

CHIMICA ANALITICA II

CON LABORATORIO

(AA 2019-20)

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

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.

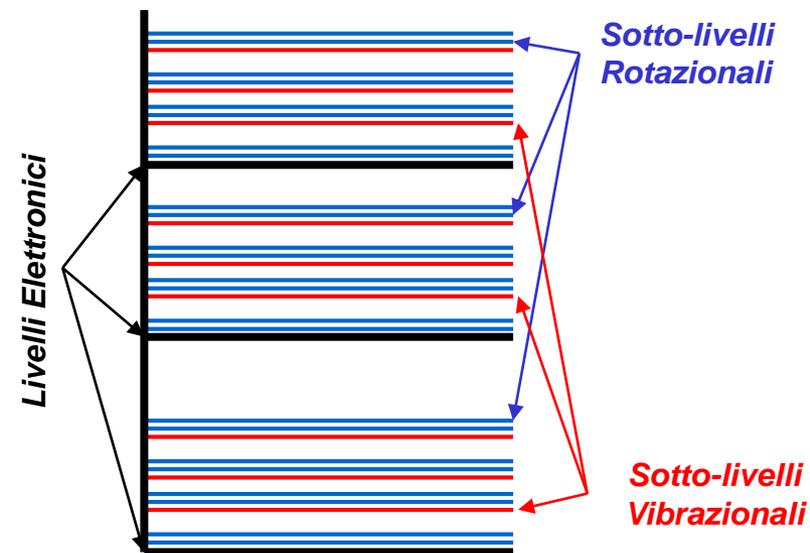
Le transizioni possono essere:

- **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:

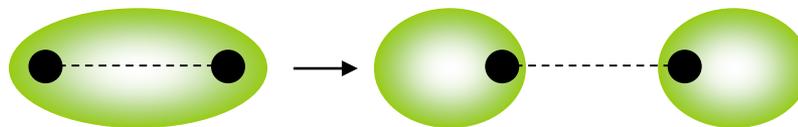
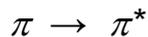
- In una molecola ogni livello di energia elettronica è suddiviso in un certo numero di **sottolivelli vibrazionali**;
- In aggiunta ciascun sottolivello vibrazionale è ulteriormente suddiviso in **sottolivelli rotazionali**



segue →

Transizioni elettroniche:

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



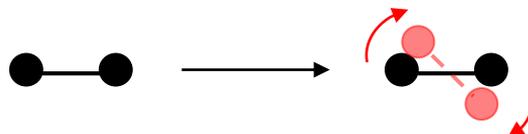
Transizioni vibrazionali :

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 →

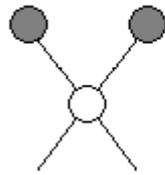
Le posizioni degli atomi in una molecola non sono fisse;

Sono soggette ad un numero di differenti vibrazioni.

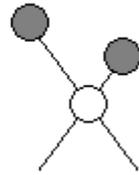
Le vibrazioni si suddividono nelle due categorie maggiori di *stretching* e *bending*

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:

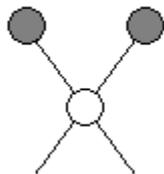
Rocking

Scissoring

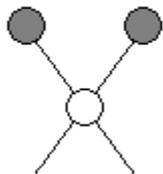
Wagging

Twisting

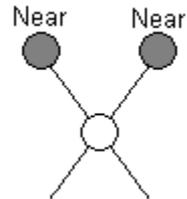
Bending vibrations



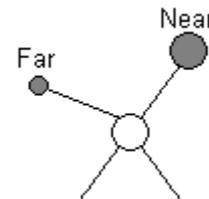
In-plane rocking



In-plane scissoring

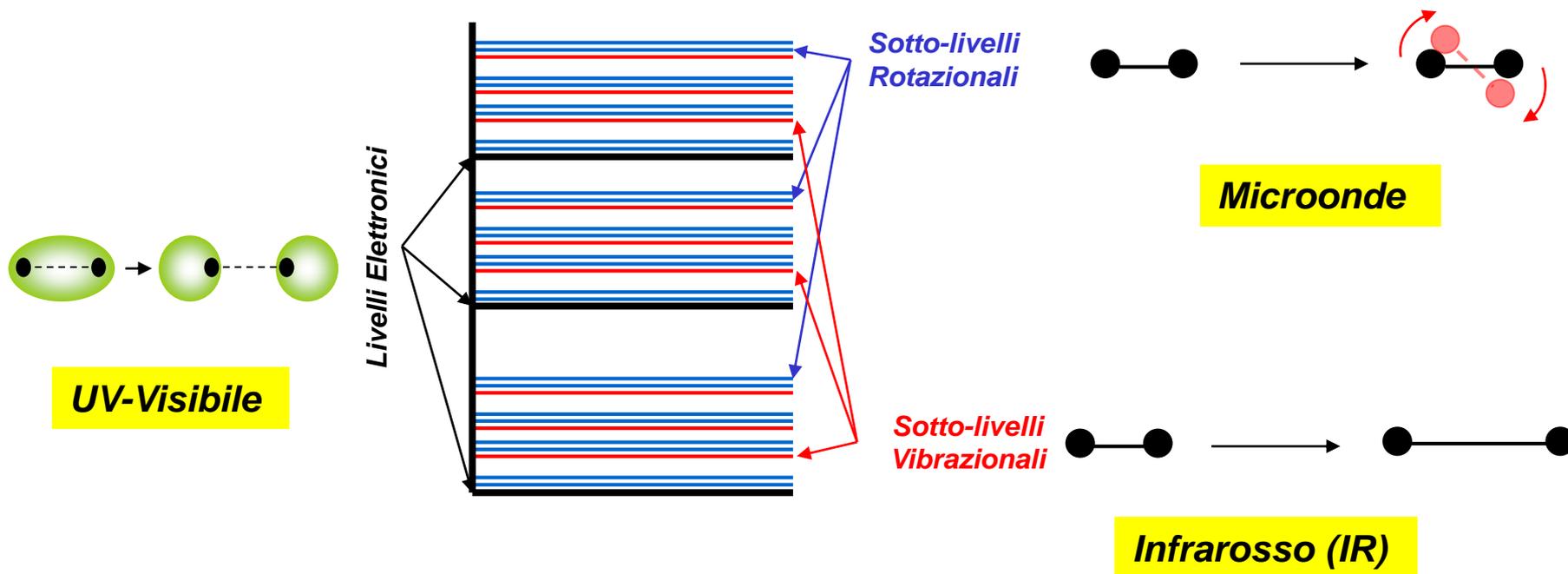


Out-of-plane wagging



Out-of-plane twisting

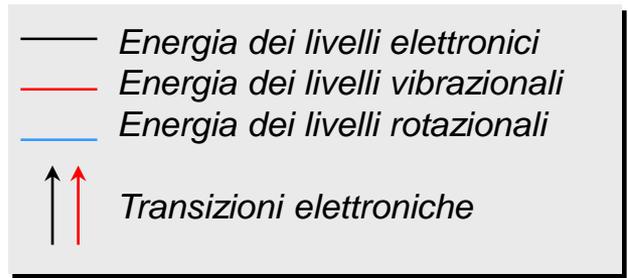
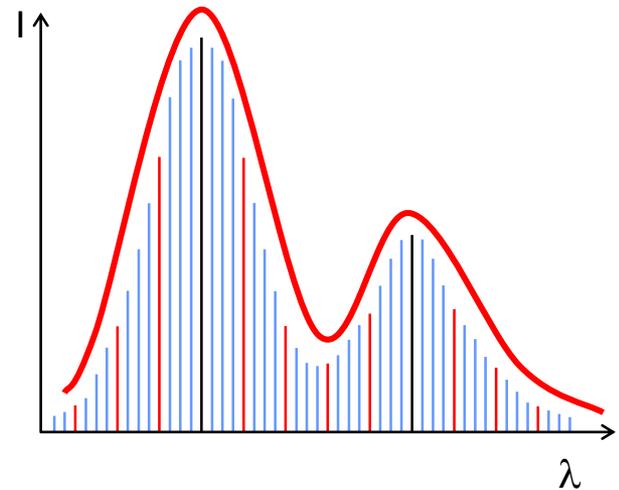
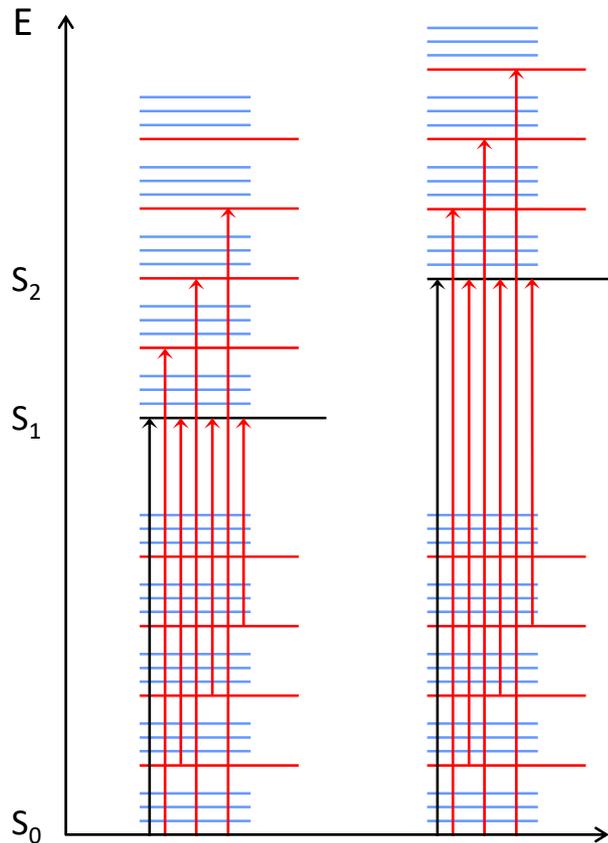
Ogni tipo di transizione è correlata alla quantità di energia fornita, quindi anche all'intervallo di lunghezze d'onda coinvolto:



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 ν , 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.

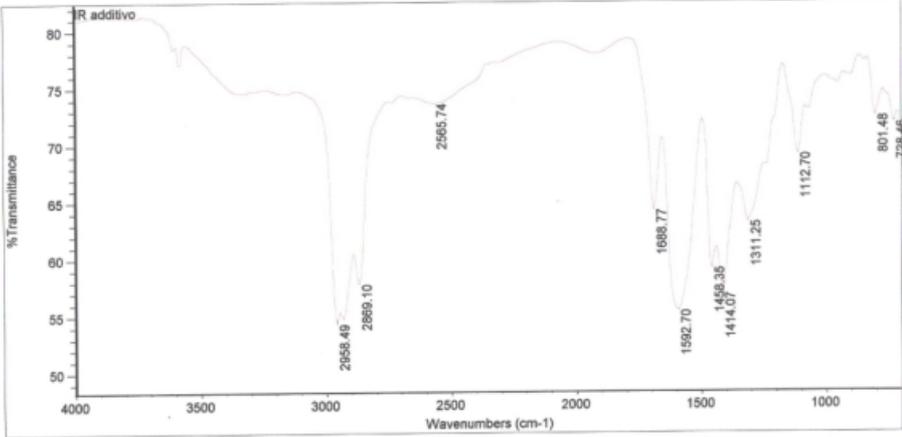


Figura 1 Analisi IR eseguita sulla soluzione analizzando gli assorbimenti tra i 4000 e i 700 cm^{-1} .

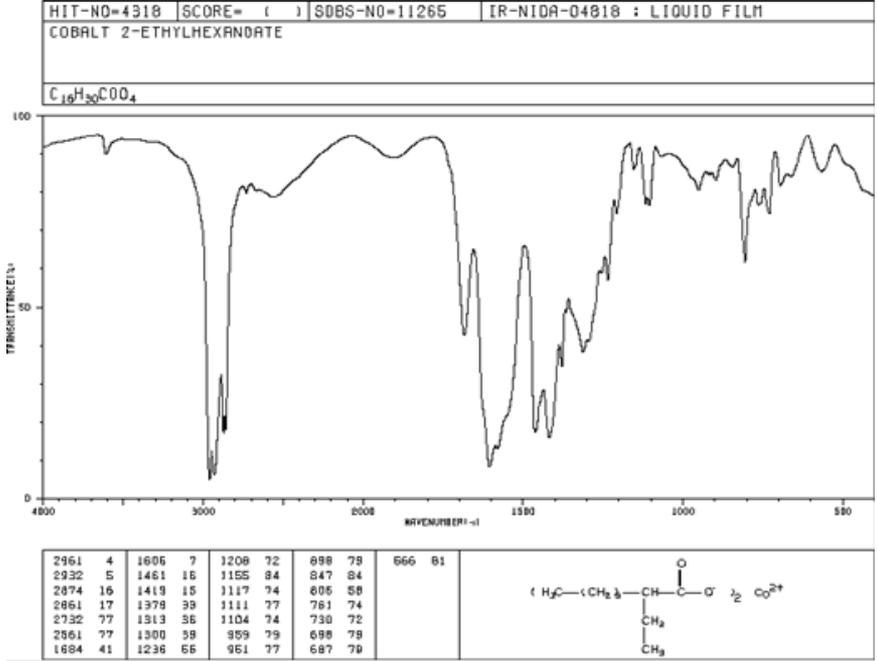


Figura 1 Spettro IR prelevato dalla banca dati dell'AIST

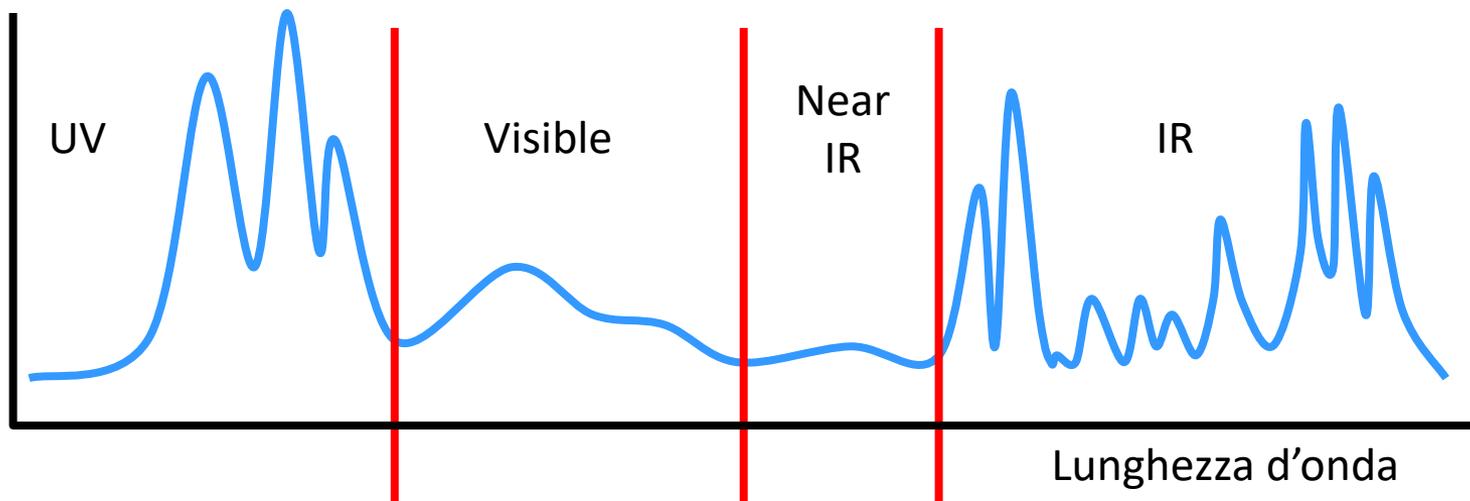
Il numero d'onda è il numero di oscillazioni di un'onda nell'unità di lunghezza, e corrisponde quindi al reciproco della lunghezza d'onda. Si misura in m^{-1} o più comunemente in cm^{-1} . E' unità di misura usata nelle spettroscopie vibrazionali. Il numero d'onda è proporzionale all'energia della radiazione: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

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:



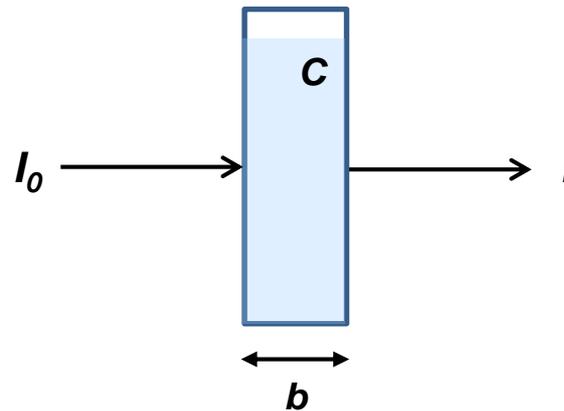
L'analisi quantitativa in spettroscopia di assorbimento molecolare

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

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

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

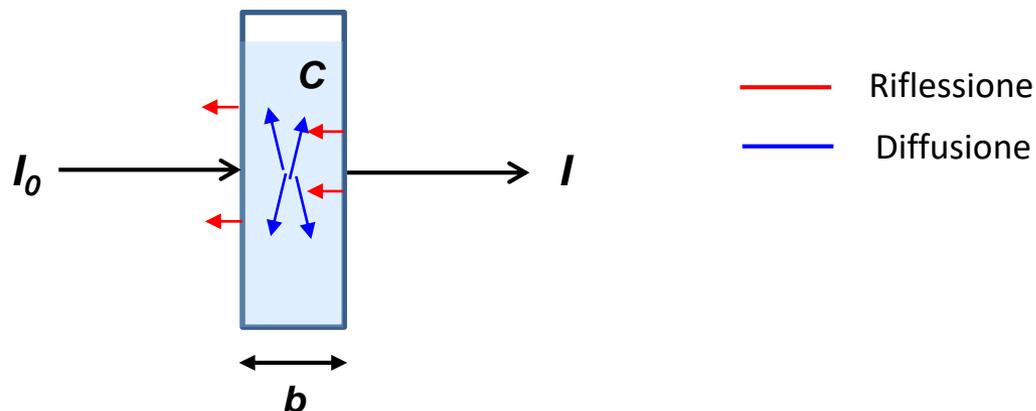
$$= \log \frac{I_0}{I}$$



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.

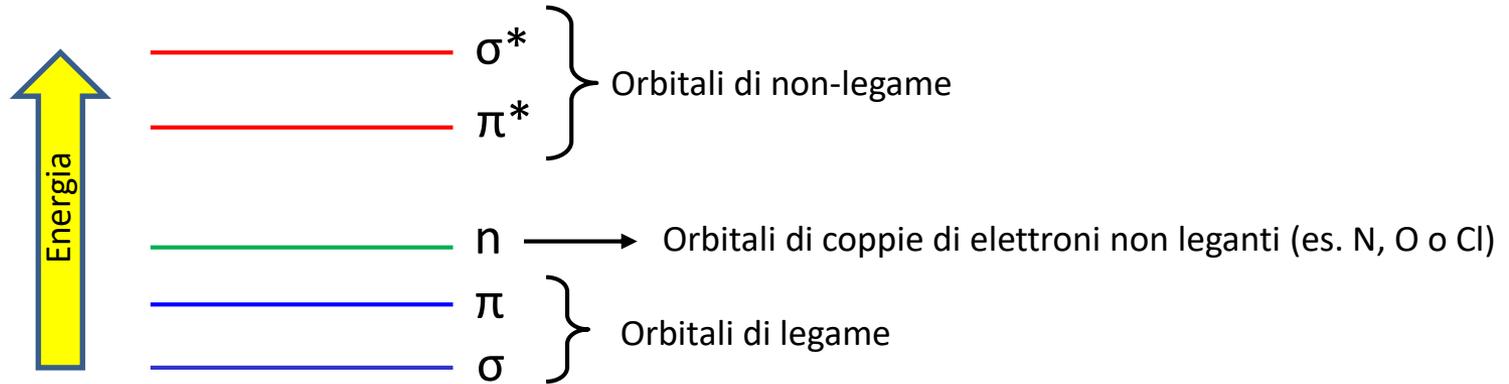


Queste interferenze possono essere minimizzate se la soluzione è diluita ($C < 0,1 \text{ mol l}^{-1}$) e non presenta torbidità. Le interferenze possono inoltre essere misurate ed eliminate dalla misura effettuata sul campione per confronto con un "bianco" (cioè una cuvetta identica a quella usata per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



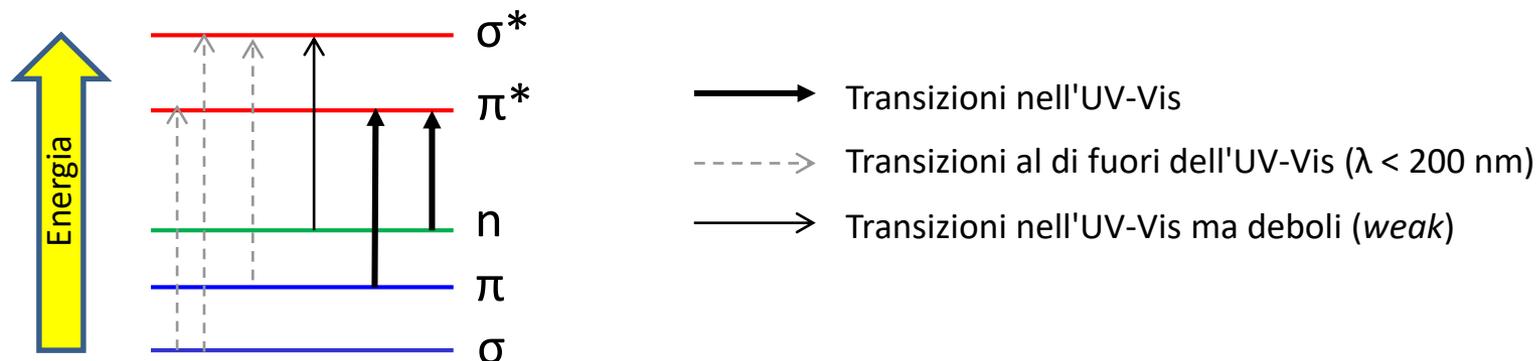
Gli orbitali σ e π contengono normalmente coppie di elettroni legame;

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 σ^ e π^* 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 π

e/o

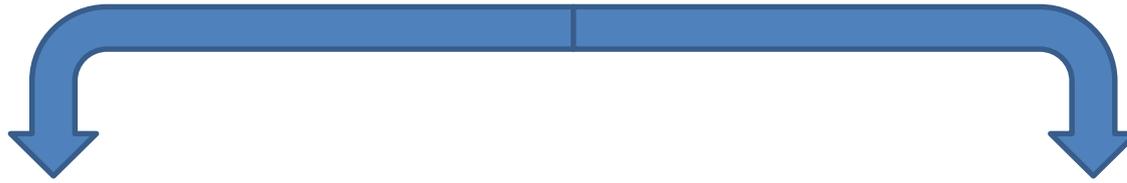
- coppie di elettroni non leganti n .



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

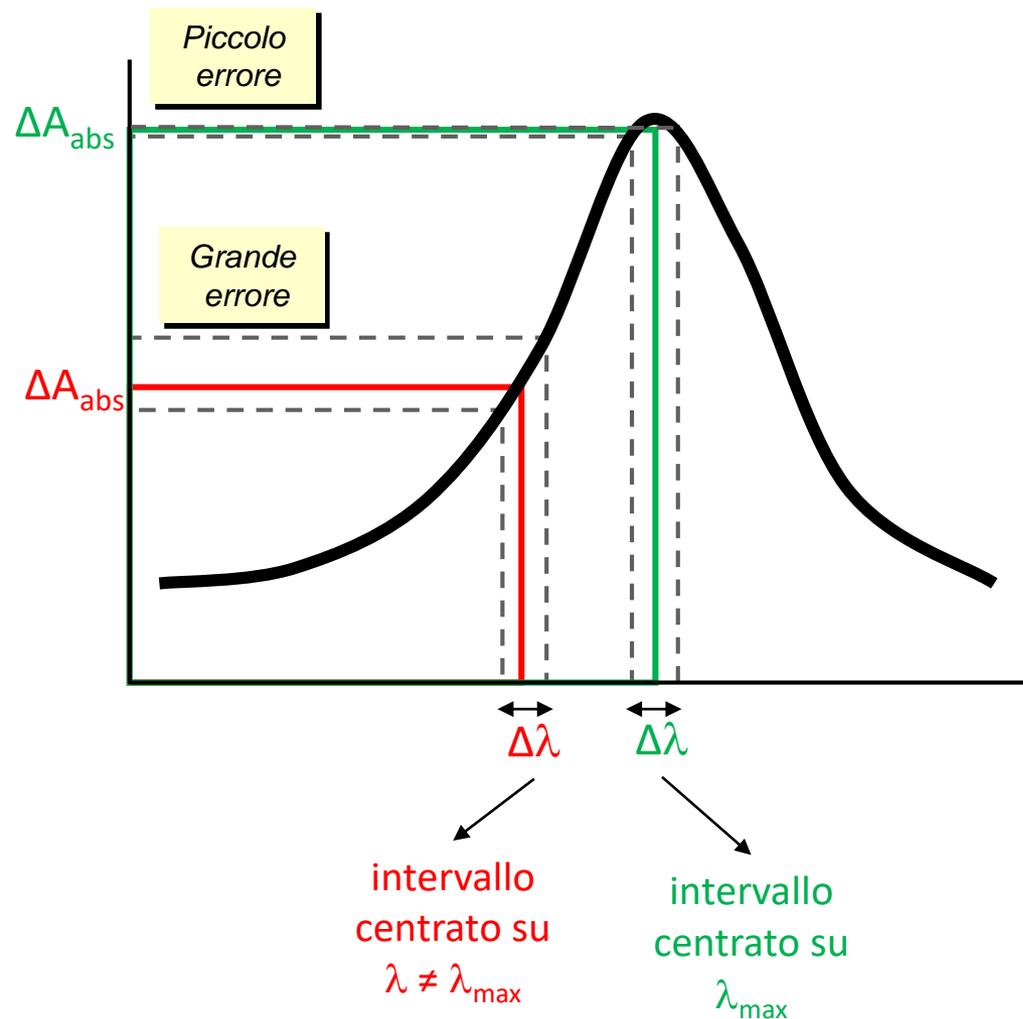
La scelta del **solvente** in cui disciogliere il campione:



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

Solvente	λ minima (nm)
Acetonitrile (CH ₃ CN)	190
Acqua	191
Cicloesano	195
Esano	201
Metanolo	203
Etanolo	204
Dietilere	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 (λ_{max})

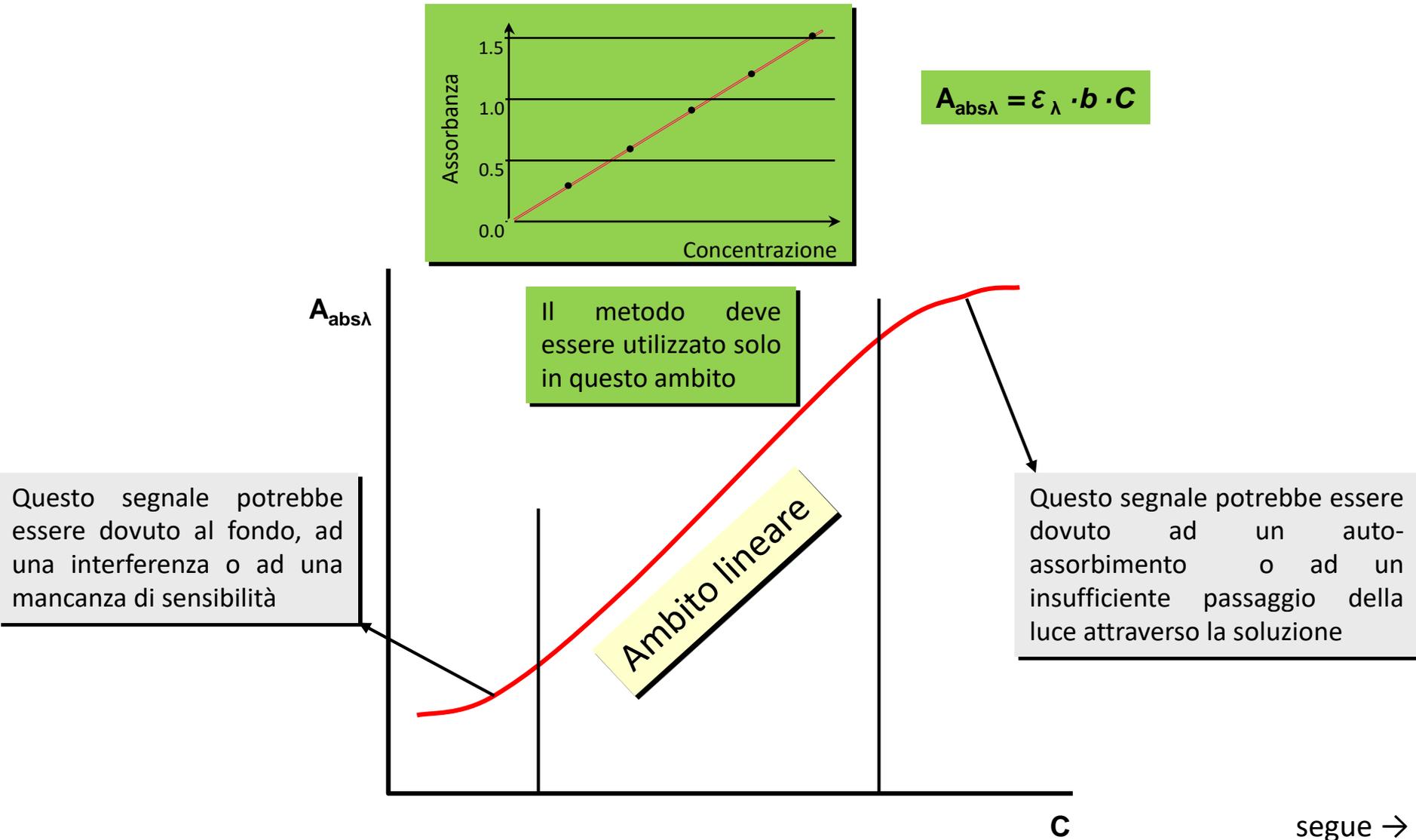
Questo è il punto di massima risposta corrispondente alla più alta sensibilità e più basso limite di rivelazione.

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:



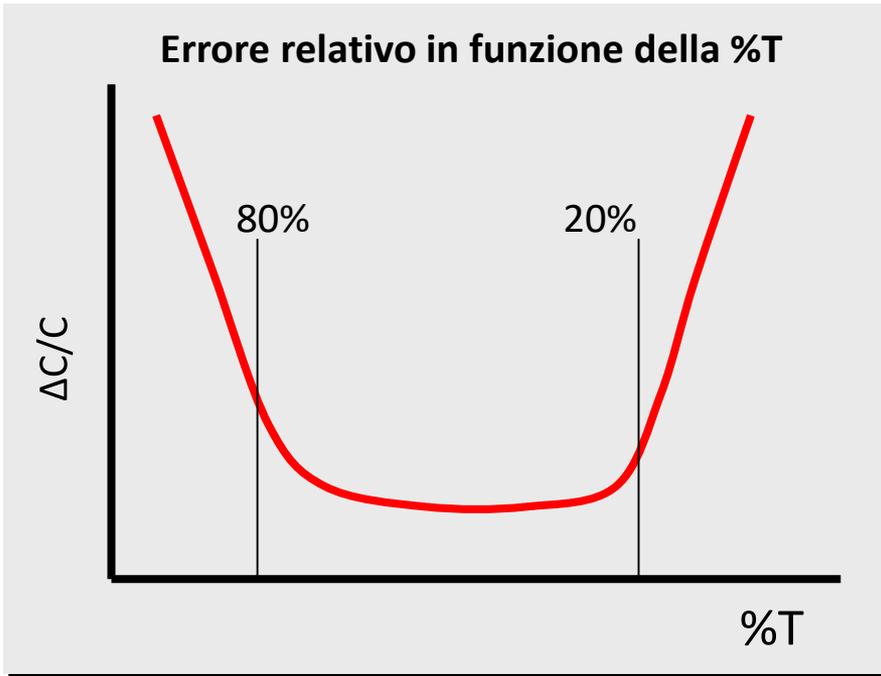
C

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 (ΔC) è quindi legato all'errore che si ha nella misura della trasmittanza (ΔT).

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

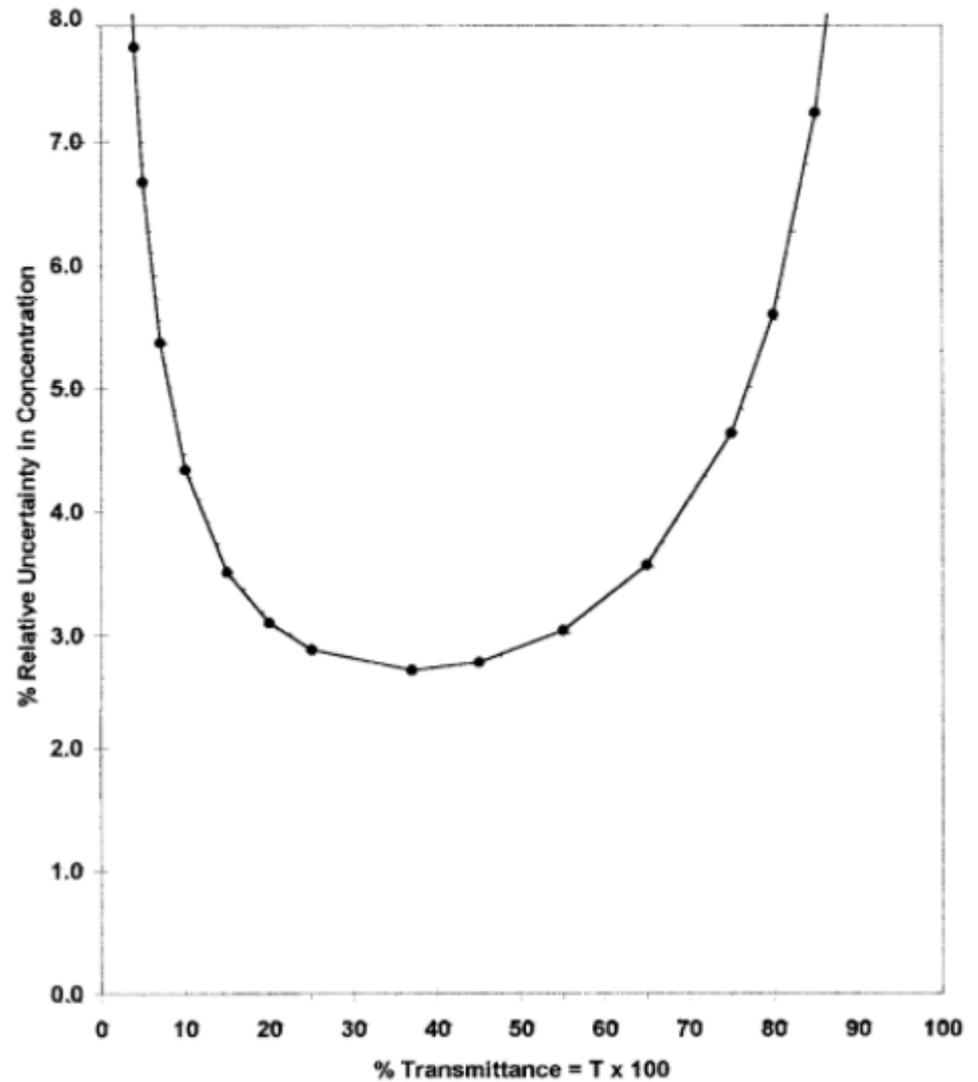


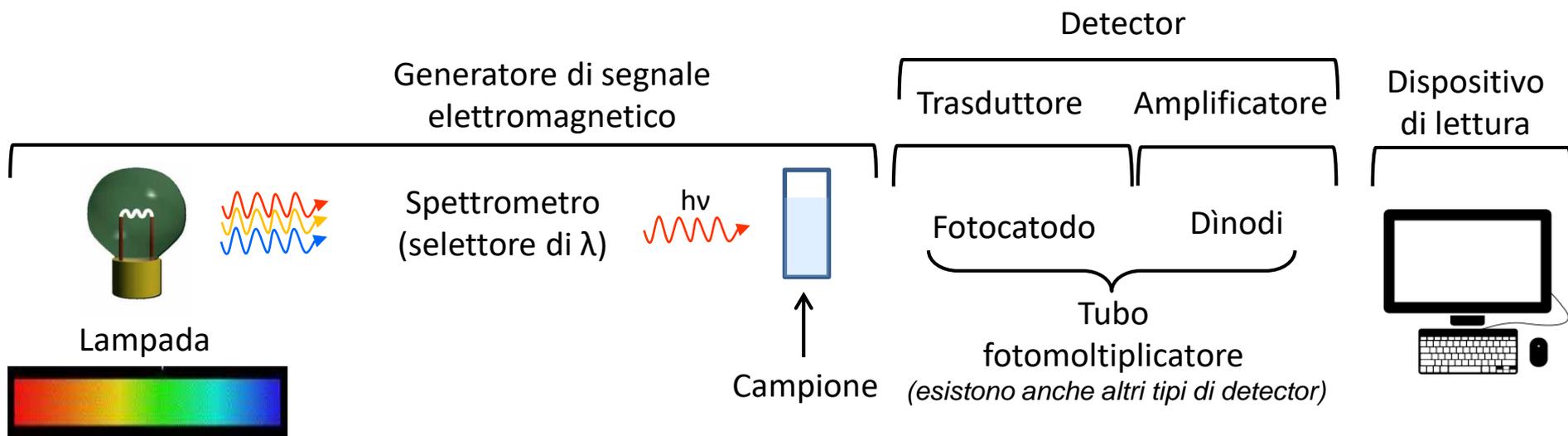
Figure 2.15 Relative uncertainty in measured concentration due to random error in spectrometric measurements due to some types of instrument noise. The data shown are for a constant 1% error in transmittance. The curve will have the same shape for other values of error in T , but the magnitude of the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

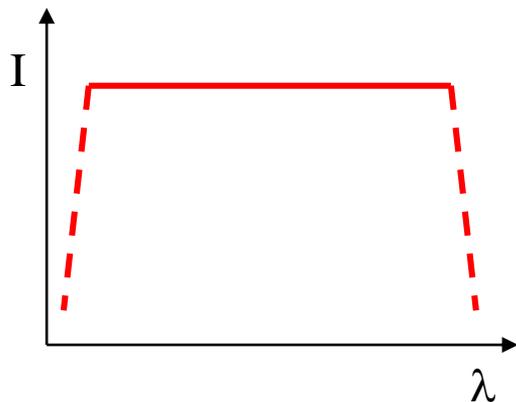


Lo strumento completo è denominato **Spettrofotometro UV-Vis**.

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 λ è posto prima del campione.

Le sorgenti di radiazione elettromagnetica per UV-Vis



Sorgente "ideale"

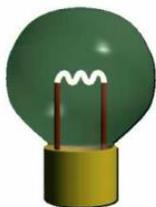
In generale una sorgente deve produrre luce in un ampio intervallo di λ ed avere una intensità di emissione il più possibile uniforme



Sorgenti per il visibile:

Si utilizza una lampada al tungsteno (comune lampadina) o al tungsteno-alogeno:

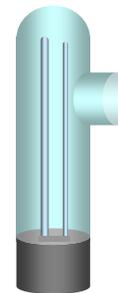
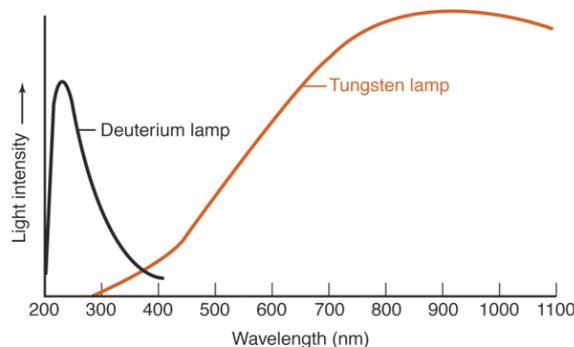
- Intervallo di utilizzazione: $\lambda=350-2200$ nm



Sorgenti per l'UV:

Lampada al Deuterio D_2

- $D_2 + \text{energia elettrica} \rightarrow D_2^* \rightarrow D_2 + h\nu$
- Intervallo di utilizzazione: $\lambda= 160-380$ nm



Spettrometro (selettore di λ)

Gli spettrofotometri sono equipaggiati con uno o più dispositivi (spettrometro per la selezione di λ) per selezionare una stretta banda, assorbita o emessa dall'analita detta **banda passante**. Una banda passante stretta aumenta la probabilità che lo strumento risponda linearmente alla concentrazione di analita.

Stringendo la fenditura diminuisce l'ampiezza di banda ma diminuisce anche la potenza radiante.

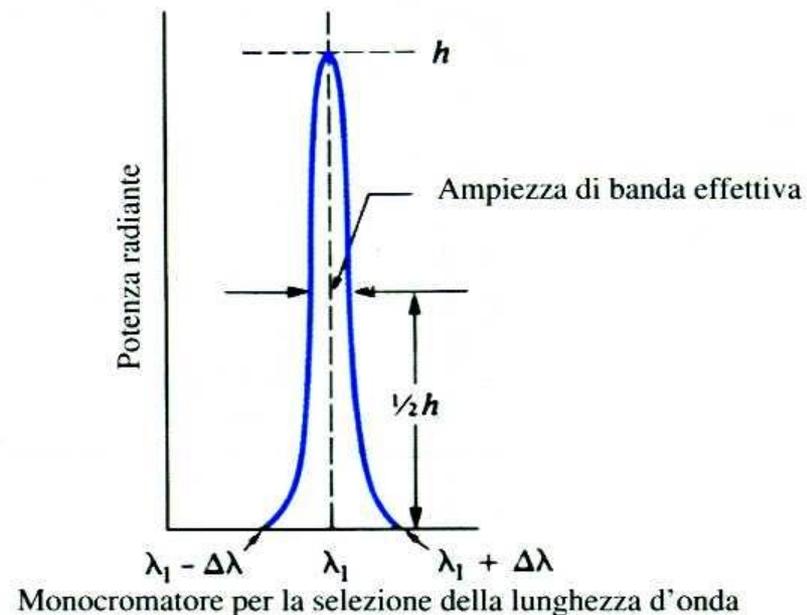
Il ruolo di un selettore di lunghezze d'onda è quello di far sì che solo una λ specifica arrivi al campione e/o al detector.

Questo componente è fondamentale se:

- si è interessati ad una singola lunghezza d'onda;
- si devono esplorare in sequenza diverse λ (scansione), ad esempio per ottenere uno spettro di assorbimento

Banda passante

(cioè in uscita da una fenditura – vedasi slides successive)



segue →

***I due tipi principali di selettori di lunghezza d'onda sono
i monocromatori ed i filtri.***

I monocromatori hanno il vantaggio che la lunghezza d'onda in uscita può essere variata continuamente in un intervallo spettrale considerevole

I filtri offrono il vantaggio di semplicità, robustezza e basso costo.

I filtri permettono una selezione limitata di λ e forniscono bande passanti generalmente più larghe di quelle dei monocromatori. Essi sono usati nei fotometri (strumenti di bassa qualità).

*I monocromatori dei moderni spettrofotometri sono **prismi** e, principalmente, **reticoli**.*