

METODI STRUMENTALI 1

✧ Spettroscopia di Assorbimento atomico

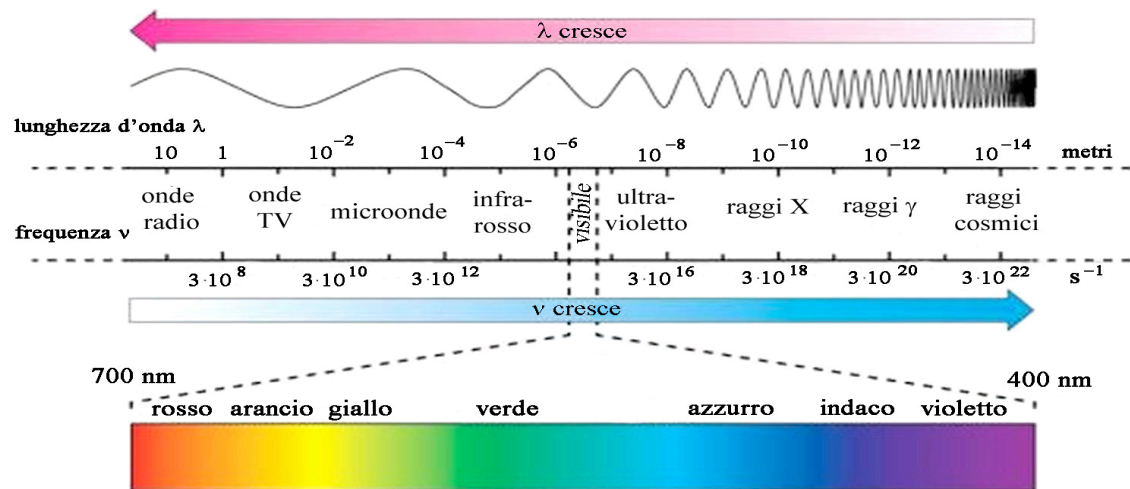
✧ Spettroscopia molecolare:

➤ UV-Visibile

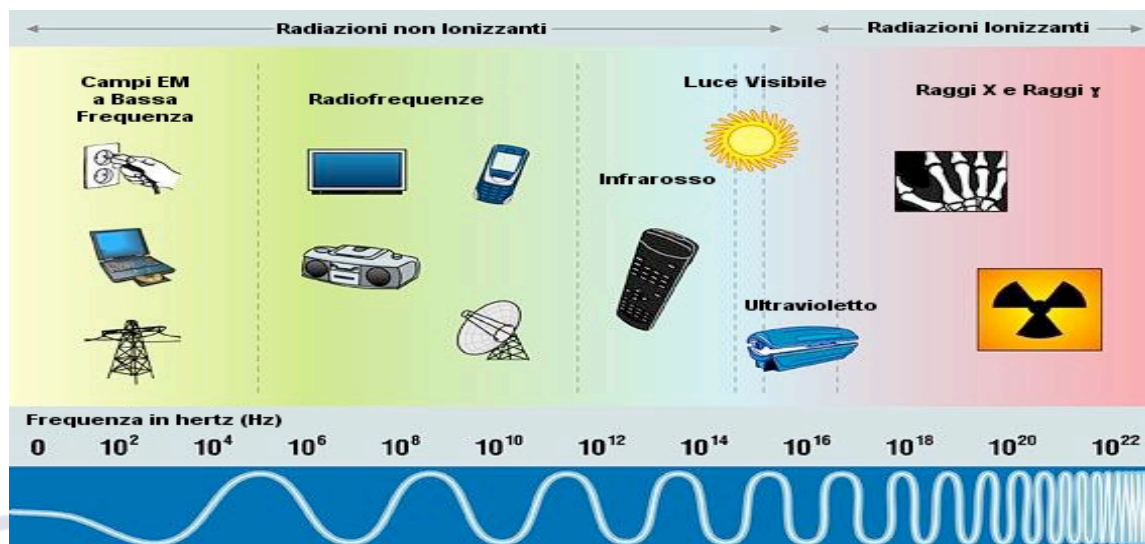
➤ Infrarosso (I.R.)

INTRODUZIONE AI METODI OTTICI

-Lo spettro elettromagnetico-



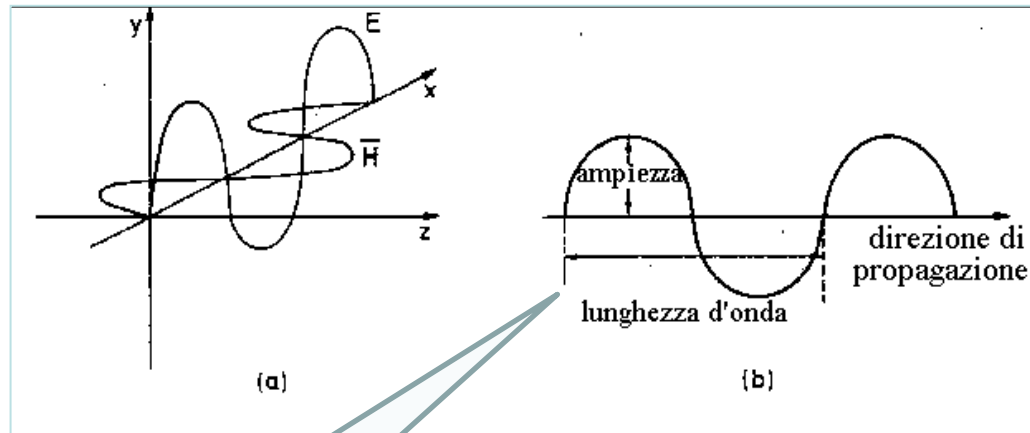
$E < 10$ eV NON ionizzanti; E vis. 2-10 eV; $E > 10$ eV ionizzanti



INTERPRETAZIONE DEL FENOMENO DELL'ASSORBIMENTO

a) La luce come fenomeno ondulatorio: (Huygens)

Se si considera la radiazione elettromagnetica come un'onda costituita da un campo elettrico ed uno magnetico perpendicolari tra loro ed oscillanti, il suo assorbimento da parte della materia avverrà solamente se essa entrerà in risonanza (stesse frequenze di vibrazione) con quest'ultima.



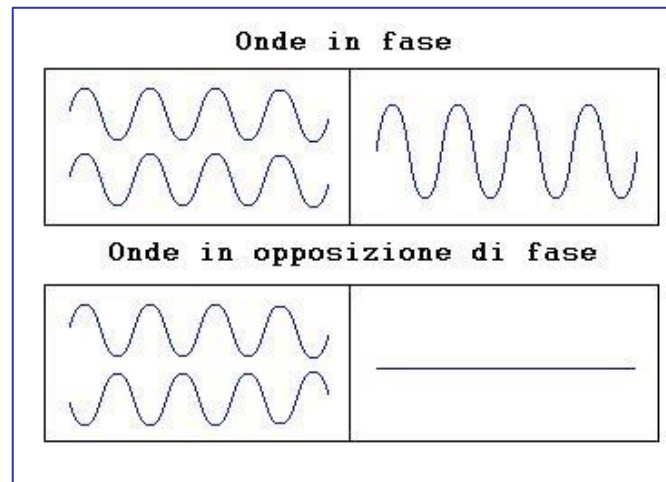
$$\lambda = \frac{c_m}{\nu}$$

λ = lunghezza d'onda (cm)

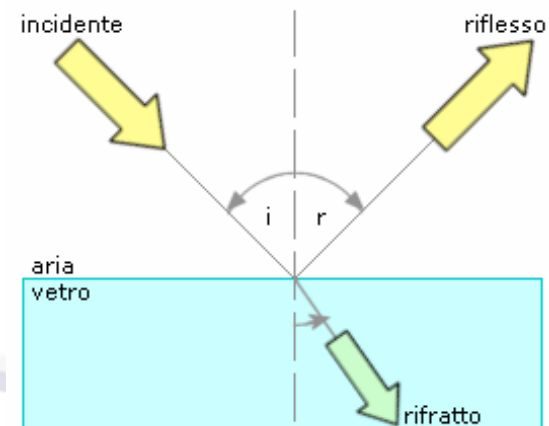
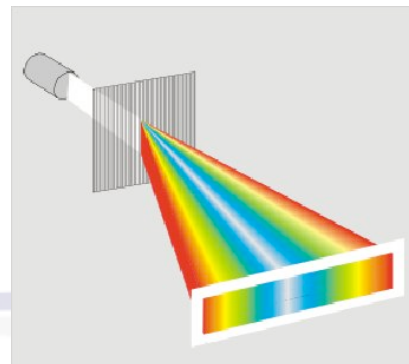
c_m = vel. Luce nel mezzo in cui si propaga (cm/sec)

ν = frequenza (sec^{-1})

Quindi, con la teoria ondulatoria, le onde e.m. daranno fenomeni di interferenza costruttiva (se in fase) o distruttiva (se in opposizione di fase) come le onde elastiche (es. sonore).



Ed anche spiegano fenomeni fisici quali la diffrazione, la rifrazione e la riflessione della luce.



b) La luce come fenomeno corpuscolare:

Max Planck (1900) con la meccanica quantistica aggiunge al concetto ondulatorio, quello di radiazione elettromagnetica intesa come un flusso di particelle dette fotoni. I fotoni sono dei **quanti** di energia che viaggiano alla *velocità della luce* e possiedono una *frequenza, ν* . *L'energia di una radiazione è proporzionale alla frequenza: $E = h\nu$* , dove h è una costante che vale (*costante di Planck*) $= 6.63 \cdot 10^{-34} \text{ Js}$.

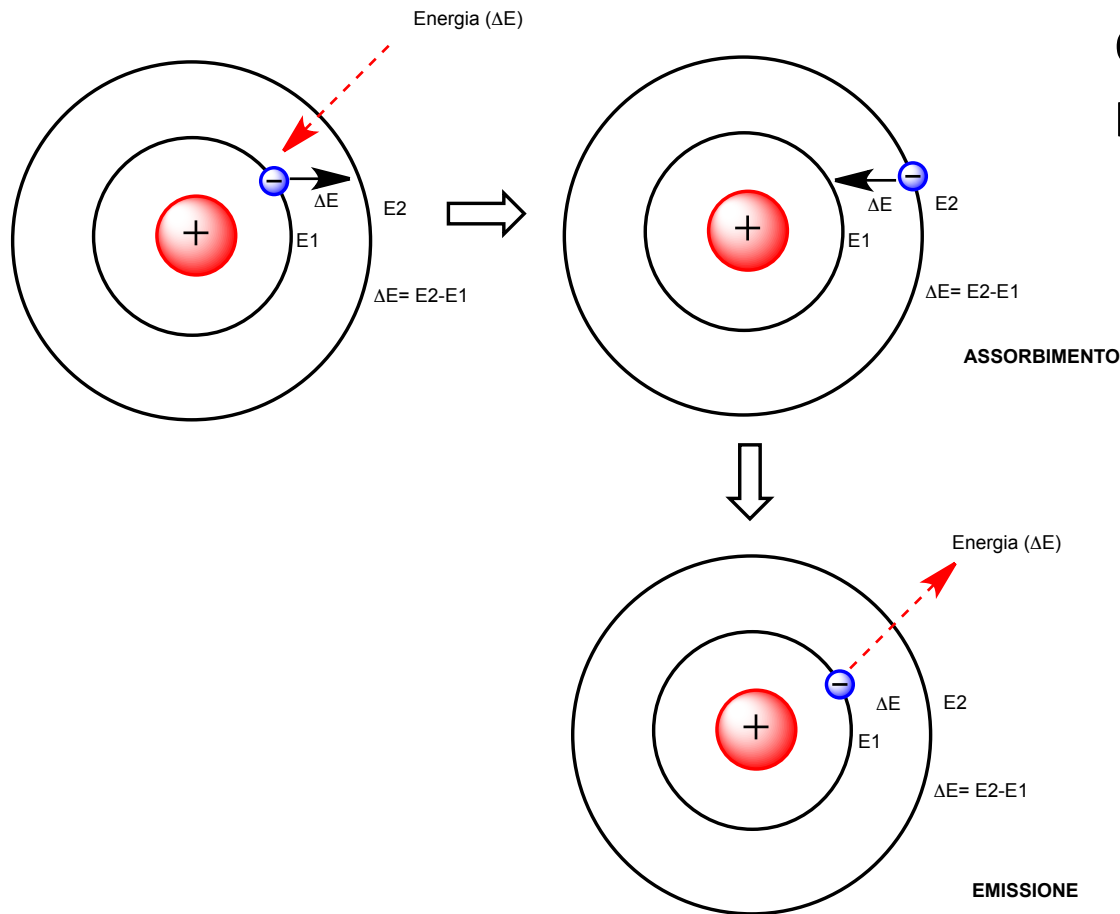
Essendo la frequenza (ν) uguale al rapporto tra la velocità della luce nel mezzo (c_m) e la lunghezza d'onda (λ) della radiazione, possiamo scrivere:

$$E = h \frac{c_m}{\lambda}$$



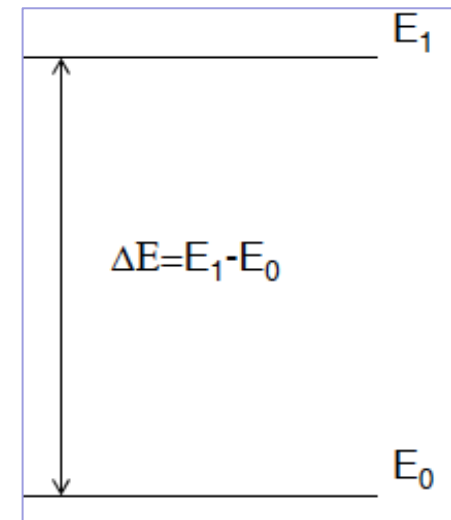
Relazione dell'energia con la lunghezza d'onda
(cioè correlazione tra le due teorie)

Se consideriamo due livelli energetici: E_0 ed E_1 (es. stato fondamentale e stato eccitato), la transizione potrà avvenire solo se la **quantità** di energia fornita (ΔE) sarà uguale alla differenza fra i due livelli energetici.



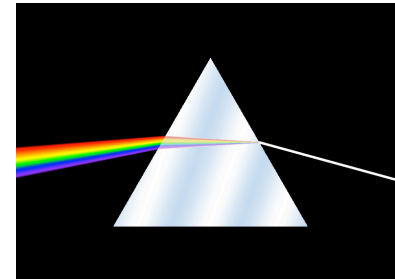
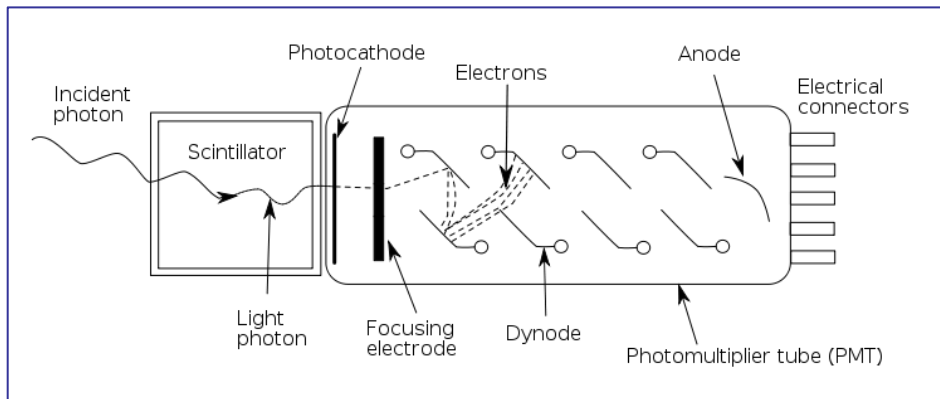
Quindi la relazione di Planck si potrà scrivere:

$$\Delta E = h\nu$$



Il fotone può mostrare uno dei due aspetti della sua natura, a seconda della strumentazione usata per rilevarlo:

- se ad esempio viene rilevato da un fotomoltiplicatore, il fotone agisce come una particella;
- se osservato con strumentazione ottica, esso si comporta come un'onda (fenomeni di riflessione, rifrazione, diffrazione e interferenza);



INTERAZIONE RADIAZIONE-MATERIA

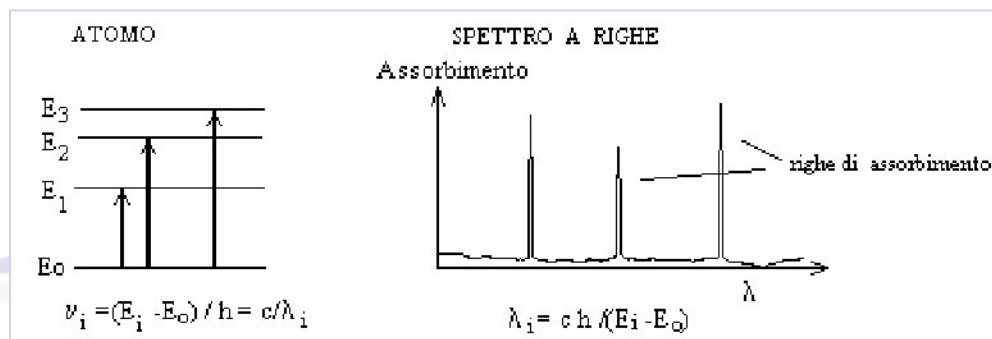
I fenomeni che si verificano quando una radiazione colpisce la materia possono essere molteplici, tra cui la riflessione, la rifrazione, l'assorbimento, l'assorbimento seguito da emissione (fluorescenza), reazioni fotochimiche, ecc.

Il fenomeno che più interessa i metodi spettroscopici è quello dell'assorbimento, che consiste essenzialmente in un trasferimento di energia “quantizzata” dalla radiazione alla molecola (o atomi) colpita provocandone una “perturbazione” dei livelli quantici.

SPECIE ATOMICHE

L'assorbimento da parte di atomi (ottenibili allo stato di vapore) dà luogo ad uno spettro costituito da assorbimenti discreti (spettro **a righe**). Per le transizioni dallo stato fondamentale “o” ad uno stato eccitato “i” ($o \rightarrow i$), le frequenze delle radiazioni assorbite sono definite dall'equazione: $\nu_i = (E_i - E_o) / h = c / \lambda_i$

dove: E_o =energia elettronica dello stato fondamentale, E_i =energia elettronica degli stati eccitati, ν_i =frequenza, λ_i =lunghezza d'onda, c =velocità della luce, h =costante di Planck.



Legge di Lambert- Beer

Il fenomeno dell'assorbimento si ripercuote in una "perdita" di energia da parte della materia, per cui quando una radiazione colpisce una molecola, si può misurare la quantità di energia che viene "trasmessa" alla materia, nota la quantità incidente e quella uscente dal campione (in soluzione).

Tale misura prende il nome di trasmittanza (T) ed è data dal rapporto tra l'intensità della radiazione uscente (I) e l'intensità della radiazione incidente (I_0).

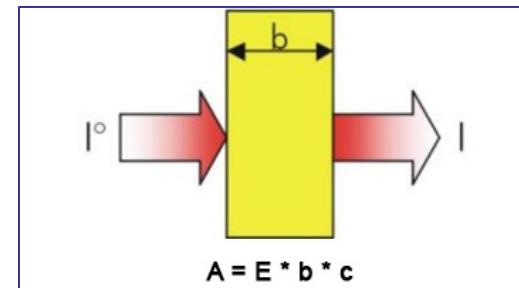
$$T = \frac{I}{I_0}$$

Risulta più comodo utilizzare il logaritmo inverso che corrisponde alla Assorbanza (A), anche detta Densità ottica (DO) o Estinzione:

$$A = \log \frac{1}{T} = \log \frac{I_0}{I}$$

La legge di Lambert-Beer è più nota nella sua forma:

$$A = \varepsilon b c$$



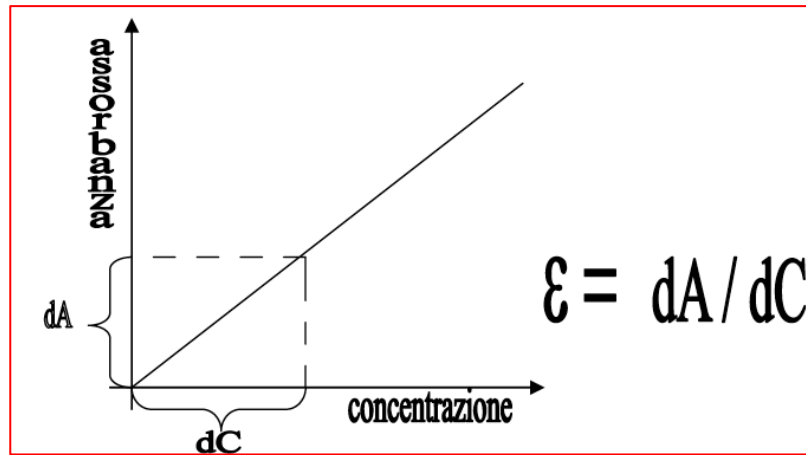
Nella quale l'assorbanza è messa in relazione con la concentrazione (**c**) della sostanza, il cammino ottico (**b**: spessore della cella in *cm*) e una costante, ε , che prende il nome di assorbività o coefficiente di estinzione molare e corrisponde alla assorbanza a spessore e concentrazione unitari.

Il coefficiente ε , è un valore proprio di ogni sostanza e dipende da:

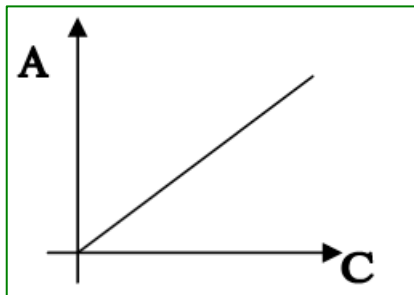
- natura del solvente;
- dalla λ utilizzata
- dal pH
- dalla specie chimica in esame.

E' invece, indipendente dalla temperatura!

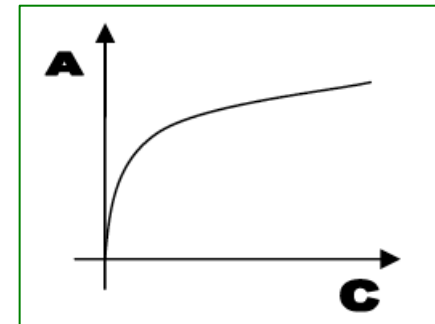
Di norma lo spessore della cella è unitario ($b=1$ cm) per cui l'equazione sopra diventa quella di una retta ($Y=mx$) che ha come coefficiente angolare ε . Per cui per una data λ , si riesce ad ottenere ε .



Soluzioni DILUIITE



Soluzioni CONCENTRATE



La legge di Lambert-Beer segue una linearità fino a certi valori di concentrazione, oltre i quali la retta devia dalla normale e ciò può essere dovuto a fattori strumentali, ma anche a fattori chimici quali:

- ✓ Modificazioni della sostanza a causa di fenomeni come polimerizzazioni o dissociazioni in soluzione.
- ✓ Alterazione del pH e quindi della forma di associazione della sostanza.
- ✓ Luce non perfettamente monocromatica.
- ✓ Presenza di sostanze assorbenti o fluorescenti.
- ✓ Variazioni dell'indice di rifrazione con la concentrazione (\uparrow dispersione).

A ciò si ovvia utilizzando solventi non assorbenti, luce il più monocromatica possibile e concentrazioni non troppo elevate.

SPETTRI ATOMICI:

Sono l'insieme delle radiazioni elettromagnetiche emesse da una sostanza; si dividono in:

Spettri di emissione continui: sono emessi da una sorgente luminosa; presentano tutti i colori dal rosso al violetto sfumati l'uno nell'altro. Sono emessi da corpi incandescenti, solidi, liquidi o gassosi fortemente compressi; sono esempi lo spettro solare e quello emesso da una lampada ad incandescenza o al neon.

Riportiamo qui un esempio di spettro continuo nel visibile (luce)



Spettri di emissione a righe (o discreti): presentano righe colorate su sfondo nero; sono emessi da sostanze gassose o rese gassose a bassa pressione. Ogni spettro è caratteristico di ogni sostanza.

spettro di emissione discreto dell'idrogeno atomico eccitato da scarica elettrica



Spettri di assorbimento: se un gas o una sostanza resa gassosa che si trova a temperatura inferiore a quella di una sorgente di luce bianca, è interposto tra detta sorgente ed uno spettroscopio si ottiene uno spettro di assorbimento; esso è caratterizzato da uno sfondo colorato continuo e dalle righe di assorbimento. Per una stessa sostanza le righe di assorbimento sono sovrapponibili, ovvero hanno la stessa lunghezza d'onda delle righe colorate dello spettro di emissione.

spettro solare di assorbimento discreto con varie righe da vari atomi



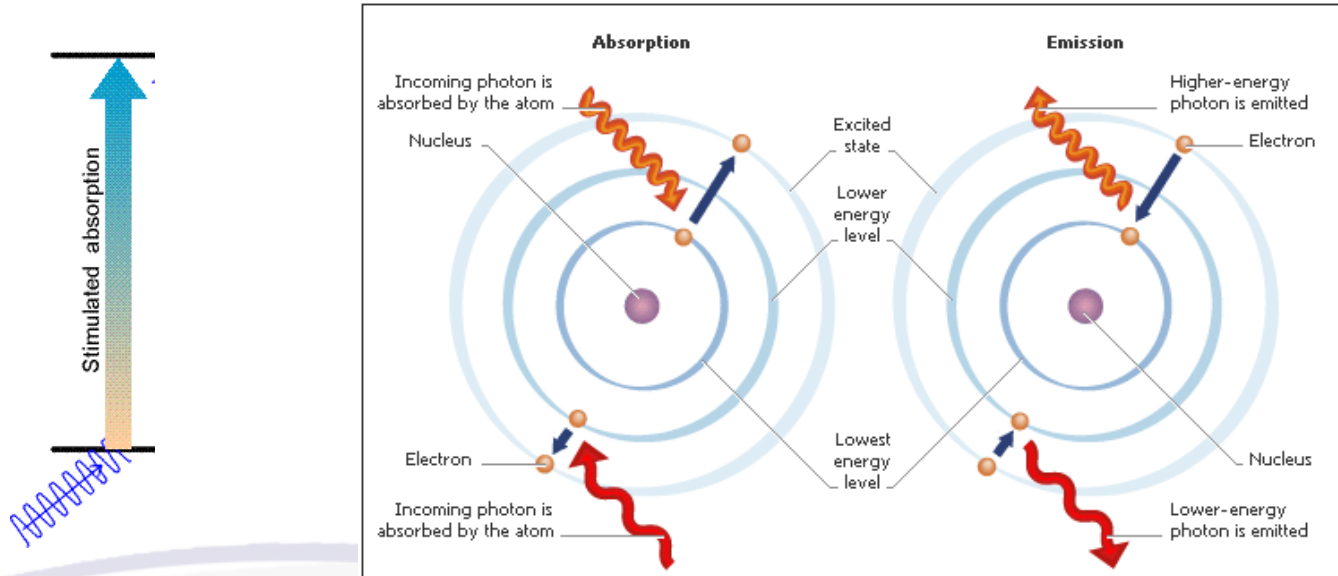
A differenza delle molecole, gli atomi non contengono sottostrutture rotazionali o vibrazionali e pertanto l'assorbimento di una radiazione elettromagnetica per eccitazione ad un livello energetico superiore non avviene in una banda di frequenze ma ad una e una sola frequenza e lunghezza d'onda.

Le frequenze della radiazione che può emettere un atomo di un elemento quando viene eccitato sono uniche per cui ogni elemento possiede uno spettro caratteristico formato da ben definite righe; in altre parole per ogni atomo sono possibili solo caratteristiche variazioni di energia.

SPETTROSCOPIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO (AAS)

La spettrofotometria di assorbimento atomico (AAS) è basata sull'esame dell'assorbimento di una radiazione elettromagnetica dopo che questa passa in un mezzo in cui il campione sia presente come atomi o ioni monoatomici.

Nella spettrofotometria AAS, l'intervallo utile di lunghezze d'onda dipende dalla sorgente della radiazione, dai componenti del cammino ottico e dal rivelatore. In pratica il campo spettrale va da 852,1 nm, la lunghezza d'onda più sensibile per il cesio, a 193,7 nm, la lunghezza d'onda più usata per l'arsenico: lo spettrometro per AAS opera perciò nel campo spettrale degli spettrofotometri UV-vis.



<http://simmonds.wikidot.com/alpha1>

Orbitali atomici e livelli energetici

L'orbitale atomico costituisce un'utile rappresentazione della funzione d'onda Ψ , anzi al suo quadrato, Ψ^2 cioè alla probabilità di trovare l'elettrone in una determinata regione di spazio. L'orbitale non è caratterizzato solo da una forma geometrica specifica, ma anche da un'energia specifica. In pratica per descrivere lo status dell'elettrone oltre alla zona di spazio preferenziale, è necessario associarvi anche un certo livello energetico (energia potenziale) che aumenta con la distanza dal nucleo.

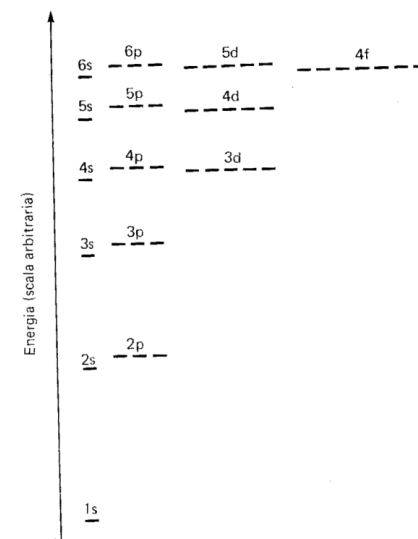
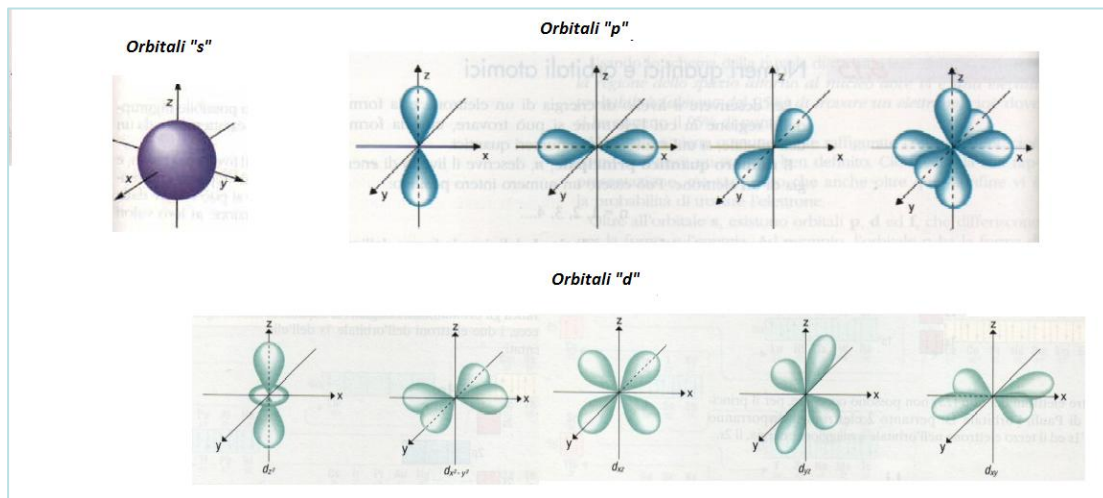
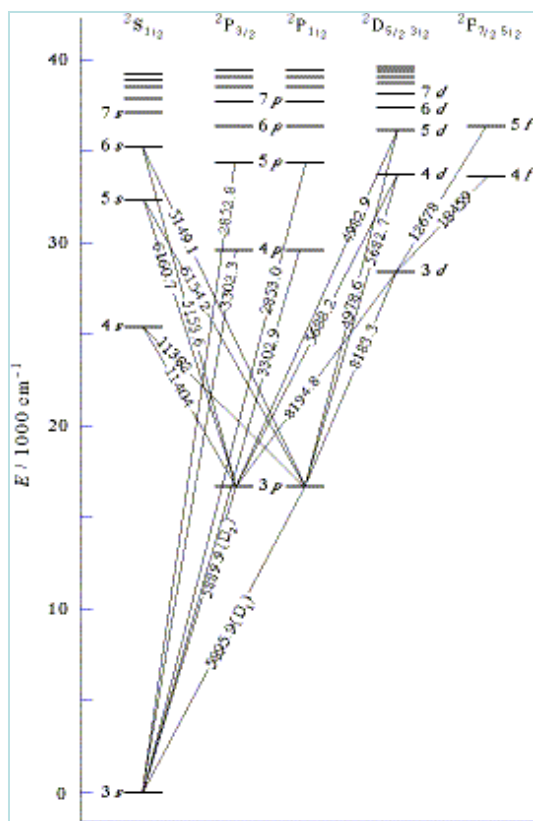


Figura 7.2 Diagramma semplificato dei livelli d'energia di un atomo a più elettroni. La scritta 1s, 2p, 3d ecc. sta ad indicare il tipo di orbitale.

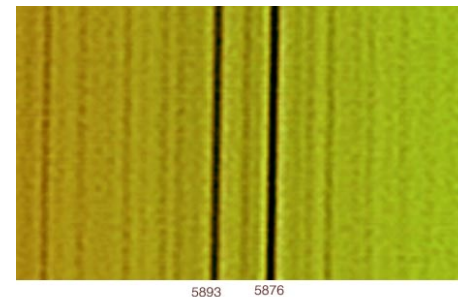
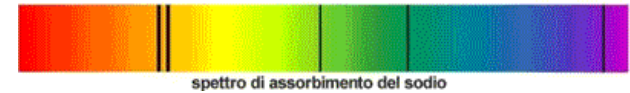
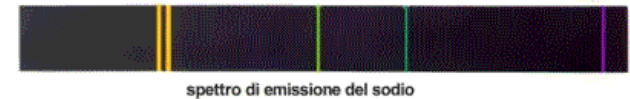
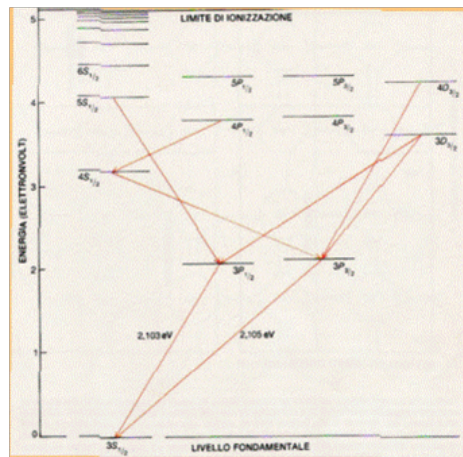
Ogni atomo ha un caratteristico spettro di assorbimento, dovuto alla specifica distribuzione energetica degli orbitali. In ogni spettro atomico si distinguono diverse serie di righe, secondo l'orbitale di partenza degli elettroni coinvolti nella transizione. Questo dipende dallo stato di eccitazione dell'atomo e dalla temperatura.



Tutte le righe dello spettro in realtà sono doppie perchè ogni transizione elettronica può generare due stati eccitati dell'atomo di energia molto simile, caratterizzati da diverso numero quantico di spin.

Quando l'elettrone transita da un livello all'altro si possono avere due diverse configurazioni: una nella quale lo spin dell'elettrone si conserva rispetto allo spin iniziale e l'altra in cui è discorde.

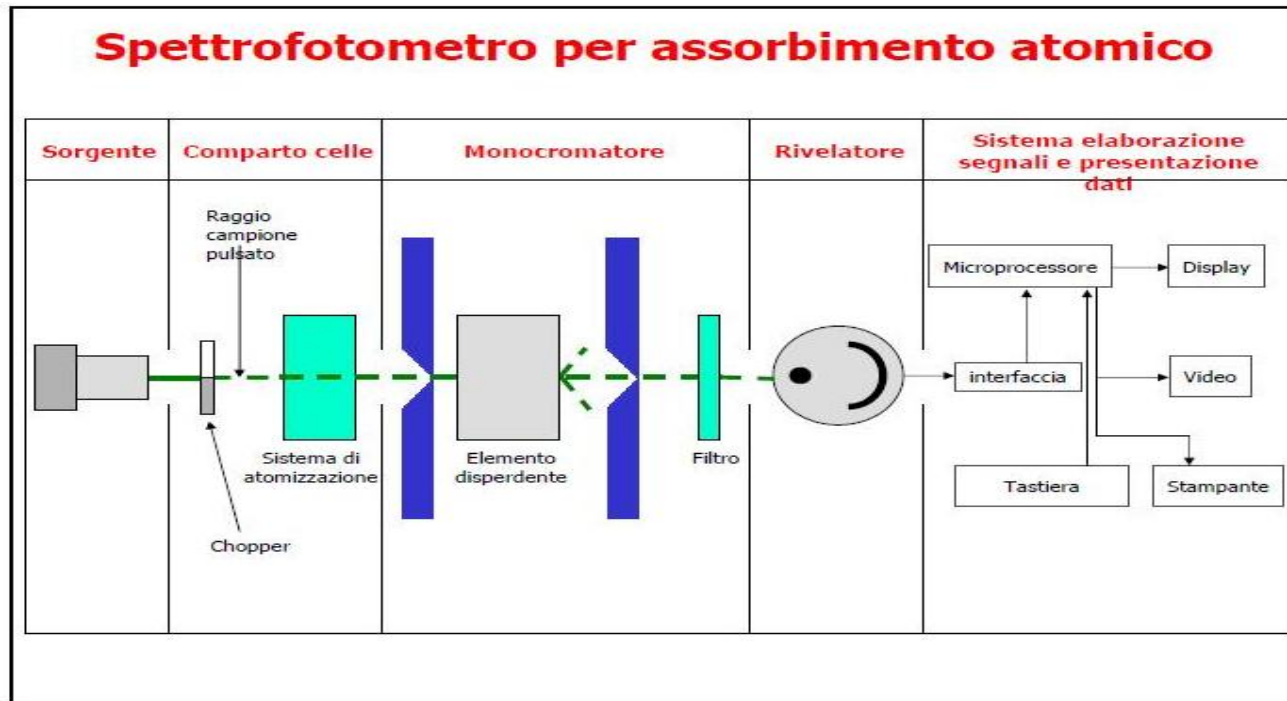
L'atomo di sodio ($\text{Na } 1s^2 2s^2 2p_x^2 2p_y^2 2p_z^2 3s^1$)



Il diagramma a scalini dei livelli di un atomo di sodio definisce uno spettro discreto di lunghezze d'onda, le sole che possono venire emesse o assorbite dall'atomo. Per salire di un livello l'atomo deve assorbire un quanto di radiazione, la cui energia corrisponde esattamente alla differenza fra le energie degli stati iniziale e finale. Ricadendo sul gradino inferiore l'atomo emette un quanto della stessa energia. La maggior parte delle transizioni in discesa passano attraverso i livelli designati $3P_{1/2}$ e $3P_{3/2}$ fino allo stato fondamentale $3S_{1/2}$, cui corrispondono rispettivamente energie di 2,103 e 2,105 elettronvolt sopra quella dello stato fondamentale. Queste sono le più piccole quantità di energia che possano venire assorbite da un atomo di sodio nello stato fondamentale. Esse corrispondono lunghezze d'onda di 589,3 e 587,6 nm, nella regione gialla dello spettro.

STRUMENTAZIONE

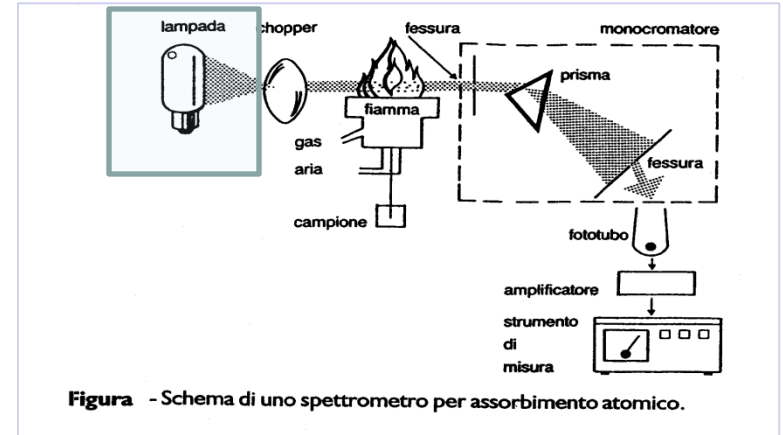
Nello spettrofotometro per AA monoraggio il raggio emesso dalla sorgente attraversa il sistema di atomizzazione, che contiene il campione allo stato di gas atomico, arriva al monocromatore, poi la radiazione monocromatica passa al rivelatore.



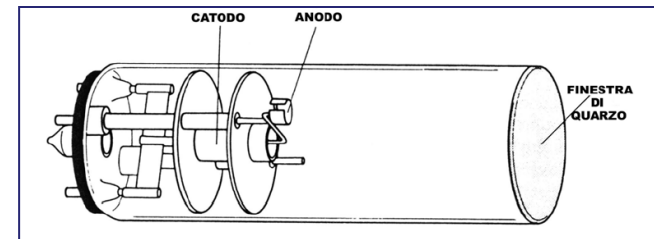
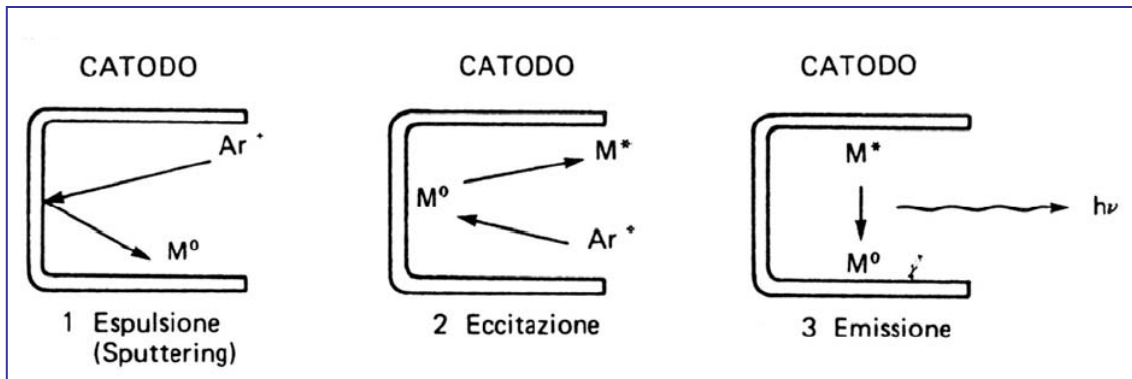
La luce dalla sorgente viene modulata (pulsata) mediante un chopper, in modo da distinguere la luce emessa dalla lampada, dalla luce emessa dall'atomo eccitato.

SORGENTE

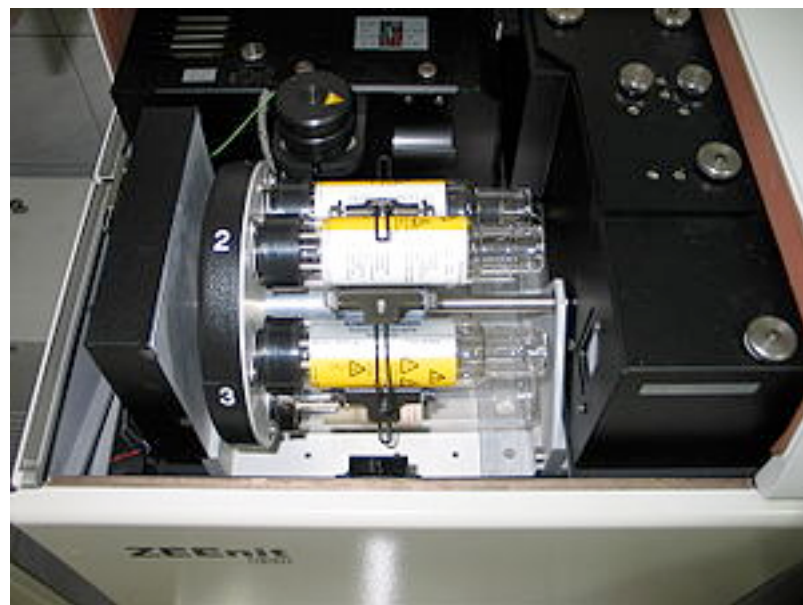
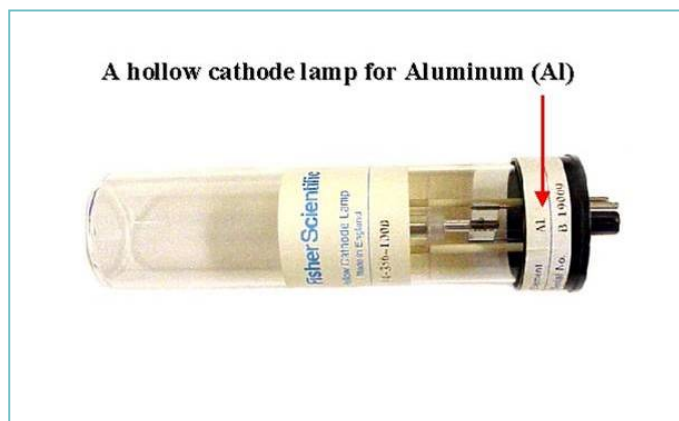
La lampada più usata è quella a catodo cavo: è costituita da un bulbo in vetro, con finestra di quarzo in cui al suo interno contiene un catodo e un anodo; l'ambiente interno è riempito di gas (Ar o Ne). Il catodo è costituita da una capsulina, la quale nel fondo contiene l'elemento caratterizzante della lampada.



Quando viene applicata una d.d.p. agli elettrodi, il gas di riempimento si ionizza (+); gli ioni positivi urtano il catodo provocando l'espulsione degli atomi superficiali che, dopo essere eccitati dal gas di riempimento con gli urti, ritornano allo stato fondamentale emettendo energia radiante. Queste lampade possono essere: a singolo elemento o multi elemento, meno sensibili di quello a singolo elemento perché possono dare sovrapposizione fra le righe spettrali.



Lo spettrofotometro può montare più lampade, utilizzabili a turno.

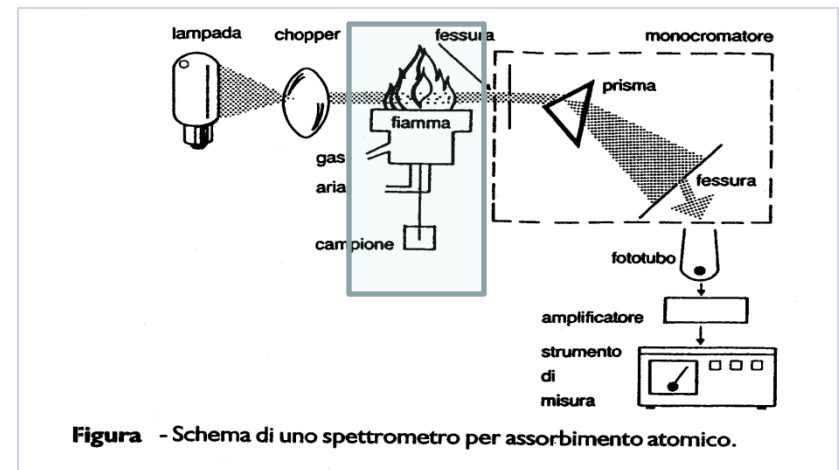
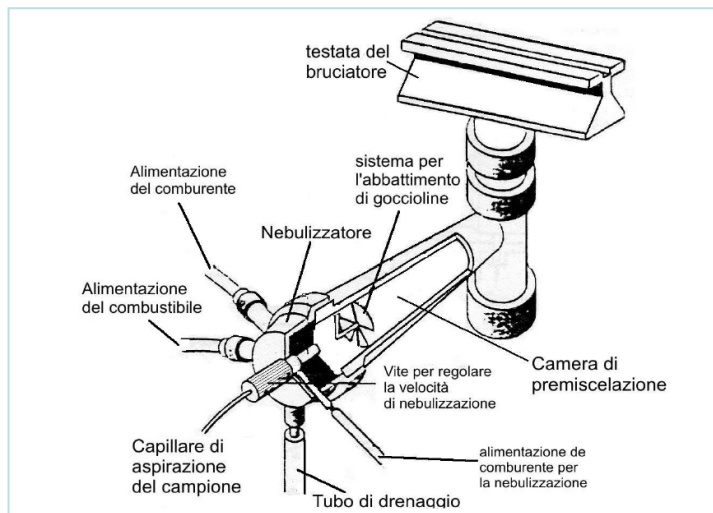


http://en.wikipedia.org/wiki/Hollow-cathode_lamp

ATOMIZZATORE

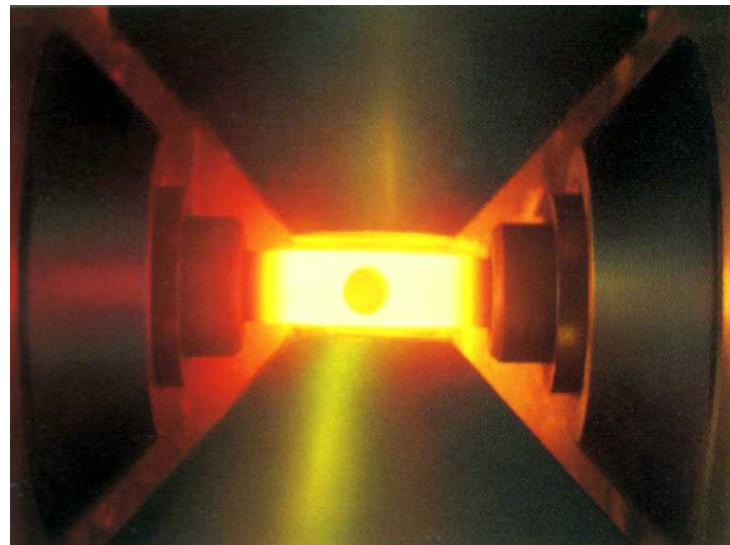
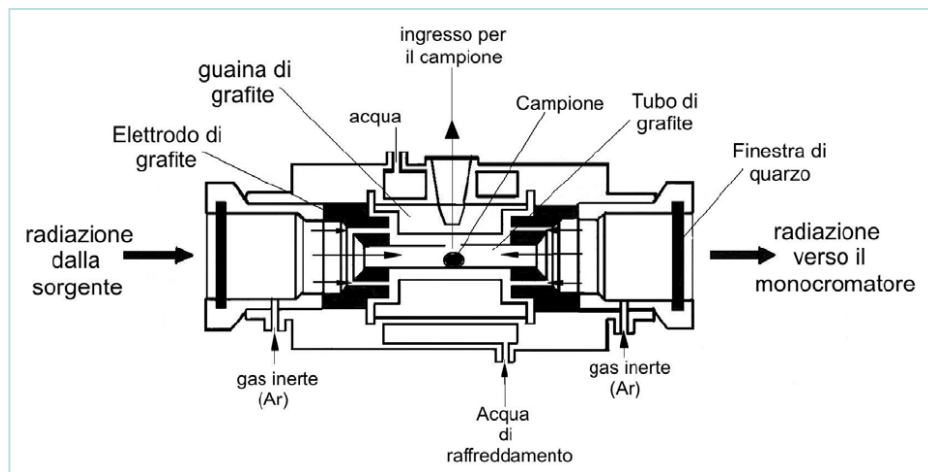
Atomizzatore a fiamma

È costituito da un tubo cilindrico diviso in due zone, la camera di nebulizzazione e la camera di premiscelazione; il tutto è collegato ad una testata dove avviene la combustione e l'atomizzazione. Il campione viene aspirato nel nebulizzatore, trasformato in aerosol e immesso nella camera di premiscelazione, dove si mescola con il gas combustibile e con il gas comburente (ossidante, es.: aria). Il gas comburente serve per mantenere viva la fiamma, ma funge anche da gas di trasporto nel nebulizzatore; ciò consente di variare il flusso del nebulizzatore senza variare il flusso alla testata. Nella camera di premiscelazione è presente un dispositivo che serve per abbattere le goccioline di soluzione troppo grosse.



Atomizzatore a Fornetto di grafite

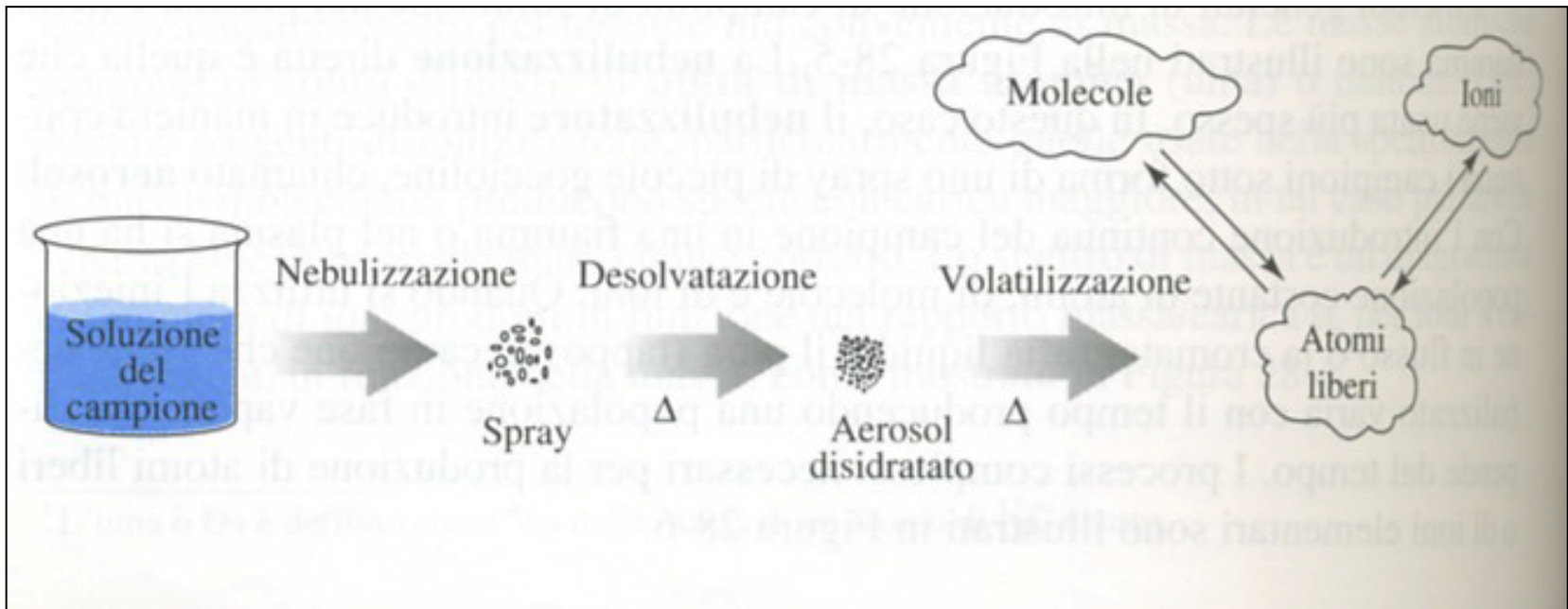
Questo sistema di atomizzazione *senza fiamma* è chiamato a fornello di grafite e la relativa tecnica GFAAS. Si tratta di un sistema interamente automatizzato, che consente di abbassare notevolmente (1000 volte) i limiti di rivelabilità, inoltre consente di lavorare su aliquote molto piccole di campione.

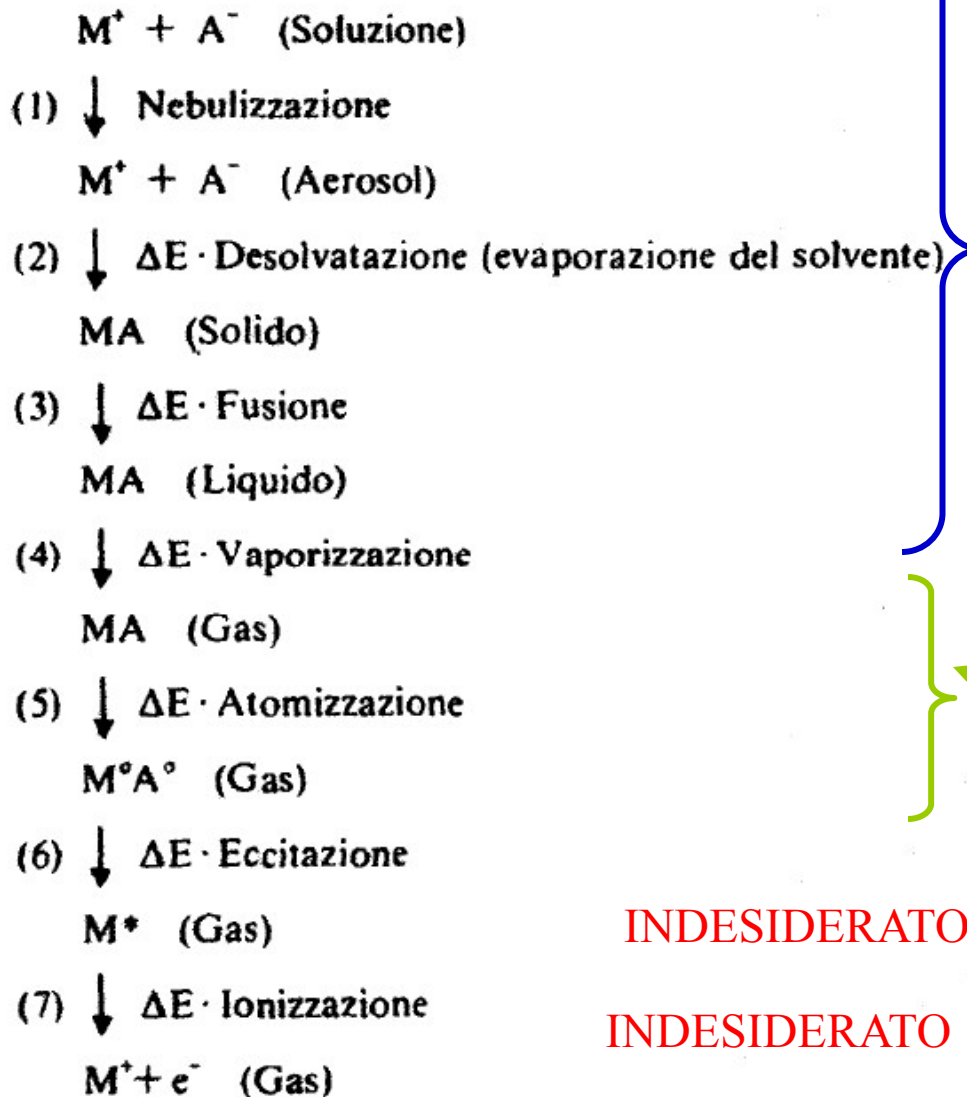


La misura di assorbimento viene fatta sui vapori atomici che si liberano rapidamente nello stadio finale del riscaldamento. Il segnale che si ottiene è un picco la cui area (altezza) è direttamente proporzionale alla massa dell'analita.

Il campione viene:

- aspirato nel **nebulizzatore** da una corrente di gas ad alta pressione;
- desolvato e trasformato in aerosol molecolare finemente suddiviso;
- immesso nella camera di premiscelazione;
- miscelato con ossidante e combustibile





✕ Affinché si realizzi il processo di AA è necessario che la specie chimica interessata venga trasformata in atomi isolati.

✕ Il campione nebulizzato viene aspirato nel bruciatore dove si miscela con il combustibile e il comburente. Sulla fiamma il solvente evapora ed il sale disciolto fonde, evaporando poi a sua volta.

✕ Fino a questo punto l'elemento in esame si trova legato ad un anione. L'energia della fiamma (o del fornello) permette però la dissociazione in atomi, e la successiva (indesiderata) eccitazione.

| Temperature medie di alcune fiamme per AAS | |
|--|------------------|
| Fiamma | Temperatura (°C) |
| Aria-metano | 1850-1900 |
| Aria-gas di città* | 1700-1900 |
| Aria-idrogeno | 2000-2050 |
| Aria-acetilene * | 2125-2400 |
| Protossido di azoto-acetilene ** | 2600-2800 |

* Sufficiente per atomizzare la maggior parte degli elementi

** Necessaria per atomizzare gli elementi che tendono a formare composti molto stabili alle alte temperature (Es. Al_2O_3 , BaO)

Tipi di fiamme consigliate per analisi di assorbimento atomico

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--|--|----|
| H | | | | | | | | | | | | | | | | | | | He |
| Li | Be | | | | | | | | | | | | | | | | | | Ne |
| Na | Mg | | | | | | | | | | | | | | | | | | Ar |
| K | Ca | Sc | Ti | V | Cr | Mn | Fe | Co | Ni | Cu | Zn | | | | | | | | Kr |
| Rb | Sr | Y | Zr | Nb | Mo | Tc | Ru | Rh | Pd | Ag | Cd | | | | | | | | Xe |
| Cs | Ba | La | Hf | Ta | W | Re | Os | Ir | Pt | Au | Hg | | | | | | | | Rn |
| Fr | Ra | Ac | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | Ce | Pr | Nd | Pm | Sm | Eu | Gd | Tb | Dy | Ho | Er | Tm | Yb | Lu | | | |
| | | | Th | Pa | U | Np | Pu | Am | Cm | Bk | Cf | Es | Fm | Md | No | Lr | | | |

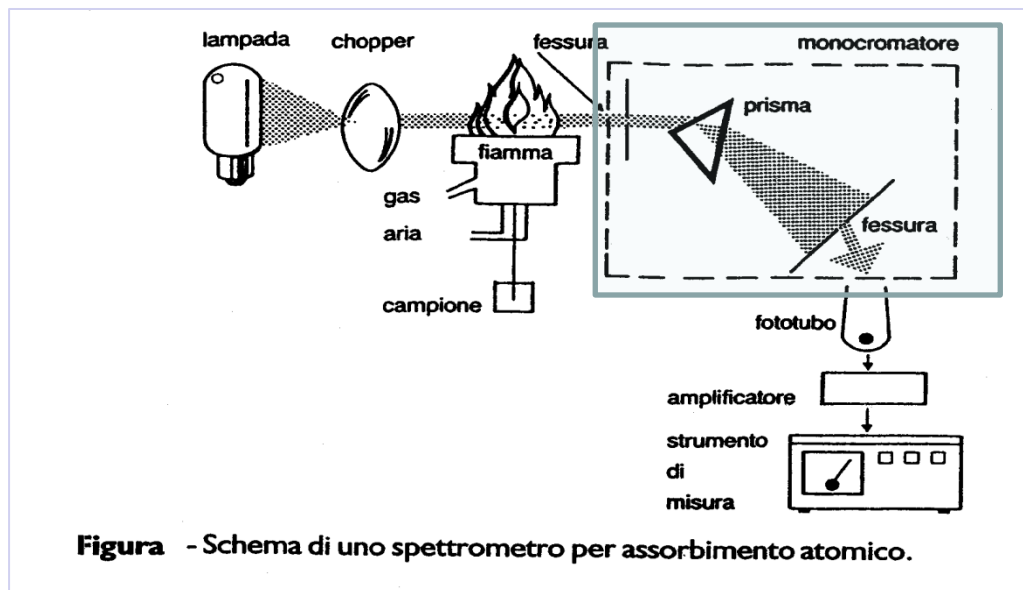
Propano-Aria

Acetilene-Ossido di azoto

Aria-Idrogeno

Acetilene-Aria

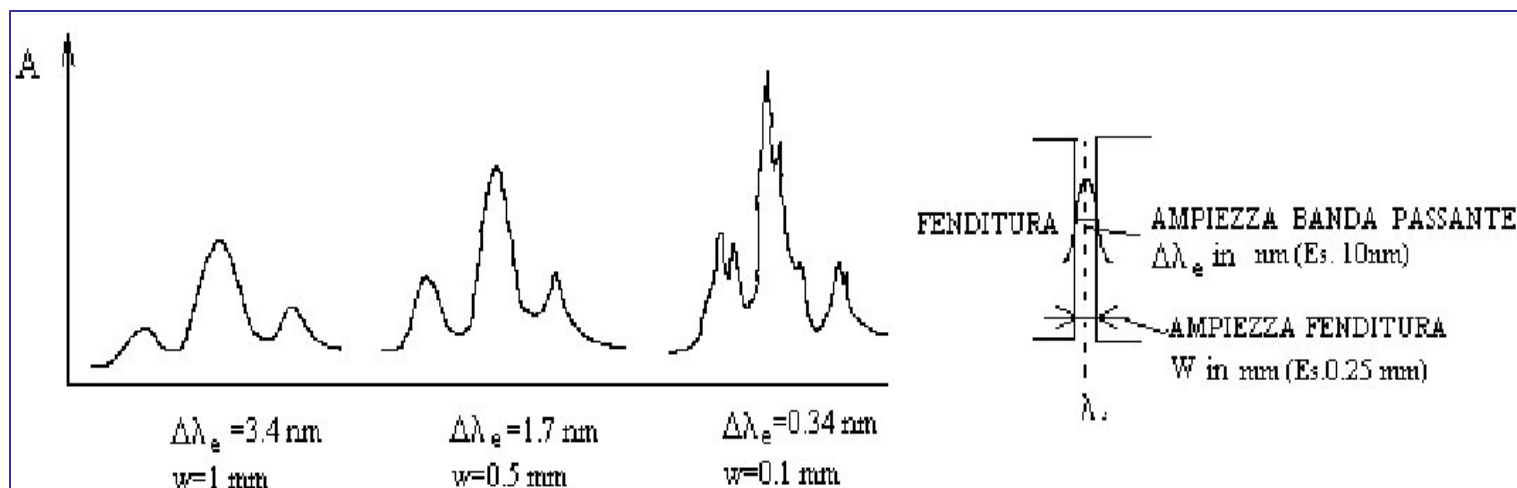
MONOCROMATORE



Il raggio che proviene dalla sorgente e che attraversa il campione viene inviato al monocromatore, che ha la funzione di isolare la riga di risonanza che interessa da quelle parassite della fiamma. La qualità di un monocromatore è definita dalla banda passante, che è l'intervallo di lunghezze d'onda del fascio che emerge dalla fenditura con una energia superiore al 50% ($I = 0,5 \cdot I_0$) della radiazione nominale (E_0); l'altro fattore è il potere risolvete che rappresenta la capacità del monocromatore di separare fra loro due diverse lunghezze d'onda.

DIPENDENZA DELLO SPETTRO DALL'AMPIEZZA DELLA FENDITURA.

Mentre l'area dello spettro è costante, la diminuzione dell'ampiezza della fenditura, w , (e quindi anche dell'ampiezza di banda passante $\Delta\lambda_e$) che regola l'intensità della radiazione che investe la soluzione, determina un aumento della risoluzione:



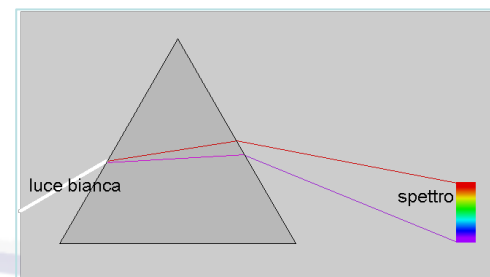
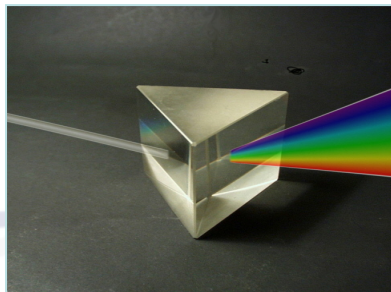
Ad es. una banda passante di 10 nm indica che se imposto la λ a 340 nm in realtà passeranno radiazioni nel range 335-345 nm.

MINOR BANDA PASSANTE (DI) = MAGGIOR RISOLUZIONE DELLO SPETTRO

- FILTRI: assorbono una parte delle componenti spettrali della radiazione incidente e ne trasmettono una gamma più o meno ampia. Ne esistono di più tipi
 - F. ad assorbimento: hanno una banda spettrale di circa 250 nm e una trasmittanza di circa il 35%. Combinando insieme più filtri, si può restringere la banda passante fino a 35-60 nm. Questi filtri non sono usati nell'UV perché sono di vetro.
 - F. a interferenza e di scattering: forniscono migliori prestazioni: bande passanti di 10-20 nm e trasmissione di circa il 50% dell'energia. Hanno il difetto di costare molto.

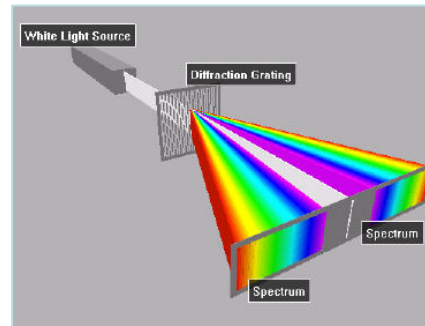


PRISMI: scompongono la radiazioni incidenti nelle sue componenti monocromatiche. Il potere disperdente aumenta al diminuire della lunghezza d'onda, perciò, nell'UV, si usano fenditure più larghe, che trasmettono maggiore energia, anche se il potere risolvante diminuisce e la banda passante si allarga. La dispersione dipende dalla temperatura.

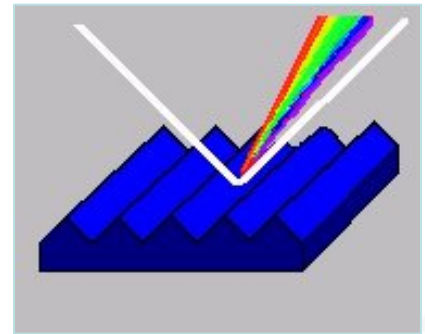


• RETICOLI: hanno lo stesso principio di funzionamento dei prismi, ma si basano su fenomeni di riflessione o diffrazione. Si dividono in:

• R. a trasmissione (o diffrazione): si usano reticoli con fenditure che vanno dalle 600 alle 2000 per ogni millimetro, perché la fenditura deve avere dimensioni paragonabili alla lunghezza d'onda in modo da avere interferenza costruttiva e quindi uno spettro di diffrazione che si ottiene in uno schermo a valle del reticolo. La dispersione è lineare; la distanza fra le bande è direttamente proporzionale alla $\Delta\lambda$.



• R. a riflessione : sono costituiti da una serie di solchi paralleli tracciati sopra una superficie riflettente. Quando un fascio di radiazioni colpisce il reticolo, i raggi riflessi interferiscono fra loro e danno luogo alle frange di riflessione. Questi reticoli restituiscono quasi interamente la luce incidente (80%).

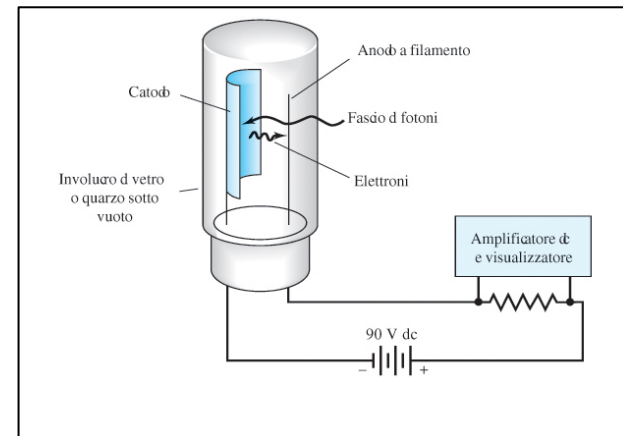
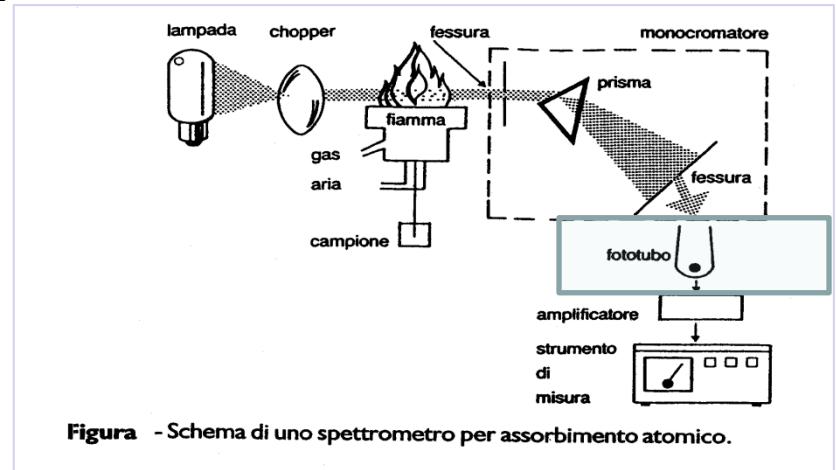


RIVELATORE

I rivelatori trasformano l'energia radiante in segnale elettrico.

Ne esistono di vari tipi:

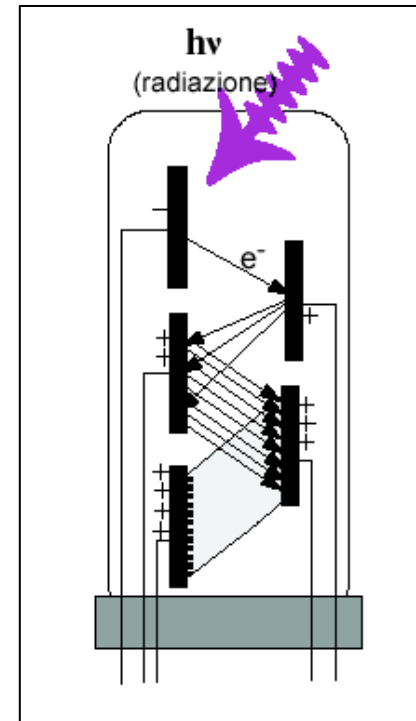
1) Fototubi La risposta di un fototubo è basata sull'effetto fotoelettrico (emissioni di e dalla superficie di alcuni materiali cui sia applicata una ddp, qualora colpito da una radiazione luminosa). Un fototubo consiste in un catodo semicilindrico e un anodo a filo inserito in un tubo di vetro o quarzo sottovuoto. Il catodo supporta un materiale fotoemissivo (metallo alcalino) che emette elettroni quando irradiato con radiazioni di opportuna energia. I fotoelettroni emessi sono quindi attratti dall'anodo.



Caratteristiche:

- intervallo ampio di λ (190 – 1000 nm)
- tendenza all'affaticamento (protetti dalla luce ambientale)
- costo medio

2) Fotomoltiplicatori. Variante dei fototubi, caratterizzati da una sensibilità superiore; gli e emessi dal catodo vengono accelerati da un campo elettrico e quindi acquistano energia; quando colpiscono una seconda superficie fotoemissiva (dinodo), liberano un numero di e superiore; gli e così liberati colpiscono i dinodi successivi in modo da amplificare il segnale. Il rapporto di amplificazione (guadagno) può arrivare fino a 10^9 e per ogni fotone incidente



Caratteristiche:

- elevata sensibilità
- costo elevato

Il tutto viene quindi amplificato ulteriormente da un amplificatore e letto da un voltmetro digitale con scala tarata 0-100% in trasmittanza (T) e la corrente viene così tradotta in numeri che compariranno nel display. Ciò che si misurerà sarà una diminuzione del segnale di trasmittanza dovuto al campione rispetto al bianco. Un sistema logaritmico converte la T in Assorbanza.



www.it.wikipedia.org

Si può notare al centro il campione in soluzione, a destra il pannello di controllo.

In generale gli strumenti AA sono composti da un portacampioni ed una pompa per prelevare in continuo il campione che si vuole analizzare in soluzione.

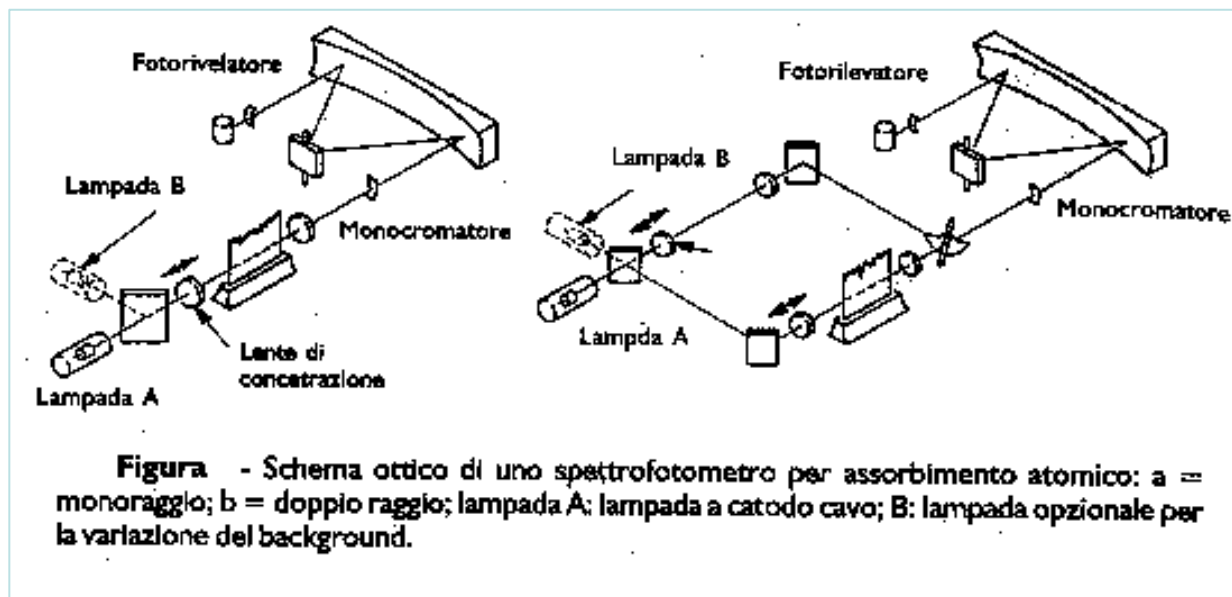
Di seguito la soluzione viene nebulizzata all'interno di una sorgente di calore che può essere a fiamma, un fornello di grafite, oppure una sorgente al plasma (ICP).

TIPI DI STRUMENTO

Come per altre tecniche spettroscopiche, anche nell' AAS è previsto l'utilizzo di strumenti a mono raggio oppure a doppio raggio.

I primi necessitano di uno spettro del background (solo la radiazione della lampada seguita poi da quella del campione). Si eseguirà una sottrazione di spettri.

Nel secondo un "chopper" (specchio rotante) alternerà la radiazione della sorgente prima al campione sull'atomizzatore poi la sola radiazione della sorgente per una sottrazione in automatico del "noise".



Sensibilità e Limite di rivelabilità (LdR)

Si definisce **sensibilità** di una determinazione eseguita con A.A. quella concentrazione di elemento nella soluzione che produce nella fiamma un segnale corrispondente all'1% di assorbimento e viene generalmente espressa con mg/ml/1% o anche ppm/1% di assorbimento. In pratica è definita come la variazione del segnale al variare della concentrazione (o quantità) dell'elemento.

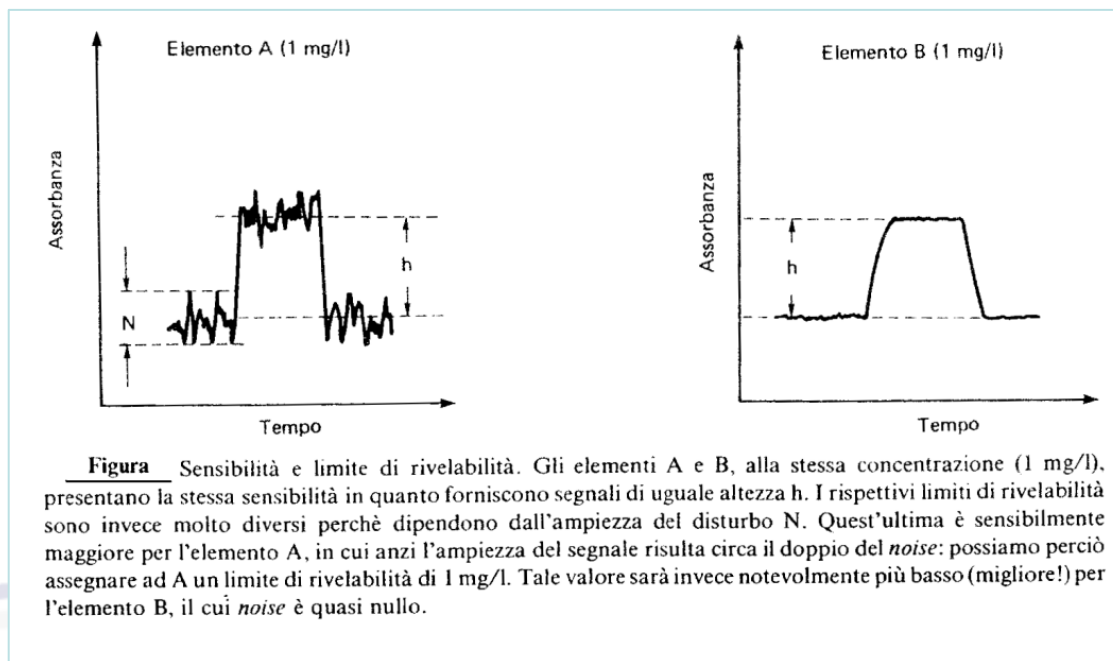
$$S = \frac{ds}{dc}$$

Tuttavia per confrontare metodi analitici diversi risulta più utile il concetto di **limite di rivelabilità relativo** definito come la più bassa concentrazione (grammi o ppm) di elemento che può essere rivelata con una probabilità del 95%. Il segnale minimo accettabile è quello che dà luogo ad un assorbimento pari al doppio del rumore di fondo (tiene conto anche di altri fattori strumentali oltre alla sensibilità analitica).

Si definisce **limite di rivelabilità assoluto** la quantità di elemento che dà luogo ad un assorbimento di entità tripla del rumore di fondo (noise).

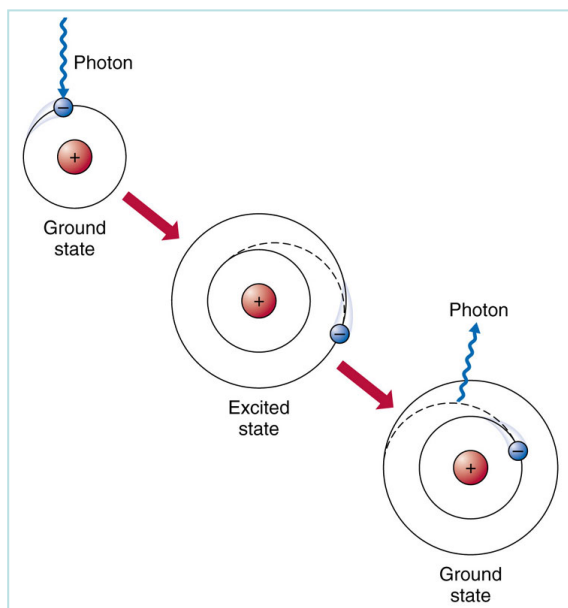
Sensibilità e limite di rivelabilità (LdR) sono grandezze strettamente legate tra di loro. Mentre la prima ci dà informazioni sull'altezza del segnale, la seconda ci dà notizie sul rumore di fondo o disturbo. Quest'ultimo è legato al tipo di strumento che si usa; ad es. un atomizzatore a fiamma produce un noise maggiore di uno a grafite, così come una lampada più usata o monocromatori poco efficienti.

La sensibilità è diversa da elemento a elemento, in quanto dipende dallo spessore dello strato di vapori atomici attraversato dalla sorgente e dalla probabilità che la transizione elettronica si verifichi (che è appunto differente per ciascun elemento).

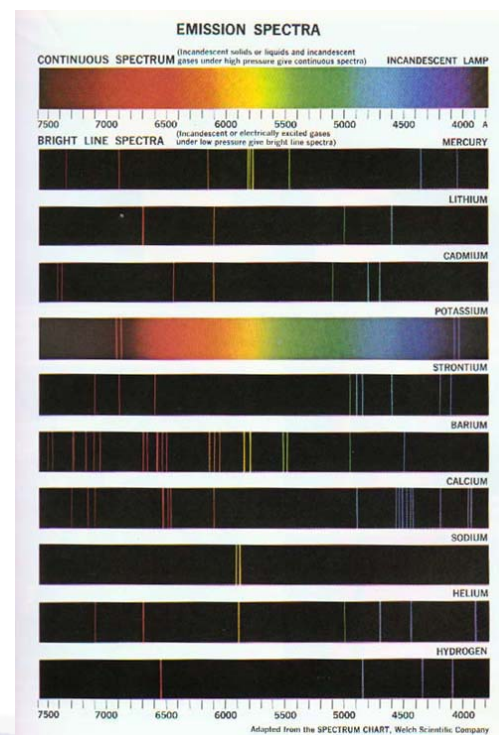


Nella tecnica ad assorbimento AA una lampada ultravioletta/visibile illumina la fiamma a frequenze caratteristiche del metallo che si vuole rivelare che in questo modo assorbe la radiazione in arrivo. Un detector posto alla fine della traiettoria del raggio luminoso riceve la radiazione in arrivo e ne misura l'intensità confrontata con l'intensità alla stessa frequenza in assenza di ione assorbente. La differenza viene confrontata con il valore di assorbimento di un campione a concentrazione nota del metallo di interesse (standard).

Nella tecnica ad emissione AE è il metallo stesso che eccitato dalla temperatura emette una radiazione a frequenze caratteristiche degli stati di eccitazione. IL detector in questo caso confronta l'intensità della radiazione emessa con quella dello standard a concentrazione nota.



<http://www.vialattea.net>



SPETTROSCOPIA MOLECOLARE

Le tecniche spettroscopiche molecolari più utilizzate sono la spettroscopia ultravioletta-visibile (UV-Vis), la spettroscopia infrarossa (IR), la spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (RMN) e la spettrometria di massa (MS).

Di queste, la spettroscopia UV-Vis e quella IR sono le più accessibili in quanto meno costose e meno complicate.

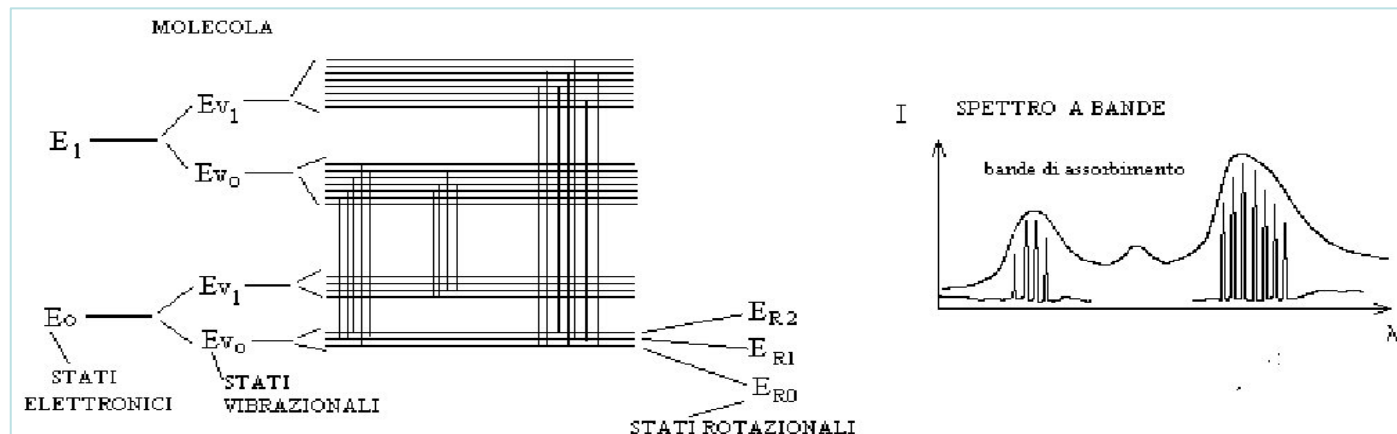
- L' **UV-Vis** dà informazione sul tipo di **cromofori** (sistema di elettroni π ed n);
- L'**IR** dà informazioni sui **gruppi funzionali** presenti nella molecola.

UV-Vis radiazioni nel range 10-(400)-800 nm (più energetiche)

IR radiazioni nel range 400-4000 nm (meno energetiche)

SPECIE MOLECOLARI

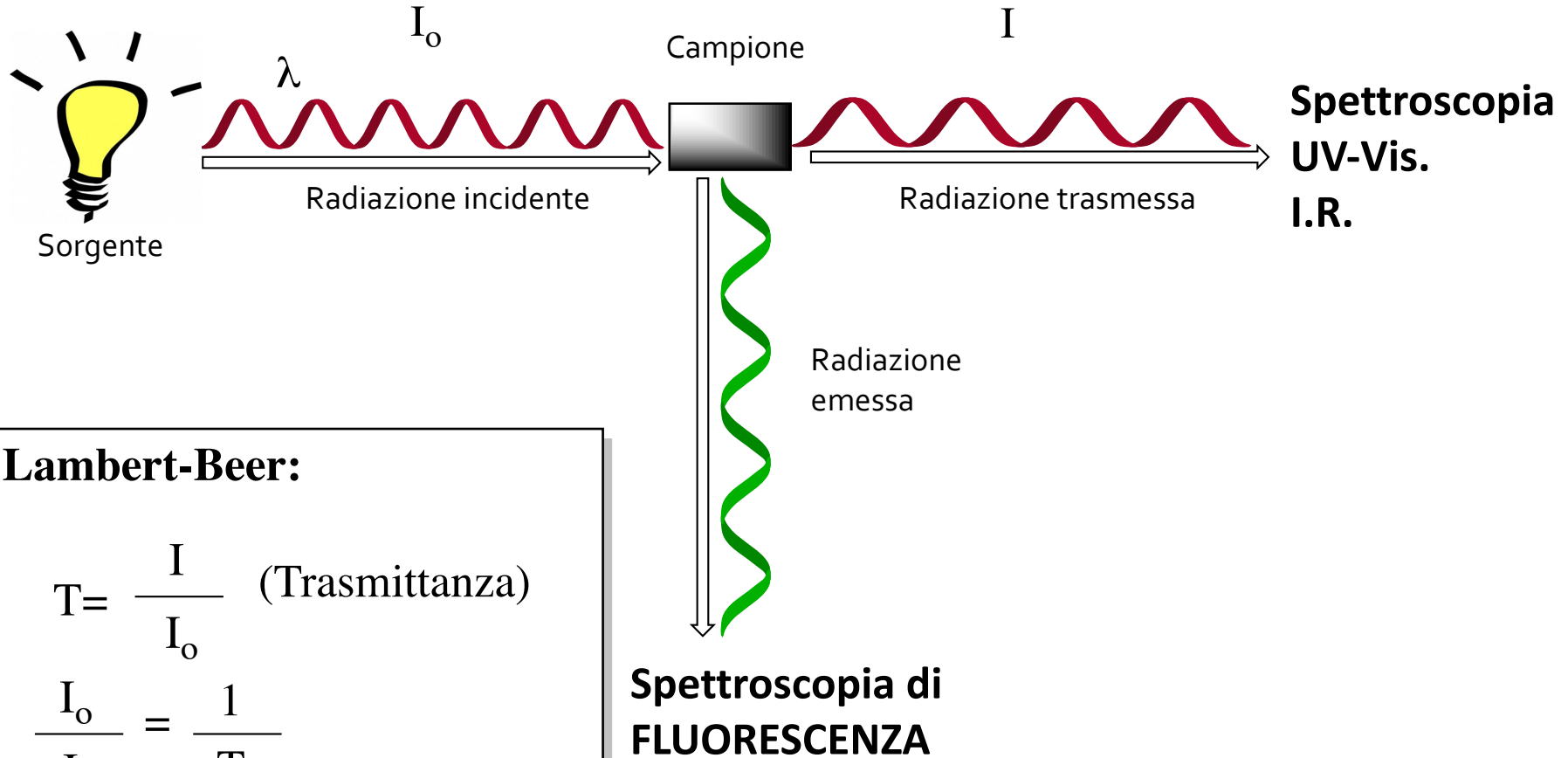
L'assorbimento di radiazioni da parte di molecole da origine ad assorbimenti che coinvolgono stati elettronici, ma anche stati vibrazionali e rotazionali. In tal modo si hanno assorbimenti discreti molto ravvicinati, che costituiscono delle bande (spettro a bande).



L'energia totale di una molecola, è data dalla somma delle sue energie elettronica, vibrazionale e rotazionale ($E_{tot.} = E_{el.} + E_{vib.} + E_{rot.}$) e che i livelli elettronici sono quelli a maggior contenuto energetico ($E_{el.} > E_{vib.} > E_{rot.}$).

L'assorbimento di energia da parte di una molecola avverrà solamente se la quantità di energia incidente ("quanto") corrisponde alla differenza energetica tra un livello e l'altro, ovvero se la ΔE corrisponde alla differenza tra lo stato "fondamentale" e quello "eccitato".

Schematicamente:



Lambert-Beer:

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (\text{Trasmittanza})$$

$$\frac{I_0}{I} = \frac{1}{T}$$

$$\text{Log} \frac{I_0}{I} = A \quad (\text{Assorbanza})$$

SPETTROSCOPIA ULTRAVIOLETTO-VISIBILE (UV-Vis)

La spettroscopia (o spettrofotometria) UV-Vis riguarda lunghezze d'onda nel range 10-800 nm. Si parla di UV-lontano 10-180 nm e UV-vicino 180-380).

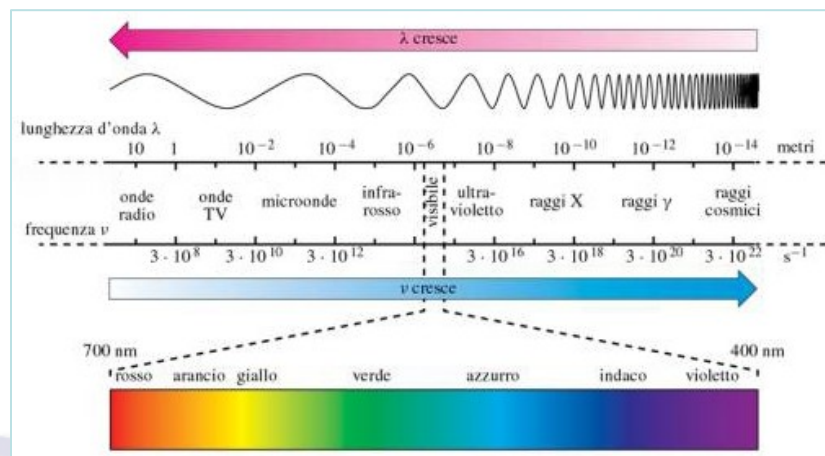
Gli spettri UV si presentano come grosse bande allargate in cui i punti di massimo (A_{\max}) vengono caratterizzati dalla corrispondente lunghezza d'onda (λ_{\max}), che ne indica la posizione e con il valore ϵ_{\max} calcolabile con la legge di Beer, che ne indica l'intensità.

La spettroscopia UV-Vis è un metodo analitico quali-quantitativo che si basa sull'assorbimento, da parte di molecole organiche ed inorganiche, di radiazione e.m. in questa regione dello spettro.

Nel campo del visibile, il violetto è il colore a λ minore (più energetica), mentre il rosso è quello a λ maggiore (minor energia).

Tabella Suddivisione dello spettro visibile e colori corrispondenti

| λ (nm) | Colore assorbito | Colore complementare |
|----------------|------------------|----------------------|
| 380-435 | Violetto | Giallo verde |
| 435-480 | Blu | Giallo |
| 480-490 | Verdastro-blu | Arancio |
| 490-500 | Bluastro-verde | Rosso |
| 500-560 | Verde | Rosso-porpora |
| 560-595 | Giallo-verde | Porpora |
| 595-650 | Arancio | Verdastro-blu |
| 650-780 | Rosso | Blu-verde |



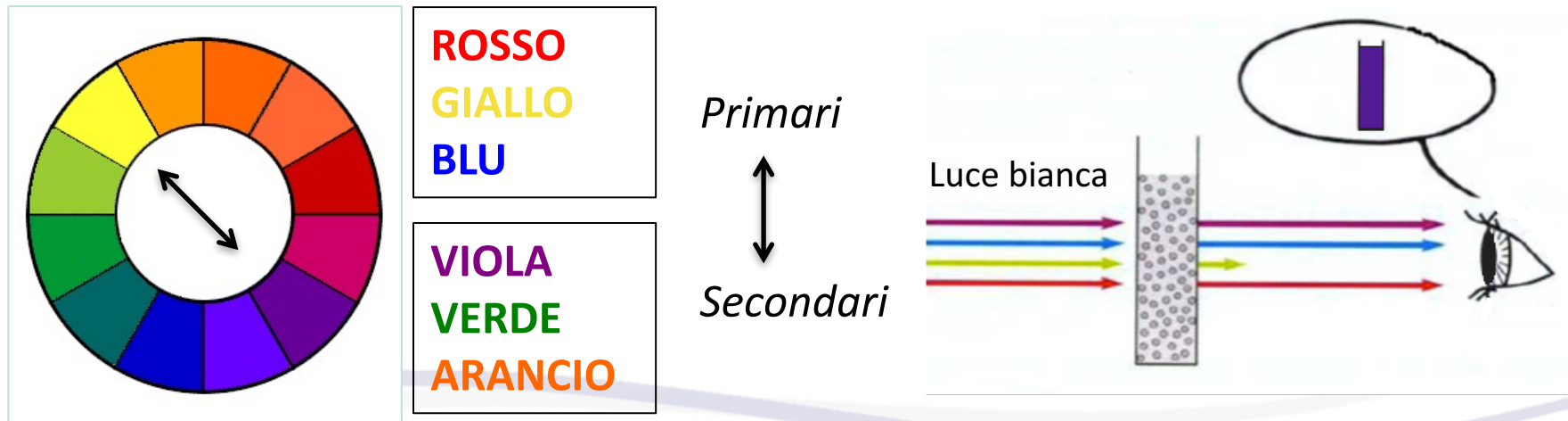
www.anniluce.wordpress.com

La maggior parte delle molecole farmaceutiche assorbono nella regione dell'UV. Le sostanze **colorate** assorbono nel Visibile.

TEORIA DEL COLORE

La luce bianca è costituita da radiazioni comprese tra ~400 (violetto) e ~ 800 (rosso) nm.

Essa è la combinazioni di radiazioni colorate ognuna delle quali ha una certa λ .
Se si ha assorbimento ad una certa λ la sostanza assume la colorazione complementare (percezione visiva).



Assorbimento di sostanze organiche

La spettroscopia UV-Vis riguarda l'assorbimento da parte di MOLECOLE ed in particolare coinvolge gli elettroni di legame tra gli atomi inducendo transizioni elettroniche degli elettroni più esterni.

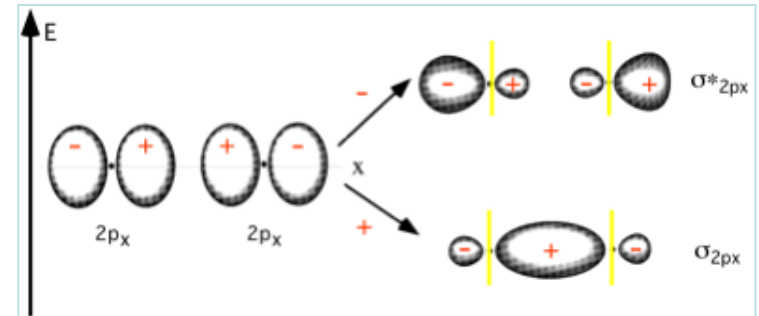
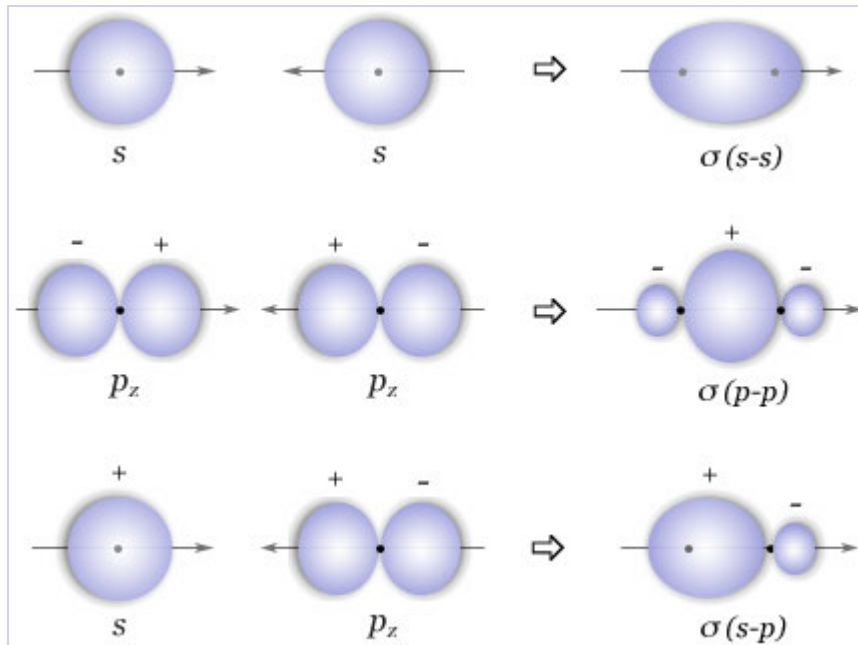
Dalla teoria degli orbitali molecolari sono definiti come orbitali di legame e di antilegame la sovrapposizione di orbitali atomici a contenuto energetico minore (legame) e maggiore (antilegame); il primo a massima densità elettronica e stabilità maggiore rispetto al secondo.

Vi sono poi i livelli indicati con la lettera **n**, che corrispondono allo stato energetico dei doppietti elettronici non condivisi o di non-legame (es. quelli dell'ossigeno o dell'azoto), situati a livelli intermedi tra gli orbitali di legame e quelli di antilegame.

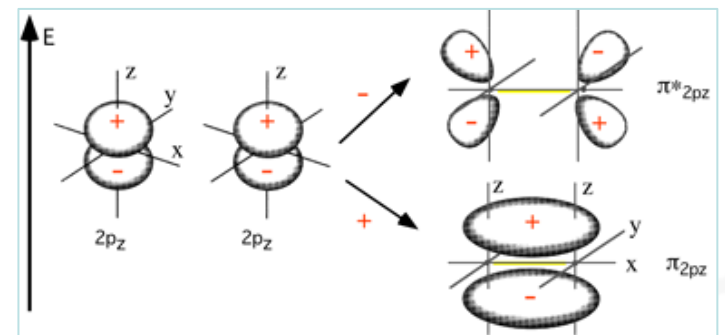
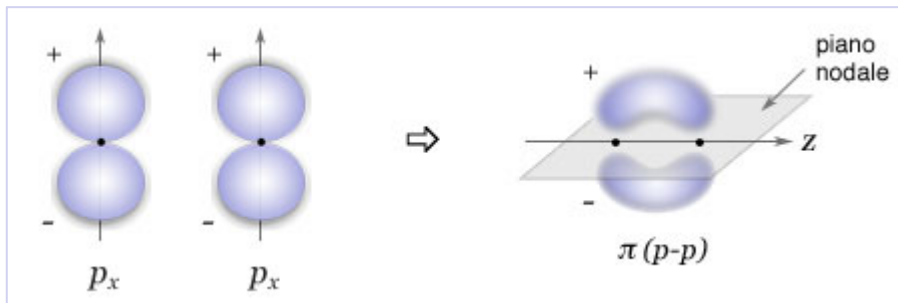
Se gli orbitali atomici sono coassiali si ottengono orbitali molecolari di legame tipo σ , se invece sono paralleli si hanno orbitali tipo π . I corrispondenti orbitali di antilegame sono indicati come σ^* e π^* .

L'assorbimento di radiazione UV-Vis corrisponde all'eccitazione degli elettroni dai livelli σ , π e n ai livelli σ^* π^* .

Legame sigma (σ):



Legame pi-greco (π):

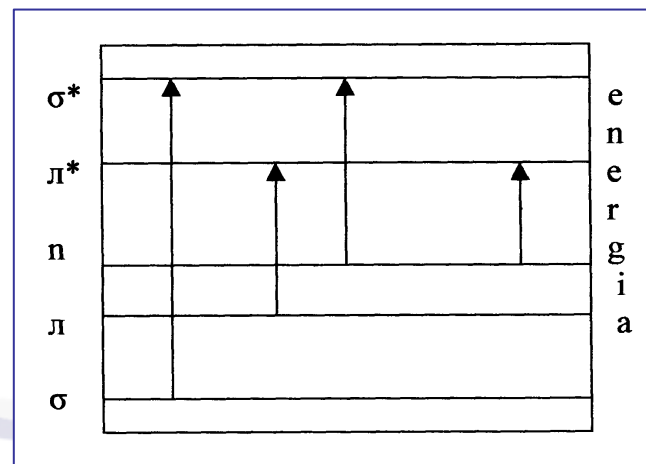


TIPI DI TRANSIZIONI ELETTRONICHE:

Rispetto agli elettroni σ , quelli π sono “meno legati” e risultano, quindi, più facilmente eccitabili; ad es. per eccitare gli elettroni π occorre un'energia di radiazione corrispondente a 180 nm (vicino UV; meno energetica), contro i 120 nm (lontano UV; più energetica) per eccitare gli elettroni σ .

➤ Le transizioni $\sigma \rightarrow \sigma^*$: sono quelle che richiedono la maggior energia; la maggior parte si verifica a $\lambda < 150$ nm (lontano UV). Sono tipiche di molecole a catene sature (idrocarburi alifatici) per legami C-C e C-H; difficilmente analizzabile e di poco interesse pratico. Di norma non si osservano!

| TIPO DI TRANSIZIONE | LUNGHEZZA D'ONDA DELLA RADIAZIONE NECESSARIA PER OTTENERE LA TRANSIZIONE |
|---|--|
| $\sigma \rightarrow \sigma^*$ | 110 – 135 nm |
| $\pi \rightarrow \pi^*$ $n \rightarrow \sigma^*$ | 150 – 255 nm |
| $n \rightarrow \pi^*$ | > 285 nm |



➤ Le transizioni $n \rightarrow \sigma^*$ (bande R o radicaliche):

Richiedono meno energia delle precedenti, ma cadono sempre a λ basse, tra i 150 e i 255 nm. Sono tipiche di molecole con legami semplici portando gruppi funzionali contenenti N, O o S con doppietti non condivisi (O-H, N-H, etc.). Hanno anch'esse scarso interesse applicativo.

➤ Le transizioni $\pi \rightarrow \pi^*$:

Sono quelle che più interessano in quanto riguardano sistemi coniugati come catene etileniche o nuclei aromatici. Le porzioni più semplici sono dette *chromofori*.

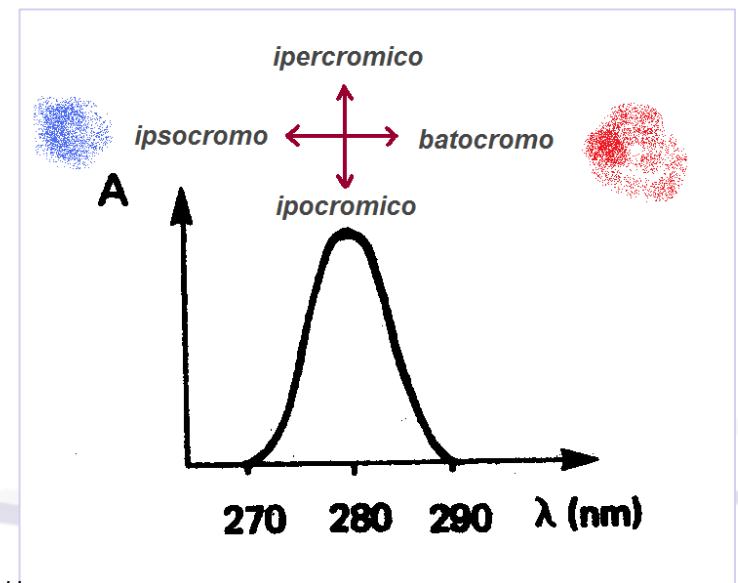
Si possono suddividere in tre tipi principali:

- Banda E (etilenica): tipica di sistemi π isolati (doppi legami olefinici o dienici).
- Banda B (benzenoide): tipica banda dell'anello benzenico che può essere anche molto complessa anche se poco intensa (non permessa dalle regole di selezione della meccanica quantistica).
- Banda K (di coniugazione): caratteristica di doppi e tripli legami coniugati (anche aromatici). Maggiore è la delocalizzazione e maggiore è la λ di assorbimento (minore energia e frequenza!!!)

Cromofori e Auxocromi

- Si definiscono **cromofori**, molecole o gruppi di atomi capaci di conferire **colorazione** (dal greco: portatori di colore), in genere si tratta di gruppi insaturi ($C=C$, $C=O$, NO_2).
- **auxocromi** si definiscono i gruppi funzionali, che introdotti covalentemente in una molecola colorata (cromoforo), ne rafforzano il colore, quindi l'assorbimento, in particolare nella zona 180-780 nm (UV-Vis), si tratta di gruppi saturi con elettroni non condivisi (OH , NH_2). Alterano la posizione e l'intensità dell'assorbimento di un cromoforo; di per sé l'auxocromo non assorbe nell'UV. Sono escluse le transizioni $\sigma \rightarrow \sigma^*$.

Ci possono essere degli spostamenti più o meno accentuati verso il rosso (λ maggiori: red-shift o batocromo) o verso il blu (λ minori: blue-shift o ipsocromo); analogamente si possono avere spostamenti d'intensità nel senso di aumenti (effetto ipercromico) o diminuzioni (effetto ipocromico).



I cromofori da soli danno assorbimenti di bassa intensità e a lontane λ . Quando le coniugazioni sono estese (coniugazione) si ottengono assorbimenti intensi con λ comprese tra i 200 e i 700 nm. Ciò avviene in quanto la coniugazione è responsabile di una delocalizzazione degli elettroni di legame con conseguente stabilizzazione e riduzione del livello energetico degli orbitali π^* al quale segue una minor richiesta energetica per la transizione ($< \Delta E$) e quindi, una maggior λ .

➤ Transizioni $n \rightarrow \pi^*$:

Hanno richieste energetiche analoghe alle precedenti e sono tipiche di molecole che possiedono eteroatomi con doppietti non condivisi adiacenti a legami o gruppi insaturi (es. $C=O$, $N=N$, etc.). Sono anch'esse vietate dalle regole di selezione perciò non molto intense. ASSIEME ALLA TRANSIZIONE $\pi \rightarrow \pi^*$ SONO LE PIU' UTILI AL FINE DELL'ANALISI UV-Vis.

➤ Transizioni per trasferimento di carica:

Sono le più intense dello spettro, perché sono dovute a veri e propri spostamenti di elettroni da una parte all'altra della molecola. I composti aromatici sostituiti presentano bande di questo tipo che cadono nell'intervallo 220-370 nm. In genere:

- Composti di coordinazione;
- Ioni di metalli di transizione (MnO_4^- , CrO_4^{2-});
- Complessi molecolari (I₂-Benzene)

Si tratta di sostanze che assorbono nel visibile (colorate !!) in quanto si tratta di transizioni che producono forti variazioni nel momento dipolare; per composti di coordinazione si parla di **trasferimento di carica intramolecolare**, in quanto si verifica un vero e proprio trasferimento di elettrone dall'atomo centrale ai leganti, e viceversa.

Assorbimento di sostanze inorganiche e composti di coordinazione

Alcuni anioni inorganici assorbono la radiazione nella zona dell'UV per transizioni di tipo $n \rightarrow \pi^*$. Alcuni esempi sono:

| | |
|---|----------|
| NO_3^- : λ_{max} (nm) | 313 |
| CO_3^{2-} : | 217 |
| NO_2^- : | 360, 280 |

➤ Transizioni $d \rightarrow d^*$ e $f \rightarrow f^*$:

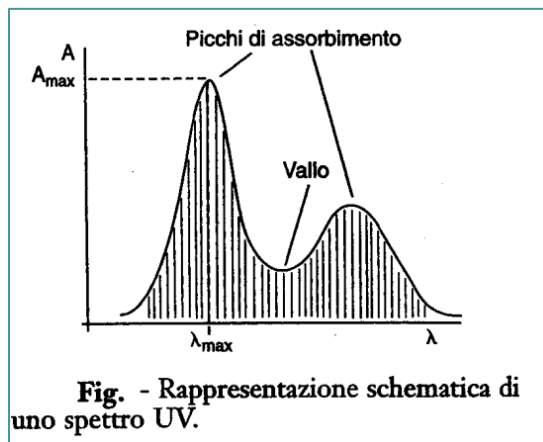
Coinvolgono sostanze inorganiche, metallo-organiche e composti di coordinazione se partecipano metalli di transizione (orbitali d) o lantanidi (orbitali f). Il metallo provoca una separazione tra gli orbitali che, altrimenti, sarebbero degeneri.

Gli assorbimenti di queste transizioni cadono nel range del visibile, in quanto i dislivelli energetici sono piccoli, perciò si tratta quasi sempre di sostanze colorate!

Sono presenti anche bande dovute a trasferimento di carica intramolecolare!

Lo spettro UV-Visibile

Lo spettro UV-Vis di una molecola ha la forma di una (o più) banda allargata con un picco di massimo di assorbimento (A_{\max}) con la corrispondente lunghezza d'onda (λ_{\max}) e uno di minimo (valli). L'aspetto e l'intensità delle curve sono tipiche per ogni sostanza in quanto dipendono dal tipo di cromofori presenti nella molecola.

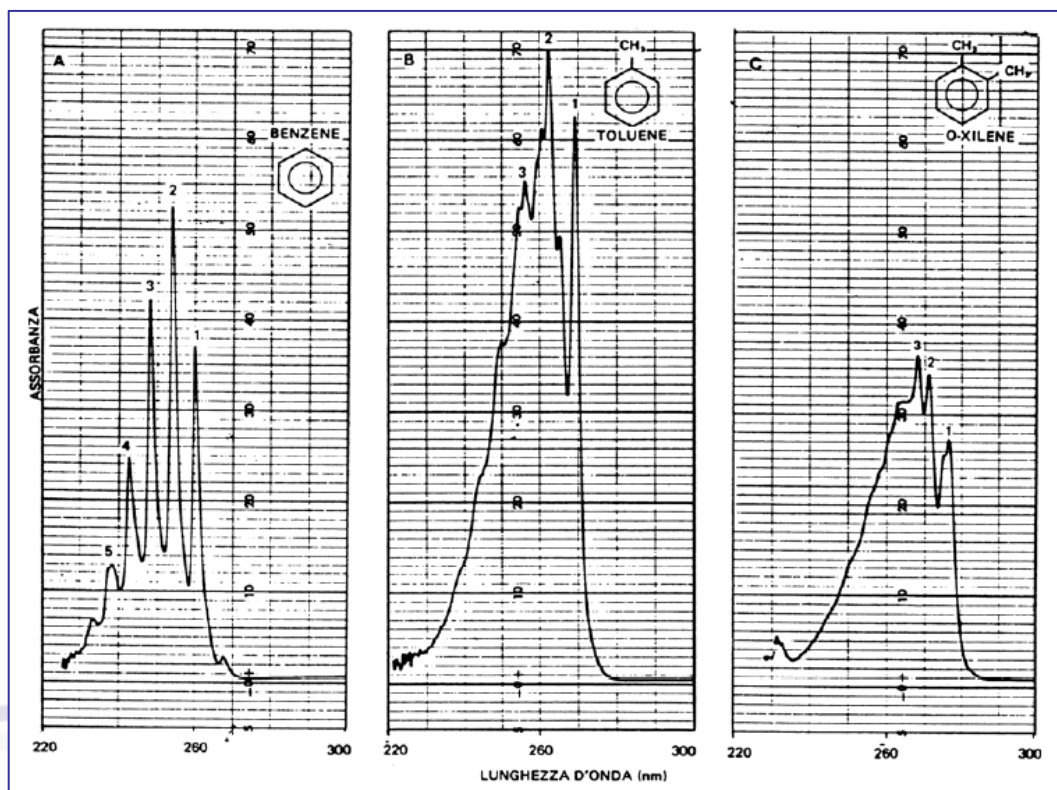


Gli spostamenti delle curve (effetti batocromo, ipsocromo, ipercromico e ipocromico) saranno dovuti perlopiù da fattori come:

- **estensione della coniugazione;**
- **solventi** (i solventi polari interagiscono con gli elettroni n abbassandone il livello energetico: es. legame idrogeno);
- **pH:** Le molecole a natura acida o basica sono influenzate dal pH della soluzione (acquosa); se si trovano in forma ionizzata, le bande di assorbimento risulteranno spostate rispetto la forma non ionizzata.

○ Es. su banda B:

Una delle bande di maggior interesse è quella benzenoide: B sopra i 200 nm. Essa infatti appartiene a tutti i sistemi aromatici (i più comuni in chimica organica) ed è fortemente influenzata dal tipo e numero di sostituenti presenti su di esso. Ad Es. confrontiamo gli spettri del benzene (banda B= 254 nm) con quello del toluene e dello xilene:

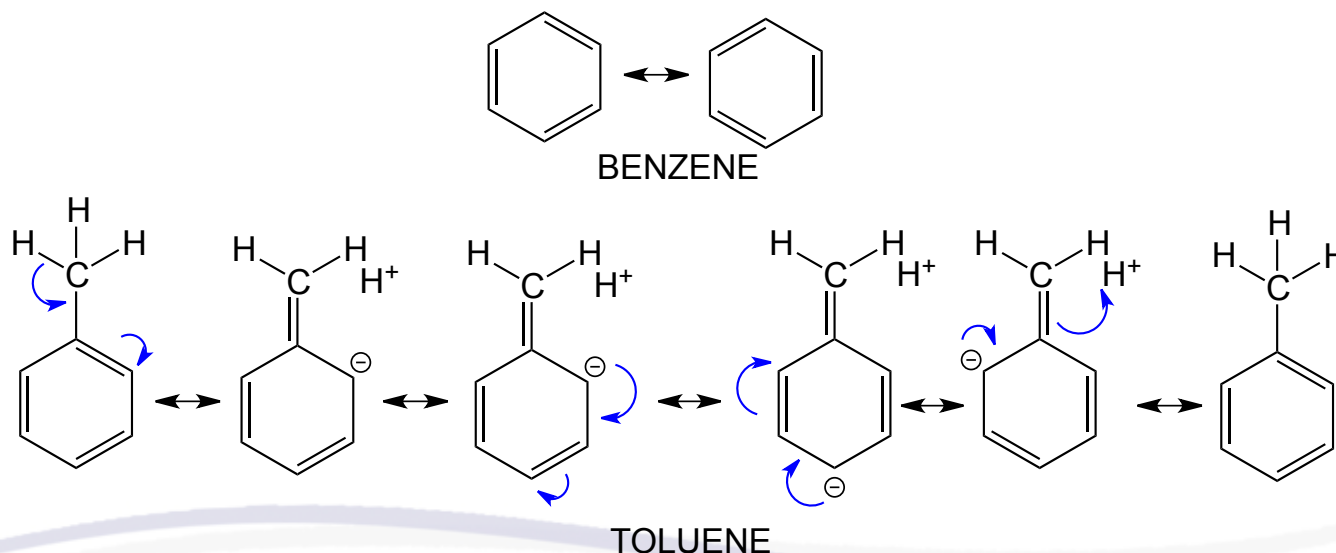


Dalla figura si evince che rispetto al benzene ($\lambda_{\text{max}} = 254 \text{ nm}$), la banda B del toluene shifta (si sposta) verso energie minori ($\lambda_{\text{max}} = 261 \text{ nm}$) e quella dello xilene ancora di più ($\lambda_{\text{max}} = 265 \text{ nm}$).

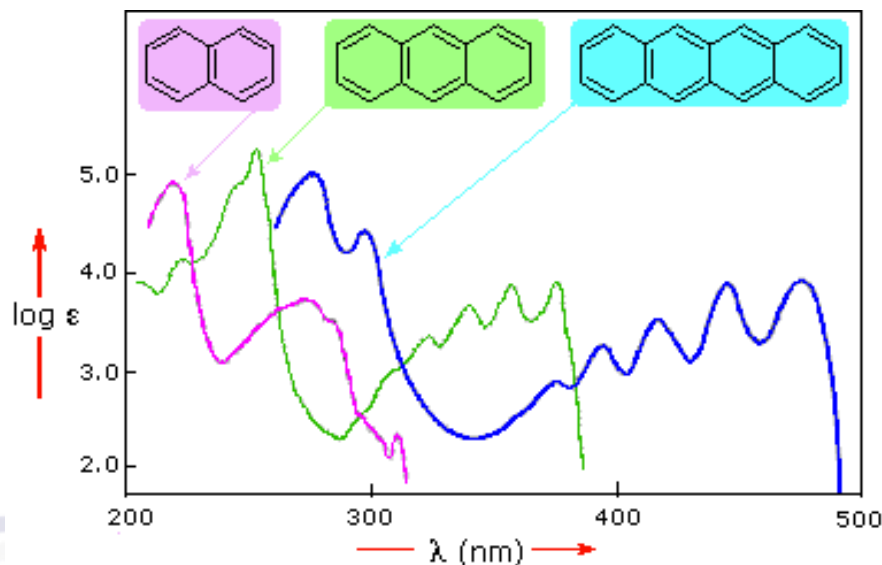
Anche se si tratta di spostamenti minimi, sono comunque rilevati dallo strumento e discriminati, per cui utili!

Questo red-shift è spiegato da una iperconiugazione degli elettroni σ dei legami C-H alchilici che partecipano alla risonanza dell'anello delocalizzando ulteriormente il sistema aromatico.

Viene, inoltre, a perdersi la struttura fine del benzene (le classiche 5 dita) dovuta ad una perdita di simmetria da parte dell'anello del benzene.



Il benzene mostra un assorbimento molto forte della luce vicino a 180 nm ($\epsilon > 65.000$), un più debole assorbimento a 200 nm ($\epsilon = 8.000$) ed un gruppo di molte bande ancora più deboli a 254 nm ($\epsilon = 240$). La coniugazione addizionale nel naftalene, nell'antracene e nel tetracene, causa uno spostamento batocromico di queste bande di assorbimento, come presentato nel diagramma sotto a sinistra. Non tutti gli assorbimenti sono spostati della stessa quantità, per cui il debole assorbimento dell'antracene (nella finestra con fondo verde) e del tetracene (finestra con fondo blu) viene oscurato dalle bande più ampie soggette ad uno spostamento verso il rosso più accentuato. Come si potrebbe prevedere da questi spettri, il naftalene e l'antracene sono incolori, mentre il tetracene è **arancione**.

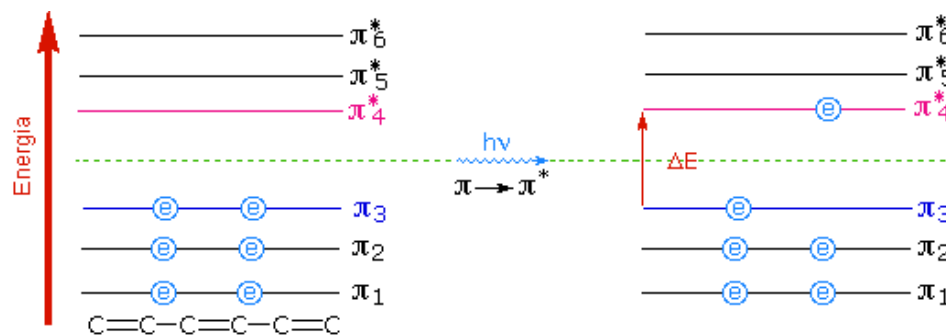
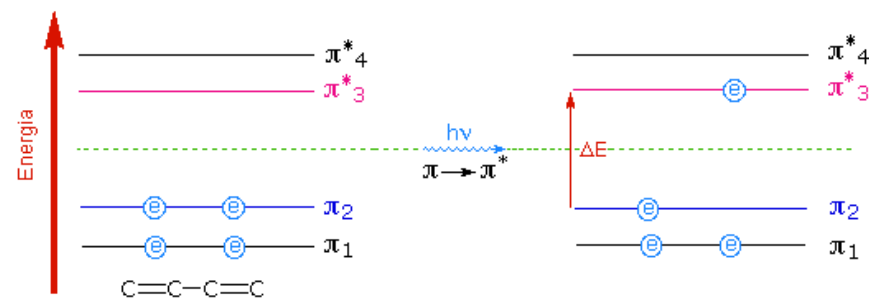
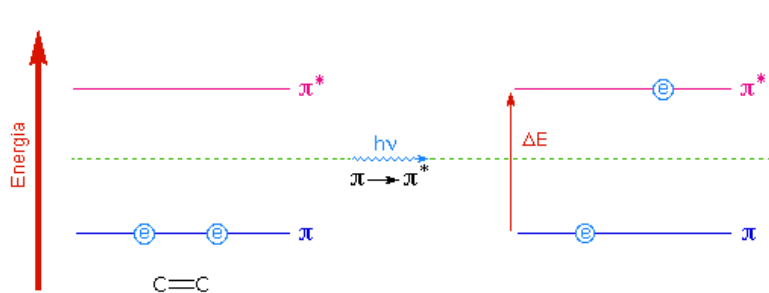


- Estensione della coniugazione:

- Es. su banda K:

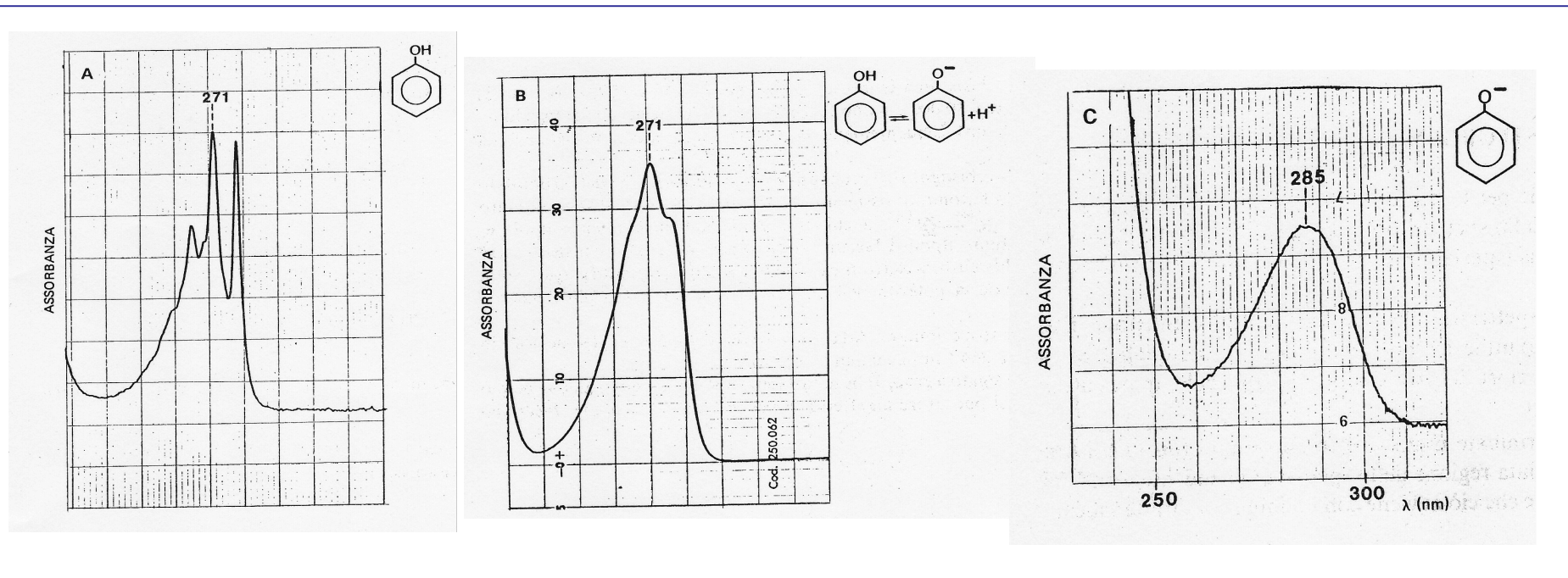
Passando da sostanze con doppi legami semplici (alcheni) a sostanze con doppi legami coniugati (dieni e polieni), si ha un aumento della delocalizzazione elettronica per estensione della coniugazione, con conseguente abbassamento dell'energia richiesta per la transizione $\pi \rightarrow \pi^*$ e, quindi, assorbimenti a λ_{\max} maggiori.

Es. etilene: $\lambda_{\max} = 165\text{nm}$; 1,3-butadiene: $\lambda_{\max} = 217\text{ nm}$.



- Effetto del solvente:

Vediamo come influisce il solvente sulla banda B del fenolo:



A) Fenolo in n-pentano (assenza legami-H; $\lambda_{\max} = 271 \text{ nm}$)

B) Fenolo in H₂O (presenza di leg-H; $\lambda_{\max} = 271 \text{ nm}$)

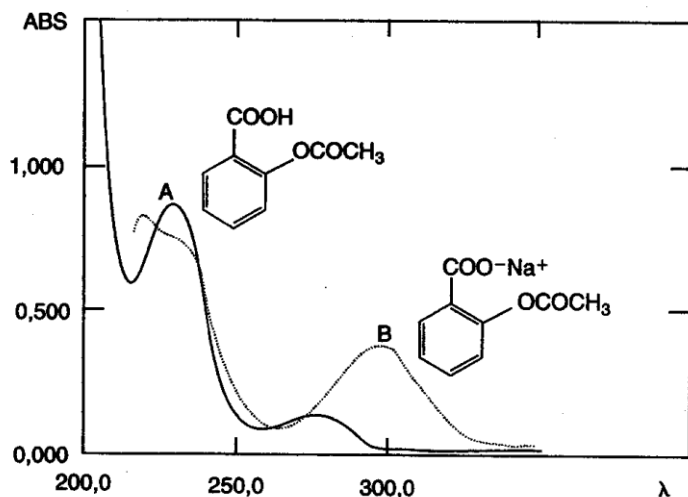
C) Fenolo in NaOH (forma anionica; $\lambda_{\max} = 285 \text{ nm}$)

Si nota un effetto batocromo ed ipocromico dovuto al solvente (A: inerte; B: partecipa al leg.-H quindi perdita di risoluzione; C: produzione ioni fenato e accentuata delocalizzazione elettronica con aumento della λ_{\max} di assorbimento).

- Effetto del pH:

Es. Spettro UV-Vis dell'ac. Acetilsalicilico e della benzocaina a diversi pH.

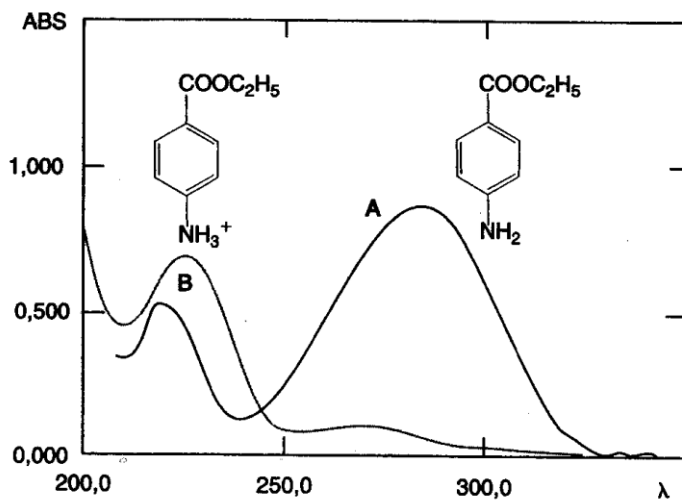
Fig. - Spettro UV dell'Aspirina. Curva A (linea continua): soluzione 10^{-4} M in HCl 0,1M. Curva B (linea puntinata): soluzione 10^{-4} M in NaOH 0,1 M.



Batocromo+ipercromico

Aumento della coniugazione

Fig. - Spettro UV della Benzocaina. Curva A (linea continua): soluzione $5 \cdot 10^{-5}$ M in NaOH 0,1M. Curva B (linea puntinata): soluzione $5 \cdot 10^{-5}$ M in HCl 0,1 M.



Ipsocromo+ipocromico

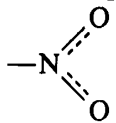
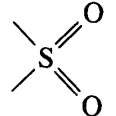
Minor coniugazione

In generale:

- ✓ Sostituenti alchilici: effetto batocromo (red-shift): spostamento verso λ maggiori;
- ✓ Coniugazione con altri anelli o doppi legami: batocromo per aumento delocalizzazione elettronica;
- ✓ Sostituenti con doppietti di non legame (-OH, -NH₂,...): effetto ipercromico (aumento di ϵ);

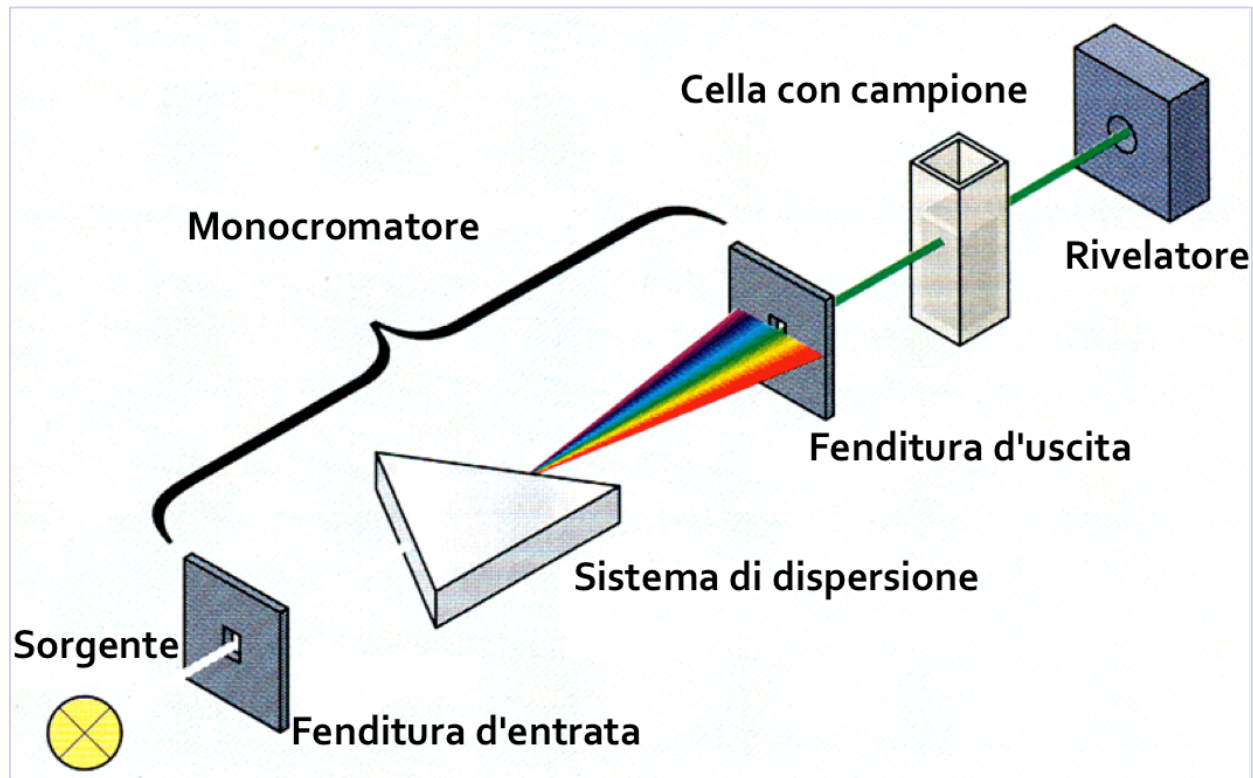
1. *Composti contenenti elettroni*

Cromofori singoli assorbono nel lontano UV e non nel vicino UV (solo assorbimento di bassa intensità)

| Chromophoric Group | System | Example | λ_{\max} (nm) | ϵ_{\max} | Transition | Solvent |
|--------------------|---|-----------------------------|-----------------------|-------------------|-------------------------|------------------|
| Ethylenic | $\text{RCH}=\text{CHR}$ | Ethylene | 165 | 15,000 | $\pi \rightarrow \pi^*$ | Vapor |
| Acetylenic | $\text{R}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{R}$ | Acetylene | 193 | 10,000 | $\pi \rightarrow \pi^*$ | Vapor |
| Carbonyl | $\text{RR}_1\text{C}=\text{O}$ | Acetone | 173 | 6,000 | $\pi \rightarrow \pi^*$ | Vapor |
| | | | 188 | 900 | $\pi \rightarrow \pi^*$ | <i>n</i> -Hexane |
| | | | 279 | 15 | $n \rightarrow \pi^*$ | |
| Carbonyl | $\text{RHC}=\text{O}$ | Acetaldehyde | 290 | 16 | $n \rightarrow \pi^*$ | Heptane |
| Carboxyl | RCOOH | Acetic acid | 204 | 60 | $n \rightarrow \pi^*$ | Water |
| Amido | RCONH_2 | Acetamide | <208 | | $n \rightarrow \pi^*$ | |
| Azomethine | $>\text{C}=\text{N}-$ | Acetoxime | 190 | 5,000 | $\pi \rightarrow \pi^*$ | Water |
| Nitrile | $-\text{C}\equiv\text{N}$ | Acetonitrile | <160 | | $\pi \rightarrow \pi^*$ | |
| Azo | $-\text{N}=\text{N}-$ | Azomethane | 347 | 4.5 | $n \rightarrow \pi^*$ | Dioxane |
| Nitroso | $-\text{N}=\text{O}$ | Nitrosobutane | 300 | 100 | | Ether |
| | | | 665 | 20 | | |
| Nitrate | $-\text{ONO}_2$ | Ethyl nitrate | 270 | 12 | $n \rightarrow \pi^*$ | Dioxane |
| Nitro |  | Nitromethane | 271 | 18.6 | $n \rightarrow \pi^*$ | Alcohol |
| | | | | | | |
| Nitrite | $-\text{ONO}$ | Amyl nitrite | 218.5 | 1,120 | $\pi \rightarrow \pi^*$ | Petroleum ether |
| | | | 346.5 ^a | | $n \rightarrow \pi^*$ | |
| Sulfoxide | $\text{S}=\text{O}$ | Cyclohexyl methyl sulfoxide | 210 | 1,500 | | Alcohol |
| Sulfone |  | Dimethyl sulfone | <180 | | | |

STRUMENTAZIONE

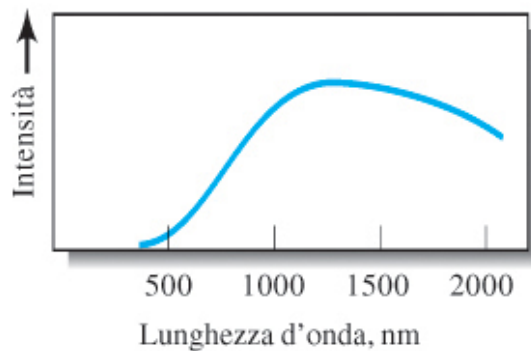
Uno spettrofotometro UV-Vis è schematicamente così formato:



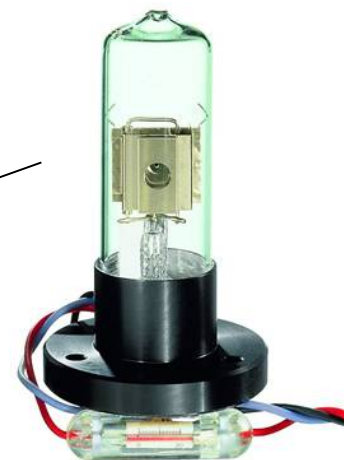
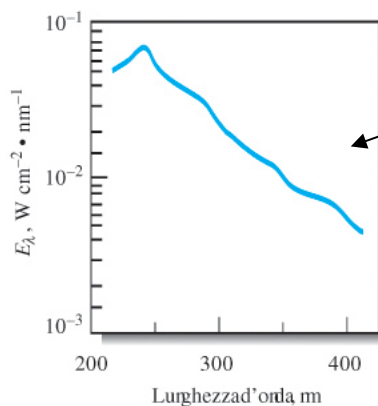
Sorgente

Si tratta di lampade che emettono spettri in continuo (non a righe come nell'AAS) e si dividono in lampade al tungsteno-alogeni che coprono la zona del visibile (200-1000 nm), e quelle al deuterio per l'UV (160-375 nm).

- ❖ regione del **visibile**. Si usano lampade a incandescenza come quelle a filamento di tungsteno. Coprono l'intervallo di lunghezza d'onda da 930 a 330 nm
- ❖ regione dell' **UV**. Si usano lampade al deuterio. Si tratta di lampade ad arco in cui il bulbo di quarzo è riempito di deuterio che, eccitato, emette uno spettro continuo di radiazioni al di sotto di 400nm.



Lampada al tungsteno



Lampada al D2

Monocromatore

Già visti per l'AAS si tratta di un sistema che racchiude tra due fenditure il vero e proprio monocromatore che può essere del tipo:

- *a filtri* (ad assorbimento o ad interferenza), che danno bande passanti poco strette (30-250 nm per i primi e 45-100 nm i secondi) e permettono di misurare l'assorbanza ad una lunghezza d'onda alla volta (oppure devono esserci più filtri in serie); gli strumenti che li utilizzano sono detti fotometri o colorimetri (utilizzati per analisi quantitative).
- *prisma o reticolo (vedi inizio)*, che permettono di selezionare bande strette e permettono di effettuare una scansione dello spettro in continuo passando da 200 a 800 nm senza interruzione (per spettrofotometri).

Cella portacampione

Si tratta di *cuvette* di forma rettangolare con lato di 10 mm, assicurando così un cammino ottico (b) = 1 cm. Le più versatili ma anche più costose sono quelle in quarzo in quanto trasparenti sia nell'UV che nel visibile. Le cuvette di vetro o plastica non sono trasparenti sotto i 300 nm e quindi utilizzabili solo per il visibile.



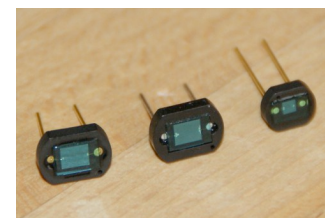
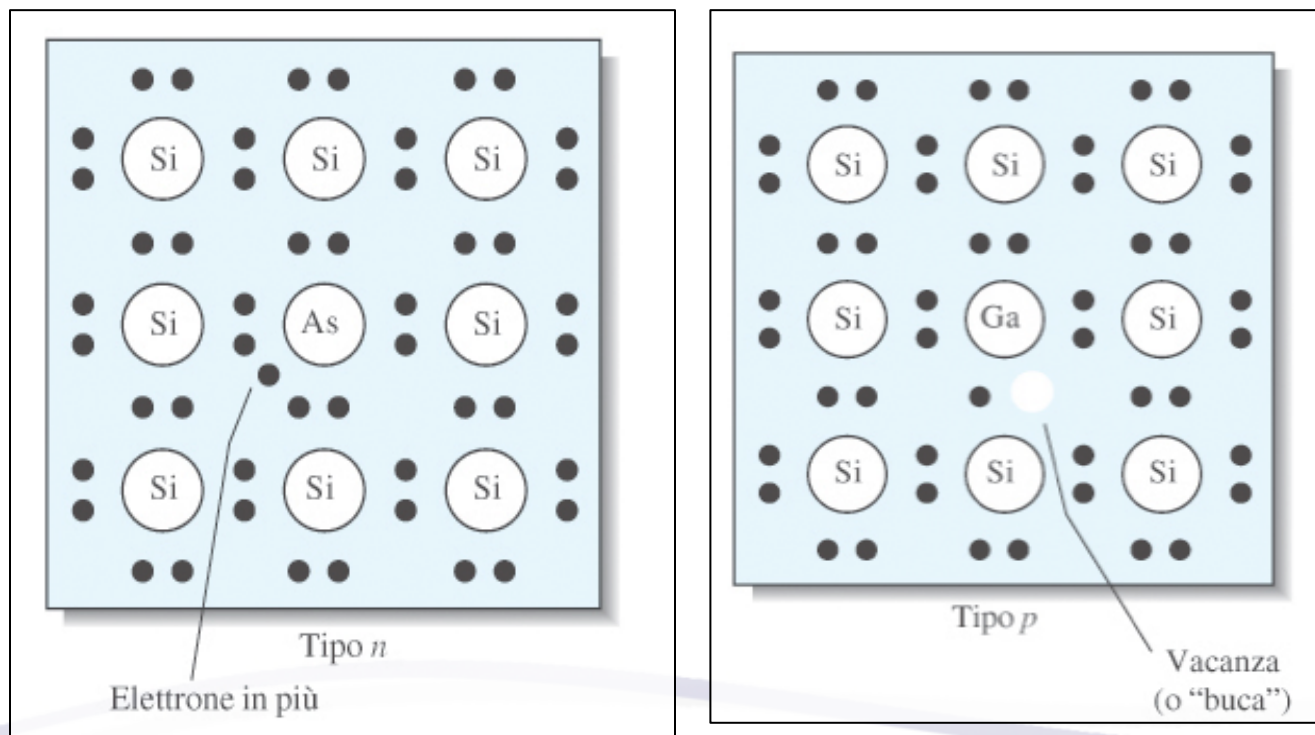
Rivelatori

I rivelatori trasformano l'energia radiante in segnale elettrico. Ne esistono di vari tipi:

- 1) **Celle fotovoltaiche e celle fotoconduttive:** differiscono per il modo in cui il semiconduttore è inserito nel circuito elettrico. Lavorano in un intervallo di 400-750 nm; avendo bassa sensibilità, essa è compensata dalla energia relativamente grande trasmessa dalla ampia banda passante. Altri inconvenienti sono la lentezza di risposta e la tendenza all'attenuazione del segnale.
- 2) **Fototubi:** sono realizzati inserendo due elettrodi opportuni all'interno di una ampolla mantenuta sotto vuoto. Essi coprono tutto l'intervallo del UV/VIS. Funzionano in base al principio dell'effetto fotoelettrico, cioè l'emissione di elettroni dalla superficie di alcuni materiali cui sia applicata una d.d.p.
- 3) **Fotomoltiplicatori:** hanno una sensibilità maggiore rispetto ai fototubi. Gli elettroni emessi dal catodo vengono accelerato da un campo elettrico e quindi acquistano energia; se colpiscono altre superficie elettronicamente attive (dinodi) liberano un numero di elettroni più grande di quello iniziale. Questo produzione di elettroni è l'effetto fotoelettrico secondario.

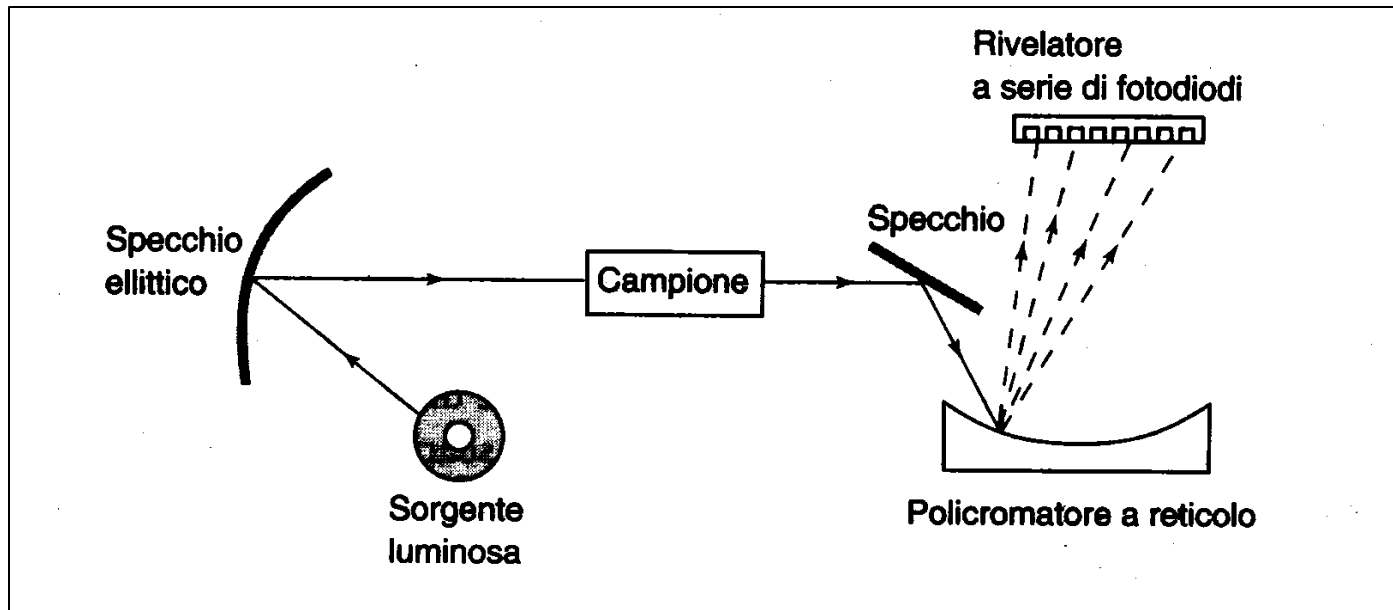
4) Fotodiodi (DAD: Diode Array Detector)

Il silicio cristallino è un semiconduttore (conducibilità elettrica intermedia tra quella di un metallo e di un isolante) 4 e di valenza 4 legami covalenti. A T ambiente, l'energia è sufficiente a liberare un e dallo stato di legame (formazione carica positiva o buca). La conduzione comporta lo spostamento di e e buche in direzioni opposte. La conducibilità è aumentata per aggiunta di piccole q-tà di un elemento del V gruppo (Arsenico, 5 e di valenza) o del III gruppo (Gallio, 3 e di valenza) doping



È possibile affiancare su un singolo chip 1000 o più diodi di silicio (larghezza di un diodo 0.02 mm) rivelatori in serie di diodi (DAD= Diode Array Detector).

In tali detector la piastra di diodi è posta sul piano focale del monocromatore in modo che ogni radiazione a diversa lunghezza d'onda colpisca un singolo diodo. Si ottiene la registrazione contemporanea di tutte le assorbanze alle diverse lunghezze d'onda simultanea acquisizione dello spettro



SISTEMA DI ELABORAZIONE E PRESENTAZIONE DEI DATI

Il segnale proveniente dal rivelatore viene opportunamente amplificato e un amperometro ne rileva l'intensità.

Il lettore converte quindi il segnale elettrico in un valore numerico proporzionale all'intensità del segnale, e questo valore va da 0 a 100.

Ponendo pari a 100 il valore del segnale in assenza del campione, otteniamo la trasmittanza e da questa l'assorbanza tramite la relazione già vista:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

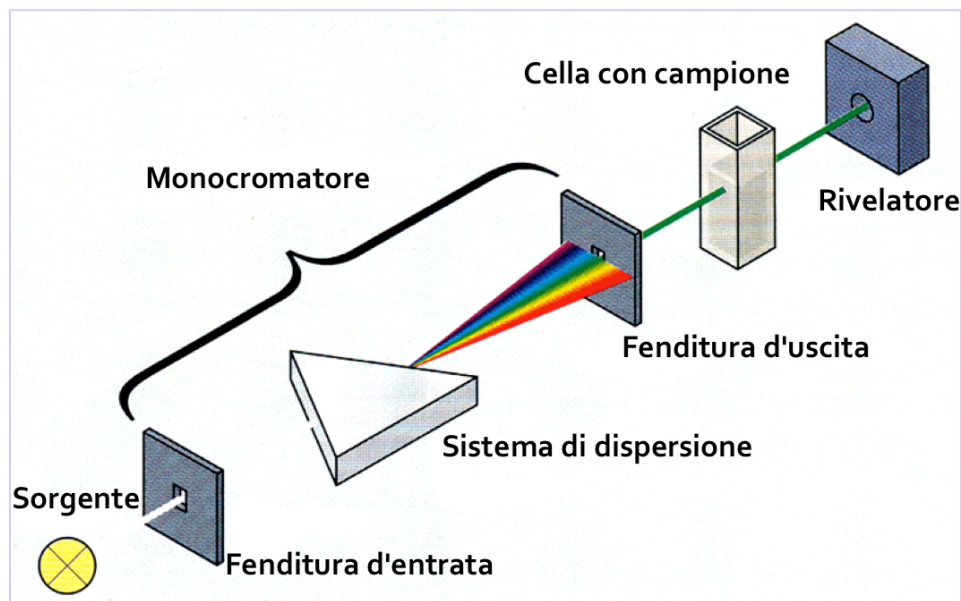
$$A = \log \frac{1}{T} = \log \frac{I_0}{I}$$

Esistono diversi tipi di spettrofotometro, a seconda di come sono organizzate le varie componenti:

- Spettrofotometri **monoraggio**
- Spettrofotometri **a doppio raggio**
- Spettrofotometro **a serie di diodi** (solo UV-Vis)
- Spettrofotometro **in trasformata di Fourier** (solo IR)

- Gli **SPETTROFOTOMETRI MONORAGGIO**, sono usati prevalentemente in analisi quantitativa e non sono comodi per ottenere spettri di assorbimento.

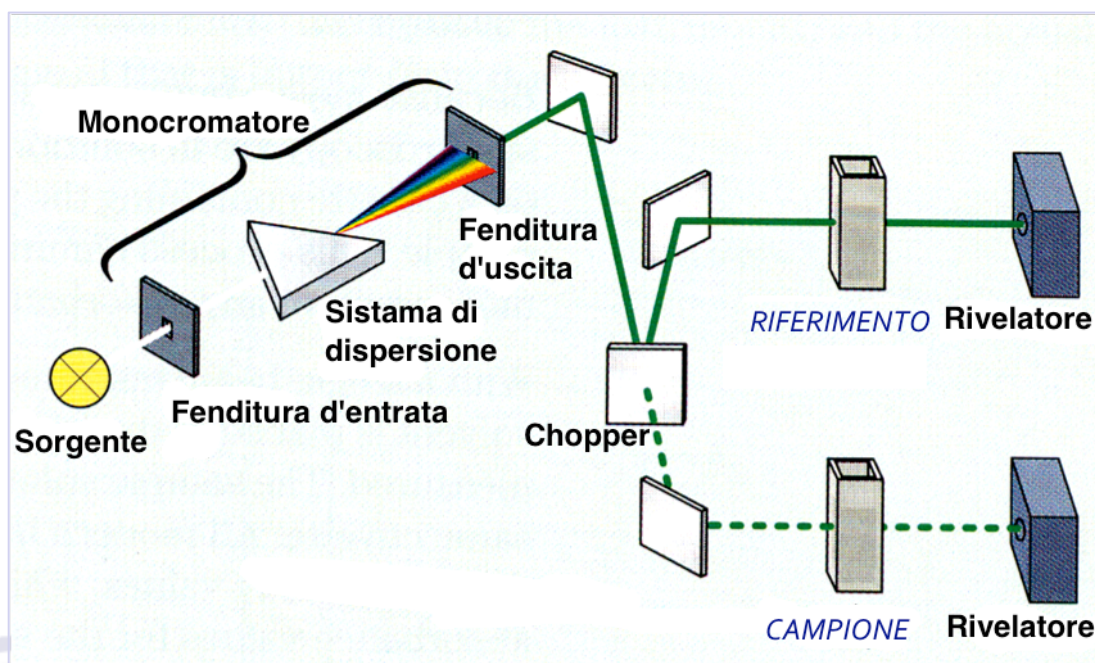
La difficoltà sta nel fatto che ***per ogni misura, per ogni λ , si deve ripetere l'azzeramento contro il bianco***, oppure registrare prima lo spettro del bianco, poi lo spettro del campione ed infine sottrarre al secondo il primo (procedura che può risultare macchinosa). Sono detti COLORIMETRI.



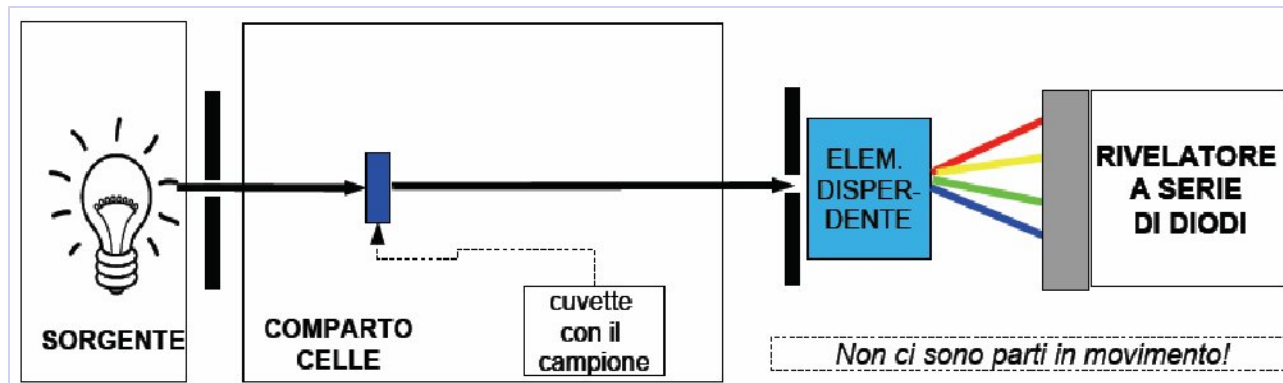
- Negli **SPETTROFOTOMETRI A DOPPIO RAGGIO** si ha invece un sistema che invia due raggi, identici per frequenza e intensità, uno attraverso il campione e l'altro attraverso il bianco, per cui si ha un confronto continuo tra l'assorbanza del campione e quella del bianco.

Grazie a queste caratteristiche è possibile effettuare misure direttamente a qualsiasi λ senza ripetere azzeramenti, e soprattutto registrare continuamente lo spettro di assorbimento (fondamentale ai fini qualitativi).

Per questo motivo il doppio raggio è preferito per le applicazioni qualitative sia in UV che in IR.



- Esistono poi **strumenti UV-visibile a serie di diodi**, in cui il rivelatore è costituito da un chip con centinaia di fotodiodi allineati, ognuno dei quali misura la particolare banda di radiazione inviataagli dall'elemento disperdente.



Tali strumenti non hanno una risoluzione elevata, ma presentano però una caratteristica notevole:

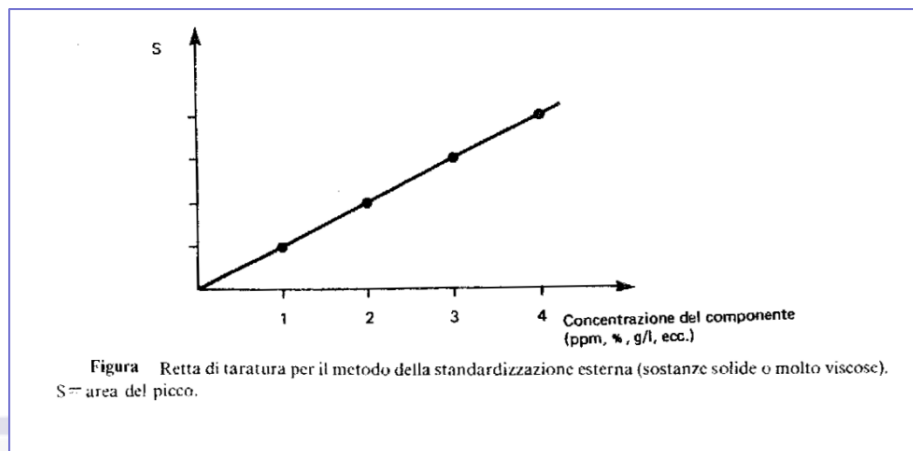
registrano simultaneamente (in 1/10 di secondo) tutto lo spettro (non ci sono parti in movimento che inviano le λ un po' per volta); grazie a questo sono adatti ad essere collegati all'uscita di strumenti di separazione di miscugli (tipo HPLC) in modo da registrare in tempo reale, secondo per secondo, l'intero spettro della miscela in uscita.

Determinazione di un analita con la tecnica della spettrofotometria UV-Vis

Dopo aver scelto il metodo di analisi da adottare per un determinato analita (analisi diretta o con sviluppo), si procede alla analisi quali-quantitativa del campione da analizzare.

Si eseguirà sempre un'analisi con uno standard di riferimento (analita che si desidera ricercare e/o dosare) e si opererà a più concentrazioni per effettuare una retta di taratura ai fini dell'analisi quantitativa (metodi già visti in precedenza).

Una volta scelta la λ e definiti i parametri caratteristici dell'analisi, si procede alla costruzione della retta di taratura con 5-8 valori di concentrazione differenti della soluzione standard e riportando in grafico contro i rispettivi valori di assorbanza registrati. Si considera valido il segmento rettilineo entro il quale ha valore la legge di Lambert-Beer.



Si esegue l'analisi del campione e si ricava graficamente il valore di concentrazione dalla retta di taratura in base all'equazione:

$$C_c = \frac{A_c}{A_{st}} \cdot C_{st}$$

Cc= conc. Campione

Cst= conc. Standard

Ac= assorbanza campione

Ast= assorbanza standard

I metodi di per effettuare le rette di taratura più utilizzati sono:

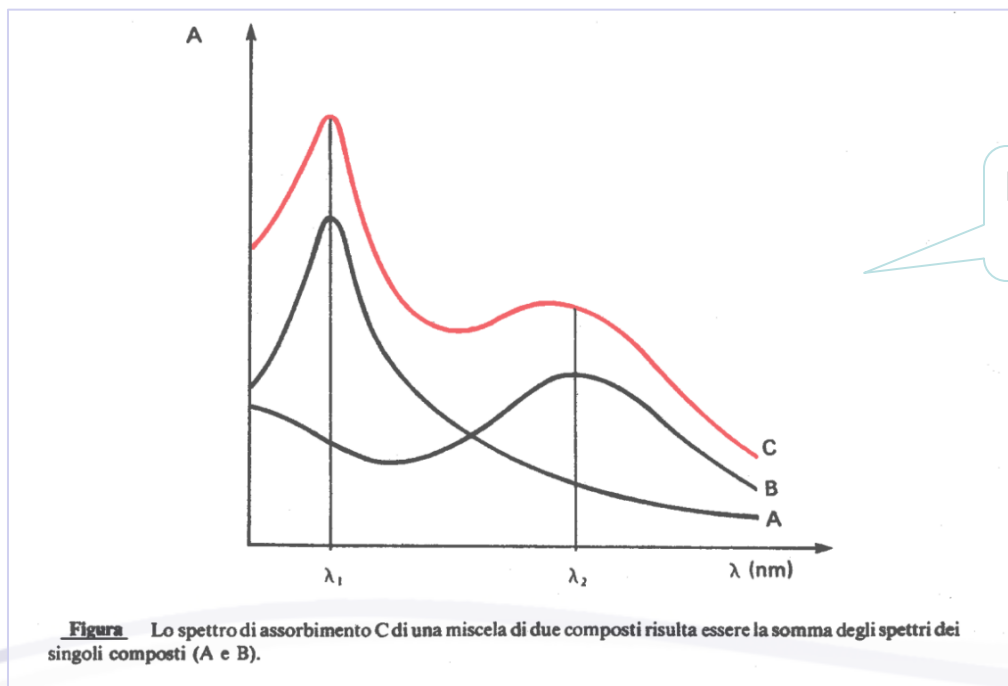
- Standard esterno;
- Standard interno;
- Metodo delle aggiunte.

N.B. Prima di effettuare la curva di calibrazione o di applicare il metodo delle aggiunte è necessario analizzare il **BIANCO!**

Proprietà addittiva delle soluzioni e metodi indiretti d'analisi

Molto spesso bisogna analizzare campioni nei quali due o più specie chimiche (non interagenti fra loro) assorbono nella medesima regione dello spettro, e ciò che si registra risulta essere la somma dei singoli spettri relativi alle specie chimiche allo stato puro; dunque l'assorbanza totale sarà:


$$A_{\text{tot.}} = \sum_{i=1}^n A_i = \sum_{i=1}^n \epsilon_{\lambda}^i \cdot b \cdot c_i$$



Proprietà addittiva delle
soluzioni

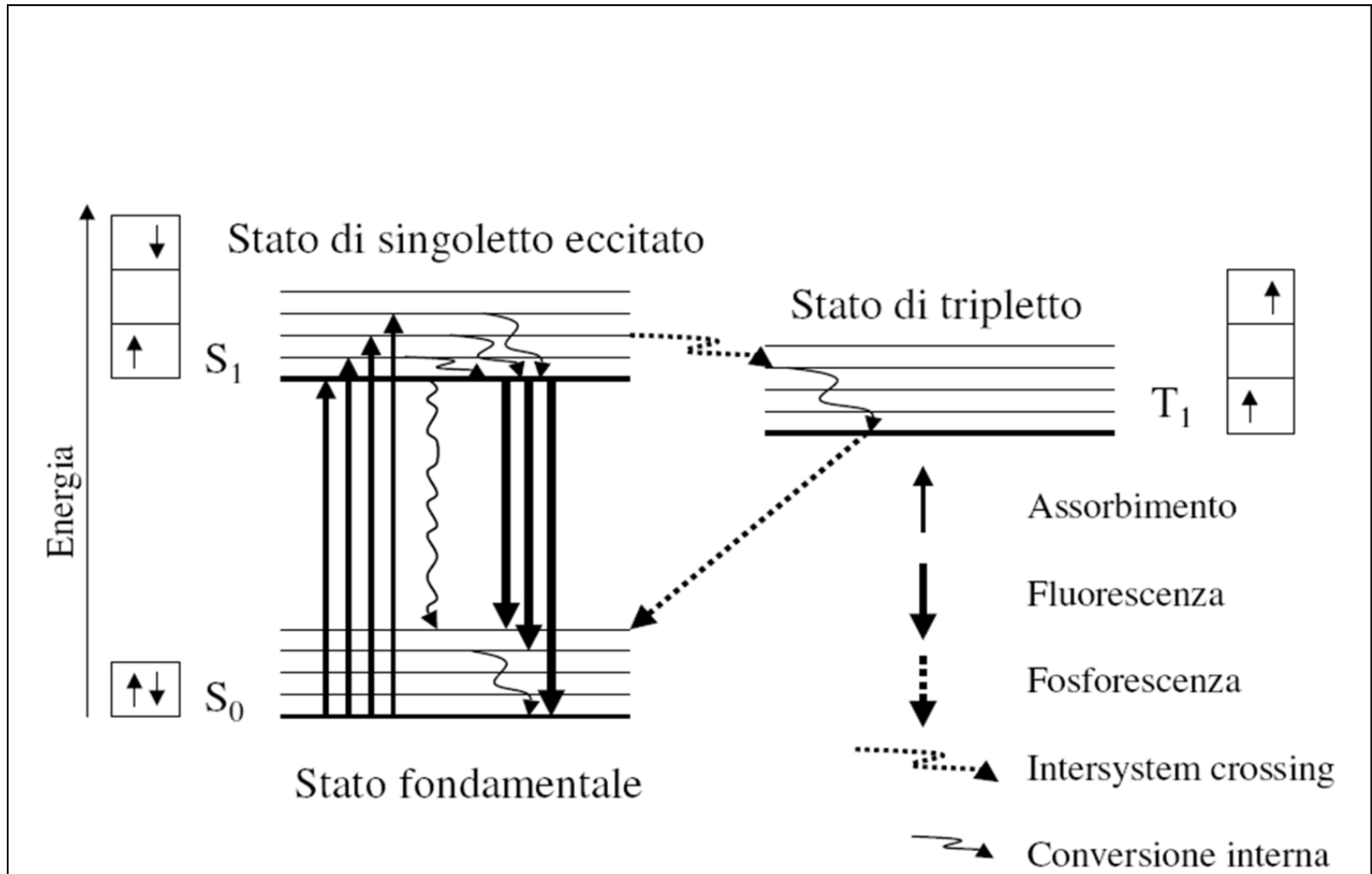
LUMINESCENZA

- ✧ E' un fenomeno di riemissione de energia, da parte delle molecole, sottoforma di radiazione elettromagnetica (emissione radiativa).
- ✧ Può avvenire dopo assorbimento di energia in vari modi, per cui si distinguono in:



| TIPO DI LUMINESCENZA | CAUSA |
|--|--|
| FOTOLUMINESCENZA (Fluorescenza-Fosforescenza) | Assorbimento UV-Vis |
| CHEMILUMINESCENZA | Reazione chimica-catalizzata |
| BIOLUMINESCENZA | Reazione enzimatica in sistemi biologici vivi (es. lucciole) |
| ELETTROLUMINESCENZA | Reazione elettrica con gas ionizzato |
| RADIOLUMINESCENZA | Reazione radioattiva nel fosforo |

Le Transizioni Elettroniche (diagramma di Jablonsky)



SPETTROSCOPIA DI FLUORESCENZA (Fluorimetria)

La spettroscopia di fluorescenza è una tecnica legata alla spettroscopia UV-Vis. qualora si tratta di molecole, oppure è legata all'assorbimento atomico se coinvolge gli atomi.

Il fenomeno della fluorescenza (diagramma di Jablonsky) è spiegato come una emissione di energia assorbita sotto forma radiante mantenendo lo stesso stato di spin (stessa molteplicità); cioè da uno stato di singoletto eccitato (S_2) si passa ad uno intermedio (S_1) e poi al ritorno allo stato fondamentale conservando lo spin (S_0).

La radiazione emessa possiederà un'energia minore (λ maggiore di quella assorbita). Se invece la molecola (o l'atomo) dissipa una parte dell'energia acquisita in calore ma con cambiamento di molteplicità di spin (stato di tripletto; T_1), allora l'energia emessa sarà di fosforescenza, con tempi di emivita più lunghi (da 10^{-3} sec. a qualche minuto) e λ di emissione maggiori rispetto alla fluorescenza, a causa di un minore probabilità di interconversione dello spin rispetto al meccanismo di conservazione (conversione interna); l'emissione perdurerà anche a termine dell'eccitazione.

Fluorescenza e fosforescenza sono fenomeni che vanno sotto il nome comune di
LUMINESCENZA

A differenza dell'AAS, in cui si determina sempre un rapporto fra due intensità luminose (I/I_0), la fluorimetria costituisce un metodo diretto per la misura della quantità di energia assorbita (o emessa).

La relazione fondamentale che definisce l'intensità della fluorescenza emessa da soluzioni diluite, paragonabile alla Lambert-Beer dell'assorbimento, è la seguente:

$$F = I_0 \cdot \varepsilon \cdot c \cdot b \cdot \Phi$$

F = n° tot. Fotoni; cioè intensità di fluorescenza emessa in tutte le direzioni (quanti/sec);

I_0 = intensità della luce eccitante (quanti/sec);

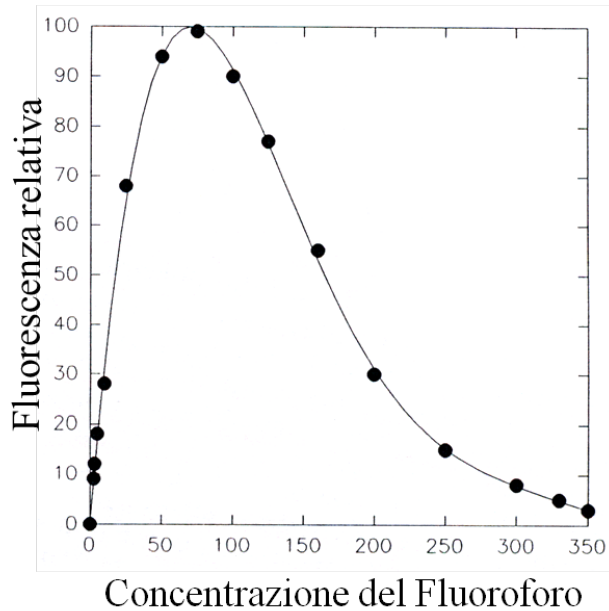
ε = coeff. di assorbimento molare (ricavato da altre misure spettrofotometriche);

c = concentrazione sostanza fluorescente;

b = cammino ottico;

Φ = efficienza quantica; rapporto tra i quanti assorbiti e quelli emessi. E' compresa tra 0 e 1 (intervengono altri processi non-radiativi che abbassano la resa quantica, come ad es. la Temperatura che aumenta la conversione interna e fa diminuire Φ).

Ci sarà, quindi, proporzionalità tra l'intensità di fluorescenza e la concentrazione della sostanza fluorescente. E' valida solo per soluzioni molto diluite.



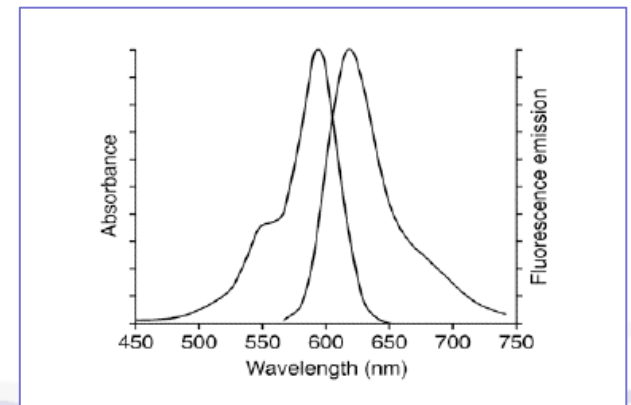
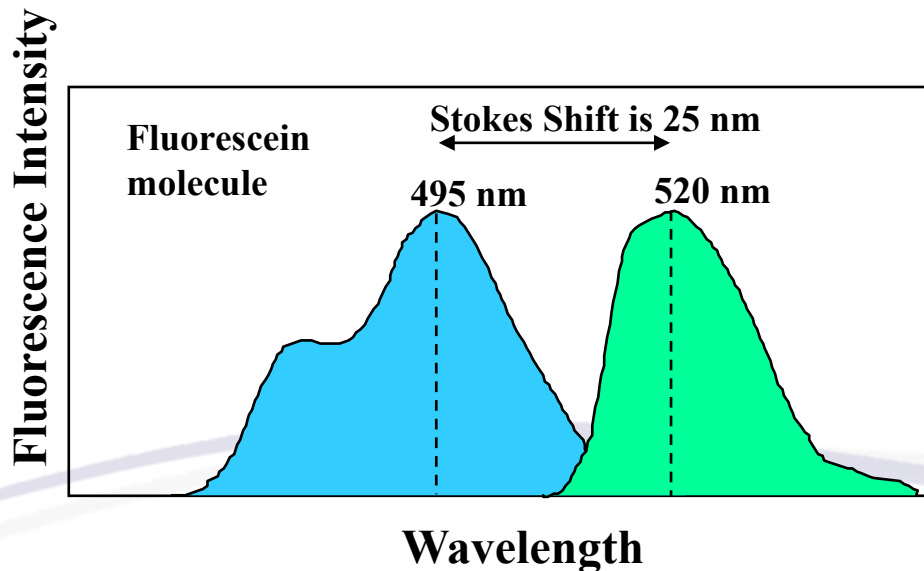
Le λ di emissione vanno dai 300 nm fino a >750 nm (infrarosso)

- La tecnica della *spettrofluorimetria* ha delle limitazioni:
 - consente solo una *misura relativa* della fluorescenza (dipende da intensità lampada, efficienza monocromatore, banda passante e sensibilità fotomoltiplicatore),
 - è *sensibile* al *pH*, alla *temperatura* ed alla *polarità del solvente*,
 - risente del fenomeno dello *smorzamento della fluorescenza* (quenching) per effetto dell'assorbimento da parte di altre molecole (O_2 , metalli) della soluzione,
 - ha la maggiore sensibilità ed accuratezza a *basse concentrazioni* per cui adatta al dosaggio di sostanze presenti in tracce nei campioni!!

La (foto)luminescenza, può avvenire per (foto)eccitazioni dovute ad assorbimento di una delle seguenti forme di energia radiante:

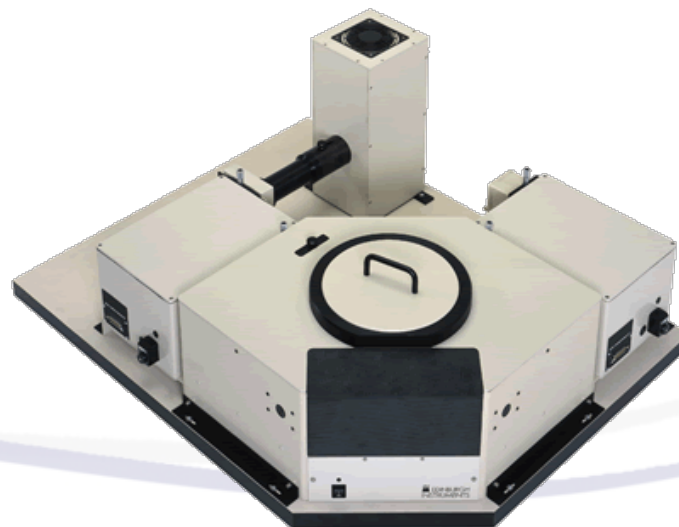
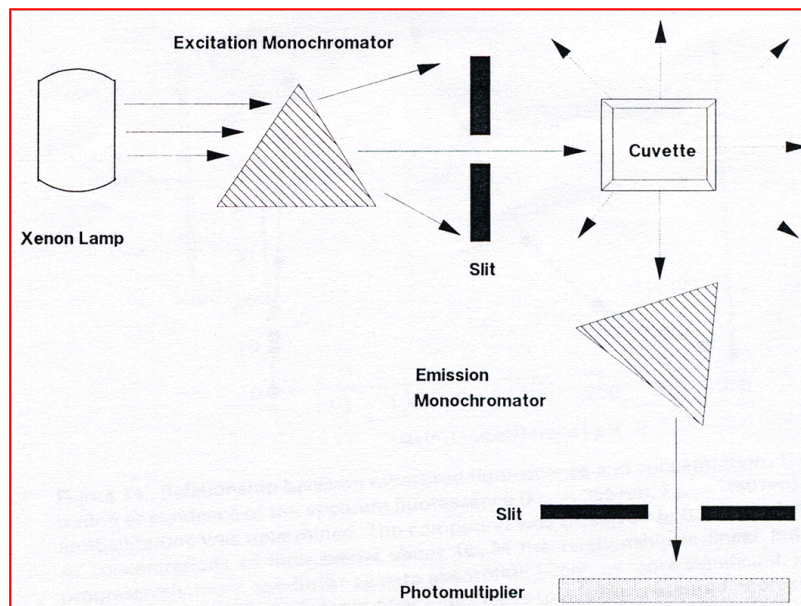
- Luce solare
- Radiazione visibile (inclusa luce ambientale)
- Radiazione UV
- Raggi X

Al contrario dell'AAS la tecnica spettrofluorimetrica implica la registrazione sia di uno spettro di eccitazione che di uno di emissione e gli strumenti sono chiamati spettrofluorimetri o spettrofosforimetri. La differenza di energia tra l'eccitazione e l'emissione è chiamata Stokes' shift.



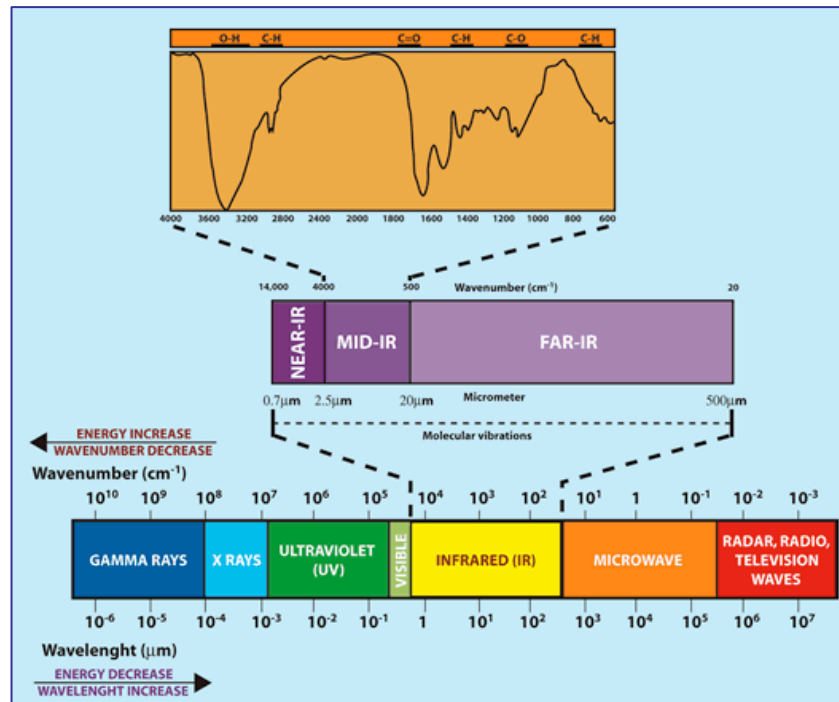
STRUMENTAZIONE

1. Sorgente
2. Monocromatore di Eccitazione (filtro o reticolo)
3. Cella portacampione
4. Monocromatore di emissione
5. Fotomoltiplicatore o fototubo
6. Registratore



SPETTROSCOPIA INFRAROSSA (IR)

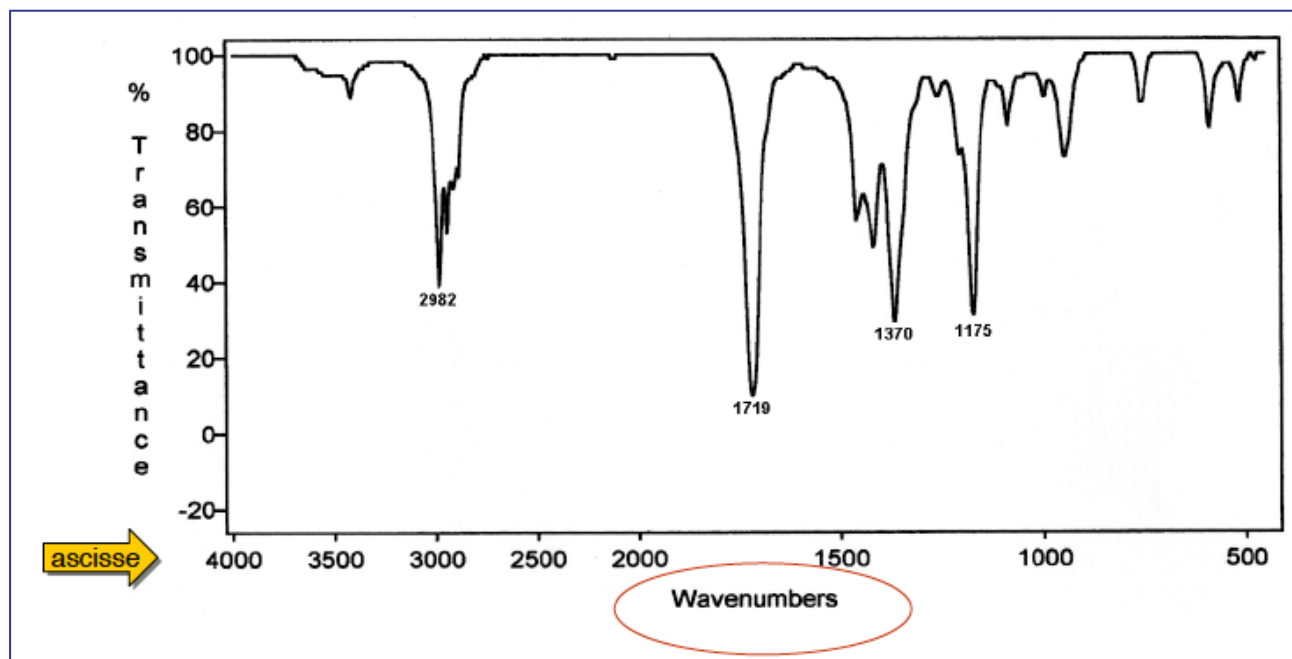
La spettroscopia (o spettrofotometria) IR riguarda lunghezze d'onda nel range 700 -4000 nm (vicino-medio infrarosso).



www.enco-journal.com

La spettroscopia IR è una tecnica analitica che permette la delucidazione della struttura molecolare determinando la presenza di legami e gruppi funzionali caratteristici.

Gli spettri IR, a differenza di quelli UV-Vis si presentano come tracciati con dei picchi (bande) rivolti verso il basso, in quanto si riporta la Trasmittanza (T%) della radiazione in funzione dei numeri d'onda ($\bar{\nu}$: indicato con cm^{-1}), più pratici da usare rispetto la frequenza (ν) in hertz viste le lunghezze d'onda (λ) basse.



Il numero d'onda è il reciproco della lunghezza d'onda:

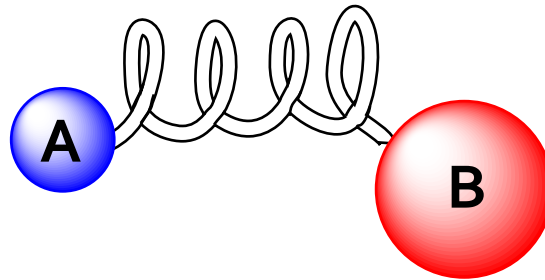
$$\bar{\nu} = 1/\lambda \quad (\text{espresso in } \text{cm}^{-1})$$

A differenza della spettroscopia UV-Vis, l'IR è **quasi esclusivamente un metodo analitico qualitativo e non quantitativo** che sfrutta radiazioni più deboli in grado di indurre variazioni di tipo vibro-rotazionale (e non transizioni!!) nella molecola. Tuttavia si potrebbe utilizzare la legge di Lambert-Beer ($A = \epsilon bc$) a fini quantitativi misurando l'intensità di una banda che, però, dev'essere regolare, simmetrica e intensa (tra il 40 e l'80% di T) e libera da interferenze e, soprattutto, riproducibile; si procede alla solita retta di taratura per poi interpolare la concentrazione incognita.

La condizione essenziale perciò che una molecola assorba una radiazione IR è che ci sia una variazione del momento dipolare $\mu = q \cdot d$. Ovvero che **il legame che unisce i due atomi deve essere polare!!** Si genera così un campo elettrico stazionario che interagirà con quello fornito dalla sorgente dello strumento (molecole come O_2 o N_2 non assorbono raggi IR in quanto simmetriche).

a. INTERPRETAZIONE “CLASSICA”

Si assume una molecola come insieme di oscillatori armonici; un legame chimico viene rappresentato come costituito da due masse (atomi) A e B unite da una molla di massa trascurabile.



Una perturbazione a queste due masse, lungo l'asse di legame, provoca una vibrazione chiamata **movimento armonico semplice** e vale la LEGGE DI HOOK:

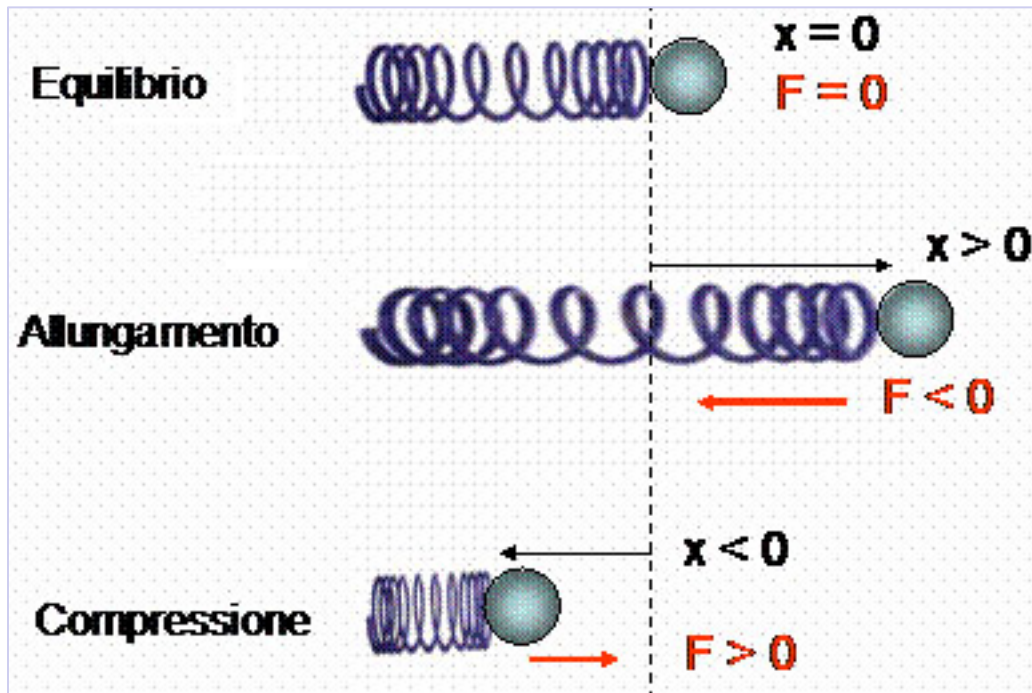
$$F = -K \cdot \chi$$

F= forza di richiamo (segno negativo)

K= costante di forza (dipende dalla molla)

χ = distanza dalla posizione di equilibrio

- La costante di forza dà la misura dell'energia del legame chimico;
- La forza di richiamo agisce in senso opposto all'elongazione e, quindi, avrà valore numerico negativo;
- Lo stiramento e l'elongazione dell'oscillatore saranno bilanciati dal ripristino delle condizioni di equilibrio.



FREQUENZA VIBRAZIONALE

Dalla legge di Hooke si ricava un'altra equazione che correla la forza elastica con l'energia coinvolta.

All'oscillazione armonica è associata una frequenza, ν , che dipenderà dalle masse degli atomi coinvolti e dalla costante di forza K .

Ovvero un'energia E :

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \cdot \sqrt{\frac{K}{\mu}}$$
$$\mu = \frac{m_A \cdot m_B}{m_A + m_B}$$

Massa ridotta

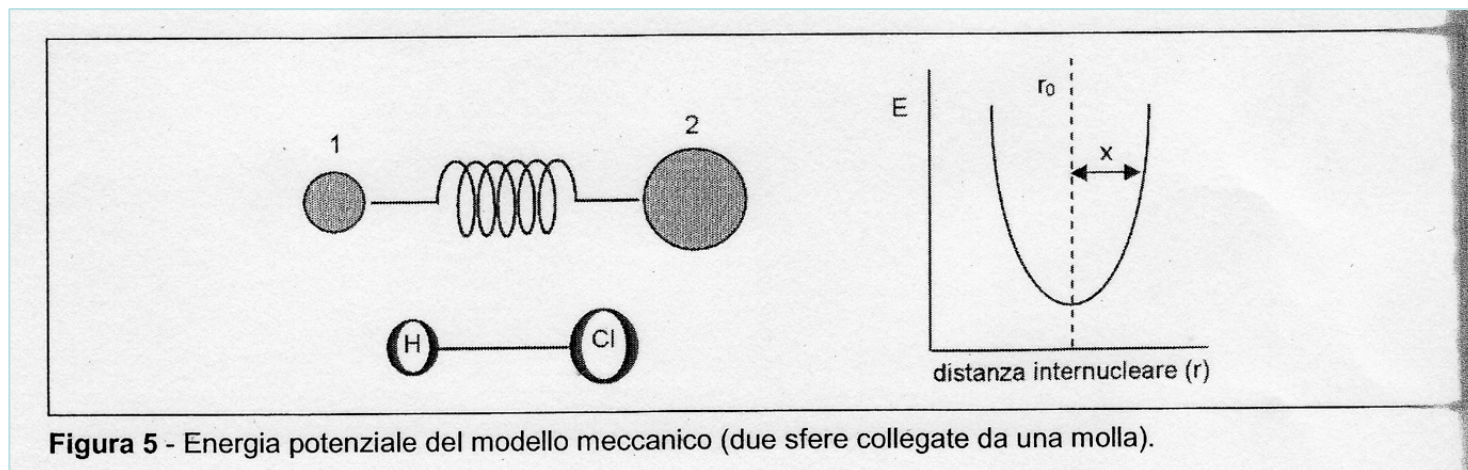
$$E = h\nu$$

$E \leftrightarrow \nu$

L'energia potenziale, associata ad un sistema di due atomi (sfere) che oscillano con moto semplicemente armonico, è data da:

$$E = \frac{1}{2}K \cdot \chi$$

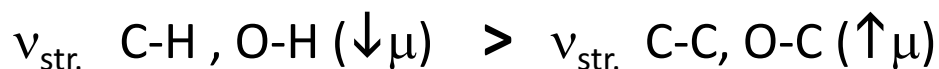
Graficamente, l'equazione dell'En. Potenziale corrisponde a una parabola il cui punto di minimo corrisponde alla posizione di equilibrio ($\chi = 0$ ed $E = 0$), mentre per qualunque variazione (compressione o allungamento) si ha variazione di en. potenziale corrispondente.



RISONANZA

Quando una radiazione del range IR colpisce una molecola, questa entrerà in “risonanza”, cioè le energie coinvolte coincideranno e si avrà ASSORBIMENTO di energia con conseguente ampiezza di oscillazione del sistema!

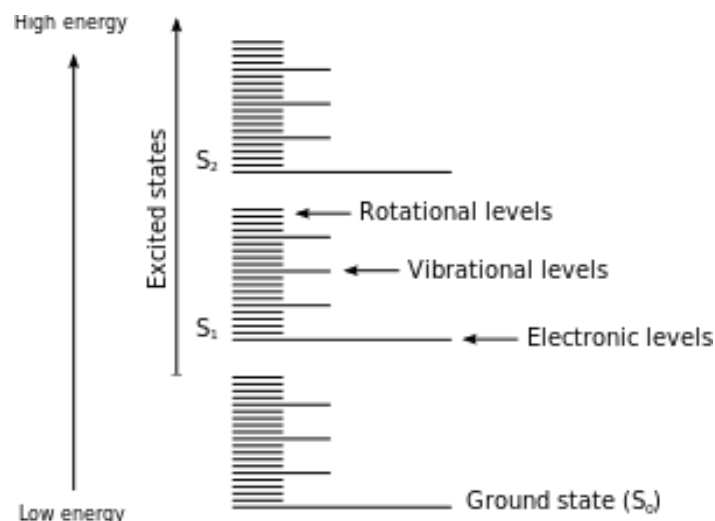
L' energia di risonanza, cioè la frequenza ν di oscillazione, dall'equazione sopracitata, aumenterà all'aumentare della costante di forza K (quindi alla forza di legame tra gli atomi), e al diminuire di μ (ovvero atomi di masse piccole).



b. INTERPRETAZIONE “QUANTISTICA”

Secondo tale modello (Max Planck, 1900) l'energia è “quantizzata”, cioè può assumere solo valori discreti, cioè solo determinati valori (permessi) definiti dal numero quantico vibrazionale: v

$$E_{\text{vib.}} = (v + \frac{1}{2})hc\bar{\nu}$$



v = numero quantico vibrazionale (solo valori interi: 0, 1, 2, 3, ...n)

$\bar{\nu}$ = numero d'onda ($= 1/\lambda$); espresso in cm^{-1}

h = costante di Plank

c = velocità della luce

Fig.: Lichtman & Cochello, 1995 (DOI: 10.1038/nmeth817)

Quindi anche un sistema oscillatore può assumere solamente valori discreti di energia come rappresentato in figura.

Il contributo energetico per passare dal livello fondamentale ($\frac{1}{2}h\bar{\nu}$) a quello successivo ($\frac{3}{2}h\bar{\nu}$) è pari a $h\bar{\nu}$. Questa è la ΔE della radiazione IR da fornire al sistema per il salto vibrazionale.

Per cui vengono assorbite solo quelle radiazioni la cui frequenza è uguale alla frequenza di vibrazione della coppia di atomi coinvolti nel legame: $\bar{\nu}_{\text{rad}} = \bar{\nu}_{\text{mol}}$.

Nella realtà le molecole si comportano come oscillatori **anarmonici**, ovvero l'en. potenziale (cioè l'en. di attrazione tra due atomi) non aumenta in modo indefinito all'aumentare della distanza interatomica, ma raggiunge un valore soglia detta: energia di dissociazione (E_d) che corrisponde al limite oltre al quale il legame "si rompe"; quindi i livelli energetici avranno valori sempre più bassi di ΔE man mano che i due atomi si allontanano (all'aumentare del numero quantico v).

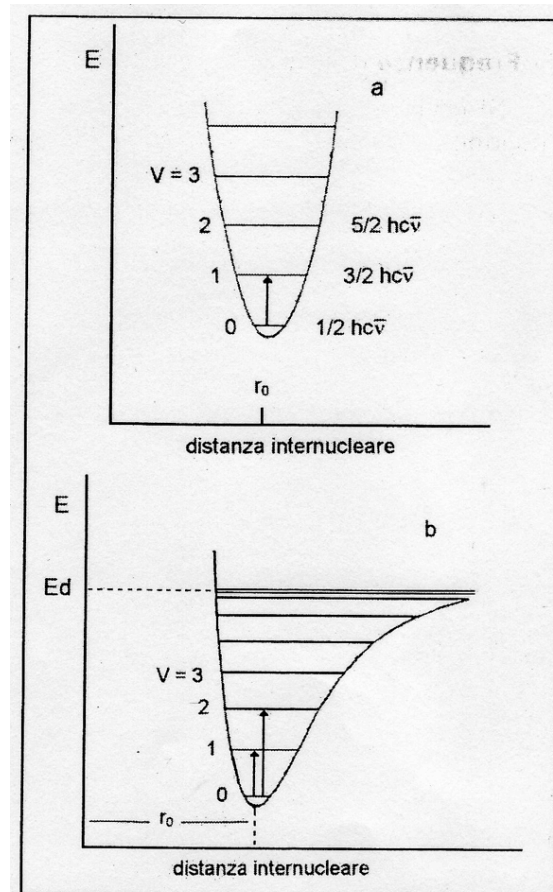
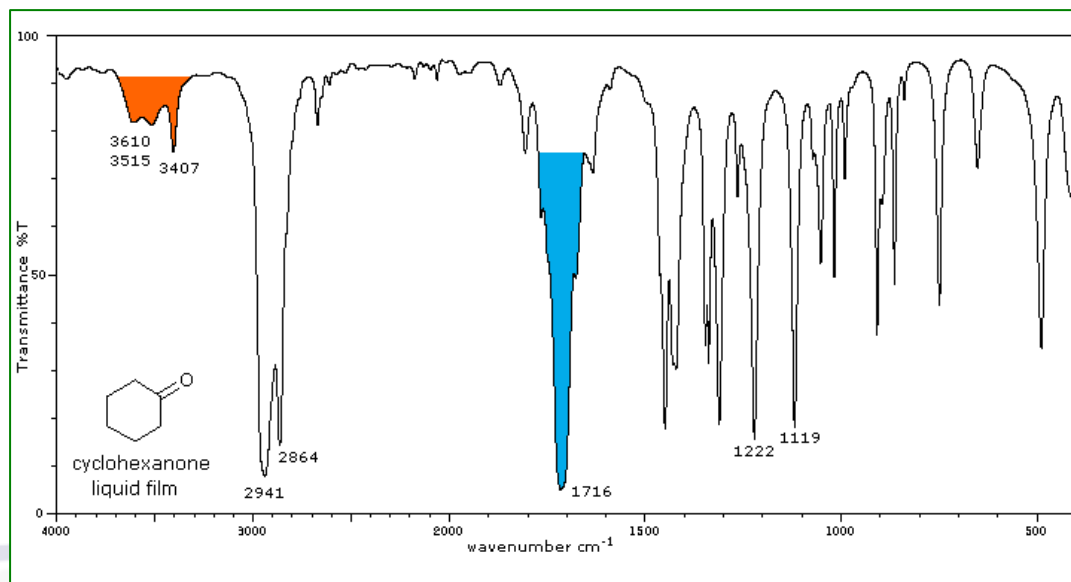


Figura 6 - Curva dell'energia per un oscillatore armonico (a) ed uno anarmonico (b).

In uno spettro IR è la transizione dallo stato fondamentale ($v=0$) al primo livello vibrazionale ($v=1$) che dà origine alla **banda fondamentale** di assorbimento per quella data coppia di atomi, le altre transizioni a livelli vibrazionale maggiori ($v=1, 2, 3..$) sono molto più rare (anche se possibili) e, tali bande sono dette di **overtones** (soprtoni) che, naturalmente, cadono ad una frequenza multipla della banda fondamentale e sono poco intense.

Un es. è dato dall'overtone del gruppo carbonilico C=O chetonico o aldeidico ($\approx 1720 \text{ cm}^{-1}$) che si evince a $\approx 3400 \text{ cm}^{-1}$ come debole banda sempre nel range dell'IR.

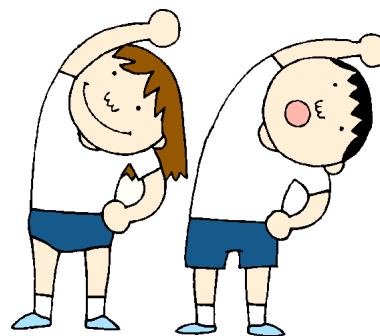


<https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/infrared/irspec1.htm>

MODI DI VIBRAZIONE DEI LEGAMI

Abbiamo già visto che ci dev'essere un MOMENTO DIPOLARE NON NULLO perciò che avvenga risonanza, ➔ assorbimento, ➔ vibrazione molecolare. Vediamo i vari tipi di VIBRAZIONI MOLECOLARI di una molecola di H_2O suddivisi in:

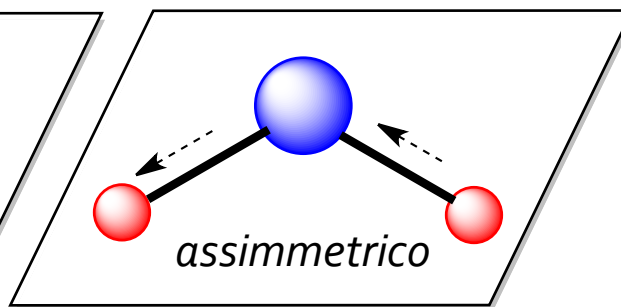
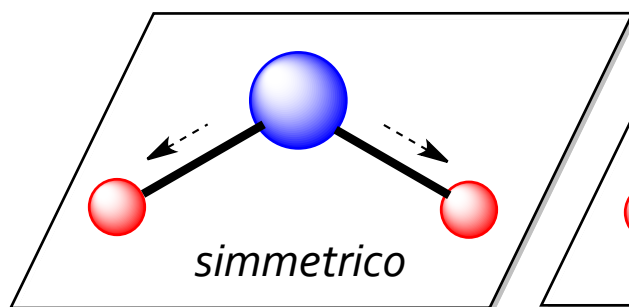
- STRETCHING (ν ; stiramento: simmetrico o asimmetrico): comportano un allungamento dei legami chimici di una molecola inducendo variazioni nel loro momento dipolare μ .



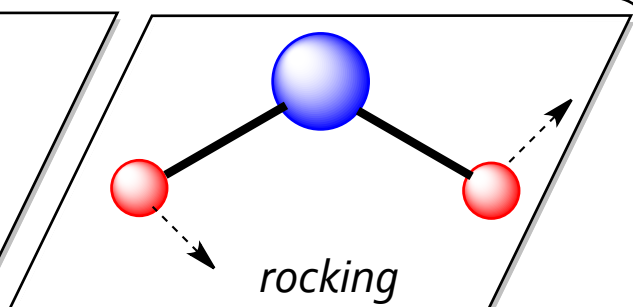
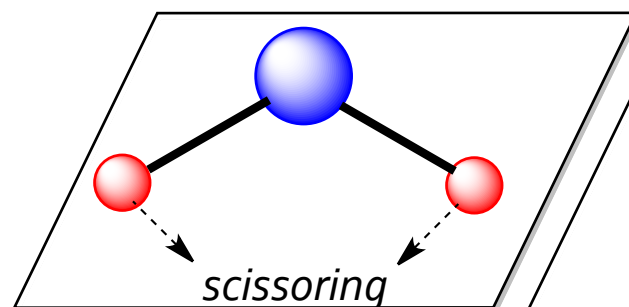
- BENDING (δ e γ ; piegamento nel piano o fuori dal piano): comportano una modificazione nell'assetto lineare dei legami con variazione degli angoli di legame coinvolti.



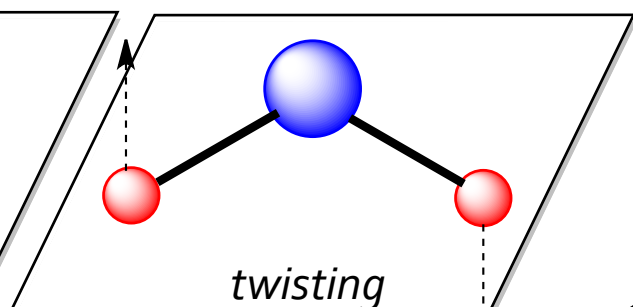
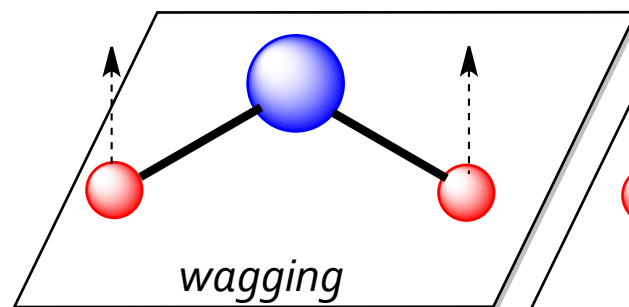
STRETCHING e BENDING DI LEGAME per l'H₂O



*stiramenti
(nel piano: ν)*



*piegamenti
(deformazioni nel piano: δ)*



*piegamenti
(deformazioni
fuori dal piano: γ)*

GRADI DI LIBERTA' (g.d.l.)

Per molecole complesse (con molti atomi) ci si aspetterebbe una serie molto consistente di bande per cui l'interpretazione dello spettro sarebbe impossibile.

Fortunatamente, però, molti gruppi funzionali danno luogo ad assorbimenti caratteristici che variano solo di poco a seconda del residuo molecolare a cui sono legati.

I gradi di libertà definiscono i possibili movimenti che può fare un atomo o una molecola in riferimento alle tre coordinate dello spazio: x, y e z.

Per un **atomo**, i gradi di libertà (cioè tre coordinate spaziali) sono 3; mentre per una **molecola** il numero di gradi di libertà totali, espresso dall'intera molecola, è $= 3n$ (n = numero di atomi della molecola) che considera traslazioni, rotazioni e vibrazioni.

Per cui i g.d.l. totali: $3n = 3$ (g.d.l. vibrazionali) + 3 (g.d.l. traslazionali) + 3 (g.d.l. rotazionali)



2 g.d.l. rotazionali nel caso di molecole lineari

TRASLAZIONE

-I g.d.l. di traslazione sono riferiti a tutta la molecola nel suo complesso intesa come sistema rigido, per cui possono essere descritti come il movimento della molecola attorno al suo baricentro; per cui saranno **3** g.d.l. traslazionali.

ROTAZIONE

-I g.d.l. rotazionali saranno anch'essi **3** perchè potranno avvenire attorno ai tre assi cartesiani; per molecole lineari saranno invece **2** perché la molecola è bidimensionale (mancherà la deformazione di bending).

VIBRAZIONE

-I g.d.l. vibrazionali si ricavano per differenza fra i $3n$ g.d.l. totali e i $3+3$ (o $3+2$ per lineari) g.d.l. traslazionali e rotazionali.

$$\text{g.d.l. vibrazionali} = 3n - 6 \text{ (o } 3n - 5 \text{ per lineari)}$$

Es.

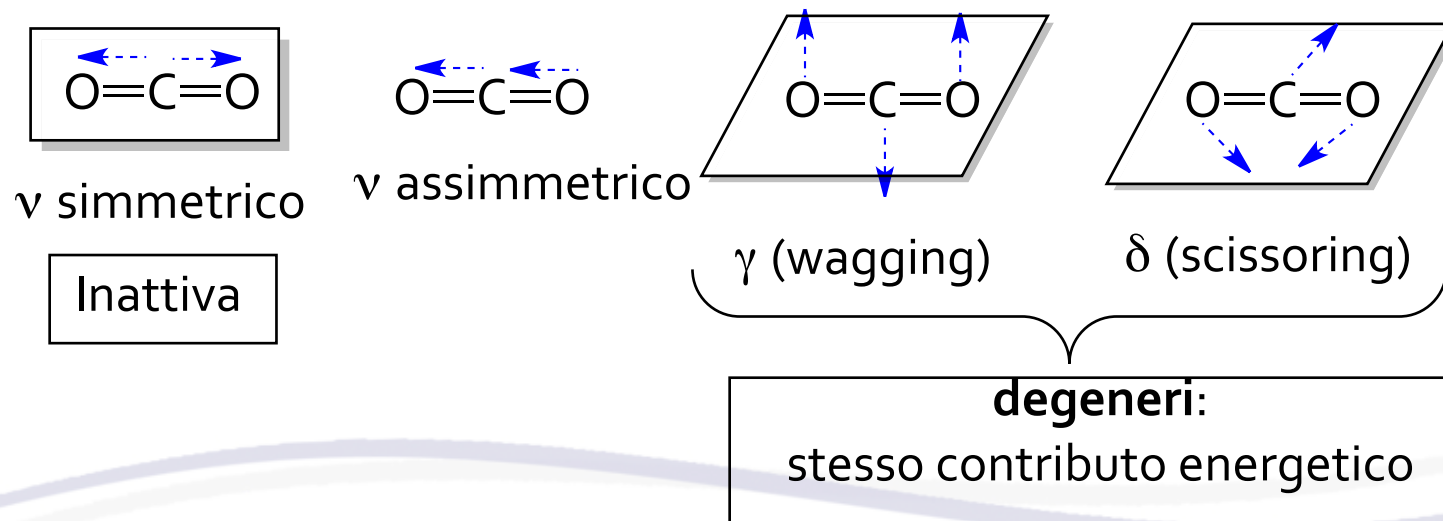
Consideriamo l'anidride carbonica (lineare, 2D) e l'etanolo (poliatomica, 3D):

$$\text{g.d.l. CO}_2 = 3 \times 3 - 5 = 4$$

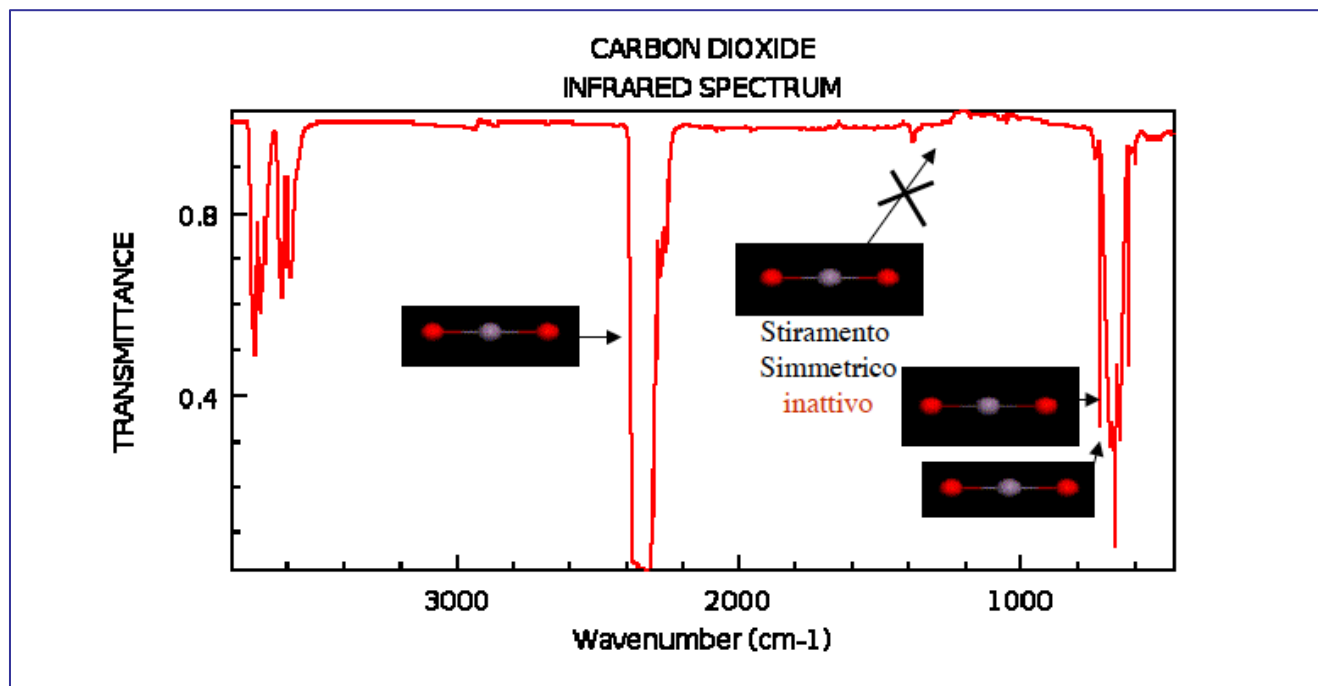
$$\text{g.d.l. etanolo (CH}_3\text{CH}_2\text{OH)} = 3 \times 9 - 6 = 21$$

Ci si aspetterebbero 4 modi vibrazionali e relative bande di assorbimento per l'anidride carbonica e 21 per l'etanolo!! PER FORTUNA NON TUTTI I MODI PROVOCANO ASSORBIMENTO.

Infatti, se consideriamo una molecola come la CO_2 , lineare e simmetrica, dovremmo aspettarci $3 \times 3 - 5 = 4$ g.d.l. Ovvero due stretching e due bending:



In realtà danno assorbimento solo i modi vibrazionali asimmetrici, in quanto inducono variazione di momento dipolare (μ) e due modi di deformazione che però si equivalgono per energia e saranno degeneri. Ovvero si osserveranno solo 2 bande (anziché 4 previste):



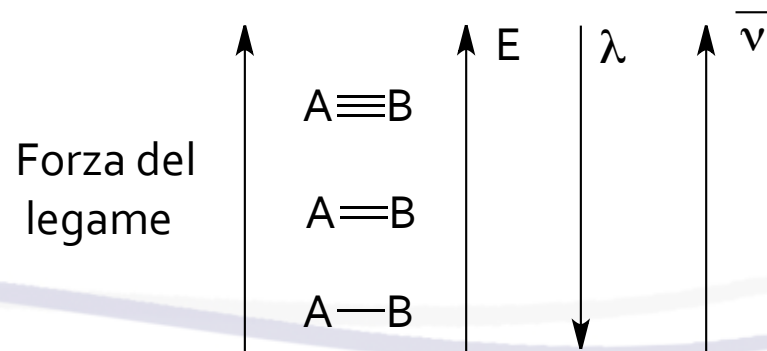
IN GENERALE:

- i. L'energia per indurre stiramenti e piegamenti è inversamente proporzionale alle masse degli atomi coinvolti nella vibrazione; per cui atomi con massa atomica grande, vibreranno più facilmente (a numeri d'onda inferiori, cioè a energie minori):

| | | |
|-----|-----|----------------------------------|
| Es. | O-H | $\mu = 16 \times 1 / 17 = 0.94$ |
| | C-O | $\mu = 12 \times 16 / 28 = 6.86$ |

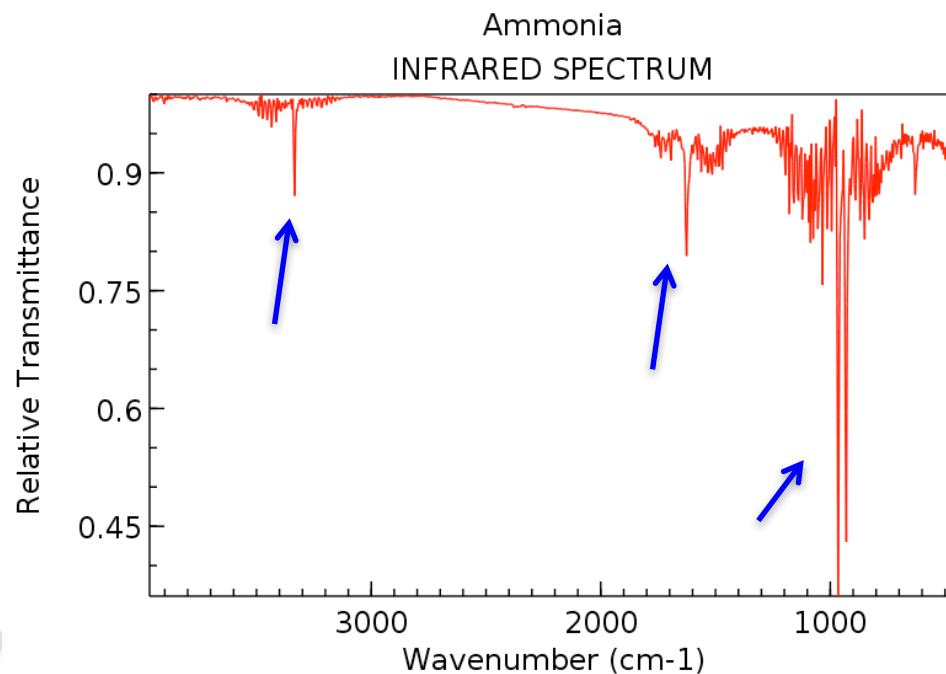
Infatti: stretching O-H a $3000\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ (energia alta)
stretching C-O a $1000\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ (energia bassa)

- ii. L'energia vibrazionale è direttamente proporzionale all'ordine di legame, cioè alla forza di legame (costante di forza K).



- iii. L'energia vibrazionale richiesta per il bending (δ e γ) è minore rispetto a quella per lo stretching (ν), di conseguenza le deformazioni di bending si troveranno a numeri d'onda minori. Inoltre le bande di bending sono meno "discriminanti" rispetto a quelle di stiramento nella caratterizzazione di una molecola in quanto si trovano in una zona ricca di picchi (fingerprint).

Es. NH_3 : γ N-H: 2 bande a $750\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ (s/m) e δ N-H: 1600 cm^{-1} (m)
 ν N-H: $3100\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ (m/w)



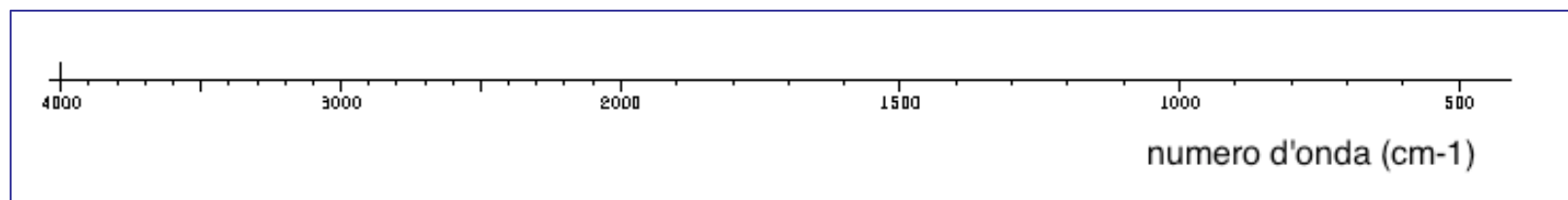
NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

COSA CI DICE UNA “BANDA” NELLO SPETTRO I.R.:

Parametri da osservare:

- Posizione (numero d'onda: $\bar{\nu}$)
- Intensità (T%)
- Forma

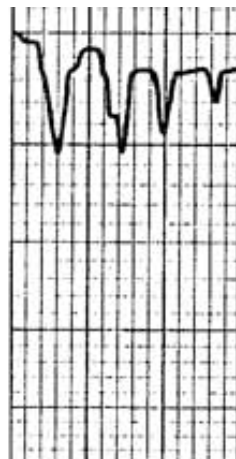
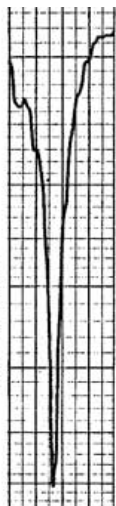
- Posizione: è legata all'energia della vibrazione ($\uparrow \bar{\nu} = \uparrow E$) per cui alla forza di legame degli atomi coinvolti.



Alto numero d'onda
Alta frequenza
Alta energia

Basso numero d'onda
Bassa frequenza
Bassa energia

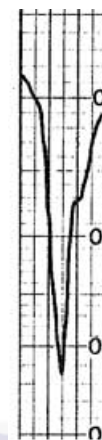
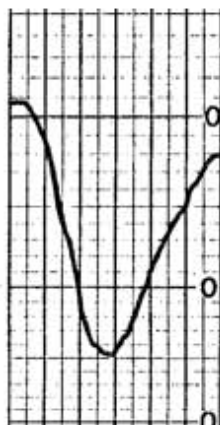
- Intensità: è legata all'efficienza nel trasferimento di energia.



Classificazione intensità bande

- vs: molto forti
- s: forti
- m: medie
- w: deboli
- vw: molto deboli

- Forma: dipende dall'interazione del gruppo funzionale con l'intorno:
 - banda larga: gruppo con forti interazioni (es. O-H per legame H)
 - banda stretta: gruppo isolato (es. C=O)



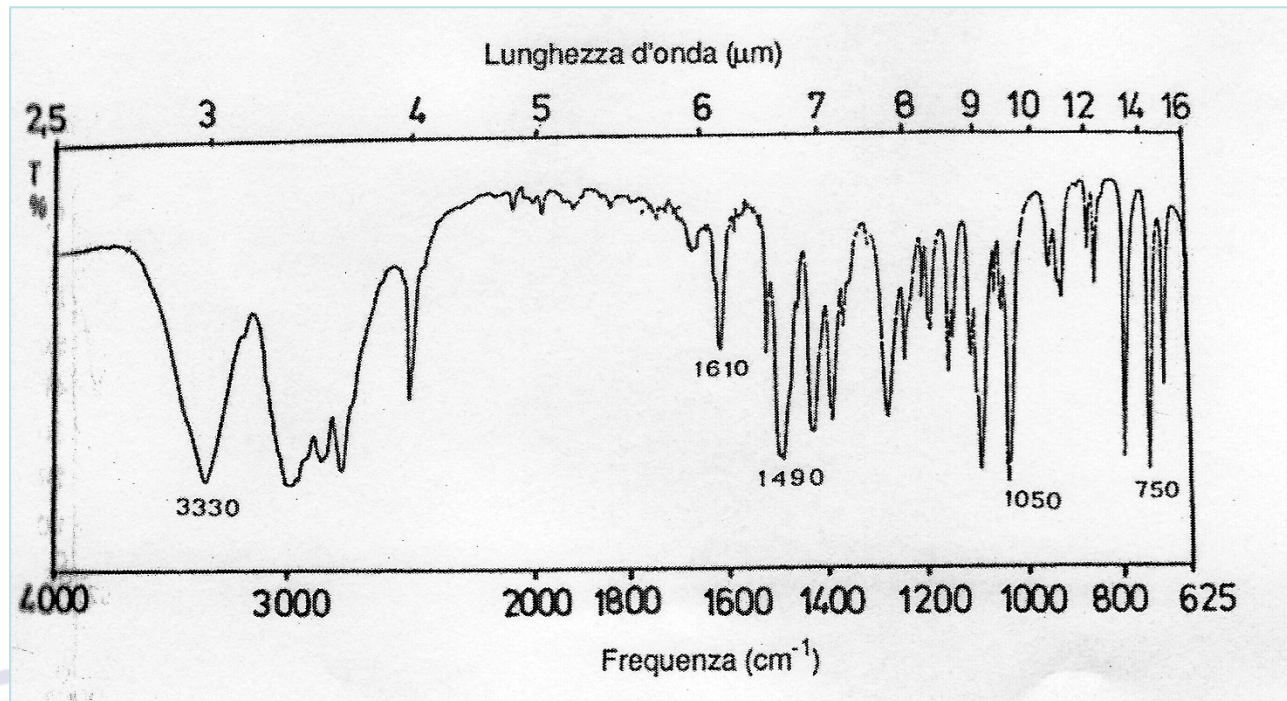
Fonte: R. Cozzi, P. Protti, T. Ruaro -Analisi chimica moderni metodi strumentali- (Zanichelli)

COME INTERPRETIAMO LO SPETTRO I.R.:

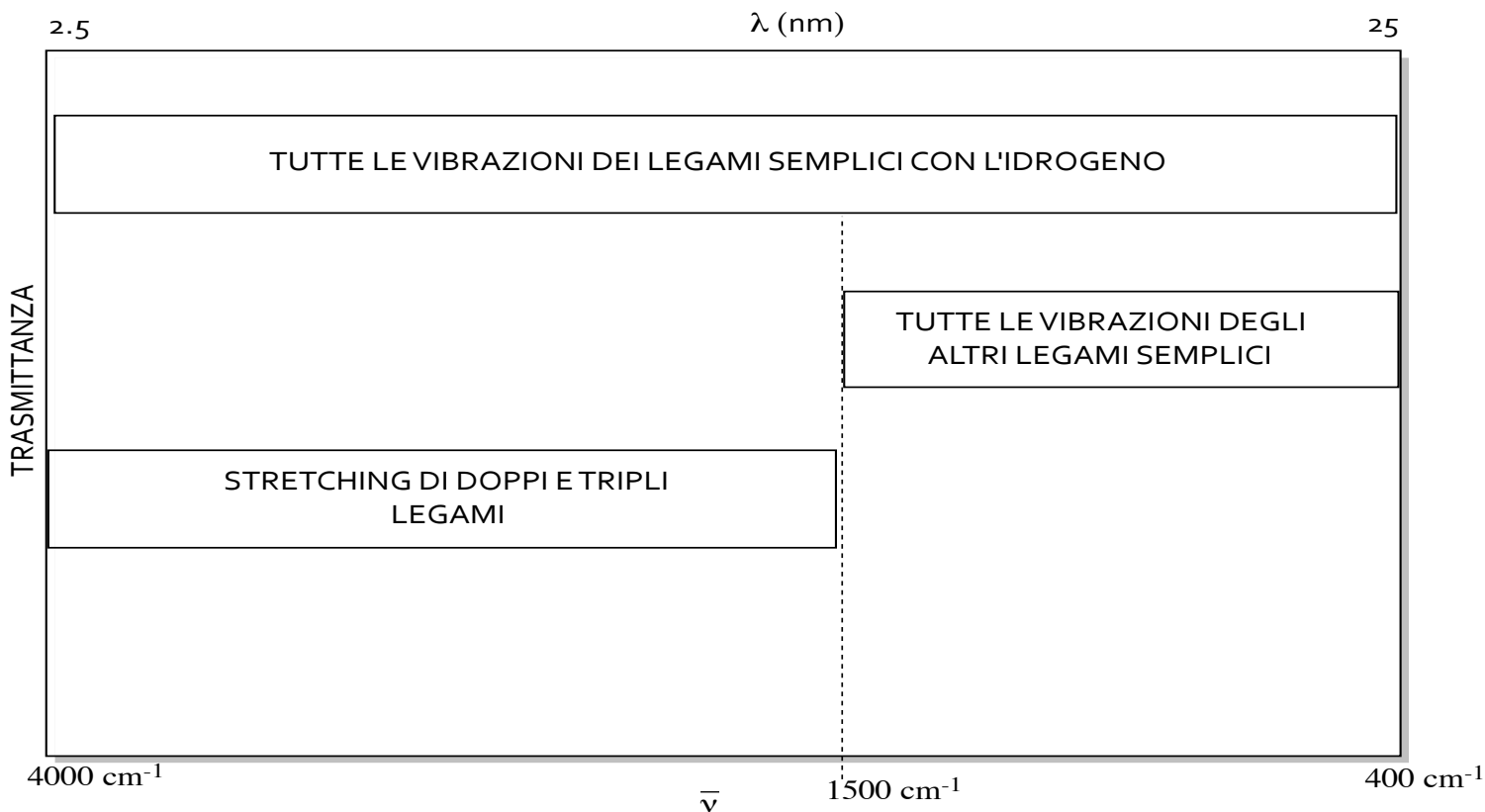
Ciò che vediamo, nella pratica, sarà uno spettro “a bande” riportato su un grafico con la Trasmittanza percentuale ($T\% = I/I_0 \cdot 100$) in ordinata contro il numero d'onda ($\nu = 1/\lambda$ in cm^{-1}) in ascissa.

Notiamo tutta una serie di bande verso il basso (lacune di trasmittanza) dovute proprio agli assorbimenti (più o meno intensi) relativi dei vari gruppi funzionali della molecola:

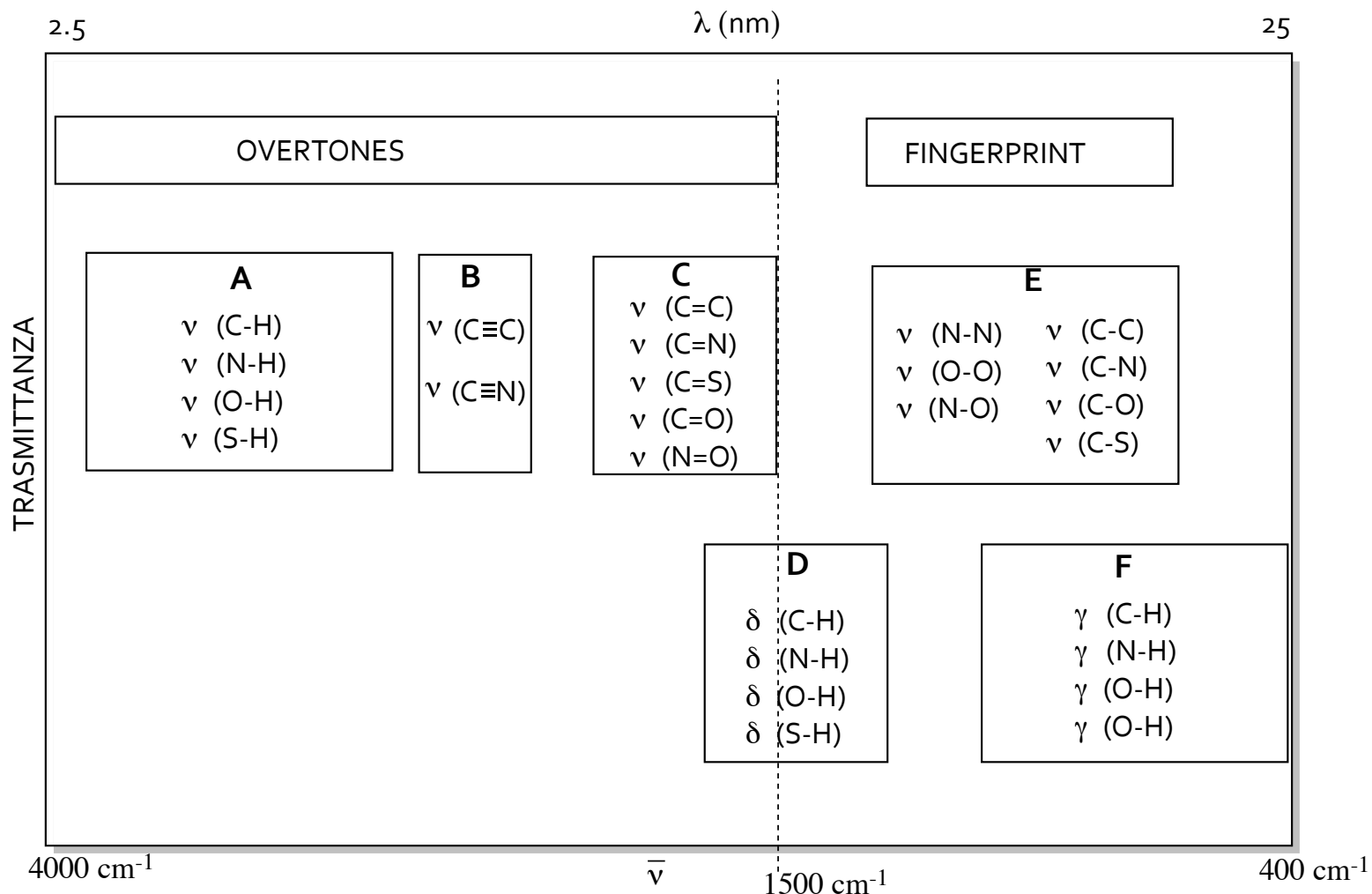
Es. spettro I.R. dell'efedrina cloridrato:



LE “ZONE” DELLO SPETTRO I.R.:



Genericamente nello spettro IR a sinistra di 1500 cm^{-1} si collocano le vibrazioni di stretching dei gruppi funzionali, cioè di doppi e tripli legami tra eteroatomi (C; N, O). A destra di 1500 cm^{-1} , cioè a λ minori, avvengono vibrazioni di tutti i tipi (stretching e bending dentro e fuori dal piano) per i legami singoli, ad eccezione dei legami dell'idrogeno con eteroatomo (C, N, O) che cadono a energia molto maggiore.



Zona degli Overtones: 4000-1500 cm^{-1}

Sono $\sim 1/10$ meno intense delle vibrazioni fondamentali e cadono a \sim il doppio del valore di numero d'onda della vibrazione fondamentale. Sono proprie di legami che assorbono in modo intenso (es. C=O)

Zona A: 3650-2500 cm⁻¹

Vibrazione di stiramento (ν) tra idrogeno ed un eteroatomo (Y-H). Essendo legame con alto momento dipolare (μ) hanno costanti di forza elevate ($\uparrow K$) e quindi necessitano di elevate energie di risonanza ($\uparrow \bar{\nu}$). Si tratta di bande, in genere, medio-forti ed intense. Lo stiramento C-H è quello che cade a $\bar{\nu}$ minori (≈ 3000 cm⁻¹) in quanto, pur se la massa ridotta diminuisce (passando da O-H a N-H a C-H) e, quindi, ci si aspetterebbe un legame “più forte”, diminuisce la differenza di elettronegatività (ovvero diminuisce il μ) che prevale e causa un indebolimento del legame più marcato che non per O-H (3000-3500 cm⁻¹) ed N-H (3300-3600 cm⁻¹). Se lo spettro viene eseguito in *nujol* (olio di paraffina: miscela complessa di alcani), tale banda di stretching C-H risulta “mascherata” dallo stesso nujol (numerosi legami C-H).

Zona B 2300-2100 cm⁻¹

Stretching (ν) dei tripli legami. $C\equiv X$

Zona C 1800-1500 cm⁻¹

Stretching (ν) dei doppi legami. Cadono anche gli assorbimenti dei doppi legami aromatici, anche se a energie minori data la parziale natura di legame singolo posseduto da questi sistemi.

Zona D 1650-1300 cm⁻¹

Bending nel piano (δ) dei legami singoli dell'idrogeno con un eteroatomo (H-Y).

Zona E 1300-700 cm⁻¹

Stretching dei legami semplici fra atomi diversi dall'idrogeno (C, N, O,). Si nota come passando da legami tripli a doppi ed a legami semplici, la richiesta di energia è sempre minore (numeri d'onda minori).

Zona F 1650-1300 cm⁻¹

Bending fuori piano (γ) dei legami singoli dell'idrogeno con un eteroatomo (H-Y). La richiesta energetica per la deformazione fuori dal piano è inferiore rispetto a quella nel piano a causa di una minor interazione con l'*intorno* della molecola.

Zona del Fingerprint

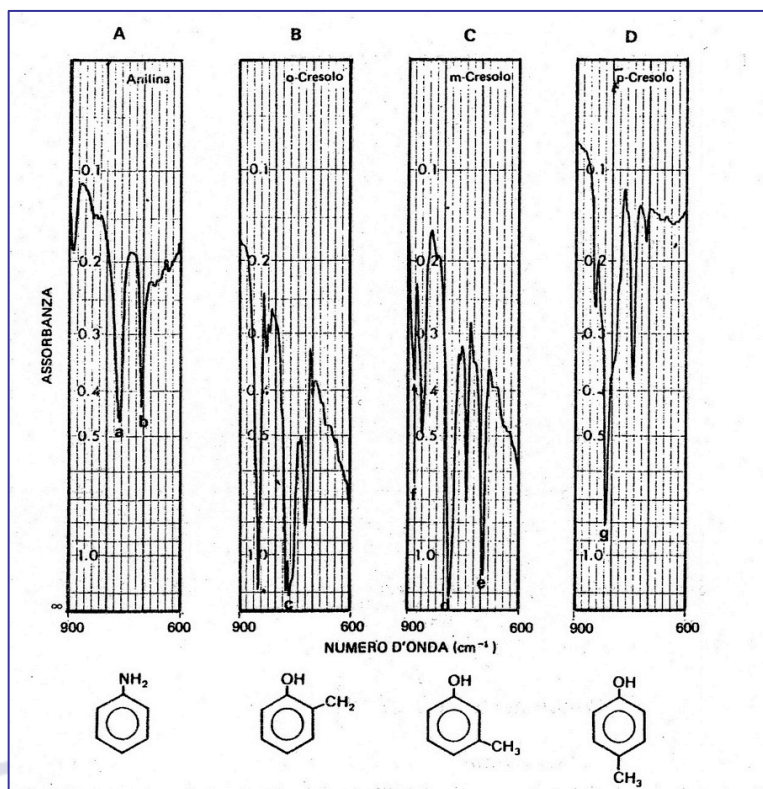
Questa zona, che coincide con la zona E, non corrisponde ad una specifica vibrazione di legame, ma a più deformazioni di legame propri della molecola, dando luogo ad una serie di bande numerose e di non facile interpretazione, ma che sono caratteristiche della sostanza in esame, cioè la sua "impronta digitale".

Ad es. due molecole che contengono gli stessi gruppi funzionali (che, magari cadono a numeri d'onda pressochè uguali), ma caratteristiche strutturali anche leggermente diverse (es. un gruppo $-\text{CH}_2-$ di differenza su una catena alchilica...), danno luogo a spettri IR che risultano differenti proprio nella regione del fingerprint (e quindi discriminabili).

Idrocarburi aromatici

Oltre alle bande medie di stretching C=C aromatico a $1450-1650\text{ cm}^{-1}$, stretching C-H a $\approx 3000\text{ cm}^{-1}$, ed overtones deboli dei γ C-H a $1660-2000\text{ cm}^{-1}$ molto importante è la zona dei $600-900\text{ cm}^{-1}$, corrispondente al bending (γ) fuori del piano dei legami C-H di anelli aromatici variamente sostituiti.

Dà informazioni sulla sostituzione dell'anello e si presentano bande in genere intense ed affilate.



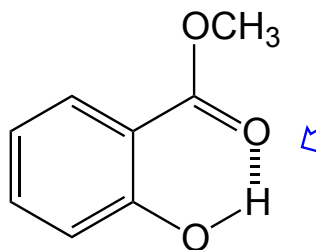
- A) 5 H adiacenti: 2 bande medie 700-770 cm^{-1}
- B) 4H adiacenti: 1 banda molto intensa
- C) 3H adiacenti: 2 bande intense più 1 debole dovuta al γ del C-H isolato
- D) 2H adiacenti: 1 banda intensa verso 850 cm^{-1}

Fonte: R. Cozzi, P. Protti, T. Ruaro -Analisi chimica moderni metodi strumentali- (Zanichelli)

Alcoli e fenoli

Importante lo stretching dell'O-H nella zona ad alte energie (3000-3600 cm^{-1}). In particolare tre frequenze di assorbimento:

1. O-H libero: $\bar{\nu}$ 3580-3650 cm^{-1} (banda affilata: zona A). E' dovuta a soluzioni diluite o in fase vapore, dove mancano interazioni intermolecolari.
2. O-H associato intermolecolare: $\bar{\nu}$ 3200-3550 cm^{-1} (banda allargata caratteristica: zona A). E' tipica dell'O-H in cui c'è possibilità di legami H tra le stesse molecole (soluzioni concentrate, mancanza di impedimenti sterici nella molecola). Il leg-H indebolisce la costante di forza ($\downarrow K$) del legame O-H e quindi è richiesta una minor energia ($\downarrow \bar{\nu}$).
3. O-H associato intramolecolare: $\bar{\nu}$ 3050-3550 cm^{-1} (banda allargata: zona A). A differenza del caso sopra, la diluizione NON ha effetto, ma più forte è il leg.-H, minore è l'energia richiesta e, quindi $\downarrow \bar{\nu}$.

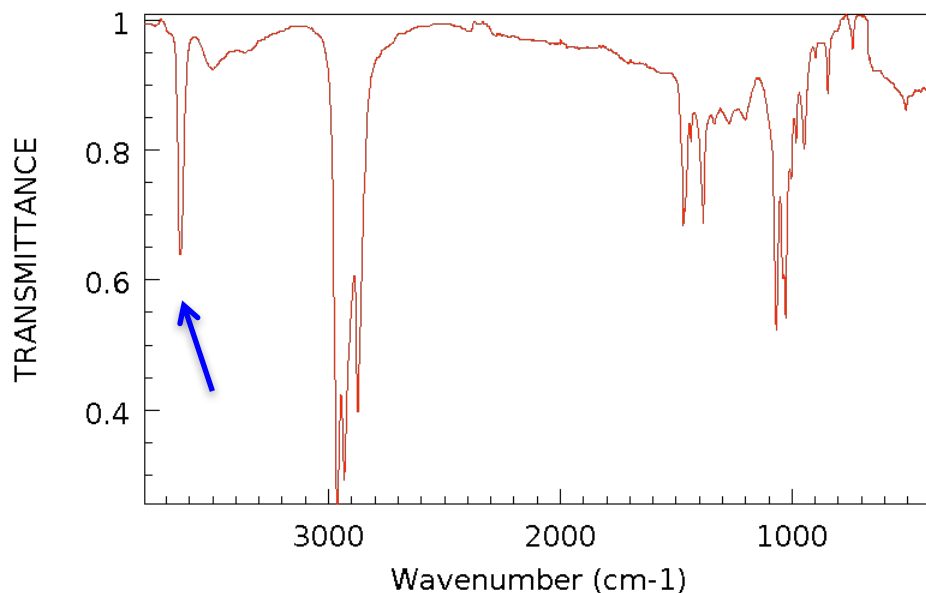


Salicilato di metile

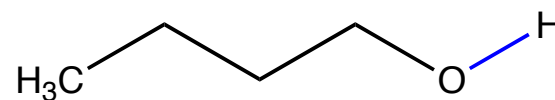
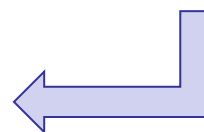
Legame _H intramolecolare

Inoltre stretching (ν) C-O 1200-1260 cm^{-1} (bande forti) e bending (δ) O-H fingerprint (deboli, poco importanti)

n-BUTANOL
INFRARED SPECTRUM



Spettro eseguito allo 0.5% in
CCl₄ (sostanza diluita)



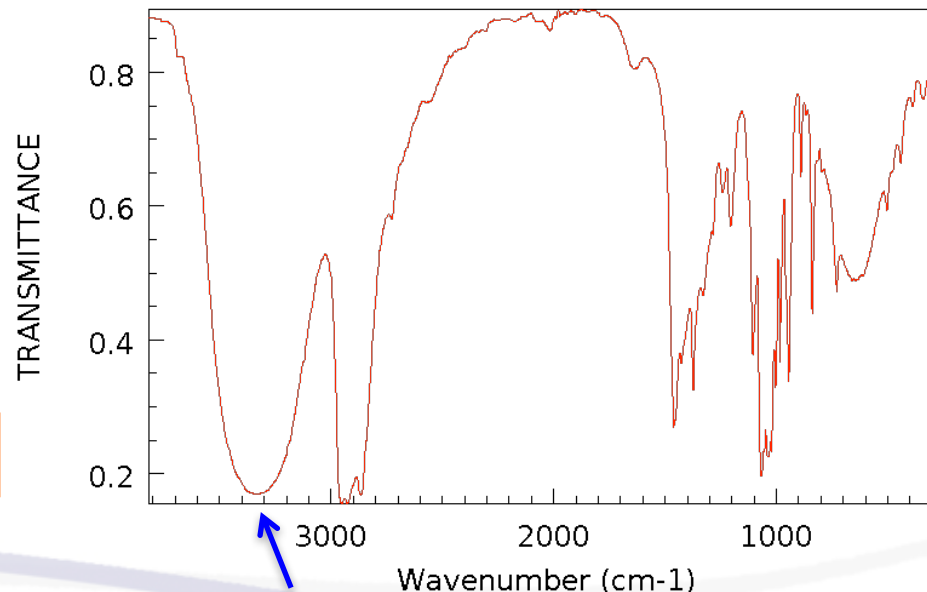
NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

Spettro eseguito su film
liquido (sostanza pura)



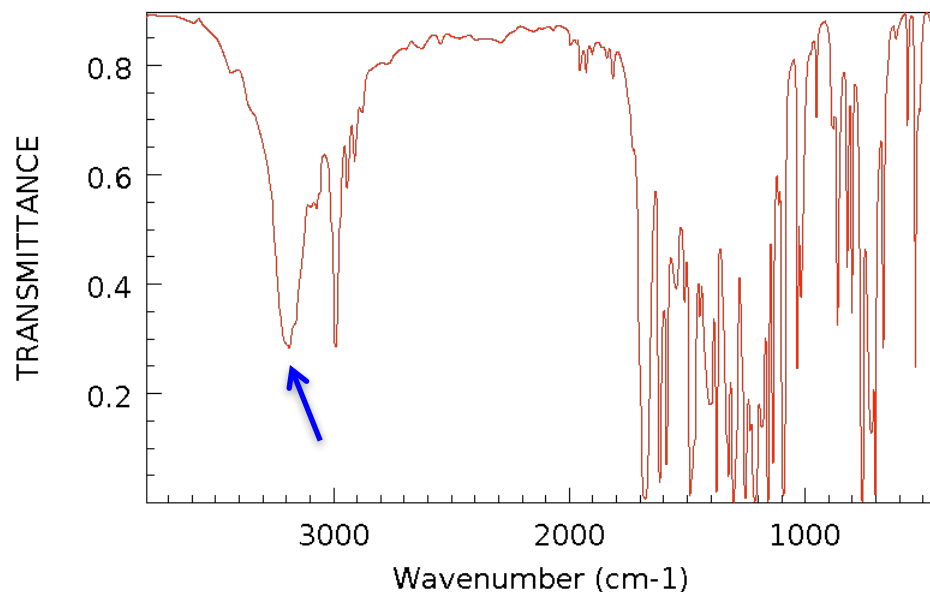
Legame H intermolecolare

n-BUTYL ALCOHOL
INFRARED SPECTRUM



NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

SALICYLIC ACID, ETHYL ESTER
INFRARED SPECTRUM

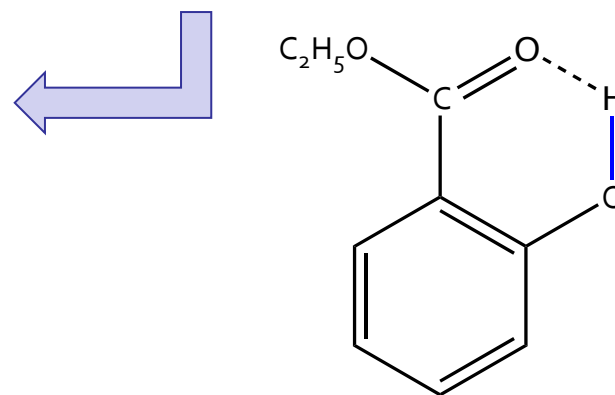


NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

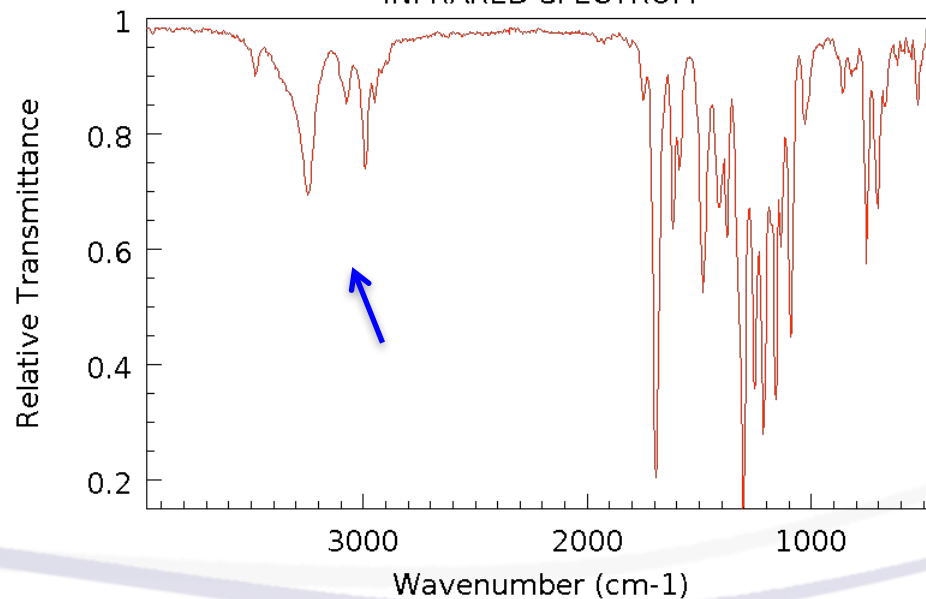
IR in fase gassosa (bande quasi identiche: la diluizione non cambia la forma)

Legame H intramolecolare

Soluzione 10% CCl₄

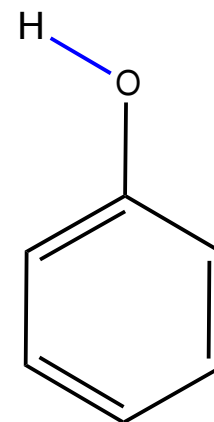
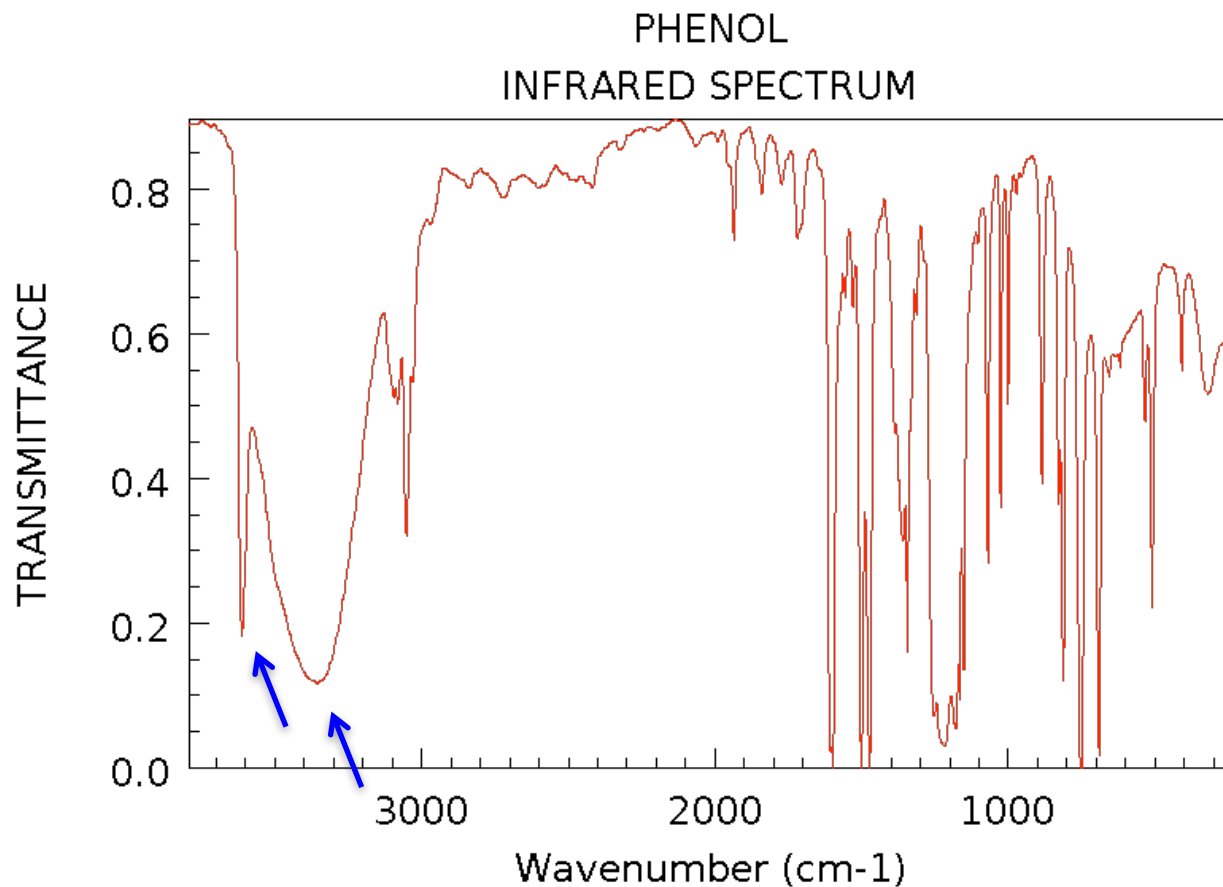


Benzoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester
INFRARED SPECTRUM



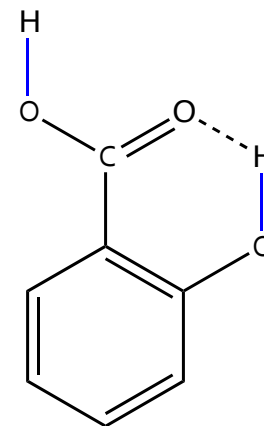
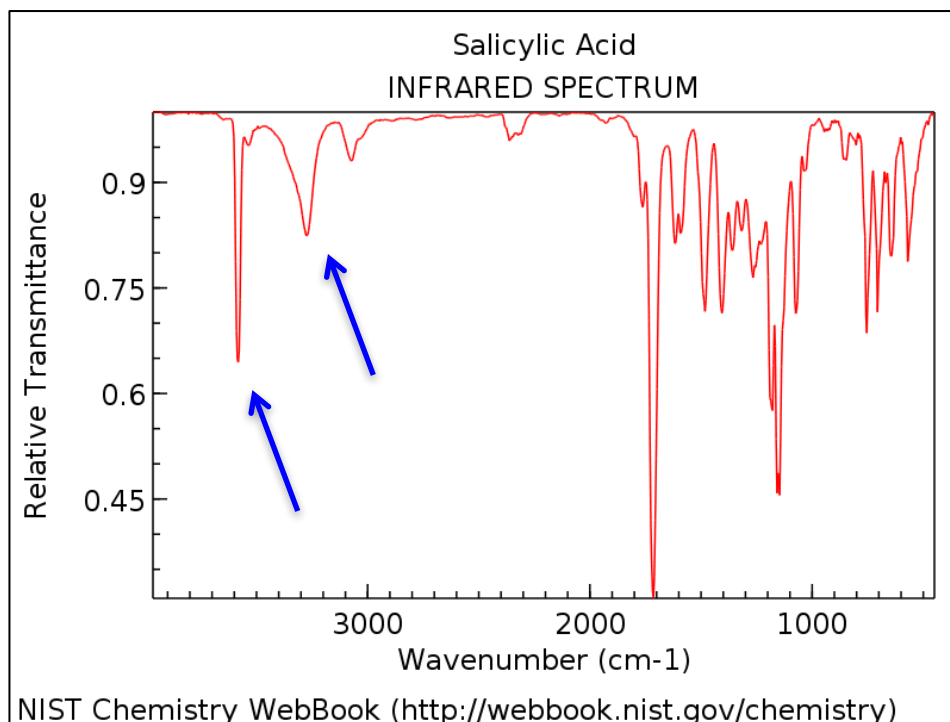
NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

Spesso si possono riscontrare sia la banda dell'OH libero, che di quello associato con legame idrogeno. Un es. lo spettro del fenolo (leg.H intermolecolare):



NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

L'acido salicilico presenta due gruppi ossidrilici che daranno due bande distinte di stretching O-H ben visibili dovuti ad entrambi gli ossidrili della molecola.



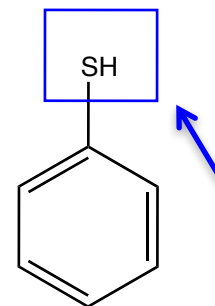
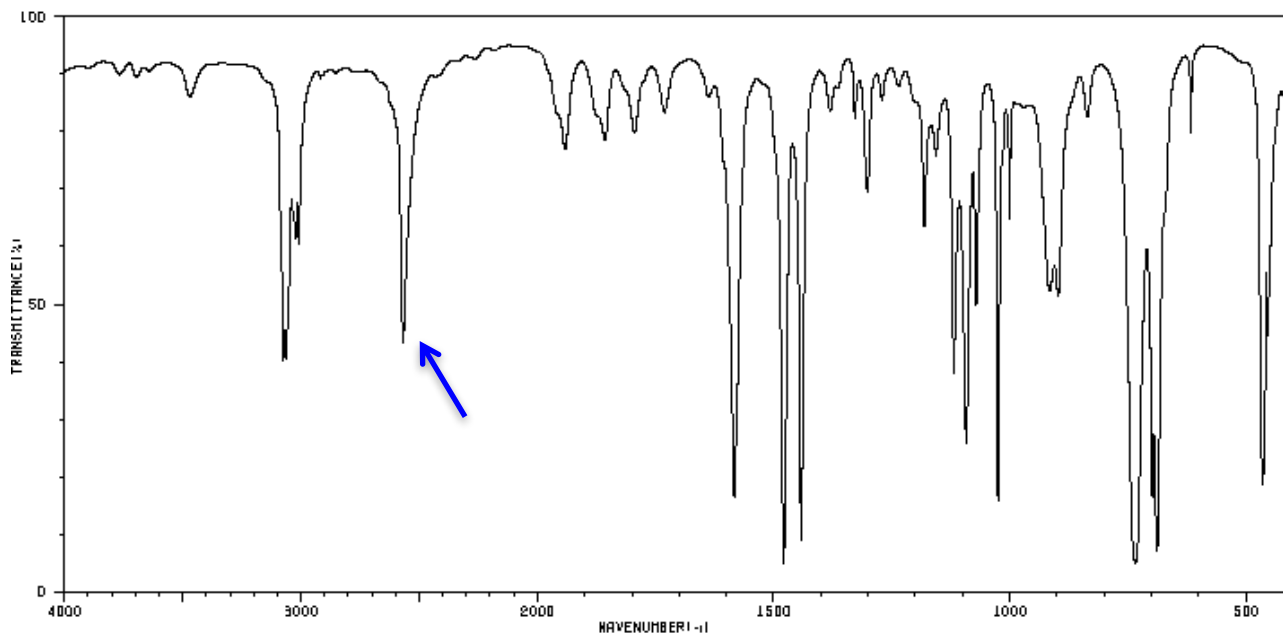
Si può notare la differenza tra i due segnali dovuta al legame idrogeno intramolecolare del protone ossidrilico legato all'anello benzenico a frequenze minori ($< \nu$) e di forma "allargata" rispetto al segnale dello stretching O-H dell'ossidrilico carbossilico, che risulta "stretto" (assenza di leg.H) e a frequenze maggiori intramolecolare del protone ossidrilico legato all'anello benzenico a frequenze minori ($> \nu$).

Gruppo tiolico: S-H

Al pari del gruppo ossidrilico (OH), la banda più importante riguarda lo stretching nella zona A e, a seguire, i bending nella zona D ed F.

Le frequenze sono minori perché minore è la costante di forza (K) del legame S-H essendo lo zolfo più “pesante” (P.A.= 32.066) di altri eteroatomi.

Stretching (ν) S-H: $\approx 2600 \text{ cm}^{-1}$



Ammine

In particolare stretching e bending N-H:

1. Stretching (ν) N-H:

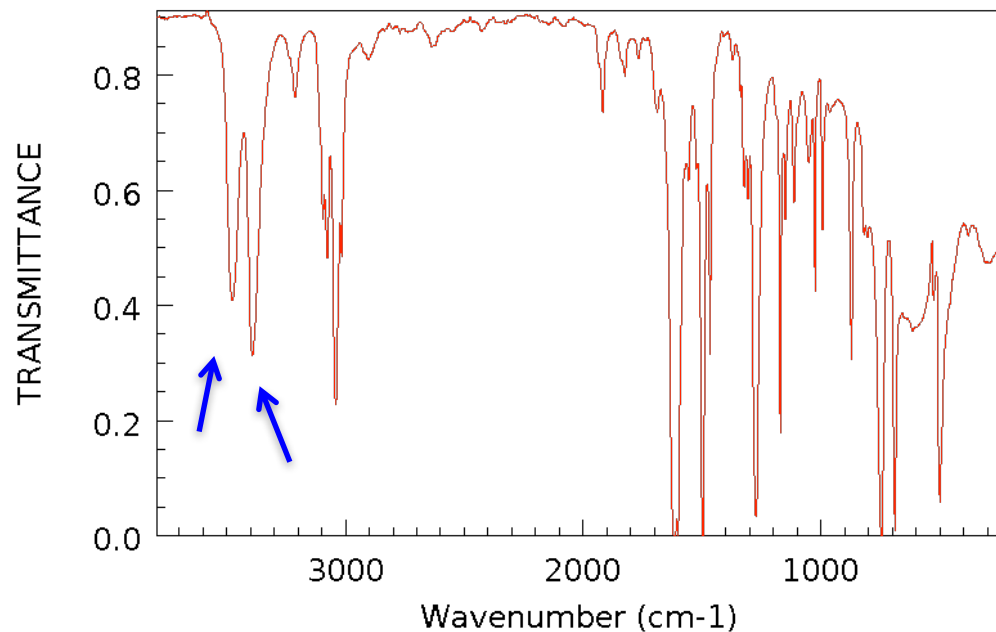
- Ammine I°: 2 bande ≈ 3300 e 3400 cm^{-1} (deboli: zona A) di $\nu_{\text{sim.}}$ e $\nu_{\text{assim.}}$
- Ammine II°: 1 banda $\approx 3310\text{-}3350\text{ cm}^{-1}$ (debole: zona A) di $\nu_{\text{sim.}}$
- Ammine III°: NON assorbono (nessun legame N-H)

2. Bending N-H:

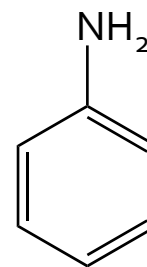
- Ammine I°: 2 bande di bending;
 - $1580\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$ (media: zona D) di δ
 - $750\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ (forte e larga: zona F) di γ
- Ammine II°
 - $700\text{-}800\text{ cm}^{-1}$: (forte e larga: zona F) di γ

Inoltre stretching (ν) C-N: $1020\text{-}1250\text{ cm}^{-1}$ (media-debole: zona E); scarsa importanza.

BENZENAMINE
INFRARED SPECTRUM

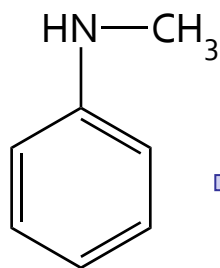


NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)



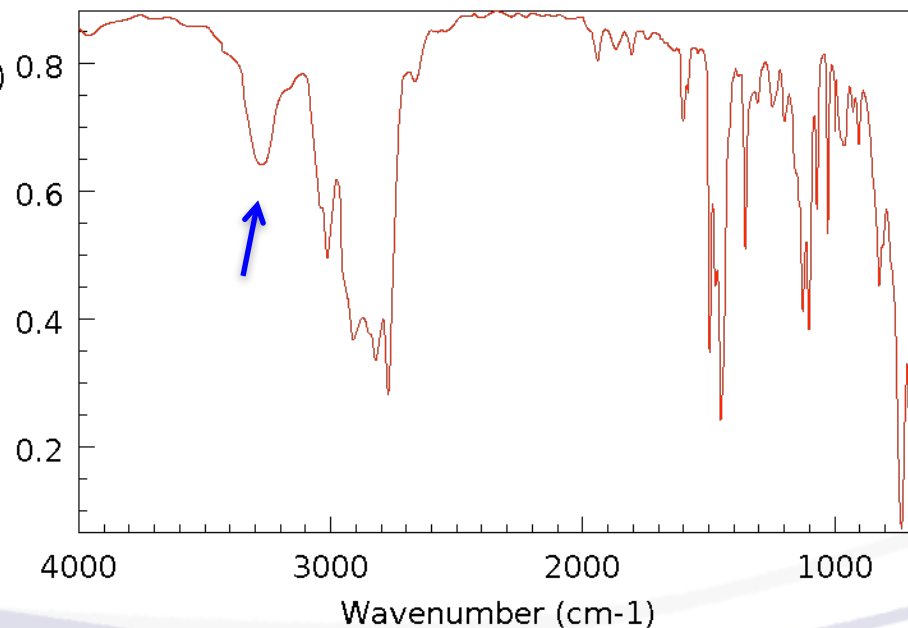
(ammina I°)

(ammina II°)



TRANSMITTANCE

BENZYLAMINE, N-METHYL-
INFRARED SPECTRUM



NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

Gruppo carbonilico

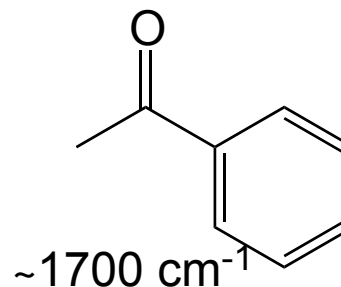
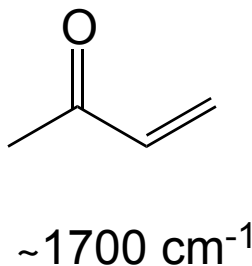
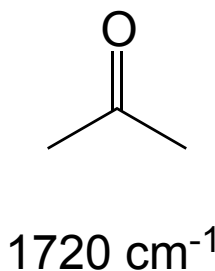
Stretching (ν) C=O: $1550\text{--}1880\text{ cm}^{-1}$

E' la banda di assorbimento più "interessante" e la più studiata in spettroscopia IR. Il valore della frequenza è strettamente correlato al tipo di sostituito legato al C carbonilico.

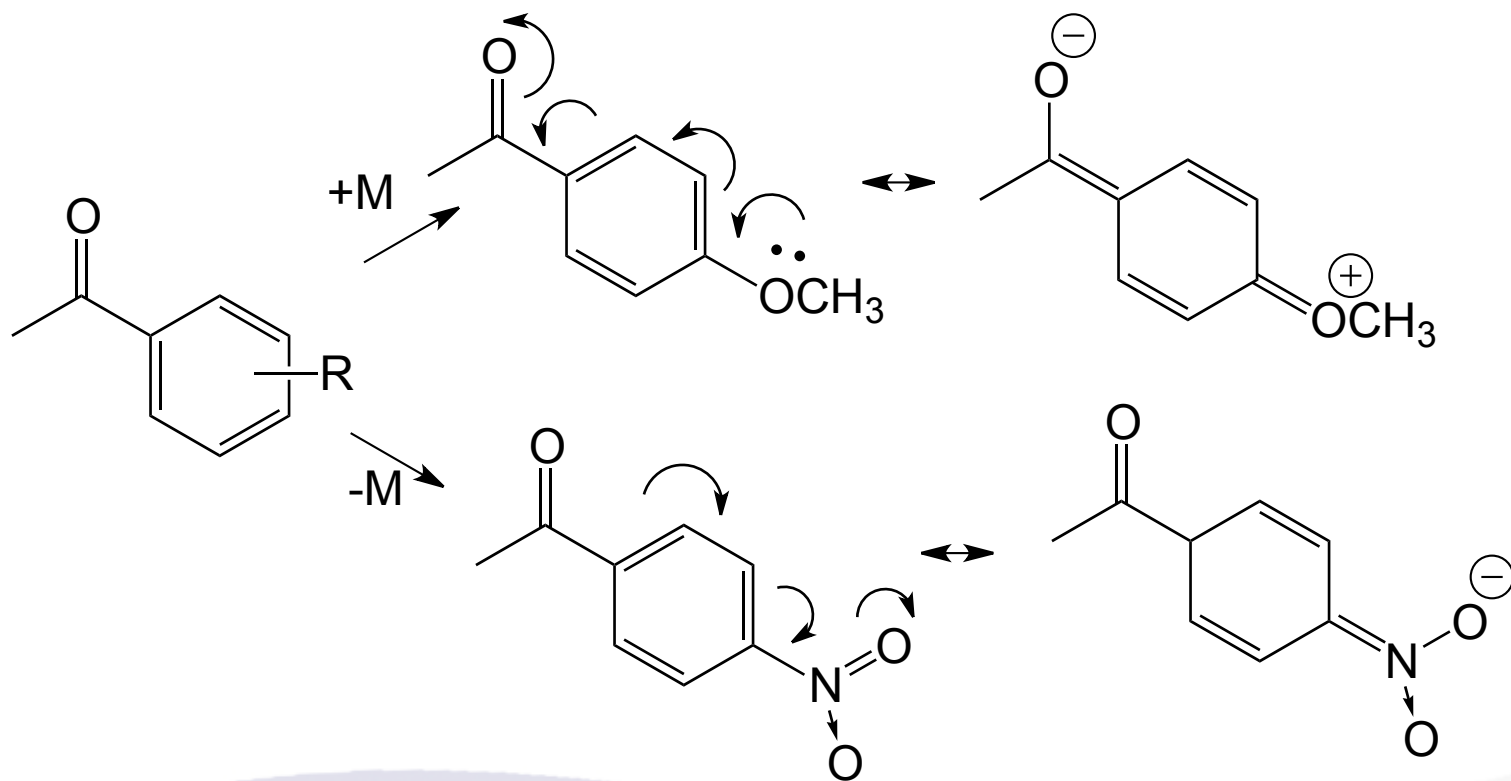


Il sostituito va ad influenzare la costante di forza, K , del legame C=O e, di conseguenza, la frequenza di assorbimento, ν (ovvero il numero d'onda, $\bar{\nu}$).

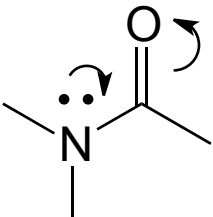
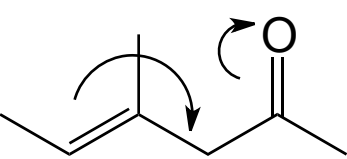
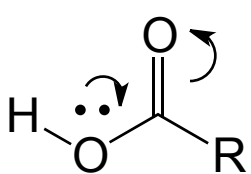
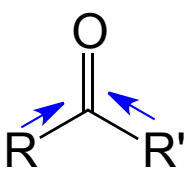
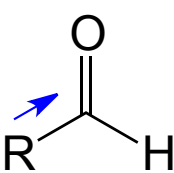
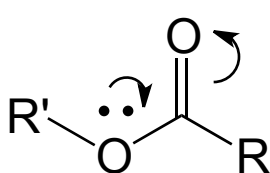
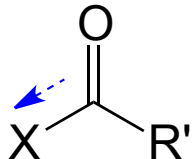
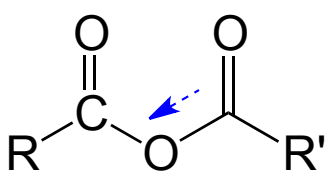
Es.



Se presenti sostituenti sull'anello, essi influenzeranno la forza del π legame tra C ed O, a seconda della loro natura. Infatti sostituenti elettron-repulsori (es. $-\text{OCH}_3$, $-\text{CH}_3$, ecc..), delocalizzeranno maggiormente la carica negativa indebolendo così il π legame, quindi $\downarrow K$ e $\downarrow \bar{\nu}$; viceversa nel caso di sostituenti elettron-attrattori (es. NO_2): $\uparrow K$ e $\uparrow \bar{\nu}$.

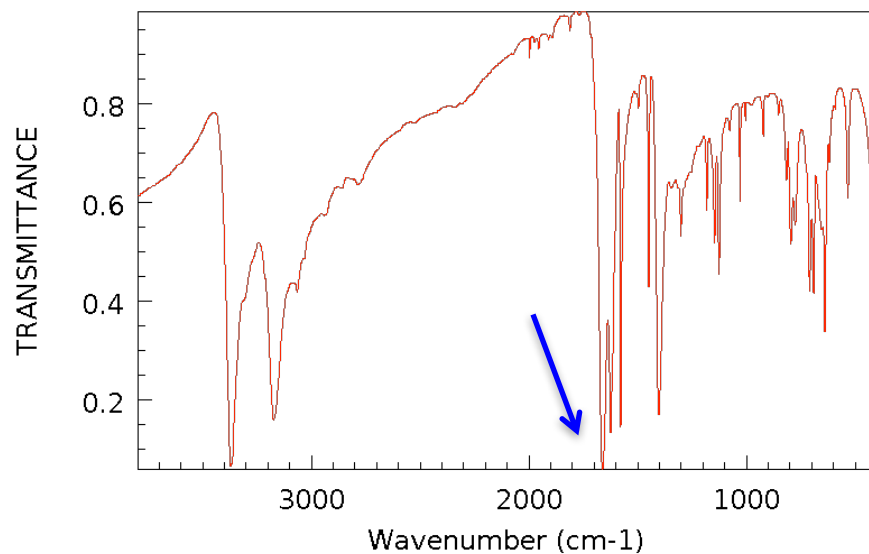


Il discorso appena fatto vale in generale, per cui si avrà un andamento del tipo:

| | | | |
|---|--|---|---|
| <p>Ammidi (+M)</p>  <p>$<1700 \text{ cm}^{-1}$</p> | <p>Coniugati (+M)</p>  <p>$<1700 \text{ cm}^{-1}$</p> | <p>Ac. carbossilici (+M)</p>  <p>$\sim 1715 \text{ cm}^{-1}$</p> | <p>Chetoni (+I)</p>  <p>1720 cm^{-1}</p> |
| <p>Aldeidi (+I)</p>  <p>$\sim 1740 \text{ cm}^{-1}$</p> | <p>Esteri (+M)</p>  <p>$\sim 1740 \text{ cm}^{-1}$</p> | <p>Alogenuri acilici (-I)</p>  <p>$\sim 1800 \text{ cm}^{-1}$</p> | <p>Anidridi (-I)</p>  <p>$\sim 1850 \text{ e } \sim 1750 \text{ cm}^{-1}$</p> |

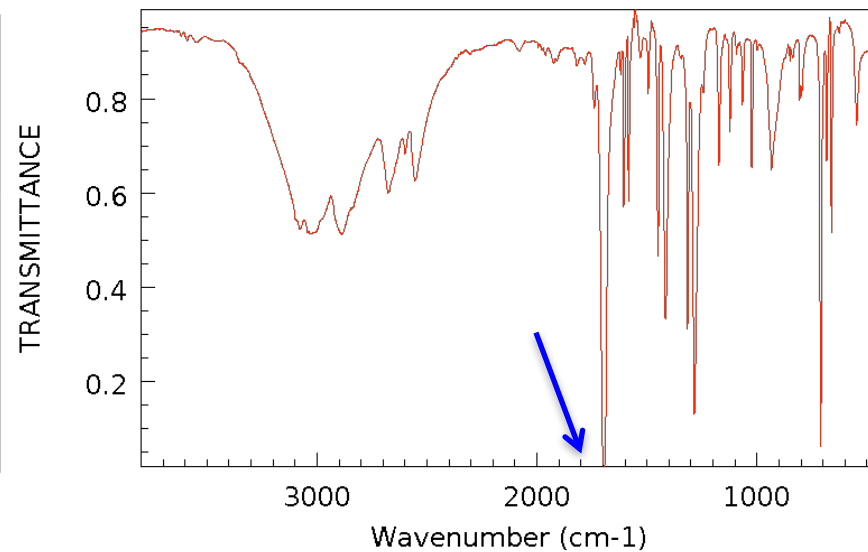
$\bar{\nu}$ Aumenterà con la stabilizzazione del doppio legame C=O.

BENZAMIDE
INFRARED SPECTRUM



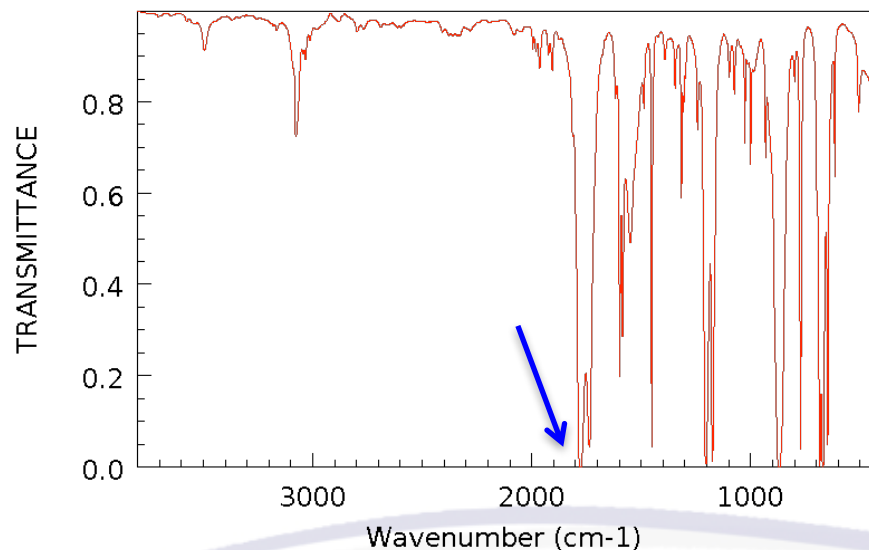
NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

Benzoic acid
INFRARED SPECTRUM



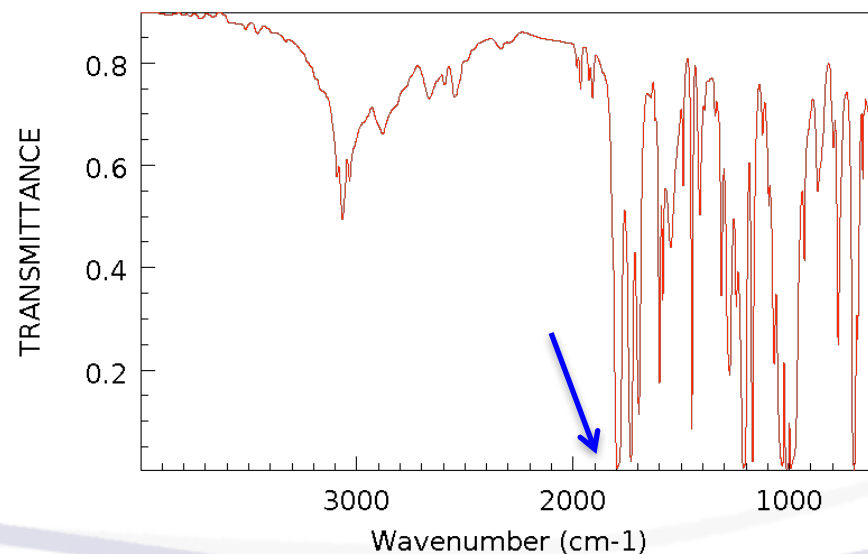
NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

BENZOYL CHLORIDE
INFRARED SPECTRUM



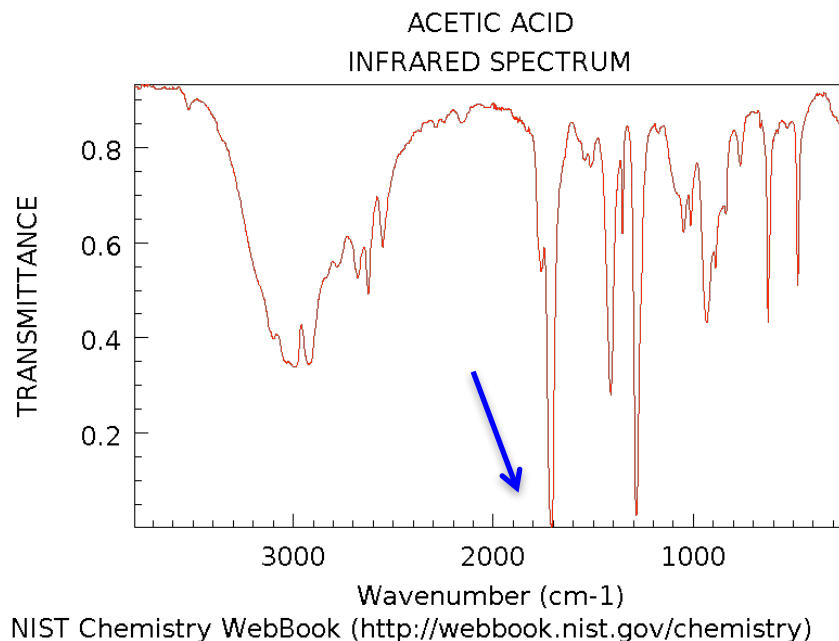
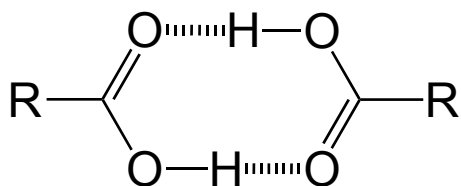
NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

BENZOIC ANHYDRIDE
INFRARED SPECTRUM



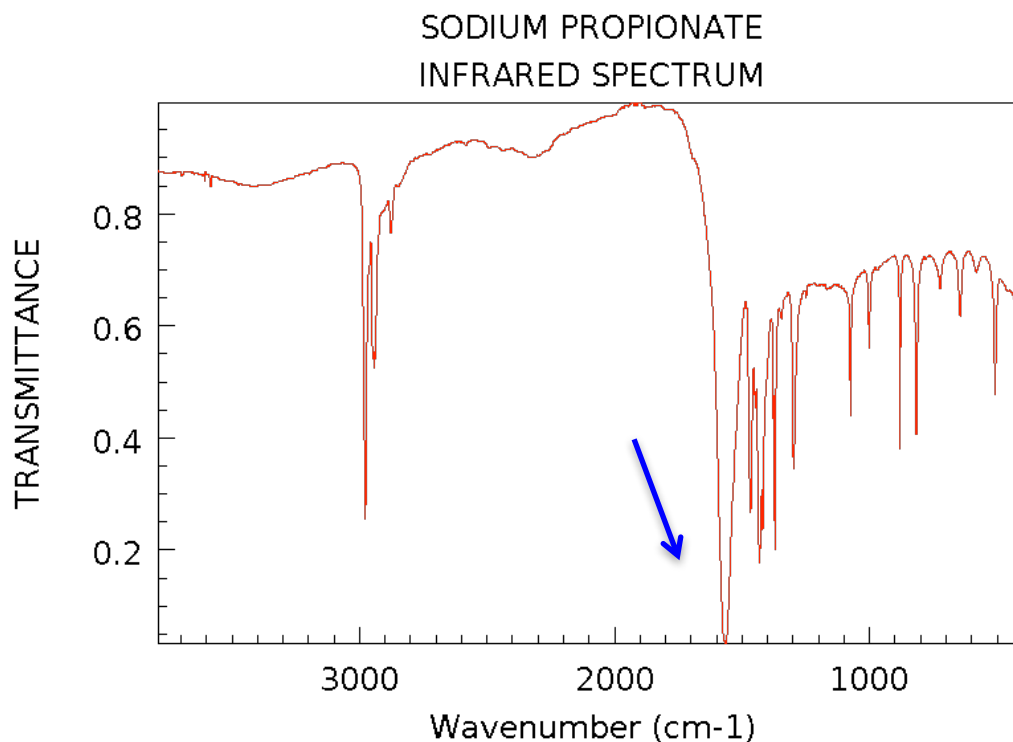
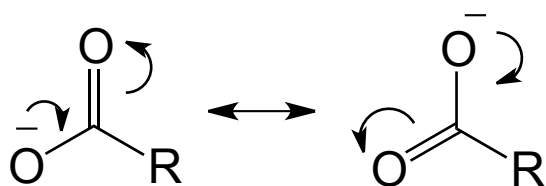
NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

Infine bisogna ricordare che gli acidi carbossilici daranno anche una banda relativa allo stretching O-H allargata verso i 3000 cm^{-1} e, inoltre, formeranno dei dimeri che indeboliranno (per leg-H) il legame C=O che cadrà a frequenze minori :



- $\bar{\nu}$ O-H: $\sim 3000\text{ cm}^{-1}$ banda larga con più massimi a cause del leg.-H
- $\bar{\nu}$ C=O: ~ 1710 (~~1760~~) cm^{-1} banda intensa monomero (raramente singola) più frequente <1700 (~~1710~~) cm^{-1} banda intensa dimero (diminuisce la K per il leg.H)
- $\bar{\nu}$ C-O: $\sim 1300\text{ cm}^{-1}$ banda intensa

Lo ione carbossilato, non avendo il carattere “puro” di doppio legame, ma un ordine di legame 1,5 a causa delle 2 forme di risonanza, presenta lo stretching del legame C=O a frequenze minori di tutti, ovvero anche < 1600 (banda forte, $\bar{\nu}$ ass.).



NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)

Gruppo nitroso (N=O) e nitro (NO₂)

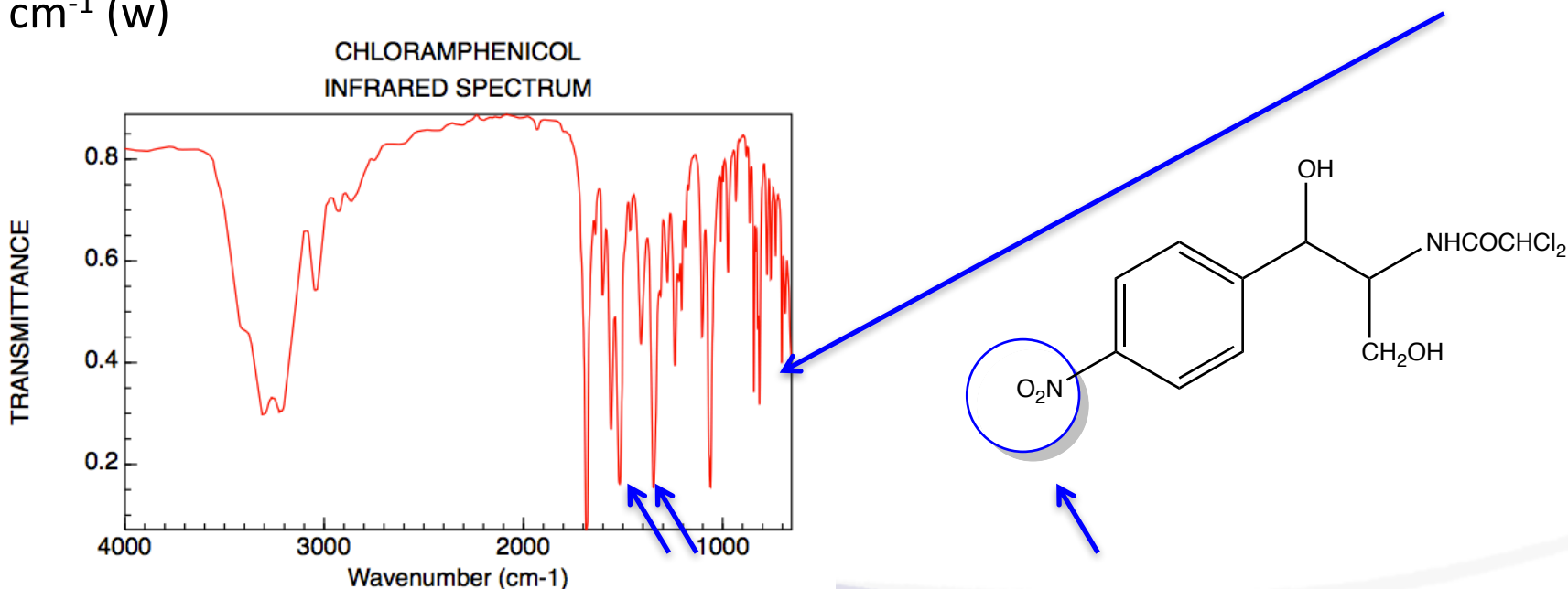
Sono vibrazioni paragonabili al gruppo carbonilico, ma con K minore e frequenze minori. Stretching dei doppi legami nella zona B, più lo stiramento dei rispettivi legami semplici.

Nitroso:

Stretching (ν) N=O: 1550-1600 cm⁻¹ (s) e stretching (ν) C-N: \approx 1100 cm⁻¹ (s)

Nitro:

Stretching NO₂: (ν_{sim}) \approx 1550 cm⁻¹ (s) e (ν_{asim}) \approx 1370 cm⁻¹ (s); stretching (ν) C-N: \approx 900 cm⁻¹ (w)

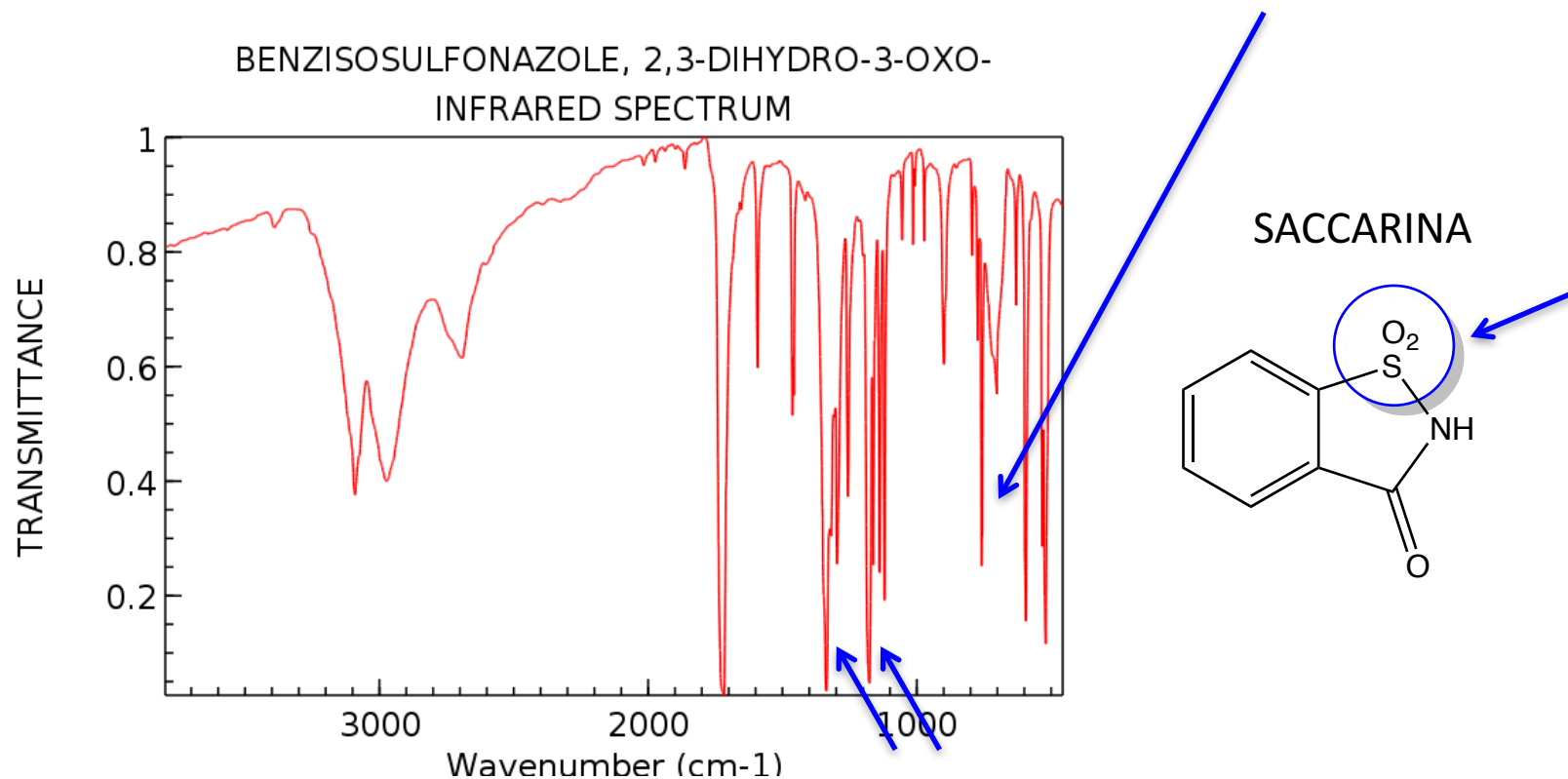


Gruppo solfo (S=O) e fosfo (P=O)

Solfo e fosfo:

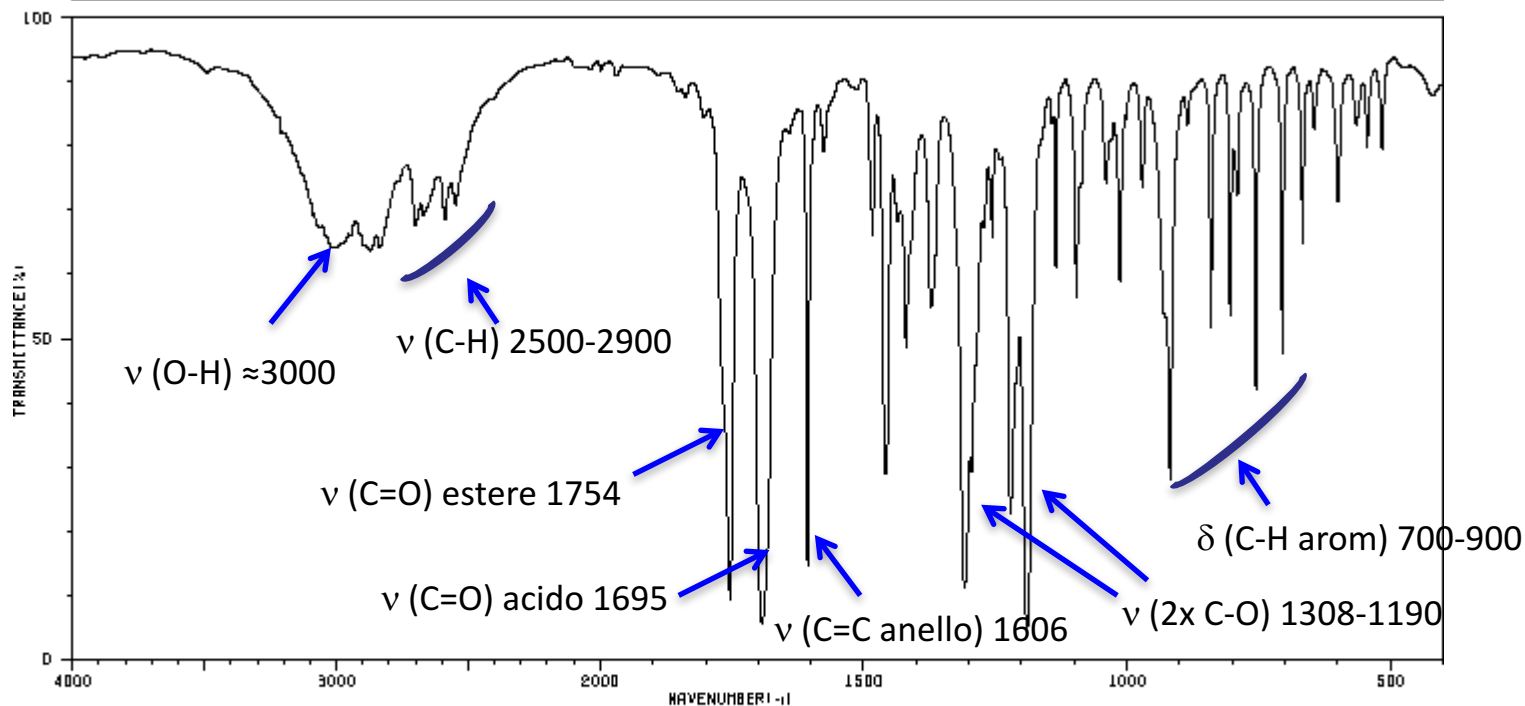
Stretching (ν) P=O e S=O: 1000-1480 cm^{-1} (2 bande: ν_{sim} e ν_{asim})

Anche: Stretching (ν) P-O: 1000-1250 cm^{-1} e S-O e C-S: da 1000 cm^{-1} in giù

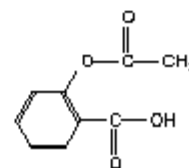


ACIDO ACETILSALICILICO

| | | | |
|-----------------------|------------|-------------|--------------------------|
| HIT-NO=1022 | SCORE= () | SDBS-NO=532 | IR-NIDA-63853 : KBR DISC |
| O-ACETOXYBENZOIC ACID | | | |
| $C_9H_8O_4$ | | | |

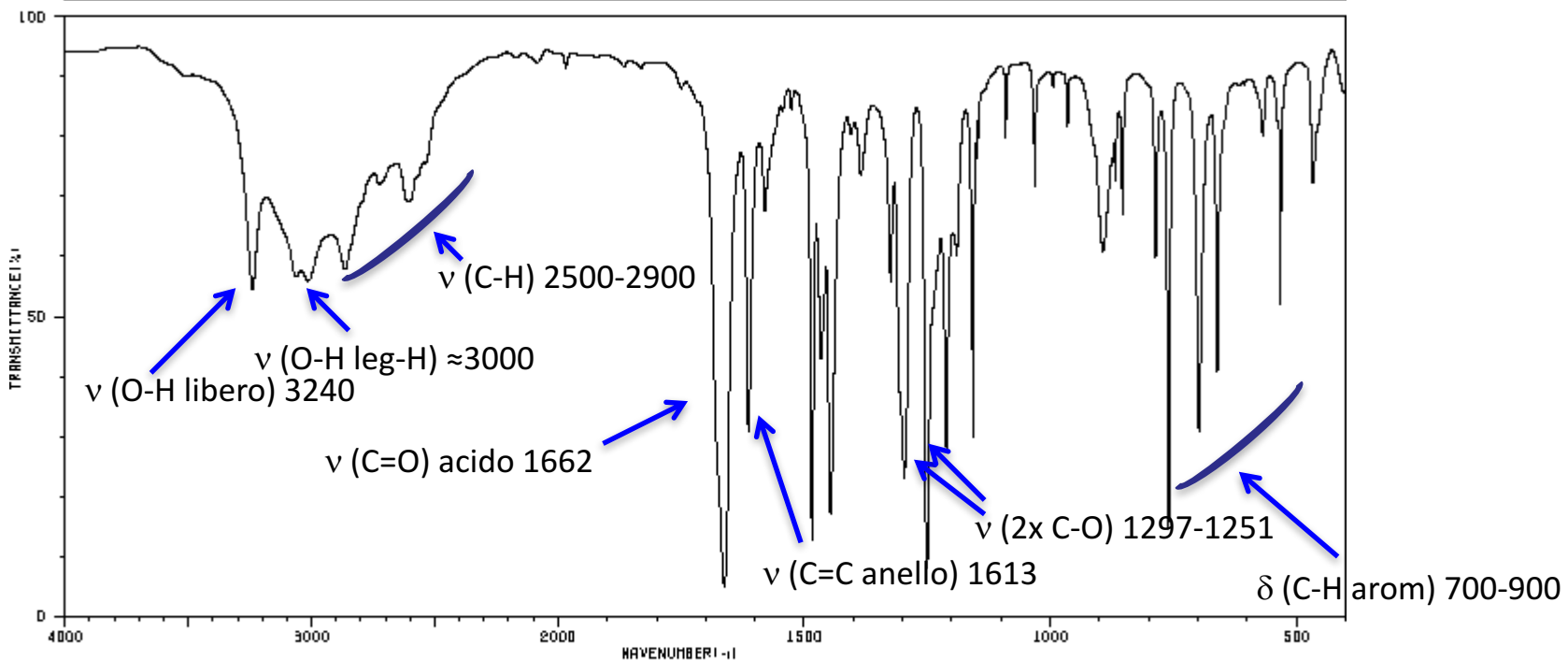


| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|------|----|-----|----|
| 3006 | 62 | 2983 | 66 | 1436 | 66 | 1222 | 21 | 918 | 26 |
| 2983 | 62 | 2548 | 68 | 1420 | 47 | 1190 | 4 | 841 | 50 |
| 2891 | 62 | 1754 | 9 | 1372 | 53 | 1136 | 58 | 805 | 52 |
| 2872 | 62 | 1693 | 6 | 1308 | 10 | 1096 | 66 | 766 | 41 |
| 2834 | 62 | 1606 | 14 | 1295 | 28 | 1014 | 57 | 706 | 46 |
| 2701 | 66 | 1483 | 64 | 1272 | 84 | 971 | 70 | 667 | 62 |
| 2670 | 66 | 1459 | 27 | 1257 | 64 | 928 | 62 | 600 | 68 |



ACIDO SALICILICO

| | | | |
|----------------|------------|--------------|--------------------------|
| HIT-NO=1330 | SCORE= () | SDBS-NO=1149 | IR-NIDA-08453 : KBR DISC |
| SALICYLIC ACID | | | |
| $C_7H_6O_3$ | | | |

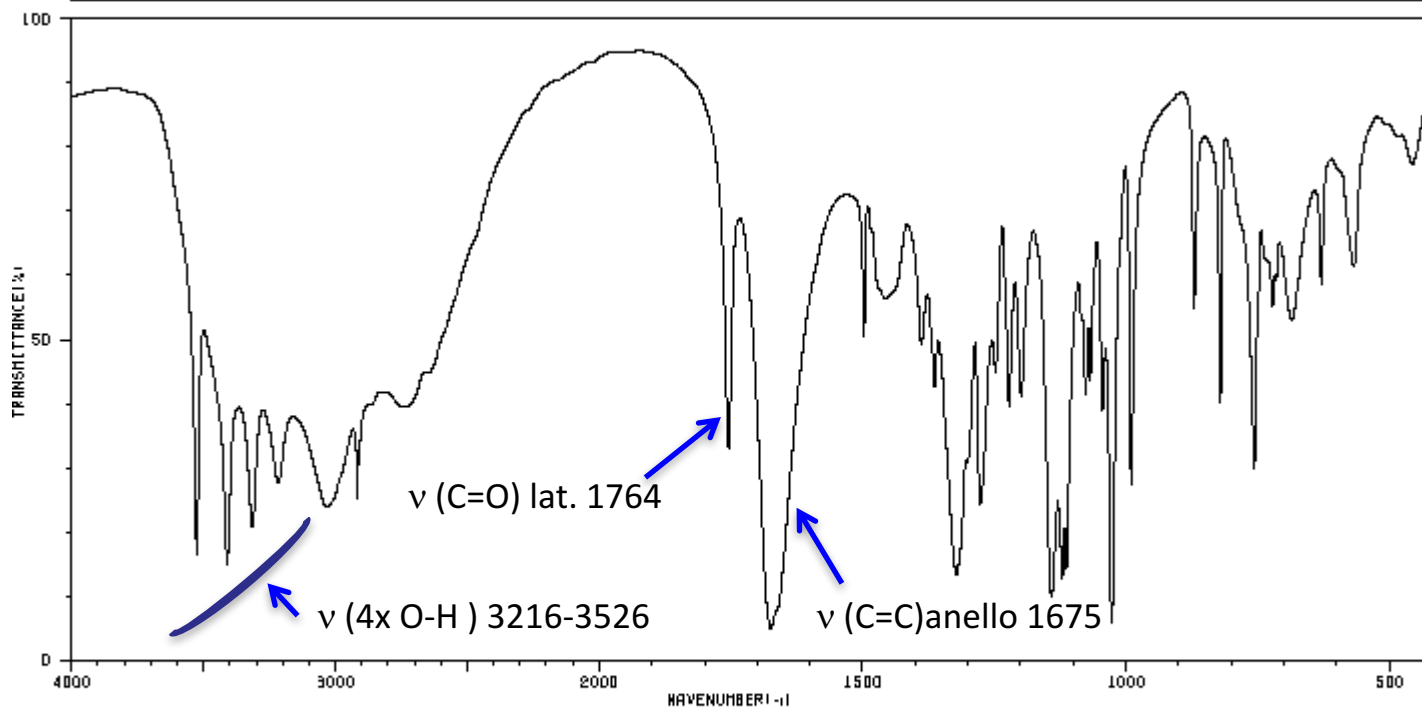


| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|------|----|-----|----|
| 3240 | 62 | 1680 | 64 | 1326 | 63 | 1161 | 72 | 786 | 67 |
| 3013 | 53 | 1527 | 81 | 1297 | 21 | 1091 | 77 | 760 | 13 |
| 2864 | 55 | 1484 | 12 | 1251 | 7 | 1032 | 68 | 699 | 29 |
| 2724 | 70 | 1467 | 41 | 1239 | 49 | 966 | 79 | 661 | 38 |
| 2605 | 66 | 1447 | 16 | 1212 | 26 | 893 | 58 | 589 | 77 |
| 1662 | 4 | 1405 | 77 | 1190 | 58 | 868 | 70 | 533 | 50 |
| 1613 | 29 | 1386 | 70 | 1167 | 28 | 863 | 64 | 467 | 70 |

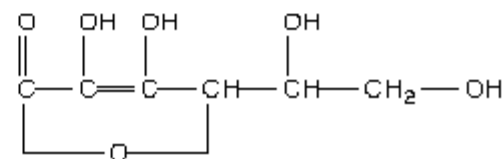
O=C(O)c1ccccc1O

ACIDO ASCORBICO

| | | | |
|-----------------|------------|--------------|--------------------------|
| HIT-NO=1567 | SCORE= () | SDBS-NO=1605 | IR-NIDA-04374 : KBR DISC |
| L-ASCORBIC ACID | | | |
| $C_6H_8O_6$ | | | |

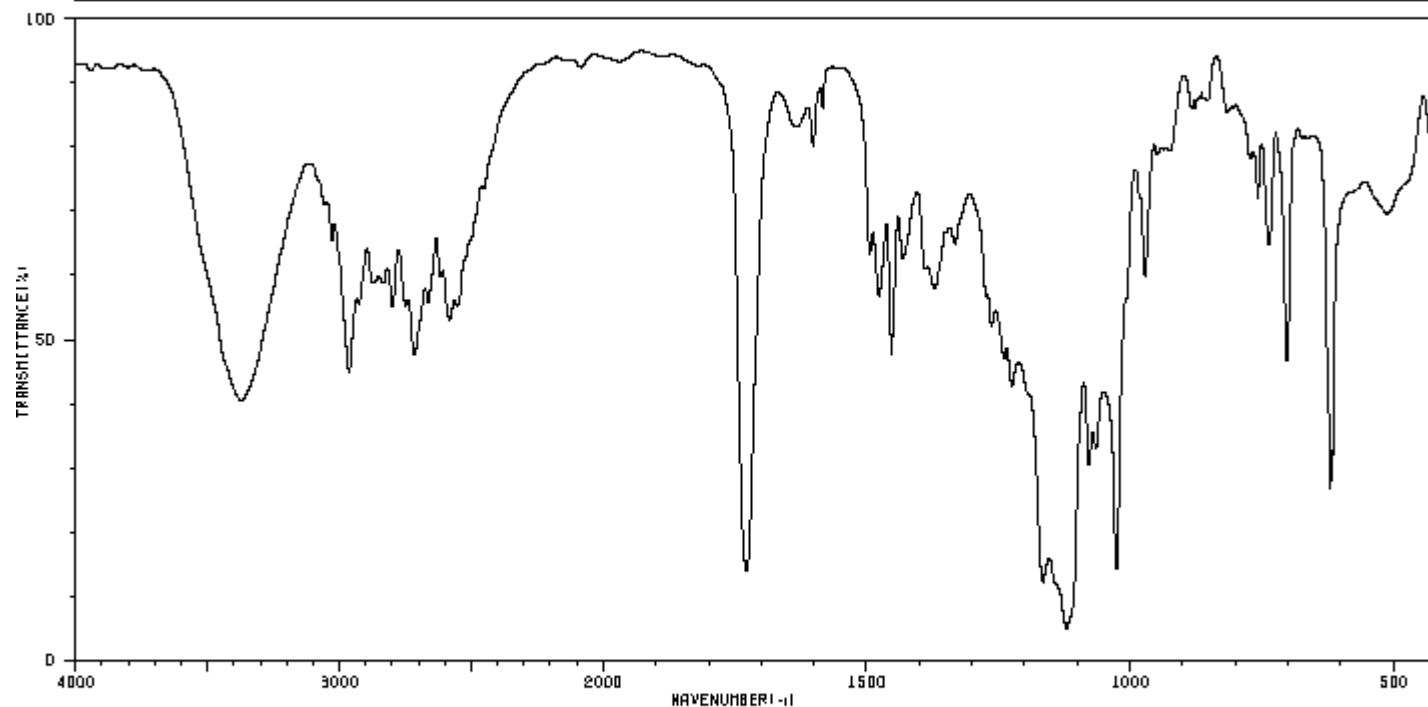


| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|
| 3526 | 16 | 2760 | 37 | 1463 | 66 | 1199 | 39 | 1027 | 6 |
| 3410 | 14 | 2739 | 37 | 1389 | 47 | 1142 | 9 | 990 | 26 |
| 3316 | 20 | 2729 | 36 | 1364 | 41 | 1121 | 12 | 871 | 52 |
| 3216 | 26 | 1764 | 32 | 1322 | 12 | 1113 | 19 | 821 | 38 |
| 3030 | 23 | 1675 | 4 | 1277 | 23 | 1077 | 39 | 757 | 28 |
| 2917 | 23 | 1497 | 49 | 1246 | 43 | 1066 | 42 | 722 | 53 |
| 2907 | 33 | 1468 | 63 | 1222 | 38 | 1046 | 37 | 686 | 60 |

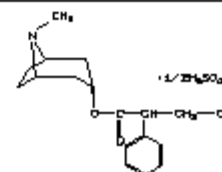


ATROPINA Solfato

| | | | |
|--|------------|--------------|--------------------------|
| HIT-N0=4873 | SCORE= () | SDBS-N0=7818 | IR-NIDA-30192 : KBR DISC |
| ATROPINE SULFATE | | | |
| $C_{17}H_{23}NO_3 \cdot K_2H_2O_4 \cdot 8H_2O$ | | | |

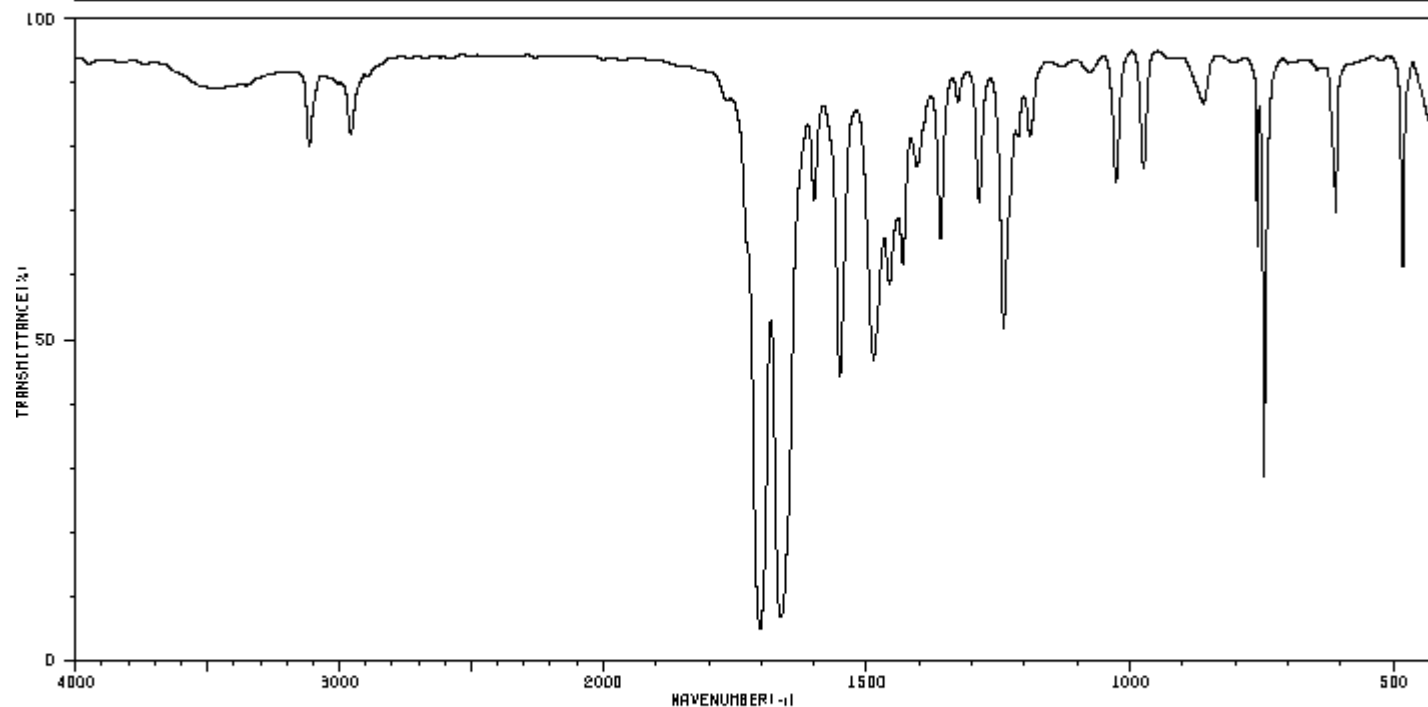


| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|------|----|-----|----|
| 3370 | 39 | 2716 | 46 | 1477 | 66 | 1226 | 41 | 772 | 74 |
| 3029 | 62 | 2663 | 53 | 1453 | 46 | 1166 | 12 | 758 | 70 |
| 2963 | 43 | 2617 | 57 | 1432 | 80 | 1121 | 4 | 737 | 62 |
| 2869 | 67 | 2583 | 62 | 1371 | 66 | 1078 | 29 | 703 | 44 |
| 2852 | 57 | 2554 | 53 | 1332 | 62 | 1065 | 32 | 620 | 26 |
| 2833 | 57 | 1728 | 19 | 1263 | 50 | 1026 | 19 | 611 | 57 |
| 2798 | 63 | 1494 | 60 | 1240 | 44 | 972 | 67 | 612 | 66 |

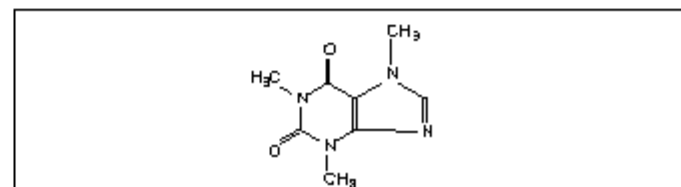


CAFFEINA

| | | | |
|-------------------|------------|--------------|--------------------------|
| HIT-N0=1705 | SCORE= () | S0BS-N0=1898 | IR-NIDA-62055 : KBR DISC |
| CAFFEINE | | | |
| $C_8H_{10}N_4O_2$ | | | |

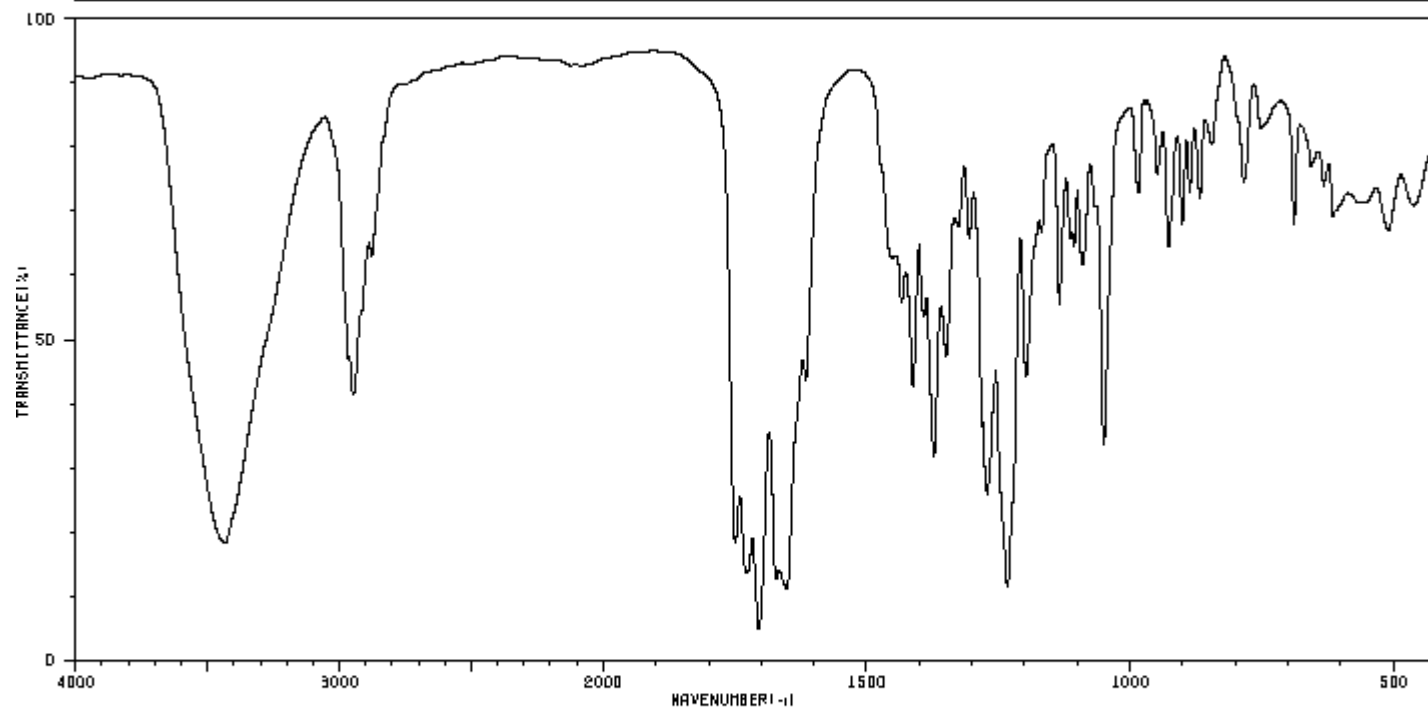


| | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|-----|----|
| 3114 | 77 | 1456 | 57 | 1213 | 79 | 610 | 66 |
| 2955 | 79 | 1431 | 58 | 1190 | 79 | 482 | 58 |
| 1702 | 4 | 1405 | 74 | 1026 | 72 | | |
| 1662 | 6 | 1360 | 64 | 974 | 74 | | |
| 1600 | 68 | 1327 | 84 | 861 | 84 | | |
| 1551 | 42 | 1287 | 68 | 759 | 82 | | |
| 1487 | 44 | 1241 | 50 | 746 | 27 | | |

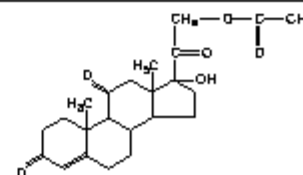


CORTISONE Acetato

| | | | |
|--|------------|---------------|--------------------------|
| HIT-NO=5880 | SCORE= () | SDBS-NO=11048 | IR-NIDA-05284 : KBR DISC |
| 21-ACETOXY-17ALPHA-HYDROXY-4-PREGNENE-3,11,20-TRIONE | | | |
| $C_{23}H_{30}O_6$ | | | |

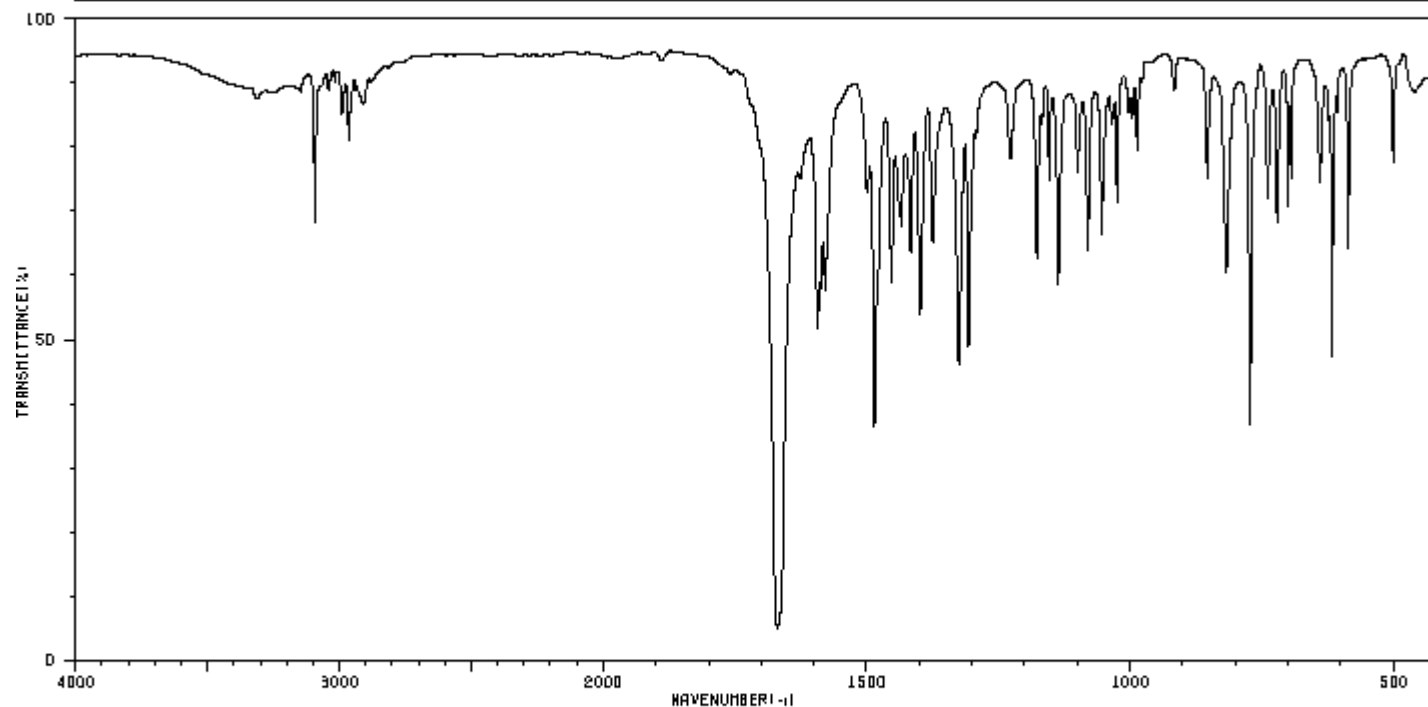


| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|------|----|-----|----|
| 3436 | 17 | 1672 | 12 | 1349 | 46 | 1169 | 64 | 901 | 66 |
| 2968 | 44 | 1652 | 10 | 1326 | 64 | 1134 | 53 | 689 | 66 |
| 2947 | 39 | 1615 | 42 | 1306 | 82 | 1114 | 62 | 615 | 66 |
| 2877 | 60 | 1434 | 69 | 1281 | 35 | 1106 | 62 | 601 | 68 |
| 1750 | 17 | 1412 | 41 | 1271 | 25 | 1090 | 58 | 563 | 68 |
| 1727 | 13 | 1391 | 52 | 1233 | 11 | 1050 | 32 | 557 | 68 |
| 1706 | 4 | 1372 | 30 | 1198 | 42 | 927 | 62 | 509 | 64 |

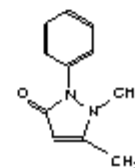


FENAZONE

| | | | |
|---|------------|---------------|--------------------------|
| HIT-NO=9486 | SCORE= () | SDBS-NO=22106 | IR-NIDA-52381 : KBR DISC |
| 2,3-DIMETHYL-1-PHENYL-3-PYRAZOLIN-5-ONE | | | |
| $C_{11}H_{12}N_2O$ | | | |

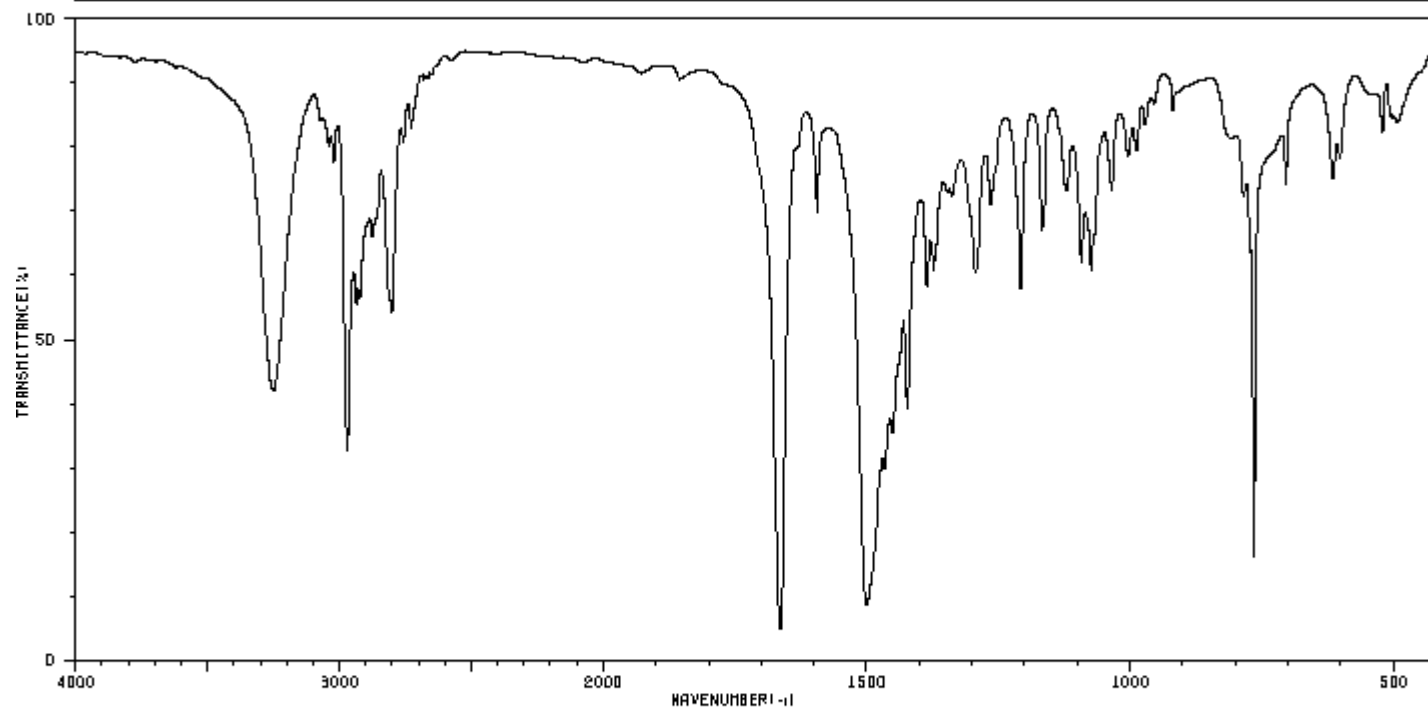


| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|------|----|-----|----|
| 3093 | 66 | 1464 | 57 | 1307 | 47 | 1063 | 64 | 721 | 56 |
| 1669 | 4 | 1440 | 68 | 1227 | 74 | 1025 | 68 | 701 | 68 |
| 1593 | 50 | 1435 | 66 | 1177 | 80 | 987 | 77 | 695 | 72 |
| 1587 | 66 | 1417 | 60 | 1164 | 72 | 863 | 72 | 640 | 72 |
| 1579 | 55 | 1399 | 52 | 1137 | 57 | 818 | 58 | 617 | 46 |
| 1499 | 70 | 1375 | 62 | 1099 | 72 | 772 | 35 | 586 | 62 |
| 1486 | 36 | 1326 | 44 | 1080 | 62 | 739 | 70 | 501 | 74 |

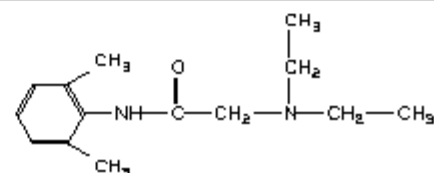


LIDOCAINA

| | | | |
|---------------------------------------|------------|---------------|--------------------------|
| HIT-N0=13315 | SCORE= () | SDBS-N0=27423 | IR-NIDA-38059 : KBR DISC |
| 2-DIETHYLAMINO-N-(2,6-XYLYL)ACETAMIDE | | | |
| $C_{14}H_{22}N_2O$ | | | |

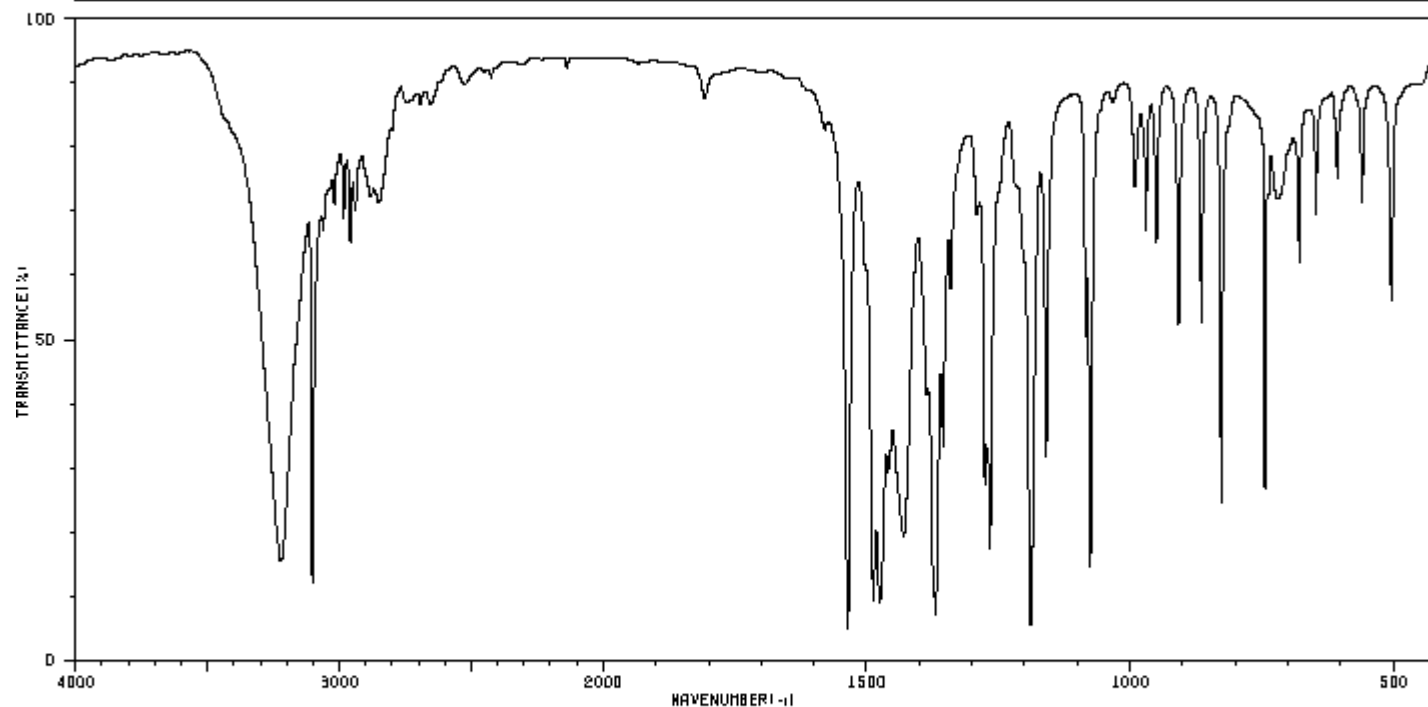


| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|
| 3260 | 41 | 2801 | 52 | 1423 | 37 | 1208 | 55 | 1004 | 74 |
| 3039 | 77 | 2757 | 77 | 1386 | 57 | 1167 | 64 | 784 | 70 |
| 3022 | 74 | 1664 | 4 | 1373 | 58 | 1120 | 70 | 772 | 60 |
| 2970 | 31 | 1694 | 68 | 1338 | 70 | 1093 | 60 | 765 | 16 |
| 2936 | 53 | 1500 | 8 | 1293 | 58 | 1074 | 58 | 704 | 70 |
| 2923 | 55 | 1467 | 28 | 1265 | 86 | 1058 | 64 | 616 | 72 |
| 2874 | 64 | 1451 | 34 | 1255 | 74 | 1035 | 70 | 602 | 74 |

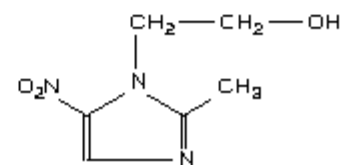


METRONIDAZOLO

| | | | |
|--|------------|---------------|--------------------------|
| HIT-NO=8228 | SCORE= () | SDBS-NO=18702 | IR-NIDA-61394 : KBR DISC |
| 2-(2-METHYL-5-NITRO-1-IMIDAZOLYL)ETHANOL | | | |
| $C_6H_9N_3O_3$ | | | |

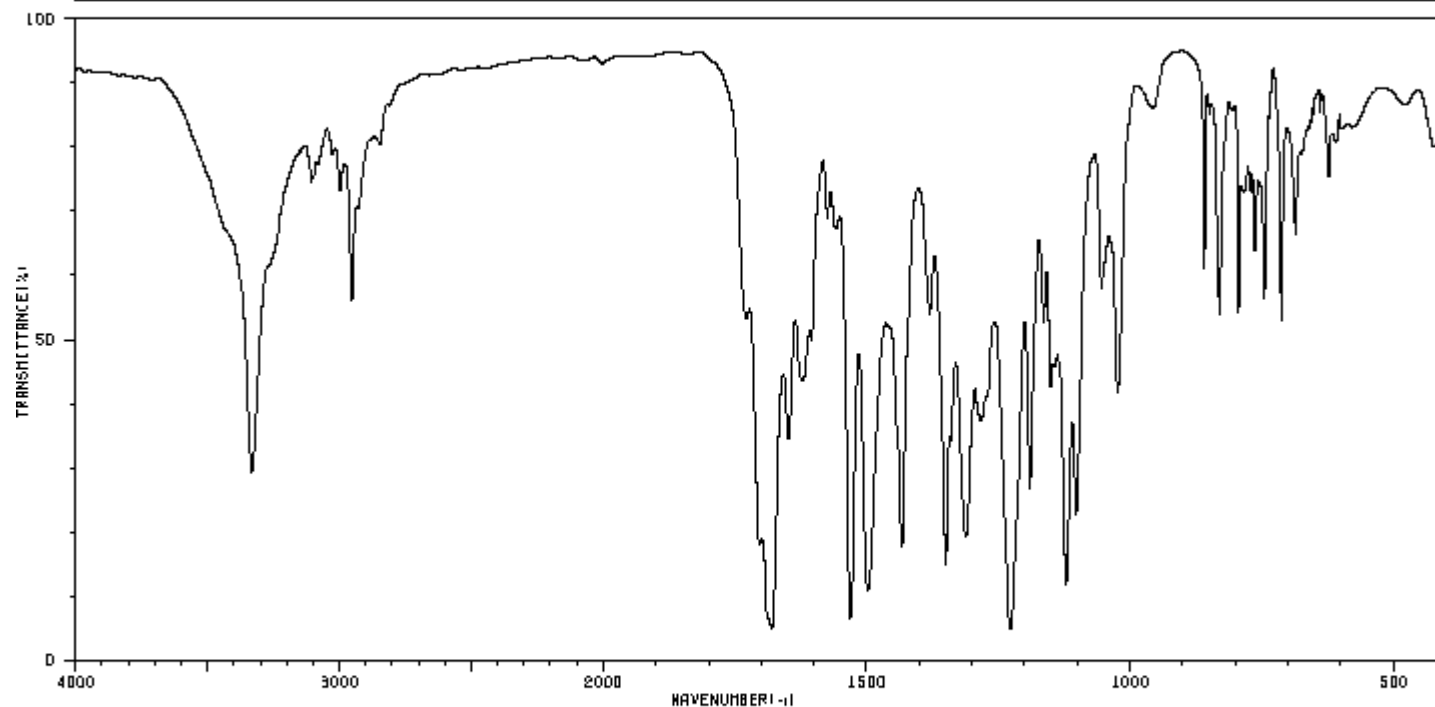


| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|------|----|-----|----|
| 3221 | 14 | 2880 | 70 | 1386 | 39 | 1189 | 6 | 866 | 60 |
| 3102 | 11 | 2851 | 68 | 1370 | 7 | 1160 | 30 | 827 | 23 |
| 3061 | 84 | 1538 | 4 | 1355 | 32 | 1084 | 49 | 745 | 26 |
| 3019 | 68 | 1488 | 9 | 1341 | 66 | 1076 | 14 | 679 | 60 |
| 2983 | 66 | 1475 | 8 | 1291 | 66 | 970 | 64 | 647 | 66 |
| 2956 | 62 | 1460 | 28 | 1276 | 26 | 950 | 62 | 560 | 68 |
| 2940 | 68 | 1430 | 18 | 1266 | 16 | 908 | 60 | 506 | 63 |

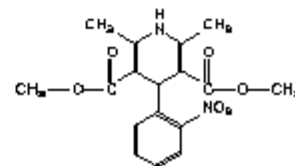


NIFEDIPINA

| | | | |
|---|------------|--------------|--------------------------|
| HIT-NO=5127 | SCORE= () | SDBS-NO=9750 | IR-NIDA-48654 : KBR DISC |
| DIMETHYL 2,6-DIMETHYL-4-(O-NITROPHENYL)-1,4-DIHYDRO-3,5-PYRIDINEDICARBOXYLATE | | | |
| $C_{17}H_{16}N_2O_6$ | | | |

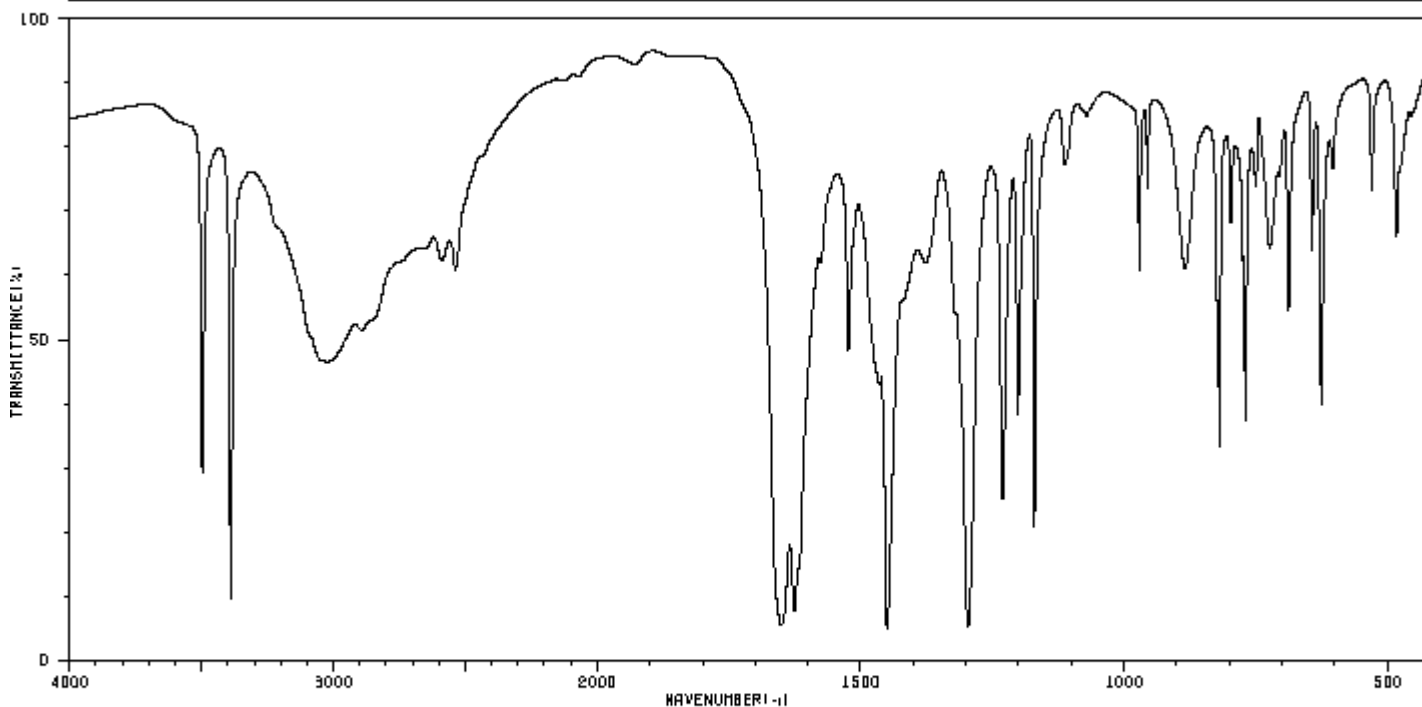


| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|------|----|-----|----|
| 3333 | 26 | 1622 | 42 | 1380 | 62 | 1155 | 50 | 859 | 58 |
| 2952 | 53 | 1604 | 49 | 1350 | 14 | 1152 | 41 | 830 | 52 |
| 2929 | 88 | 1574 | 65 | 1341 | 33 | 1145 | 44 | 795 | 52 |
| 1728 | 62 | 1558 | 64 | 1312 | 18 | 1121 | 11 | 764 | 62 |
| 1687 | 6 | 1531 | 6 | 1283 | 36 | 1102 | 21 | 746 | 53 |
| 1660 | 4 | 1498 | 10 | 1227 | 4 | 1054 | 55 | 713 | 50 |
| 1649 | 33 | 1433 | 17 | 1190 | 26 | 1023 | 38 | 687 | 64 |



ACIDO *p*-AMINOSALICILICO

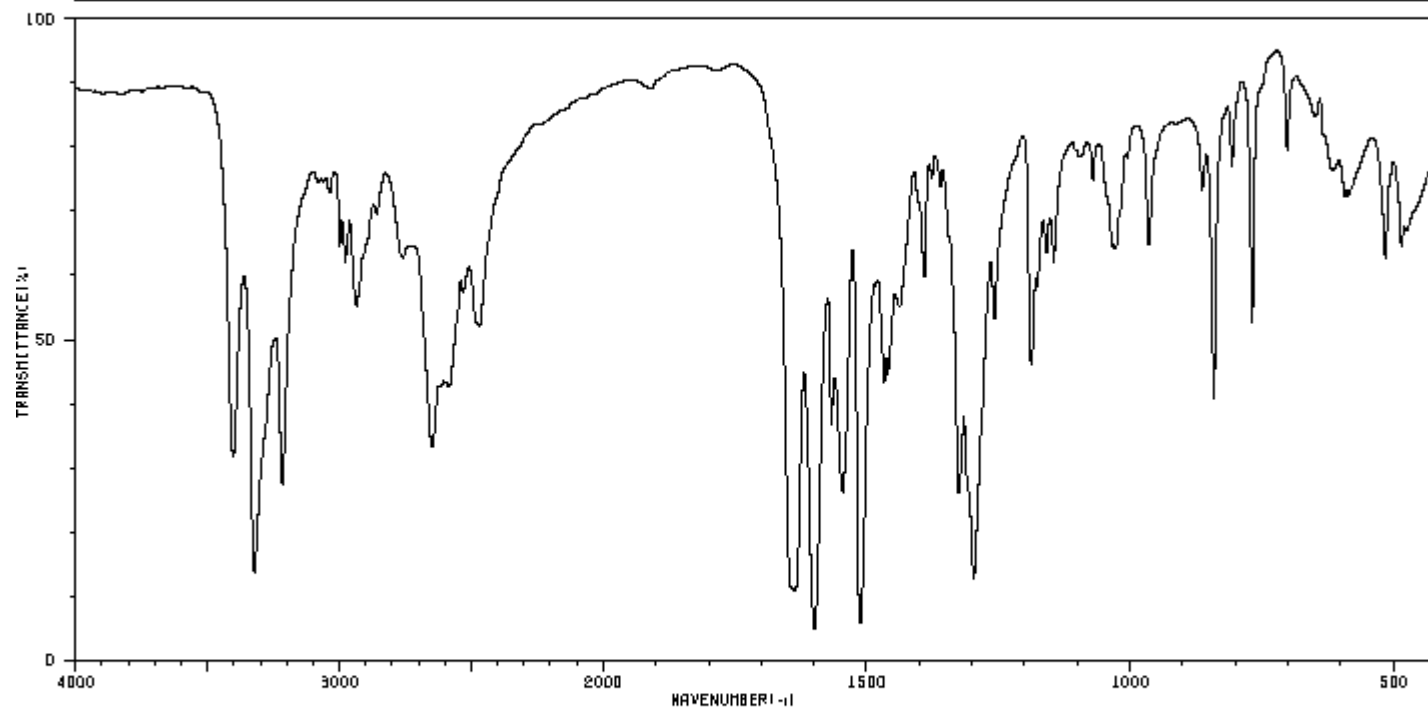
| | | | |
|-----------------------|------------|--------------|--------------------------|
| HIT-NO=1428 | SCORE= () | SDBS-NO=1380 | IR-NIDA-04163 : KBR DISC |
| 4-AMINOSALICYLIC ACID | | | |
| $C_7H_7NO_3$ | | | |



| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|-----|----|-----|----|
| 3497 | 26 | 1626 | 7 | 1202 | 37 | 819 | 32 | 644 | 52 |
| 3389 | 9 | 1617 | 13 | 1171 | 20 | 797 | 66 | 626 | 38 |
| 3027 | 44 | 1523 | 46 | 1113 | 74 | 775 | 60 | 604 | 74 |
| 3017 | 44 | 1460 | 4 | 1071 | 81 | 770 | 36 | 630 | 70 |
| 2588 | 60 | 1377 | 58 | 971 | 58 | 750 | 70 | 483 | 64 |
| 2537 | 56 | 1297 | 5 | 956 | 70 | 724 | 62 | | |
| 1650 | 5 | 1231 | 23 | 884 | 68 | 688 | 62 | | |

PROCAINAMIDE Cloridrato

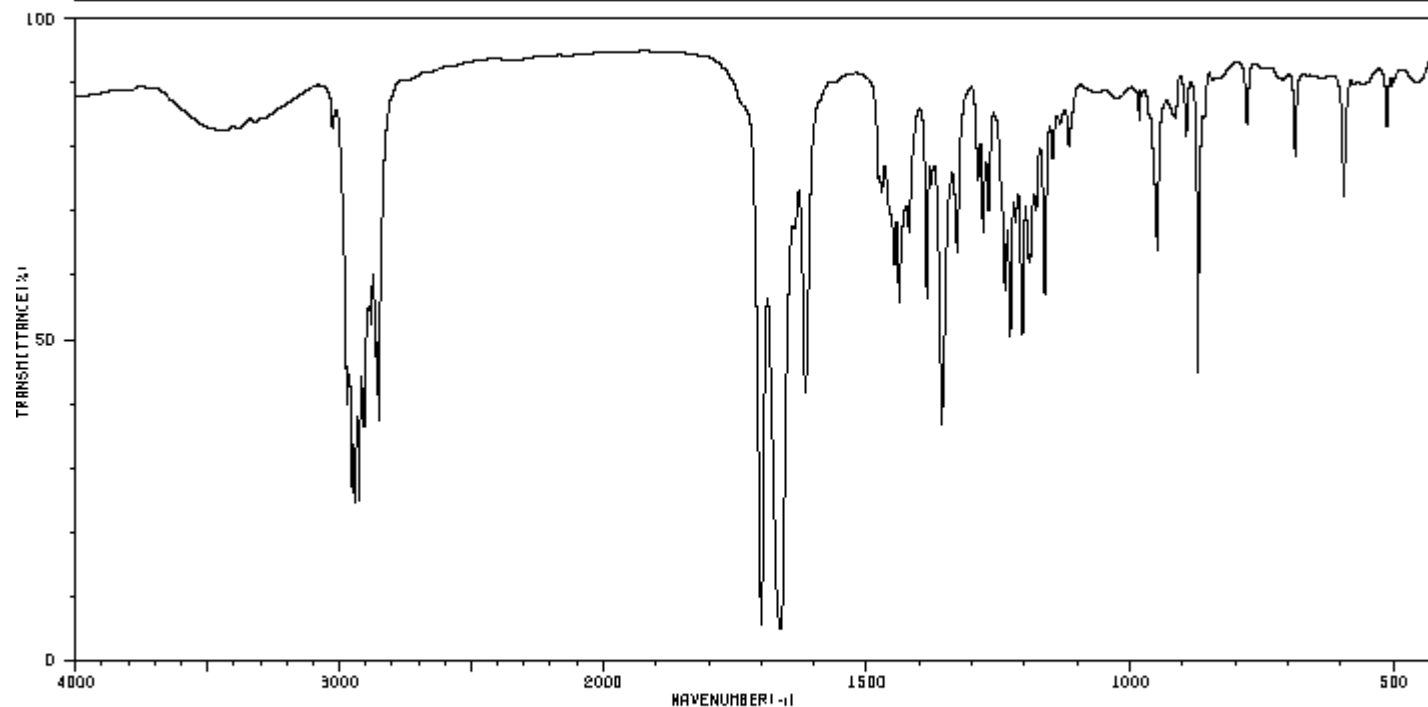
| | | | |
|--|------------|---------------|--------------------------|
| HIT-NO=9158 | SCORE= () | SDBS-NO=21422 | IR-NIDA-26545 : KBR DISC |
| P-AMINO-N-(2-(DIETHYLAMINO)ETHYL)BENZAMIDE HYDROCHLORIDE | | | |
| $C_{15}H_{21}N_3O \cdot HCl$ | | | |



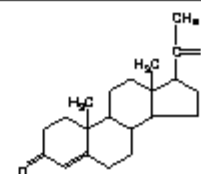
| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|
| 3403 | 30 | 2648 | 32 | 1636 | 10 | 1438 | 63 | 1160 | 60 |
| 3323 | 13 | 2619 | 41 | 1599 | 4 | 1390 | 57 | 1145 | 60 |
| 3216 | 26 | 2583 | 41 | 1567 | 35 | 1326 | 25 | 1034 | 62 |
| 2998 | 62 | 2531 | 66 | 1546 | 26 | 1297 | 12 | 964 | 62 |
| 2978 | 60 | 2481 | 50 | 1512 | 5 | 1258 | 52 | 841 | 38 |
| 2936 | 53 | 2468 | 50 | 1467 | 42 | 1188 | 44 | 768 | 50 |
| 2760 | 60 | 1643 | 10 | 1460 | 43 | 1177 | 67 | 616 | 60 |

PROGESTERONE

| | | | |
|-------------------|------------|---------------|--------------------------|
| HIT-NO=5851 | SCORE= () | SDBS-NO=11019 | IR-NIDA-05241 : KBR DISC |
| PROGESTERONE | | | |
| $C_{21}H_{30}O_2$ | | | |

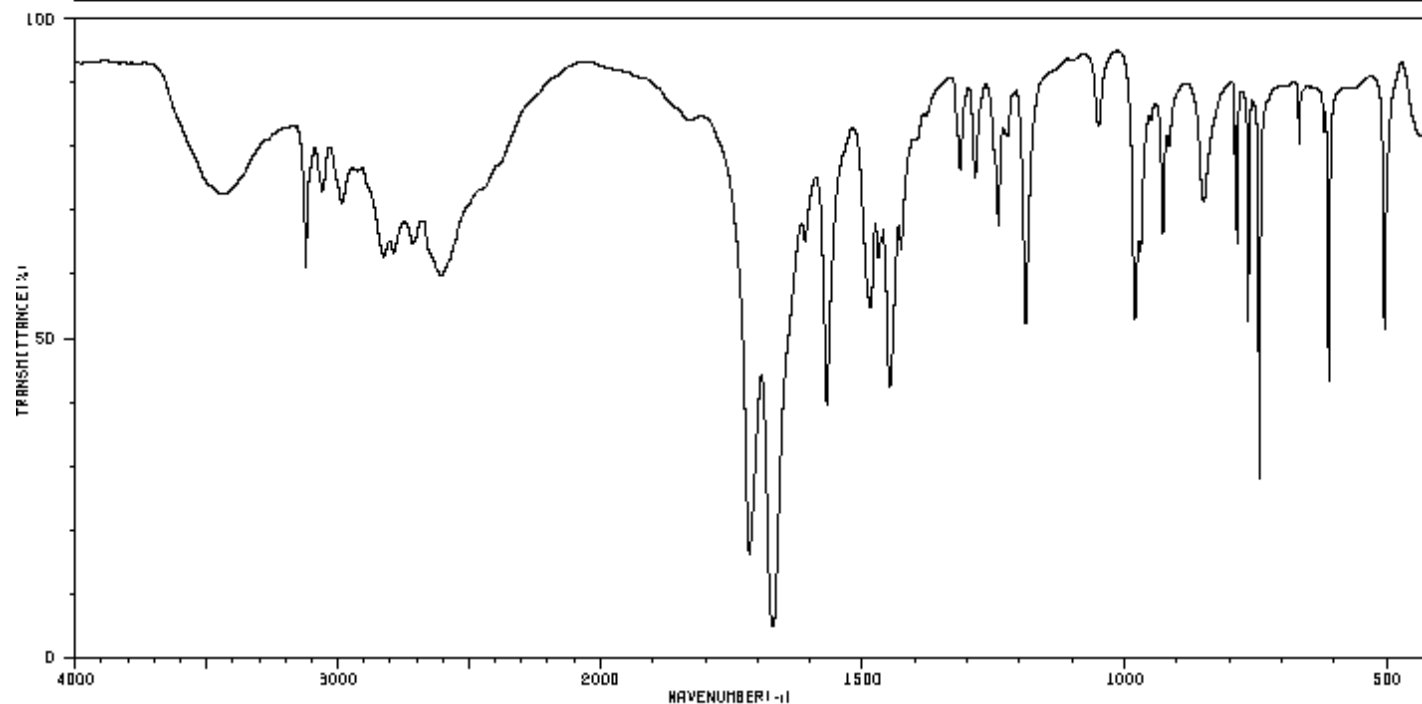


| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|
| 2969 | 36 | 2860 | 36 | 1439 | 63 | 1279 | 64 | 1179 | 68 |
| 2952 | 26 | 1699 | 5 | 1420 | 64 | 1269 | 68 | 1162 | 55 |
| 2942 | 23 | 1663 | 4 | 1386 | 53 | 1238 | 55 | 1147 | 74 |
| 2926 | 23 | 1616 | 39 | 1377 | 72 | 1228 | 49 | 964 | 72 |
| 2906 | 35 | 1478 | 72 | 1358 | 35 | 1218 | 66 | 949 | 62 |
| 2880 | 50 | 1471 | 70 | 1328 | 80 | 1204 | 49 | 871 | 43 |
| 2863 | 46 | 1447 | 68 | 1289 | 72 | 1190 | 68 | 696 | 70 |



TEOFILLINA

| | | | |
|----------------|------------|--------------|--------------------------|
| HIT-NO=1873 | SCORE= () | SDBS-NO=2224 | IR-NIDA-24759 : KBR DISC |
| THEOPHYLLINE | | | |
| $C_7H_8N_4O_2$ | | | |

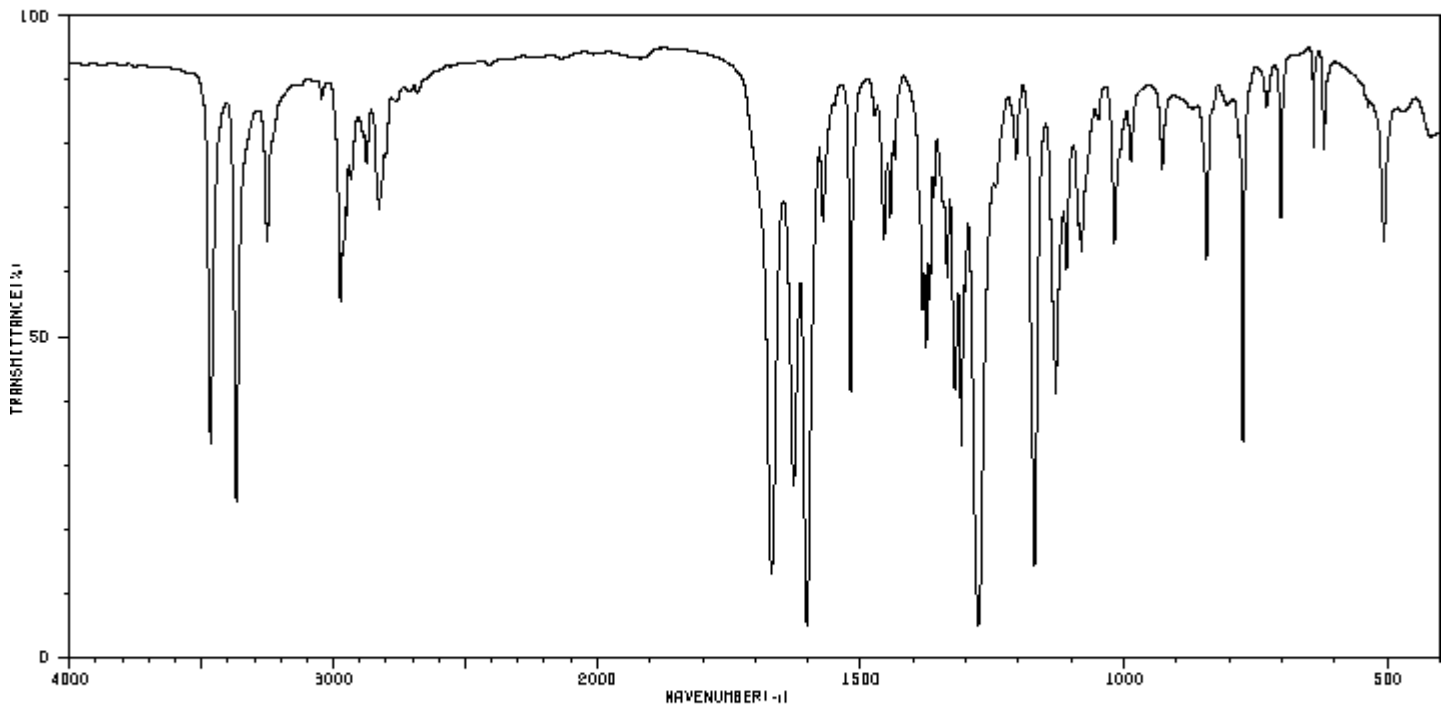


| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|------|----|-----|----|
| 3441 | 70 | 2824 | 60 | 1668 | 38 | 1241 | 66 | 786 | 62 |
| 3431 | 70 | 2787 | 60 | 1484 | 53 | 1189 | 50 | 764 | 50 |
| 3135 | 72 | 2712 | 62 | 1471 | 80 | 980 | 52 | 743 | 26 |
| 3122 | 68 | 2606 | 57 | 1447 | 41 | 970 | 60 | 667 | 77 |
| 3060 | 70 | 1716 | 15 | 1427 | 62 | 927 | 64 | 821 | 79 |
| 3047 | 72 | 1671 | 4 | 1314 | 74 | 915 | 77 | 611 | 42 |
| 2981 | 68 | 1610 | 62 | 1286 | 72 | 849 | 68 | 506 | 50 |

CN1C=NC2=C1C(=O)N(C)C(=O)N2C

PROCAINA (in KBr)

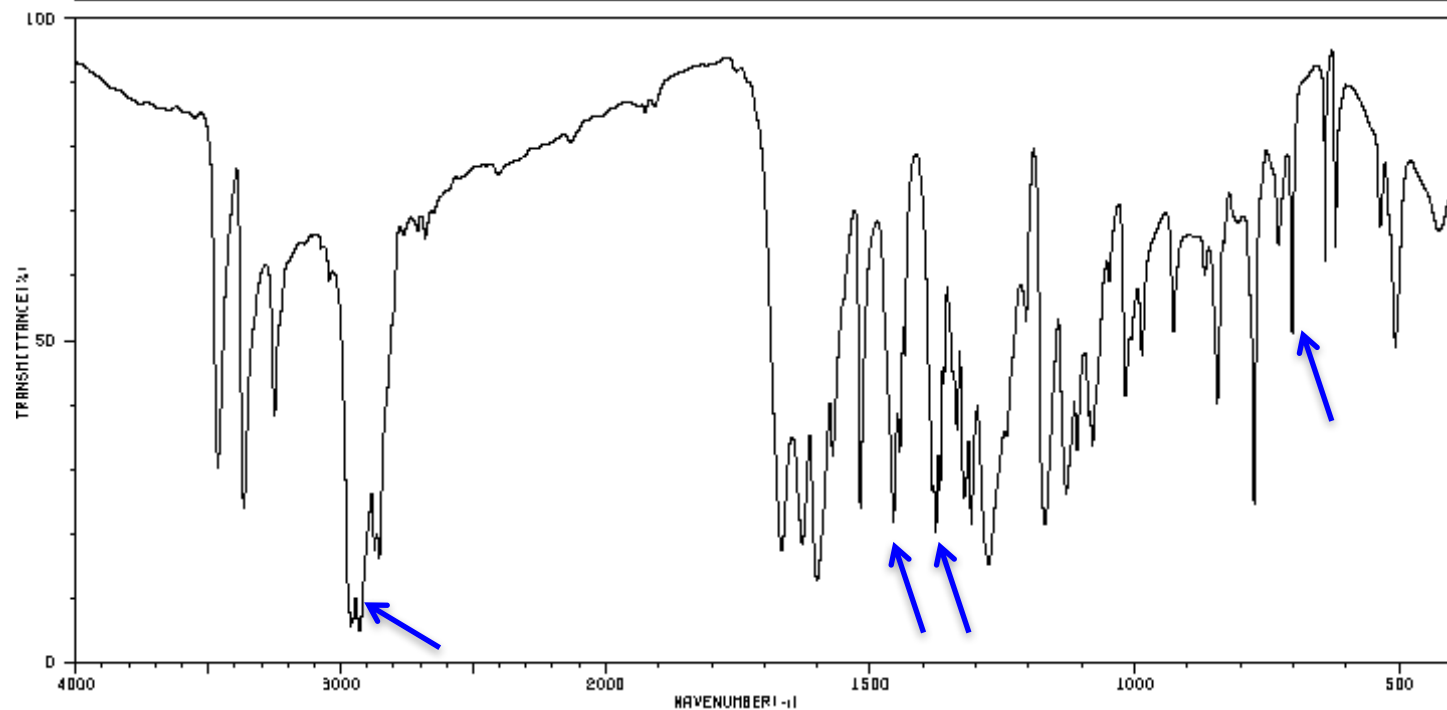
| | | | |
|--|------------|---------------|--------------------------|
| HIT-NO=9228 | SCORE= () | SDBS-NO=21551 | IR-NIDA-27866 : KBR DISC |
| 2-((DIETHYLAMINO)ETHYL P-AMINOBENZOATE | | | |
| $C_{15}H_{20}N_2O_2$ | | | |



| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|
| 3466 | 32 | 2874 | 74 | 1456 | 62 | 1321 | 38 | 1061 | 60 |
| 3455 | 57 | 2827 | 68 | 1444 | 66 | 1309 | 32 | 1019 | 62 |
| 3368 | 23 | 1669 | 12 | 1382 | 52 | 1277 | 4 | 928 | 72 |
| 3261 | 62 | 1627 | 26 | 1376 | 46 | 1170 | 19 | 844 | 60 |
| 2973 | 53 | 1602 | 4 | 1369 | 53 | 1130 | 39 | 775 | 32 |
| 2961 | 80 | 1572 | 66 | 1361 | 88 | 1109 | 58 | 703 | 66 |
| 2934 | 72 | 1519 | 38 | 1336 | 67 | 1087 | 64 | 607 | 62 |

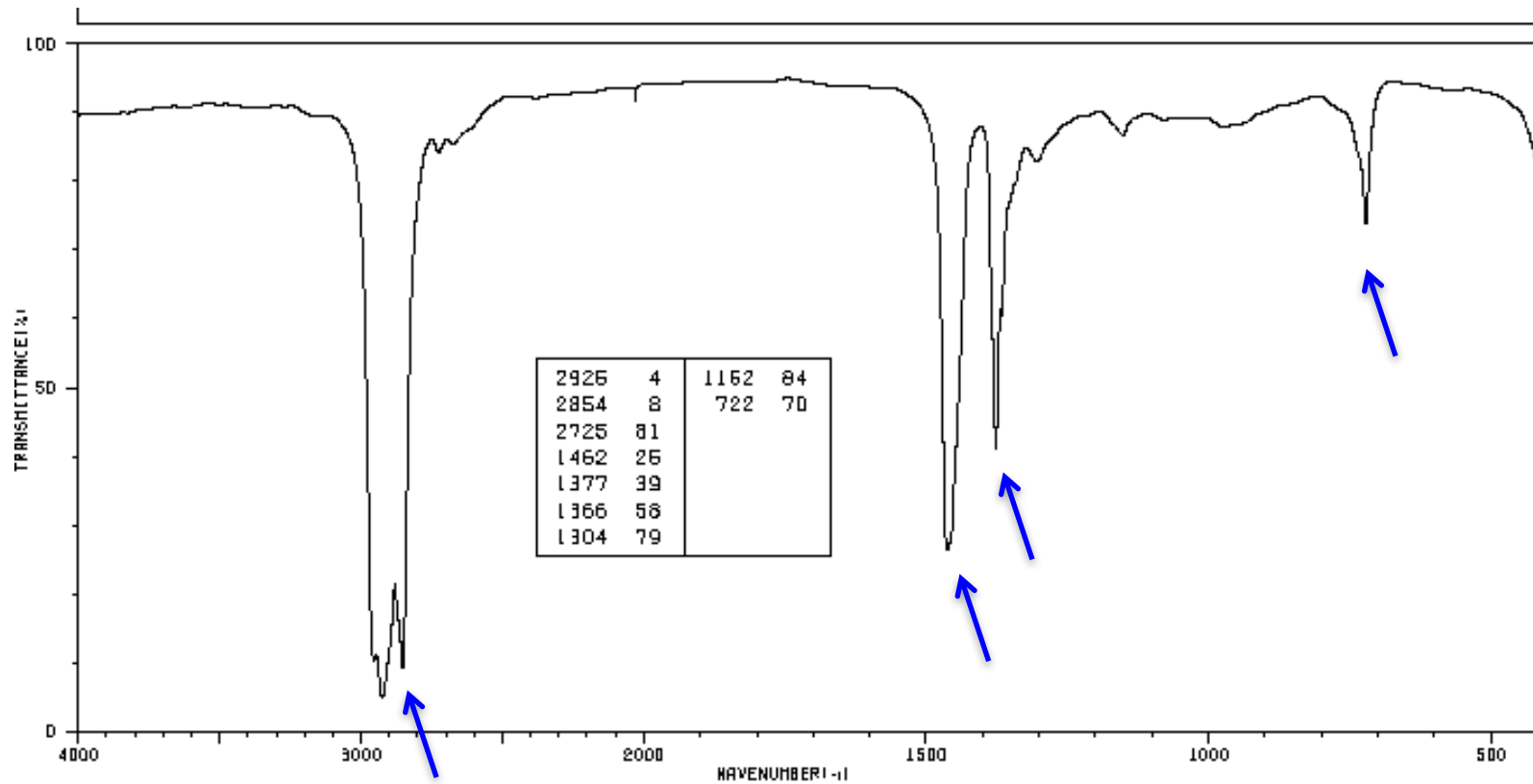
PROCAINA (in *nujol*)

| | | | |
|--|------------|---------------|----------------------------|
| HIT-NO=7969 | SCORE= () | SDBS-NO=21551 | IR-NIDA-28777 : NUJOL MULL |
| 2-((DIETHYLAMINO)ETHYL P-AMINOBENZOATE | | | |
| $C_{13}H_{20}N_2O_2$ | | | |



| | | | | | | | | | |
|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|
| 3464 | 29 | 1668 | 16 | 1436 | 46 | 1309 | 20 | 1080 | 32 |
| 3367 | 23 | 1628 | 17 | 1382 | 25 | 1277 | 14 | 1018 | 39 |
| 3250 | 36 | 1601 | 12 | 1376 | 19 | 1170 | 20 | 1007 | 47 |
| 2961 | 6 | 1571 | 30 | 1369 | 26 | 1130 | 26 | 987 | 46 |
| 2929 | 4 | 1519 | 23 | 1361 | 42 | 1119 | 33 | 844 | 38 |
| 2872 | 16 | 1458 | 20 | 1336 | 34 | 1109 | 31 | 775 | 23 |
| 2854 | 16 | 1444 | 31 | 1322 | 24 | 1087 | 37 | 608 | 47 |

Nujol (olio di paraffina)



PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Il campione può essere utilizzato in vari modi per l'analisi IR:

- Fase gassosa: si usano celle di 10 cm di cammino ottico precedentemente trattate facendo il vuoto; tecnica complessa che non trattiamo!
- Film liquido: se sostanza è liquida, essa può venir utilizzata come tale disponendo una gc. tra due pastiglie di NaCl trasparenti alla radiazione I.R.
- In soluzione più o meno diluita, in genere di solventi alogenati (CCl_4 , CHCl_3) sempre con l'ausilio delle pastiglie di NaCl.
- Nel caso di solidi questi possono venir "sospesi" in una matrice oleosa quale la paraffina liquida (nujol) o altre sostanze (ostaflon C). Una goccia della sospensione viene posta tra le due pastiglie di NaCl.
- Spesso si fanno dispersioni solide con KBr anidro (10-100 vv tanto in peso) in polvere e si procede alla formazione di una "compressa" che verrà messa nel proprio alloggiamento (diverso da quello delle pastiglie in NaCl).

Esistono pastiglie anche di altri materiali (CaF_2 , CsI, AgBr), ma sono più delicate e costose!!



STRUMENTAZIONE

Per quanto riguarda i vecchi tradizionali strumenti “a dispersione”, ovvero a “scansione di λ ”, abbiamo già visto la strumentazione “generica” per la spettroscopia molecolare (UV-Vis). Per l'IR valgono gli stessi componenti, ma con la dotazione di una sorgente (lampada) che emette radiazioni nell'infrarosso. Può essere di vari tipi:

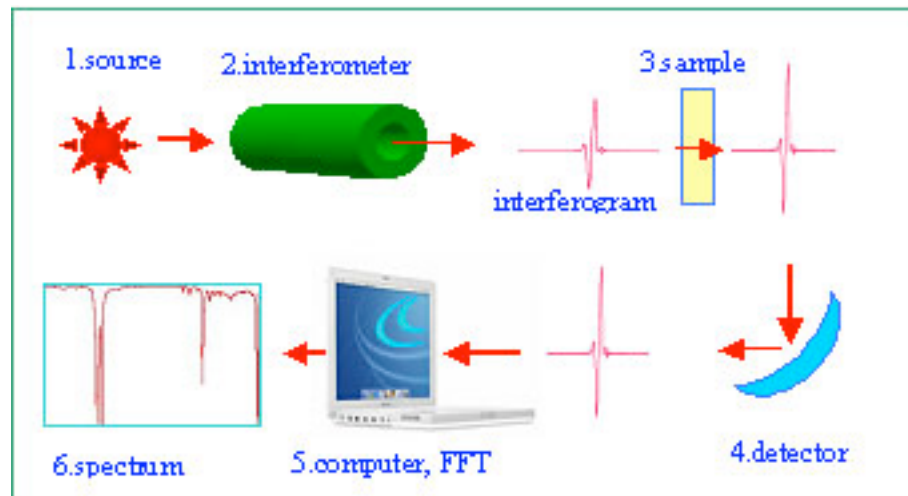
- Filamento al Carburo di silicio (Globar: richiede elevata potenza);
- Filamento di Nernst: mix di ossidi fusi (fragile);
- Filamento di Ni-Cr: il più usato ed economico;
- Filamento di Wolframio per il vicino infrarosso (NIR).

Ci sono, poi, il sistema fotometrico di specchi comprendente il chopper, il monocromatore (reticolo a riflessione) e il rivelatore (fotomoltiplicatore).

Attualmente gli spettrofotometri utilizzati sono quelli che lavorano in Trasformata di Fourier (FT) e sono costituiti da INTERFEROMETRI.

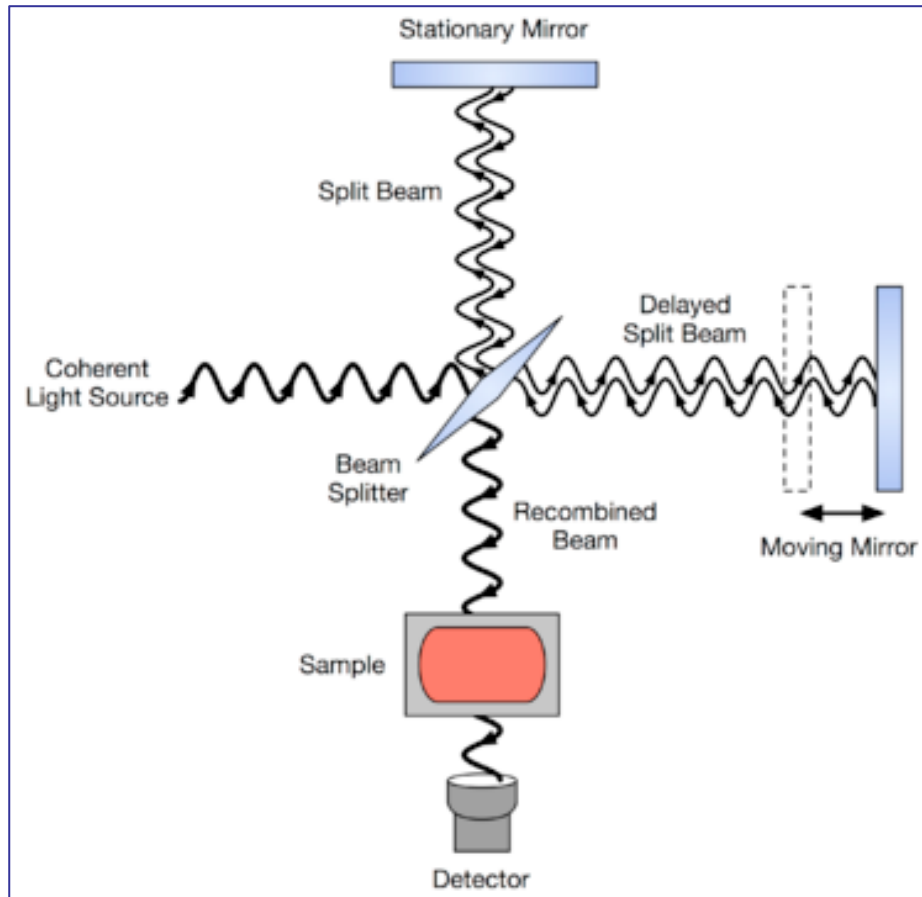
FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)

Questi strumenti, a differenza dei classici strumenti a scansione di λ tramite monocromatori (come gli UV-Vis), sono dotati di un interferometro (di Michelson), ovvero di un dispositivo che raccoglie contemporaneamente tutte le frequenze provenienti dalla sorgente policromatica dell'IR, che attraversa il campione, e le invia al rivelatore in maniera tempo-dipendente (**cioè l'assorbimento della radiazione è in funzione del tempo e non della frequenza**).



Successivamente un computer esegue la Trasformata di Fourier in modo da passare dal dominio del tempo a quello delle frequenze e trasformare così l'interferogramma in uno spettro a bande di frequenza.

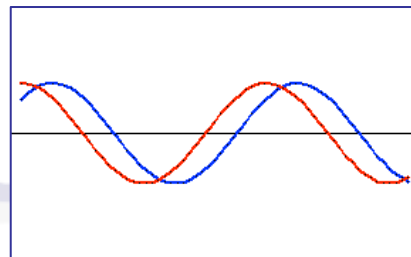
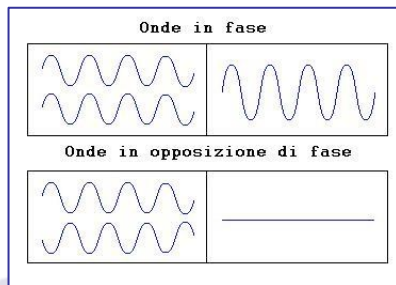
Schema di uno strumento FT-IR



Lo spostamento dello specchio mobile (Δx) corrisponderà alla differenza di tempi di arrivo al rivelatore (ritardo) tra l'onda riflessa dallo specchio fisso rispetto a quella riflessa dallo specchio mobile.



Un computer opera la FT in modo da trasformare tale ritardo in variazioni di frequenza!!

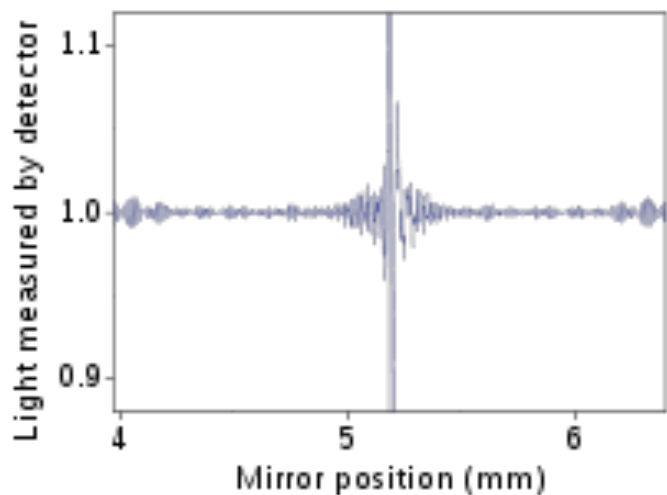


Onde "sfasate", ma di stessa frequenza (solo ritardate nel tempo!)

FUNZIONAMENTO:

Il raggio policromatico IR (filamento Ni-Cr o altro) viene indirizzato su uno specchio semiriflettente (beamsplitter, cristallo di KBr rivestito di Germanio) che lo suddivide in 50% ad uno specchio fisso e 50% ad uno mobile. I raggi riflessi da questi specchi vengono inviati nuovamente al beamsplitter che li ricongiunge e li invia al detector dopo aver attraversato il campione. Il cammino ottico (inteso come tempo trascorso dai raggi) sarà differente per i due percorsi anche se giungono al rivelatore congiunti e, a seconda della differenza di cammino ottico, si creano delle interferenze costruttive o distruttive che creano un segnale proporzionale alla differenza di cammino ottico dei due raggi, cioè alla posizione dello specchio mobile in quell'istante. Il segnale complessivo è un interferogramma che contiene tutte le informazioni inerenti l'intensità e la frequenza della radiazione emessa. Il campione, interposto tra il beamsplitter e il detector, attenuerà tale interferogramma a causa dell'assorbimento di parte di radiazione dei propri gruppi funzionali e, quindi, si genererà una risultante che verrà decodificata da un computer tramite la trasformata di Fourier. Si otterrà lo spettro IR di Assorbanza (meglio la Trasmittanza %) in funzione della frequenza (meglio il numero d'onda) che sarà unico per ciascuna sostanza.

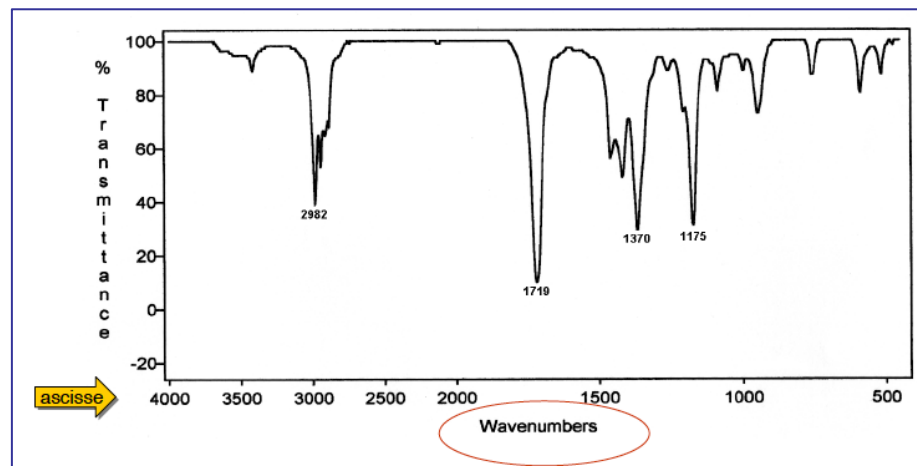
Interferogramma



F.T.



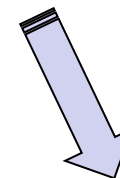
Spettro IR di frequenze (o $\bar{\nu}$)



Il punto centrale rappresenta il “ritardo ZERO” e corrisponde all’assenza del campione (tutta la radiazione attraversa l’interferometro e giunge al detector)



ASSORBIMENTO-TEMPO



ASSORBIMENTO-FREQUENZA

Lavorando in FT si hanno notevoli vantaggi:

- Risparmio di tempo: misure in pochi secondi rispetto a qualche minuto del spettrofotometro a scansione;
- Miglior potenza della sorgente luminosa, in quanto vengono a mancare fenditure e, quindi, non si ha dispersione di segnale e di conseguenza anche:
- Miglior rapporto segnale/rumore;
- Nessun effetto termico sul campione (sorgente “lontana” ad esso)
- Assenza di luce diffusa nonostante sorgente di luce policromatica.
- Sono a monoraggio!

In tutti i casi si eseguirà prima uno spettro del “BACKGROUND”, cioè del supporto in assenza del campione (solo pastiglie di NaCl) e successivamente si eseguirà l'analisi dell'analita. Lo strumento provvederà automaticamente alla sottrazione dello spettro del background dal totale registrato!