

# **CHIMICA ANALITICA II CON LABORATORIO**

**(AA 2016-17)**

**8 C.F.U. - Laurea triennale in Chimica**

# Spettroscopie atomiche e molecolari

Slides in parte tratte da corso di Chimica Analitica dell'Euobachelor in chimica e chimica dei materiali della Facoltà di SMFN dell'Università di Bologna

Sono un gruppo di tecniche analitiche che si basano sulla **interazione di radiazione elettromagnetica con la materia**

Esistono diversi tipi di metodi, basati sia su interazioni con specie molecolari che atomiche

- **Assorbimento**: la luce viene assorbita da un atomo, ione o molecola portandoli ad un più alto stato di energia
- **Emissione**: rilascio di un fotone da parte di un atomo, ione o molecola portandoli ad un più basso stato di energia

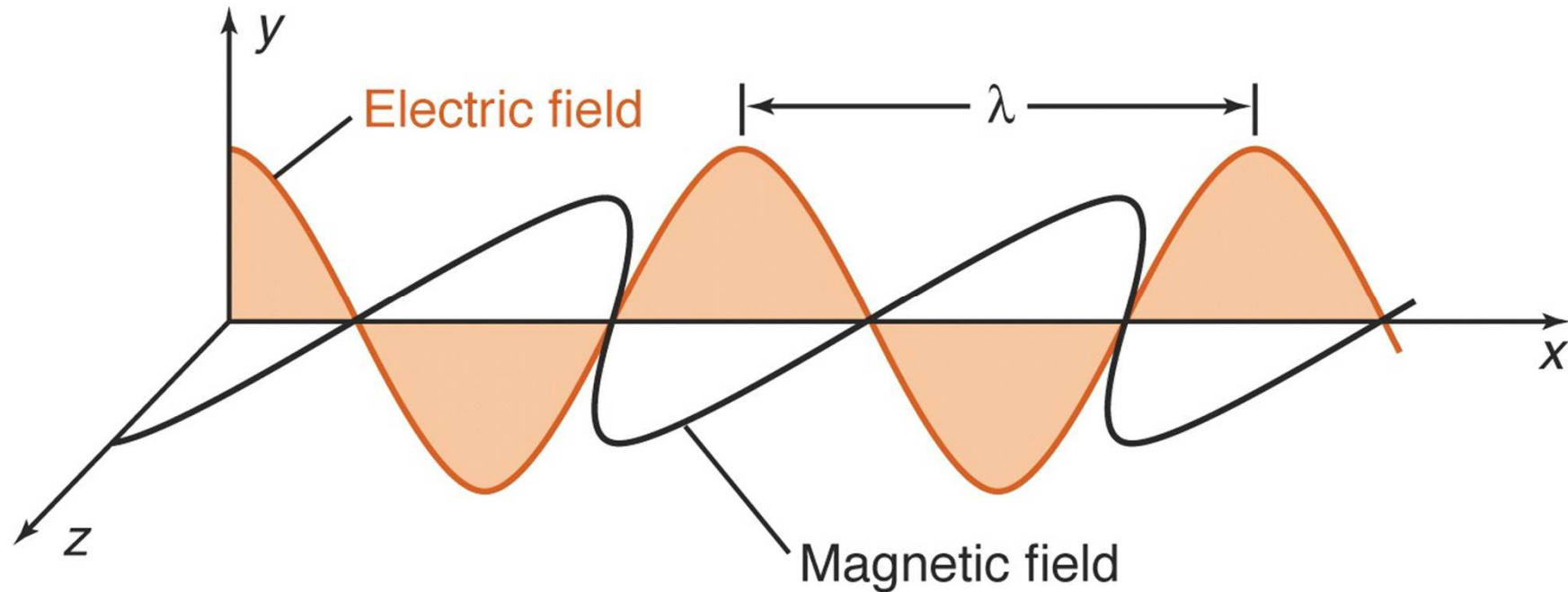
# METODI COLORIMETRICI E SPETTROFOTOMETRICI

## MECCANISMO DELL'INTERAZIONE

In funzione del tipo di interazione utilizzato, possiamo distinguere metodi di assorbimento e di emissione.

- **Assorbimento:** la luce viene assorbita da un atomo, ione o molecola portandoli ad un **più alto stato di energia**
- **Emissione:** rilascio di un fotone da parte di un atomo, ione o molecola portandoli ad un **più basso stato di energia**

## LE RADIAZIONE ELETTROMAGNETICA



Una carica elettrica che oscilla genera un campo elettrico  $E$  che oscilla e a questo è associato un campo magnetico  $B$  anch'esso oscillante. I due campi si propagano mantenendo direzioni di oscillazione perpendicolari l'uno all'altro e perpendicolari alla direzione di propagazione

# LA RADIAZIONE ELETTROMAGNETICA

**Energia del fotone =  $h\nu$**

**$h$**  = costante di Planck ( $6,626 \times 10^{-34}$  J s)

**$\nu$**  = frequenza ( $s^{-1}$ )

$$\lambda\nu = c$$

**$c$**  = velocità della luce

Unità di  $\lambda$  più comuni:

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

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


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

La velocità di propagazione

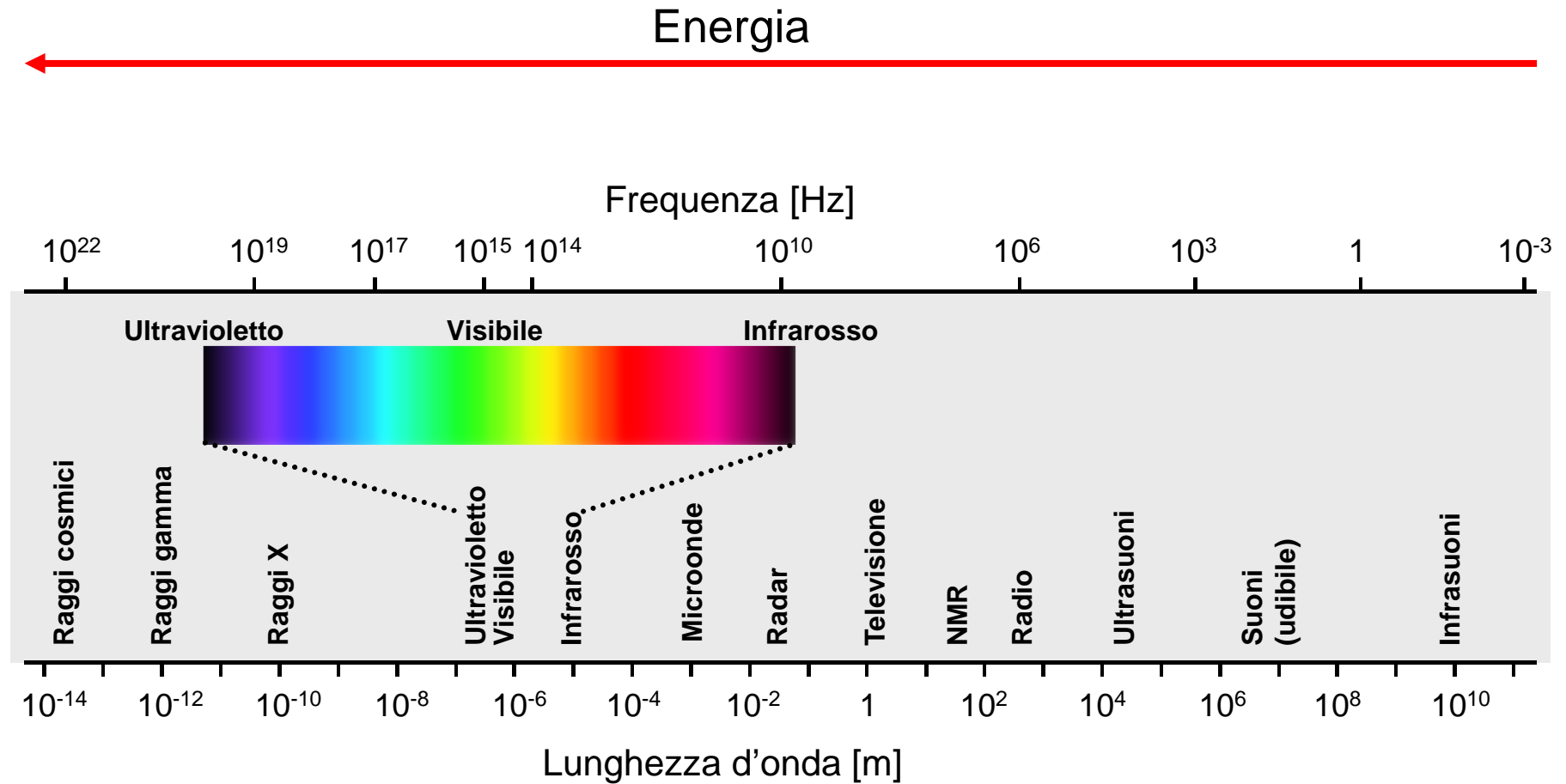
delle onde elettromagnetiche nel vuoto è  $c = 299\,792\,458$  [m/s](#)

All'aumentare di  $\lambda$ , la frequenza e l'energia del fotone diminuiscono

# LA RADIAZIONE ELETTROMAGNETICA

$\gamma$	< 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 $\mu\text{m}$		transizioni vibrazionali
Microonde	100 $\mu\text{m}$ - 1 cm		transizioni rotazionali
onde radio	1 cm- metri		transizioni di spin nucleare

# LO SPETTRO ELETTRONMAGNETICO



$$E = h\nu$$

$$\nu = c / \lambda$$



## IL PROCESSO DI ASSORBIMENTO

Una **sostanza assorbe la luce solo quando l'energia della radiazione corrisponde a quella necessaria per far avvenire una transizione** tra suoi possibili livelli energetici

Le transizioni possono essere:

- **Elettroniche**
- **Vibrazionali**
- **Rotazionali**

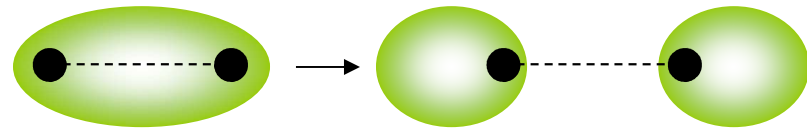
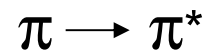
*Le ultime due riguardano solo le molecole*

# IL PROCESSO DI ASSORBIMENTO

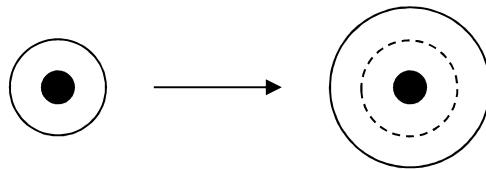
## Transizioni elettroniche

Provocano modifiche nella distribuzione degli elettroni di un atomo o di una molecola:

- **Molecola** (ridistribuzione degli elettroni negli orbitali molecolari)



- **Atomo** (ridistribuzione degli elettroni negli orbitali atomici)

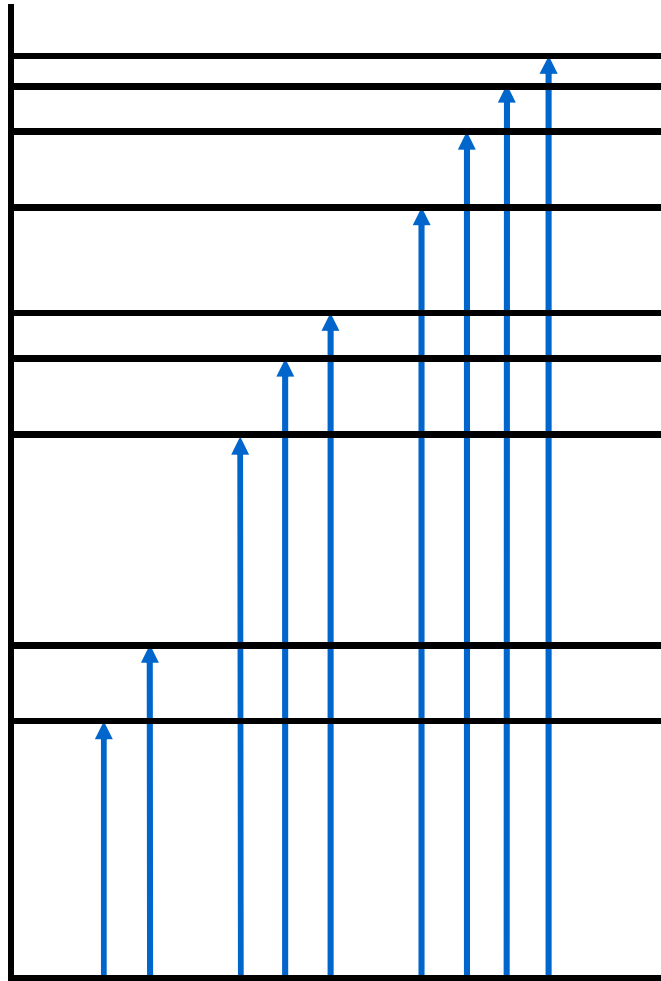


Ciascun elemento della tavola periodica ha un numero di elettroni pari al suo numero atomico. Gli elettroni hanno probabilità di trovarsi in gusci attorno al nucleo secondo la teoria quantistica, introdotta da Plank, secondo cui l'energia elettromagnetica è emessa o assorbita secondo valori discreti (è discontinua)

Per elettroni di un atomo libero, ***gli stati energetici di un elettrone sono descritti da 4 numeri***

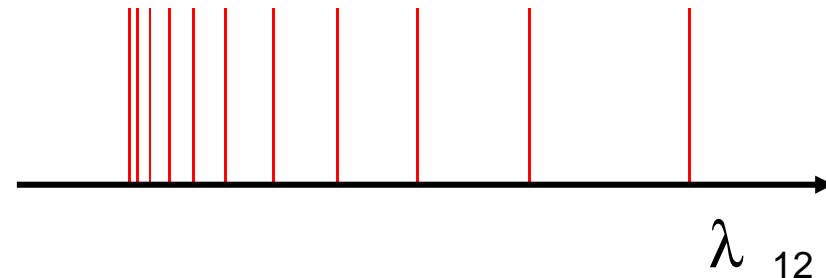
- 1) Numero quantico principale  $n$  ( $n=1\dots7$  per atomi nello stato fondamentale, che corrispondono a gusci K, L, M,...Q)
- 2) Numero quantico di momento angolare  $l$  ( $l < n$ ,  $l = 0,1,2\dots$ ) che corrispondono a sottogusci s, p, d, f (*sharp, principal, diffuse, fundamental*)
- 3) Numero quantico di orbitale magnetico  $m_l$  (qualsiasi intero -  $l < m_l < +l$ )
- 4) Numero quantico di spin  $m_s = \pm 1/2$

## SPETTRO DI ASSORBIMENTO ATOMICO



Anche con atomi, che è il caso più semplice, si ha un processo di assorbimento relativamente complesso.

L'atomo di idrogeno presenta uno spettro di assorbimento "a righe" complesso dovuto a transizioni elettroniche all'interno dei sottolivelli s,p,d,f



## IL PROCESSO DI ASSORBIMENTO

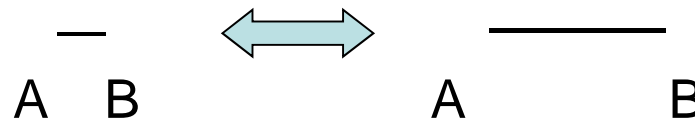
**L'assorbimento della luce da parte delle molecole è un processo molto complesso**

- In una molecola ogni livello di energia elettronica è suddiviso in un certo numero di sottolivelli vibrazionali
- In aggiunta ciascun sottolivello vibrazionale è ulteriormente suddiviso in sottolivelli rotazionali

## IL PROCESSO DI ASSORBIMENTO

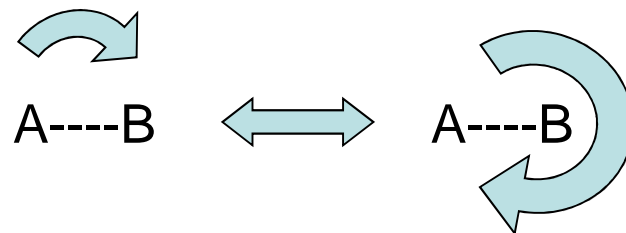
**Transizioni vibrazionali** (per un legame molecolare sono possibili alcuni modi di vibrazione)

Causano modifiche nella lunghezza di un legame e quindi nella separazione media di due nuclei (**IR**)

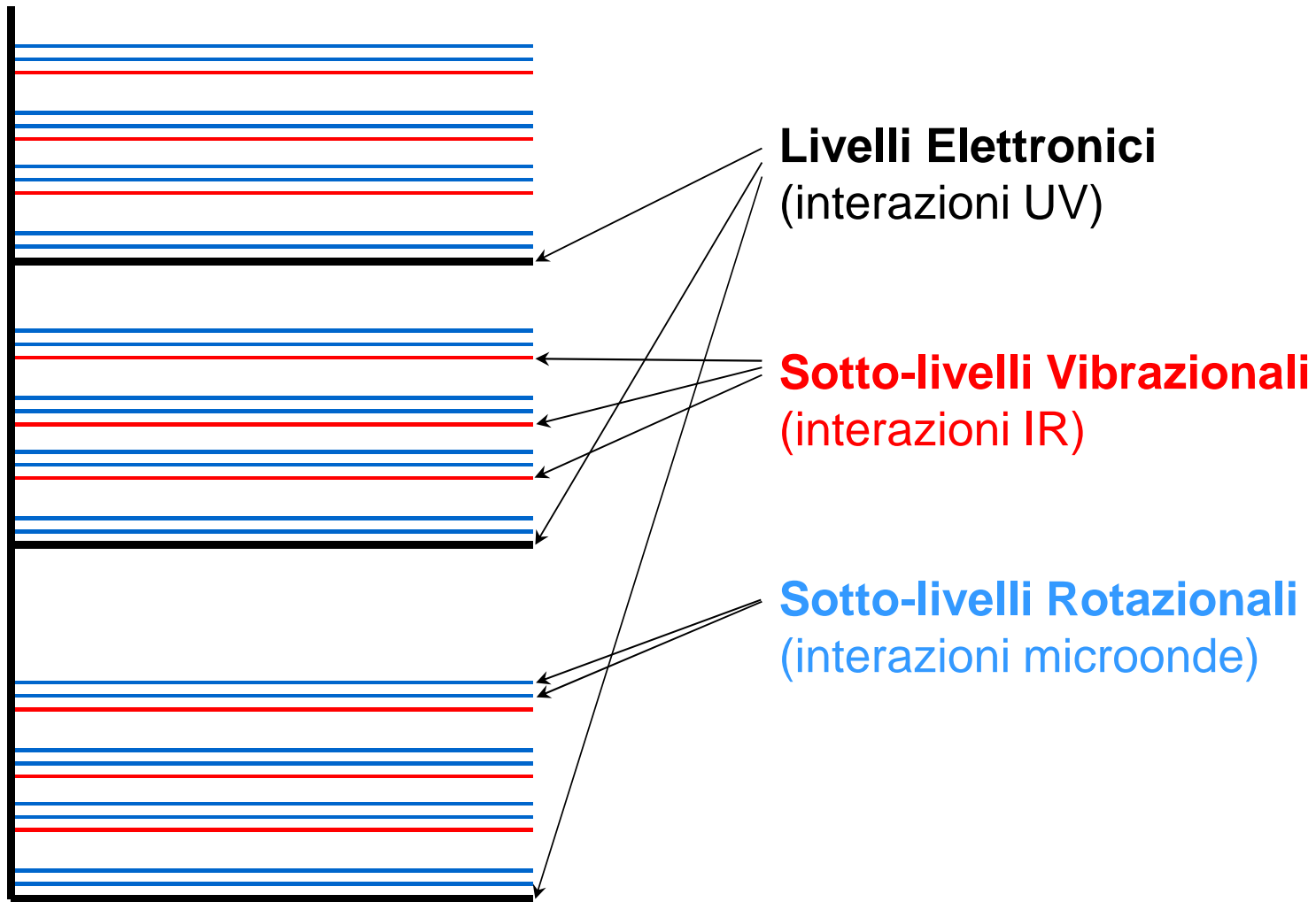


**Transizioni rotazionali**

Causano modifiche dell'energia di una molecola quando essa ruota rispetto al suo centro di gravità (**microonde**)



# IL PROCESSO DI ASSORBIMENTO



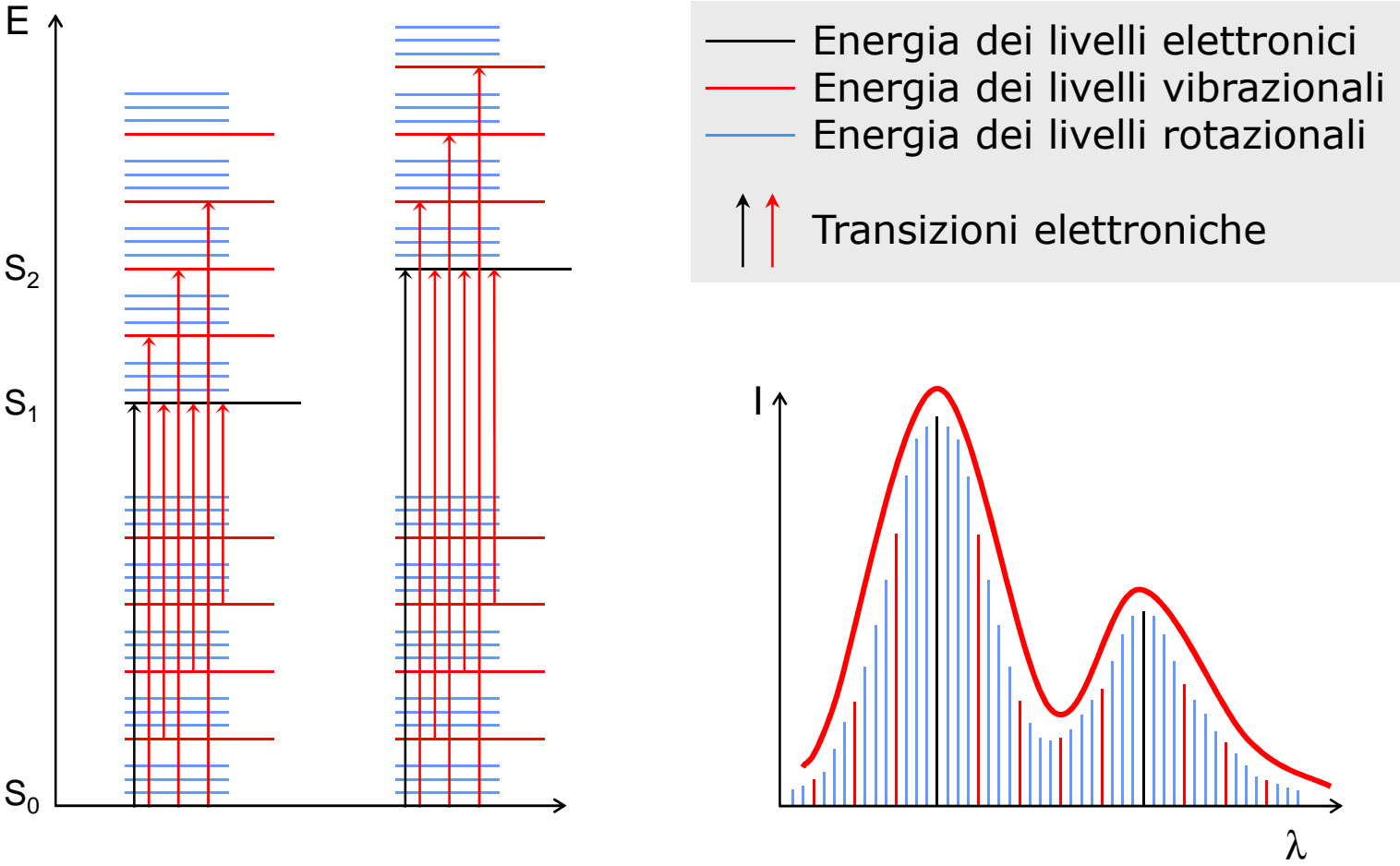
## ASSORBIMENTO MOLECOLARE

- L'interazione con una molecola e l'assorbimento coinvolgono quindi non solo livelli elettronici, ma anche sotto-livelli vibrazionali e rotazionali.
- Le interazioni con altre molecole avranno anch'esse un effetto, con il risultato che lo spettro di assorbimento sarà a “**bande**” (ci saranno talmente tante transizioni che sarà impossibile distinguere le une dalle altre).



# ASSORBIMENTO MOLECOLARE

## TRANSIZIONI ELETTRONICHE E SPETTRO DI ASSORBIMENTO MOLECOLARE



# ANALISI QUALITATIVA

## UV/Vis, IR

- La identificazione di un composto si può effettuare sulla base del suo spettro di assorbimento, mediante confronto con lo spettro di un materiale noto o di uno standard di riferimento.
- Ciò viene fatto principalmente con la tecnica IR poiché lo spettro IR contiene più informazioni rispetto a quello UV e Vis.

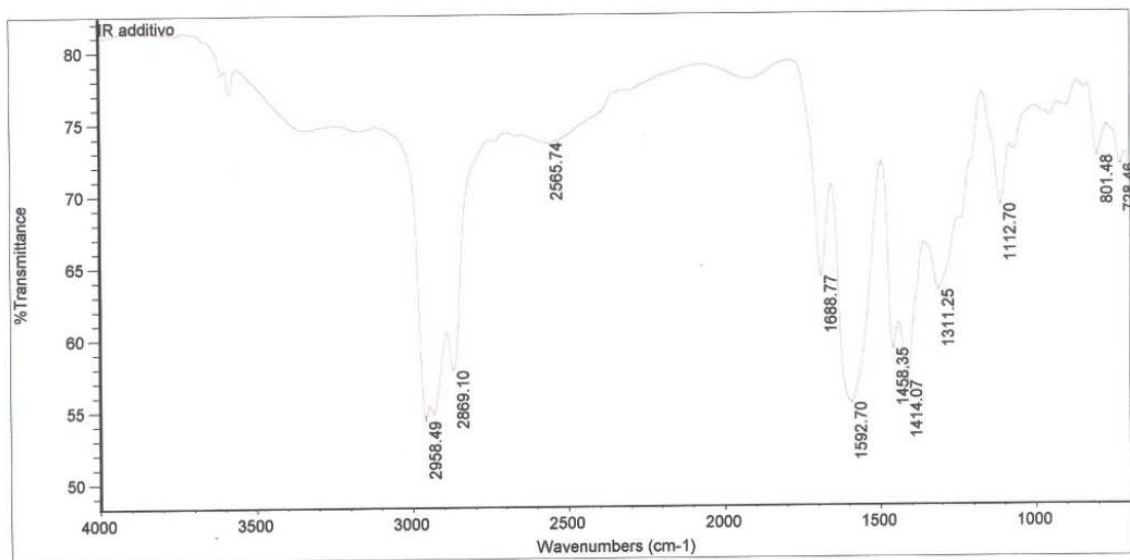
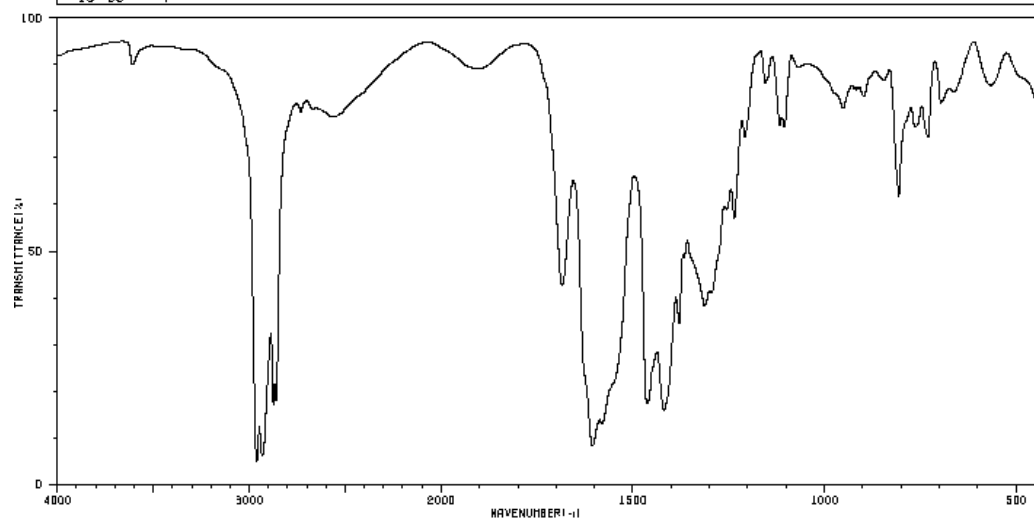
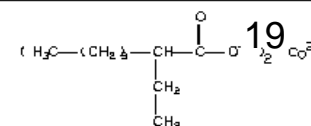


Figura 1 Analisi IR eseguita sulla soluzione analizzando gli assorbimenti tra i 4000 e i 700  $\text{cm}^{-1}$ .

HIT-NO=4318	SCORE= ( )	SOBS-NO=11265	IR-NIDA-04818 ; LIQUID FILM
COBALT 2-ETHYLHEXANOATE			
C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> COO <sub>4</sub>			



2961	4	1606	7	1208	72	898	79	566	51
2932	5	1461	16	1155	84	847	84		
2874	16	1419	15	1117	74	806	58		
2861	17	1379	39	1111	77	761	74		
2732	77	1313	36	1104	74	730	72		
2561	77	1300	39	959	79	698	79		
1684	41	1236	56	951	77	687	79		

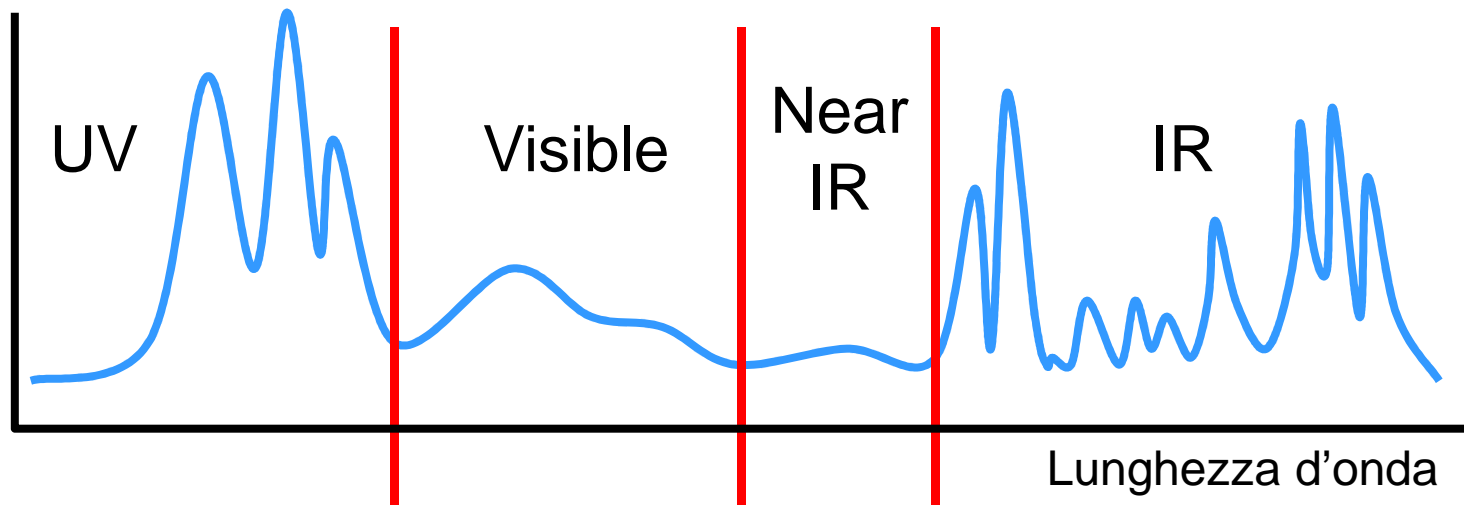


# ANALISI QUALITATIVA

## SPETTRI UV/Vis, IR

- L'assorbimento di radiazioni nel **UV, Vis e IR** copre un ampio range di lunghezze d'onda.
- Eseguendo una scansione, cioè misurando l'assorbimento alle diverse lunghezze d'onda, si ottiene lo **spettro di assorbimento della sostanza in esame**

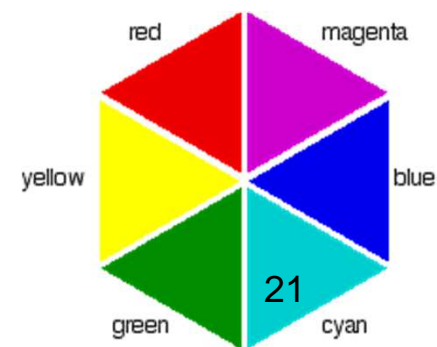
Esempio di spettro di assorbimento molecolare:



# ASSORBIMENTO E COLORE COMPLEMENTARE



L'occhio umano vede il colore complementare di quello assorbito



## ANALISI QUANTITATIVA

L'analisi **quantitativa** spettrofotometrica è basata principalmente sullo studio degli spettri UV/Vis.

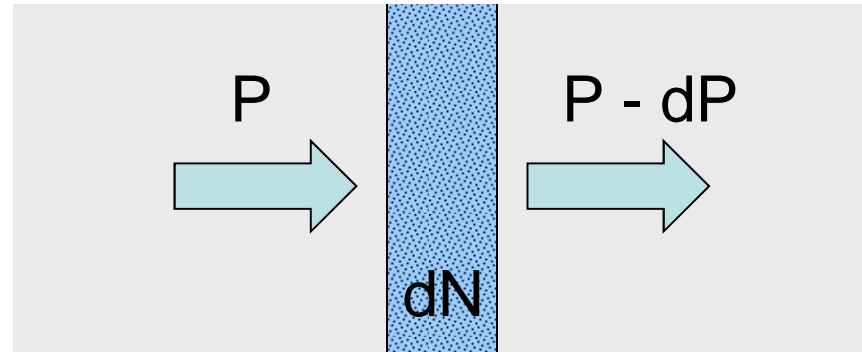
La legge fondamentale su cui si basano i metodi di assorbimento è quella di **Lambert e Beer**.

Questa legge dice che:

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

*\* ad una certa lunghezza d'onda*

## ANALISI QUANTITATIVA



$$-\frac{dP}{dN} = KP$$

Dove:

P = potenza della radiazione incidente (energia di radiazione che raggiunge una data area per secondo)

N = numero di molecole che assorbono nel cammino ottico

K = costante di proporzionalità

## ANALISI QUANTITATIVA

$$\int_{P_0}^P \frac{dP}{P} = -K \int_0^N dN$$

$$\ln \frac{P}{P_0} = -KN$$



## ANALISI QUANTITATIVA

Poiché **N** dipende sia dalla concentrazione **c** che dal cammino ottico **b** si ha:

$$KN = K'bc$$

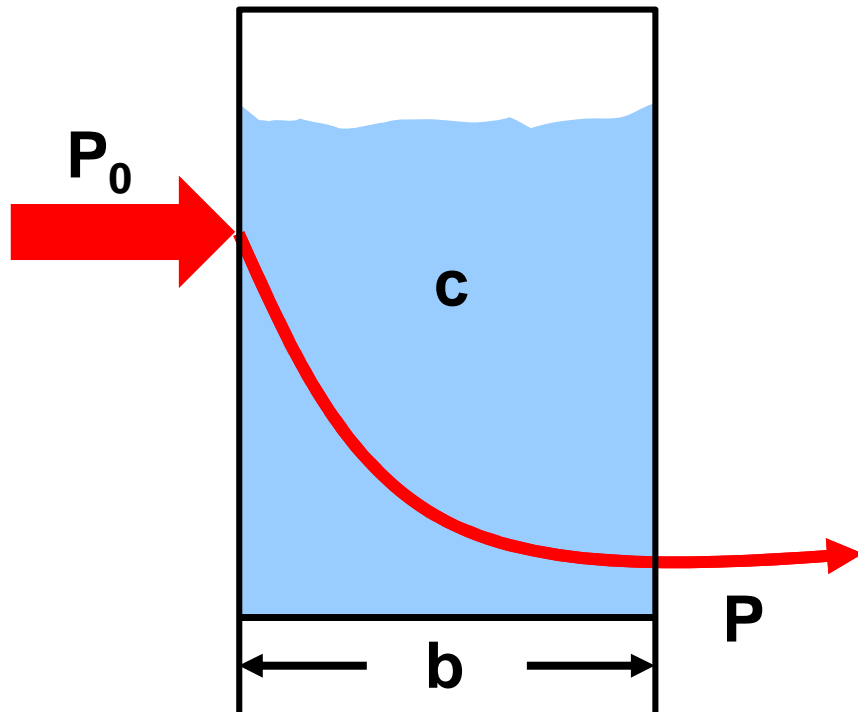
**K'** è comunemente definita come “assorbività” ed include anche il termine di conversione dei logaritmi da base **e** a base **10**:

$$\log \frac{P}{P_0} = -\epsilon bc$$

**La legge di Lambert-Beer è  
valida per radiazioni  
monocromatiche e  
soluzioni diluite**

## ANALISI QUANTITATIVA

Il rapporto  $P/P_0$  è la misura della luce che passa attraverso la soluzione e non viene assorbita



$P/P_0$  è anche denominata  
**Trasmittanza (T)**

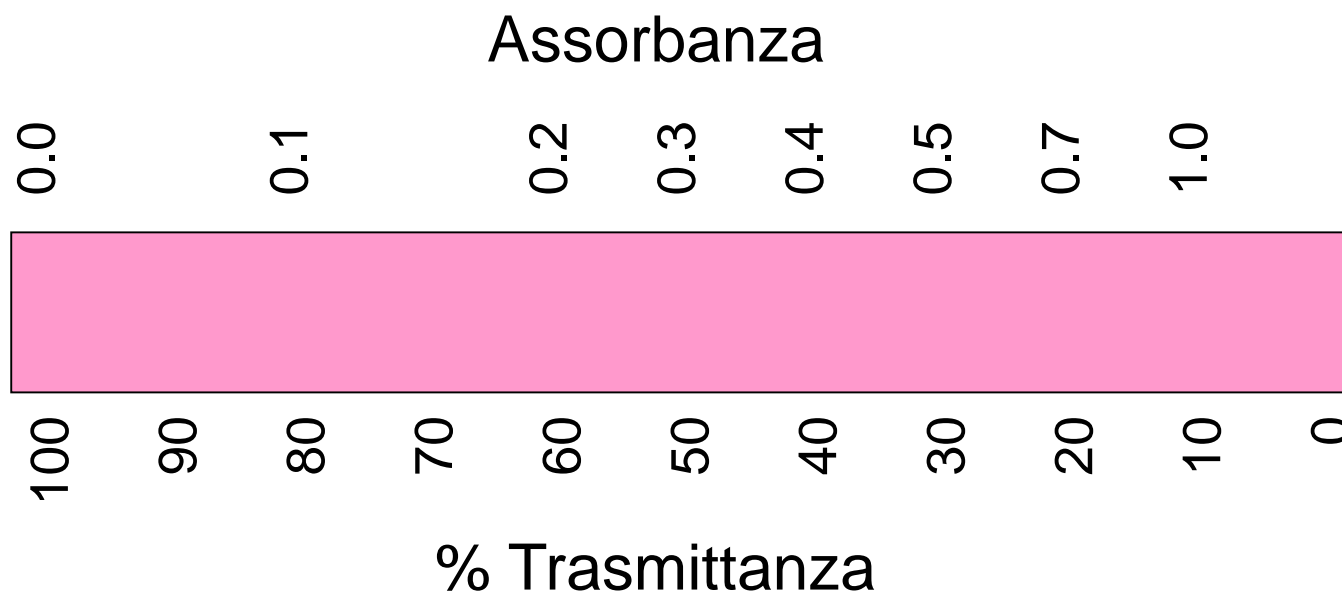
$$-\log T = A$$

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



## DETERMINAZIONE DELLA ASSORBIVITA'

- Ogni strumento presenta caratteristiche diverse quindi è meglio determinare l'assorbività utilizzando standard
- E' possibile utilizzare qualsiasi unità di concentrazione: Molarità, Normalità, ppm, ecc.
- Se la concentrazione viene espressa in Molarità ed il cammino ottico in cm, l'assorbività viene definita come **assorbività molare ( $\epsilon$ )** ed ha unità  $M^{-1}cm^{-1}$

**La legge di Lambert-Beer è  
valida per radiazioni  
monocromatiche e  
soluzioni diluite**

## EQUAZIONI FONDAMENTALI

$$-\log \frac{P}{P_0} = abc$$

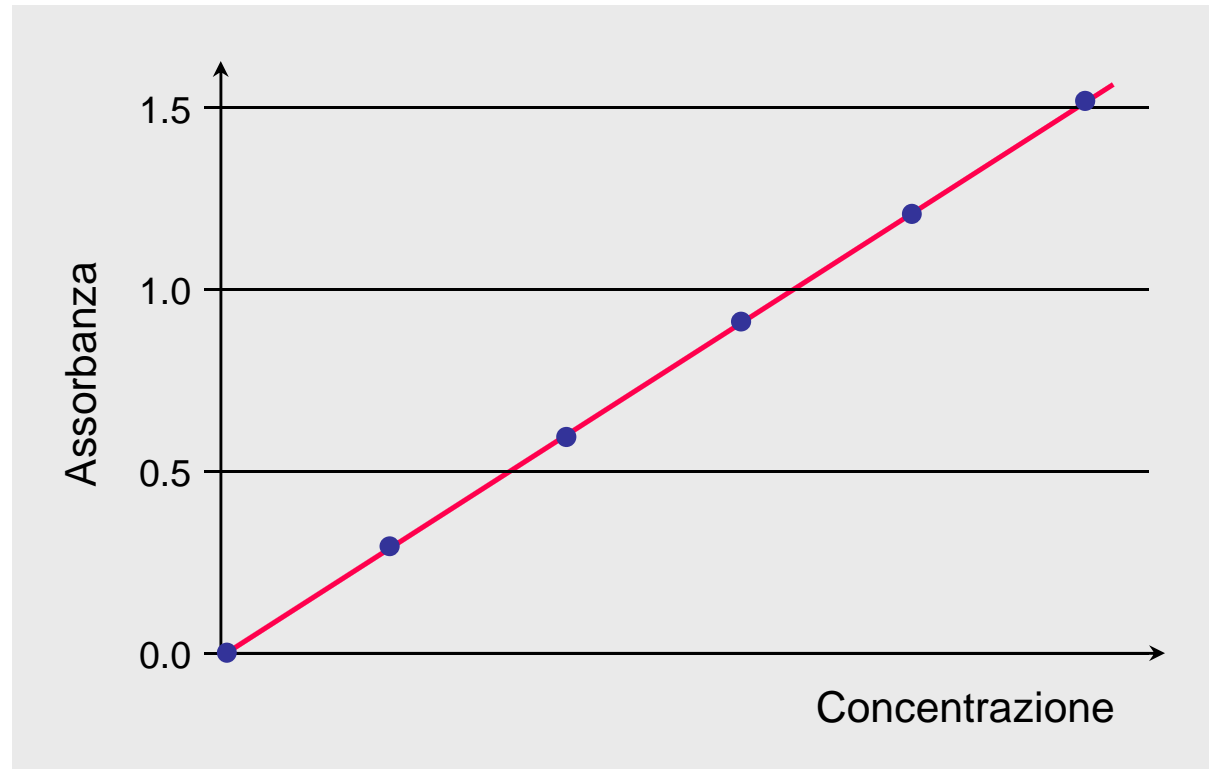
$$\log \frac{P_0}{P} = abc$$

$$-\log(T) = \varepsilon bc$$

$$-\log(T) = A$$

$$A = \varepsilon bc$$

## LA LEGGE DI LAMBERT E BEER



$$A = -\log T = -\log(P / P_0) = \log(P_0 / P) = \varepsilon \cdot b \cdot c$$

ad una certa lunghezza d'onda  $\lambda$

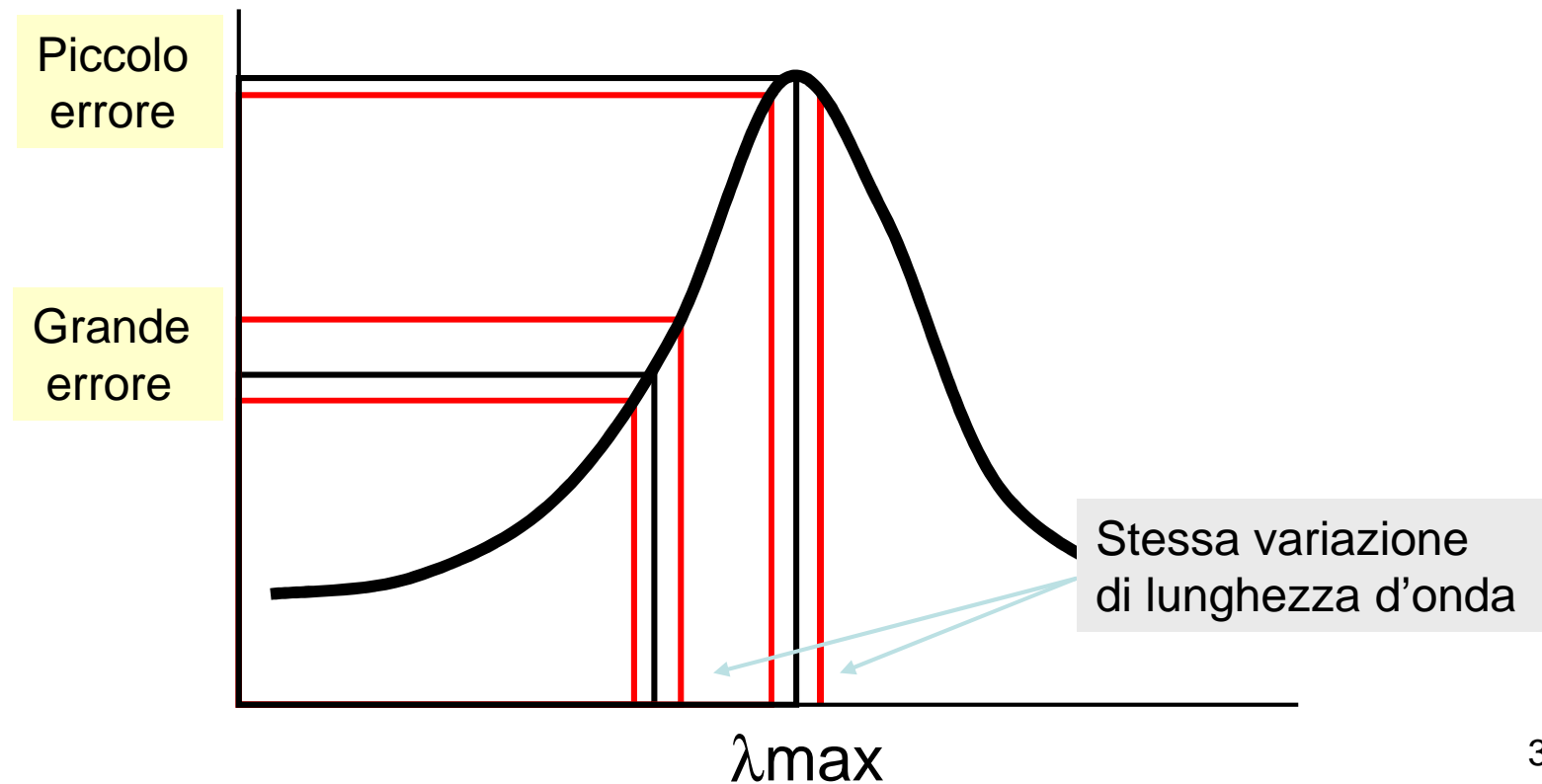
## MISURA DELL' ASSORBANZA

- In genere si cerca di eseguire le **misure** al valore della lunghezza d'onda corrispondente al **massimo** dell'assorbanza ( $\lambda_{\max}$ )
- Questo è il punto di **massima risposta** corrispondente alla più **alta sensibilità** e più **basso limite di rivelazione**
- Permette inoltre di **ridurre** il più possibile l'**errore** associato alla misura legato ad una **eventuale scarsa precisione** della lunghezza d'onda prescelta



## MISURA DELL' ASSORBANZA

Se si ha una piccola variazione di  $\lambda$  durante le misure e non si è scelto il valore di  $\lambda_{\max}$  si potrebbe ottenere una notevole variazione nella risposta.

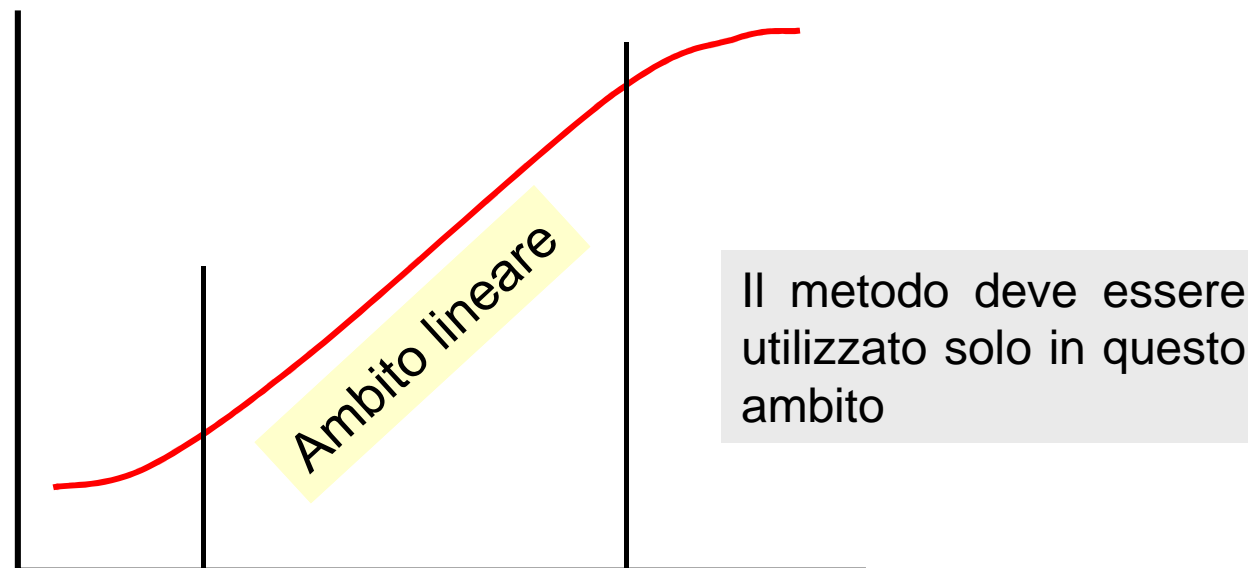




# MISURA DELL' ASSORBANZA

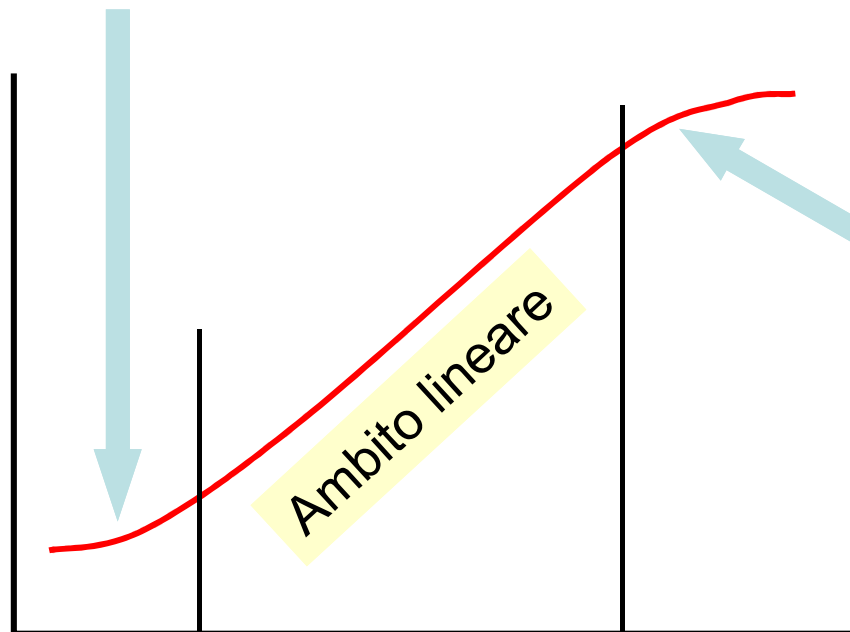
## Deviazione dalla relazione lineare

Molte sostanze danno una risposta lineare solo in un certo ambito di concentrazione.



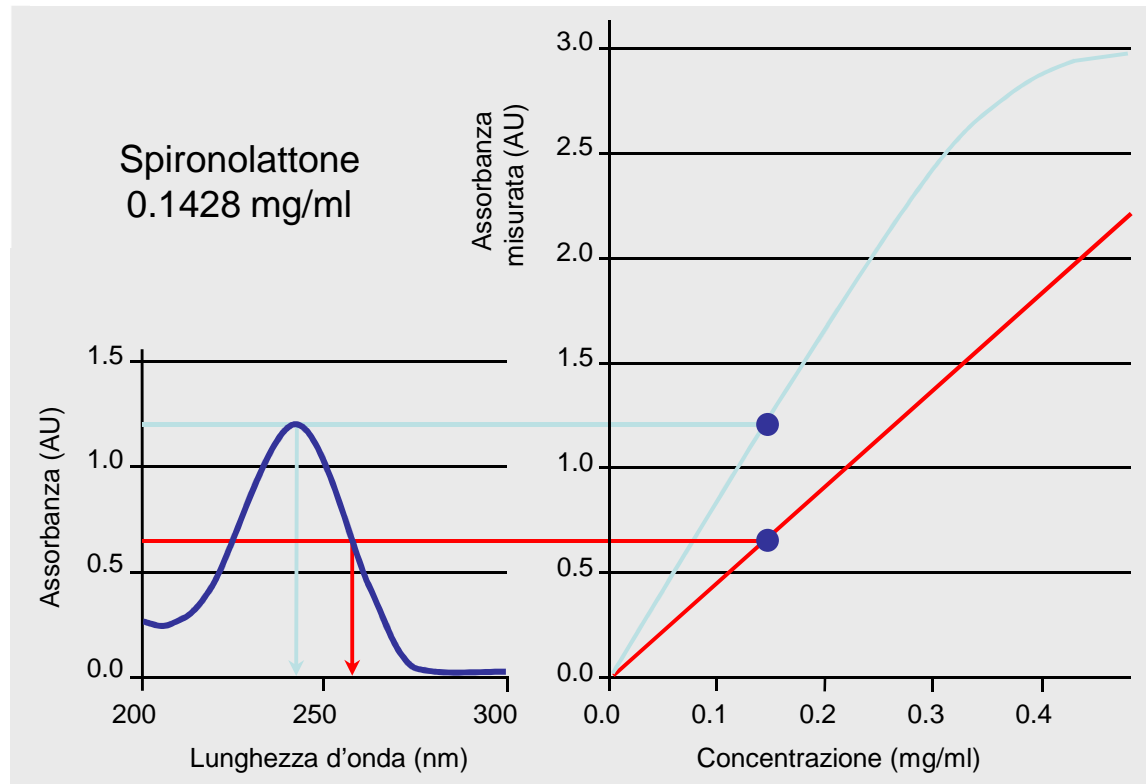
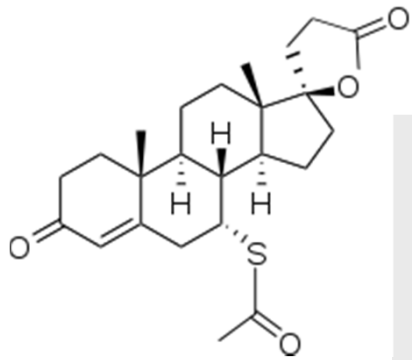
## MISURA DELL' ASSORBANZA

Questo segnale potrebbe essere dovuto al fondo, ad una interferenza o ad una mancanza di sensibilità



Questo segnale potrebbe essere dovuto ad un auto-assorbimento o ad un insufficiente passaggio della luce attraverso la soluzione

## COME AUMENTARE L'AMBITO DINAMICO



- La scelta di una lunghezza d'onda in una spalla dello spettro di assorbimento può aumentare l'ambito dinamico di un metodo evitando anche fasi di diluizione del campione.
- La sensibilità e la precisione possono essere però in parte compromesse.



## ERRORE NELLA MISURA DELL' ASSORBANZA

Sebbene nella legge di Lambert e Beer compaia l'assorbanza della soluzione, la grandezza fisica che viene effettivamente misurata è la trasmittanza.

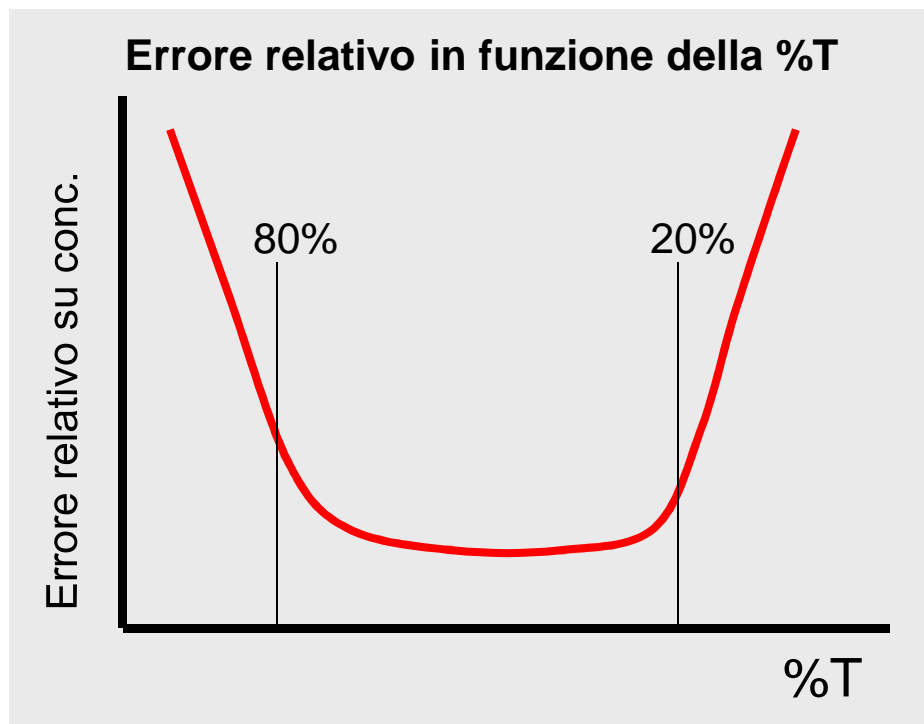
L'errore nella determinazione di una concentrazione mediante una misura spettrofotometrica ( $\Delta c$ ) è quindi legato all'errore che si ha nella misura della trasmittanza ( $\Delta T$ ).

Applicando la legge sulla propagazione degli errori alla legge di Lambert e Beer si ha:

$$\Delta c/c = (0.4343 / T \log T) \Delta T$$

## ERRORE NELLA MISURA DELL' ASSORBANZA

L'andamento di  $\Delta c/c$  in funzione di T è il seguente:

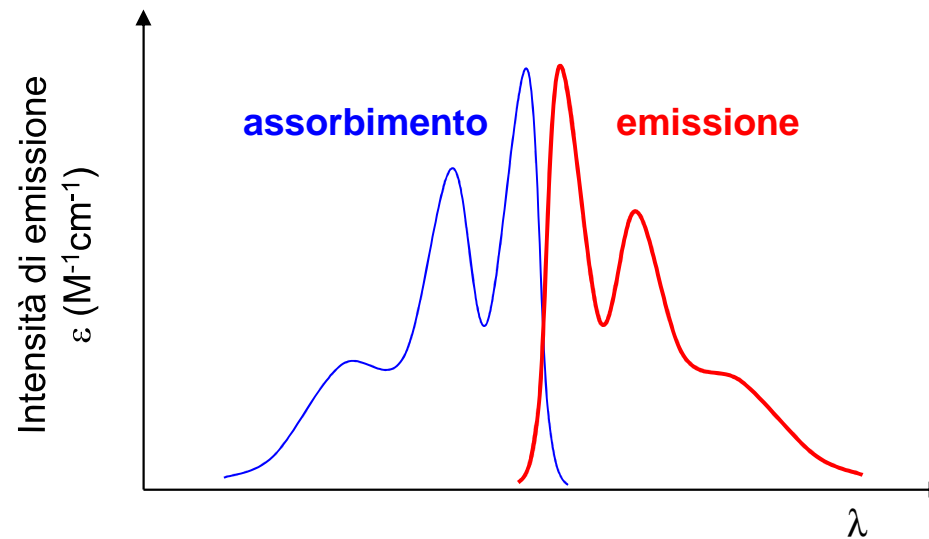


E' consigliabile quindi operare in un ambito di trasmittanza compreso tra 80-20 %T al fine di minimizzare l'errore spettrofotometrico.

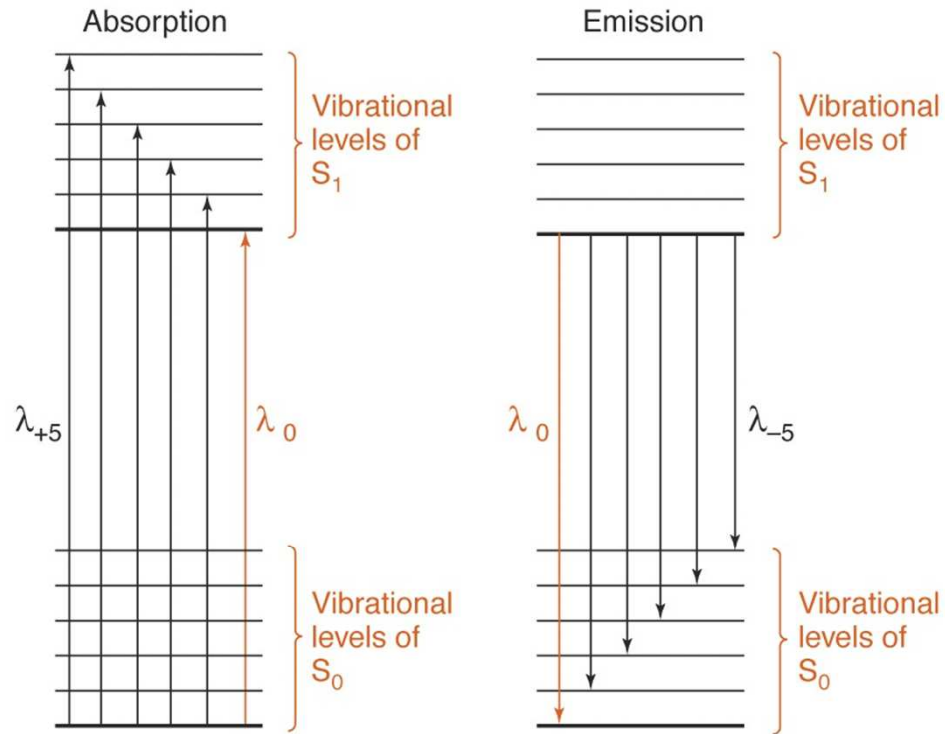
## SPETTROFLUORIMETRIA-LUMINESCENZA

Con il termine **luminescenza** si indicano tutti quei processi (fluorescenza, fosforescenza) che comportano **l'emissione di radiazione** da parte delle molecole.

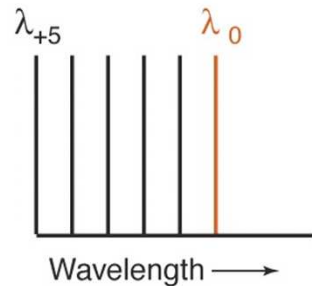
La luminescenza può essere indotta da diversi processi, fra i quali **l'assorbimento di radiazione**. In tal caso si parla di **fluorescenza e fosforescenza**, che si verificano ad una energia **inferiore** a quella alla quale la radiazione viene assorbita, e lo spettro di **emissione** è approssimativamente **l'immagine speculare di quello di assorbimento**.



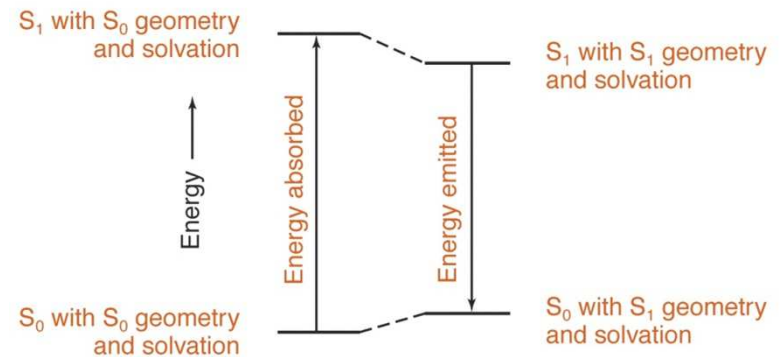
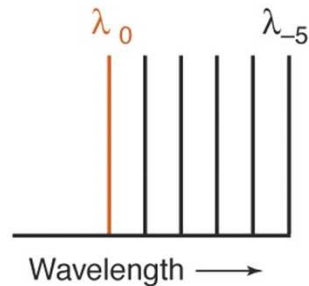
# SPETTRO DI FLUORESCENZA



Absorption spectrum



Emission spectrum



## ASPETTI QUANTITATIVI

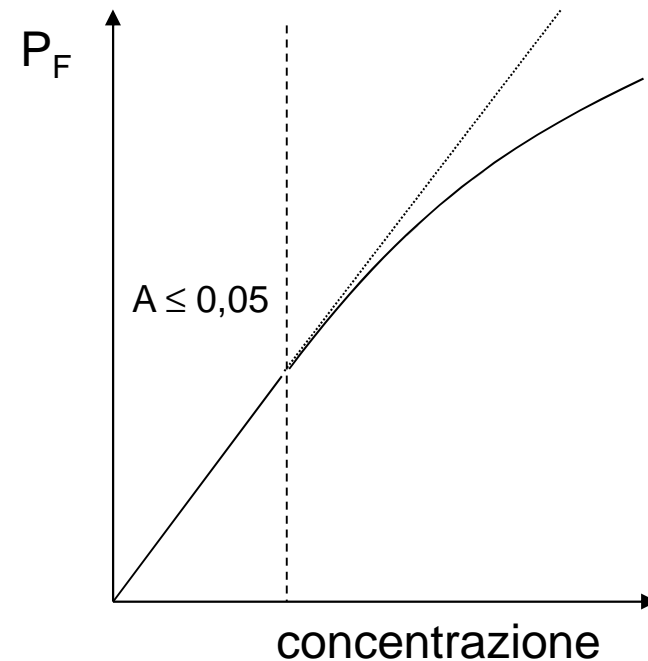
Le misure di emissione **non sono misure assolute**: le intensità di emissione ottenute su diversi strumenti non sono in genere confrontabili fra di loro  
Per effettuare misure quantitative è quindi indispensabile utilizzare una **curva di calibrazione**

E' possibile dimostrare che, quando l'assorbanza della soluzione è sufficientemente bassa ( $A \leq 0,05$ ) esiste una **proporzionalità diretta** fra l'intensità dell'emissione  $P_F$  e la concentrazione:

$$P_F = kP_0c$$

dove  $P_0$  è la potenza della radiazione incidente e  $k$  è una costante che contiene, fra l'altro, il valore della resa quantica di emissione dell'analita

Inoltre è possibile **aumentare l'intensità del segnale di emissione** aumentando la **potenza della radiazione di eccitazione**





# SPETTROFLUORIMETRIA vs. SPETTROFOTOMETRIA

	<b>Spettrofotometria</b>	<b>Spettrofluorimetria</b>
<b>Applicabilità</b>	<b>Ampia</b>	<b>Ristretta</b> (relativamente poche sostanze emettono)
<b>Intervallo di linearità</b>	<b>Ampio</b>	<b>Ristretto</b>
<b>Sensibilità (oppure limite di rivelazione)</b>	<b>Media</b>	<b>Elevata</b> (è possibile utilizzare rivelatori più sensibili o aumentare $P_0$ )

