

Chimica analitica e i metodi spettrofotometrici

Prof.ssa Ersilia Conte

Metodi spettrofotometrici

Tecniche analitiche che si basano sulla **interazione di una radiazione elettromagnetica con la materia**, interazione possibile grazie alla natura duale delle onde elettromagnetiche.

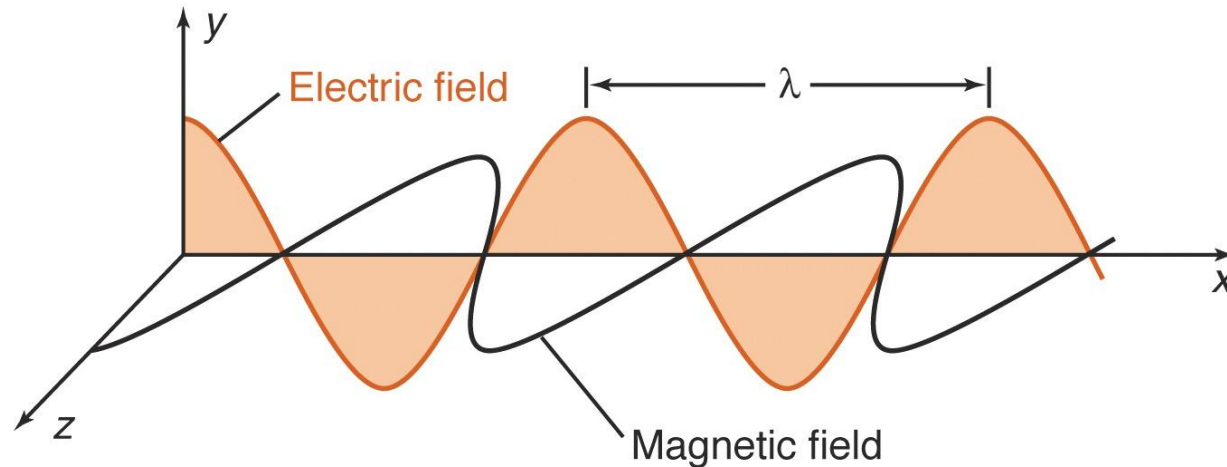
In funzione del tipo di interazione utilizzato, possiamo distinguere metodi di:

```
graph TD; A[In funzione del tipo di interazione utilizzato, possiamo distinguere metodi di:] --> B[ASSORBIMENTO]; A --> C[EMISSIONE];
```

ASSORBIMENTO

EMISSIONE

La radiazione elettromagnetica



- La radiazione elettromagnetica è una forma di energia che si propaga, è un fenomeno ondulatorio dovuto alla simultanea propagazione di perturbazioni di un campo elettrico (E) e di un campo magnetico (B), oscillanti in piani tra di loro ortogonali.

Onde elettromagnetiche

Si propagano nella materia e nel vuoto. Ogni onda è caratterizzata dai seguenti parametri:

- Lunghezza d'onda (λ) la distanza fra due punti successivi in fase fra loro
- Frequenza (ν) il numero di oscillazioni al secondo
- Periodo (T) la distanza fra due punti consecutivi in fase tra loro
- Ampiezza (A) il massimo spostamento di un punto rispetto alla posizione di equilibrio.
- Intensità (I) l'energia che l'onda trasporta nell'unità di tempo

Onde elettromagnetiche bis

- La lunghezza d'onda e la frequenza sono legate dalla seguente relazione:

$$\lambda = c / \nu$$

c = velocità della luce = $2,9979 \times 10^8$ m/s

$$\lambda \nu = c$$

Unità di λ più comuni:

$$\mu\text{m} = 10^{-6} \text{ m}$$

$$\text{nm} = 10^{-9} \text{ m}$$

$$\text{\AA} = 10^{-10} \text{ m}$$

Lo spettro elettromagnetico

Costituito dall'insieme di tutte le radiazioni elettromagnetiche: dalle *onde radio* ($\lambda > 1\text{m}$) ai *raggi cosmici* ($\lambda < 10^{-13}\text{m}$). Ad ogni radiazione è associata un'energia in base alla legge di Planck

$$E = h\nu$$

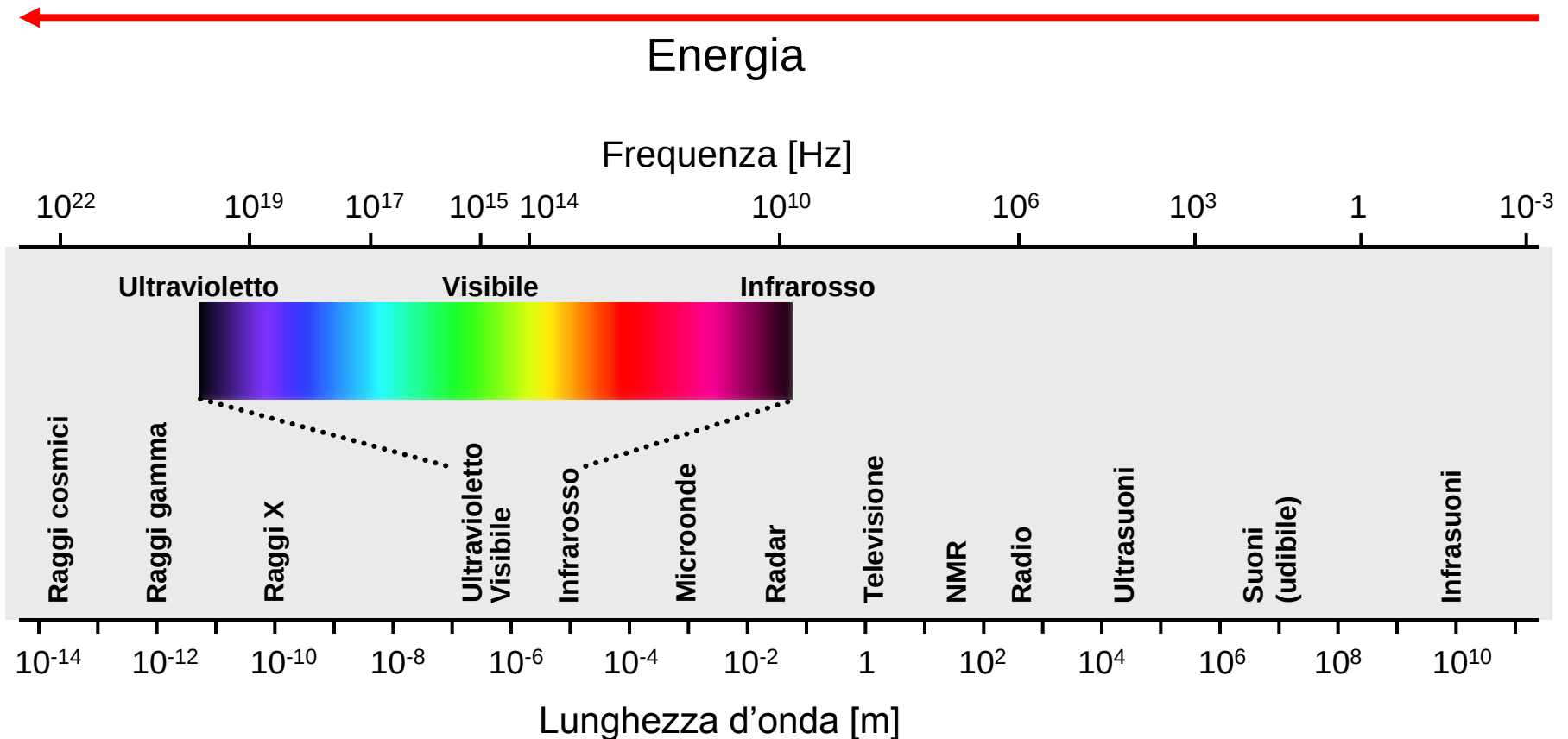
- h = costante di Planck ($6,6262 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$)
- ν = frequenza (s^{-1})
- λ = lunghezza d'onda

All'aumentare di λ la frequenza ν e l'energia E del fotone diminuiscono

La Radiazione Elettromagnetica

γ	< 0,1 nm	emissione nucleare
raggi X	0,1-10 nm	transizioni elettroniche (elettroni interni)
UV	10-380 nm	transizioni elettroniche (elettroni di valenza)
Vis	380-800 nm	transizioni elettroniche (elettroni di valenza)
IR	800 nm-100 μ m	transizioni vibrazionali
Microonde	100 μ m- 1 cm	transizioni rotazionali
onde radio	1 cm- metri	assorbimento nucleare

Lo Spettro Elettromagnetico



$$E = h\nu$$

$$\nu = c / \lambda$$

Analisi qualitativa: UV/Vis, IR

- La scansione in un intervallo di lunghezze d'onda produce uno spettro di assorbimento.
- La identificazione di un composto si può effettuare sulla base del suo spettro di assorbimento, mediante confronto con spettri di riferimento.
- Ciò viene fatto principalmente con la tecnica IR poiché lo spettro IR contiene più informazioni rispetto a quello UV e Vis.

Spettri UV/Vis, IR

Gli spettri UV e Vis si ottengono con lo stesso strumento mentre quelli IR, a causa soprattutto dei differenti materiali e sorgenti necessari, richiedono un altro tipo di strumentazione.

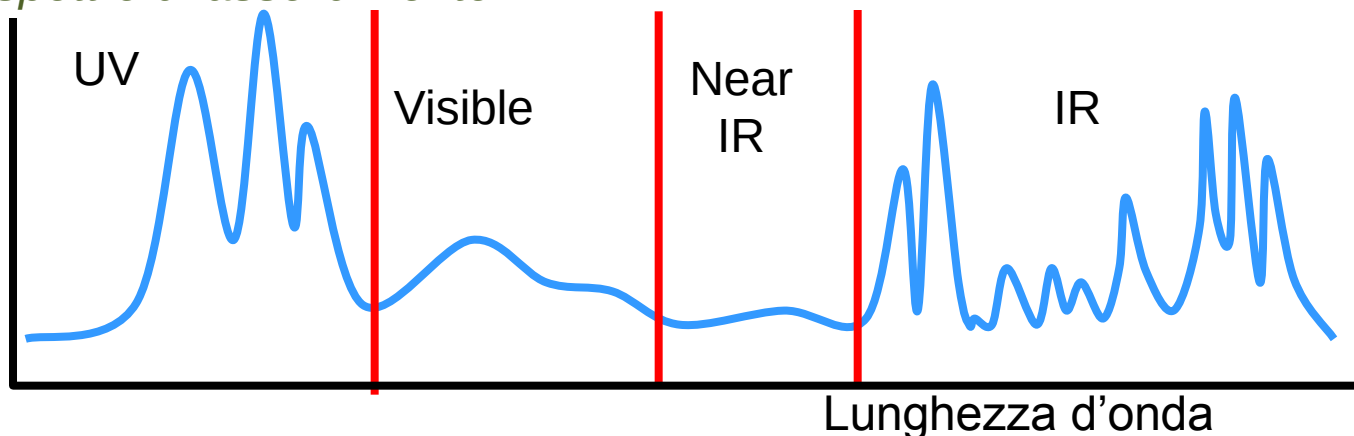
Le informazioni che si ottengono sono diverse:

UV/Vis - Transizioni elettroniche

IR - Transizioni vibrazionali (interazioni di legame)

Eseguendo una scansione e misurando l'assorbimento alle diverse lunghezze d'onda, si ottiene lo spettro di assorbimento della sostanza in esame

Esempio di spettro di assorbimento molecolare:



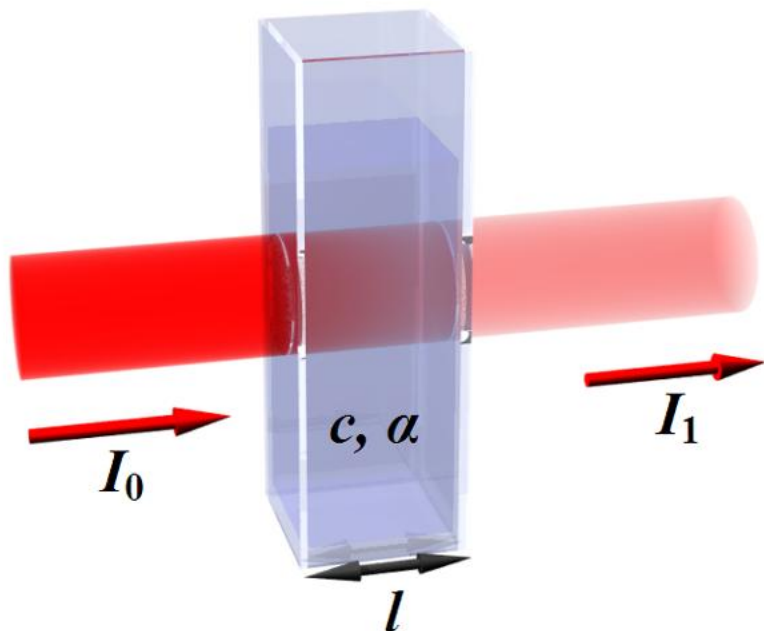
Legge di Lambert Beer

- L'analisi quantitativa spettrofotometrica è basata principalmente sullo studio degli spettri UV/Vis.
- La legge fondamentale su cui si basano i metodi di assorbimento è quella di **Lambert e Beer**:

La quantità di luce assorbita da una soluzione è funzione della concentrazione della sostanza assorbente e della lunghezza del cammino ottico.

$$A = abc$$

Analisi Quantitativa



Il rapporto I_1/I_0 è la misura della luce che passa attraverso la soluzione e non viene assorbita (TRASMITTANZA)

$$I_1/I_0 = T$$

$$T\% = 100T$$

I_1/I_0 è denominata
Trasmittanza (T)

$$-\log T = A$$

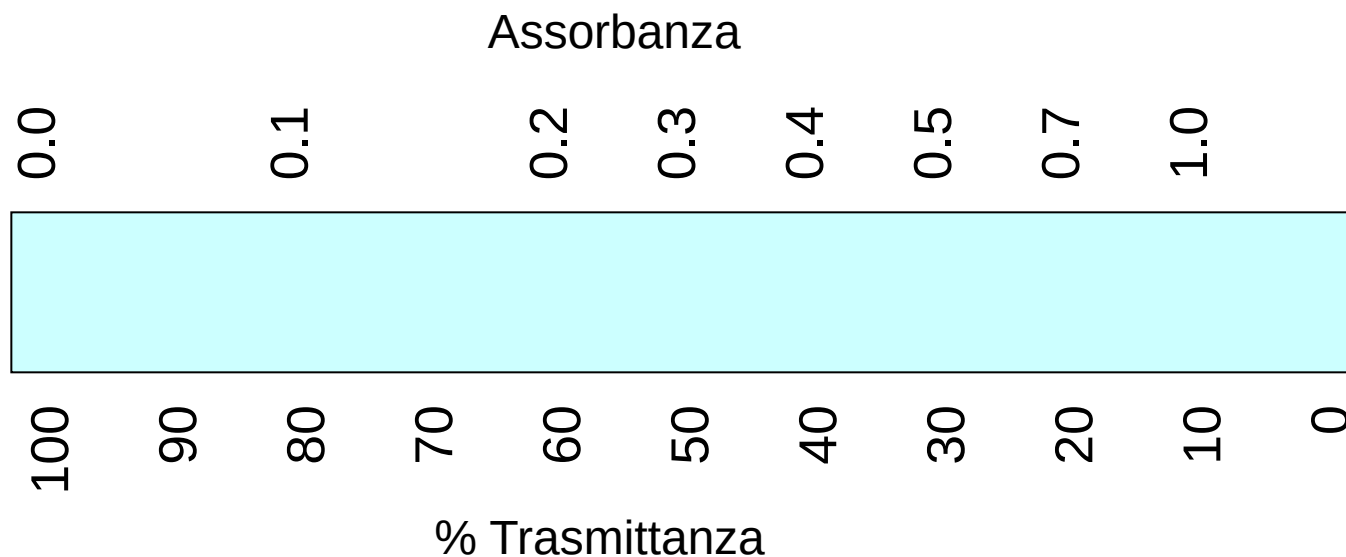
dove **A** viene definita

Assorbanza

$$A = \epsilon bc$$

ASSORBANZA vs TRASMITTANZA

L'assorbanza è il termine utilizzato nell'equazione di Lambert e Beer, ma in realtà è la trasmittanza che viene direttamente misurata dallo strumento

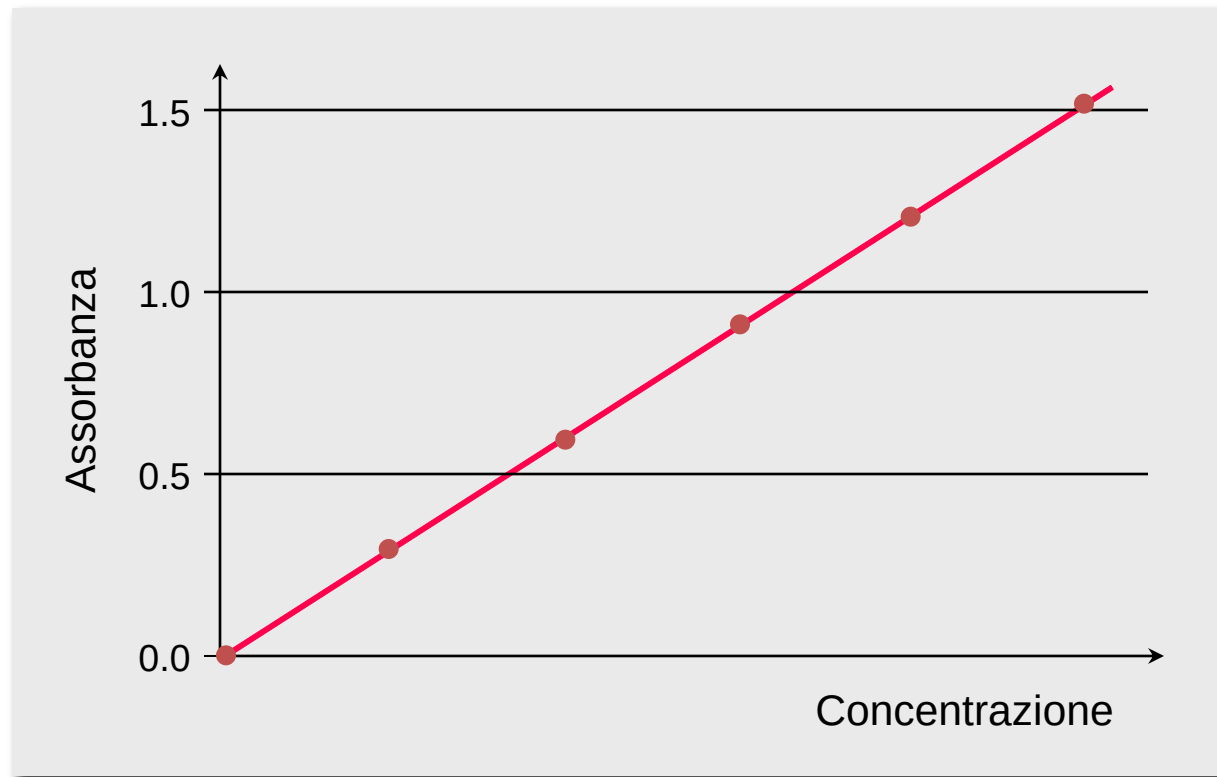


$$0 < T < 1$$

$$0 < \%T < 100$$

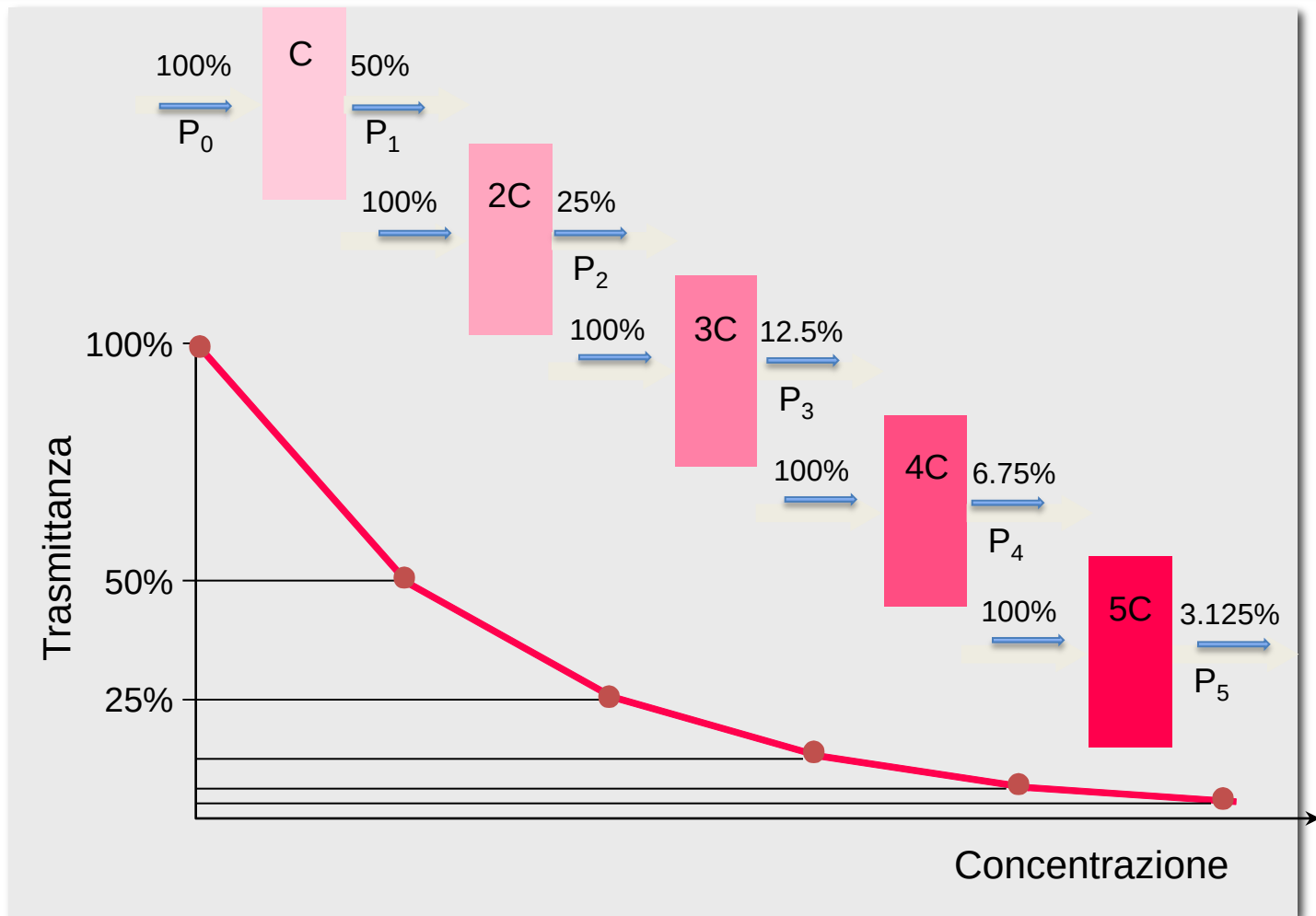
$$0 < A < \infty$$

La Legge di Lambert Beer bis



$$A = -\log T = -\log(I_1 / I_0) = \varepsilon \cdot b \cdot c$$

Trasmittanza E Concentrazione



$$T = I_1 / I_0 = e^{-Cost \times Conc}$$

Spettrofotometri

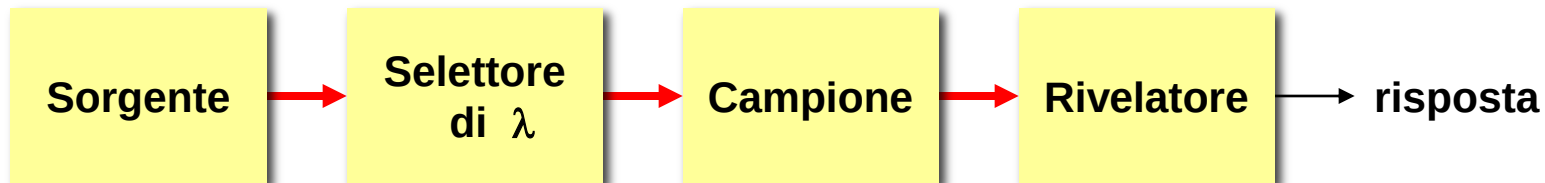
I componenti principali della strumentazione per spettrofotometria UV/Vis e IR sono simili, indipendentemente dalla radiazione che deve essere misurata.

Ogni strumento comprenderà i seguenti componenti:

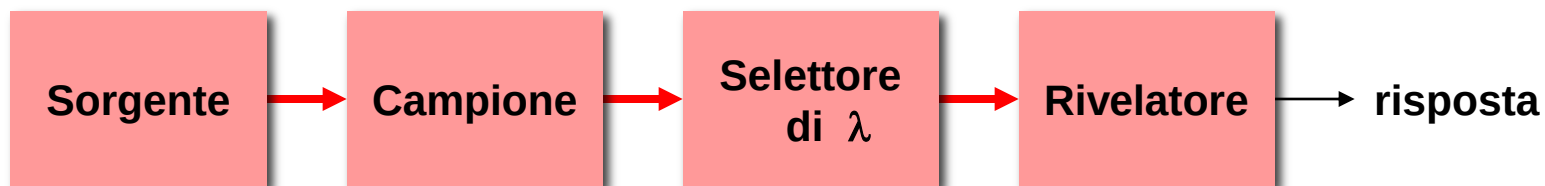
- **sorgente di luce**
- **cella per il campione**
- **selettore di lunghezza d'onda**
- **rivelatore**

La loro tipologia e disposizione potranno però variare a seconda della radiazione in esame e del metodo di misura utilizzato (assorbimento, emissione...).

Misure di assorbimento



Schema a blocchi di un tipico spettrofotometro UV/ Vis: ottica diretta



Schema a blocchi di un tipico spettrofotometro IR: ottica inversa

Celle per il campione

- Devono essere trasparenti a tutte le λ che si utilizzano
- Devono essere di geometria definita

quelle più comunemente utilizzate per analisi quantitative hanno un cammino ottico di 1 cm

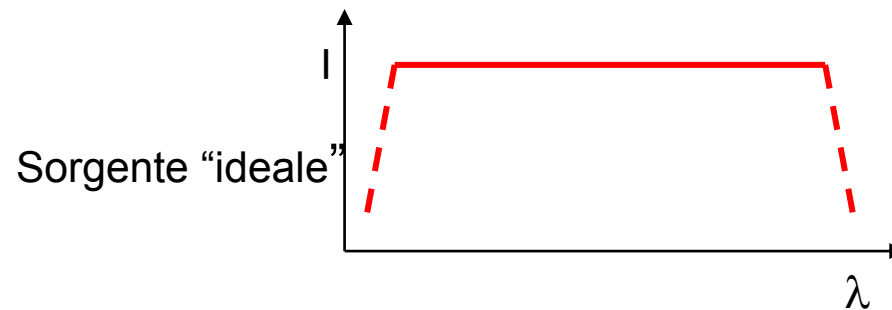


Intervallo di trasparenza:

- Silice 150-3000 nm
- Vetro 375-2000 nm
- Plastica 380-800 nm

Sorgente-IR

In generale una sorgente deve produrre luce in un ampio ambito di λ ed avere una intensità di emissione il più possibile uniforme



Le sorgenti IR sono costituite da filamenti di ossidi di elementi terrosi, riscaldati con il passaggio di corrente.

Lampada di Nernst (ZrO_2 /Ossidi di Ittrio): Intervallo di utilizzazione: $\lambda = 400\text{-}20000\text{ nm}$

Spirale di Nichel Cromo: Intervallo di utilizzazione: $\lambda = 1200\text{-}40000\text{ nm}$

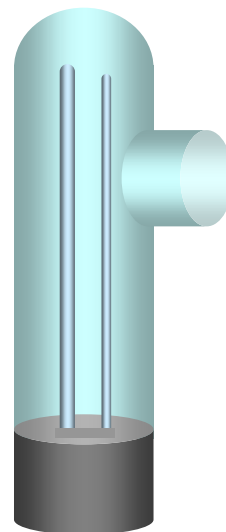
Barra di carburo di silicio (Globar): Intervallo di utilizzazione: $\lambda = 1200\text{-}40000\text{ nm}$

Sorgenti visibile e UV



**Sorgenti
visibile**

- Si utilizza una **lampada al tungsteno** (comune lampadina) o al **tungsteno-alogeno**
- Intervallo di utilizzazione: $\lambda=350-2200$ nm
- Utilizzabile per il visibile e il vicino infrarosso



**Sorgenti
UV**

Lampada al Deuterio D_2



- Intervallo di utilizzazione: $\lambda=160-380$ nm

Selettore Di Lunghezza D'onda

Il ruolo di un selettore di lunghezze d'onda è quello di far sì che solo una λ specifica arrivi al campione e/o al detector.

FILTRI

Sono il più semplice tipo di selettore di λ . Progettati per selezionare un intervallo di lunghezze d'onda il più stretto possibile

Sono di due tipi:

- **filtri ad assorbimento**
- **filtri interferenziali**

MONOCROMATORI

Progettati per selezionare una qualsiasi λ all'interno dell'intervallo di utilizzazione del monocromatore

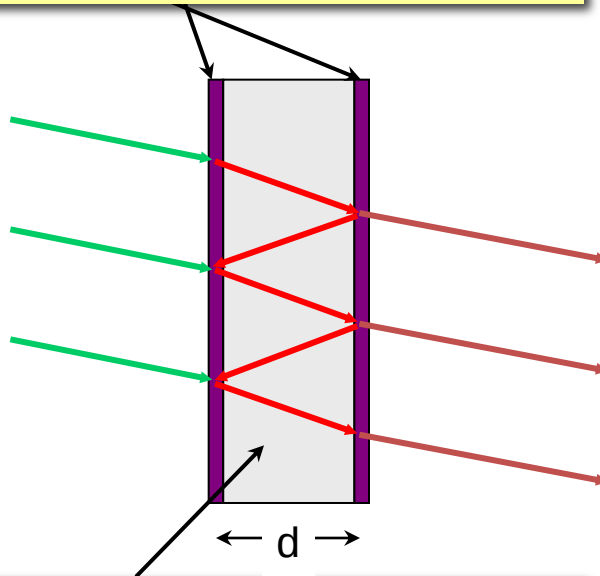
Effettuare una scansione di lunghezze d'onda

Sono di due tipi:

- **Prismi**
- **Reticoli**

Filtri interferenziali

Strato metallico semiriflettente



Strato sottile di CaF₂ o MgF₂

$$\lambda_{\text{MAX}} = 2dn / N$$

dove:

d = spessore

n = indice di rifrazione

N = ordine

La luce passa attraverso la superficie e quando arriva sull'altro lato la luce viene riflessa all'indietro.

Si realizza una interferenza con la luce incidente, costruttiva o distruttiva, in funzione dello spessore dello strato sottile. Potrà essere trasmessa solo una λ specifica.

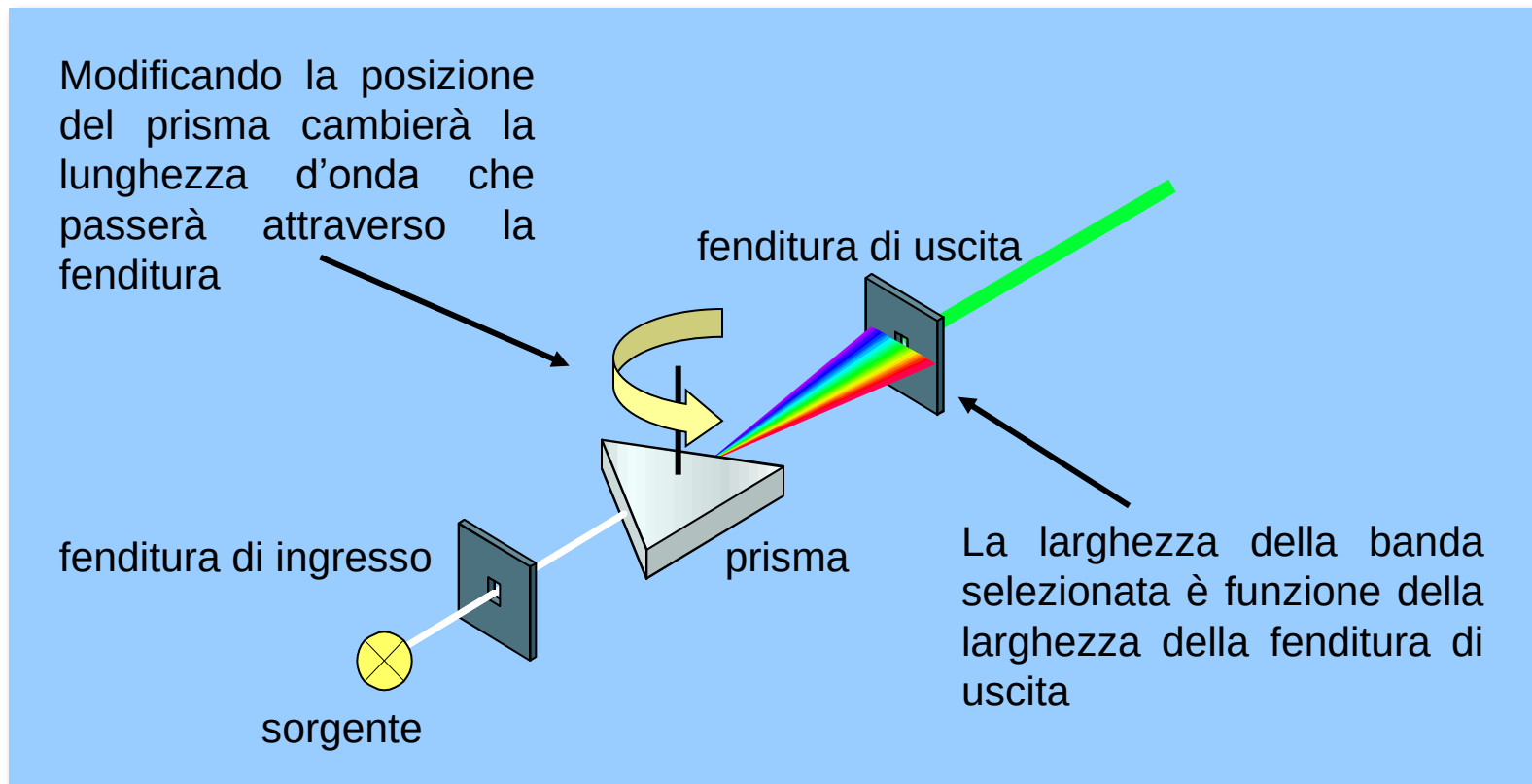
Monocromatori -Prismi

L'indice di rifrazione di un materiale è funzione della lunghezza d'onda e quindi diverse lunghezze d'onda verranno rifratte con diversi angoli.

Visibile – quarzo;

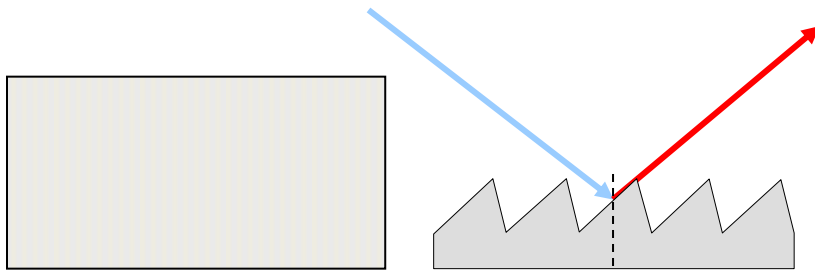
UV- N/A;

IR - NaCl, KCl



Monocromatori – Reticoli

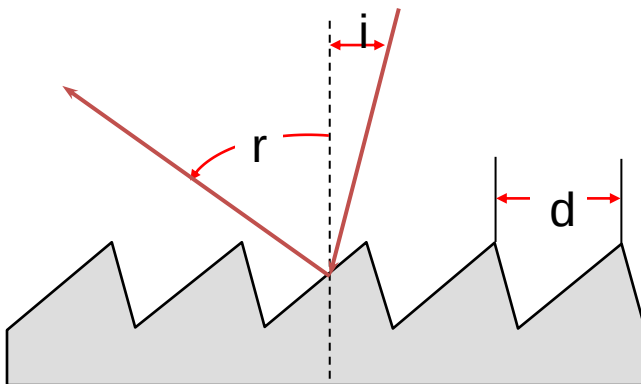
- Consistono di solito in una superficie riflettente contenente una serie di incavi paralleli



Sono classificati in base al numero di linee/mm, che varia in funzione dell'intervallo di utilizzazione:

- UV/Vis: 300-2000 linee/mm
- IR : 10-200 linee/mm

Il funzionamento dei reticoli è basato sul fenomeno dell'interferenza:



- i : angolo di incidenza della radiazione
- r : angolo di riflessione della radiazione
- d : distanza fra le linee
- n : ordine di riflessione
- λ : lunghezza d'onda

Rivelatori

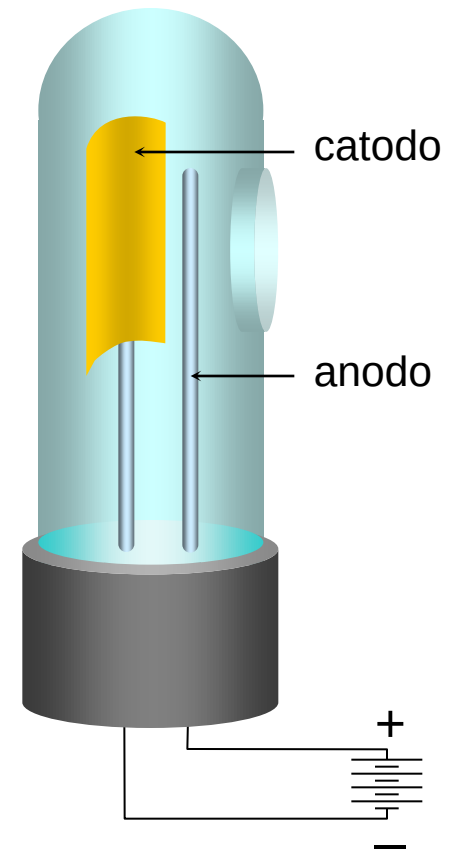
- Il rivelatore (detector) deve essere in grado di convertire la luce in un segnale misurabile
- I rivelatori si basano su diversi principi fisici, in funzione della lunghezza d'onda della radiazione incidente.

Rivelatori più comuni

Tipo di rivelatore	Intervallo di λ (nm)	Proprietà misurata	Uso tipico
fototubo	150-1000	Int. corrente	UV
fotomoltiplicatore	150-1000	Int. corrente	UV /Vis
Stato solido	350-3000	varie	varie
termocoppia	600-20000	Int. corrente	IR
termistore	600-20000	Int. corrente	IR

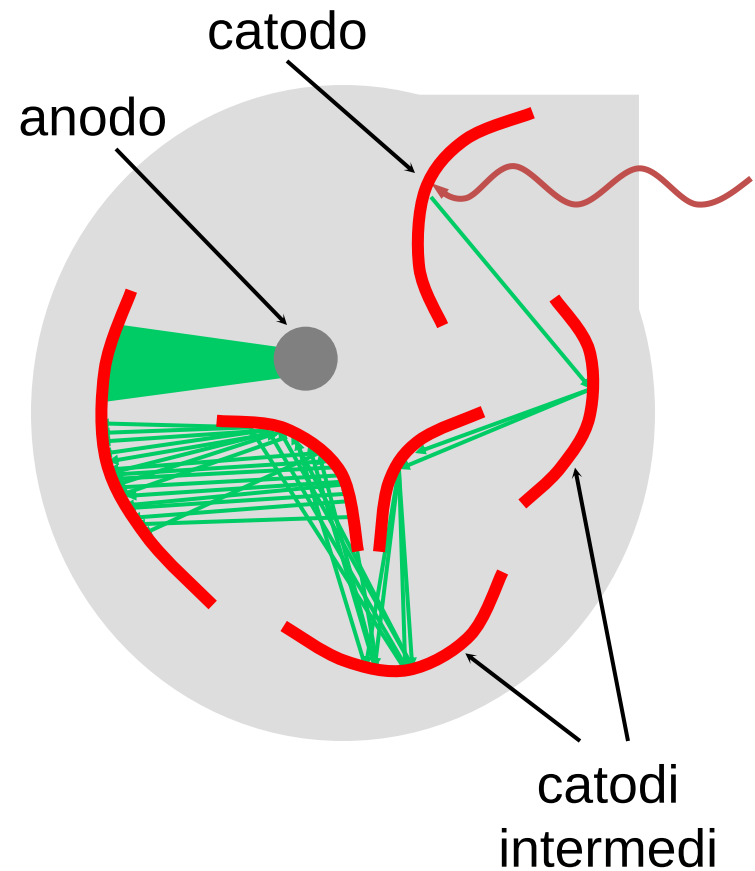
Rivelatori - Fototubi

- Si basa sull'effetto fotoelettrico: un fotone incide sul catodo rivestito di un materiale fotosensibile, provocando l'emissione di un elettrone
- Si ottiene una corrente proporzionale alla intensità della radiazione incidente
- I fototubi sono soggetti ad un rumore di fondo (dark current) causato da effetti termici



Rivelatori - Fotomoltiplicatori

- Questi rivelatori sono simili al fototubo: la radiazione colpisce infatti un catodo iniziale, provocando l'emissione di elettroni
- Gli elettroni prodotti vengono però moltiplicati attraverso la collisione con una serie di catodi intermedi
- La corrente misurata è così amplificata, rispetto a quella iniziale, di un fattore molto elevato ($10^6 - 10^7$)



Elaborazione del segnale e risposta

- Il segnale in uscita dal rivelatore viene infine amplificato al fine di produrre un segnale facilmente misurabile.
- La maggior parte degli strumenti attualmente in commercio è in grado di eseguire ulteriori elaborazioni del segnale (medie, uso di filtri per migliorare la qualità del segnale, ...) e di presentarlo in una forma adeguata (display, stampati, file dati, ...).
- Spesso il sistema è anche in grado di effettuare tutti i calcoli necessari per avere direttamente il risultato dell'analisi.