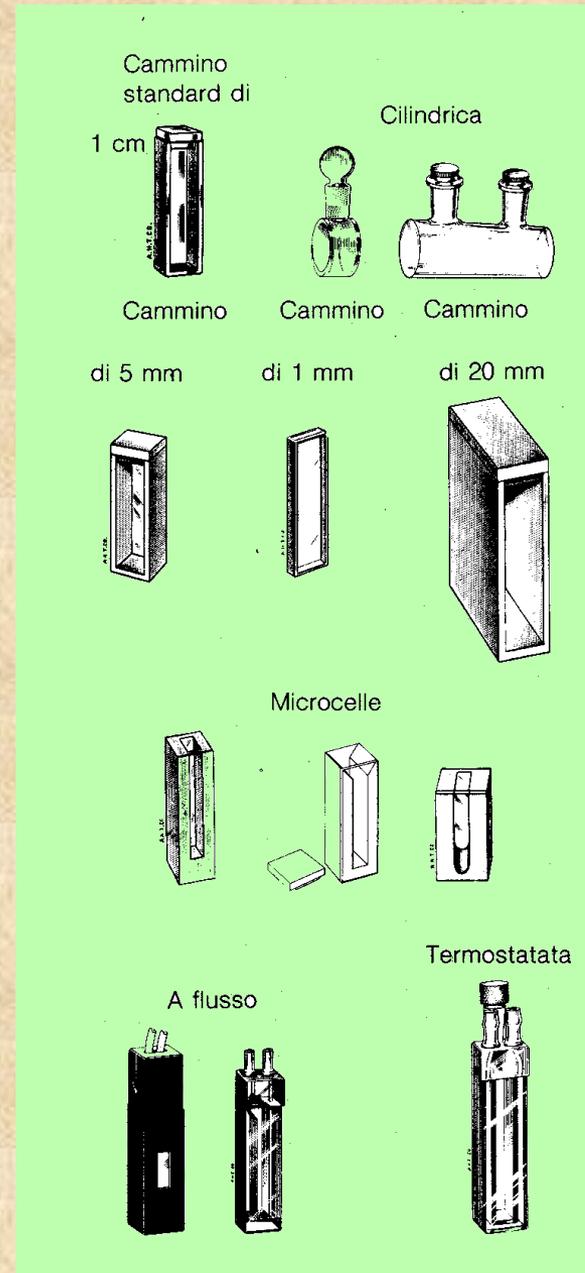
sono dette celle o cuvette e devono essere trasparenti nella regione spettrale in cui si lavora

nell'UV:

quarzo

nel VIS:

quarzo, vetro, plastica

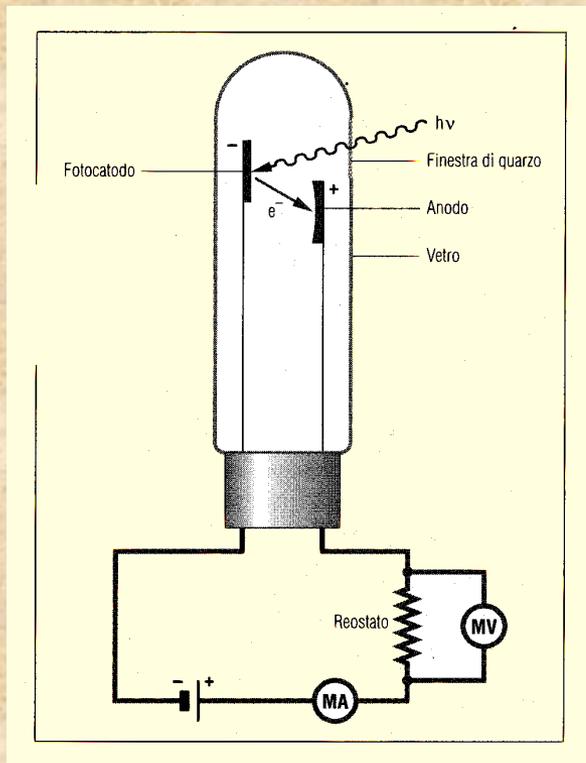


# RIVELATORI DI RADIAZIONE

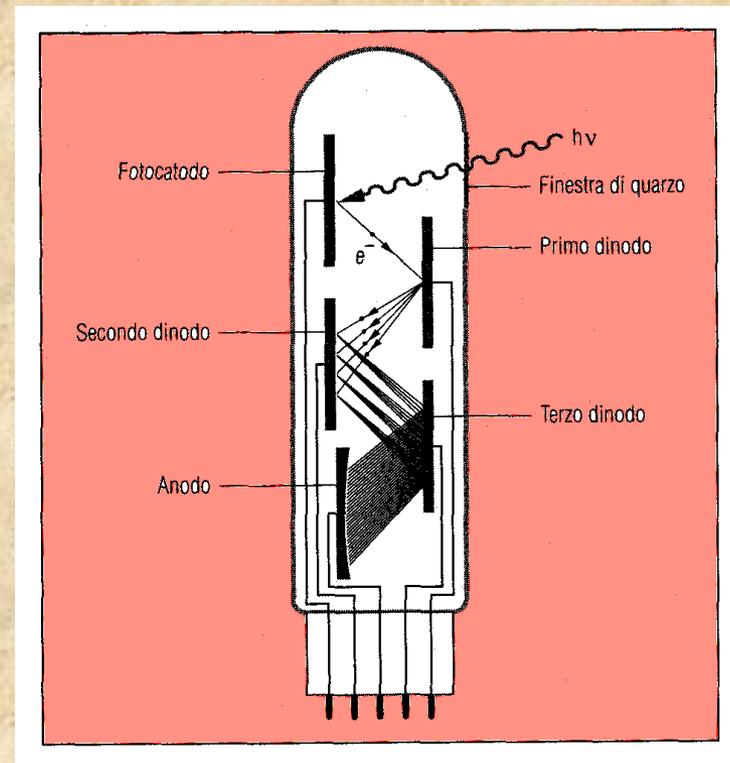
I moderni rivelatori sono costituiti da trasduttori di segnale



convertono l'energia radiante  
in segnale elettrico



Fototubo

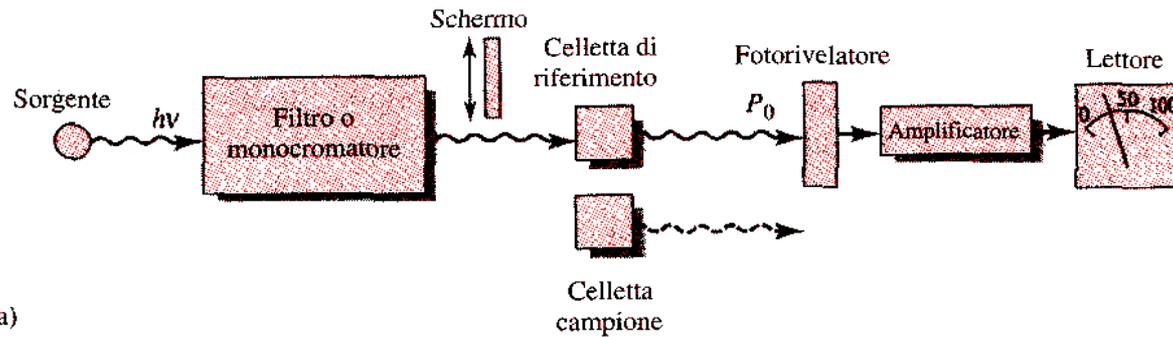


Fotomoltiplicatore

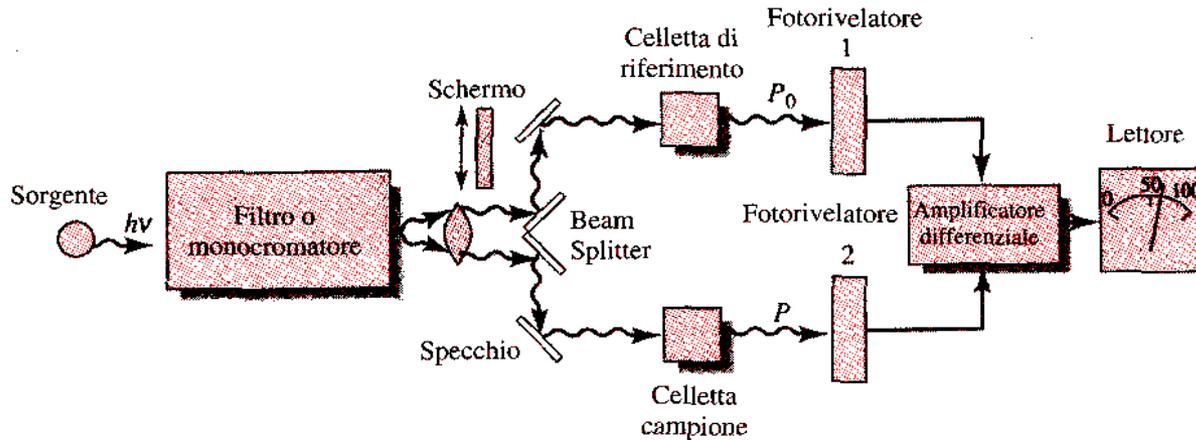
# Tipi di spettrofotometri

A MONO RAGGIO (a) [cosiddetti colorimetri]

A DOPPIO RAGGIO (b) [il raggio uscente dal monocromatore si sdoppia: uno va al campione e l'altro al riferimento (bianco)]



(a)



(b)

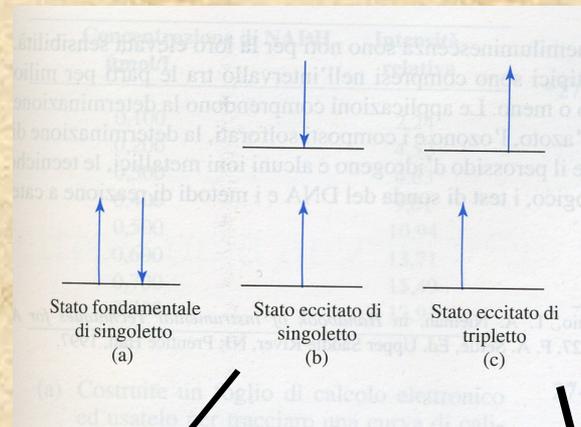
# Spettroscopia di emissione molecolare UV/vis

La fluorescenza e la fosforescenza sono processi di emissione, in cui le specie eccitate, ritornano allo stato fondamentale cedendo il loro eccesso di energia come fotoni

la specie eccitata raggiunge il livello vibrazionale più basso di uno stato elettronico in seguito a trasferimento dell'eccesso di energia vibrazionale alle molecole di solvente. Questo processo avviene in meno di  $10^{-15}$  s

rilassamento non radioattivo che comporta il trasferimento tra il livello vibrazionale più basso di uno stato elettronico ed il livello vibrazionale più alto di un altro stato elettronico inferiore. Avviene in un tempo di  $10^{-6}$ - $10^{-9}$  s

comportano l'emissione di un fotone di radiazione.



fluorescenza

fosforescenza

## Processi di rilassamento

***rilassamento vibrazionale***: la specie eccitata raggiunge il livello vibrazionale più basso di uno stato elettronico in seguito a trasferimento dell'eccesso di energia vibrazionale alle molecole di solvente. Questo processo avviene in meno di  $10^{-15}$  s

***conversione interna***: rilassamento non radioattivo che comporta il trasferimento tra il livello vibrazionale più basso di uno stato elettronico ed il livello vibrazionale più alto di un altro stato elettronico inferiore. Avviene in un tempo di  $10^{-6}$ - $10^{-9}$  s

***conversione esterna***: rilassamento non radioattivo che avviene tramite trasferimento di energia dalla molecola eccitata al solvente

***conversione intersistema***: processo in cui si ha l'inversione di spin di un elettrone eccitato

***fluorescenza e fosforescenza***: comportano l'emissione di un fotone di radiazione.