

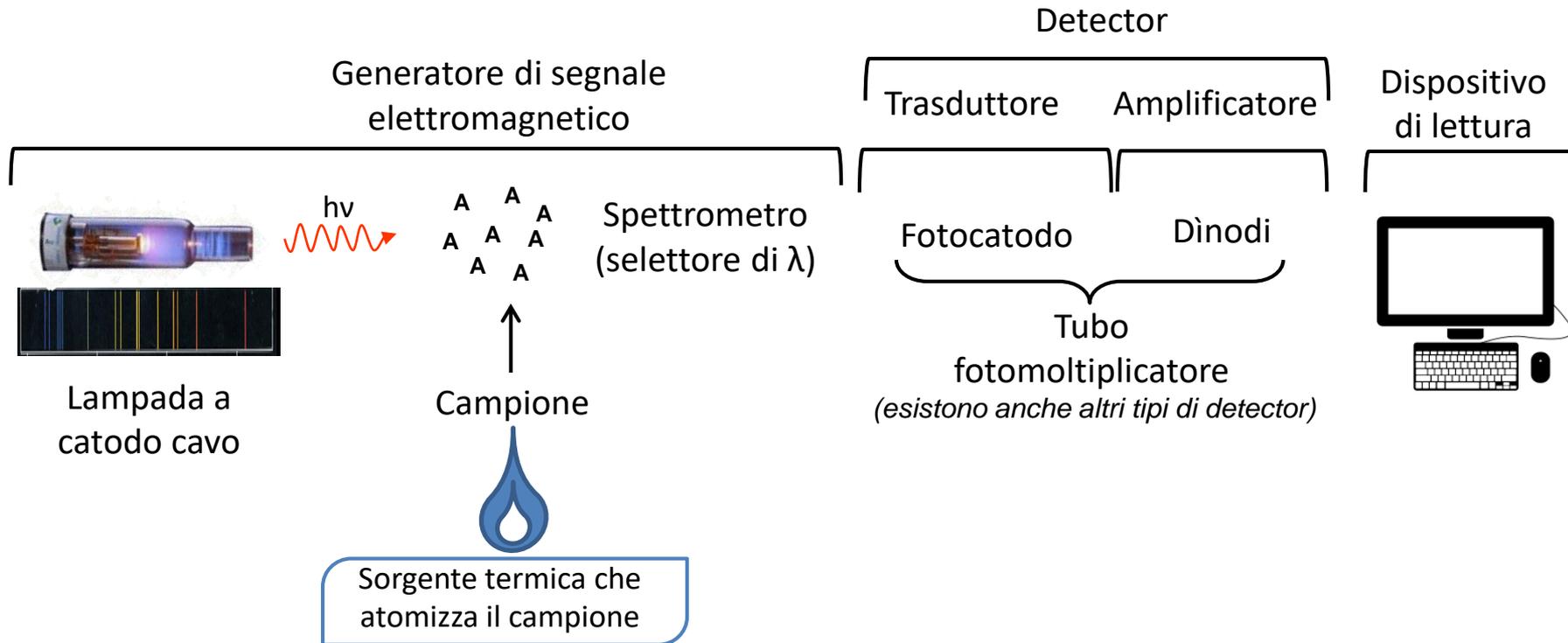
# **CHIMICA ANALITICA II**

**CON LABORATORIO**

**(AA 2018-19)**

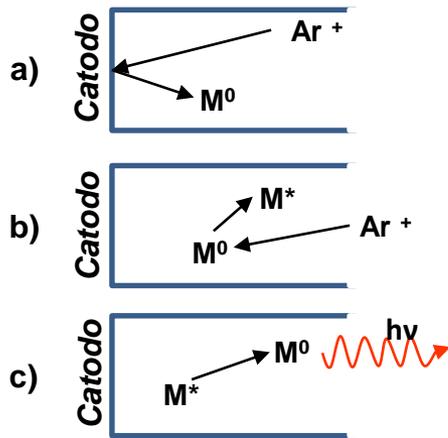
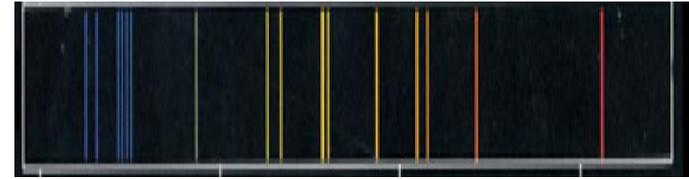
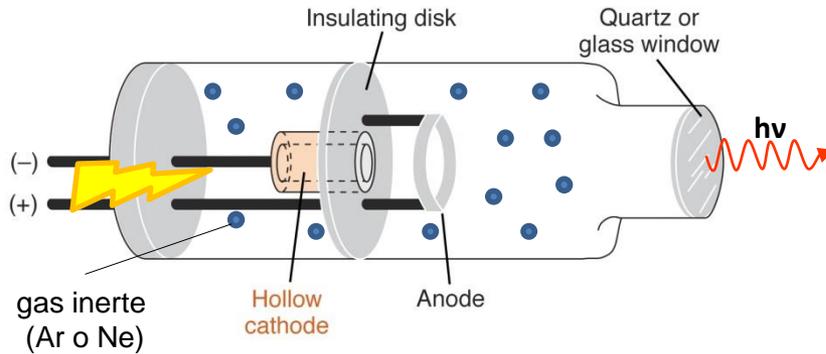
8 C.F.U. - Laurea triennale in Chimica

# Spettroscopia di assorbimento atomico: la strumentazione



*Nella spettroscopia di assorbimento atomico la sorgente termica serve solamente ad atomizzare il campione, la sorgente di segnale elettromagnetico è la lampada a catodo cavo.*

# La sorgente di radiazione primaria: la lampada a catodo cavo



Il catodo è formato da un metallo ad alta purezza (o anche più di uno nelle lampade multielemento).

La lampada contiene un gas inerte (Ar o Ne) ad una pressione di 1-5 Torr.

Attraverso una scarica elettrica, il gas inerte si ionizza e cede il suo contenuto energetico alla lamina metallica, che va incontro a un processo di sputtering (a), con espulsione di una "nube" di atomi allo stato fondamentale che passano a uno stato eccitato collidendo (b) con altre specie cariche del gas inerte prodotte durante la ionizzazione.

Gli atomi del metallo, ritornando allo stato fondamentale (c), emettono successivamente fotoni di lunghezza d'onda caratteristica cioè un tipico spettro di emissione della specie metallica al catodo.

Per evitare di sommare il contributo emissivo del gas inerte a quello del metallo è necessario realizzare una modulazione della sorgente o utilizzando un componente meccanico (chopper) oppure (più frequentemente) pulsando la corrente in ingresso alla lampada.

segue →

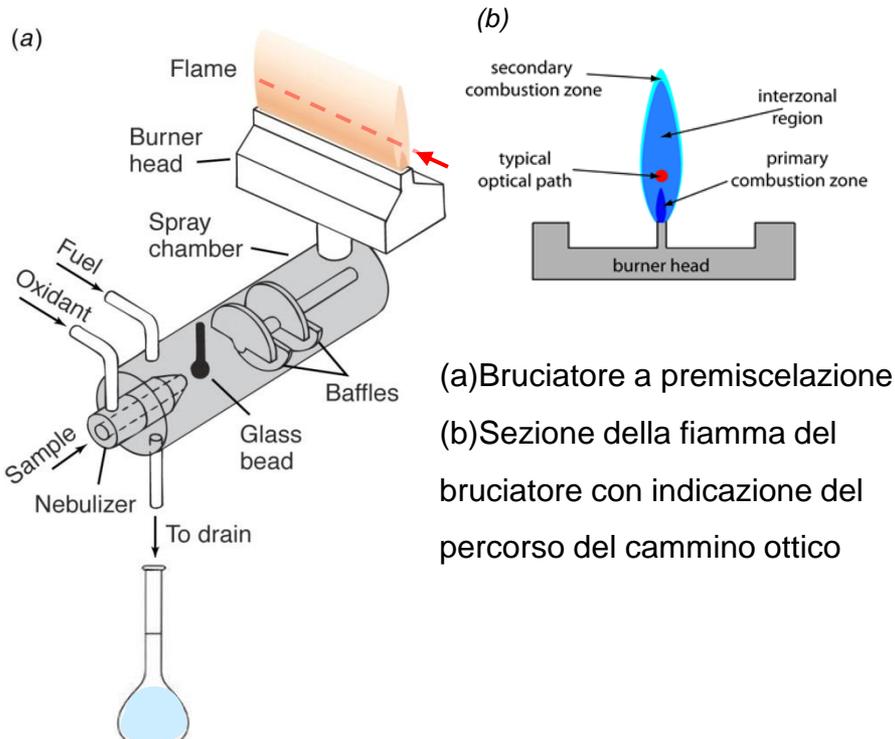
# Le sorgenti termiche di atomizzazione

Le **sorgenti** termiche di atomizzazione possono essere principalmente di due tipi:

- *fiamma*
- *atomizzatore elettrotermico (fornetto di grafite)*

---

## Sorgenti a fiamma



(a) Bruciatore a premiscelazione

(b) Sezione della fiamma del bruciatore con indicazione del percorso del cammino ottico

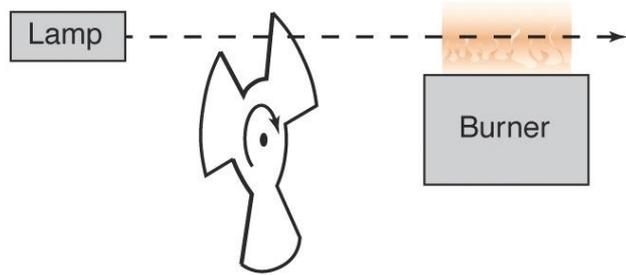
La sorgente a fiamma è del tutto simile a quella utilizzata per la spettroscopia di emissione atomica.

Il cammino ottico (cioè la direzione della radiazione elettromagnetica emessa dalla lampada a catodo cavo) passa ad una certa altezza rispetto alla testa del bruciatore.

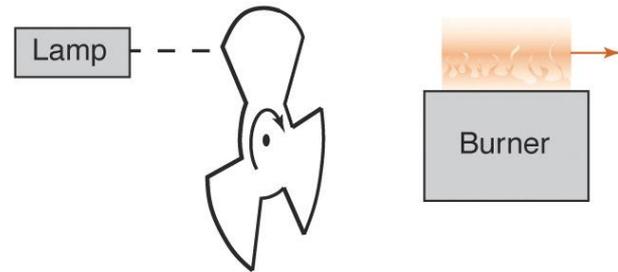
Il tempo di residenza degli atomi liberi dell'analita lungo il cammino ottico è molto basso, portando ad una sensibilità nell'analisi relativamente bassa .

segue →

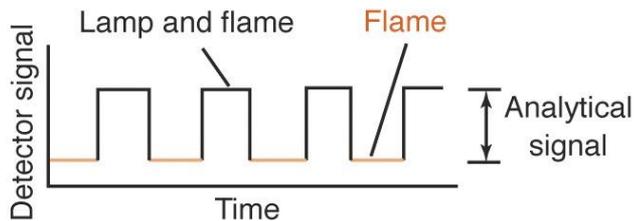
Per evitare di sommare il contributo emissivo della fiamma a quello della radiazione  $I_\lambda$  trasmessa a seguito di assorbimento del metallo è necessario realizzare una modulazione della sorgente o utilizzando un componente meccanico (**chopper**) oppure (più frequentemente) pulsando la corrente in ingresso alla lampada.



(a) Rotating chopper



(b)



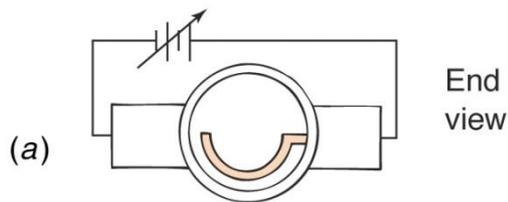
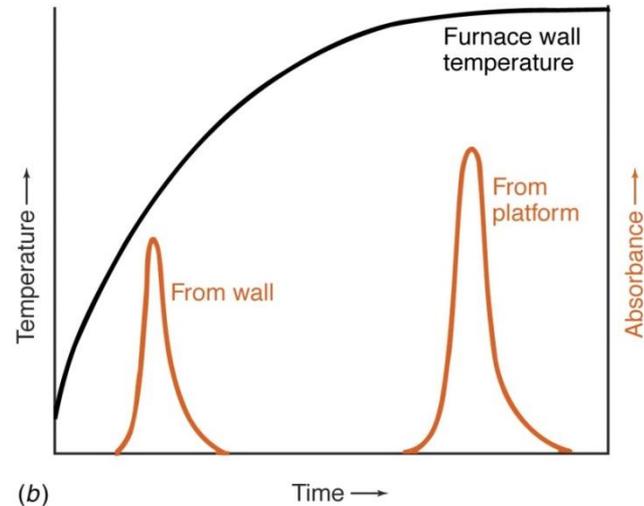
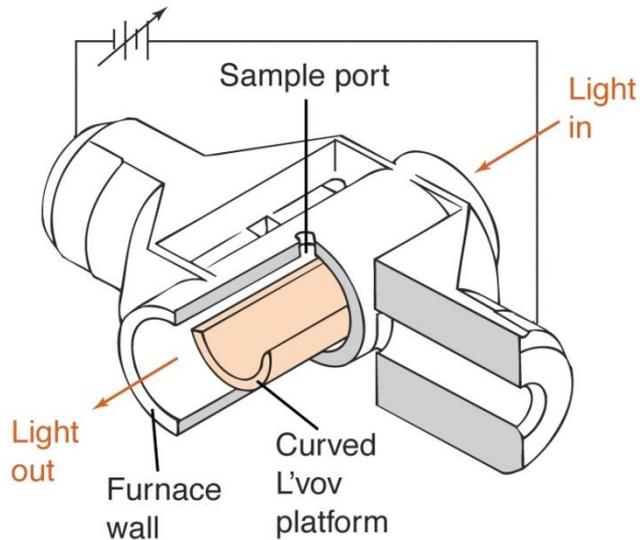
(c)

(a) Sia l'emissione della fiamma che quella della lampada arrivano al detector

(b) Soltanto l'emissione della fiamma raggiunge il detector

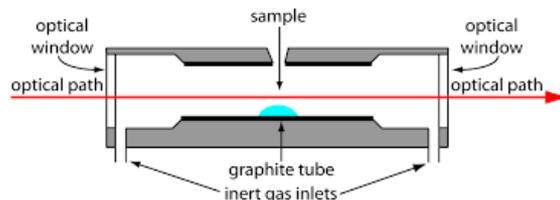
(c) Segnale ad onda quadra risultante dalla modulazione

## Sorgenti elettrotermica (fornetto di grafite)



a) Fornetto di grafite a riscaldamento trasversale;

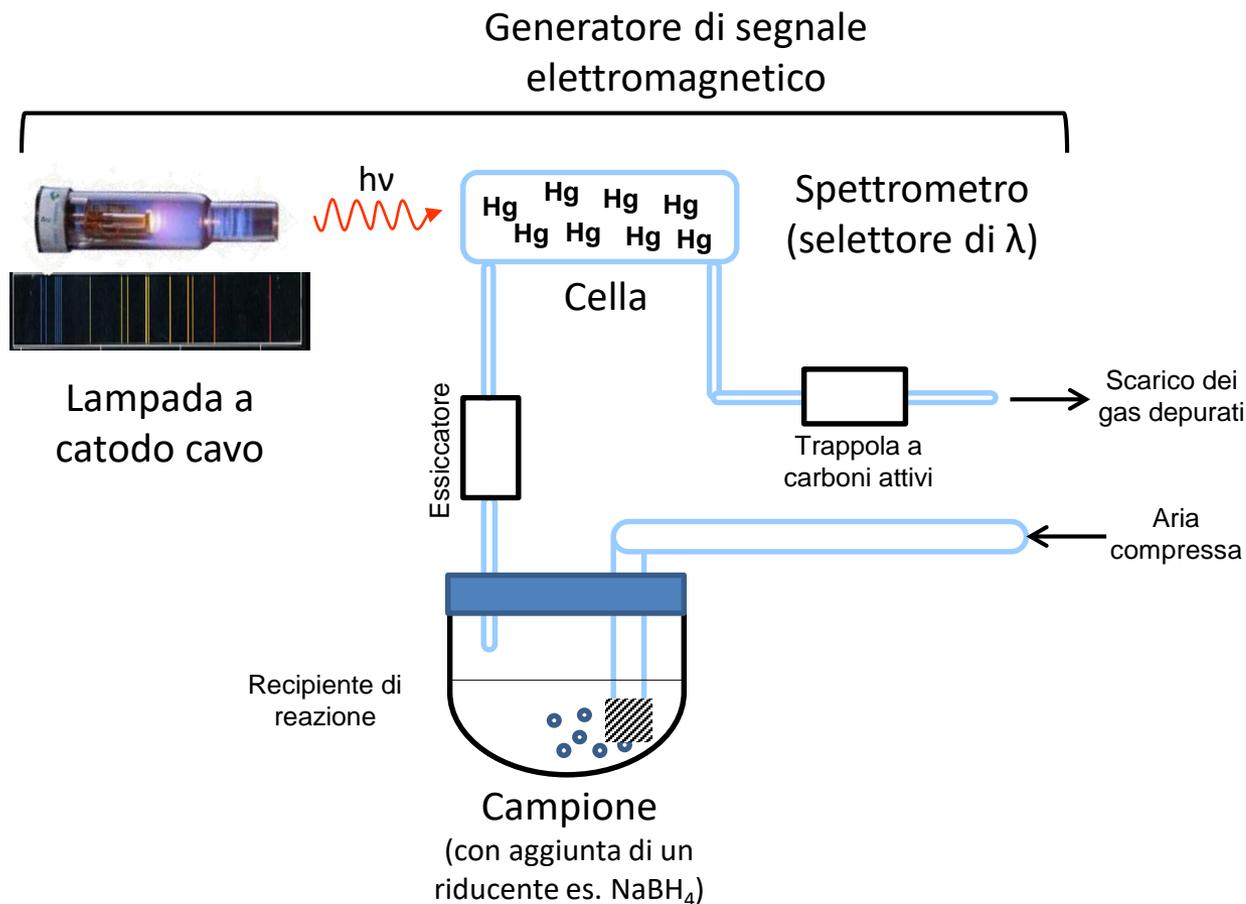
b) Profilo di riscaldamento del fornello ed aumento del segnale impiegando la piattaforma



L'atomizzazione in fornello di grafite offre una sensibilità maggiore (maggiore tempo di residenza del campione) e consente l'utilizzo di volumi di campione inferiori ( $1\mu\text{L}$ ) rispetto all'atomizzatore a fiamma

## La sorgente di atomizzazione a "vapori freddi" (per analisi Hg)

Nel caso del mercurio si può migliorare di molto la sensibilità analitica misurando l'assorbimento da parte di vapori ottenuti per via chimica invece che con sorgente termica.

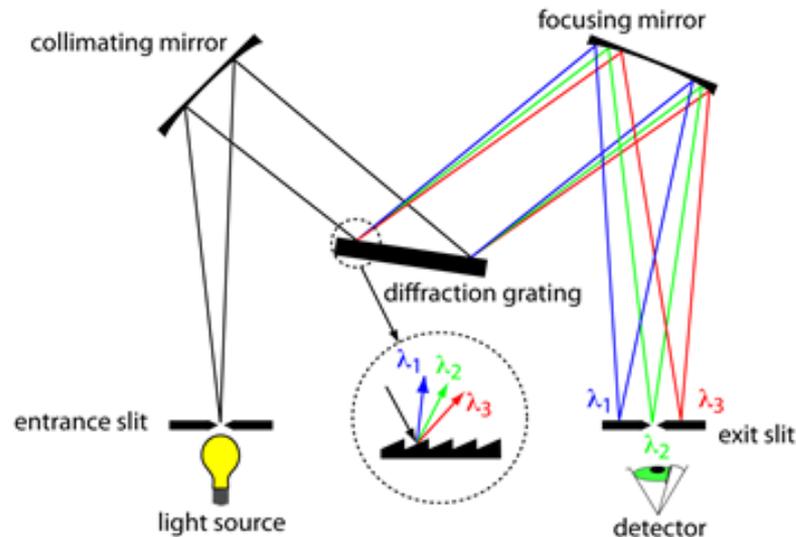


# Lo spettrometro (o monocromatore - selettore di $\lambda$ )

Lo spettrometro è uno strumento che:

- disperde nello spazio la luce emessa dalla sorgente radiativa;
- isola una specifica lunghezza d'onda tra quelle relative alle righe spettrali dell'analita oppure a segnali di fondo (background)

Lo spettrometro è costituito principalmente da un elemento disperdente e da sistemi di fenditure. Nell'esempio sottostante si riporta uno spettrometro in cui il sistema disperdente è un reticolo di diffrazione.

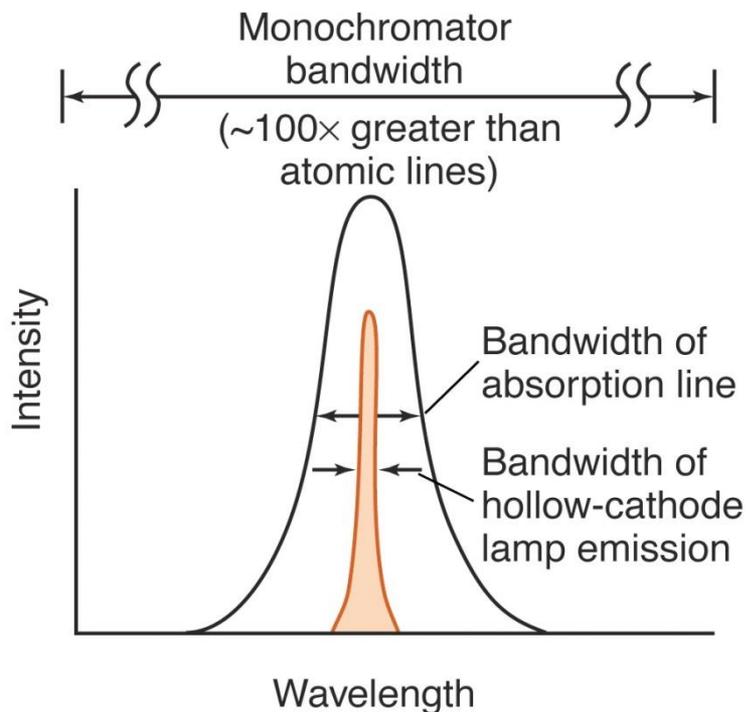


La trattazione estesa delle componenti e modalità di funzionamento di uno spettrometro verranno discusse nella trattazione della Spettroscopia di assorbimento molecolare.

## Il concetto di "larghezza di banda" ( $\Delta\lambda$ )

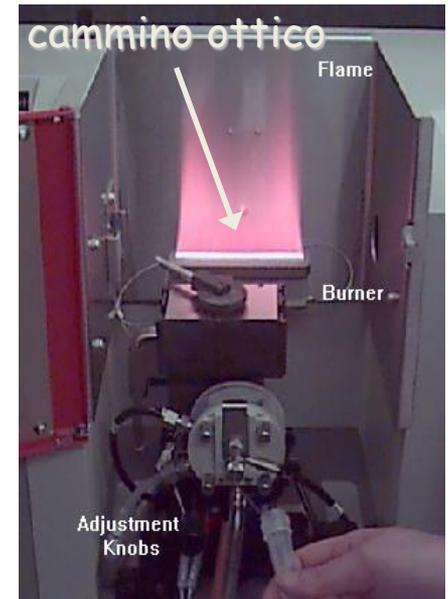
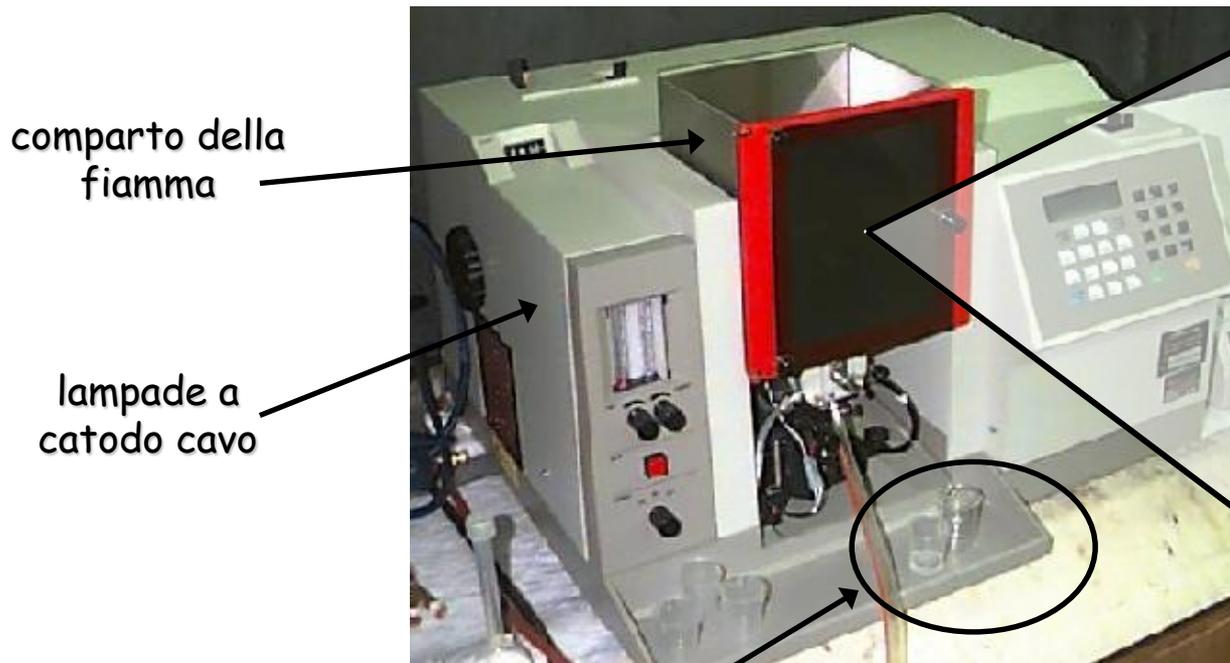
Quando si parla di selezione di "una" lunghezza d'onda, in realtà si intende un intervallo molto ristretto di lunghezze d'onda  $\Delta\lambda$ , centrato sulla lunghezza  $\lambda$  di interesse. Questo è dovuto sia a fenomeni intrinseci che riguardano le specie chimiche, sia a limiti strumentali.

In particolare le larghezze di riga dell'emissione atomica di una lampada a catodo cavo sono più grandi di quelle di assorbimento atomico ed entrambe sono circa 100 volte più piccole della banda passante di un monocromatore.



In spettroscopia atomica di emissione ed assorbimento il monocromatore viene quindi posto dopo il campione (ottica inversa) al contrario delle spettroscopie di assorbimento molecolare.

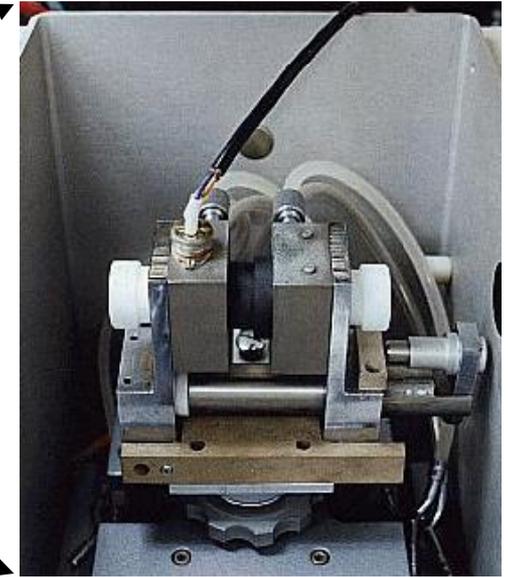
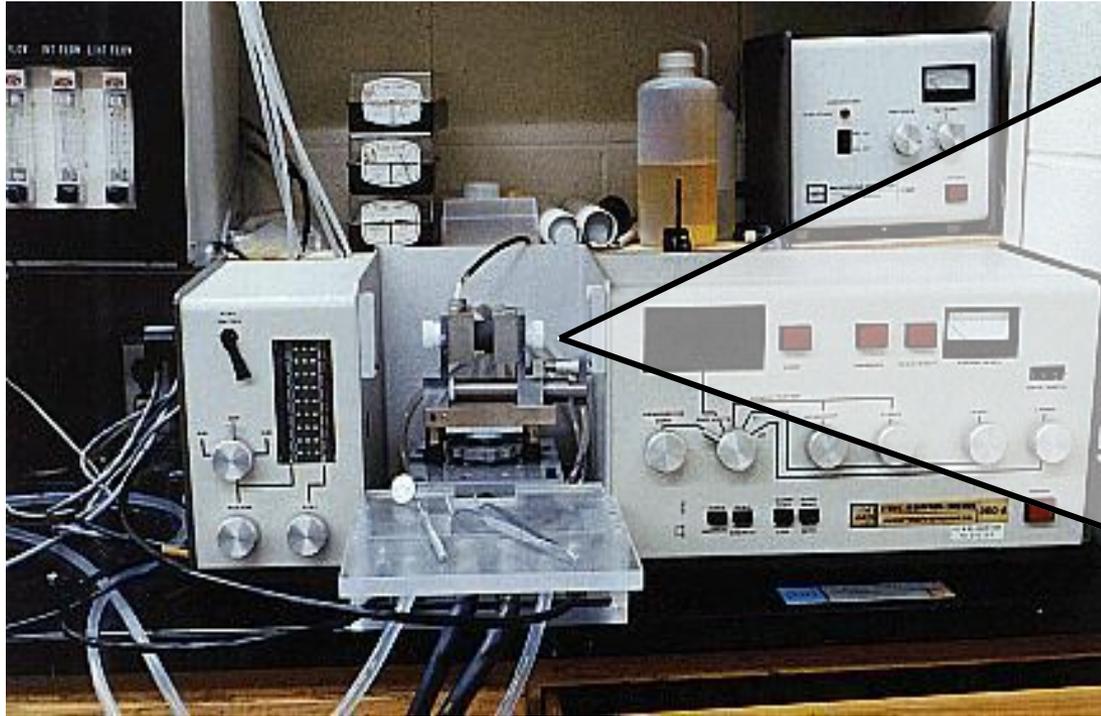
# Strumentazione per assorbimento atomico a fiamma (FAAS)



aspirazione in continuo  
segnale dipendente dalla  
concentrazione e non dalla  
massa

combustibile (acetilene) + comburente (aria)  $\Rightarrow$  fiamma

# Strumentazione per assorbimento atomico ad atomizzazione elettrotermica (ETAAS o GFAAS)



il campione (poche decine di  $\mu\text{l}$ ) viene depositato all'interno di un cilindro di grafite detto *fornetto*, sottoposto poi a cicli di riscaldamento

Elettrotermica (ET): atomizzazione mediante una corrente elettrica ad alta potenza che crea un riscaldamento per effetto Joule

Il fornetto di grafite ha dimensioni di pochi cm



# Le Spettroscopie di Assorbimento Molecolare

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

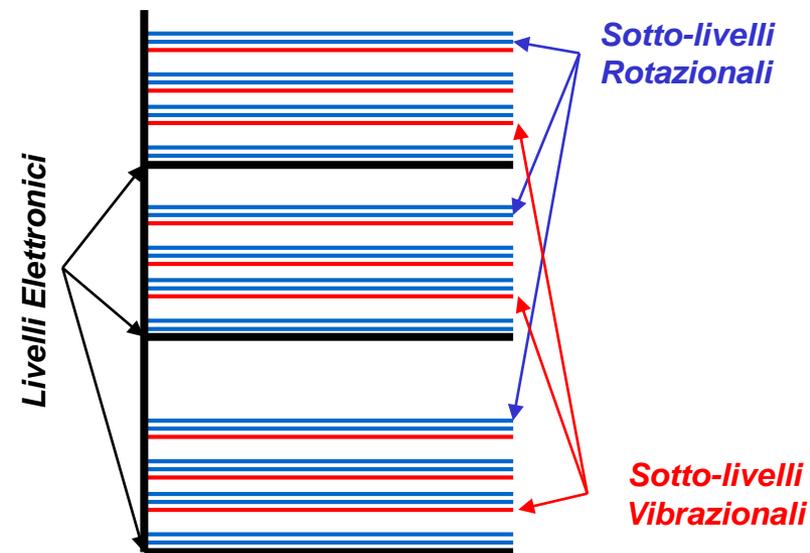
Le transizioni possono essere:

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

(Le ultime due riguardano solo le molecole e non gli atomi)

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

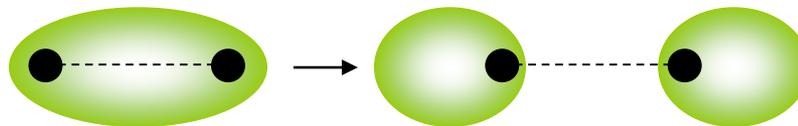
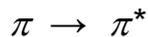
- In una molecola ogni livello di energia elettronica è suddiviso in un certo numero di **sottolivelli vibrazionali**;
- In aggiunta ciascun sottolivello vibrazionale è ulteriormente suddiviso in **sottolivelli rotazionali**



segue →

## **Transizioni elettroniche:**

*Provocano modifiche nella distribuzione degli elettroni negli orbitali molecolari, es.:*



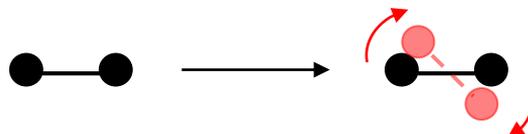
## **Transizioni vibrazionali :**

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



## **Transizioni rotazionali**

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



segue →

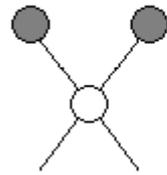
Le posizioni degli atomi in una molecola non sono fisse;

Sono soggette ad un numero di differenti vibrazioni.

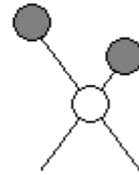
Le vibrazioni si suddividono nelle due categorie maggiori di *stretching* e *bending*

**Stretching:** variazioni della distanza inter-atomica lungo l'asse di legame

### Stretching vibrations



Symmetric



Asymmetric

**Bending:** variazioni nell'angolo tra due legami. Ci sono quattro tipi di piegamento:

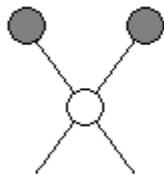
Rocking

Scissoring

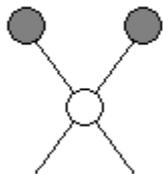
Wagging

Twisting

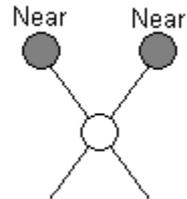
### Bending vibrations



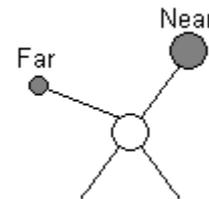
In-plane rocking



In-plane scissoring

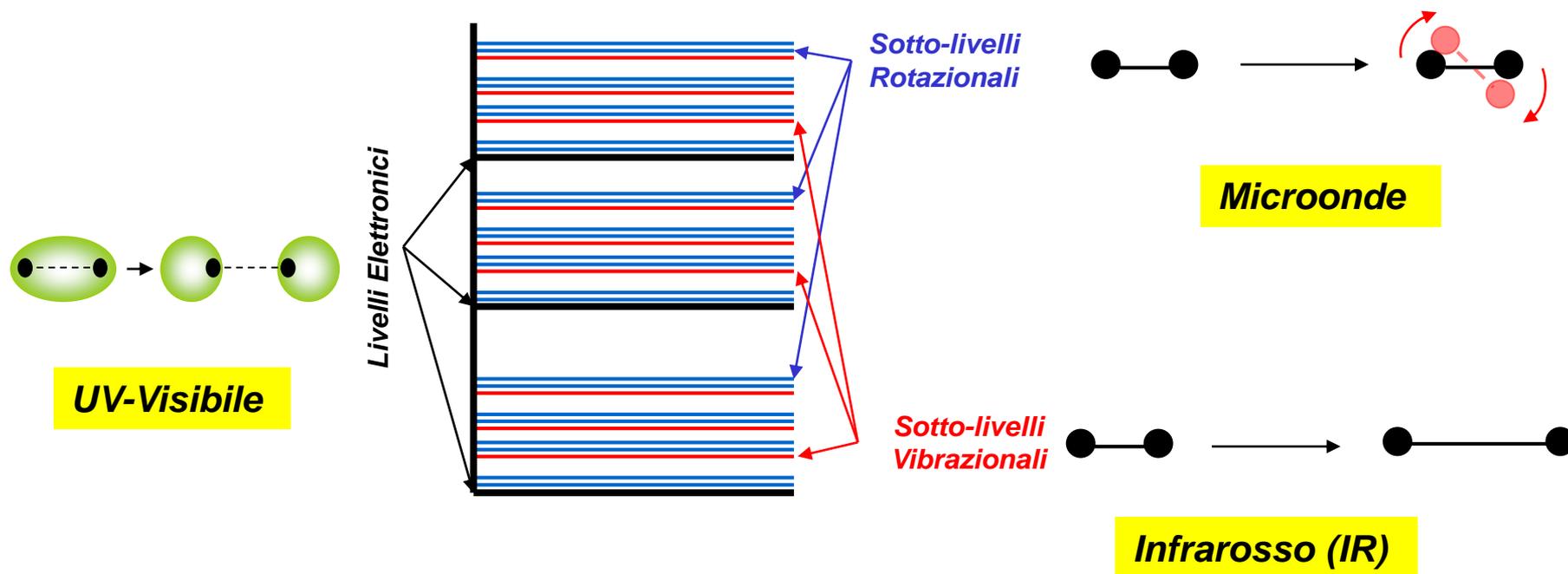


Out-of-plane wagging



Out-of-plane twisting

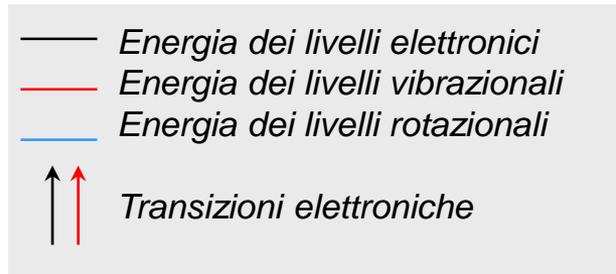
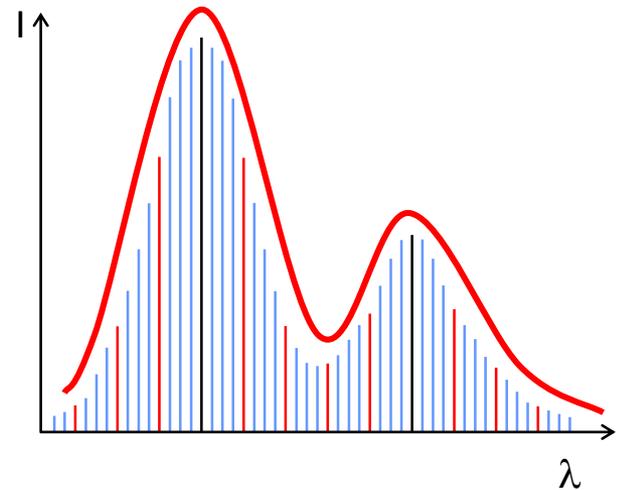
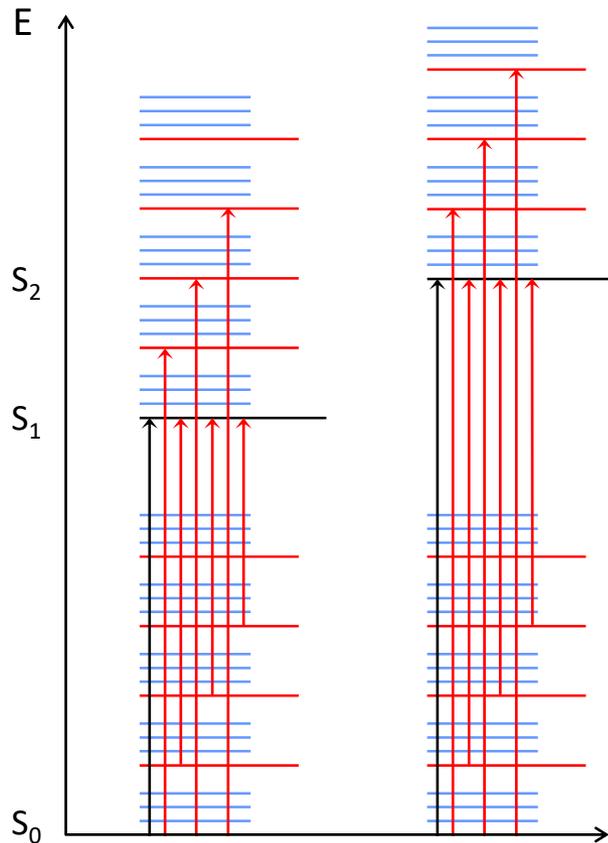
Ogni tipo di transizione è correlata alla quantità di energia fornita, quindi anche all'intervallo di lunghezze d'onda coinvolto:



segue →

L'interazione della radiazione con una molecola e l'assorbimento coinvolge quindi non solo livelli elettronici, ma anche sotto-livelli vibrazionali e rotazionali.

Le interazioni con altre molecole avranno anch'esse un effetto, con il risultato che lo spettro di assorbimento sarà a "bande" (ci saranno talmente tante transizioni che sarà impossibile distinguere le une dalle altre).



numero d'onda  $\nu$ , è il numero di oscillazioni di un'onda nell'unità di lunghezza, e corrisponde quindi al reciproco della [lunghezza d'onda](#):

La identificazione di un composto si può effettuare sulla base del suo spettro di assorbimento, mediante confronto con lo spettro di un materiale noto o di uno standard di riferimento.

Ciò viene fatto principalmente con la tecnica IR poiché lo spettro IR contiene più informazioni rispetto a quello UV e Vis.

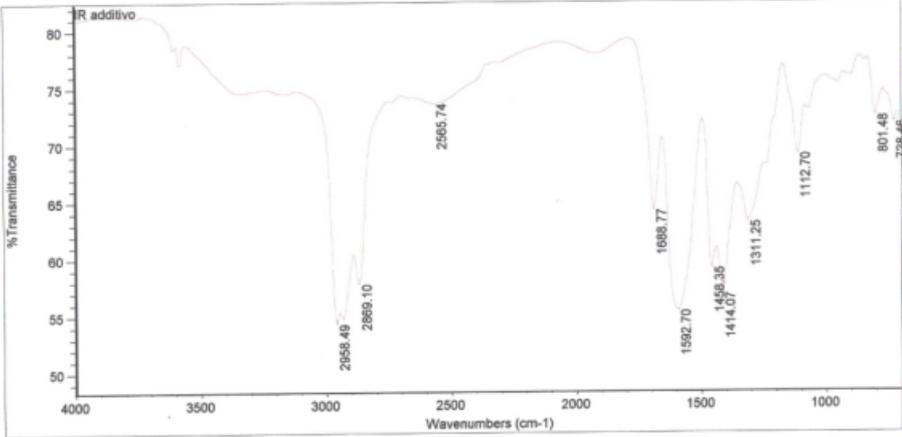


Figura 1 Analisi IR eseguita sulla soluzione analizzando gli assorbimenti tra i 4000 e i 700  $\text{cm}^{-1}$ .

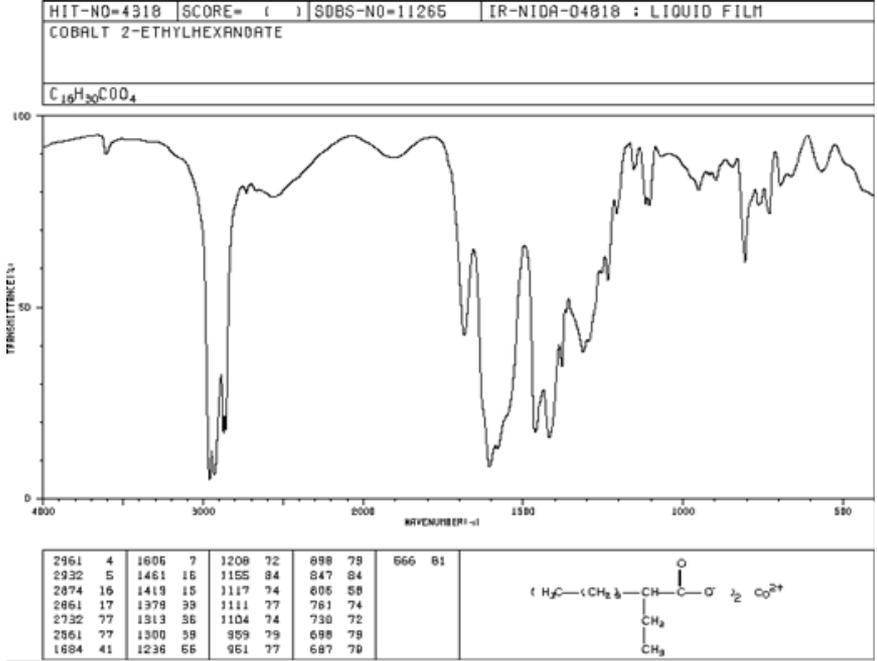


Figura 1 Spettro IR prelevato dalla banca dati dell'AIST

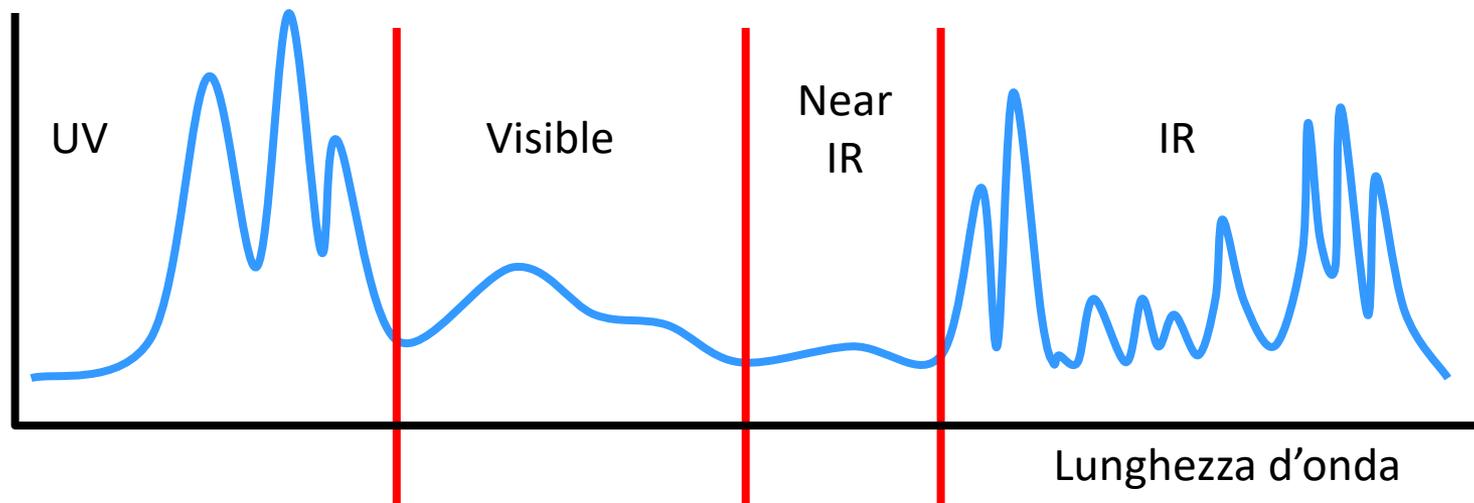
Il numero d'onda è il numero di oscillazioni di un'onda nell'unità di lunghezza, e corrisponde quindi al reciproco della lunghezza d'onda. Si misura in  $\text{m}^{-1}$  o più comunemente in  $\text{cm}^{-1}$ . E' unità di misura usata nelle spettroscopie vibrazionali. Il numero d'onda è proporzionale all'energia della radiazione:  $E = hc\bar{\nu}$

segue →

*L'assorbimento di radiazioni nel UV, Vis e IR copre un ampio intervallo di lunghezze d'onda.*

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

Esempio di spettro di assorbimento molecolare:



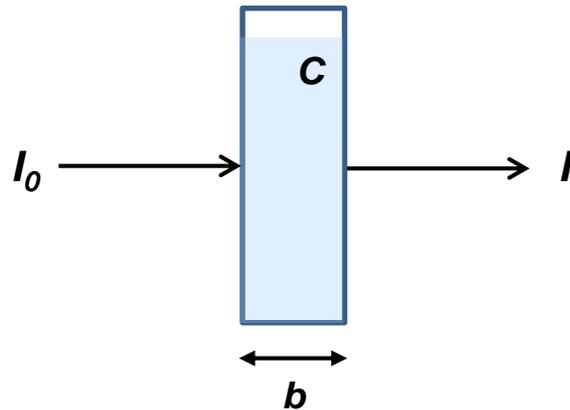
# L'analisi quantitativa in spettroscopia di assorbimento molecolare

L'analisi quantitativa viene effettuata principalmente utilizzando la tecnica UV-Visibile.

Viene utilizzata la legge di Beer (come già visto per l'assorbimento atomico).

$$A_{\text{abs}\lambda} = \epsilon_{\lambda} \cdot b \cdot C$$

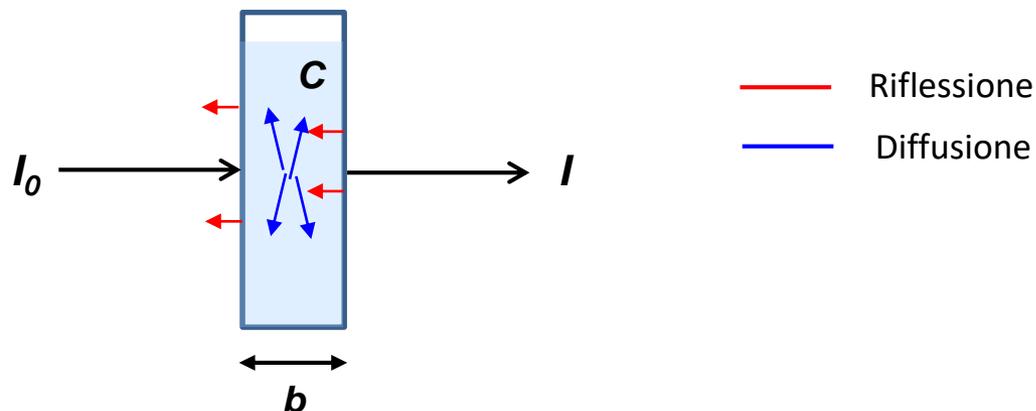
$$= \log \frac{I_0}{I}$$



# La spettroscopia di assorbimento UV-Visibile

Nella tecnica UV-Vis la soluzione contenente il campione viene posta in una cella detta cuvetta.

Quando un raggio incidente arriva alla cuvetta la sua attenuazione nelle applicazioni reali non è dovuta solo all'assorbimento delle specie presenti nel campione, ma anche alla riflessione che avviene all'interfaccia di tutti i mezzi trasparenti di cui è composto il sistema di misura (aria, pareti della cella, soluzione del campione) o alla diffusione causata dalla disomogeneità e dalle fluttuazioni termiche del campione.

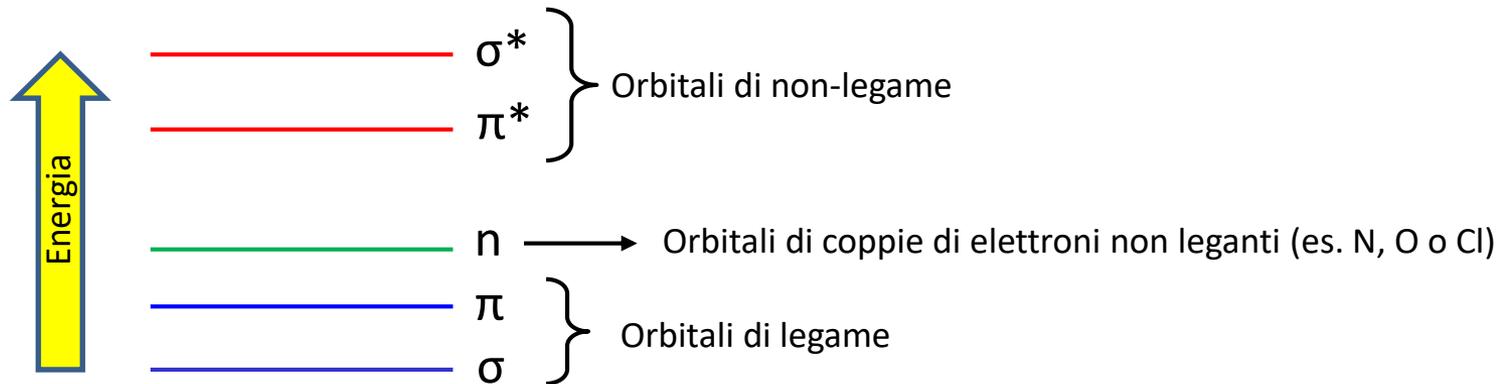


Queste interferenze possono essere minimizzate se la soluzione è diluita ( $C < 0,1 \text{ mol l}^{-1}$ ) e non presenta torbidità. Le interferenze possono inoltre essere misurate ed eliminate dalla misura effettuata sul campione per confronto con un "bianco" (cioè una cuvetta identica a quella usata per il campione ma contenente solamente lo stesso solvente in cui è stato sciolto il campione).

Inoltre la legge di Beer è valida in presenza di sorgenti il più possibile monocromatiche (ovvero con  $\Delta\lambda$  di sorgente incidente molto stretta).

# Teoria dell'assorbimento molecolare nell'UV-Visibile

Schema generico dei livelli energetici molecolari:



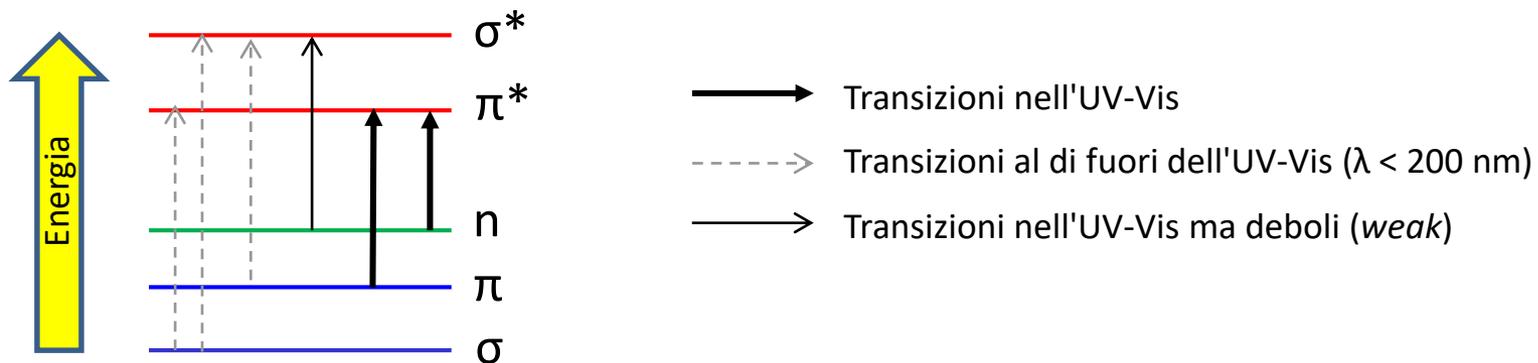
*Gli orbitali  $\sigma$  e  $\pi$  contengono normalmente coppie di elettroni legame;*

*gli orbitali  $n$  contengono coppie di elettroni che di non legame che possono dare legami di coordinazione (es. come in  $H_3O^+$  e  $NH_4^+$ );*

*gli orbitali  $\sigma^*$  e  $\pi^*$  di solito sono vuoti (non contengono elettroni).*

segue →

L'intervallo di lunghezze d'onda dell'UV-Visibile si estende circa da 200 nm a 800 nm. Solo alcune transizioni elettroniche tra orbitali molecolari possono avvenire in questo intervallo e dipendono dall'energia che viene trasferita alla molecola dalla radiazione elettromagnetica (ricordando che  $\Delta E = h \cdot \nu = h \cdot (c/\lambda)$ )



Quindi le molecole che mostrano transizioni elettroniche di assorbimento (spettri) nell'UV-Vis contengono:

- legami  $\pi$

e/o

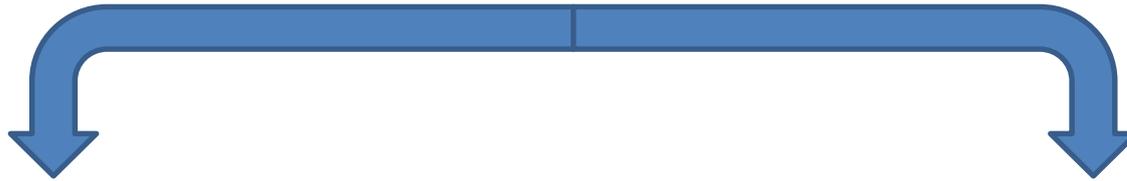
- coppie di elettroni non leganti  $n$ .



**CROMOFORI**

segue →

## La conoscenza dei tipi di transizione elettronica coinvolti è importante anche per:



La scelta del **tipo di materiale** di cui è fatta la cella (cuvetta), che contiene la soluzione di campione

VETRO  
per Visibile

QUARZO  
per UV

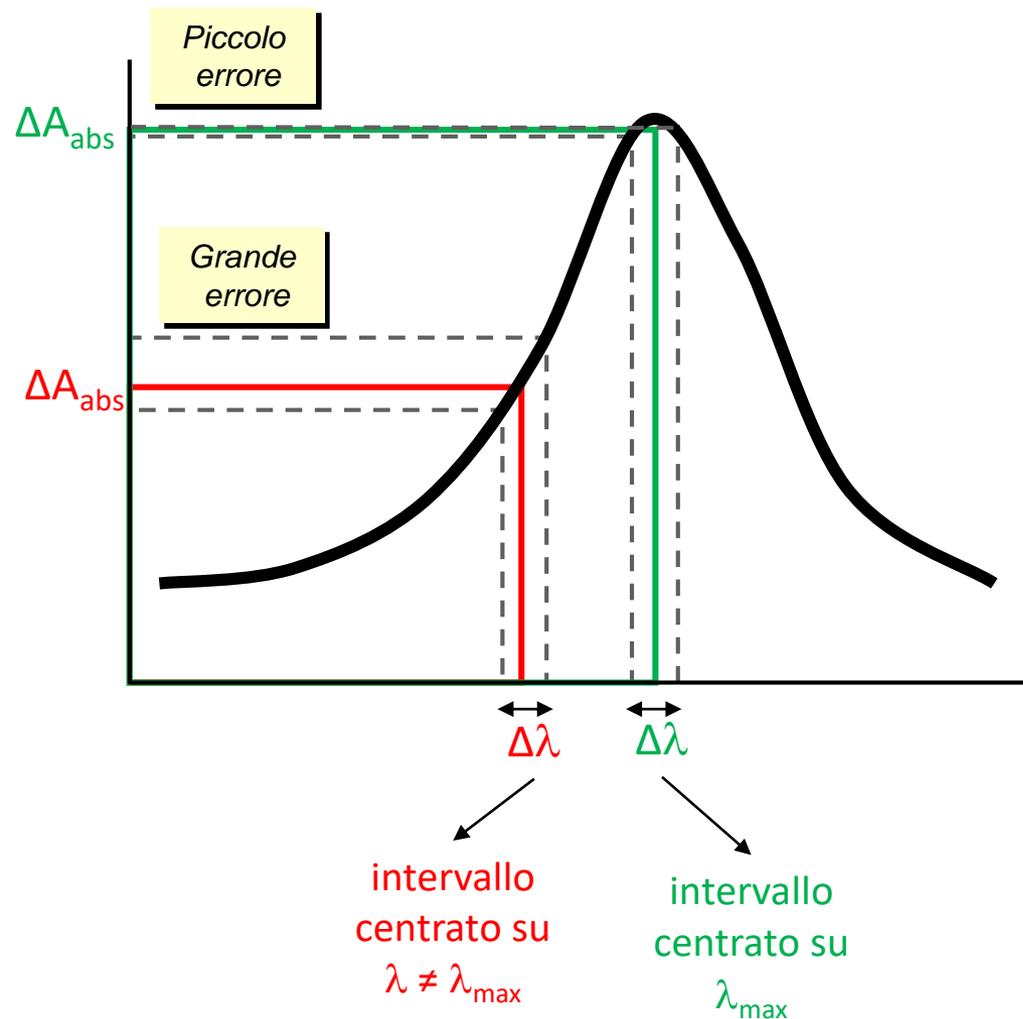
La scelta del **solvente** in cui disciogliere il campione:



Tabella con lunghezza d'onda minima a partire da cui il solvente non interferisce con la misura in UV-Vis:

Solvente	$\lambda$ minima (nm)
Acetonitrile (CH <sub>3</sub> CN)	190
Acqua	191
Cicloesano	195
Esano	201
Metanolo	203
Etanolo	204
Dietiletere	215
Diclorometano	220

# Misura dell'assorbanza $A_{abs\lambda}$



In genere si cerca di eseguire le misure al valore della lunghezza d'onda corrispondente al massimo dell'assorbanza ( $\lambda_{max}$ )

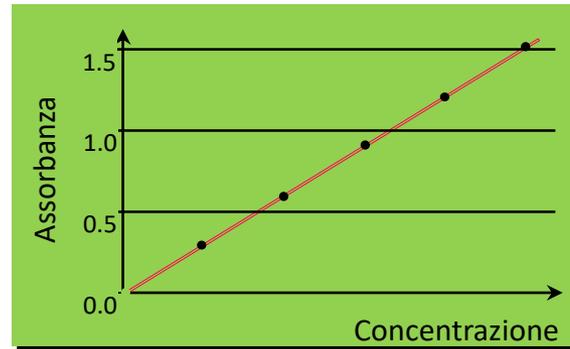
Questo è il punto di massima risposta corrispondente alla più alta sensibilità e più basso limite di rivelazione.

Permette inoltre di ridurre il più possibile l'errore associato alla misura legato ad una eventuale scarsa precisione della lunghezza d'onda prescelta.

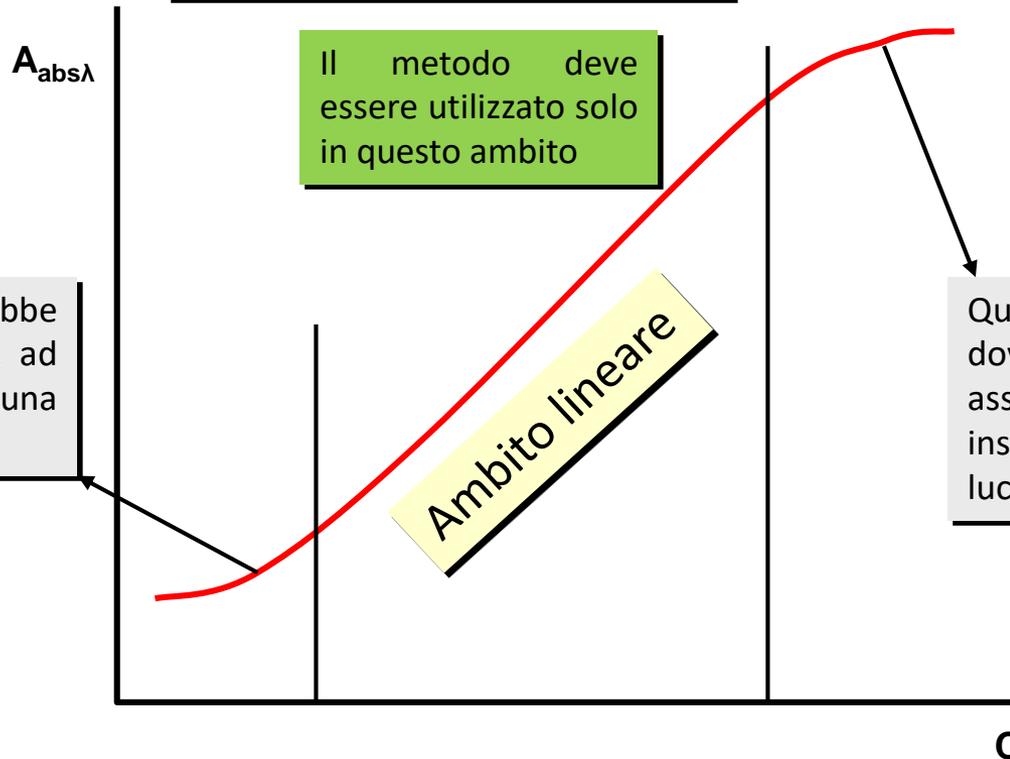
segue →

## Deviazione dalla relazione lineare

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



$$A_{\text{abs}\lambda} = \epsilon_{\lambda} \cdot b \cdot C$$

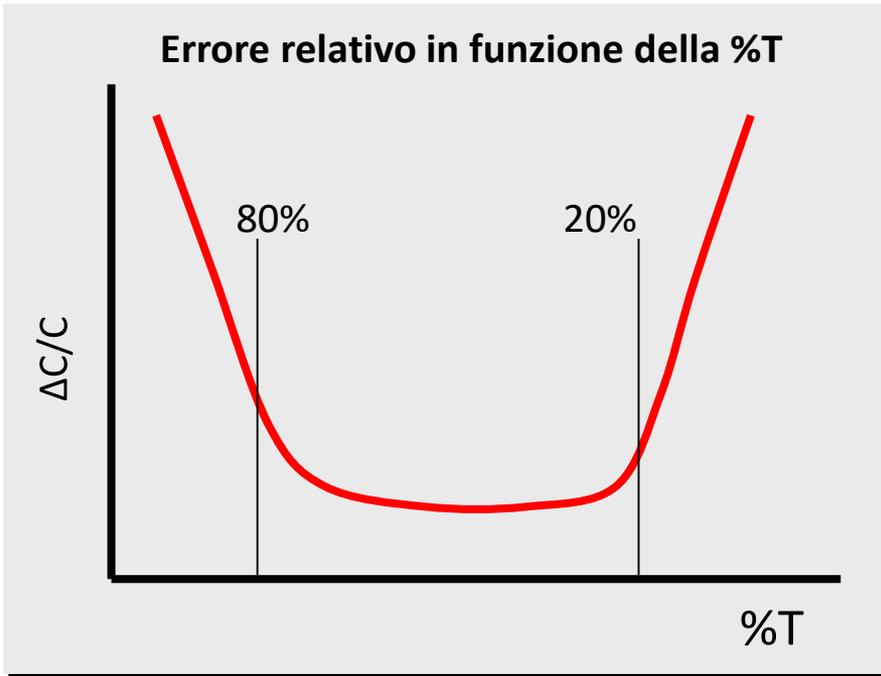


segue →

## Errore nella misura dell' assorbanza:

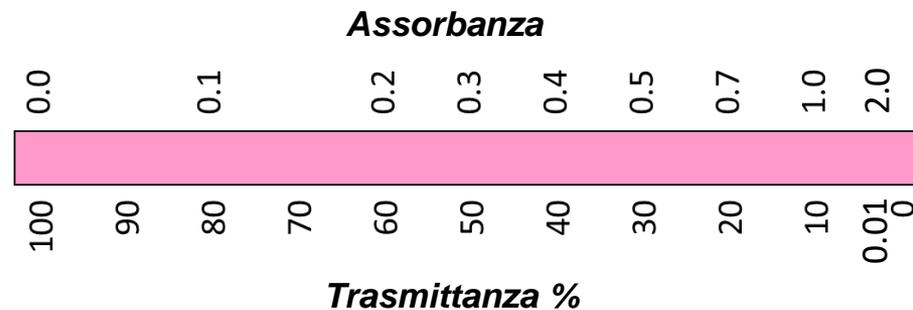
Sebbene nella legge di Beer compaia l'assorbanza della soluzione, la grandezza fisica che viene effettivamente misurata è la **trasmittanza T**. L'errore nella determinazione di una concentrazione mediante una misura spettrofotometrica ( $\Delta C$ ) è quindi legato all'errore che si ha nella misura della trasmittanza ( $\Delta T$ ).

L'andamento dell'errore relativo  $\Delta C/C$  in funzione di  $T$  è il seguente:



$$\frac{\Delta A}{A} = \frac{\Delta C}{C} = \frac{0.434 \Delta T}{T \log T}$$

Assumendo un errore costante su  $T$  dell'1% come si ripercuote questo sulla concentrazione  $C$  a diversi livelli di  $T$ ?



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

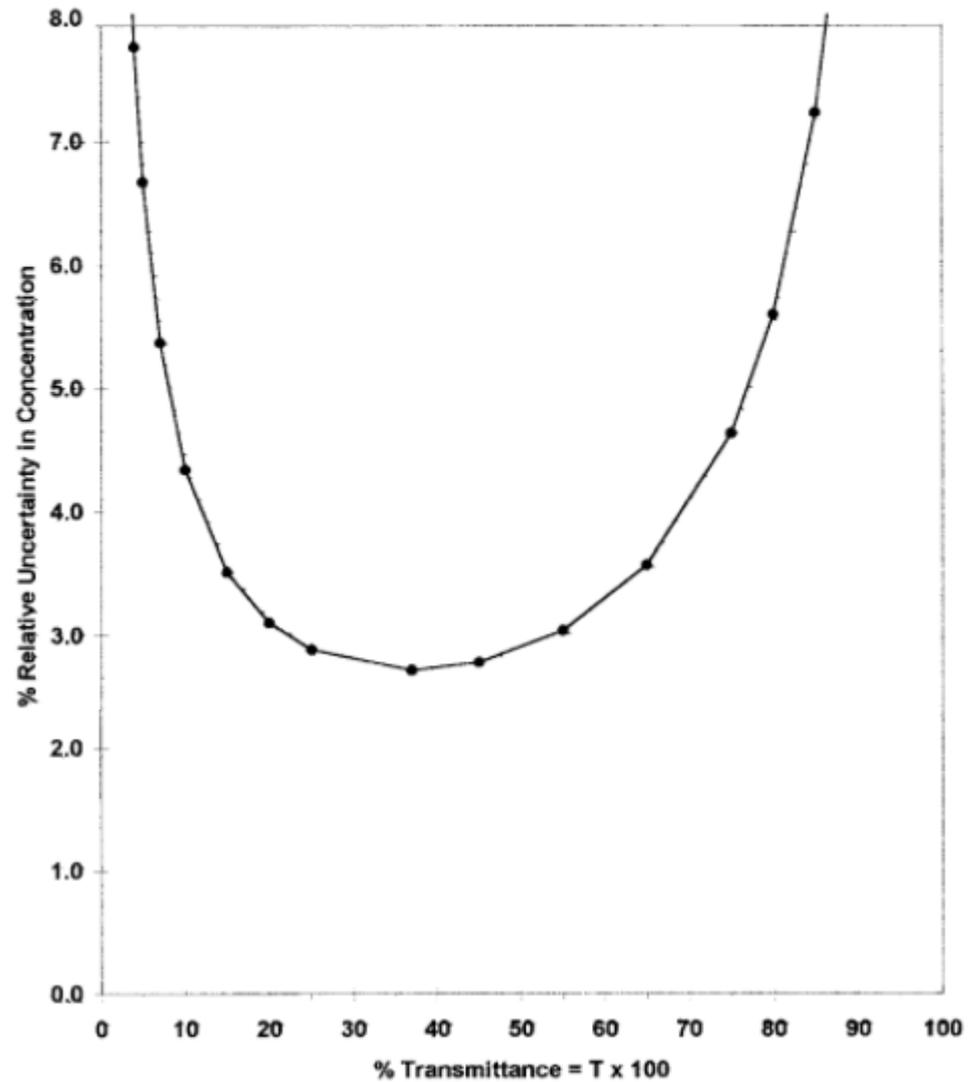
<https://books.google.it/>

Undergraduate Instrumental Analysis, Sixth Edition Di James W. Robinson, Eileen M. Skelly

**Table 2.9** Relative Concentration Error from 1% Spectrometric Error

Transmittance (T)	Relative error in concentration ( $\Delta c/c$ ) $\times$ 100 (%)
0.02	12.8
0.08	4.9
0.15	3.5
0.30	2.8
0.37	2.7
0.45	2.8
0.65	3.6
0.80	5.6
0.97	33.8

Note:  $\Delta T = 0.01$ ;  $\Delta c/c = (0.434\Delta T)/(T \log T)$ .



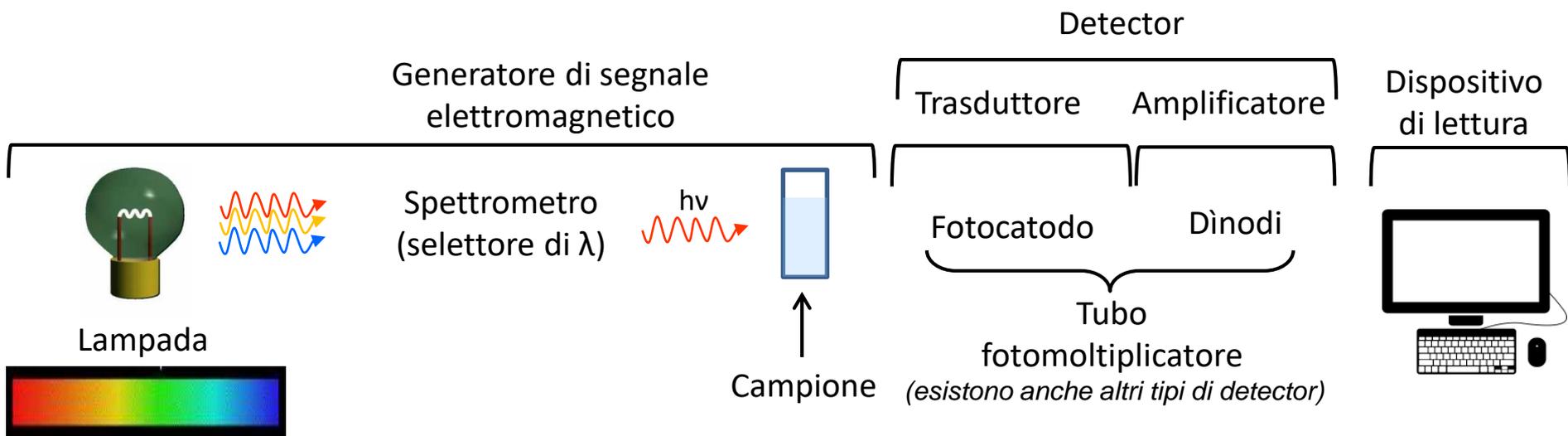
**Figure 2.15** Relative uncertainty in measured concentration due to random error in spectrometric measurements due to some types of instrument noise. The data shown are for a constant 1% error in transmittance. The curve will have the same shape for other values of error in  $T$ , but the magnitude of the uncertainty percentage will change.

<https://books.google.it/>

Undergraduate Instrumental Analysis, Sixth Edition

di James W. Robinson, Eileen M. Skelly

# Spettroscopia di assorbimento molecolare UV-Vis: la strumentazione



Lo strumento completo è denominato **Spettrofotometro UV-Vis**.

La sorgente di segnale elettromagnetico è una lampada che emette luce continua in un certo intervallo di lunghezze d'onda

Lo strumento è detto ad "ottica diretta" diretta poiché il selettore di  $\lambda$  è posto prima del campione.