

# **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.

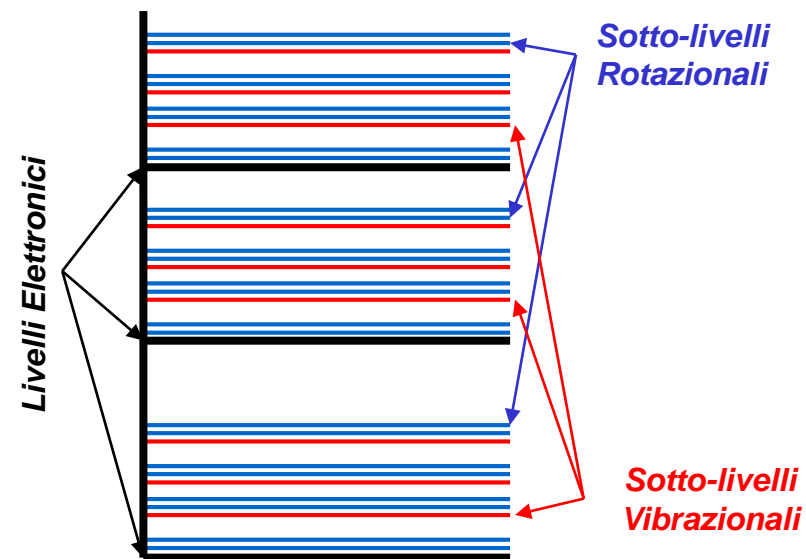
Le transizioni possono essere:

- **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:**

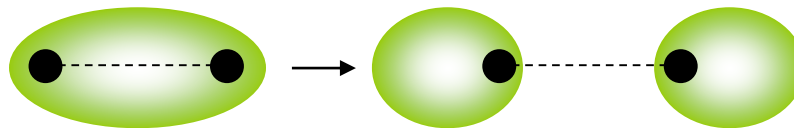
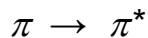
- In una molecola ogni livello di energia elettronica è suddiviso in un certo numero di **sottolivelli vibrazionali**;
- In aggiunta ciascun sottolivello vibrazionale è ulteriormente suddiviso in **sottolivelli rotazionali**



segue →

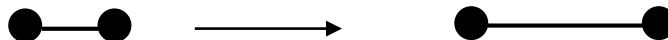
## **Transizioni elettroniche:**

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



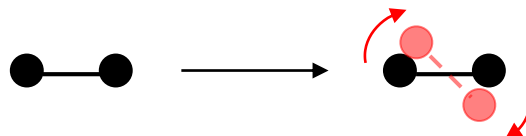
## **Transizioni vibrazionali :**

*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 →

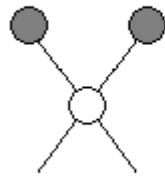
Le posizioni degli atomi in una molecola non sono fisse;

Sono soggette ad un numero di differenti vibrazioni.

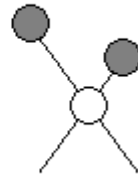
Le vibrazioni si suddividono nelle due categorie maggiori di *stretching* e *bending*

**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:

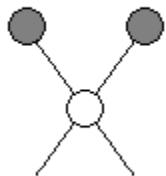
Rocking

Scissoring

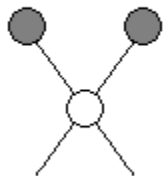
Wagging

Twisting

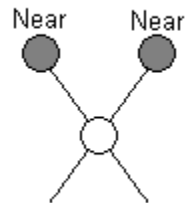
### Bending vibrations



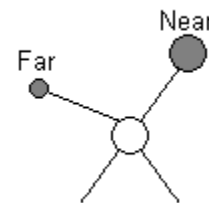
In-plane rocking



In-plane scissoring

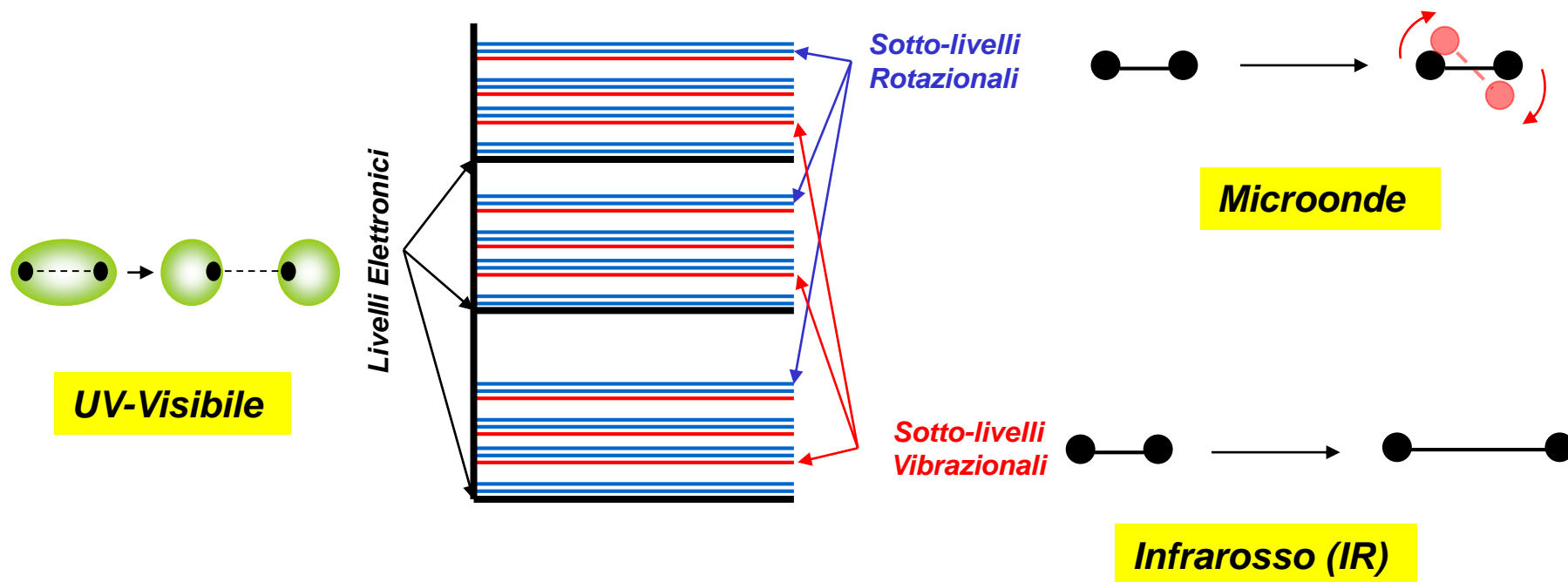


Out-of-plane wagging



Out-of-plane twisting

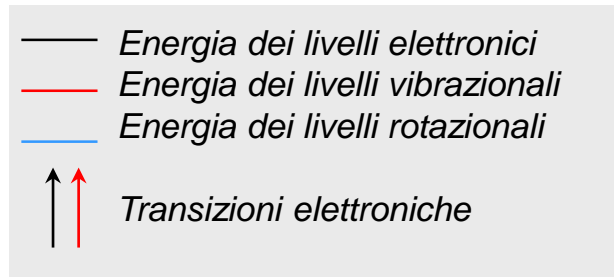
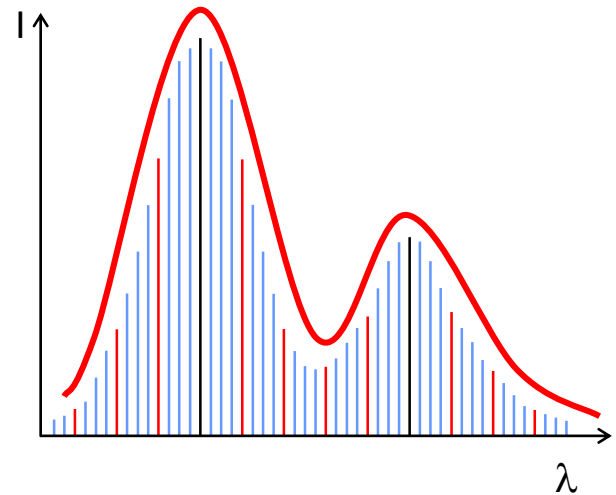
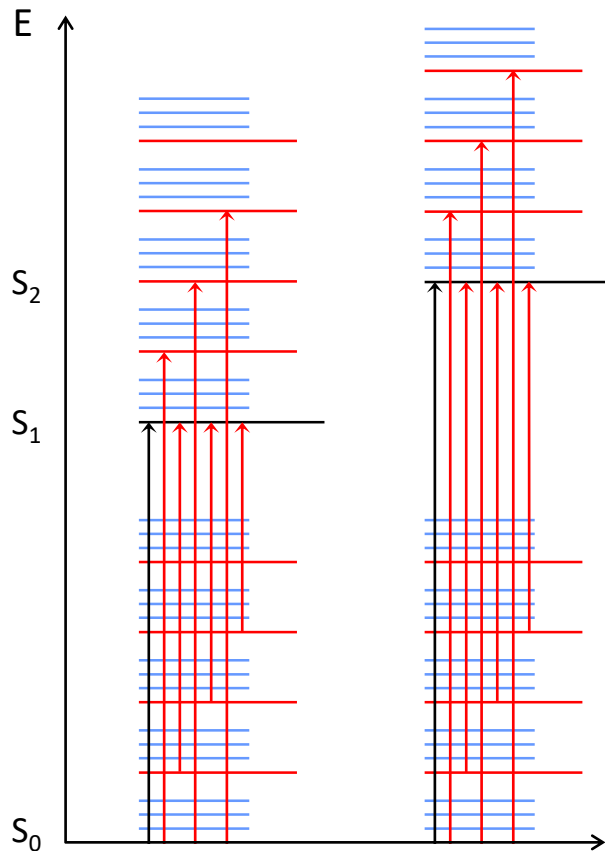
Ogni tipo di transizione è correlata alla quantità di energia fornita, quindi anche all'intervallo di lunghezze d'onda coinvolto:



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  $\nu$ , 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.

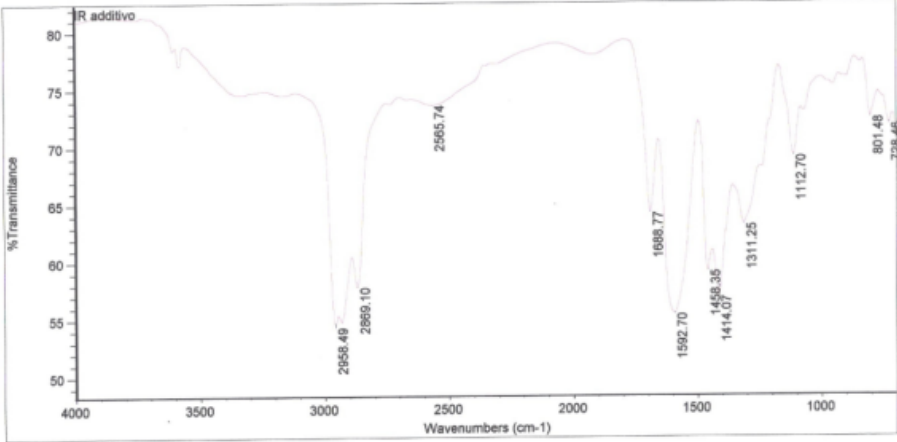


Figura 1 Analisi IR eseguita sulla soluzione analizzando gli assorbimenti tra i 4000 e i 700  $\text{cm}^{-1}$ .

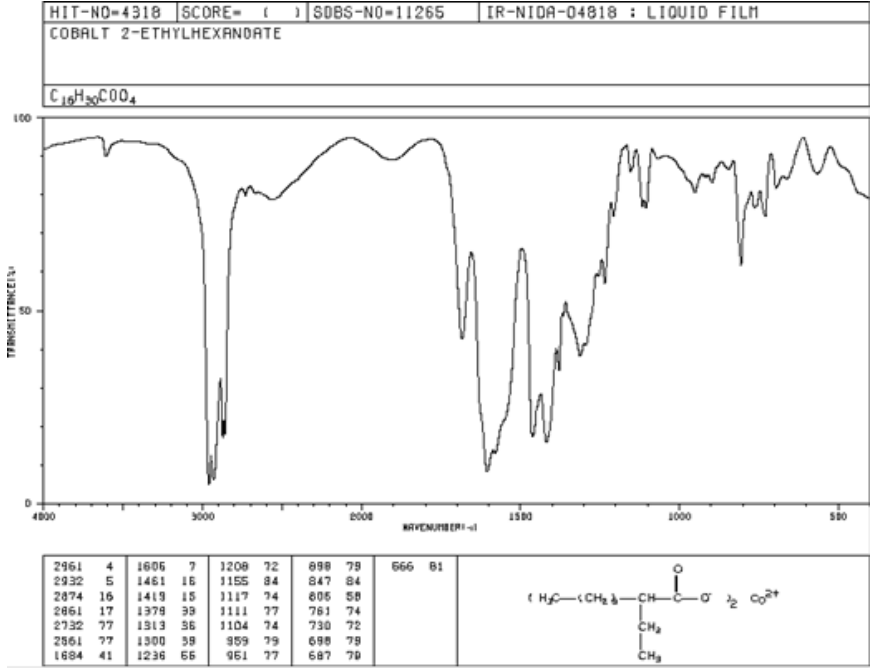


Figura 1 Spettro IR prelevato dalla banca dati dell'AIST

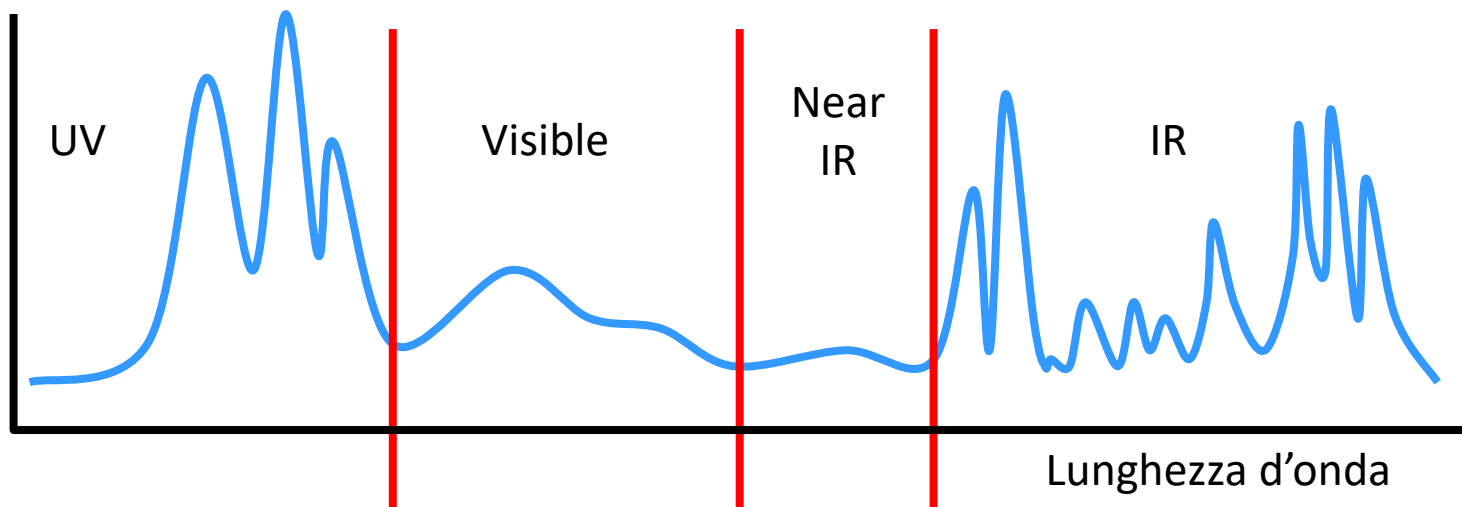
Il numero d'onda è il numero di oscillazioni di un'onda nell'unità di lunghezza, e corrisponde quindi al reciproco della lunghezza d'onda. Si misura in  $\text{m}^{-1}$  o più comunemente in  $\text{cm}^{-1}$ . E' unità di misura usata nelle spettroscopie vibrazionali. Il numero d'onda è proporzionale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





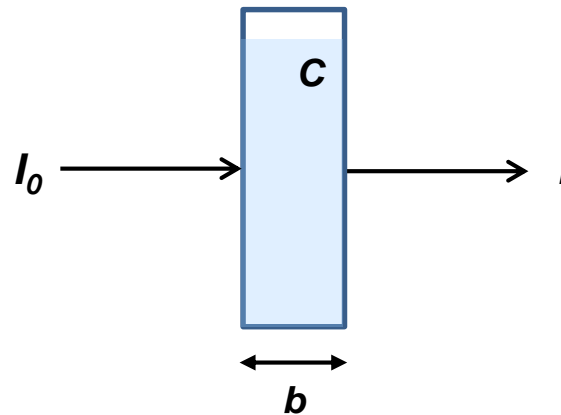
# L'analisi quantitativa in spettroscopia di assorbimento molecolare

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

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

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

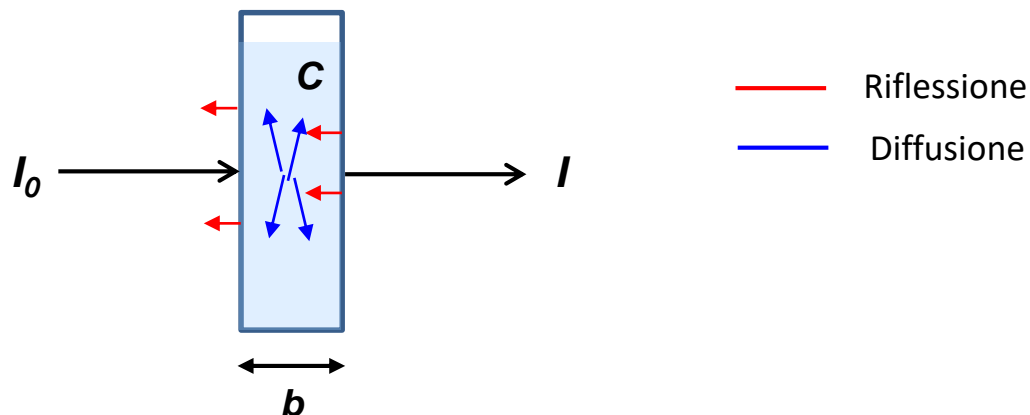
$$= \log \frac{I_0}{I}$$



# 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.

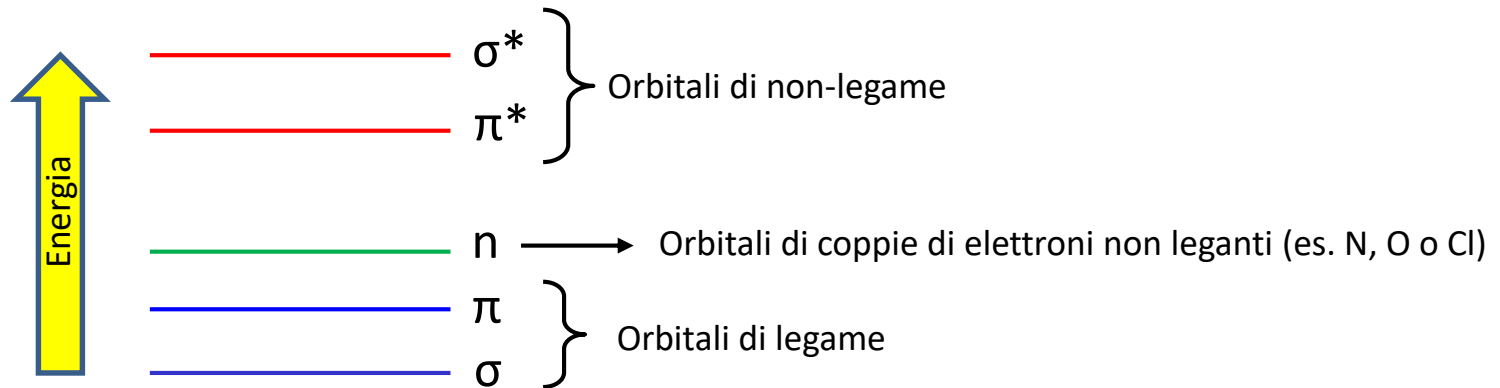


Queste interferenze possono essere minimizzate se la soluzione è diluita ( $C < 0,1 \text{ mol l}^{-1}$ ) e non presenta torbidità. Le interferenze possono inoltre essere misurate ed eliminate dalla misura effettuata sul campione per confronto con un "bianco" (cioè una cuvetta identica a quella usata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



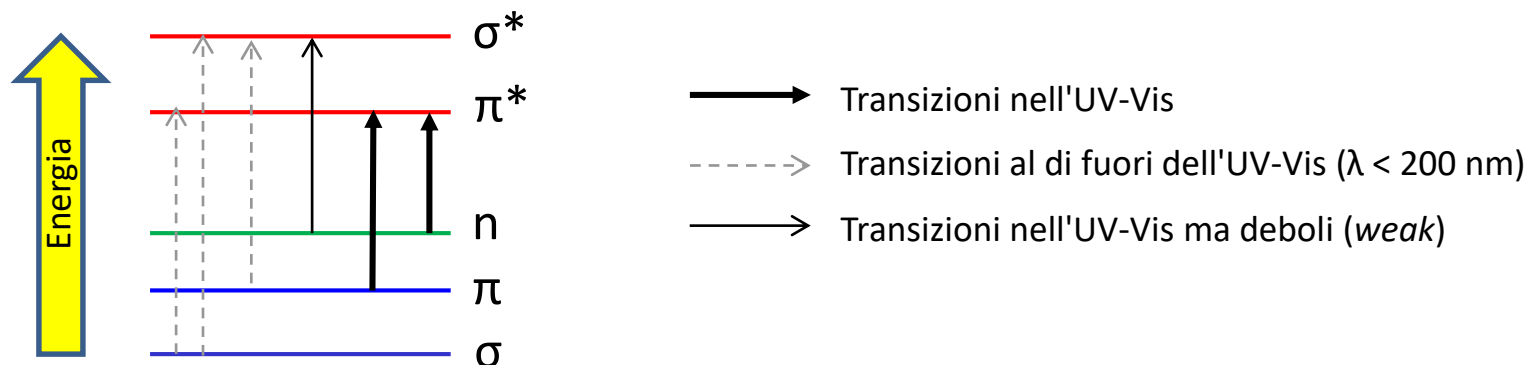
*Gli orbitali  $\sigma$  e  $\pi$  contengono normalmente coppie di elettroni legame;*

*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

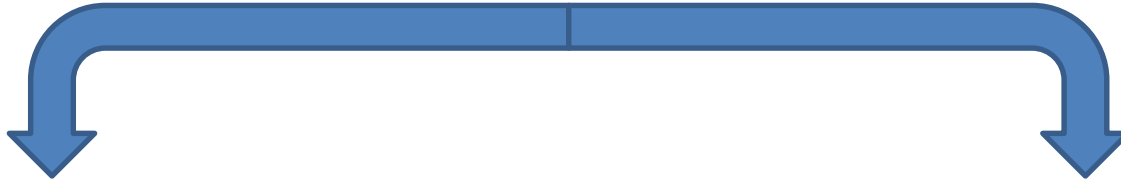
- coppie di elettroni non leganti  $n$ .



**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

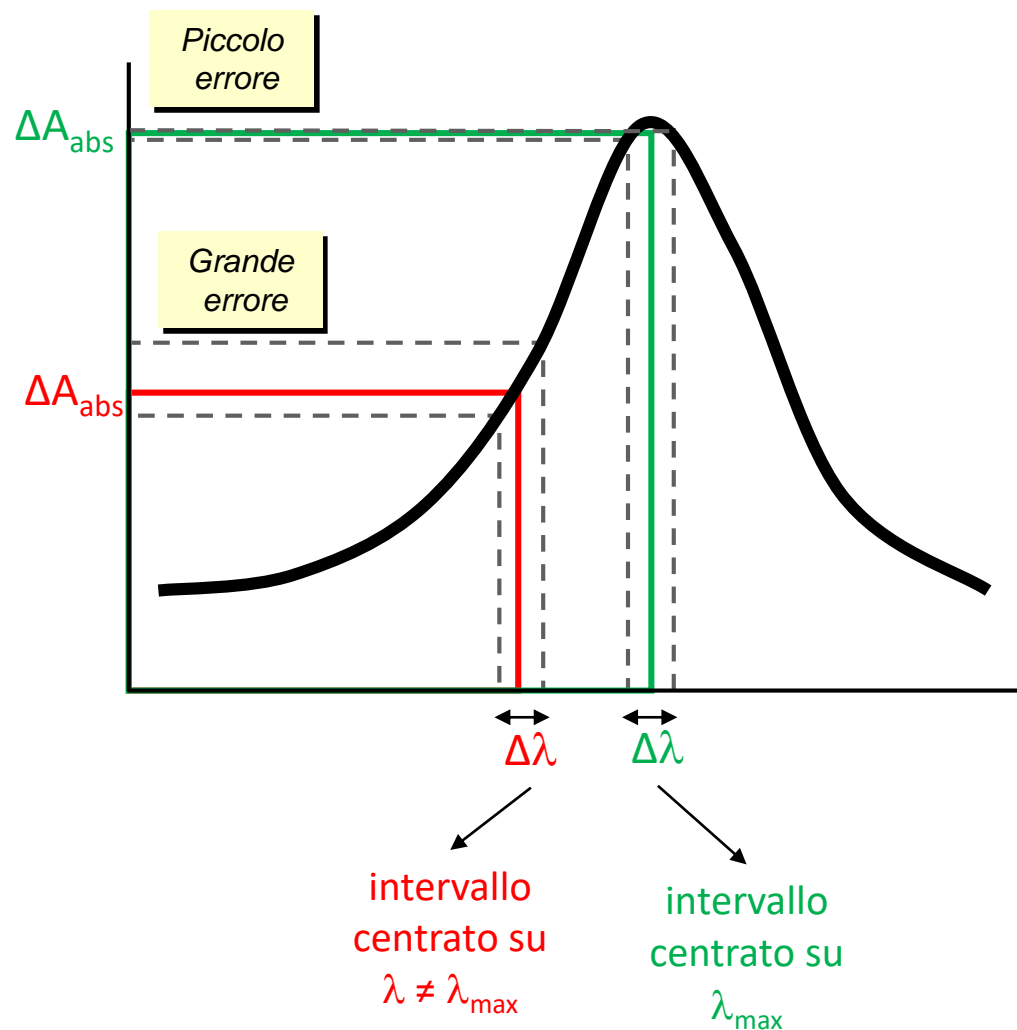
La scelta del **solvente** in cui disciogliere il campione:



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 ( $\lambda_{max}$ )

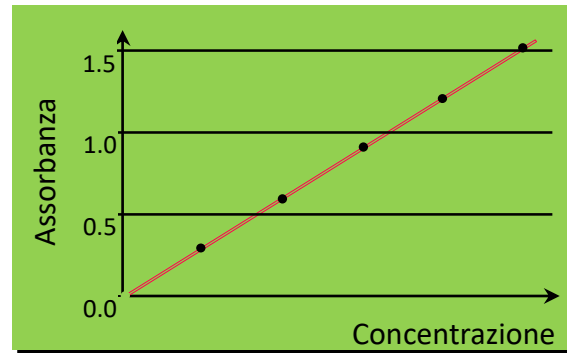
Questo è il punto di massima risposta corrispondente alla più alta sensibilità e più basso limite di rivelazione.

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

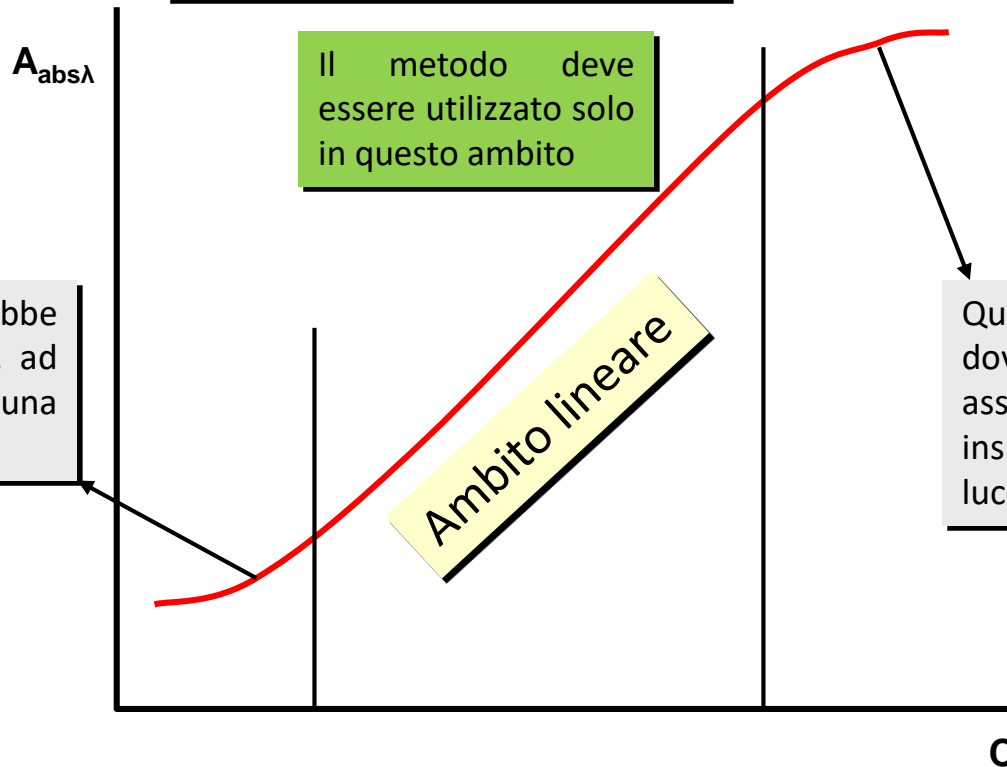
segue →

## Deviazione dalla relazione lineare

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



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



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

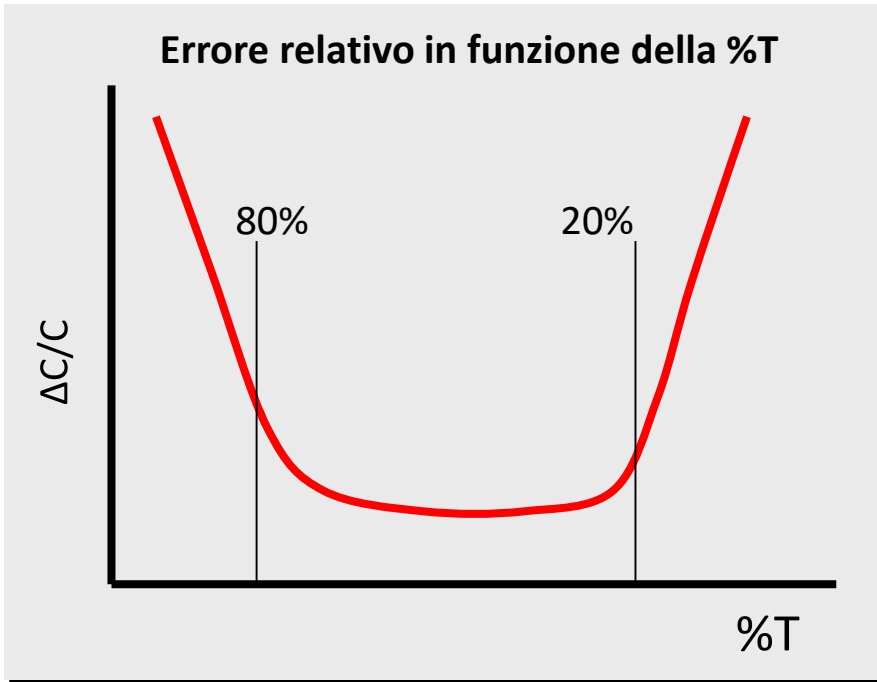
Questo segnale potrebbe essere dovuto ad un auto-assorbimento o ad un insufficiente passaggio della luce attraverso la soluzione

segue →

## Errore nella misura dell' assorbanza:

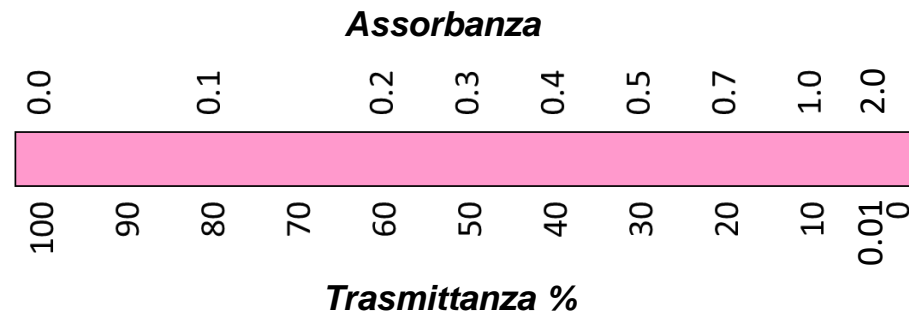
Sebbene nella legge di Beer compaia l'assorbanza della soluzione, la grandezza fisica che viene effettivamente misurata è la **trasmittanza T**. L'errore nella determinazione di una concentrazione mediante una misura spettrofotometrica ( $\Delta C$ ) è quindi legato all'errore che si ha nella misura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

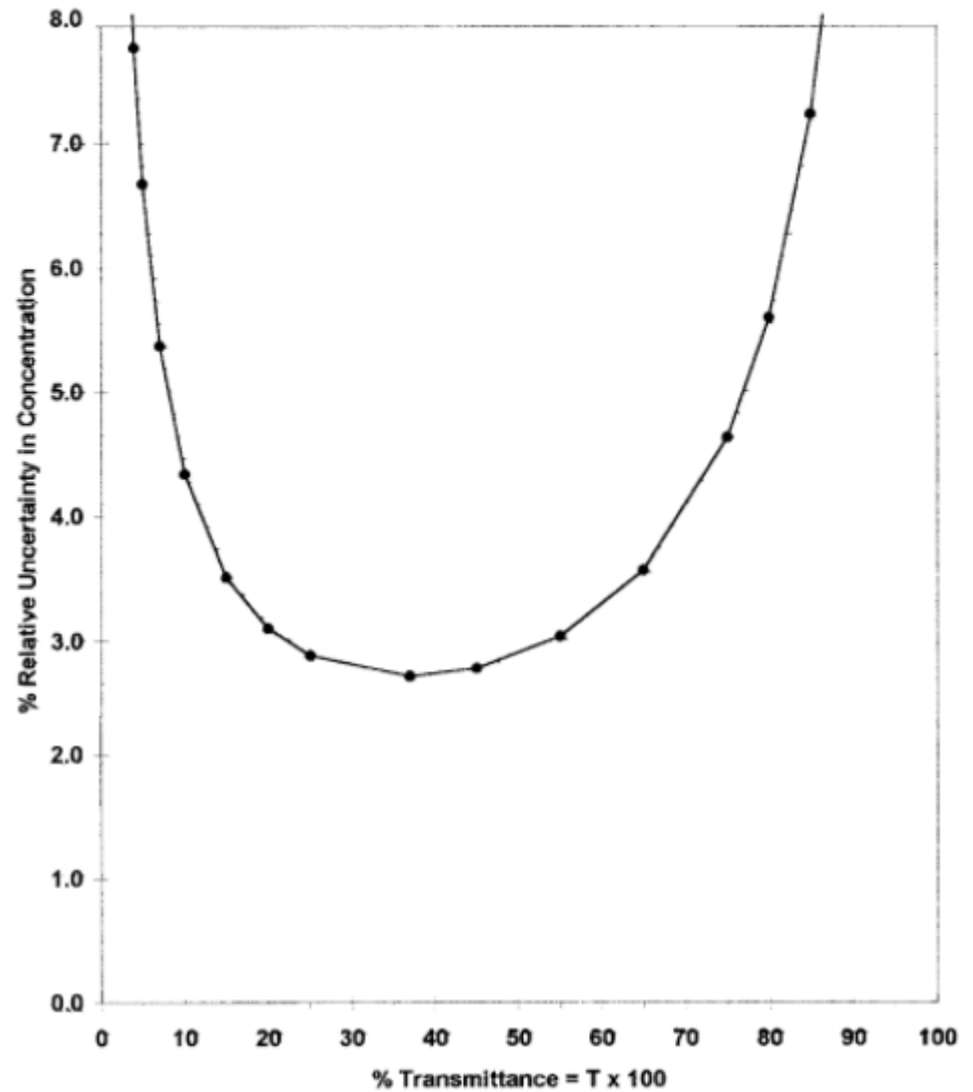
Undergraduate Instrumental Analysis, Sixth Edition Di James W. Robinson, Eileen M. Skelly



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



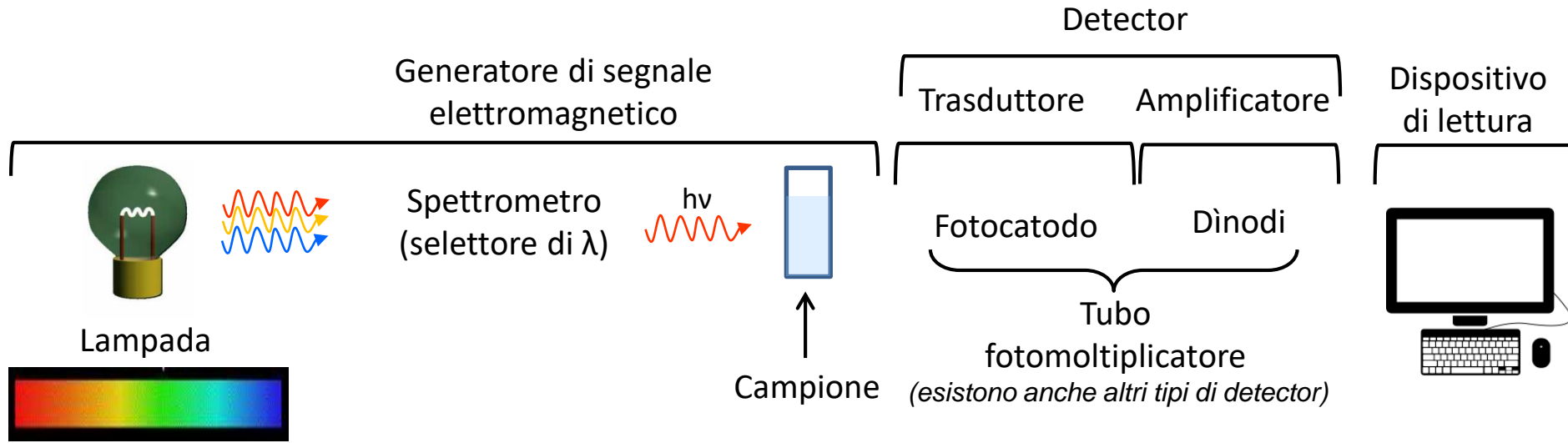
**Figure 2.15** Relative uncertainty in measured concentration due to random error in spectrometric measurements due to some types of instrument noise. The data shown are for a constant 1% error in transmittance. The curve will have the same shape for other values of error in  $T$ , but the magnitude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

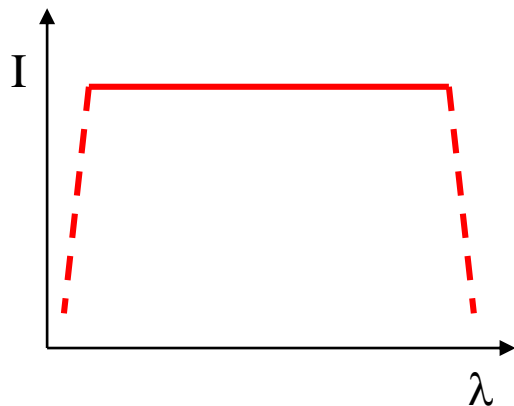


Lo strumento completo è denominato **Spettrofotometro UV-Vis**.

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.

# Le sorgenti di radiazione elettromagnetica per UV-Vis



## Sorgente "ideale"

In generale una sorgente deve produrre luce in un ampio intervallo di  $\lambda$  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:

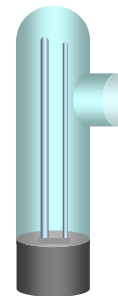
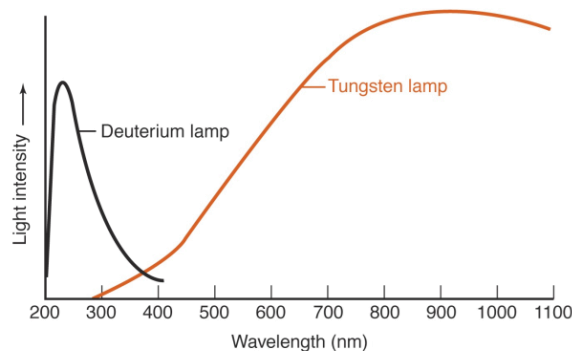
- Intervallo di utilizzazione:  $\lambda=350-2200$  nm



## 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 $\lambda$ )

Gli spettrofotometri sono equipaggiati con uno o più dispositivi (spettrometro per la selezione di  $\lambda$ ) 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.**

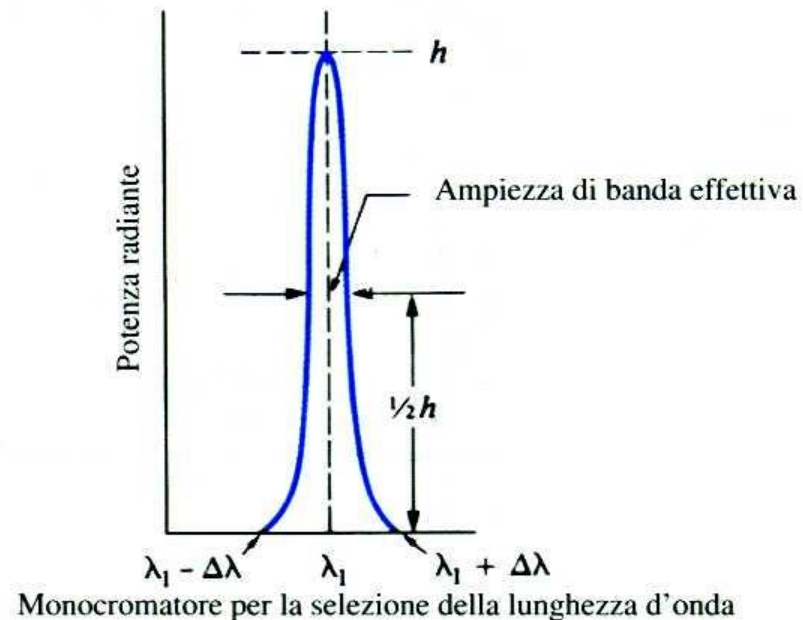
Il ruolo di un selettore di lunghezze d'onda è quello di far sì che solo una  $\lambda$  specifica arrivi al campione e/o al detector.

Questo componente è fondamentale se:

- si è interessati ad una singola lunghezza d'onda;
- si devono esplorare in sequenza diverse  $\lambda$  (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  $\lambda$  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**.*