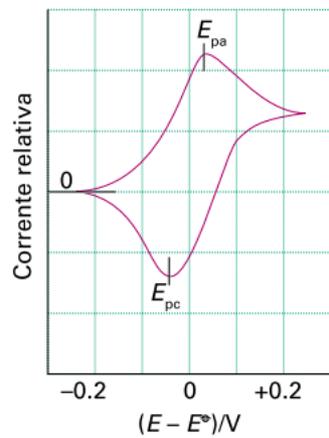
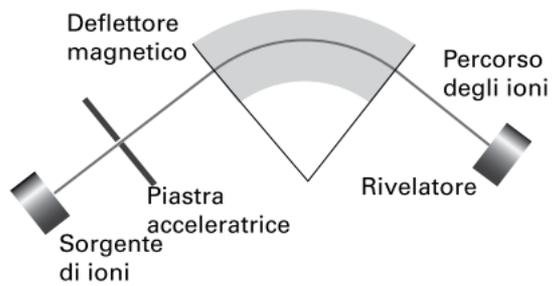


# Analytical Methods

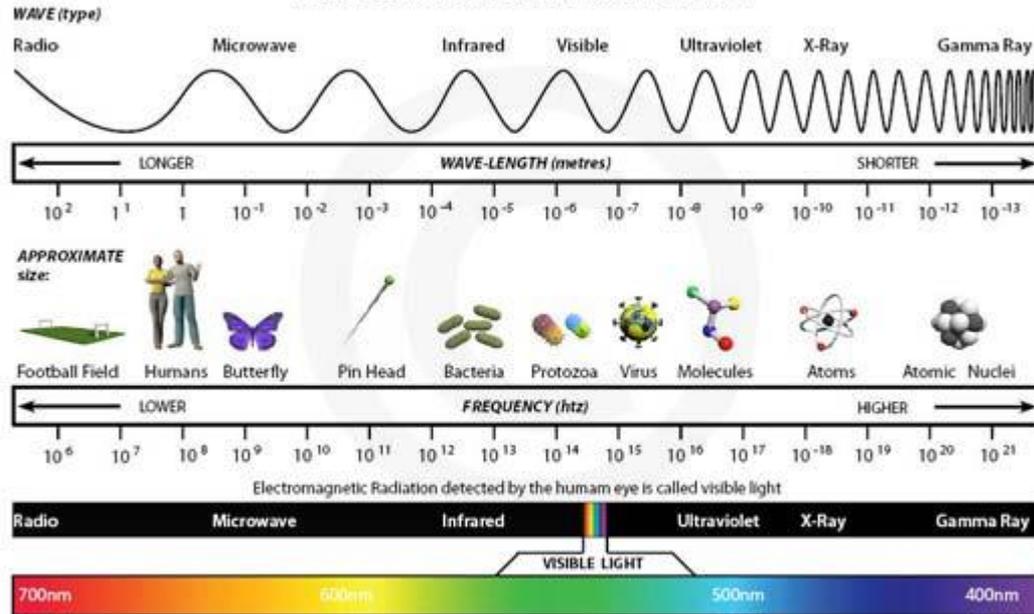
How can we characterize a supramolecular structure?

- **qualitative data** : structure of the edifice, mode of interactions
- **quantitative data (thermo and kinetics)** : stoichiometry, stability, selectivity.

- X-Ray Diffraction
  - NMR (1D, 2D)
  - UV-vis Fluorimetry
  - Mass Spectrometry
  - Circular Dichroism
  - Electrochemistry, Potentiometry (pH)
  - Microcalorimetry (Isothermal Titration Calorimetry)
  - Computational Methods
- 
- DLS dynamic light scattering: size distributions
  - SEM scanning electron microscopy
  - TEM transmission electron microscopy
  - STM scanning tunneling microscopy
  - AFM atomic force microscopy



## THE ELECTRO MAGNETIC SPECTRUM



1 metre = 100cm   1 cm = 10mm   1 millimetre = 1000 microns   1 micron = 1000 nanometres (nm)

## Alcuni Metodi Fisici Applicati per la Caratterizzazione dei Composti

**Table 1.1** Uses of some physical techniques in determining structures

Information sought	Phase of sample		
	Gas	Liquid or solution	Solid
Fingerprint <sup>a</sup>	IR * <i>Microwave</i>  Mass spec. UV/vis * <i>UPS</i>	IR, R NMR  Mass spec. <sup>b</sup> UV/vis	IR, R Powder X-ray diffraction Mass spec. <sup>b</sup> UV/vis
Groups present	IR Mass spec. NMR	IR, R Mass spec. <sup>b</sup> NMR	IR, R Mass spec. <sup>b</sup> *NMR * <i>Mössbauer</i>
Molecular symmetry	IR <sup>c</sup> * <i>Microwave</i> **ED	IR, R NMR	IR, R *NMR ** <i>NQR</i> Single crystal X-ray diffraction
Bond lengths and angles	IR, R <sup>d</sup> * <i>Microwave</i> **ED	*** <i>EXAFS</i> LCMNR	Single crystal X-ray diffraction ***Neutron diffraction
Electronic structure <sup>e</sup>	UV/vis *UPS ESR	UV/vis ESR * <i>XPS</i>	UV/vis *UPS *XPS * <i>Mössbauer</i> ** <i>NQR</i> Single crystal X-ray and neutron diffraction

## La scala dei tempi

L'interazione tra la radiazione elettromagnetica e la materia genera dei processi nella molecola che avvengono in determinati tempi.

E' di fondamentale importanza considerare la correlazione tra la scala dei tempi della tecnica in uso e la scala dei tempi del processo molecolare.

### Scala dei tempi di alcune tecniche di caratterizzazione

Diffrazione di raggi X	$10^{-18}$ s
Mössbauer	$10^{-18}$ s
Spettroscopia elettronica UV/Visibile	$10^{-15}$ s
Spettroscopia vibrazionale IR/Raman	$10^{-12}$ s
NMR	c. $10^{-3}$ - $10^{-6}$ s
EPR	$10^{-6}$ s

## La scala dei tempi

Ci sono 4 tempi da considerare:

1. Il tempo durante il quale un quanto della radiazione interagisce con la molecola;
2. il tempo di vita dello stato eccitato della molecola;
3. Il minimo tempo di vita che la specie in studio deve avere per poter essere vista come una specie distinta;
4. Il tempo totale di durata dell'esperimento in cui la specie viene osservata.

## **Il tempo durante il quale un quanto della radiazione interagisce con la molecola**

**Nella diffrazione dei raggi X un fotone interagisce con la molecola in  $10^{-16}$  -  $10^{-19}$  s, tempo inferiore alle vibrazioni ( $10^{-13}$  -  $10^{-14}$  s), rotazioni ( $10^{-10}$  -  $10^{-12}$  s) molecolari.**



**Il fotone vede la molecola in una struttura istantanea: in uno stato vibrazionale, rotazionale FISSO.**

## Il tempo di vita dello stato eccitato della molecola

Riguarda spettroscopie che comportano il passaggio da uno stato fondamentale ad uno stato eccitato: UV-Visibile, IR, NMR, ESR.

Lo stato eccitato ha un suo tempo di vita che è il tempo necessario per passare dallo stato eccitato a un livello energetico inferiore: **TEMPO DI RILASSAMENTO**.

Principio di Indeterminazione di Heisenberg:

$$\tau\Delta E = h$$

$\tau$  è il tempo di vita dello stato eccitato;  $\Delta E$  è l'incertezza sulla sua energia

$$h \approx 10^{-34} \text{ J s}$$

$$\Delta\nu = \Delta E/h = h/2\pi\tau h \approx 1/\tau \text{ incertezza sulla frequenza}$$

Es:  $\tau = 10^{-15}$  s per spett. elettronica

$$\Delta\nu = 10^{15} \text{ Hz}$$

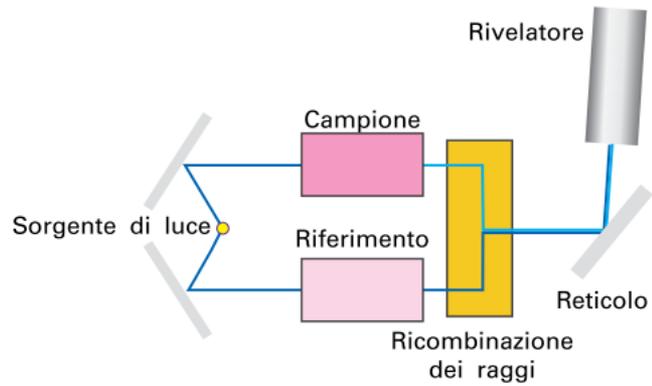
stesso range di UV-Vis.

Spettri con **BANDE LARGHE**

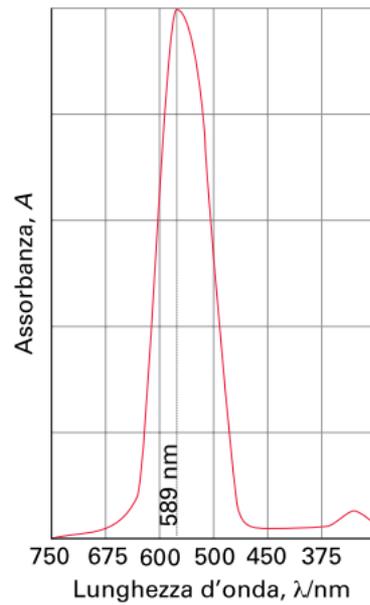
## Le scale dei tempi associate alle tecniche spettroscopiche

**Table 1.2** Timescales associated with some spectroscopic techniques

Technique	Energy of excited state (Hz)	Typical relaxation time (seconds)	Typical linewidth (Hz)
NMR (solution)	$10^8$	10	$10^{-1}$
ESR (solution)	$10^{10}$	$10^{-5}$	$10^5$
Rotational spectroscopy (gas)	$10^{11}$	$10^{-4}$	$10^4$
Vibrational spectroscopy (gas)	$10^{14}$	$10^{-8}$	$10^8$
Electronic spectroscopy (solution)	$10^{16}$	$10^{-15}$	$10^{15}$
Mössbauer spectroscopy (solid)	$10^{19}$	$10^{-8}$	$10^8$



**Figure 8.9** Lo schema di un tipico spettrometro per assorbimento UV-visibile.



## Selection rules

Electronic transitions obey the following selection rules.

*Spin selection rule:*  $\Delta S = 0$

Transitions may occur from singlet to singlet, or triplet to triplet states and so on, but a change in spin multiplicity is *forbidden*.

*Laporte selection rule:* There must be a change in parity:

allowed transitions:  $g \leftrightarrow u$

forbidden transitions:  $g \leftrightarrow g$   $u \leftrightarrow u$

This leads to the selection rule:

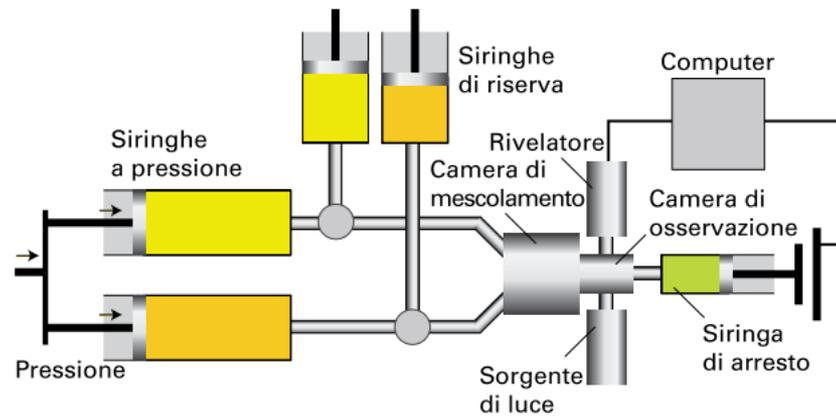
$$\Delta l = \pm 1$$

and, thus, *allowed* transitions are  $s \rightarrow p, p \rightarrow d, d \rightarrow f$ ;  
*forbidden* transitions are  $s \rightarrow s, p \rightarrow p, d \rightarrow d, f \rightarrow f$ ,  
 $s \rightarrow d, p \rightarrow f$  etc.

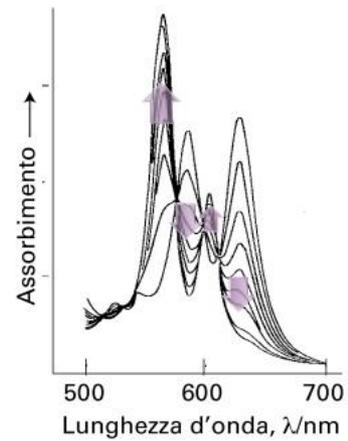
Type of transition	Typical $\epsilon_{\max} / \text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$
Spin-forbidden ' <i>d-d</i> '	<1
Laporte-forbidden, spin-allowed ' <i>d-d</i> '	1–10 10–1000
Charge transfer (fully allowed)	1000–50 000

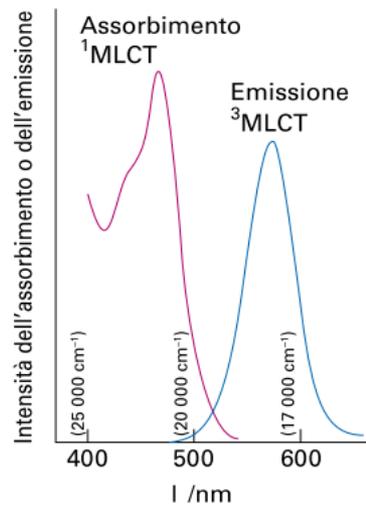
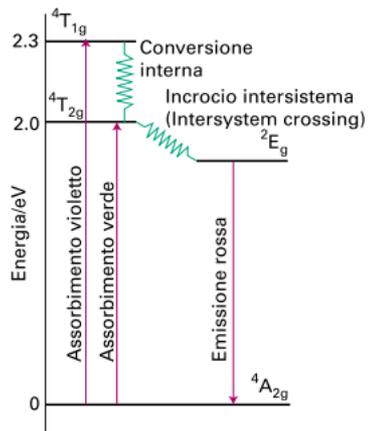
**Table 19.2** The visible part of the electromagnetic spectrum.

Colour of light <i>absorbed</i>	Approximate wavelength ranges / nm	Corresponding wavenumbers (approximate values) / $\text{cm}^{-1}$	Colour of light <i>transmitted</i> , i.e. complementary colour of the absorbed light	In a 'colour wheel' representation, complementary colours are in opposite sectors
Red	700–620	14 300–16 100	Green	
Orange	620–580	16 100–17 200	Blue	
Yellow	580–560	17 200–17 900	Violet	
Green	560–490	17 900–20 400	Red	
Blue	490–430	20 400–23 250	Orange	
Violet	430–380	23 250–26 300	Yellow	



**Figure 8.14** La struttura di uno strumento *stopped-flow* per studiare reazioni veloci in soluzione.





**Figura 20.36** Gli spettri di assorbimento e di fosforescenza di  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ .

## La spettroscopia NMR: richiami di concetti base

Una particella in moto dotata di carica possiede un momento magnetico  $\mu$  e un momento angolare  $p$ , che sono delle grandezze vettoriali quantizzate.

Per i nuclei si parla di momento magnetico TOTALE di spin nucleare e di momento angolare TOTALE di spin nucleare. Il numero quantico ad essi correlato è il numero quantico di spin nucleare  $I$ .

Per ogni isotopo di ogni elemento esiste uno stato fondamentale con  $I = n/2$  dove  $n$  è un numero intero.

Il valore di  $I$  dipende dal numero atomico  $Z$  e dal numero di massa  $A$  del nucleo:

Nuclei con  $Z$  pari e  $A$  pari hanno  $I = 0$       NMR silenti ( $^{12}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ );

Nuclei con  $Z$  dispari o pari e  $A$  dispari hanno  $n$  dispari ( $I = 1/2, 3/2, 5/2$ )  
NMR attivi ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{31}\text{P}$ );

Nuclei con  $Z$  dispari e  $A$  pari hanno  $n$  pari ( $I = \text{intero}$ ) ( $^2\text{H}$ ,  $^{14}\text{N}$ )      NMR attivi.

## La spettroscopia NMR: richiami di concetti base

Quando  $I$  è diverso da zero, il nucleo possiede un momento magnetico totale di spin nucleare  $\mu$  dato da:

$$\mu = \gamma \hbar [I(I+1)]^{1/2}$$

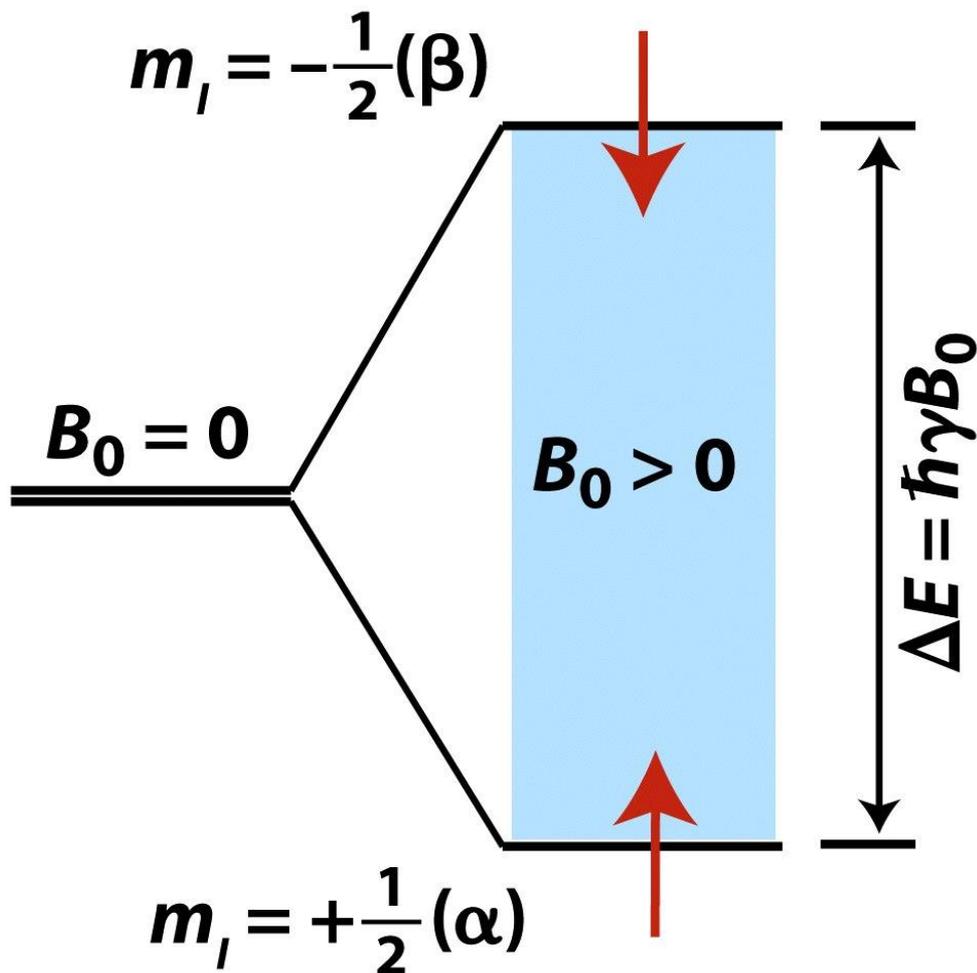
$\gamma$  è il rapporto giromagnetico o magnetogirico che è una **costante** tipica per ogni **isotopo** ed è correlato al numero di protoni e alla massa del nucleo ed è dato dal rapporto tra il momento magnetico totale di spin nucleare e il momento angolare totale di spin nucleare.

In presenza di un campo magnetico stazionario  $B_0$  l'asse di spin nucleare può assumere un dato numero di orientazioni che è legato al **numero quantico magnetico  $m$**

$$m = I, I-1, I-2, \dots - I$$

il numero totale di orientazioni possibili è  **$2I+1$**

## Orientazioni possibili per nuclei con $I = 1/2$



I livelli energetici **NON** sono preesistenti: vengono creati da  $B_0$ .

La differenza di energia tra i livelli energetici **NON** è costante: dipende da  $B_0$ .

Figure 6-7

*Shriver & Atkins Inorganic Chemistry, Fourth Edition*

© 2006 by D. F. Shriver, P. W. Atkins, T. L. Overton, J. P. Rourke, M. T. Weller, and F. A. Armstrong

Quando si irradia il campione con una radiazione elettromagnetica che ha una frequenza, e quindi un'energia pari a  $\Delta E$ , avviene la transizione tra i livelli energetici secondo la regola di selezione  $\Delta m = \pm 1$ .

Questa frequenza si chiama **FREQUENZA DI LARMOR**

$$\nu_0 = \gamma / 2\pi B_0$$

E' la frequenza con cui il momento magnetico di spin nucleare precessa intorno alla direzione di  $B_0$ .

La **sensibilità** della spettroscopia NMR dipende dalla differenza di popolazione tra i due livelli e quindi dipende da  $B_0$  e da  $\gamma$ .

Quando si irradia il campione con una radiazione elettromagnetica che ha una frequenza, e quindi un'energia pari a  $\Delta E$ , avviene la transizione tra i livelli energetici secondo la regola di selezione  $\Delta m = \pm 1$ .

Questa frequenza si chiama **FREQUENZA DI LARMOR**

$$\nu_0 = \gamma / 2\pi B_0$$

E' la frequenza con cui il momento magnetico di spin nucleare precessa intorno alla direzione di  $B_0$ .

La **sensibilità** della spettroscopia NMR dipende dalla differenza di popolazione tra i due livelli e quindi dipende da  $B_0$  e da  $\gamma$ .

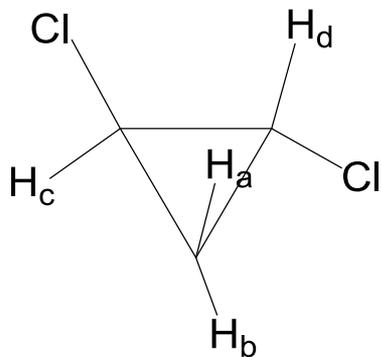
**Nuclei chimicamente e/o magneticamente equivalenti.**

**Nuclei chimic. equiv.:** sono nuclei che si convertono l'uno nell'altro con un'operazione di simmetria applicata alla molecola o sono equivalenti nel tempo per effetto di un processo dinamico intramolecolare veloce.

**I nuclei chimc. equiv. sono isocroni:** hanno lo stesso chemical shift.

**Nuclei magnet. equiv.:** sono nuclei che sono chimic. equiv. e che accoppiano allo stesso modo con gli altri nuclei della molecola.

**I nuclei magnet. equiv. hanno la stessa J.**



**H<sub>a</sub> e H<sub>b</sub> sono chimicamente ma NON magneticamente equivalenti.**

**La struttura fine del segnale: deriva dall'accoppiamento tra i nuclei, si parla di costanti di accoppiamento  $^nJ$ , dove n è il numero di legami tra i nuclei che accoppiano:**

**$^1J$  diretta**

**$^2J$  geminale**

**$^3J$  vicinale**

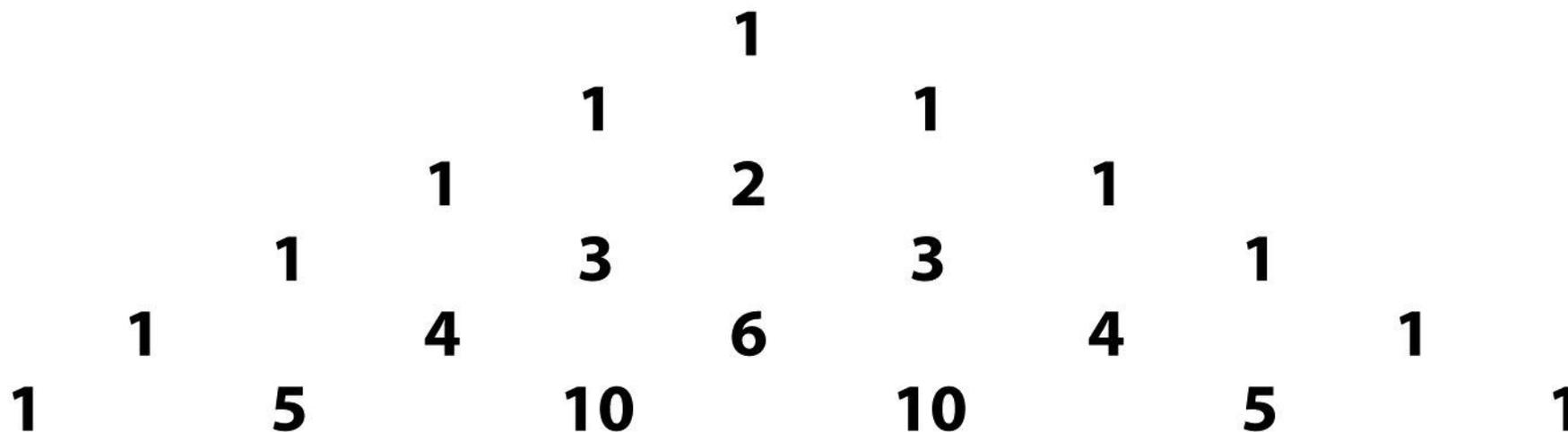
**$^4J, ^5J$  long range**

**Per accoppiamenti omonucleari  $^1H-^1H$  J 18 Hz o meno;**

**Per accoppiamenti eteronucleari  $^1H-X$  J centinaia di Hz;**

**Per accoppiamenti omo- o eteronucleari X-X o Y-X J kHz.**

Numero di linee per sistemi di spin del **primo ordine** è  **$(2nI + 1)$**   
con  **$n$**  = numero di nuclei che accoppiano con il nucleo in esame,  
 **$I$**  = numero quantico di spin dei nuclei che accoppiano;  
Per nuclei con  **$I = \frac{1}{2}$**  l'intensità relativa delle linee  
è data dal **Triangolo di Pascal**



## 1 Pascal's triangle

Structure 6-1

*Shriver & Atkins Inorganic Chemistry, Fourth Edition*

© 2006 by D. F. Shriver, P. W. Atkins, T. L. Overton, J. P. Rourke, M. T. Weller, and F. A. Armstrong

Nucleus	Natural abundance / %	<i>I</i>	Frequency of observation / MHz (referred to <sup>1</sup> H at 100 MHz) <sup>‡</sup>	Chemical shift reference ( $\delta = 0$ ) <sup>*</sup>
<sup>1</sup> H	>99.9	$\frac{1}{2}$	100	SiMe <sub>4</sub>
<sup>2</sup> H	0.015	1	15.35	SiMe <sub>4</sub>
<sup>7</sup> Li	92.5	$\frac{3}{2}$	38.9	LiCl (1 M in H <sub>2</sub> O)
<sup>11</sup> B	80.1	$\frac{3}{2}$	32.1	F <sub>3</sub> B·OEt <sub>2</sub>
<sup>13</sup> C	1.1	$\frac{1}{2}$	25.1	SiMe <sub>4</sub>
<sup>17</sup> O	0.04	$\frac{5}{2}$	13.5	H <sub>2</sub> O
<sup>19</sup> F	100	$\frac{1}{2}$	94.0	CFCl <sub>3</sub>
<sup>23</sup> Na	100	$\frac{3}{2}$	26.45	NaCl (1 M in H <sub>2</sub> O)
<sup>27</sup> Al	100	$\frac{5}{2}$	26.1	[Al(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup>
<sup>29</sup> Si	4.7	$\frac{1}{2}$	19.9	SiMe <sub>4</sub>
<sup>31</sup> P	100	$\frac{1}{2}$	40.5	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (85%, aq)
<sup>77</sup> Se	7.6	$\frac{3}{2}$	19.1	SeMe <sub>2</sub>
<sup>103</sup> Rh	100	$\frac{1}{2}$	3.2	Rh (metal)
<sup>117</sup> Sn	7.7	$\frac{1}{2}$	35.6	SnMe <sub>4</sub>
<sup>119</sup> Sn	8.6	$\frac{1}{2}$	37.3	SnMe <sub>4</sub>
<sup>129</sup> Xe	26.4	$\frac{1}{2}$	27.7	XeOF <sub>4</sub>
<sup>183</sup> W	14.3	$\frac{1}{2}$	4.2	Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> (in D <sub>2</sub> O)
<sup>195</sup> Pt	33.8	$\frac{1}{2}$	21.5	Na <sub>2</sub> [PtCl <sub>6</sub> ]
<sup>199</sup> Hg	16.8	$\frac{1}{2}$	17.9	HgMe <sub>2</sub>

<sup>‡</sup> The operating frequency of an instrument is defined by the field of the magnet and is designated by the frequency at which the <sup>1</sup>H nuclei of SiMe<sub>4</sub> resonate.

<sup>\*</sup> It is important to quote the reference when reporting NMR spectra since alternative references may be used.

## Nuclei con I = 1/2

**Table 2.1** NMR properties of some spin 1/2 nuclei

Isotope	Natural abundance/%	Magnetogyric ratio <sup>a</sup> /10 <sup>7</sup> rad T <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup>	Relative NMR frequency/MHz	Relative receptivity
<sup>1</sup> H	99.985	26.7519	100.0	1.00
<sup>2</sup> H	—	28.535	106.7	—
<sup>3</sup> He	0.00013	-20.380	76.2	5.8 × 10 <sup>-7</sup>
<sup>13</sup> C	1.11	6.7283	25.1	1.8 × 10 <sup>-4</sup>
<sup>15</sup> N	0.37	-2.712	10.1	3.9 × 10 <sup>-6</sup>
<sup>19</sup> F	100.0	25.181	94.1	8.3 × 10 <sup>-1</sup>
<sup>29</sup> Si	4.7	-5.3188	19.9	3.7 × 10 <sup>-4</sup>
<sup>31</sup> P	100.0	10.841	40.5	6.6 × 10 <sup>-2</sup>
<sup>57</sup> Fe	2.2	0.8661	3.2	7.4 × 10 <sup>-7</sup>
<sup>77</sup> Se	7.6	5.12	19.1	5.3 × 10 <sup>-4</sup>
<sup>89</sup> Y	100.0	-1.3155	4.9	1.2 × 10 <sup>-4</sup>
<sup>103</sup> Rh	100.0	-0.846	3.2	3.2 × 10 <sup>-5</sup>
<sup>107</sup> Ag	51.8	-1.087	4.0	3.5 × 10 <sup>-5</sup>
<sup>109</sup> Ag	48.2	-1.250	4.7	4.9 × 10 <sup>-5</sup>
<sup>111</sup> Cd	12.8	-5.6926	21.2	1.2 × 10 <sup>-3</sup>
<sup>113</sup> Cd	12.3	-5.9550	22.2	1.3 × 10 <sup>-3</sup>
<sup>117</sup> Sn <sup>b</sup>	7.6	-9.578	35.6	3.5 × 10 <sup>-3</sup>
<sup>119</sup> Sn	8.6	-10.021	37.3	4.5 × 10 <sup>-3</sup>
<sup>125</sup> Te <sup>b</sup>	7.0	-8.498	31.5	2.2 × 10 <sup>-3</sup>
<sup>129</sup> Xe	26.4	-7.441	27.8	5.7 × 10 <sup>-3</sup>
<sup>169</sup> Tm	100.0	-2.21	8.3	5.7 × 10 <sup>-4</sup>
<sup>171</sup> Yb	14.3	4.712	17.6	7.8 × 10 <sup>-4</sup>
<sup>183</sup> W	14.4	1.120	4.2	1.1 × 10 <sup>-5</sup>
<sup>187</sup> Os	1.6	0.616	2.3	2.0 × 10 <sup>-7</sup>
<sup>195</sup> Pt	33.8	5.768	21.4	3.4 × 10 <sup>-3</sup>
<sup>199</sup> Hg	16.8	4.8154	17.9	9.8 × 10 <sup>-4</sup>
<sup>203</sup> Tl	29.5	15.436	57.1	5.7 × 10 <sup>-2</sup>
<sup>205</sup> Tl	70.5	15.589	57.6	1.4 × 10 <sup>-1</sup>
<sup>207</sup> Pb	22.6	5.540	20.9	2.0 × 10 <sup>-3</sup>

<sup>a</sup> G.H. Fuller, *J. Phys. Chem. Ref. Data* 5, 835 (1976). <sup>b</sup> Other spin 1/2 isotopes also exist.

## Spettroscopia NMR bidimensionale: cenni

Gli spettri **bidimensionali** possono essere:

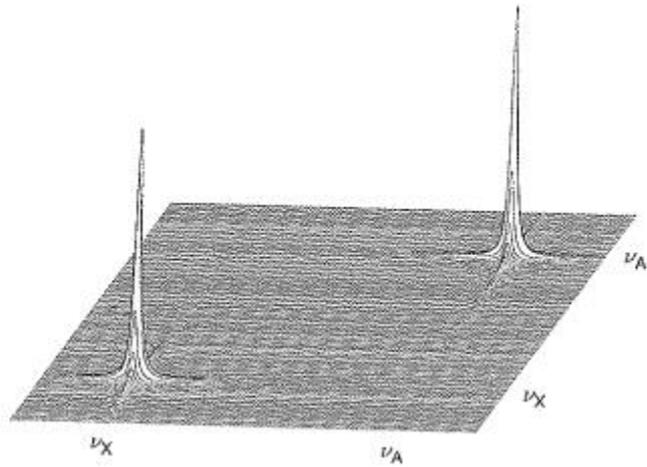
**Omonucleari**: hanno la scala di frequenze dello stesso isotopo sulle due dimensioni;

**Eteronucleari**: hanno la scala di frequenze di un isotopo su una dimensione e di un isotopo diverso sull'altra.

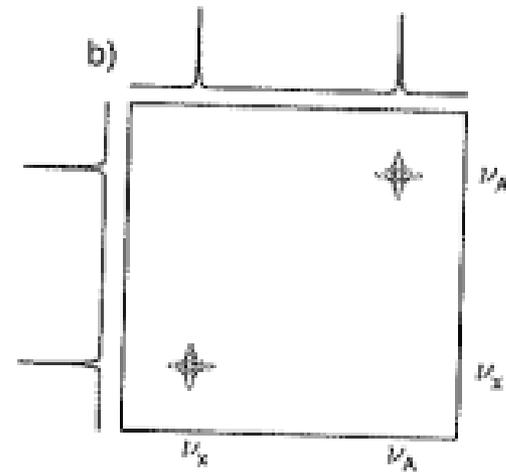
Gli spettri bidimensionali che danno informazioni sui nuclei che accoppiano si chiamano **spettri J correlati** e gli esperimenti NMR relativi si chiamano esperimenti di **COSY (COrrrelated SpectroscopY)**.

## Spettroscopia NMR bidimensionale: rappresentazione degli spettri

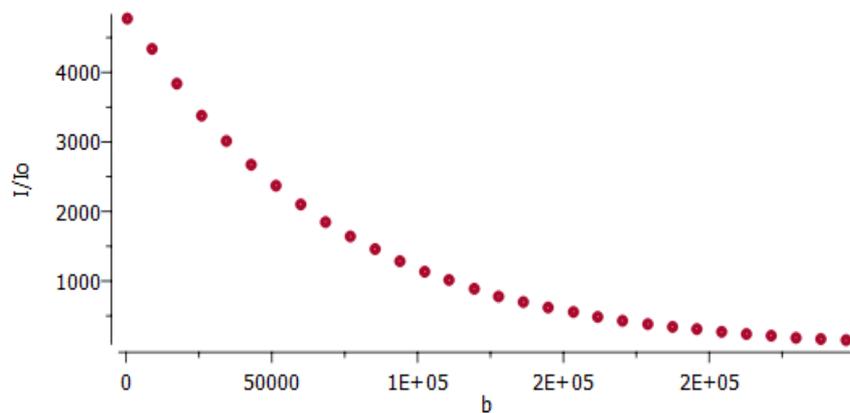
Spettro bidimensionale risultante dalla sequenza COSY per un campione avente due nuclei NON accoppiati.



Equivalente rappresentazione a contorni.



# Diffusion-Ordered NMR spectroscopy (DOSY)

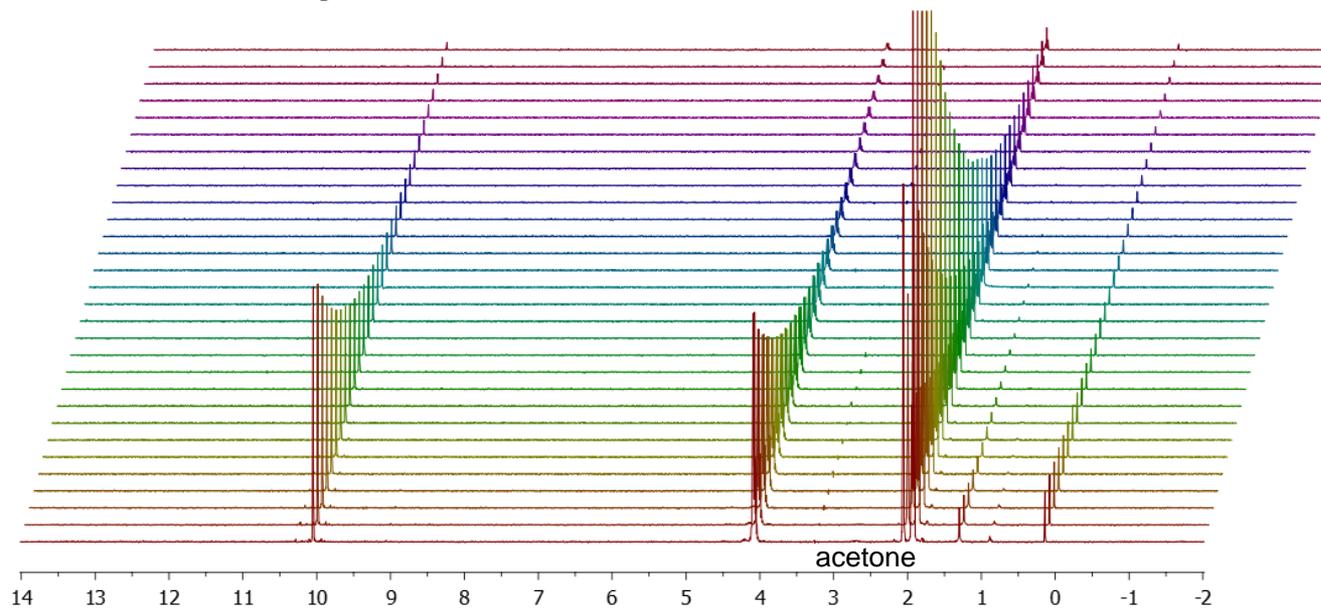


$$\ln \frac{I}{I_0} = -bD$$

Stejskal-Tanner  
equation

$$r_H = \frac{k_B T}{6\pi\eta D}$$

Stokes-Einstein  
equation

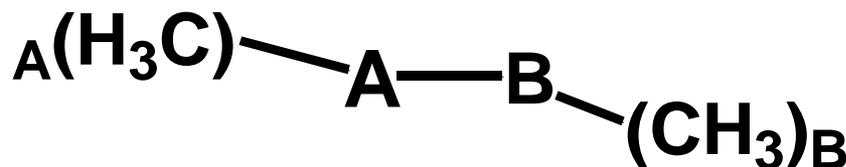


## La scala dei tempi

Diffrazione di raggi X	$10^{-18}$ s
Mössbauer	$10^{-18}$ s
Spettroscopia elettronica UV/Visibile	$10^{-15}$ s
Spettroscopia vibrazionale IR/Raman	$10^{-12}$ s
NMR	c. $10^{-3}$ - $10^{-6}$ s
EPR	$10^{-6}$ s

## Il minimo tempo di vita che la specie in studio deve avere per poter essere vista come una specie distinta

Riguarda la scala di frequenze dello spettro e la sua correlazione con i tempi di vita degli stati eccitati. Questo si applica molto bene alla spettroscopia NMR.



$$\Delta\nu_{AB} = 100 \text{ Hz}$$

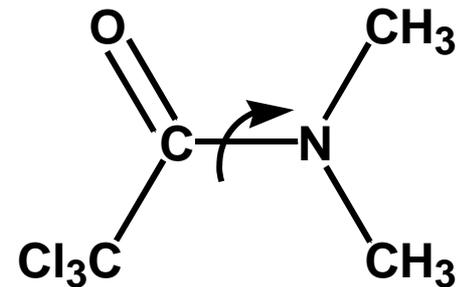
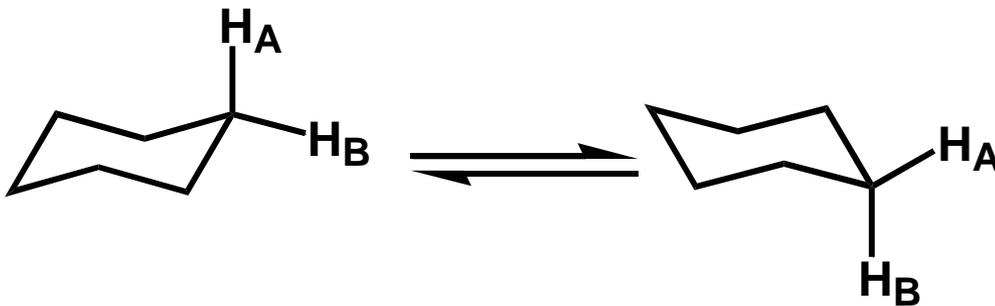
$$\Delta\nu \approx 1/\tau \text{ incertezza sulla frequenza}$$

- a.  $\tau \gg 0.01 \text{ s}$     es.  $\tau = 0.10\text{s}$      $\longrightarrow$      $\Delta\nu \approx 10 \text{ Hz}$ : **2 picchi distinti**
- b.  $\tau \ll 0.01 \text{ s}$     es.  $\tau = 0.001\text{s}$      $\longrightarrow$      $\Delta\nu \approx 1000 \text{ Hz}$ : **1 picco affilato**
- c.  $\tau \approx 0.01 \text{ s}$      $\longrightarrow$     **un picco largo**

## Lo scambio chimico

Per **scambio chimico** si intendono quelle reazioni all'equilibrio in cui il numero totale di nuclei rimane costante nel tempo, ma un nucleo passa da un intorno chimico ad un altro.

### Scambio chimico intramolecolare

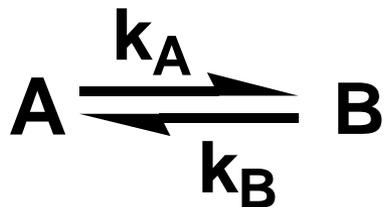


### Scambio chimico intermolecolare



# Lo scambio chimico

## Scambio tra due siti che non accoppiano con uguale popolazione



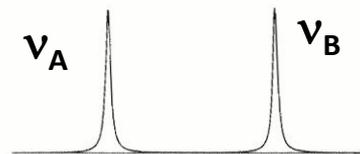
$$p_a = p_b = 0.50$$

$$v_i = p_a v_a + p_b v_b$$

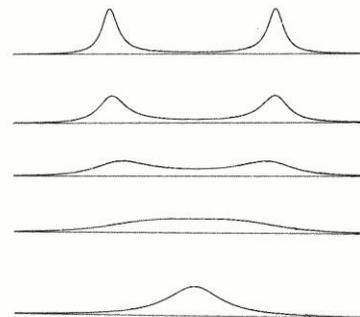
Temperatura di coalescenza

Temp. 1 < Temp. 2

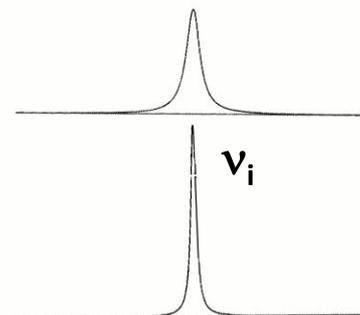
Temp. 1



Scambio lento



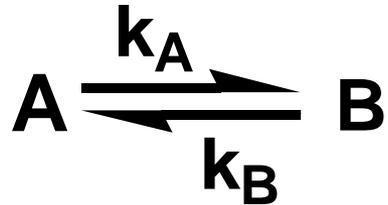
Temp. 2



Scambio veloce

# Lo scambio chimico

## Scambio tra due siti che non accoppiano con diversa popolazione



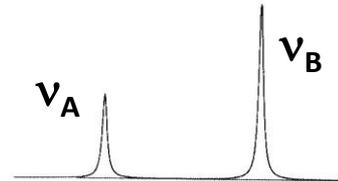
$$p_a = 0.33 \quad p_b = 0.66$$

$$v_i = p_a v_a + p_b v_b$$

Temperatura di coalescenza

Temp. 1 < Temp. 2

Temp. 1

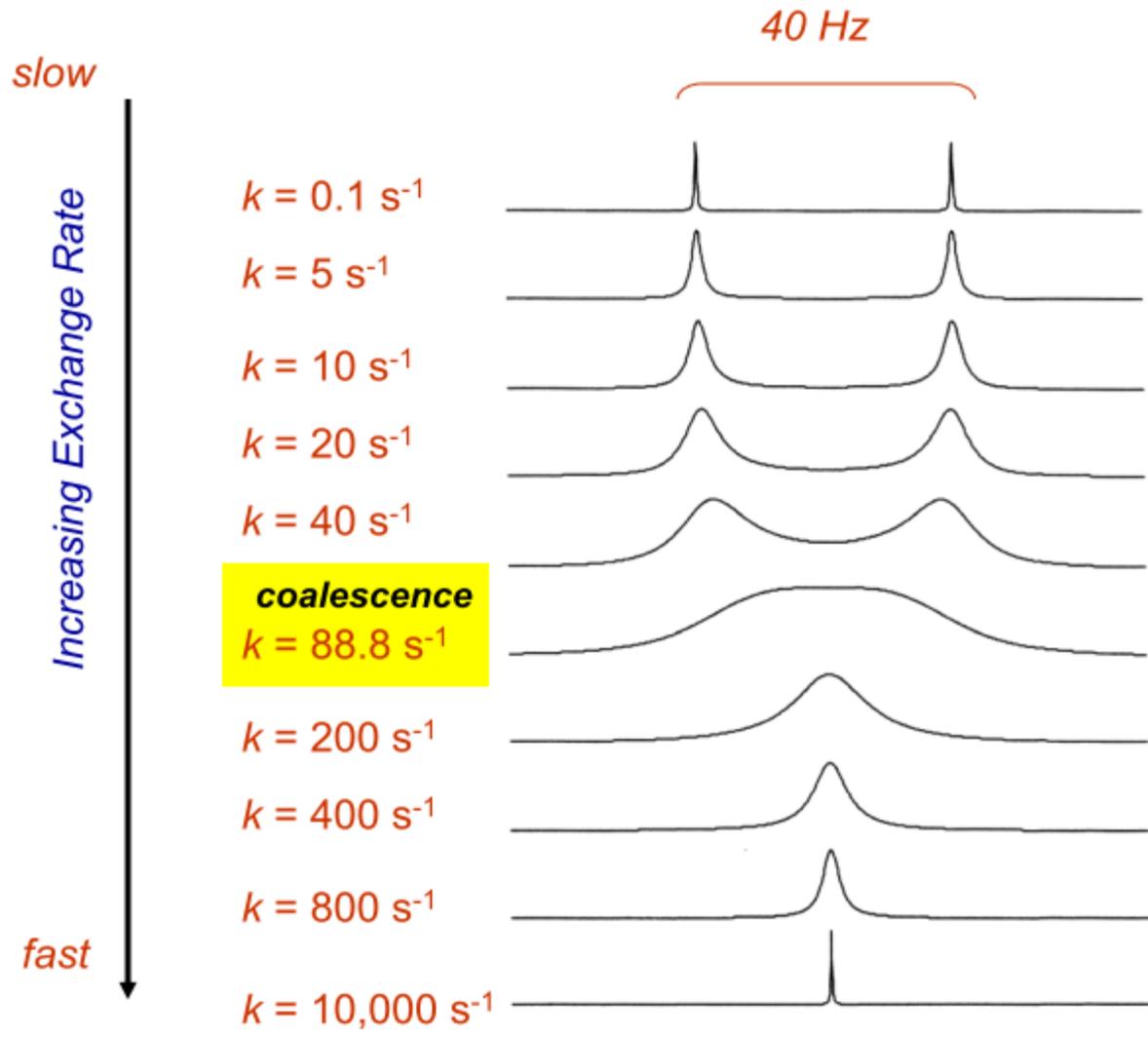


Scambio lento



Temp. 2

Scambio veloce

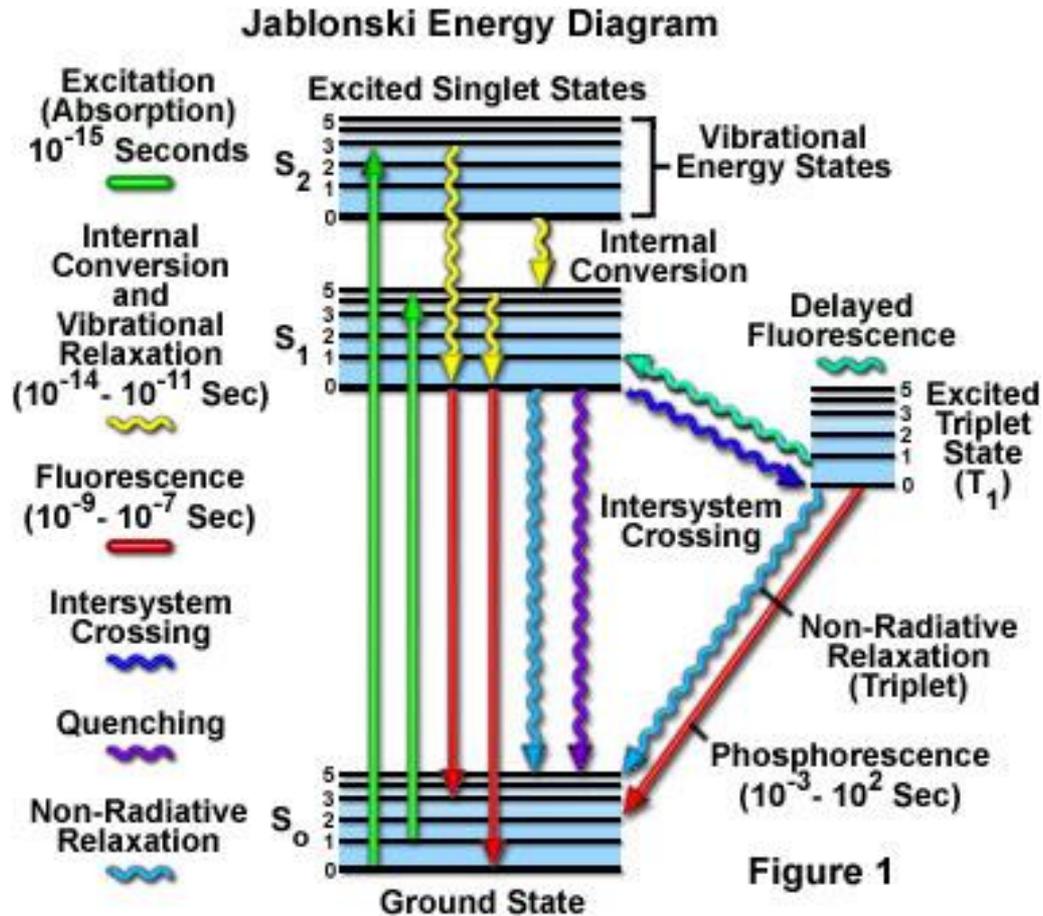


# LUMINESCENZA

---

- La **LUMINESCENZA** è una emissione di fotoni nell'ultravioletto, visibile e infrarosso da parte di una specie elettronicamente eccitata.
- la parola **LUMINESCENZA** (che deriva dal latino *lumen* = luce) è stata introdotta dal fisico Eilhardt Wiedemann nel **1888** per descrivere quei fenomeni della luce che non sono solo soggetti ad aumento di temperatura, diversamente dall'incandescenza.
- La **luminescenza** è "luce fredda" mentre l'incandescenza è "luce calda"

# FOTOLUMINESCENZA



# FOTOLUMINESCENZA

---

## fluorescenza

emissione di fotoni che accompagnano la transizione  $S_1 \longrightarrow S_0$

di solito lo spettro di fluorescenza si trova a più basse energie ( $\lambda$  maggiore) dello spettro di assorbimento per perdita di energia per rilassamento vibrazionale

**Stokes shift** – differenza tra  $\lambda_{\max}$  di assorbimento e  $\lambda_{\max}$  di emissione

I tempi di emissione sono simili a quelli di assorbimento,  $10^{-15}$  s

I tempi di vita della molecola nello stato eccitato vanno da decine a centinaia di ps

l'intensità di fluorescenza decade nel tempo in modo esponenziale

# FOTOLUMINESCENZA

Figure 2

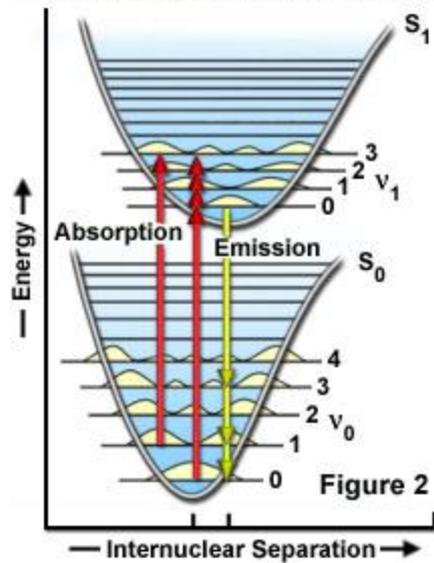
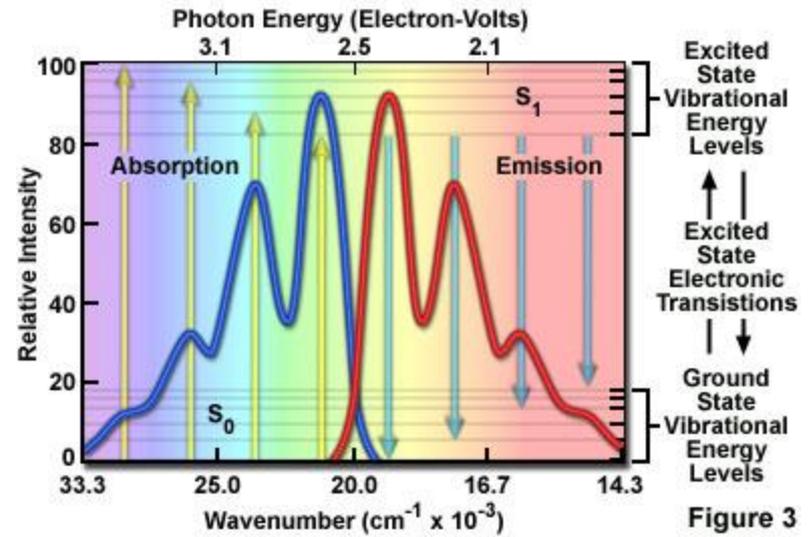


Figure 3



# FOTOLUMINESCENZA

---

## intersystem crossing

$S_1 \longrightarrow T_1$  è una transizione proibita

è una transizione non radiativa tra due livelli vibrazionali dello stesso stato elettronico a diversa molteplicità

avviene in  $10^{-7} - 10^{-9}$  s per spin-orbit coupling (accoppiamento tra momento magnetico orbitalico e momento magnetico di spin)

# FOTOLUMINESCENZA

---

## fosforescenza

transizione  $T_1 \longrightarrow S_0$  è proibita ma può essere osservata

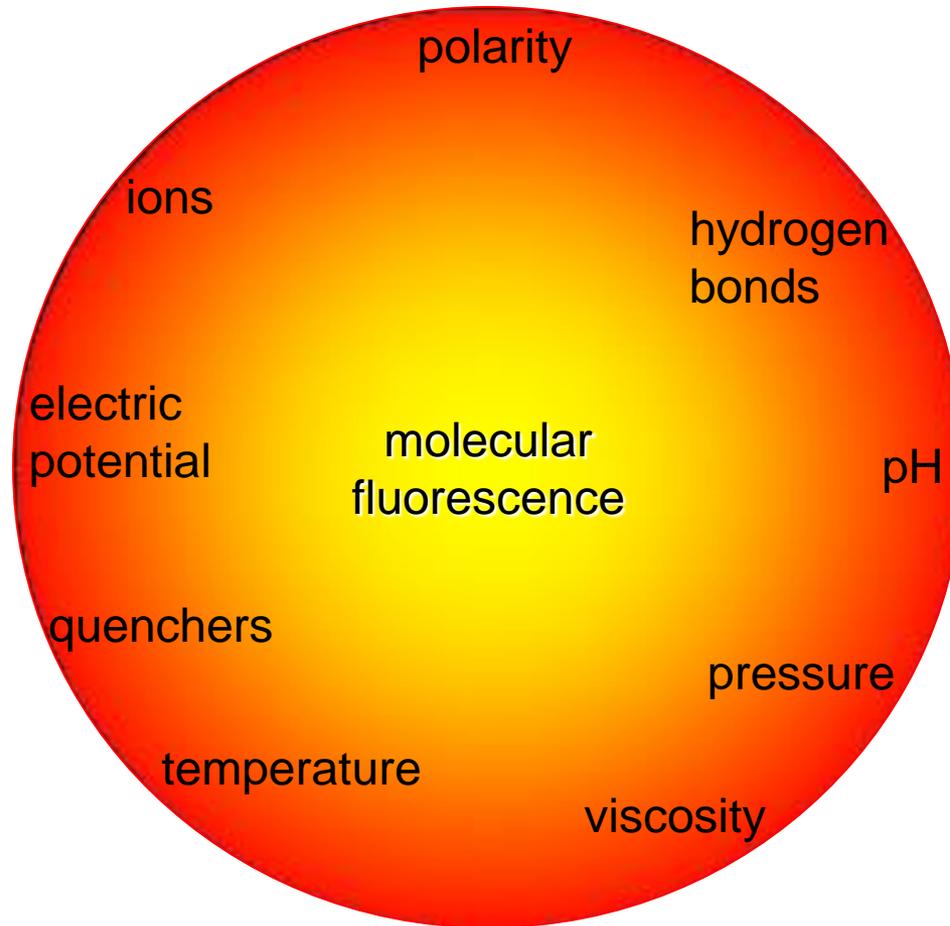
la costante di velocità di questo decadimento radiativo è molto bassa e compete con processi di collisione col solvente, ISC, rilassamenti vibrazionali

a bassa temperatura o in un mezzo rigido la fosforescenza può essere osservata e il tempo di vita dello stato di tripletto è così lungo che la fosforescenza può avere tempi dell'ordine di secondi o minuti

# FOTOLUMINESCENZA

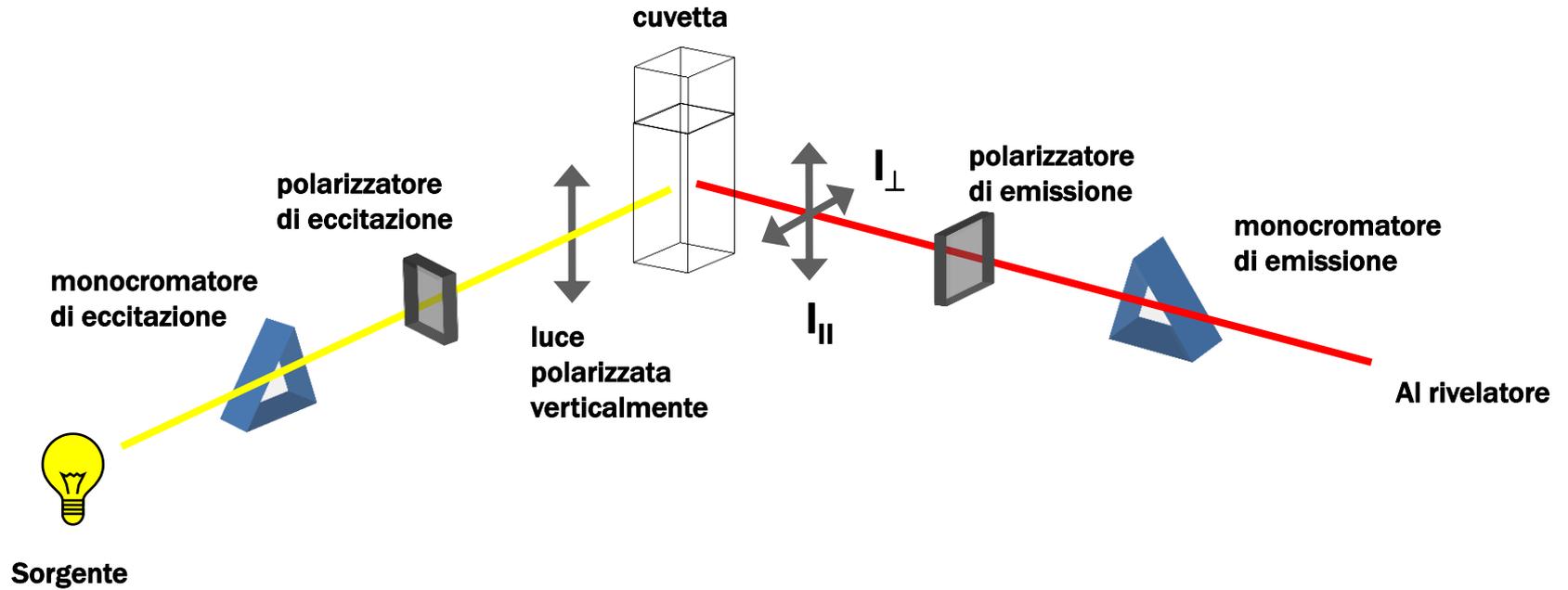
---

vari parametri che influenzano l'emissione di fluorescenza



# FLUORESCENZA

---



# FLUORESCENZA

---

$i_F$  **intensità di fluorescenza** è definita come la quantità di fotoni (in moli o einstein) emessa per unità di tempo e per unità di volume di soluzione (1 einstein = 1 mole di fotoni)

## $I_F$ **intensità di fluorescenza misurata**

è proporzionale a  $i_F$  e il fattore di proporzionalità dipende dalle condizioni strumentali e sperimentali. Il valore di  $I_F$  è quindi dato su una scala arbitraria

## **resa quantica**

$$\Phi_F = \frac{k_r^S}{k_r^S + k_{nr}^S} = k_r^S \tau_S$$

$k_r^S$  costante di velocità per il decadimento  $S_1 - S_0$  con emissione di fluorescenza

$k_{nr}^S$  costante di velocità per processi non radiativi

$\tau_S$  tempo di vita dello stato eccitato  $S_1$

la resa quantica di fluorescenza è la frazione di molecole eccitate che ritornano allo stato fondamentale  $S_0$  con emissione di fotoni fluorescenti

# FLUORESCENZA

---

tempo di vita dello stato eccitato  $S_1$

$$\tau_S = \frac{1}{k_r^S + k_{nr}^S}$$

la resa quantica di fluorescenza è il rapporto tra il numero di fotoni emessi (per tutta la durata del decadimento) rispetto al numero di fotoni assorbiti

$$\Phi_F = \frac{\tau_S}{\tau_r}$$

dove

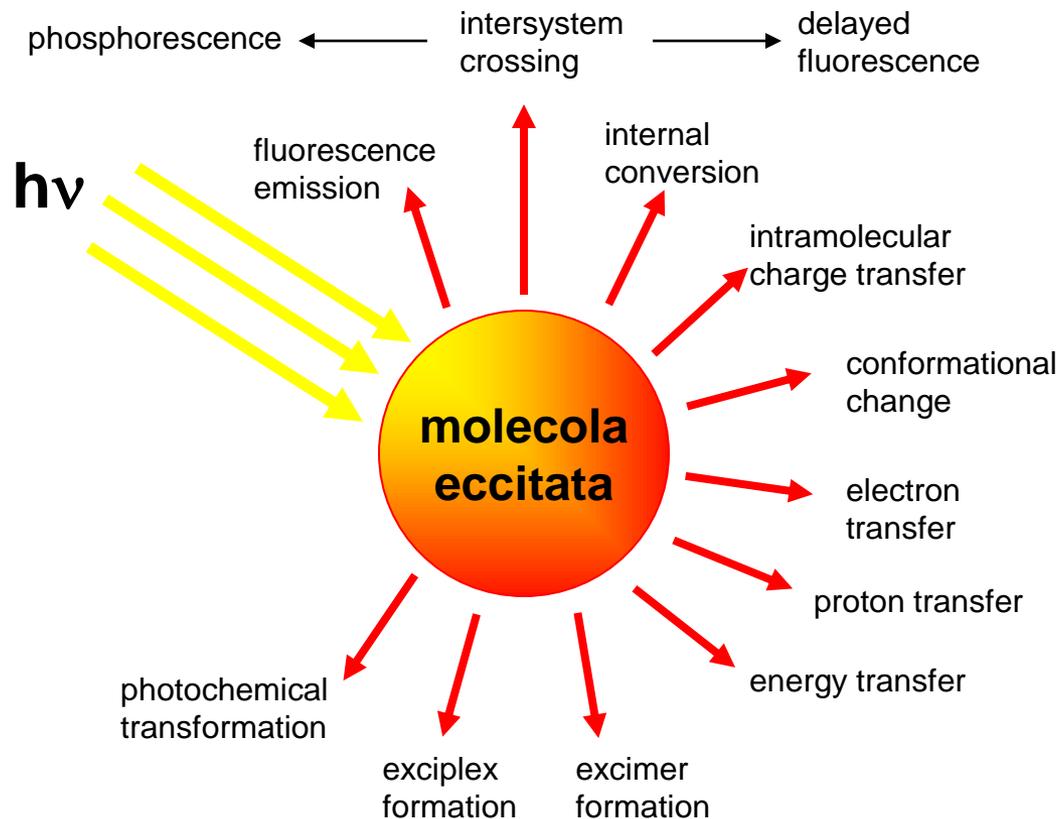
$$\tau_r = \frac{1}{k_r^S}$$

per il decadimento dovuto solamente alla fluorescenza

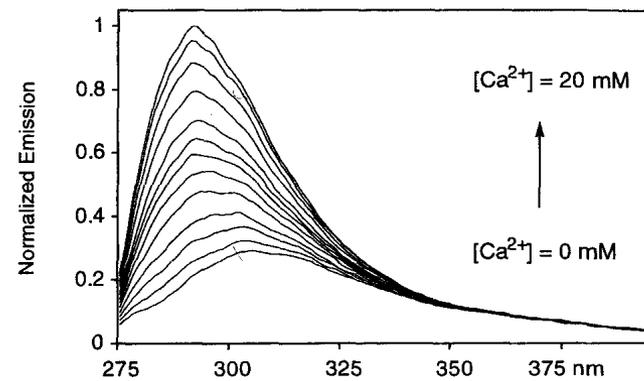
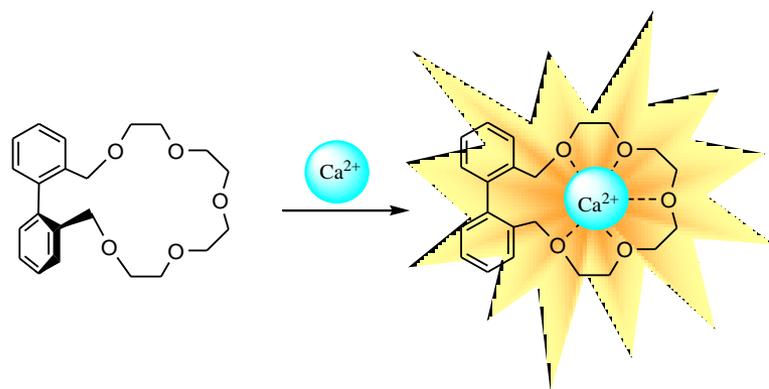
# FOTOLUMINESCENZA

---

possibili vie di de-eccitazione di una molecola eccitata

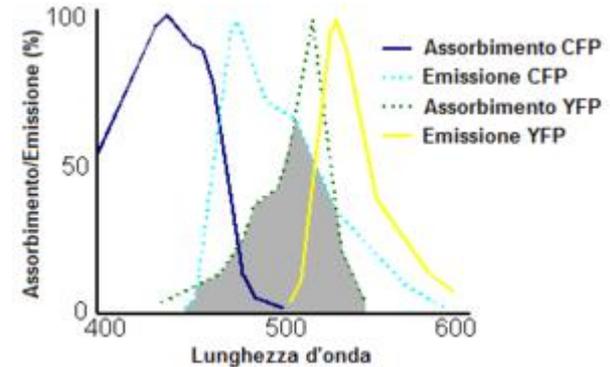
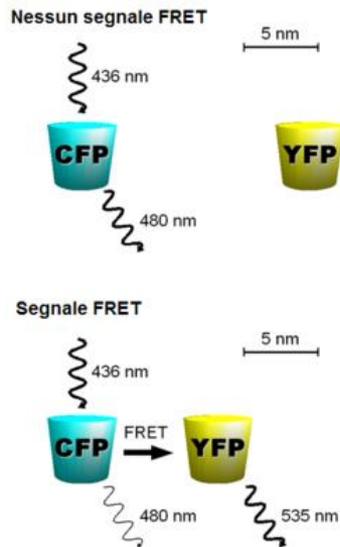


# Conformational variations



Finney et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 1260.

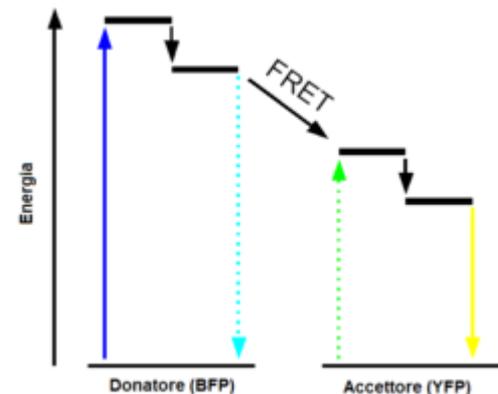
# FRET (RET) fluorescence resonance energy transfer



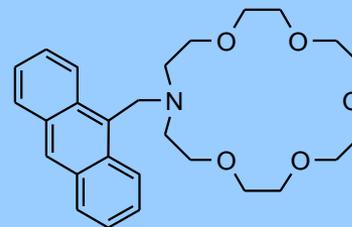
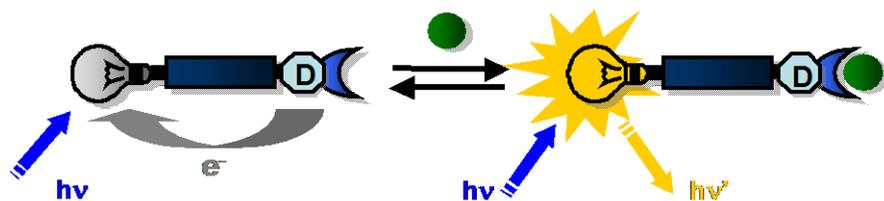
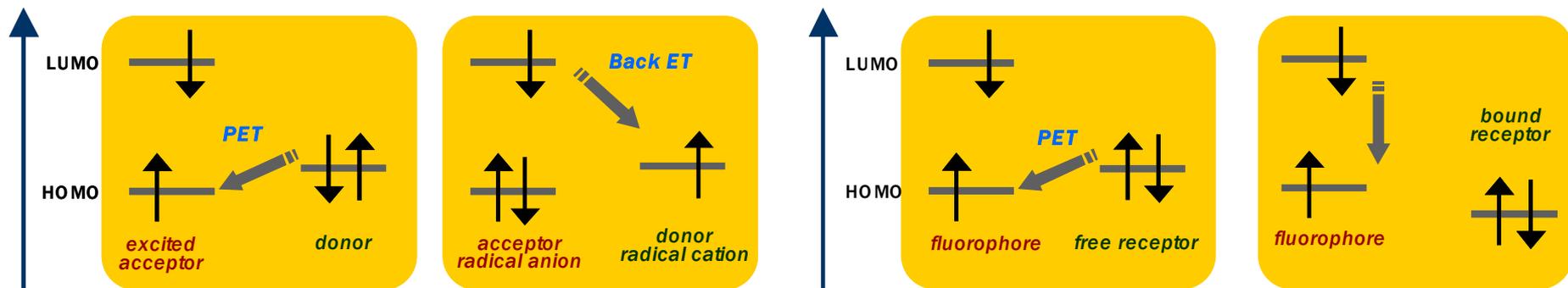
Il FRET dipende dalla distanza tra le due molecole, avviene senza l'emissione di un fotone ed è la conseguenza di interazioni dipolo-dipolo a lungo raggio tra le due parti. L'espressione per la costante di velocità del processo è la seguente:

$$k_T(r) = \frac{1}{\tau_D} \left( \frac{R_0}{r} \right)^6$$

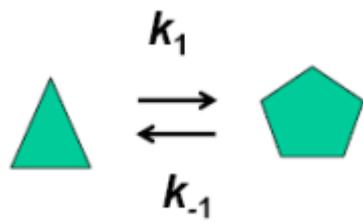
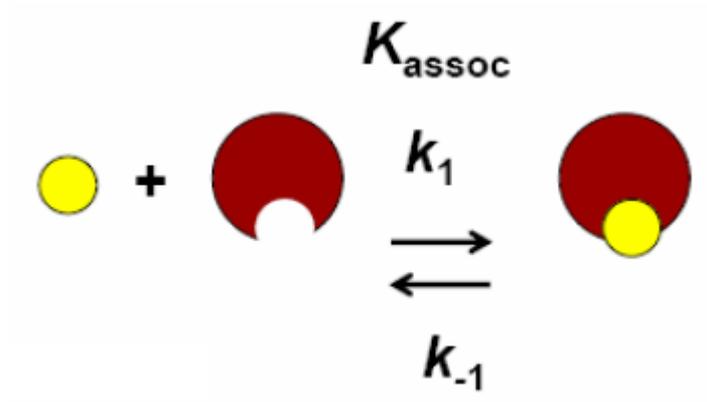
Il trasferimento di energia è fortemente dipendente dalla distanza intermolecolare tra donatore ed accettore.  $\tau_d$  ed  $R_0$  sono rispettivamente il tempo di vita dello stato eccitato del donatore ed una distanza, detta diametro di Förster che dipende dalle proprietà spettrali del donatore e dell'accettore



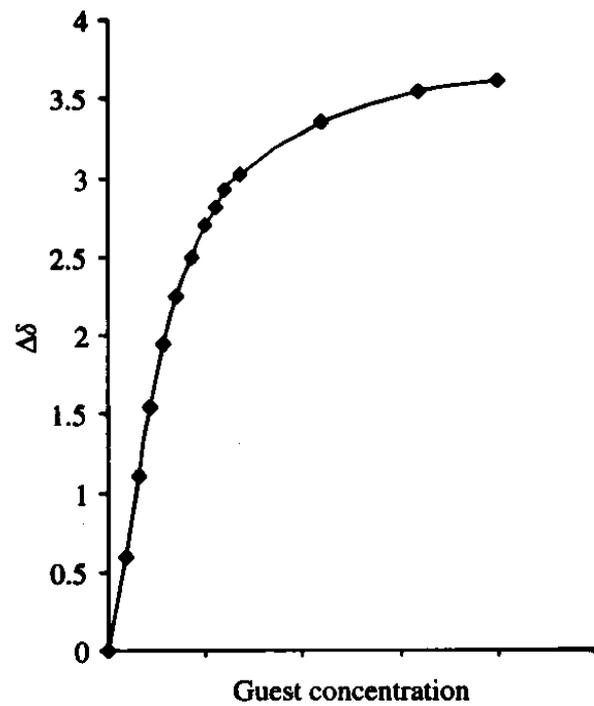
# Photoinduced electron transfer (PET)



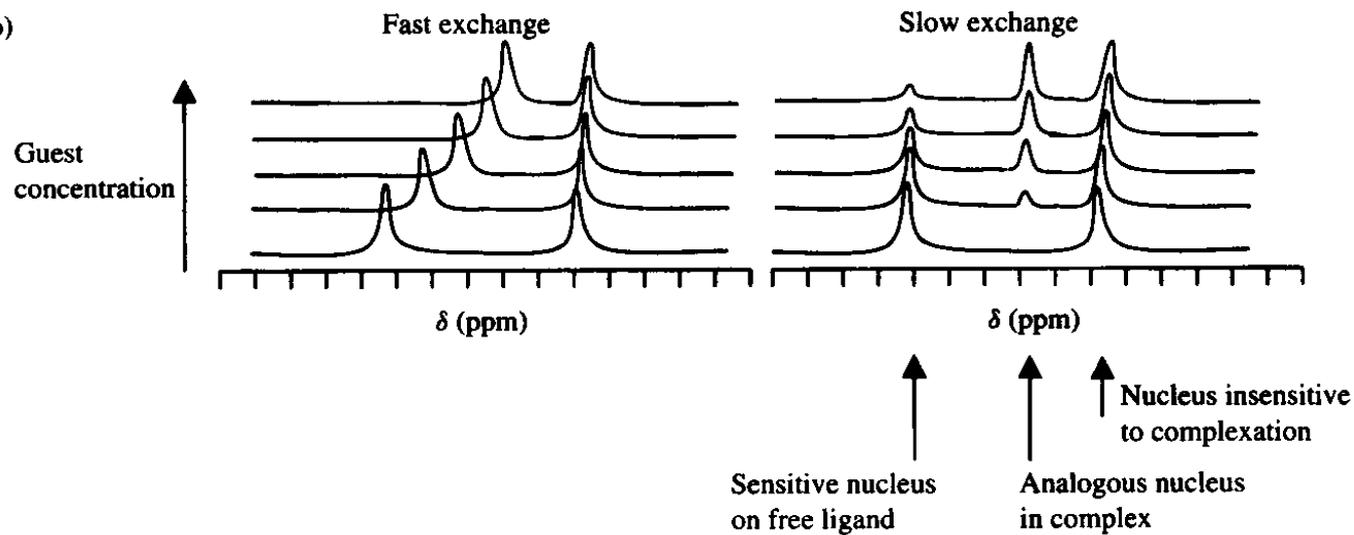
De Silva et al.  
*J. Chem Soc.. Chem. Commun*, 1986, 1709

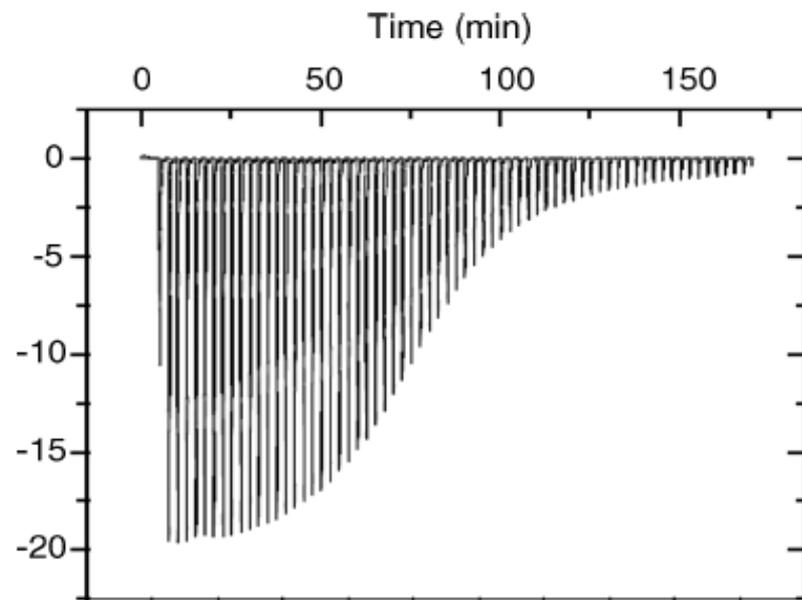
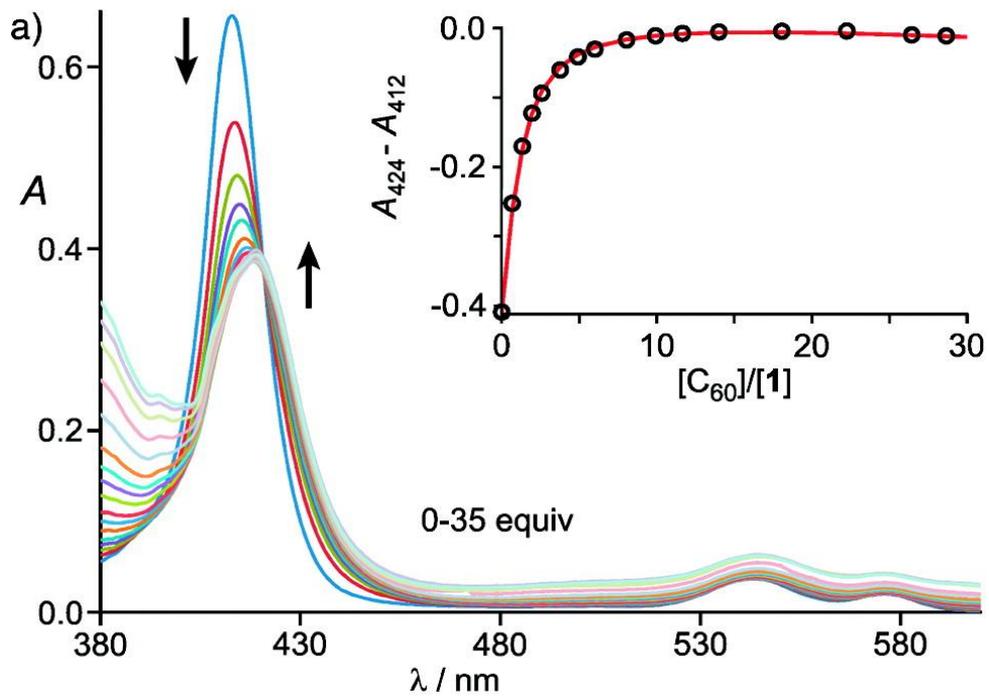


(a)

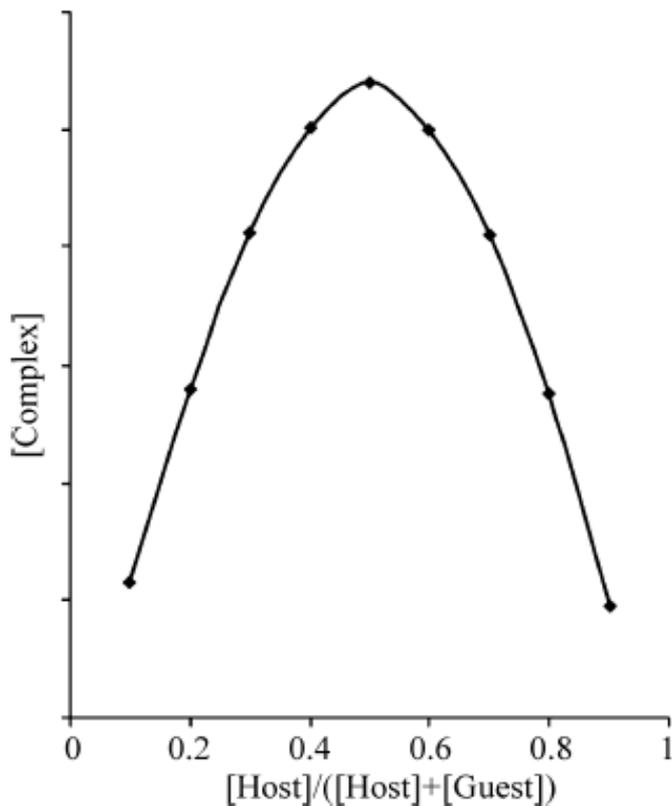


(b)





- NMR :  $[i] \approx \text{mM}$ ,  $K_{\text{max}} \approx 10^4$
- Microcalorimetry :  $[i] \approx \text{mM}$ ,  $K_{\text{max}} \approx 10^7$
- UV-vis :  $0.01 \text{ mM} < [i] < \text{mM}$ ,  $K_{\text{max}} \approx 10^6$
- Fluorimetry :  $[i] \approx \mu\text{M}$ ,  $K_{\text{max}} \approx 10^8$



The total molar concentration of the two binding partners are held constant, but their mole fractions are varied.

An observable that is proportional to complex formation is plotted against the mole fractions of these two components.

The maximum on the plot corresponds to the **stoichiometry** of the two species.