

CHIMICA ANALITICA II

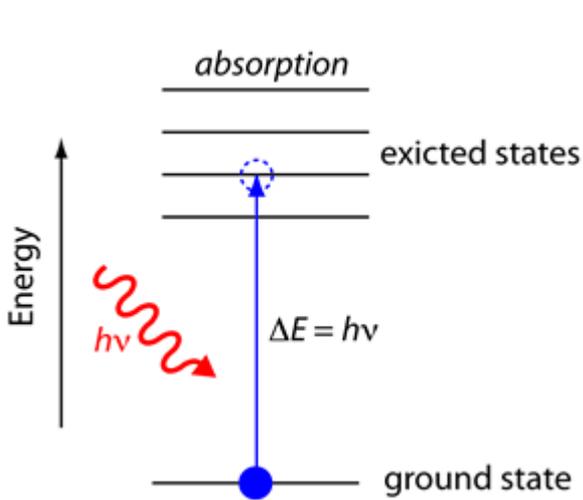
CON LABORATORIO

(AA 2020-21)

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

La Spettroscopia di Assorbimento Atomico

Nella **Spettroscopia di Assorbimento Atomico** un fotone viene assorbito dall'atomo che quindi passa da uno stato a più bassa energia ad uno a più alta energia.



Un atomo passa ad uno stato di energia E_2 più alta della sua energia allo stato E_1 quando il fotone incidente ha una energia $h \cdot \nu$ uguale alla differenza di energia tra i due stati, cioè:



$$\Delta E = E_2 - E_1 = h \cdot \nu$$

Nel processo di assorbimento atomico il successivo rilassamento comporta **principalmente** una emissione termica dovuta alla collisione tra atomi allo stato eccitato e atomi rimasti allo stato fondamentale (l'**emissione di fotoni** dipende dalla **probabilità della transizione tra livelli energetici caratteristica di ciascun atomo**):



Nella tecnica di spettroscopia di assorbimento atomico E_1 è lo stato fondamentale, cioè $E_1 = E_0$. Un atomo sottrae intensità ad una radiazione elettromagnetica solo alle lunghezze d'onda che corrispondono ai suoi salti quantici. Quindi lo spettro di assorbimento di un atomo è il "negativo" del suo spettro di emissione:



La quantificazione è possibile poiché l'intensità dell'emissione (I_λ) per ogni riga dello spettro (quindi per ogni λ) è proporzionale al numero di atomi n^* presenti allo stato eccitato A^* .

$$I_\lambda \sim \Delta E_\lambda \cdot A_\lambda \cdot n_\lambda^*$$

dove ΔE_λ è la differenza di energia tra il livello energetico superiore e quello inferiore della transizione a lunghezza d'onda λ e A_λ è la probabilità della transizione (cioè il numero di possibili transizioni tra i due livelli per unità di tempo – descritta da trattazione quantistica, sviluppata da A.Einstein).

L'intensità dell'emissione può essere misurata sperimentalmente, quindi è necessario trovare la relazione matematica che correla n^* con N numero totale di atomi del campione, come segue. La relazione tra la popolazione di due livelli energetici E_1 (inferiore) ed E_2 (superiore) viene descritta dall'equazione di Boltzmann:

$$\frac{n_2}{n_1} = \frac{g_2 \cdot e^{-E_2/kT}}{g_1 \cdot e^{-E_1/kT}}$$

(equazione relativa ad una riga dello spettro a lunghezza d'onda λ , che corrisponde ad un'emissione di energia $\Delta E_\lambda = E_2 - E_1$)

dove n_2 è la popolazione dello stato ad energia superiore (eccitato) e n_1 quella dello stato ad energia inferiore; k è la costante di Boltzmann ($0,695 \text{ cm}^{-1} \text{ K}^{-1}$); T è la temperatura della sorgente di radiazione termica; g_1 e g_2 sono fattori statistici che dipendono dal numero di livelli energetici equivalenti dello stato energetico più alto e più basso, rispettivamente.

Dato che la popolazione del livello energetico più alto (n_2) è proporzionale a $e^{-E_2/kT}$, a parità di temperatura T , più alto è il valore di E_2 meno sarà popolato il livello rispetto a E_1 . Per aumentare n_2 bisogna aumentare T in modo da ridurre il fattore $e^{-E_2/kT}$. Quindi è necessario utilizzare sorgenti di radiazione termica ad alta temperatura.

segue →

Per correlare n^* (indicato in precedenza come n_2 nelle formule) con la popolazione totale di tutti i livelli $N = (n_0 + n_1 + \dots + n_i)$ utilizzando l'equazione di Boltzmann, è prima necessario definire la somma di tutti i termini $g_i \cdot e^{-E_i/kT}$ per tutti i possibili livelli definendo la funzione di partizione Z come segue:

$$Z = g_0 + g_1 \cdot e^{-E_1/kT} + \dots + g_i \cdot e^{-E_i/kT}$$

Quindi l'equazione di Boltzmann diventa:

$$\frac{n^*}{N} = \frac{g^* \cdot e^{-E^*/kT}}{Z}$$

quindi la funzione di partizione Z è funzione di T . Tuttavia a temperature molto alte (2000 – 7000 K, o più) la variazione di T porta a variazioni trascurabili di Z . Pertanto a valori molto alti e pressoché costanti di T anche Z è costante. Per cui ne deriva che l'intensità di emissione ad una determinata λ è esprimibile come:

$$I_\lambda = k \left(\frac{h \cdot c}{\lambda} \right) \cdot A_\lambda \cdot \left(N \cdot \frac{g^* \cdot e^{-E^*/kT}}{Z} \right) \quad (I_\lambda \sim \Delta E_\lambda \cdot A_\lambda \cdot n_\lambda^*)$$

dove k è una costante che tiene conto del fatto che l'emissione è isotropica in tutte le direzioni.

Infine, dato che ad una determinata lunghezza d'onda (riga di emissione) g^*, A, λ e E^* sono costanti e che T e Z sono considerabili costanti nelle condizioni sperimentali per quanto affermato in precedenza, l'equazione soprastante si può ridurre a:

segue →

ricorda

$$I_{\lambda} = \text{cost} \cdot N$$

$$\left(\text{con } \text{cost} = k \left(\frac{h \cdot c}{\lambda} \right) \cdot A_{\lambda} \cdot \left(\frac{g^* \cdot e^{-E^*/kT}}{Z} \right) \right)$$

N è il numero di atomi presenti nel campione, quindi correlabile con la concentrazione dell'analita nel campione stesso.

Questa tecnica è di fatto **una tecnica analitica relativa**, quindi è necessario costruire una curva di taratura con soluzioni standard dell'analita, poiché sarebbe molto difficile determinare il valore esatto della costante (cost) dell'equazione che coinvolge molti parametri sia fisici che strumentali.

Approfondimenti

- <https://web.mit.edu/8.13/8.13c/references-fall/aip/aip-handbook-section7i.pdf>
- http://people.whitman.edu/~dunnivfm/FAASICPMS_Ebook/CH1/1_2_2.html (Nonradiative relaxations are not completely understood, but occur through the transfer of very small amounts of energy through molecular or atomic collisions. These result in the generation or transfer of heat energy, but do not cause the emission of a UV or visible photon.)
- <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1081/ASR-100100844?scroll=top&needAccess=true&journalCode=laps20>

L'analisi quantitativa in spettroscopia di assorbimento atomico

Nell'assorbimento atomico la radiazione rilevata al detector ha una intensità (I) minore di quella generata dalla sorgente elettromagnetica (I_0), a causa del processo $A + h \cdot \nu \rightarrow A^*$. Allo stesso tempo il processo di rilassamento di A^* non contribuisce all'intensità rilevata al detector perché non produce fotoni (cioè è un processo non radiativo). Pertanto I è direttamente correlabile al numero di atomi (n_0) presenti allo stato fondamentale:

$$I \sim n_0$$

Dato che gli atomi passano allo stato eccitato solo se assorbono un fotone la cui energia corrisponde ad un salto quantico, la sorgente elettromagnetica in questa tecnica non potrà essere continua, ma sarà discreta, cioè emetterà fotoni solo a determinate ed appropriate λ a seconda dell'analita da quantificare.

Si definisce **trasmissione** T il rapporto tra l'intensità di radiazione uscente I (cioè quella che rimane dopo il passaggio attraverso il campione) e l'intensità di radiazione incidente I_0 (cioè della sorgente).

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

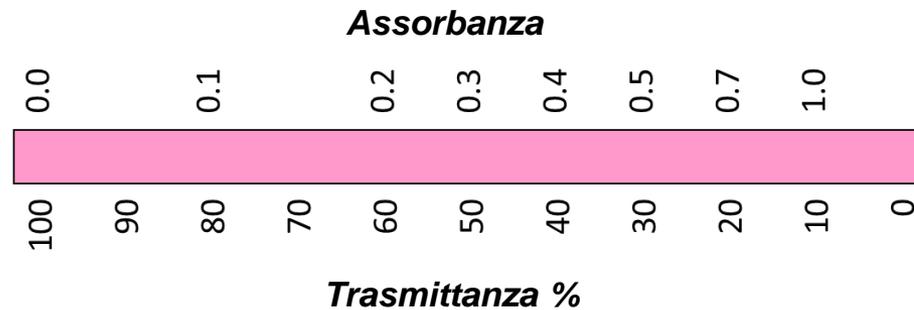
segue →

Si definisce **assorbanza** A_{abs} il logaritmo in base dieci dell'inverso di T :

$$A_{abs} = \log \frac{1}{T} = \log \frac{I_0}{I}$$

A_{abs} e T sono correlati rispettivamente alla frazione di energia radiante assorbita o trasmessa dal campione, quindi sono numeri puri. La trasmittanza viene anche espressa come trasmittanza percentuale $T\% = T \cdot 100$:

$$A_{abs} = \log \frac{100}{T\%} = 2 - \log T\%$$

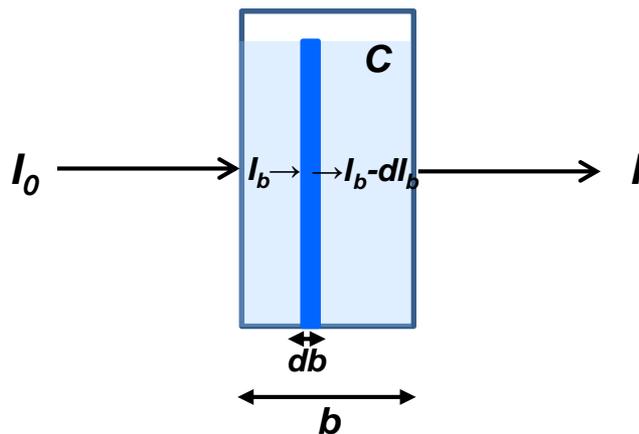


segue →

La legge di Bouguer-Lambert-Beer o legge di Beer

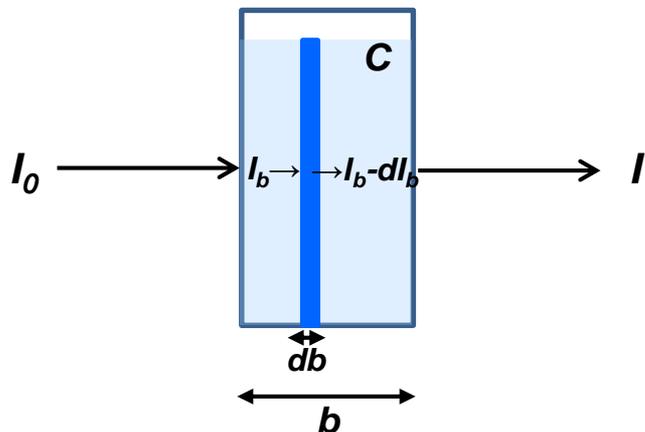
La legge di Beer è una legge generale a cui obbediscono i fenomeni di assorbimento di radiazione elettromagnetica. La dimostrazione della legge di Beer è stata sviluppata considerando come modello l'assorbimento di radiazione da parte di analiti in soluzione. E' stato dimostrato che l'intensità della radiazione I uscente dal campione è funzione:

- della radiazione incidente I_0 ;
- del cammino ottico b (cioè della lunghezza del percorso che fa la radiazione all'interno della soluzione);
- della concentrazione C dell'analita in soluzione.



Si immagini di suddividere la soluzione in un numero molto elevato di strati assorbenti ("fettine") posti uno accanto all'altro, ognuno di uno spessore infinitesimo db . La radiazione I_b incidente un singolo strato, a causa degli analiti presenti, quando esce dallo strato diventa di intensità $I_b - dI_b$. La variazione dI_b è direttamente proporzionale a db , I_b ed alla concentrazione C , che è costante in tutta la soluzione.

segue →



Quindi:

$$dI_b = -K \cdot I_b \cdot db \cdot C \quad \text{con } K = \text{costante di assorbimento}$$

K è caratteristica del mezzo assorbente e dipende dalla λ della radiazione incidente (di intensità I_0). K può essere espressa come:

$$K = -\frac{dI_b}{I_b} \cdot C \cdot db$$

La costante K rappresenta la frazione di luce assorbita dalla soluzione, per unità di spessore, alla concentrazione costante C . Tutti gli strati di spessore db assorbono quindi una uguale frazione (dI_b) della luce che li attraversa.

Pertanto la radiazione totale assorbita lungo il cammino ottico b è uguale alla somma di ogni db , cioè comporta calcolare l'integrale dell'equazione seguente:

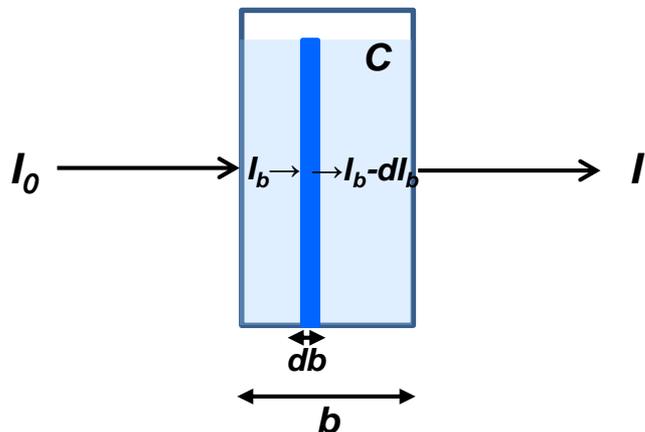
$$\frac{dI_b}{I_b} = -K \cdot C \cdot db$$

L'integrale del primo membro viene calcolato da I_0 ad I e quello del secondo membro da 0 a b , come segue:

$$\int_{I_0}^I \frac{dI_b}{I_b} = -K \cdot C \cdot \int_0^b db$$

C può essere portata fuori dall'integrale se si suppone che essa sia costante per tutta la soluzione.

segue →



Risolviendo l'integrale si ottiene:

$$[\ln I_b]_{I_0}^I = -K \cdot C \cdot [b]_0^b$$

↓

$$\ln I - \ln I_0 = -K \cdot C \cdot (b - 0)$$

↓

$$\ln \frac{I}{I_0} = -K \cdot C \cdot b$$

L'equazione si può convertire in termini di logaritmi decimali:

$$\log \frac{I}{I_0} = -\frac{K \cdot C \cdot b}{2.303}$$

Ponendo $\epsilon = K/2.303$ e moltiplicando entrambi i membri per -1 , si ottiene:

$$\log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Considerando che $A_{abs} = \log \frac{1}{T} = \log \frac{I_0}{I}$ si esprime la legge di Beer come: $A_{abs} = \epsilon \cdot b \cdot C$

ϵ è il coefficiente di assorbimento molare, dipende dalla lunghezza d'onda della radiazione assorbita, dal solvente e dalla specie chimica che dà l'assorbimento, quindi la legge di Beer si scrive più correttamente: $A_{abs\lambda} = \epsilon_{\lambda} \cdot b \cdot C$

segue →

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

Nella spettroscopia di assorbimento atomico b ed ϵ_{λ} non sono noti, quindi questa tecnica è **una tecnica analitica relativa**, poiché è necessario costruire una curva di taratura con soluzioni standard dell'analita.

In base ad una dimostrazione (qui non riportata) che coinvolge l'utilizzo dell'equazione della distribuzione di Boltzmann, i coefficienti di assorbimento atomico di Einstein e la legge di Planck sulla radiazione del corpo nero, risulta che:

$$A_{\text{abs}\lambda} \sim n_0$$

con n_0 = numero di atomi del campione che si trovano allo stato fondamentale.

Quindi è necessario che le specie atomizzate provenienti dal campione si trovino allo stato fondamentale (no stati eccitati), pertanto la sorgente di atomizzazione non deve portare il campione a temperature troppo elevate.

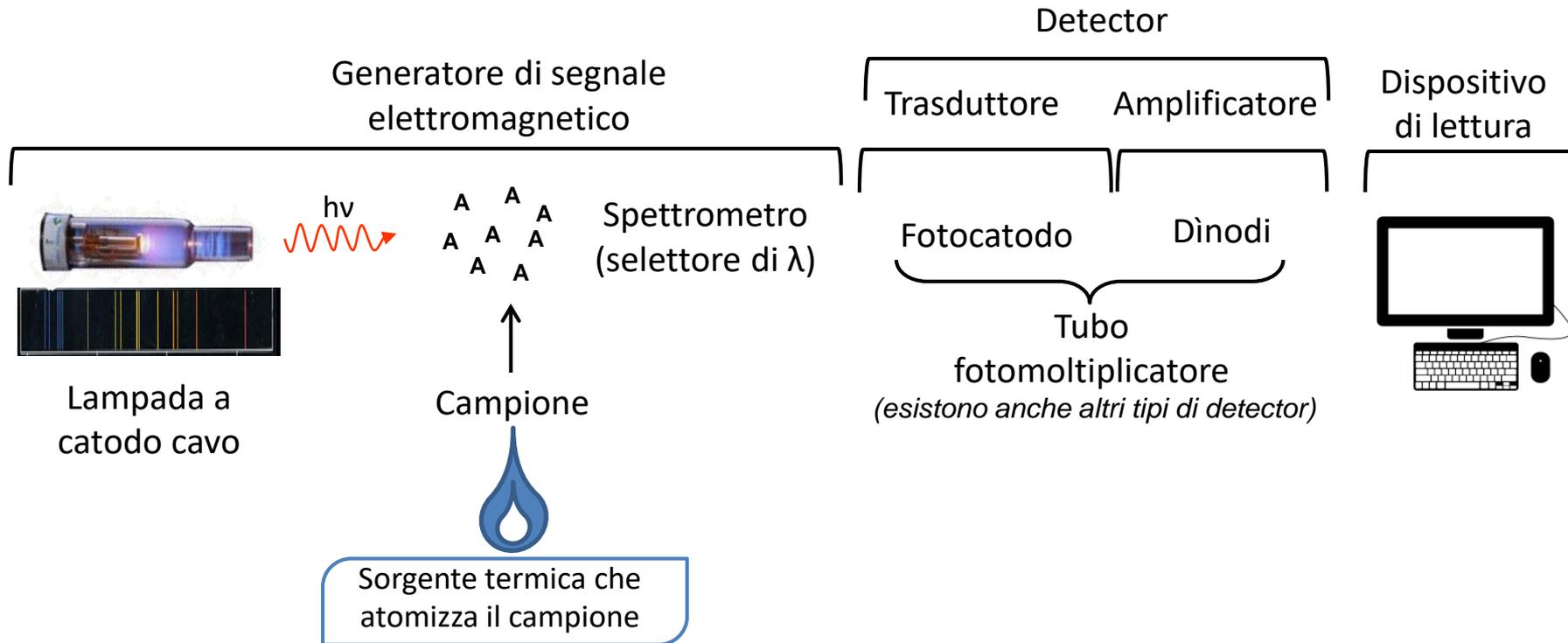
Come viene fornita la radiazione elettromagnetica che viene poi assorbita dal campione, rendendo possibile l'utilizzo della legge di Beer per la quantificazione dell'analita?

Tramite l'utilizzo della **lampada a catodo cavo**:



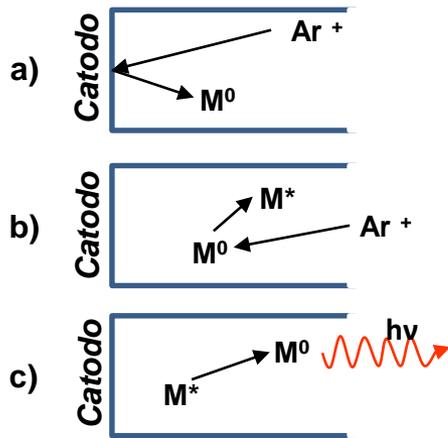
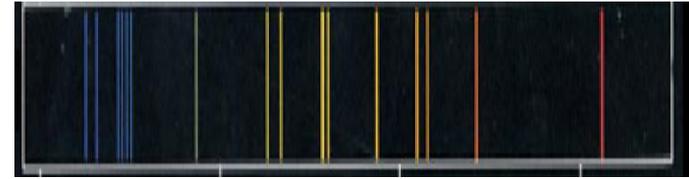
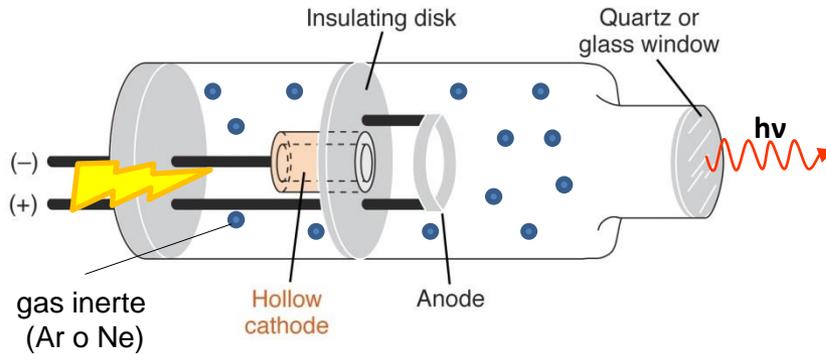
segue →

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.

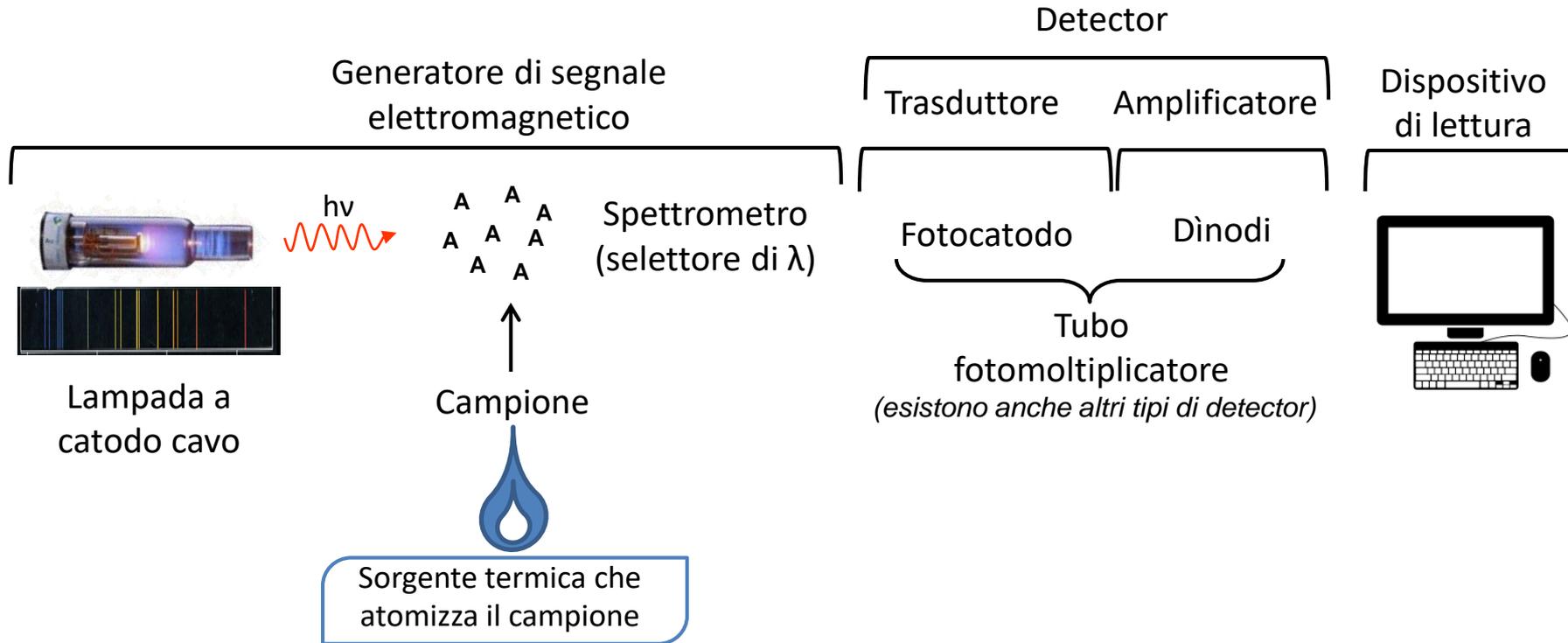
Attraverso una scarica elettrica, il gas inerte si ionizza e cede il suo contenuto energetico alla lamina metallica, che va incontro a un processo di sputtering (a), con espulsione di una "nube" di atomi allo stato fondamentale che passano a uno stato eccitato collidendo (b) con altre specie cariche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

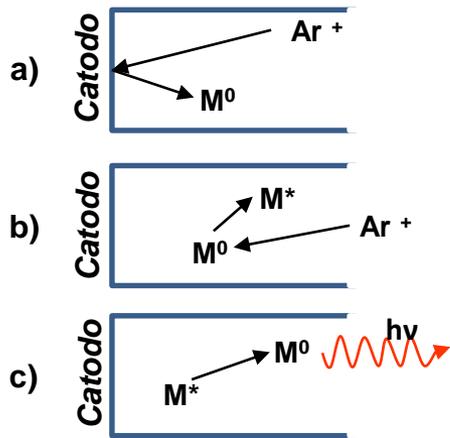
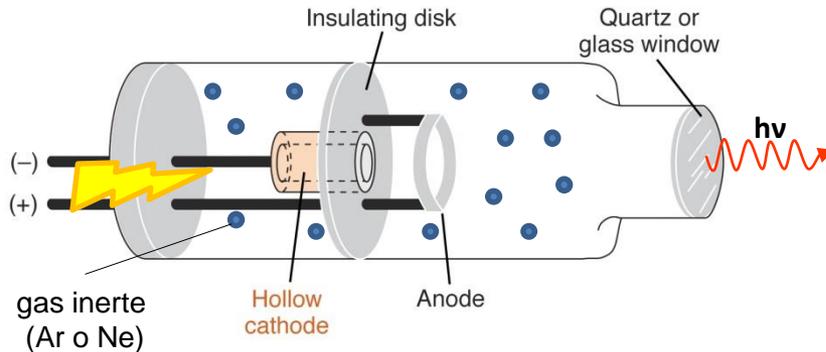
segue →

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.

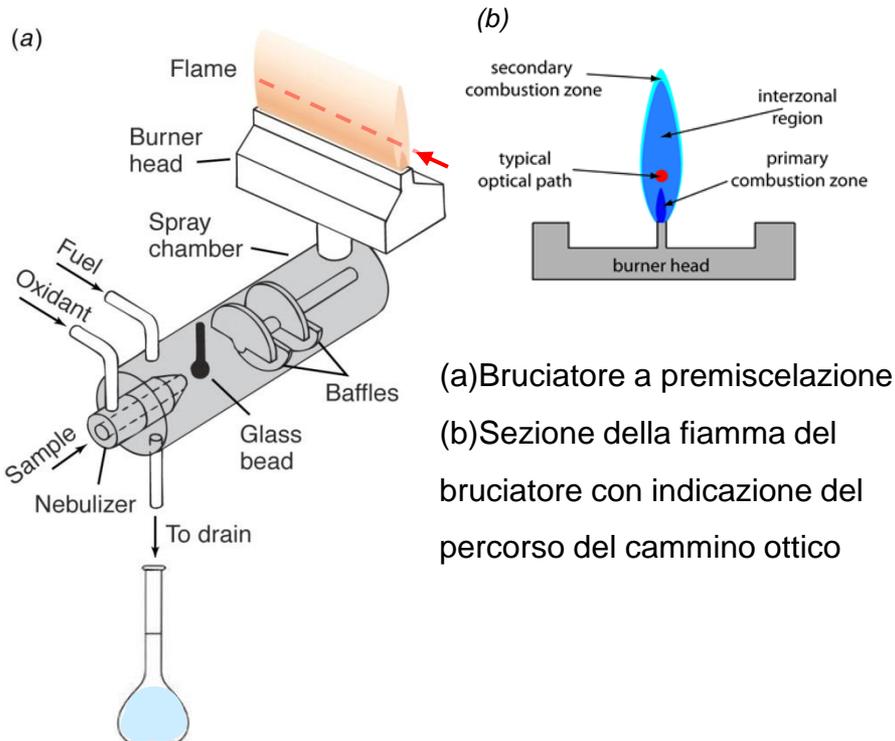
segue →

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



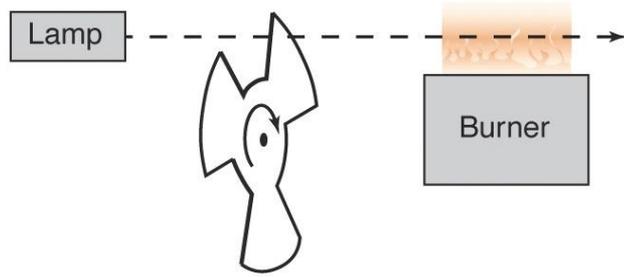
La sorgente a fiamma è del tutto simile a quella utilizzata per la spettroscopia di emissione atomica.

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.

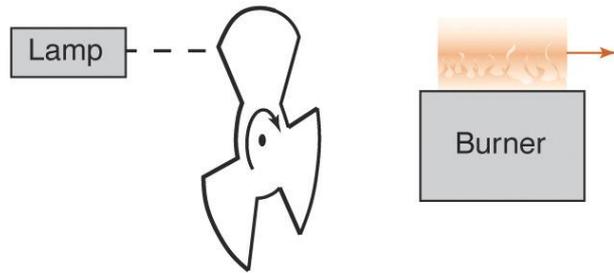
Il tempo di residenza degli atomi liberi dell'analita lungo il cammino ottico è molto basso, portando ad una sensibilità nell'analisi relativamente bassa .

segue →

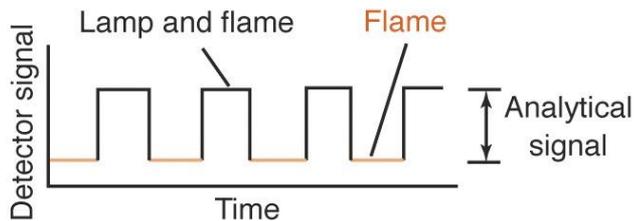
Per evitare di sommare il contributo emissivo della fiamma a quello della radiazione I_λ trasmessa a seguito di assorbimento del metallo è necessario realizzare una modulazione della sorgente o utilizzando un componente meccanico (**chopper**) oppure (più frequentemente) pulsando la corrente in ingresso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



(a) Rotating chopper



(b)



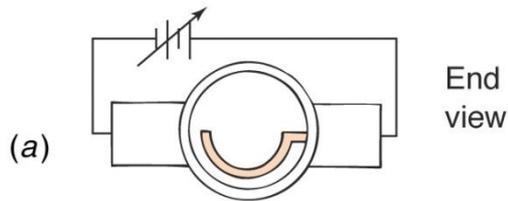
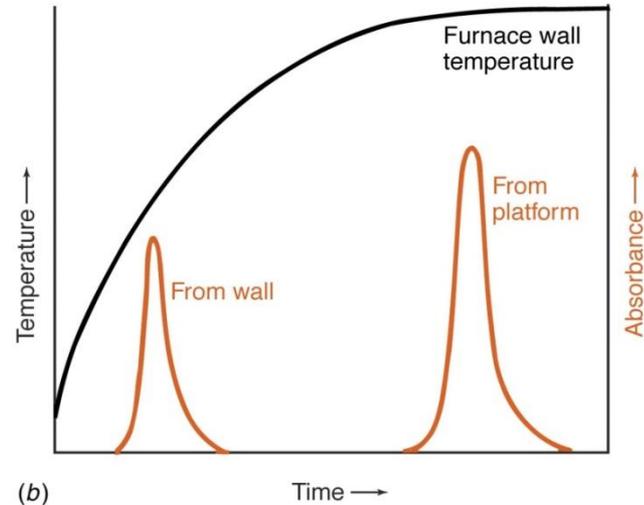
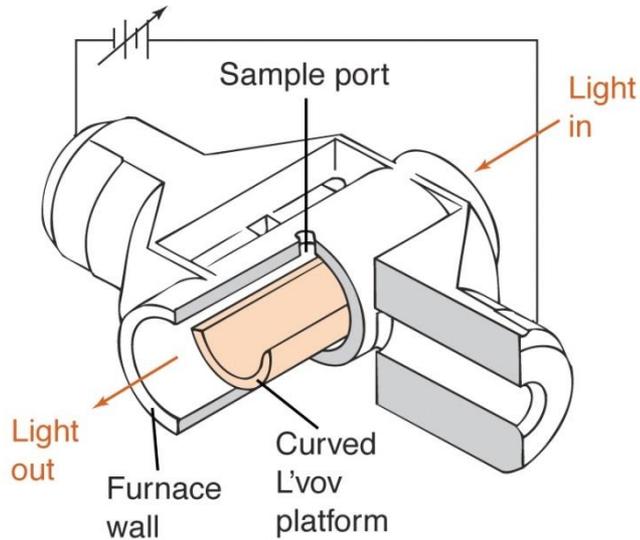
(c)

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

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

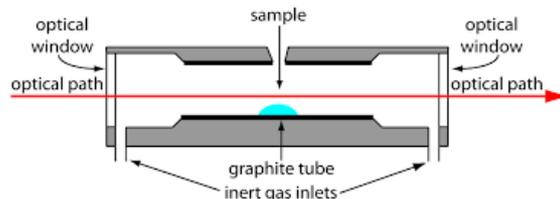
(c) Segnale ad onda quadra risultante dalla modulazione

Sorgenti elettrotermica (fornetto di grafite)



a) Fornetto di grafite a riscaldamento trasversale;

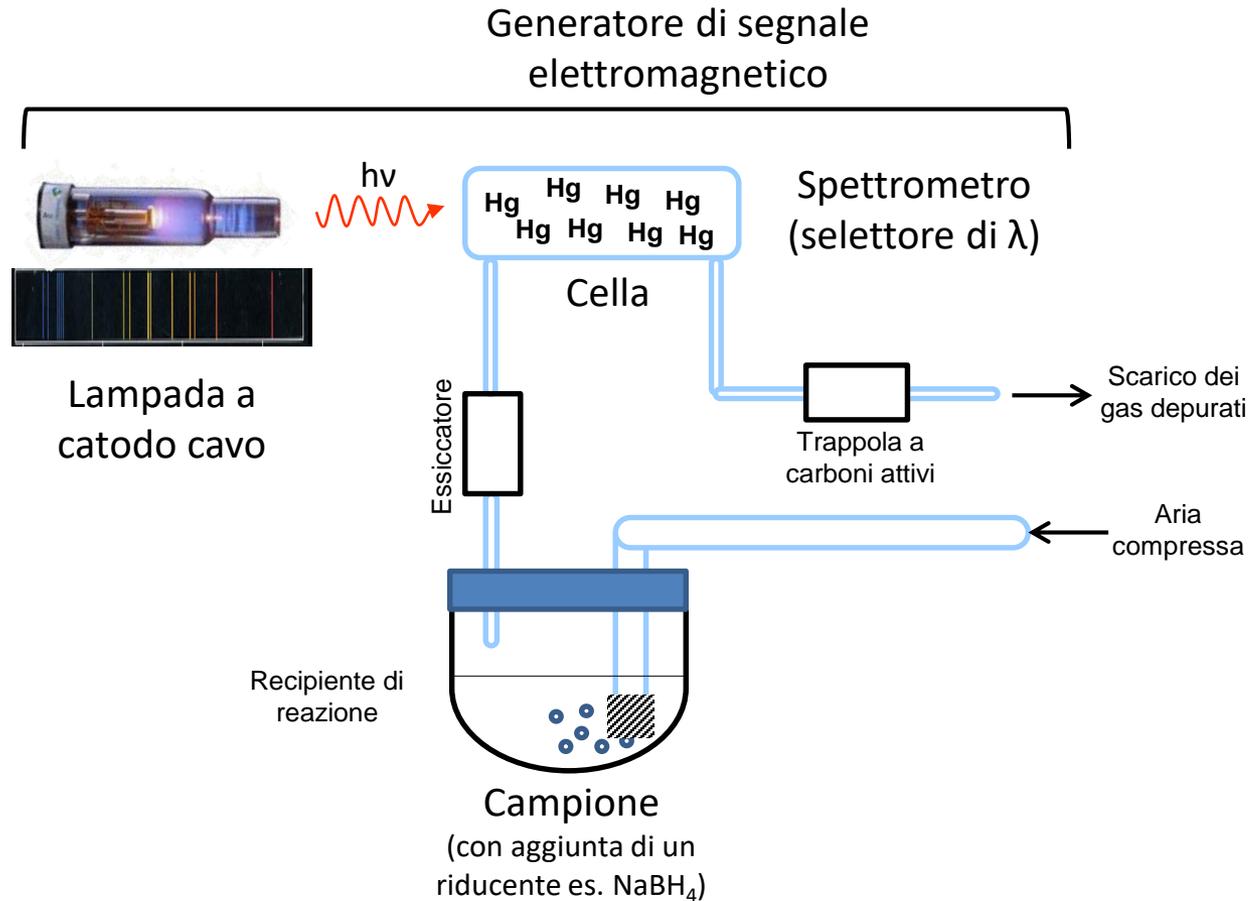
b) Profilo di riscaldamento del fornetto ed aumento del segnale impiegando la piattaforma



L'atomizzazione in fornetto 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.

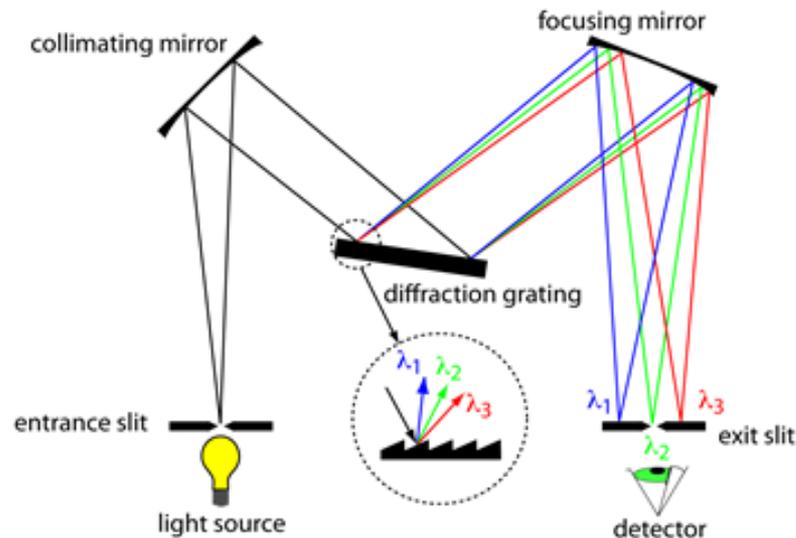


Lo spettrometro (o monocromatore - selettore di λ)

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.

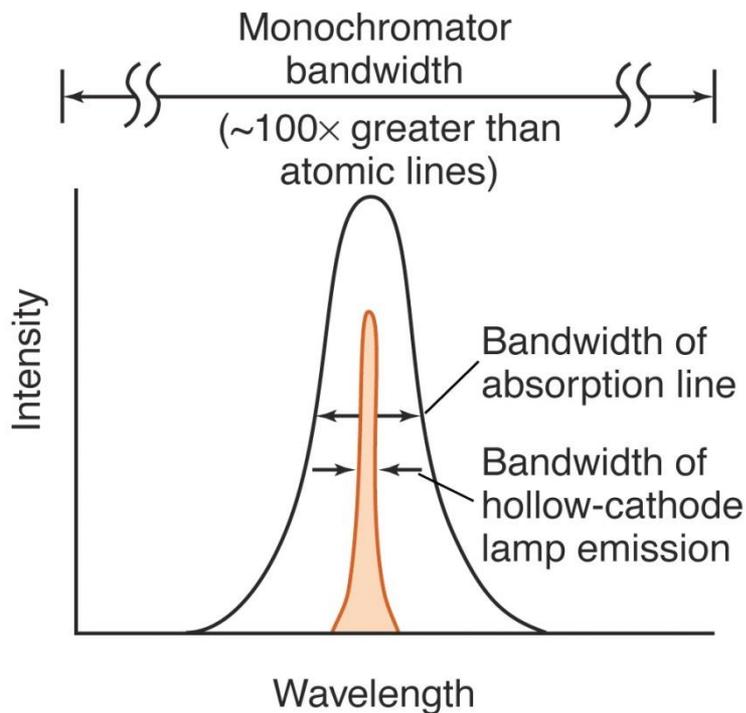


La trattazione estesa delle componenti e modalità di funzionamento di uno spettrometro verranno discusse nella trattazione della Spettroscopia di assorbimento molecolare.

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 λ di interesse. Questo è dovuto sia a fenomeni intrinseci che riguardano le specie chimiche, sia a limiti strumentali.

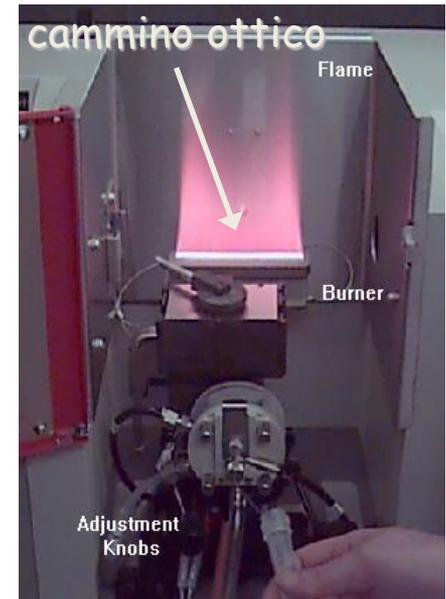
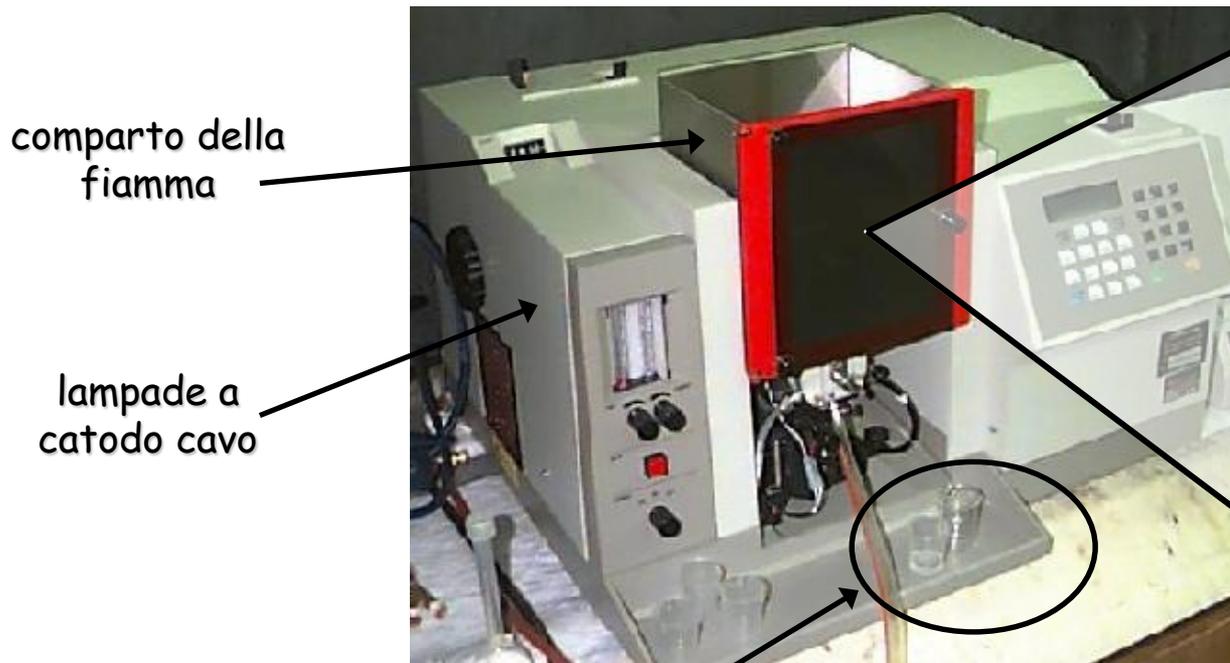
In particolare le larghezze di riga dell'emissione atomica di una lampada a catodo cavo sono più grandi di quelle di assorbimento atomico ed entrambe sono circa 100 volte più piccole della banda passante di un monocromatore.



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

GIUSTIFICAZIONE DEL PERCHE' L'ACCURATEZZA DELLA LAMPADA A CATODO CAVO E' SIGNIFICATIVAMENTE MAGGIORE DELL'OPZIONE DI LAMPADA A EMISSIONE IN UN CONTINUO DI LAMBDA ACCOPPIATA AD UN MONOCROMATORE E SI IMPIEGANO OTTICHE INVERSE

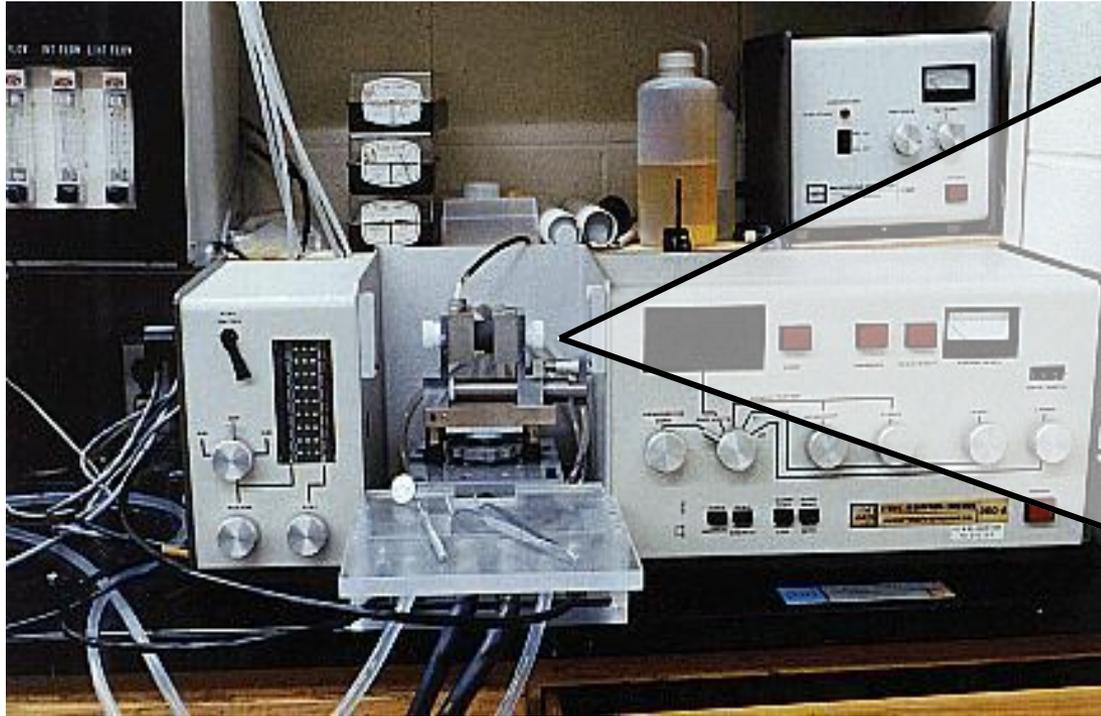
Strumentazione per assorbimento atomico a fiamma (FAAS)



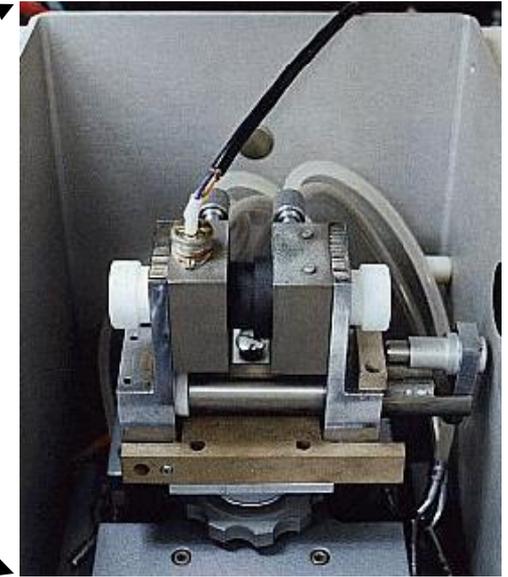
↑
aspirazione in continuo
segnale dipendente dalla
concentrazione e non dalla
massa

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

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



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



il campione (poche decine di μl) viene depositato all'interno di un cilindro di grafite detto *fornetto*, sottoposto poi a cicli di riscaldamento

Il fornello 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.

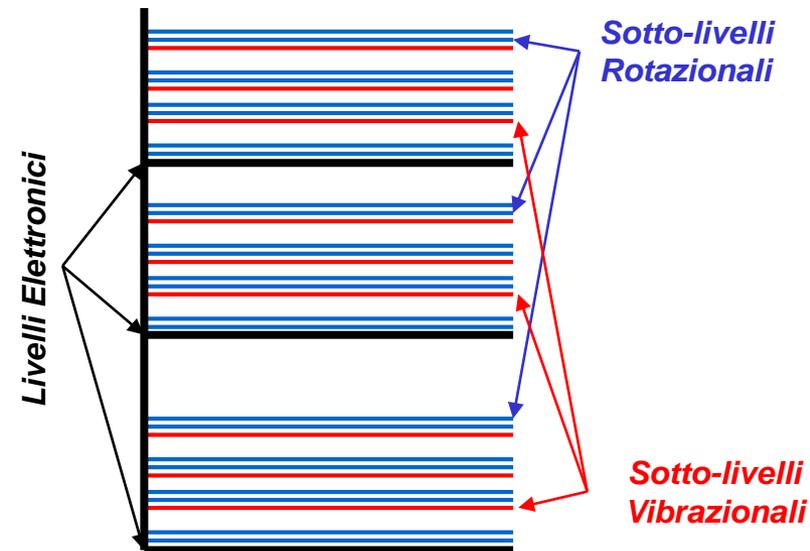
Le transizioni possono essere:

- **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:

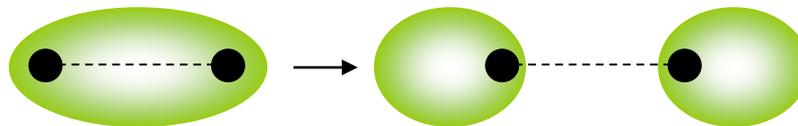
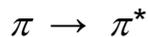
- In una molecola ogni livello di energia elettronica è suddiviso in un certo numero di **sottolivelli vibrazionali**;
- In aggiunta ciascun sottolivello vibrazionale è ulteriormente suddiviso in **sottolivelli rotazionali**



segue →

Transizioni elettroniche:

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



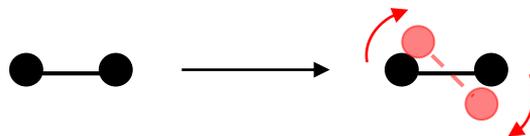
Transizioni vibrazionali :

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 →

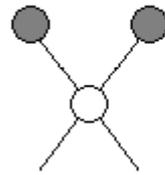
Le posizioni degli atomi in una molecola non sono fisse;

Sono soggette ad un numero di differenti vibrazioni.

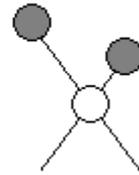
Le vibrazioni si suddividono nelle due categorie maggiori di *stretching* e *bending*

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:

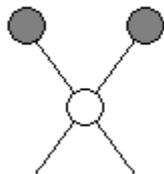
Rocking

Scissoring

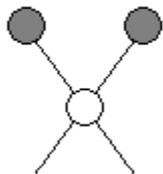
Wagging

Twisting

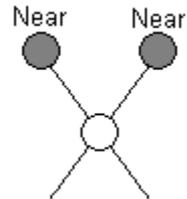
Bending vibrations



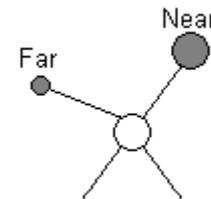
In-plane rocking



In-plane scissoring

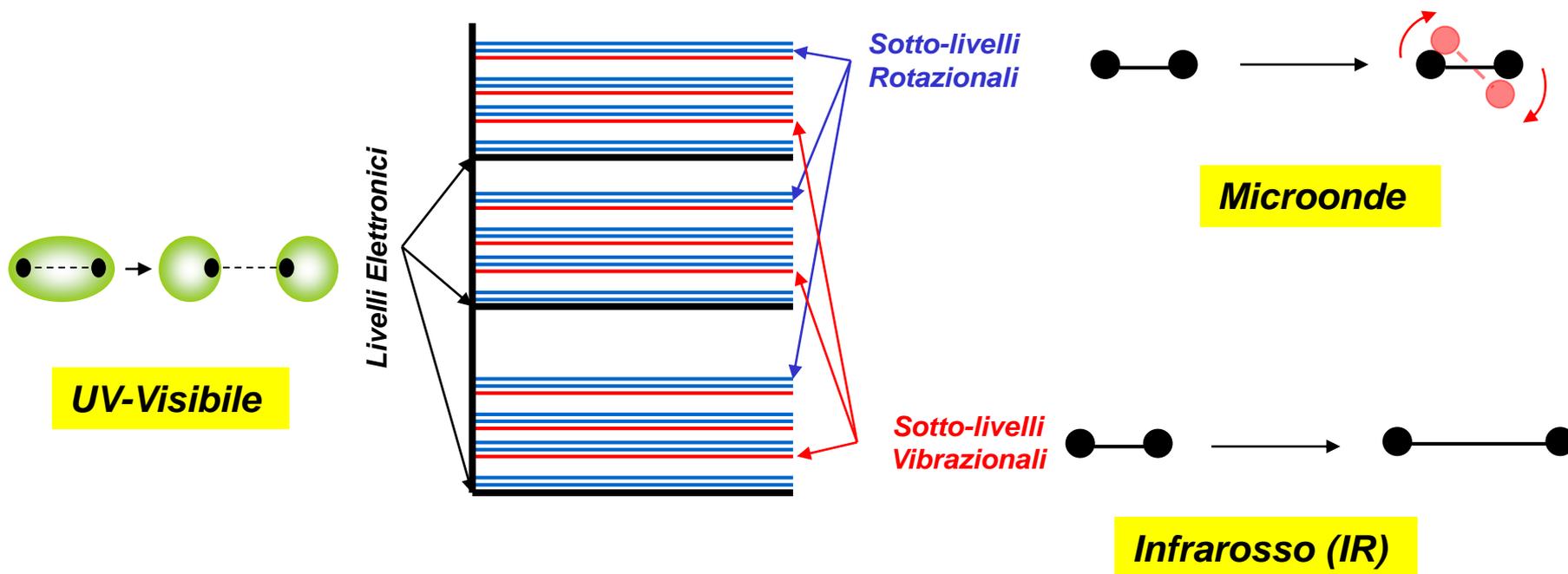


Out-of-plane wagging



Out-of-plane twisting

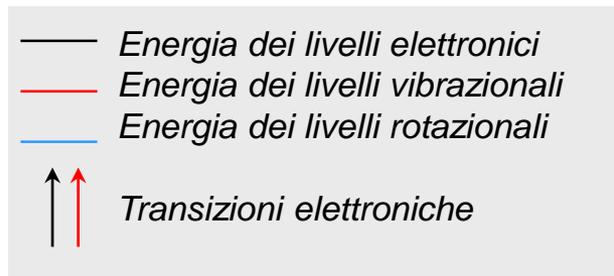
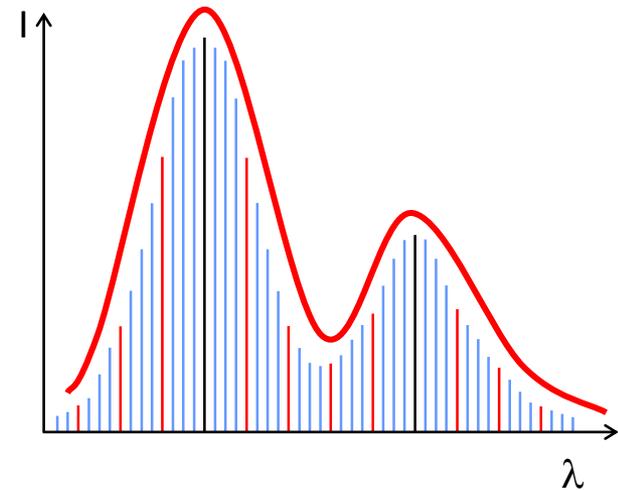
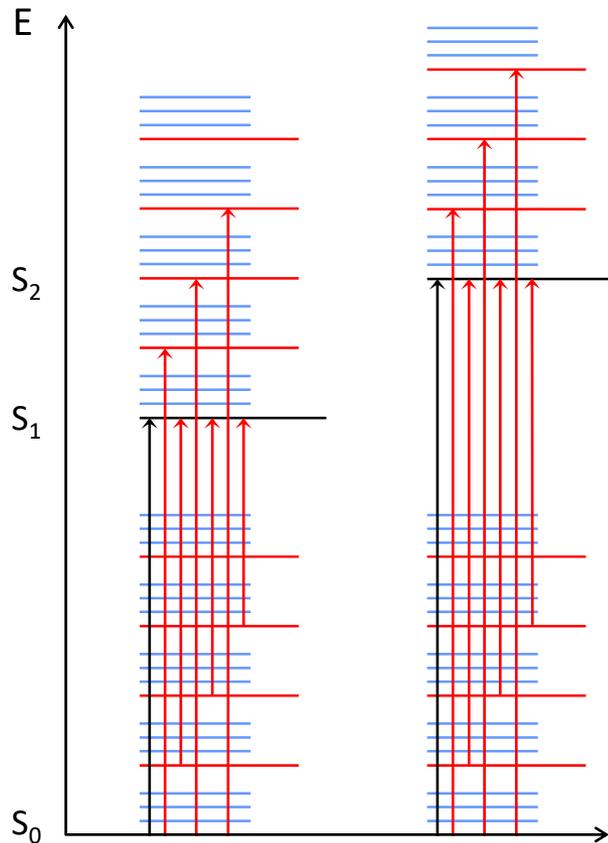
Ogni tipo di transizione è correlata alla quantità di energia fornita, quindi anche all'intervallo di lunghezze d'onda coinvolto:



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 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.

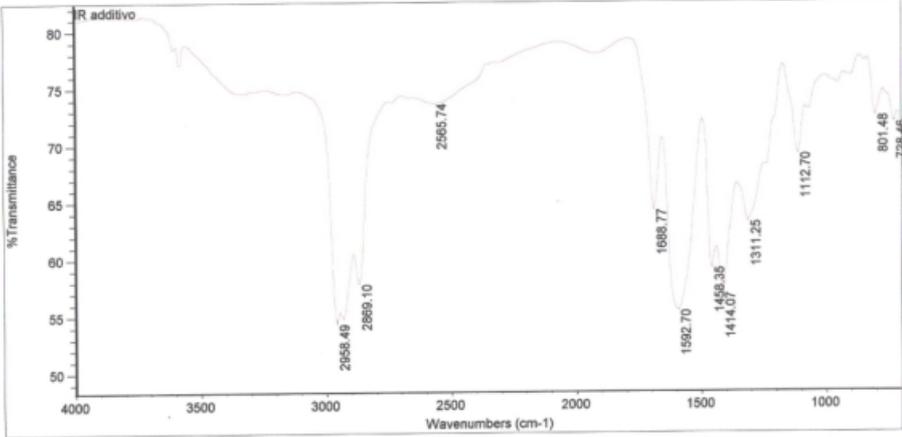


Figura 1 Analisi IR eseguita sulla soluzione analizzando gli assorbimenti tra i 4000 e i 700 cm^{-1} .

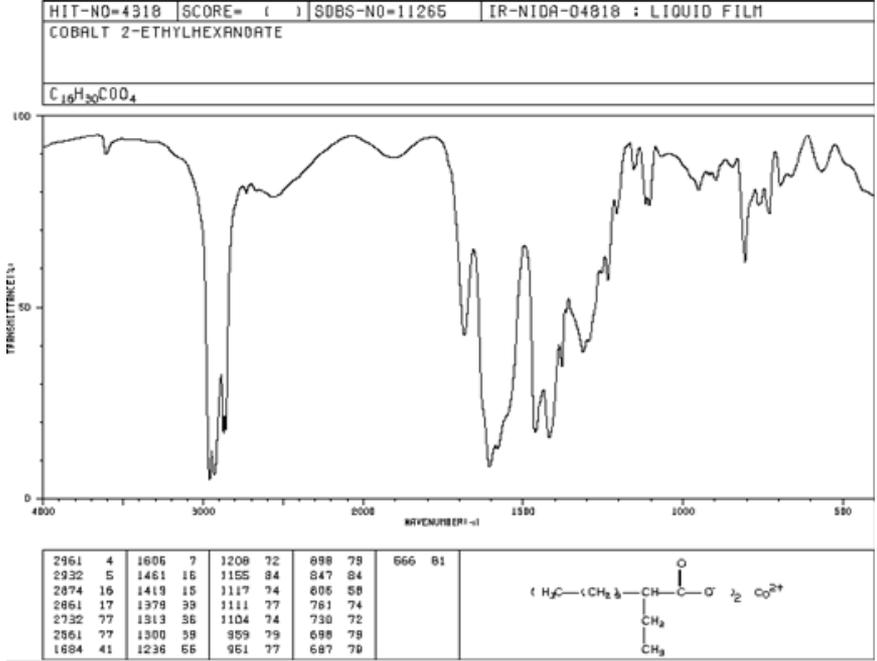


Figura 1 Spettro IR prelevato dalla banca dati dell'AIST

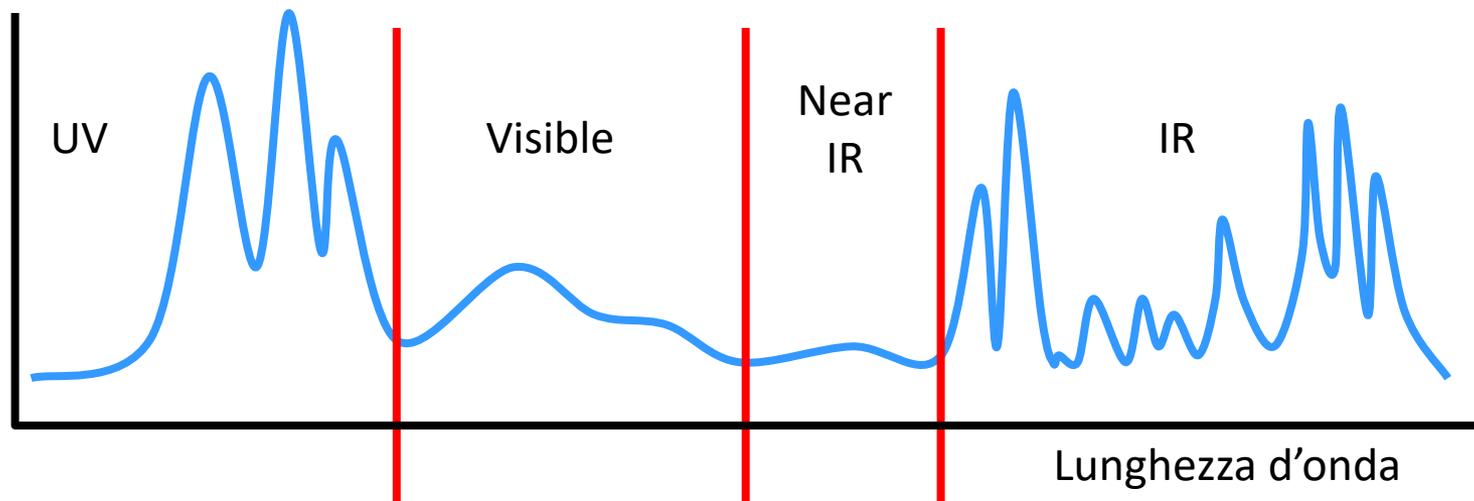
Il numero d'onda è il numero di oscillazioni di un'onda nell'unità di lunghezza, e corrisponde quindi al reciproco della lunghezza d'onda. Si misura in m^{-1} o più comunemente in cm^{-1} . E' unità di misura usata nelle spettroscopie vibrazionali. Il numero d'onda è proporzionale all'energia della radiazione: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

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:



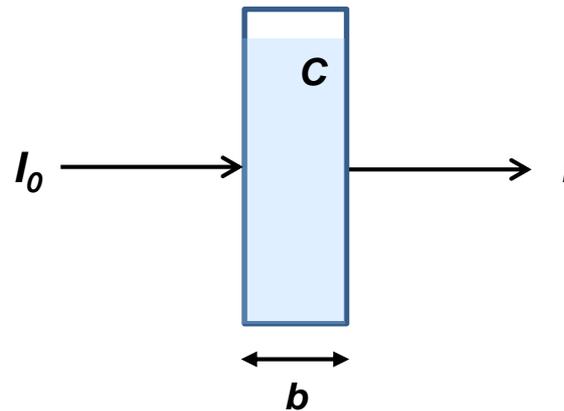
L'analisi quantitativa in spettroscopia di assorbimento molecolare

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

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

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

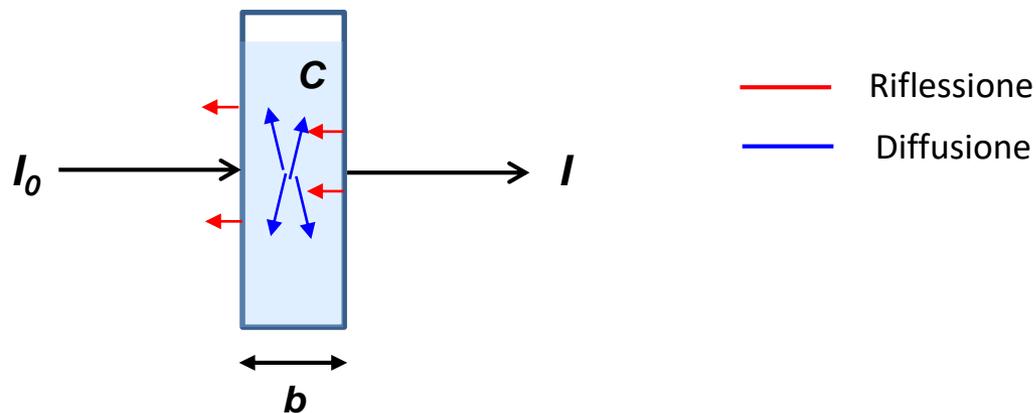
$$= \log \frac{I_0}{I}$$



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.

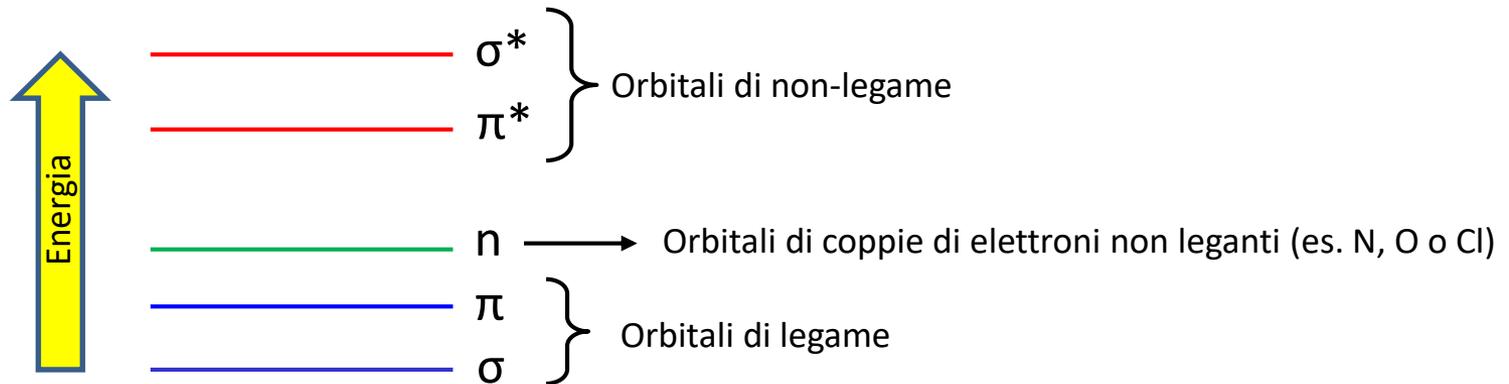


Queste interferenze possono essere minimizzate se la soluzione è diluita ($C < 0,1 \text{ mol l}^{-1}$) e non presenta torbidità. Le interferenze possono inoltre essere misurate ed eliminate dalla misura effettuata sul campione per confronto con un "bianco" (cioè una cuvetta identica a quella usata per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



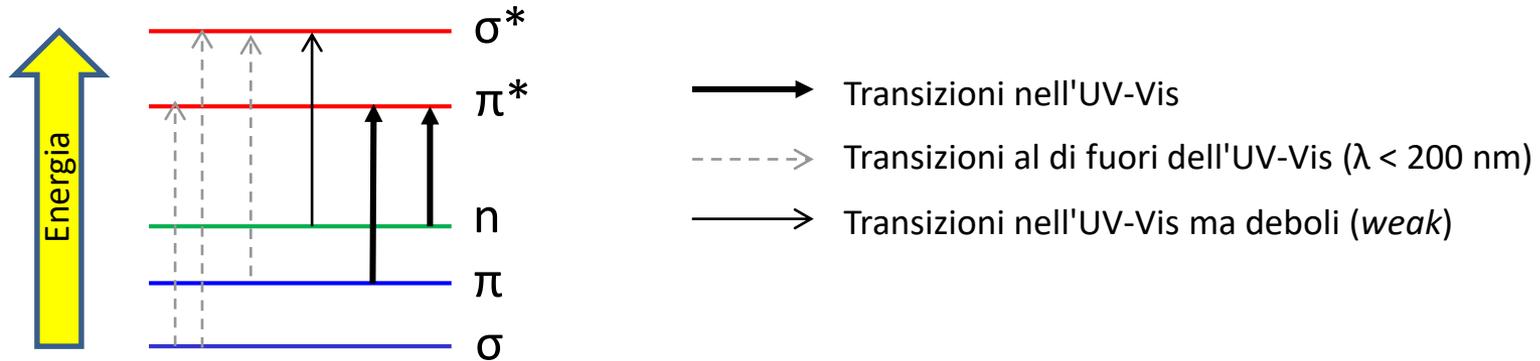
Gli orbitali σ e π contengono normalmente coppie di elettroni legame;

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

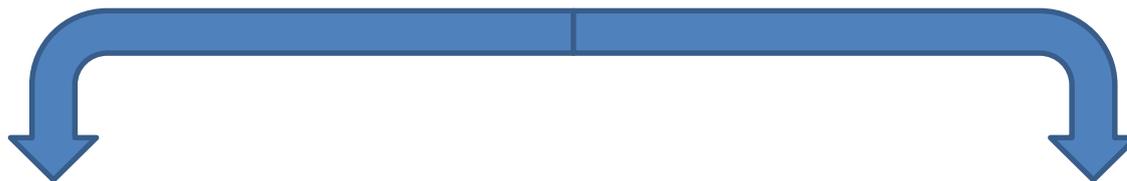
- coppie di elettroni non leganti n .



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

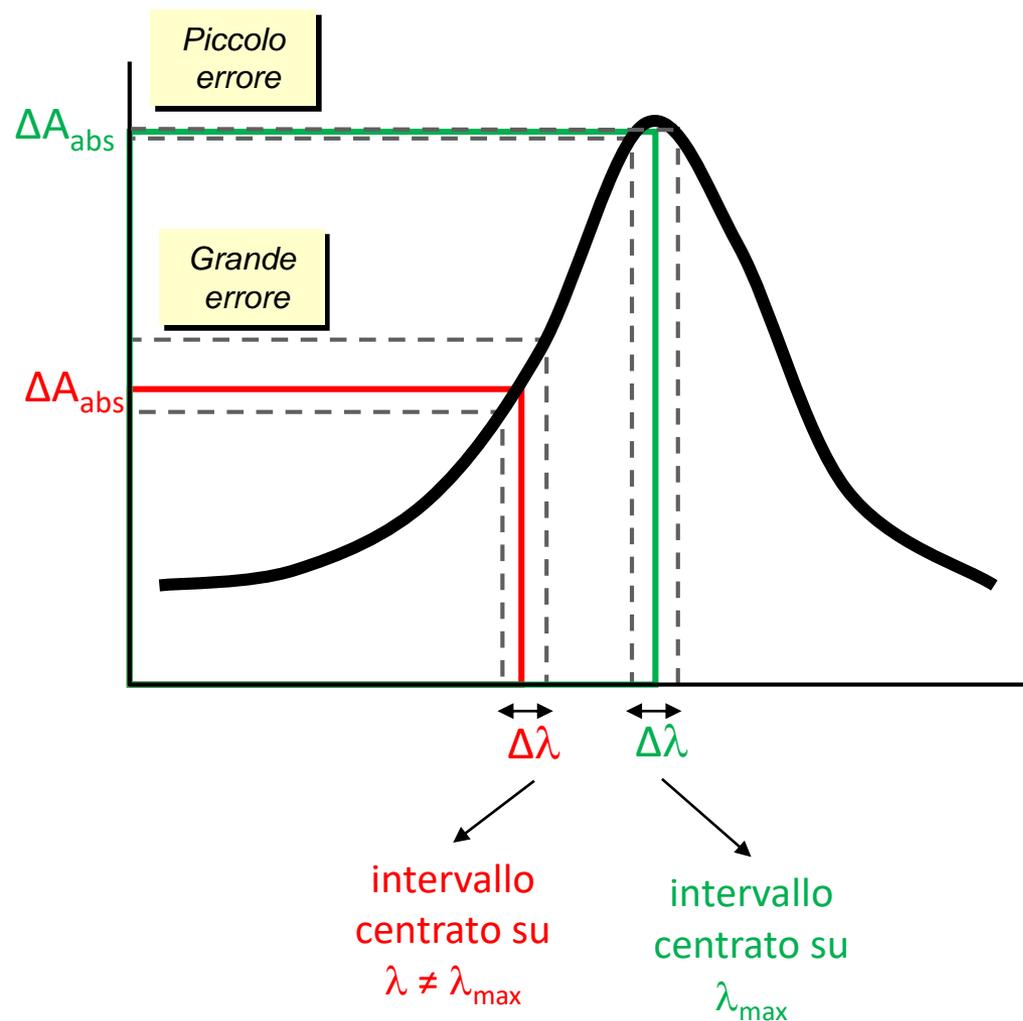
La scelta del **solvente** in cui disciogliere il campione:



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
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 (λ_{max})

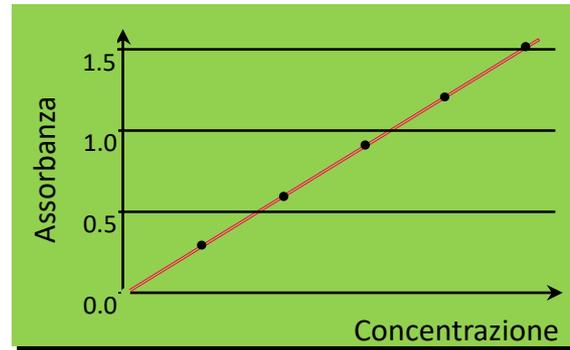
Questo è il punto di massima risposta corrispondente alla più alta sensibilità e più basso limite di rivelazione.

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

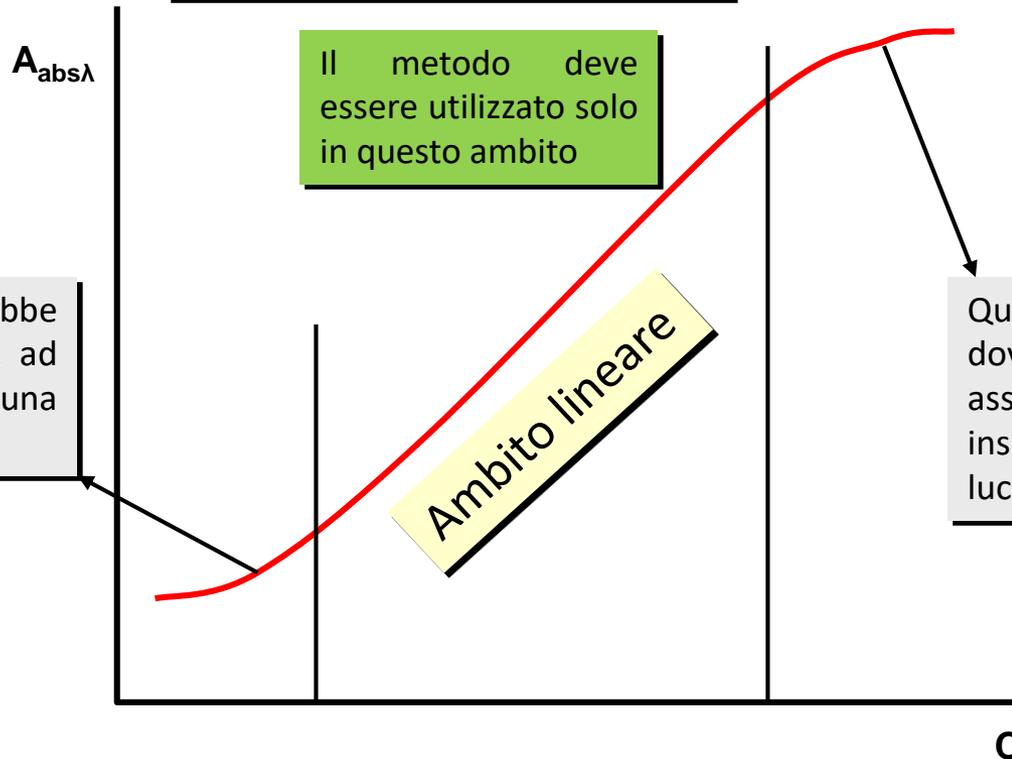
segue →

Deviazione dalla relazione lineare

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



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

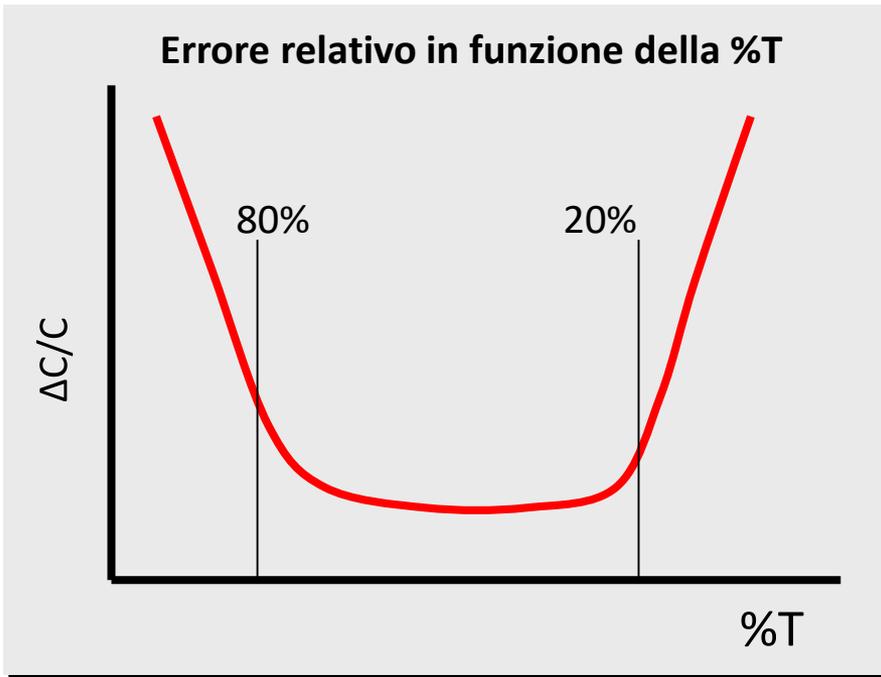


segue →

Errore nella misura dell' assorbanza:

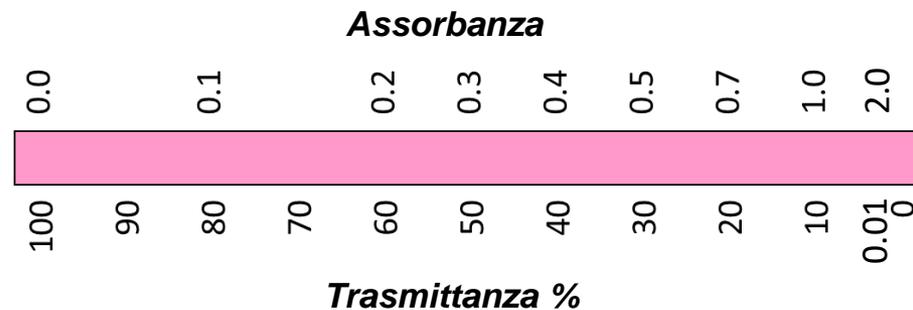
Sebbene nella legge di Beer compaia l'assorbanza della soluzione, la grandezza fisica che viene effettivamente misurata è la **trasmittanza T**. L'errore nella determinazione di una concentrazione mediante una misura spettrofotometrica (ΔC) è quindi legato all'errore che si ha nella misura della trasmittanza (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: $\Delta T = 0.01$; $\Delta c/c = (0.434\Delta T)/(T \log T)$.

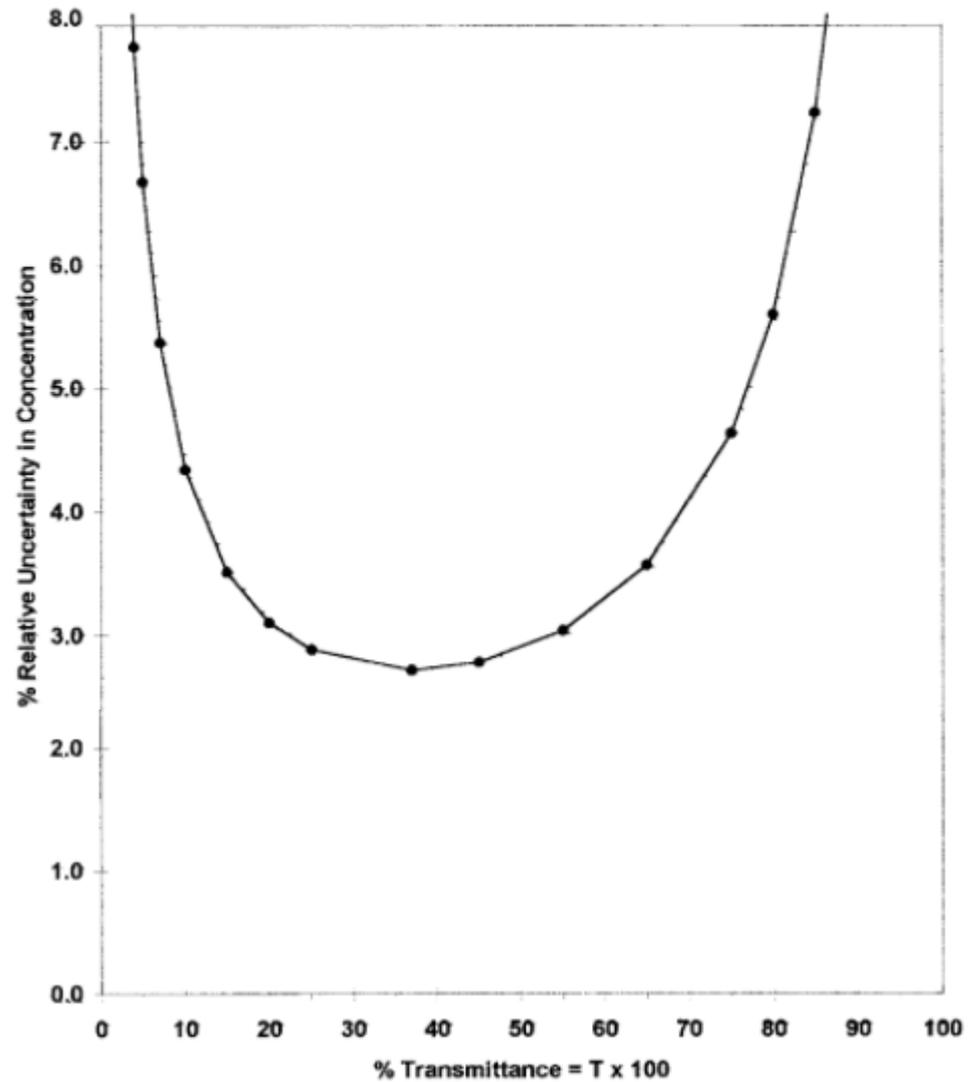


Figure 2.15 Relative uncertainty in measured concentration due to random error in spectrometric measurements due to some types of instrument noise. The data shown are for a constant 1% error in transmittance. The curve will have the same shape for other values of error in T , but the magnitude of the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

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

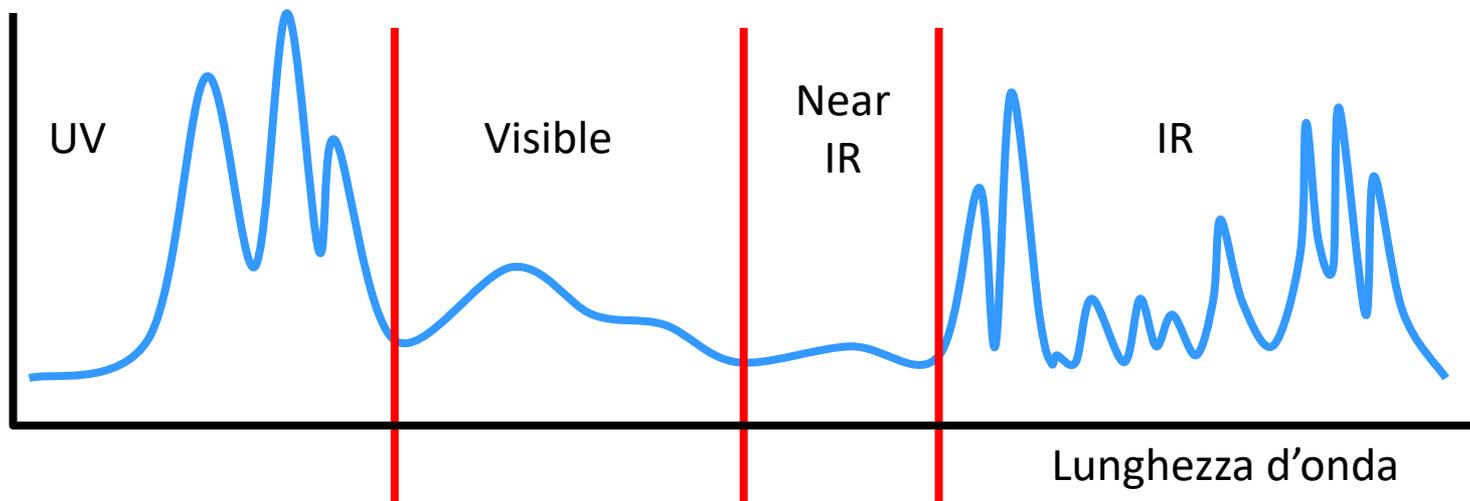
Undergraduate Instrumental Analysis, Sixth Edition

di James W. Robinson, Eileen M. Skelly

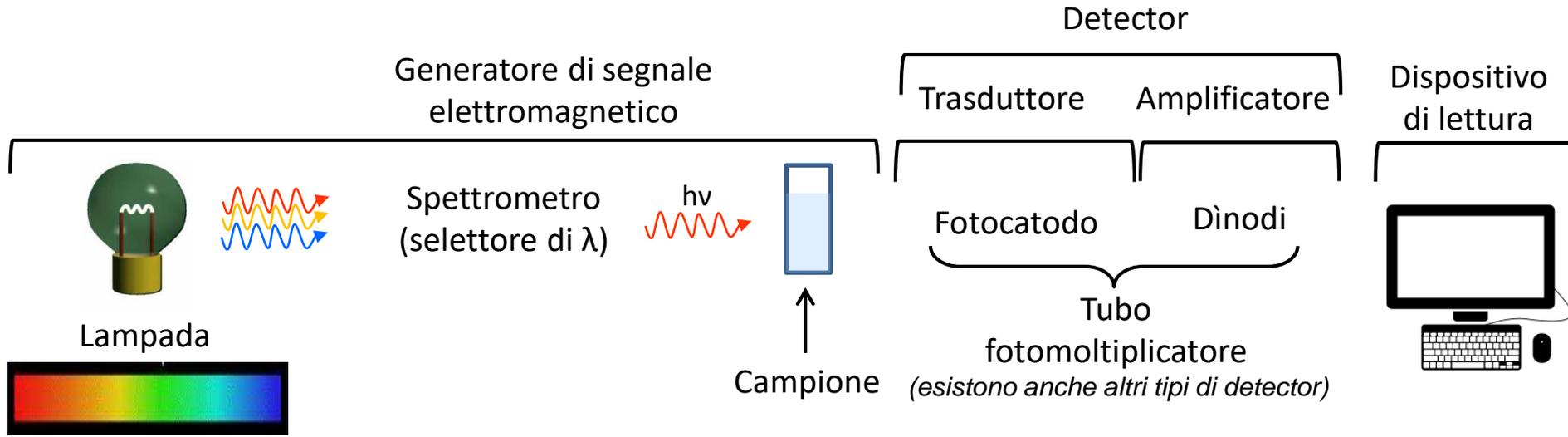
L'assorbimento di radiazioni nel UV, Vis e IR copre un ampio intervallo di lunghezze d'onda.

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:



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.