

- quaderni di analisi chimica strumentale - SPETTROFOTOMETRIA

Indice generale

1 - LUCE E RADIAZIONI.....	2
1.1 Introduzione.....	2
1.2 Natura delle radiazioni elettromagnetiche.....	2
1.3 Energia di una radiazione elettromagnetica.....	3
1.4 I diversi tipi di radiazione elettromagnetica.....	4
1.5 La luce visibile	4
1.6 Luce monocromatica e policromatica.....	5
2 - APPLICAZIONI ANALITICHE.....	6
2.1 Gli spettri.....	6
2.2 Spettri di emissione e di assorbimento.....	6
2.3 Analisi qualitativa e quantitativa.....	6
3 - L'INTERAZIONE RADIAZIONE-MATERIA.....	8
3.1 Energia interna delle molecole.....	8
3.2 Transizioni energetiche.....	9
4 - SPETTROSCOPIA DI ASSORBIMENTO.....	10
4.1 Spettroscopia nel visibile e nell'ultravioletto.....	10
4.2 Analisi qualitativa.....	11
4.3 Analisi quantitativa.....	11
4.4 Legge dell'assorbimento (legge di Lambert-Beer).....	13
4.5 Applicabilità della legge di Lambert-Beer e deviazioni.....	14
4.6 Scelta della lunghezza d'onda.....	15
5 - ANALISI QUANTITATIVE.....	16
5.1 Preparazione del campione.....	16
5.2 Azzeramento e taratura dello strumento.....	16
5.3 Significato dell'azzeramento contro il bianco.....	16
5.4 Determinazione della concentrazione della sostanza in esame.....	17
5.5 Un esempio applicativo: determinazione dell'azoto nitroso.....	18
6 - STRUMENTAZIONE.....	22
6.1 Generalità sugli spettrofotometri	22
6.2 Struttura generale di uno spettrofotometro (UV-visibile o IR).....	23
6.3 Sorgenti.....	23
6.4 Monocromatori.....	23
6.5 Celle.....	24
6.6 Rivelatori.....	25
6.7 Sistemi di elaborazione e presentazione dati.....	26
6.8 Tipi di spettrofotometro.....	26
7 - SPETTROSCOPIA DI EMISSIONE ATOMICA.....	28
7.1 Generalità.....	28
7.2 La spettroscopia di emissione a fiamma.....	28
8 - ESERCITAZIONI E VERIFICHE.....	30
8.1 Esercizi su calcoli utili per le analisi spettrofotometriche.....	30
8.2 Quesiti a risposta aperta.....	31
8.3 Quesiti a risposta multipla.....	32

1 - LUCE E RADIAZIONI

1.1 Introduzione

Una parte molto importante della moderna Chimica Analitica Strumentale è basata sullo studio dello scambio di energia (interazioni) tra la radiazione elettromagnetica e la materia.

Questo tipo di interazioni sono evidenti ad occhio nudo nel caso di radiazioni che cadono nel campo visibile; ad esempio un fascio di luce bianca visto attraverso una soluzione di solfato di rame(II) appare blu perché le particelle in soluzione interagiscono, assorbendole, con alcune radiazioni, e quindi il fascio di luce risulterà mancante di tali radiazioni, con un conseguente effetto colore (in questo caso blu).

Concludendo, nel campo delle radiazioni visibili, possiamo affermare che c'è stata interazione con la materia se si nota un cambiamento di colore oppure una semplice diminuzione di intensità del fascio di radiazioni.

1.2 Natura delle radiazioni elettromagnetiche

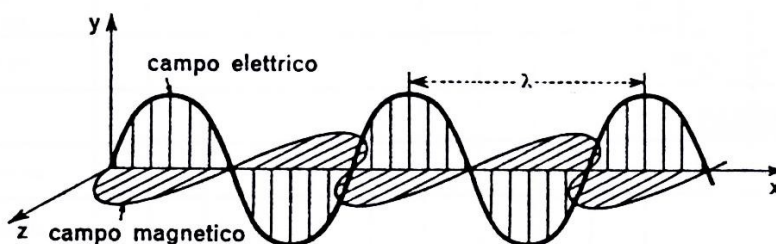
Ad un primo livello, un possibile approccio alle radiazioni elettromagnetiche fa uso di una doppia rappresentazione, si rappresenta cioè la radiazione come un' *onda elettromagnetica (natura ondulatoria)* e come una serie di pacchetti discreti di energia, i *fotoni (natura corpuscolare)*.

Le due rappresentazioni non sono in contrasto: una si adatta bene al mondo macroscopico (onda) e l'altra al mondo atomico e molecolare (fotoni).

Onda e corpuscolo non sono tuttavia realtà materiali oggettive, ma sono piuttosto due diversi aspetti di una stessa realtà, la quale nella sua ultima essenza rimane non facilmente intuibile con i nostri schemi di pensiero basati sul mondo macroscopico.

Una corretta descrizione si effettua con formalismi più complessi, basati sulla fisica quantistica (in gran parte al di là degli obiettivi di questo corso): si farà pertanto uso dei più comuni 'modelli semplificati'.

Dal punto di vista ondulatorio, le radiazioni (o onde) elettromagnetiche consistono in una forma di energia che si propaga, anche nel vuoto: sono la simultanea propagazione nello spazio delle oscillazioni di un campo elettrico e di un campo magnetico.



Ogni radiazione, o onda elettromagnetica, è caratterizzata dai parametri:

Frequenza:	ν (si legge ni)	<ul style="list-style-type: none"> è il numero di vibrazioni nell'unità di tempo si misura in s^{-1}, chiamati Hertz (Hz)
Periodo:	T	<ul style="list-style-type: none"> è il tempo occorrente per compiere una oscillazione completa (o per percorrere uno spazio pari alla lunghezza d'onda) il periodo è l'inverso della frequenza ($T=1/\nu$) e si misura in secondi
Lunghezza d'onda:	λ (si legge lambda)	<ul style="list-style-type: none"> è la distanza tra due punti adiacenti in fase (ad esempio tra due massimi consecutivi) si misura in m, μm, nm, \AA [$1\mu m=10^{-6} m$, $1nm=10^{-9} m$, $1\text{\AA}=10^{-10} m$]
Velocità di propagazione:	c	<ul style="list-style-type: none"> dipende dal mezzo in cui si propaga la radiazione nel vuoto è di circa 300 000 km/s: $C = 3,00 \times 10^8$ m/s

La frequenza è una grandezza costante per ogni radiazione e nel campo del visibile caratterizza il colore della luce.

Frequenza e lunghezza d'onda sono INVERSAMENTE PROPORZIONALI: $\lambda = \frac{c}{\nu}$

1.3 Energia di una radiazione elettromagnetica

Una radiazione elettromagnetica consiste in 'pacchetti discreti' di energia, chiamati FOTONI, la cui energia dipende dalla frequenza, secondo l'equazione:

$$E = h \cdot \nu$$

dove h indica la costante di Planck: $h = 6,63 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$

L'energia di un fotone viene a volte espressa anche in elettron-volt ($1\text{eV} = 1,6 \times 10^{-19} \text{ J}$).

Quindi: **ENERGIA E FREQUENZA SONO DIRETTAMENTE PROPORZIONALI**

Questa relazione ci indica l'energia associata a ciascun fotone per ogni fascio di frequenza ν ; per cui un fascio di luce è più o meno intenso a seconda che porti più o meno fotoni nell'unità di tempo, ma l'energia di ciascun fotone (il *quanto di energia*), è sempre la stessa per una determinata frequenza della radiazione.

ESEMPIO DI CALCOLO RELATIVO ALLE ONDE ELETTROMAGNETICHE

Quando si riscaldano ioni Na^+ sulla fiamma di un bunsen, si osserva l'emissione di luce giallo-arancio; tale luce è pressoché monocromatica ed ha lunghezza d'onda di circa 590 nm.

a) Esprimere il valore della lunghezza d'onda in m, μm , nm, \AA .

$$\lambda = 590 \text{ nm} = 5,9 \times 10^{-7} \text{ m} = 0,59 \mu\text{m} = 5900 \text{ \AA}$$

b) Ricavare la frequenza di tale radiazione.

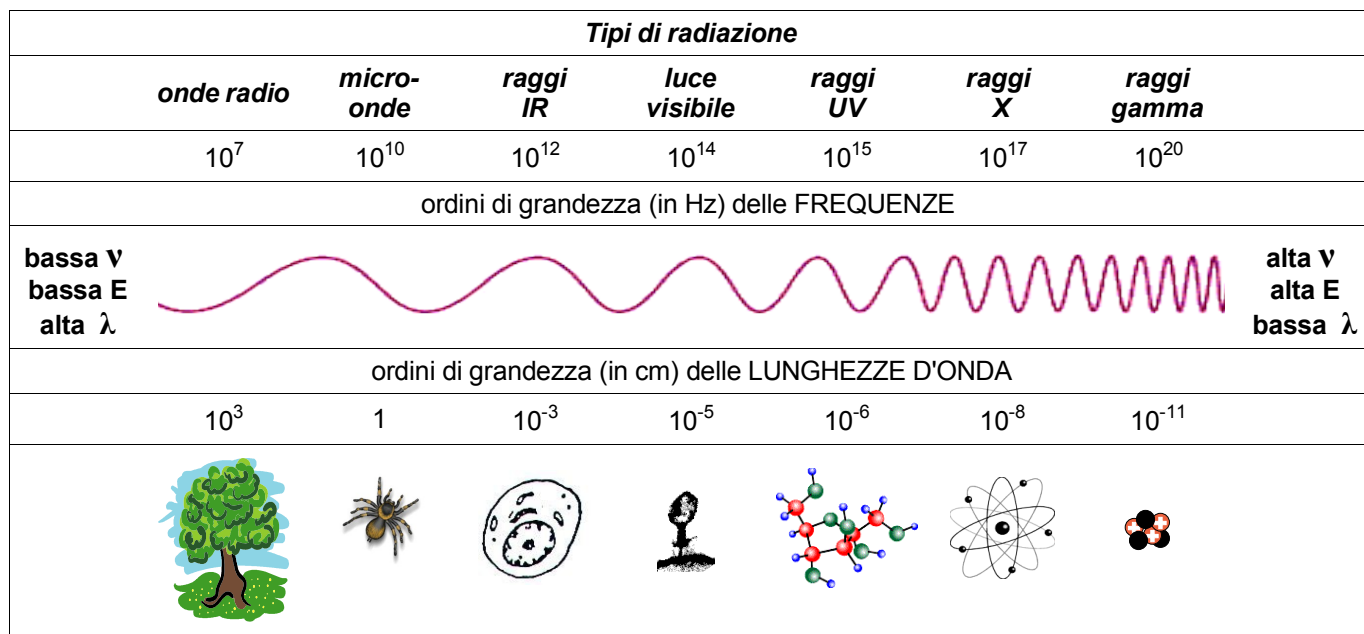
$$\lambda = \frac{c}{\nu} \quad \text{quindi} \quad \nu = \frac{c}{\lambda} = \frac{3 \cdot 10^8 \text{ m/s}}{5,9 \cdot 10^{-7} \text{ m}} = 5,1 \times 10^{14} \text{ Hz}$$

c) Ricavare l'energia della radiazione (ovvero di un fotone).

$$E = h \nu = 6,63 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s} \times 5,1 \times 10^{14} \text{ s}^{-1} = 3,34 \times 10^{-19} \text{ J}$$

1.4 I diversi tipi di radiazione elettromagnetica

Esistono quindi vari tipi di radiazione elettromagnetica, che differiscono per la loro lunghezza d'onda (e di conseguenza per la loro frequenza ed energia); sono riassunti nello spettro delle radiazioni elettromagnetiche:

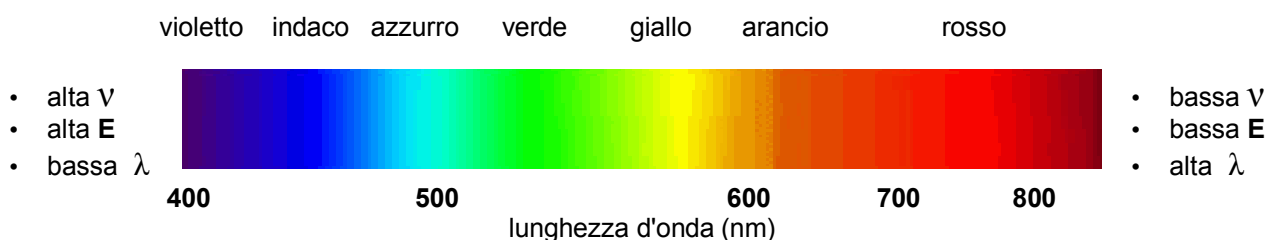


Per essere più precisi

	lunghezza d'onda(m)	frequenza (Hz)	energia(J)
onde radio	$> 1 \times 10^{-1}$	$< 3 \times 10^9$	$< 2 \times 10^{-24}$
microonde	$1 \times 10^{-3} - 1 \times 10^{-1}$	$3 \times 10^9 - 3 \times 10^{11}$	$2 \times 10^{-24} - 2 \times 10^{-22}$
infrarosso	$8 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-3}$	$3 \times 10^{11} - 4 \times 10^{14}$	$2 \times 10^{-22} - 3 \times 10^{-19}$
visibile	$4 \times 10^{-7} - 8 \times 10^{-7}$	$4 \times 10^{14} - 8 \times 10^{14}$	$3 \times 10^{-19} - 5 \times 10^{-19}$
ultravioletto	$1 \times 10^{-8} - 4 \times 10^{-7}$	$7.5 \times 10^{14} - 3 \times 10^{16}$	$5 \times 10^{-19} - 2 \times 10^{-17}$
raggi X	$1 \times 10^{-11} - 1 \times 10^{-8}$	$3 \times 10^{16} - 3 \times 10^{19}$	$2 \times 10^{-17} - 2 \times 10^{-14}$
raggi γ	$< 1 \times 10^{-11}$	$> 3 \times 10^{19}$	$> 2 \times 10^{-14}$

1.5 La luce visibile

Come appena visto, la radiazione visibile rappresenta solo una piccola parte dello spettro elettromagnetico:

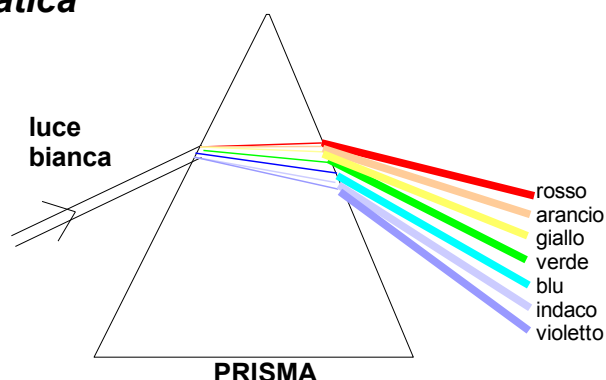


Alle diverse radiazioni visibili, che differiscono per la loro lunghezza d'onda (e di conseguenza per la loro frequenza ed energia) corrispondono i diversi colori.

1.6 Luce monocromatica e policromatica

E' noto che quando un raggio di luce bianca colpisce un prisma di vetro viene scomposto in diversi colori.

Quello che accade è analogo a quanto si osserva nell'arcobaleno o guardando obliquamente la superficie di un CD.



La scomposizione ('dispersione') in diversi colori tramite un prisma si spiega in quanto:

- la luce "bianca" è in realtà un miscuglio di radiazioni di diversa frequenza e quindi corrispondenti a tutti i colori;
- quando un raggio di luce passa da un mezzo ad un altro viene deviato (fenomeno detto "rifrazione"): l'entità della deviazione dipende dalla lunghezza d'onda del raggio incidente.

(La dispersione che osserviamo invece per riflessione sulla superficie di un CD si basa su un altro fenomeno: la diffrazione, collegata all'interferenza delle radiazioni.)

*Una radiazione di un solo colore ottenuta tramite dispersione, caratterizzata da una ben precisa lunghezza d'onda, viene detta **MONOCROMATICA**.*

Più precisamente, si parla di fascio di luce monocromatica quando esso è costituito da radiazioni di una sola frequenza e lunghezza d'onda.

Si parla invece di fascio di luce policromatica quando esso è costituito da radiazioni di frequenza e lunghezza d'onda diverse.

La luce bianca proveniente dal sole è policromatica.

Per sapere se un fascio di luce è monocromatico o policromatico è sufficiente farlo passare attraverso un prisma: se il raggio rimane unico si può dire che è costituito da radiazioni di una sola frequenza, cioè che è monocromatico; se invece è policromatico, viene scomposto in diversi raggi.

2 - APPLICAZIONI ANALITICHE

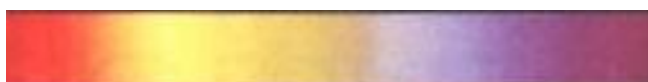
2.1 Gli spettri

Lo spettro è costituito dall'ordinata disposizione delle radiazioni secondo la loro lunghezza d'onda.

Uno spettro può essere:

- **continuo**
- **discontinuo** (a righe o a bande)

In uno **spettro continuo** sono presenti le radiazioni di tutte le frequenze; ad esempio la luce 'bianca' emessa da una comune lampadina a incandescenza ha uno spettro continuo (nel visibile):



In uno **spettro discontinuo** si osserva invece la mancanza di alcune radiazioni, come accade ad esempio nello spettro di emissione del sodio, che presenta uno spettro discontinuo (a righe):

Na



2.2 Spettri di emissione e di assorbimento

I metodi di analisi spettrochimici sono basati sull'analisi dello spettro delle sostanze, il quale può essere di emissione o di assorbimento:

- si ottiene uno spettro di emissione quando si analizza un fascio di luce emesso, in opportune condizioni, da una sostanza;
- si ottiene uno spettro di assorbimento quando si analizza un fascio di luce dopo che ha attraversato una sostanza.

Per una stessa sostanza lo spettro di emissione e di assorbimento sono pressappoco come il positivo e il negativo di una fotografia, nel senso che una radiazione presente nello spettro di emissione sarà mancante in quello di assorbimento.

2.3 Analisi qualitativa e quantitativa

L'analisi spettrofotometrica consiste in **misurazione di radiazioni elettromagnetiche per ottenere analisi chimiche**; è in grado di fornire informazioni sia **qualitative** che **quantitative**.

Infatti ogni sostanza assorbe o emette radiazioni di lunghezza d'onda ben determinata:

- l'analisi dello spettro permette allora di individuare la natura della sostanza in esame;
- la misura dell'intensità delle radiazioni emesse o assorbite permette di risalire alla quantità di sostanza analizzata.

Tutto questo è possibile in relazione al fatto che sono in gioco fenomeni di tipo quantistico.

Per capire meglio, proviamo a riepilogare.....

- il PRINCIPIO -

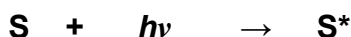
Atomi o molecole, trovandosi in campi energetici (calorifici, elettrici, elettro-magnetici,...) possono assorbire quantità definite e caratteristiche di energia e passare a stati energetici più alti.



Su questo principio si basano sia la spettroscopia di assorbimento sia quella di emissione.

- spettroscopia di ASSORBIMENTO -

Quando atomi o molecole vengono eccitati da adatte radiazioni elettromagnetiche ("hν"), passando a stati energetici maggiori, si ha il fenomeno di ASSORBIMENTO



- spettroscopia di EMISSIONE -

Dagli stati eccitati, ritornando allo stato fondamentale, gli atomi e le molecole emettono quanti di energia sotto forma di radiazioni elettromagnetiche ("hν"): fenomeno di EMISSIONE



- le applicazioni analitiche -

- La **lunghezza d'onda** delle radiazioni emesse o assorbite sono caratteristiche delle varie sostanze: ciò consente di effettuare analisi **QUALITATIVE**
- L'**intensità** delle radiazioni emesse o assorbite dipendono dalla quantità di sostanza: ciò consente di effettuare analisi **QUANTITATIVE**

Riassumendo

- ➔ Ogni tipo di radiazione elettromagnetica (compresa la luce visibile) si può rappresentare sia come **onda** (campo elettromagnetico) avente una certa frequenza sia come **particella** (fotone) con un'energia correlata alla frequenza.
- ➔ Le molecole interagiscono con una radiazione elettromagnetica assorbendo o cedendo energia, passando cioè da stati ad energia minore a stati ad energia maggiore (**assorbimento**) o da stati ad energia maggiore a stati ad energia minore (**emissione**).
- ➔ Dall'energia assorbita od emessa *sotto forma di radiazione* si possono ricavare **informazioni strutturali e/o analitiche**.

3 - L'INTERAZIONE RADIAZIONE-MATERIA

I sistemi fisici assumono valori dell'energia discontinui e discreti, il che diventa evidente e rilevante quando la loro massa corrisponde a valori atomici (elettroni o particelle nucleari) o molecolari.

Quando le masse sono macroscopiche (per esempio gli oggetti che usiamo) le limitazioni quantiche non sono rilevabili, non perché le leggi della meccanica quantistica non valgono più, ma perché l'ordine di grandezza delle masse fa sì che l'insieme discreto delle energie 'si condensi' a valori così vicini da formare di fatto un continuo.

L'ordine di grandezza e la spaziatura dei livelli energetici, permessi dalle restrizioni quantiche, dipendono dalle proprietà degli atomi e delle molecole, dalla loro dimensione e geometria. Le restrizioni assumono maggior importanza via via che diventa più piccola la regione dello spazio nella quale le molecole o gli atomi o gli elettroni devono muoversi.

Quando noi consideriamo sistemi microscopici discreti, quali elettroni e atomi in una molecola o molecole separate da una forte agitazione termica, gli stati energetici sono discreti e quantizzati.

Tuttavia se le stesse specie sono studiate in un sistema relativamente fisso, quale un reticolo cristallino, in cui vi possa essere interscambio di energia tra atomo e atomo o molecola e molecola, spesso alcune parti dell'insieme discreto di energia tendono a formare un continuo detto **banda** di energia.

3.1 Energia interna delle molecole

L'energia di una molecola poliatomica gassosa (o in soluzione diluita) è dovuta al contributo di diverse forme di energia indipendenti tra loro e molto differenti nei loro valori:

$$E_{molecola} = E_{nuclei} + E_{elettroni\ interni} + E_{elettroni\ legame} + E_{vibrazionale} + E_{rotazionale} + E_{traslazionale}$$

Quando una radiazione viene assorbita, essa va ad incrementare le forme energetiche sopra riportate.

L'**energia traslazionale** è dovuta al movimento traslazionale (spostamento) della molecola stessa. Si considera non quantizzata, cioè che può assumere qualsiasi valore, in quanto ciascuna molecola è libera di muoversi nello spazio 'enorme' (rispetto alle dimensioni molecolari), e questo comporta livelli quantici così vicini da costituire, in pratica, un continuo.

L'**energia rotazionale** è dovuta alla rotazione della molecola e può avvenire secondo le tre dimensioni dello spazio. Questa energia è quantizzata perché la molecola è costretta a muoversi in uno spazio circa uguale al suo. L'energia richiesta per modificare tale stato è quella associata alle microonde e la tecnica che studia tali transizioni si chiama **spettroscopia nelle microonde**.

L'**energia vibrazionale** è anch'essa quantizzata ed è dovuta alle vibrazioni a cui sono soggetti gli atomi nelle molecole, vibrazioni che interessano sia gli assi di legame sia gli angoli di legame. L'energia richiesta per effettuare transizioni vibrazionali è quella associata alla vibrazione infrarossa (I.R.), la tecnica che se ne occupa si chiama **spettroscopia infrarossa**. La spettroscopia I.R. trova grandi applicazioni nella individuazione dei gruppi funzionali e della struttura dei composti organici, al fine del loro riconoscimento.

L'**energia degli elettroni di legame** è anch'essa quantizzata e le radiazioni in grado di effettuare transizioni energetiche di tali elettroni cadono nella regione del visibile e dell'ultravioletto (U.V.). La tecnica che studia queste transizioni si chiama **spettroscopia U.V.-visibile**. Spesso tale tecnica è applicata in analisi quantitative.

L'**energia degli elettroni interni** è quantizzata e le radiazioni in grado di effettuare le relative transizioni cadono nel lontano ultravioletto o addirittura nei raggi X.

L'**energia delle particelle nucleari** è quantizzata e le relative transizioni richiedono radiazioni particolarmente energetiche (raggi gamma).

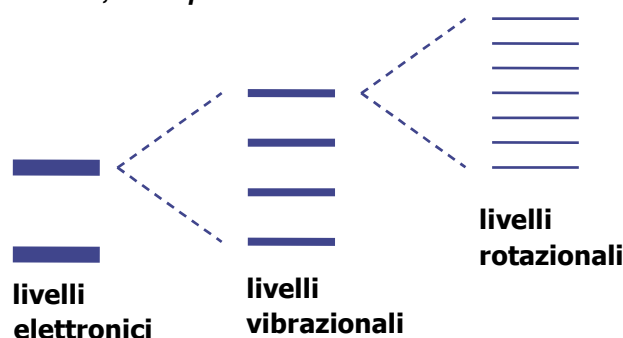
È stato però scoperto che diversi nuclei atomici (tra cui ^1H , ^{13}C) immersi in un forte campo magnetico possono variare il loro 'momento magnetico', e le energie connesse a tali transizioni sono invece basse, e corrispondono a quelle delle **onde radio**. La tecnica basata su tale principio si chiama **spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR)** ed ha notevolissime applicazioni nello studio ed identificazione di molecole organiche (nonché di imaging in campo medico).

Naturalmente esistono numerose tecniche, oltre a quelle principali sopra menzionate; in genere con l'utilizzo di diverse tecniche associate tra loro è possibile caratterizzare un campione sia dal punto di vista qualitativo sia da quello quantitativo.

3.2 Transizioni energetiche

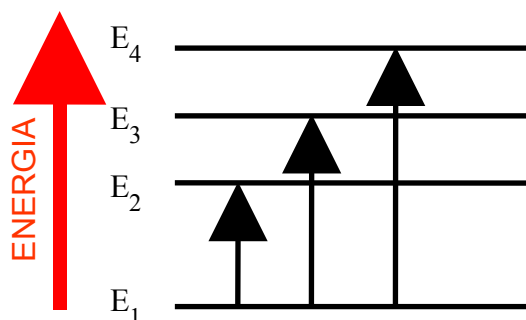
Nella figura sotto è riportato un grafico relativo a due livelli energetici di una molecola associati agli elettroni di legame. Non sono riportati i livelli degli elettroni interni perché tali energie sono molto grandi e riguardano essenzialmente la spettroscopia atomica.

L'energia di una molecola è quantizzata: esistono solo livelli energetici discreti, corrispondenti a diversi stati della molecola



Come possiamo vedere ogni livello elettronico non è semplice in quanto associato a vari livelli vibrazionali, anche questi non semplici in quanto a loro volta associati a diversi livelli rotazionali.

Le molecole tendono a porsi negli **stati fondamentali**, cioè di più bassa energia, e possono raggiungere uno degli stati superiori quando ricevono una radiazione con frequenza tale che l'energia dei fotoni sia uguale alla differenza energetica tra lo stato fondamentale e lo stato eccitato (e che inoltre esista probabilità che ciò possa avvenire: le cosiddette "regole di selezione", sulle quali non ci soffermeremo).



Per avere transizione tra due livelli energetici (ad esempio da E1 a E2) si deve fornire l'energia corrispondente alla differenza tra i due livelli:

$$\Delta E = (E_2 - E_1) = h \nu$$

4 - SPETTROSCOPIA DI ASSORBIMENTO

La spettroscopia di assorbimento permette, attraverso lo studio delle radiazioni assorbite e dell'intensità dell'assorbimento delle varie sostanze, di effettuare rapide e precise analisi sia qualitative sia quantitative.

4.1 Spettroscopia nel visibile e nell'ultravioletto

Questa spettroscopia, come già detto, si occupa delle transizioni fra diversi stati elettronici della molecola.

Queste transizioni sono generalmente accompagnate a transizioni sia vibrazionali che rotazionali, per cui gli assorbimenti sono costituiti da moltissime righe molto vicine tra loro, tanto da apparire un continuo, cioè una banda. La 'struttura fine' dovuta alle transizioni rotazionali e vibrazionali non è generalmente rilevabile, se non nel caso di spettri elettronici di gas rarefatti eseguiti con spettrografi ad alta risoluzione.

Le sostanze organiche contengono nella molecola legami prevalentemente di tipo covalente, formati cioè da coppie di elettroni in comune tra i vari atomi.

Esistono elettroni di legame ...

- di tipo **sigma** (σ), costituiti da una nube elettronica addensata lungo l'asse di unione dei nuclei degli atomi interessati al legame (i legami semplici sono di tipo σ);
- di tipo **pi-greco** (π), costituiti da coppie di elettroni la cui maggior densità elettronica è situata al di fuori dell'asse di unione dei nuclei (come accade nei legami doppi o tripli).

Gli elettroni π sono 'meno legati' e risultano perciò più facilmente eccitabili rispetto ai σ ; per esempio per eccitare gli elettroni π dell'etilene occorre una quantità di energia corrispondente ad una radiazione di 180nm (vicino U.V.) contro i 120nm (lontano U.V.) della radiazione necessaria per eccitare gli elettroni σ .

Se poi in un molecola sono presenti doppi legami coniugati, si verifica una delocalizzazione elettronica con conseguente diminuzione energetica tra un livello e l'altro: per effettuare transizioni occorreranno quindi radiazioni di minor energia, quali ad esempio quelle nel campo visibile.

La delocalizzazione degli elettroni di legame π coinvolge spesso anche gli elettroni n di non-legame (doppietti liberi).

Oltre che nel caso di sostanze organiche con sistemi di doppi legami coniugati, si osservano eccitazioni nell'ambito del visibile in diversi composti e complessi di metalli di transizione: si pensi ad esempio al solfato di rame(II) pentaidrato ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

Un corpo, investito da luce bianca, ci appare colorato perché assorbe alcune radiazioni e trasmette o riflette le altre, le quali ci appariranno con un colore che è la risultante delle radiazioni non assorbite. (In realtà la visione dei colori è un fenomeno assai complesso, sia a livello chimico-fisico sia a livello neurologico.)

Come già detto, gli spettri nel visibile sono dovuti agli elettroni di legame π più o meno ampiamente delocalizzati; questa delocalizzazione può essere estesa a tutta la molecola oppure può risultare limitata a raggruppamenti particolari, separati fra di loro nella molecola da un insieme di legami completamente saturi che fungono da isolante e che quindi impediscono la delocalizzazione.

Nel primo caso lo spettro di assorbimento è unico e difficilmente interpretabile secondo regole semplici; nel secondo caso, invece, può essere considerato come la somma di assorbimenti dovuti ai vari gruppi insaturi che vengono chiamati "cromofori".

Si intende quindi per 'cromoforo' un raggruppamento chimico insaturo responsabile di un assorbimento situato nella regione delle lunghezze d'onda comprese tra 180 e 1000 nm.

I cromofori più semplici sono i gruppi etilenici, acetilenici, carbonilici, carbossilici, azoici, nitrici, nitrosi, ...

La posizione e l'intensità dei massimi di assorbimento di questi cromofori può variare sia con la natura della parte satura sia con quella del solvente. Si possono di conseguenza avere degli spostamenti dello spettro verso lunghezze d'onda maggiori ('effetto batocromo') oppure minori ('effetto ipsocromo'); analogamente si possono avere effetti sull'intensità degli assorbimenti, sia nel senso di una diminuzione ('effetto ipocromico'), sia nel senso di un aumento ('effetto ipercromico').

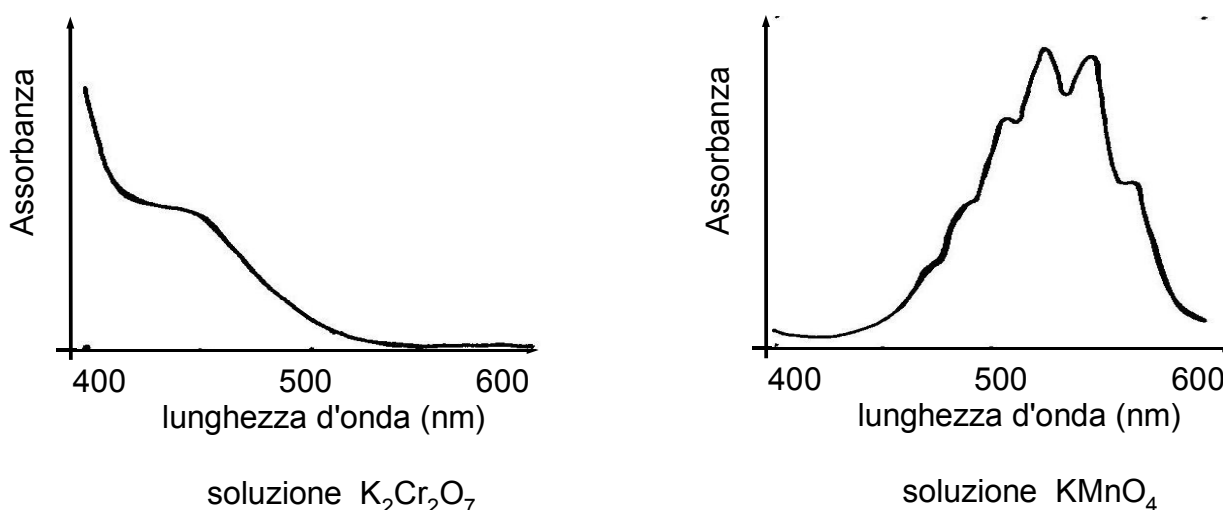
Alcuni sostituenti, che di per se non assorbono in modo rilevante, manifestano un notevole effetto ipercromico qualora si trovino vicino ad un gruppo cromoforo; questi sostituenti vengono indicati come gruppi **auxocromi**; tipici esempi sono -SR, -NR₂, -Br, -OR,.... Spesso si nota anche un effetto batocromo. E' probabile che si venga a determinare in tali composti una interazione di coniugazione fra gli elettroni di non-legame ('n', doppietti liberi) dell'auxocromo e quelli π del cromoforo contiguo.

4.2 Analisi qualitativa

Per effettuare analisi qualitative si fa uso di raggi policromatici a spettro continuo, poi separati tramite monocromatori nelle varie componenti (radiazioni monocromatiche). In pratica le singole radiazioni monocromatiche di tale raggio si fanno passare, una alla volta, attraverso la sostanza in esame, la quale assorbirà in modo diverso, cioè con diversa intensità, le diverse radiazioni.

Riportando perciò i valori registrati in un grafico lunghezza d'onda-assorbimento, si ottiene lo **spettro di assorbimento** della sostanza esaminata.

Ad esempio, nelle figure sottostanti sono riportati gli spettri di assorbimento nel visibile di soluzioni di due diverse sostanze:



(Verrà data in seguito la definizione dell'assorbanza, grandezza collegata alla diminuzione di intensità luminosa, dovuta per l'appunto a fenomeni di assorbimento.)

Per il fatto che **ogni sostanza ha il suo spettro di assorbimento**, l'esame di tali spettri permette di identificare una sostanza (per confronto diretto con campioni noti o tramite banche dati di spettri) o di controllarne il grado di purezza.

In realtà le tecniche che meglio si prestano alle analisi qualitative (soprattutto organiche) sono la spettroscopia infrarossa, in cui ogni sostanza presenta numerose bande caratteristiche ben separate, e soprattutto la risonanza magnetica nucleare, che fornisce serie di picchi direttamente collegabili alla struttura della molecola.

4.3 Analisi quantitativa

Per eseguire analisi quantitative si fa uso di raggi monocromatici, cioè costituiti da radiazioni di una sola frequenza. In pratica, date le difficoltà di avere raggi dotati di questa proprietà, si impiegano fasci di radiazioni comprendenti una banda molto ristretta dello spettro, ossia fasci *quasi* monocromatici.

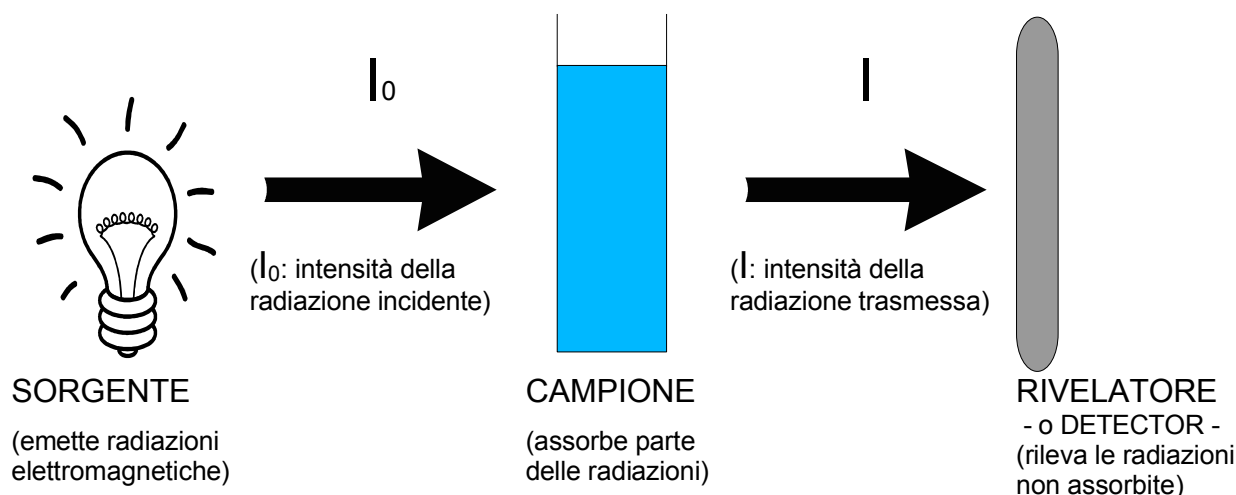
Le determinazioni quantitative sono basate sul fatto che, quando una radiazione attraversa una soluzione, viene assorbita più o meno intensamente a seconda della concentrazione; in altre parole **l'assorbimento dipende dalla concentrazione**.

Disponendo quindi di strumenti in grado di misurare l'assorbimento si risale facilmente alla concentrazione della soluzione.

In particolare nelle spettroscopia di assorbimento si utilizzano due grandezze (misurate strumentalmente):
TRASMITTANZA e ASSORBANZA.

Appositi dispositivi (i rivelatori) sono in grado di misurare l'intensità di flusso luminoso; in particolare vengono misurate:

- I_0 : intensità del flusso luminoso all'ingresso della cella con il campione
- I : intensità del flusso luminoso all'uscita della cella con il campione



Dalla misura dei flussi I_0 e I gli strumenti forniscono direttamente i valori di trasmittanza e assorbanza, che rappresentano le grandezze caratteristiche della spettroscopia di assorbimento.

Il rapporto tra l'intensità del raggio uscente e quella del raggio raggio entrante si chiama **TRASMITTANZA**:

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

Questa grandezza esprime quale frazione della luce incidente ha attraversato il campione senza essere assorbita. T può assumere valori compresi tra 0 e 1.

Comunemente si usa però la **TRASMITTANZA PERCENTUALE**, che assumerà quindi valori compresi tra 0 e 100:

$$T\% = T \times 100$$

$T\%=100$ significa che il raggio non ha subito alcun indebolimento, cioè non vi è stato alcun assorbimento da parte della sostanza; $T\%=0$ significa che il raggio è stato completamente assorbito.

Altra grandezza di fondamentale importanza è l' **ASSORBANZA**, detta anche 'densità ottica' o 'estinzione':

$$A = -\log T$$

L'assorbanza è molto utilizzata nelle analisi quantitative, poiché risulta direttamente proporzionale alla concentrazione.

Trasmittanza, trasmittanza percentuale e assorbanza sono adimensionali (numeri, senza unità di misura).

4.4 Legge dell'assorbimento (legge di Lambert-Beer)

Prendendo in considerazione una cella, contenente una sostanza in soluzione, attraversata da un raggio di luce monocromatica, si dimostra che

$$A = \varepsilon \times b \times C$$

dove:

A = assorbanza (*non ha unità di misura*)

ε = coefficiente di assorbimento molare, caratteristico della sostanza ($\text{mol}^{-1} \text{L cm}^{-1}$)

b = cammino ottico (cm), cioè lo spessore della soluzione

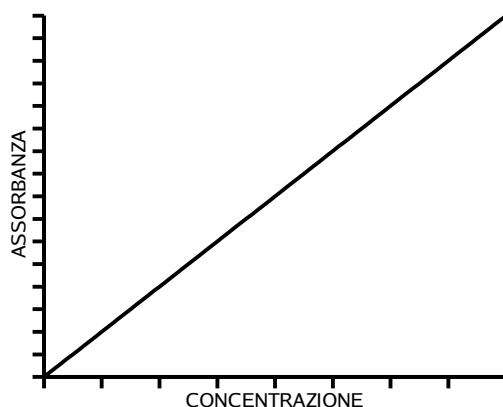
C = concentrazione molare della sostanza (mol/L)

La stessa legge in cui però C si esprime in g/L comporrà, al posto di ε , un diverso valore k (in $\text{g}^{-1} \text{L cm}^{-1}$) denominato 'assorbività specifica'.

La legge di Lambert-Beer descrive i fenomeni di assorbimento di radiazioni elettromagnetiche ed è valida per radiazioni monocromatiche e soluzioni diluite.

LA PROPORZIONALITÀ DIRETTA TRA ASSORBANZA E CONCENTRAZIONE PERMETTE DI EFFETTUARE ANALISI QUANTITATIVE

L'equazione $A = \varepsilon \times b \times C$ rappresenta una retta passante per l'origine degli assi e in cui $\varepsilon \times b$ è il coefficiente angolare.



Esempio di calcolo:

a) Determinare la concentrazione di una proteina sapendo che:

$$A_{280\text{nm}} = 0,80$$

$$b = 1,0 \text{ cm}$$

$$\varepsilon = 12500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

$$A = \varepsilon \times b \times C$$

$$0,80 = 12500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1} \times 1,0 \text{ cm} \times C$$

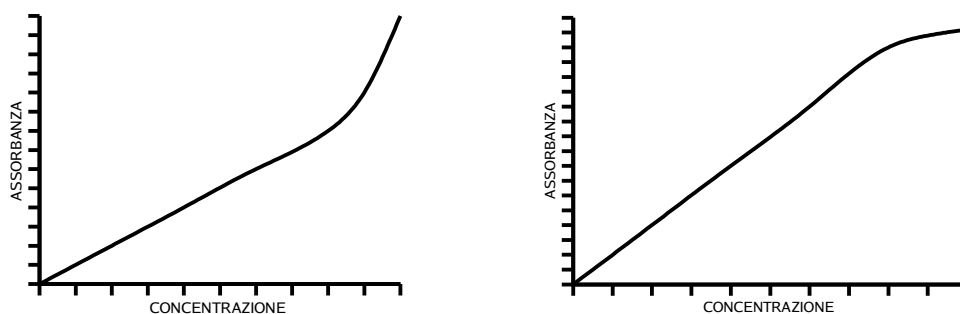
$$c \text{ (mol/L)} = 0,80 / (12500 \text{ M}^{-1}) = 6,4 \times 10^{-5} \text{ M}$$

b) Se la massa relativa della proteina è 11000, calcolare la concentrazione in g/L.

$$C_{\text{proteina}} \text{ (g/L)} = 6,4 \times 10^{-5} \text{ mol/L} \times 1,1 \times 10^4 \text{ g/mol} = 0,70 \text{ g/L}$$

4.5 Applicabilità della legge di Lambert-Beer e deviazioni

I grafici seguenti evidenziano i limiti di validità della legge di Lambert-Beer in funzione della concentrazione:



Al crescere della concentrazione del soluto si verificano deviazioni notevoli con conseguente scarsa attendibilità del dato analitico.

Circa le cause che provocano queste deviazioni, l'ipotesi più corretta è quella che all'aumentare della concentrazione aumenta il numero di particelle in soluzione ed aumenta anche il numero di urti fra queste; le forze interioniche e/o intermolecolari aumentano e possono formarsi molecole o aggregati di particelle più complesse, diverse per struttura da quelle in esame, per cui si potrà avere uno spostamento del massimo di assorbimento.

Ad esempio, se una sostanza colorata si trova in soluzione allo stato di parziale dissociazione, e ponendo che tale dissociazione possa divenire completa per forti diluizioni, la legge di Lambert-Beer risulterà valida solo in queste ultime condizioni, e cioè per bassi valori di concentrazione.

Per questo motivo, le condizioni di lavoro usuali prevedono che le soluzioni siano sempre diluite al massimo, compatibilmente con la sensibilità dello strumento, per avere di valori accettabili di assorbanza.

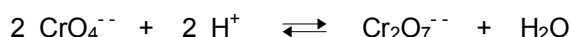
E' da ricordare anche che all'aumentare della concentrazione si ha un aumento dell'indice di rifrazione e quindi una maggior dispersione del raggio nell'attraversare la soluzione stessa.

Un'altra condizione di validità della legge di Lambert-Beer è che le radiazioni luminose che devono attraversare la soluzione in esame siano monocromatiche.

In realtà le radiazioni impiegate non sono mai rigorosamente monocromatiche a causa, soprattutto, di difficoltà strumentali. E' comunque sufficiente, per ottenere risultati corretti, che la banda continua di radiazioni, centrata attorno ad un valore nominale, sia la più ristretta possibile.

In certi casi si osservano, inoltre, deviazioni dovute all'instaurarsi di un equilibrio chimico sensibile al pH.

Per il dosaggio dello ione bicromato, ad esempio, si deve tener conto del seguente processo reversibile che si stabilisce in soluzione acquosa:



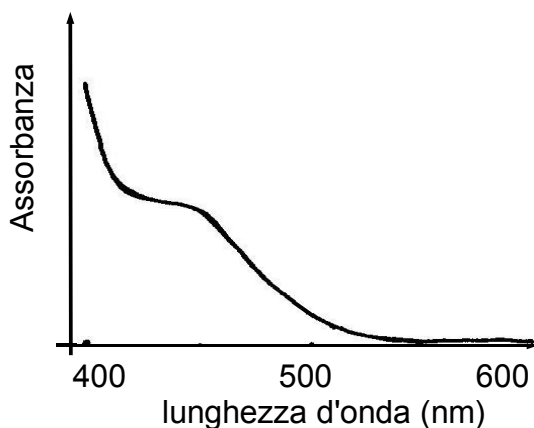
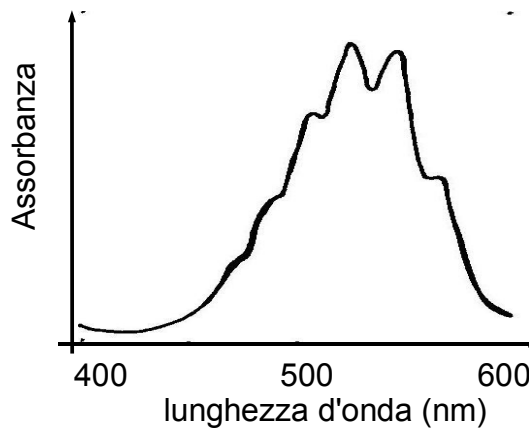
La concentrazione degli ioni cromato e bicromato dipendono ovviamente dal pH e, al variare di questo, una delle due forme deve convertirsi nell'altra perché rimanga invariato il valore della costante di equilibrio.

Per chiarire meglio il concetto, consideriamo un esempio pratico: supponiamo di aver misurato l'assorbanza di una soluzione di bicromato a pH=1 e il valore di A sia 0,600.

Diluiamo ora la soluzione con acqua nel rapporto 1:1. Se la legge di Lambert-Beer fosse rispettata dovremmo misurare un'assorbanza pari alla metà di quella precedente (0,300); troviamo, invece, un valore più basso. Ciò è dovuto al fatto che, diluendo la soluzione, è diminuita la concentrazione degli ioni idrogeno (aumento di pH) e, per ristabilire l'equilibrio (secondo il principio di Le Chatelier), una certa quantità di bicromato si è trasformata in cromato.

4.6 Scelta della lunghezza d'onda

Nell'analisi quantitativa spettrofotometrica è fondamentale conoscere come varia l'assorbanza in funzione della lunghezza d'onda. Ciò viene espresso molto chiaramente con il diagramma in cui in ascissa si riportano i valori delle lunghezze d'onda e in ordinata i corrispondenti valori dell'assorbanza. Si ottengono così delle curve ("spettri") che variano da sostanza a sostanza e presentano dei massimi caratteristici in corrispondenza di alcune lunghezze d'onda, come già visto in precedenza relativamente all'analisi qualitativa..

soluzione $K_2Cr_2O_7$ soluzione $KMnO_4$

Nell'analisi quantitativa lo spettro è essenziale per la scelta della lunghezza d'onda più appropriata da utilizzare.

In genere verrà scelta una lunghezza d'onda in modo che:

- *l'assorbimento sia massimo* (per motivi di sensibilità: se l'assorbimento è alto è possibile rilevare quantità piccolissime di sostanza)
- *sia al centro di un picco 'largo'* (per motivi di precisione, in modo che piccole variazioni di lunghezza d'onda comportino errori minimi sulla misura dell'assorbanza)

Nel caso di miscele di sostanze, la scelta, per la determinazione di una sostanza, cadrà su una lunghezza d'onda dove le altre sostanze assorbono il meno possibile.

Nella colorimetria, che differisce dalla spettrofotometria per la maggior 'banda passante' (cioè si opera con luce assai poco monocromatica!), si opera usando un filtro il cui colore è complementare a quello della sostanza da analizzare.

Naturalmente i risultati possono essere assai meno accurati rispetto alla spettrofotometria con luce (quasi) monocromatica.



5 - ANALISI QUANTITATIVE

Vedremo ora come operare per eseguire analisi quantitative con la spettrofotometria di assorbimento nel campo visibile e ultravioletto

5.1 Preparazione del campione

L'analisi può essere condotta direttamente sulla soluzione della sostanza solo se questa presenta il massimo di assorbimento nell'intervallo delle lunghezze d'onda dello strumento (in colorimetria se è colorata), altrimenti si ricorre ad opportune reazioni chimiche tra la sostanza in esame e opportuni reagenti che portano alla formazione di composti con massimi di assorbimento nell'intervallo di lunghezze d'onda richiesto, tenendo conto dei seguenti requisiti:

1. L'assorbimento ottenuto in seguito all'uso di un reattivo deve essere caratteristico della sostanza oggetto di esame, pertanto dovranno essere assenti altre sostanze in grado di formare, con quel reattivo, composti con assorbimenti analoghi.
2. Il reattivo 'colorante' deve reagire con tutta la sostanza da determinare formando con essa un composto ben definito, in altri termini deve essere nota la stechiometria della reazione.
3. Il reattivo non deve reagire con il solvente o con altre sostanze presenti in soluzione oltre la sostanza da esaminare.
4. Il composto che si forma deve essere stabile, almeno per il tempo necessario per la misura.
5. L'intensità di assorbimento del composto che si forma deve essere la più alta possibile, a beneficio della sensibilità del metodo.
6. Il composto che si forma, e quindi l'assorbimento collegato, non deve risentire di piccole variazioni di pH e di temperatura.

5.2 Azzeramento e taratura dello strumento

L'azzeramento e taratura normale di uno strumento si basa sulle definizioni di trasmittanza e assorbanza.

- Per una 'soluzione con concentrazione infinita' si deve avere $T=0$ e Assorbanza infinita.
- Per una soluzione con concentrazione nulla si deve avere $T=1$ e $A=0$.

Interponendo sul cammino dei raggi luminosi uno schermo perfettamente opaco (che rappresenta una 'soluzione a concentrazione infinita') lo strumento deve segnare 0 sulla scala delle trasmittanze; per la maggior parte degli strumenti, questa operazione è automatica e quindi non è necessario eseguirla (in caso contrario esisterà un dispositivo atto ad imporre la condizione $T=0$).

La taratura a concentrazione nulla ($A=0$) viene invece effettuata con il cosiddetto 'azzeramento contro il bianco'.

5.3 Significato dell'azzeramento contro il bianco

Quando il raggio di luce monocromatica investe la celletta contenente il campione, avvengono diversi fenomeni: riflessione, rifrazione, assorbimento da parte delle pareti della celletta, del solvente e di tutti i reattivi aggiunti per formare il composto colorato, e ovviamente della sostanza in esame.

L'assorbanza effettivamente misurata risentirebbe quindi di numerosi fattori non legati alla concentrazione della sostanza in esame, portando quindi ad errori nella determinazione della concentrazione di quest'ultima.

Per aggirare questo problema, prima di misurare l'assorbanza del campione in esame, si azzerava l'assorbanza introducendo il "bianco", cioè una celletta identica a quella del campione e che contiene una soluzione il più possibile simile a quella del campione ma in cui è assente la sola sostanza in esame.

Non effettuando l'azzeramento contro il bianco si perderà la proporzionalità diretta tra A e concentrazione, cioè non si otterrà una retta passante per l'origine nel grafico $C-A$.

5.4 Determinazione della concentrazione della sostanza in esame

La maggior parte degli strumenti sono dotati (come rivelatori) di cellule fotoelettriche che producono un segnale elettrico dipendente dall'intensità luminosa. Il segnale elettrico viene poi trattato in via elettronica, fino ad ottenere una lettura analogica o digitale di A e/o T.

Una volta ricavata l'assorbanza (con il solito azzeramento contro il bianco) della soluzione in esame, per risalire alla concentrazione si possono seguire diversi metodi, sempre ricordando che (per concentrazioni 'non troppo alte') assorbanza e concentrazione sono direttamente proporzionali:

$$A = \varepsilon \times b \times C$$

Si possono seguire essenzialmente due strade: il metodo diretto ed il metodo della curva (o retta) di lavoro.

Metodo diretto

Dalla relazione $A = \varepsilon \times b \times C$, si ricava: $C = A / (\varepsilon \times b)$

Essendo **b** noto (dimensioni della cella) si deve disporre del valore di ε relativo alla sostanza in esame.

Se ε è noto (da precedenti esperienze o perché tabulato in letteratura) non ci sono problemi, altrimenti è possibile ottenerlo misurando l'assorbanza (A_0) di una soluzione a concentrazione nota (C_0):

$$\varepsilon = A_0 / (b \times C_0)$$

A questo punto è quindi possibile effettuare tutte le analisi che si desiderano su campioni a concentrazione incognita calcolando poi direttamente le concentrazioni.

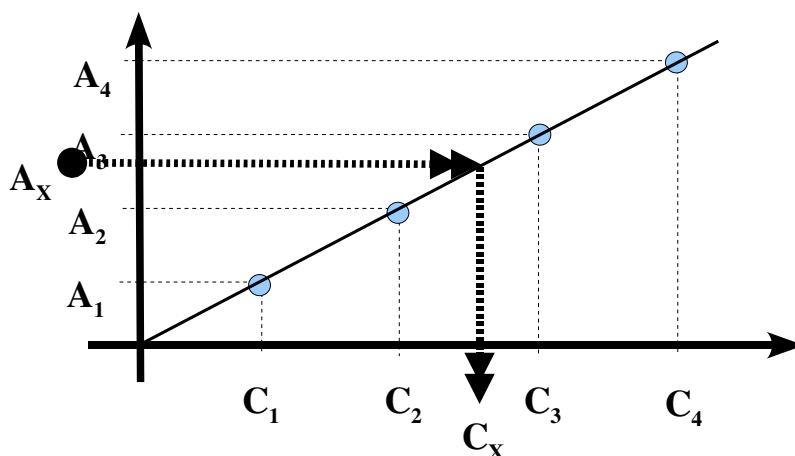
Questo metodo prevede però di essere certi che si sta lavorando in situazione di proporzionalità diretta (retta passante per l'origine) tra Assorbanza e Concentrazione.

Metodo della curva (o retta) di lavoro

Spesso però non si può essere certi delle condizioni di proporzionalità diretta (linearità) tra A e C, ed è quindi preferibile utilizzare un metodo più sicuro, anche grafico.

Si preparano quindi un certo numero di soluzioni contenenti la sostanza in esame a concentrazioni diverse e note e si misura la loro assorbanza.

Si avranno quindi una serie di valori di concentrazione ($C_1, C_2, C_3, C_4, \dots$) associati ai rispettivi valori di assorbanza ($A_1, A_2, A_3, A_4, \dots$); riportando questi valori in un grafico cartesiano si ottiene la *curva (o retta) di lavoro*:



Se la sostanza in esame segue la legge di Lambert-Beer, la curva che si ottiene è una retta. Ottenuta la retta di lavoro, essa viene utilizzata per soluzioni di qualsiasi concentrazione, purché comprese nell'intervallo in cui la curva è stata tracciata.

Per calcolare Cx si misura Ax e graficamente si risolve il problema.

Naturalmente, la costruzione del grafico con la retta 'più probabile' e l'ottenimento del valore Cx può essere comodamente effettuata con l'utilizzo di un foglio di calcolo.

Se il valore di Ax risulta superiore al massimo valore di A dell'intervallo della curva, sarà necessario diluire la soluzione (tenendone poi conto all'atto dei calcoli per il risultato finale!) oppure preparare soluzioni a concentrazione nota più elevata per ampliare l'intervallo (prolungando così la retta).

5.5 Un esempio applicativo: determinazione dell'azoto nitroso

PREMESSA

Le acque possono contenere nitriti (NO_2^-): la loro presenza può essere dovuta ad una incompleta ossidazione dell'azoto proveniente dalla decomposizione di sostanze organiche (ed è quindi indice di possibili forme di inquinamento).

A causa di ciò e della loro tossicità, le acque destinate all'alimentazione umana è bene contengano nitriti in quantità inferiore a 0,1 mg/L di NO_2^- (corrispondente a circa 0,03 mg/L di N-nitroso), mentre per l'uso igienico i nitriti possono arrivare a 0,5 mg/L di NO_2^- (corrispondente a circa 0,15 mg/L di N-nitroso); le acque di scarico non devono invece contenere nitriti in concentrazione superiore a 0,6 mg/L di NO_2^- (corrispondente a circa 0,2 mg/L di N-nitroso)

Il metodo descritto di seguito è la determinazione spettrofotometrica con reattivo di Griess.

PRINCIPIO DEL METODO

Il reattivo di Griess (contenente α -naftilammina, acido solfanilico e acido acetico) forma con i nitriti un colorante azoico, intensamente colorato in rosso, con un massimo di assorbimento a 540 nm.
(Le reazioni chimiche coinvolte sono riportate più avanti.)

PROCEDURA ANALITICA

- *Ottenimento della retta di lavoro*

Si prepara una soluzione standard primaria di NaNO_2 avente concentrazione 100 mg/L di N-nitroso.

Al momento dell'uso, a partire dalla soluzione standard primaria, si prepara una soluzione standard secondaria avente concentrazione 2,0 mg/L di N-nitroso.

Dalla soluzione standard secondaria si effettuano 4 prelievi ai quali verrà aggiunto reattivo di Griess e portati a volume in modo da avere soluzioni che corrispondono a concentrazioni di:

0,10	0,20	0,30	0,40	mg/L di N-nitroso
------	------	------	------	-------------------

Si misura quindi l'assorbanza (contro il bianco) a 540 nm costruendo così la retta di lavoro.

- *Analisi del campione in esame*

Si preleva una certa quantità dell' "acqua" da esaminare e si procede alla preparazione della soluzione colorata come per la retta di lavoro e alla successiva misura di assorbanza a 540 nm.

Tramite la retta di lavoro si ricava la concentrazione di N-nitroso corrispondente alla soluzione sottoposta a misura.

Tenendo conto poi della quantità di campione prelevata, si determina la concentrazione di N-nitroso dell'acqua in esame.

Nella scheda che segue, riportiamo un possibile esempio pratico (come tratto da un “quaderno di laboratorio”) relativo alla procedura descritta.

DETERMINAZIONE N-NITROSO IN UN ACQUA

Materiali e strumenti

- Spettrofotometro (UV-visibile doppio raggio, con cuvette da 1 cm)
- Reattivo di Griess (0,5g di α -naftilammina e 0,8g di acido solfanilico in 200mL di acido acetico 5M)
- nitrito di sodio
- matracci tarati (1 da 250mL, 1 da 500mL, 6 da 50mL)
- bilancia analitica, buretta e/o pipette tarate, acqua distillata

Preparazione 250 mL di soluzione standard primaria con NaNO_2 avente $C_1=100$ mg/L di N-nitroso

$$\begin{aligned} \text{Mr(N)} &= 14,01 & \text{Mr(NaNO}_2) &= 69,00 \\ \text{massa (N)} &= 0,250 \text{ L} \times 100 \text{ mg/L} = 25,0 \text{ mg} = 0,0250 \text{ g} \\ n \text{ (N)} &= \frac{0,0250 \text{ g}}{14,01 \text{ g/mol}} = 0,00178 \text{ mol} = n \text{ (NaNO}_2) \\ \text{massa (NaNO}_2) &= 0,001784 \text{ mol} \times 69,00 \text{ g/mol} = 0,1231 \text{ g} \end{aligned}$$

Solubilizziamo quindi 0,1231 g di NaNO_2 e portiamo a volume in matraccio da 250 mL.

Preparazione 500 mL di soluzione standard secondaria avente $C_2=2,0$ mg/L di N-nitroso

La soluzione è preparata per diluizione della soluzione primaria: $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$

$$100 \text{ mg/L} \times V_1 = 2,0 \text{ mg/L} \times 500 \text{ mL} \quad V_1 = \frac{2,0 \text{ mg/L} \cdot 500 \text{ mL}}{100 \text{ mg/L}} = 10,0 \text{ mL}$$

Preleviamo quindi 10,0 mL di sol. standard primaria e diluiamo in matraccio da 500 mL.

Preparazione soluzioni per la retta di lavoro (0,10-0,20-0,30-0,40 mg/L di N-nitroso in matracci da 50mL)

La prima sol. è preparata per diluizione della soluzione secondaria: $C_2 \times V_2 = C \times V$

$$2,0 \text{ mg/L} \times V_2 = 0,10 \text{ mg/L} \times 50 \text{ mL} \quad V_2 = \frac{0,10 \text{ mg/L} \cdot 50 \text{ mL}}{2,0 \text{ mg/L}} = 2,5 \text{ mL}$$

Ripetendo lo stesso calcolo per gli altri 3 casi troviamo V_2 : 5,0 mL – 7,5 mL – 10 mL

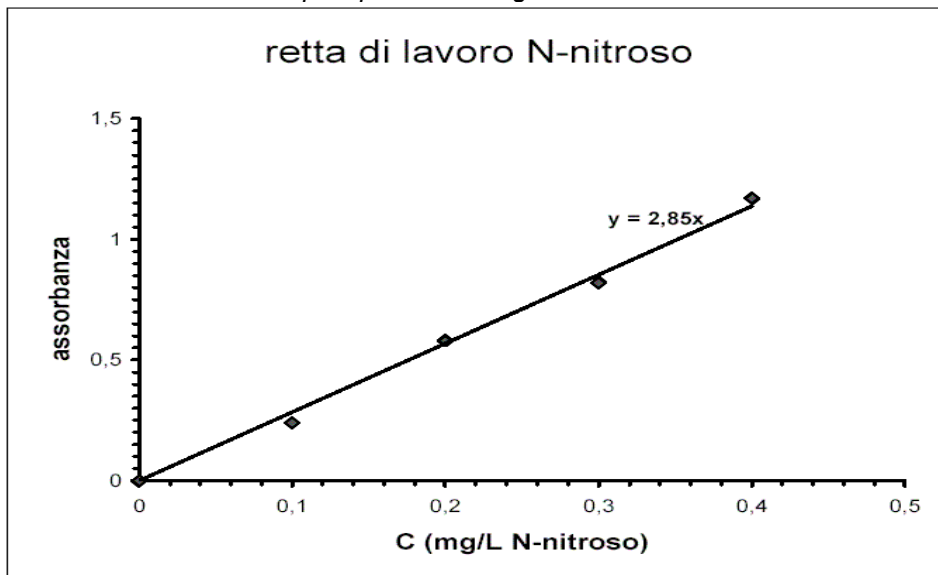
Effettuiamo quindi 4 prelievi (2,5-5,0-7,5-10,0 mL) e li poniamo in 4 matracci da 50 mL; aggiungiamo il reattivo di Griess (3mL) e portiamo a volume. Prepariamo anche il “bianco” in matraccio da 50 mL usando acqua distillata e 3 mL di reattivo di Griess.

Ottenimento della retta di lavoro

Viene misurata l'assorbanza a 540nm dei quattro campioni a concentrazione nota preparati, operando per confronto con il “bianco”.

C (mg/L N-nitroso)	A
0,10	0,24
0,20	0,58
0,30	0,82
0,4	1,17

Le misure tabulate sono poi riportate in un grafico Assorbanza-Concentrazione:



Avendo costruito il grafico con un foglio elettronico, la retta più probabile è stata individuata con le funzioni di "regressione" o "linea di tendenza" incluse nel software (a fianco della retta è anche riportata la relativa equazione).

Misura sul campione in esame

Sono stati prelevati 20,0mL dell'acqua di scarico da analizzare, addizionati di 3mL di reattivo di Griess, portati a volume in matraccio da 50mL. Si è quindi misurata l'assorbanza a 540 nm della soluzione così ottenuta: $A=0,47$.

Utilizzando l'equazione della retta di lavoro:

$$0,47 = 2,85 \cdot C_M \quad \text{e quindi} \quad C_M = \frac{0,47}{2,85} = 0,165 \quad (\text{mg/L N-nitroso nella soluzione di misura})$$

Essendo stata preparata la soluzione di misura per diluizione dell'acqua da esaminare:

$$C_M \cdot V_M = C_X \cdot V_X \quad 0,165 \text{ mg/L} \cdot 50 \text{ mL} = C_X \cdot 20 \text{ mL} \quad C_X = \frac{0,165 \text{ mg/L} \cdot 50 \text{ mL}}{20 \text{ mL}} = 0,412 \text{ mg/L}$$

Possiamo quindi concludere che l'acqua esaminata conteneva 0,41 mg/L di N-nitroso

Nota:

I fogli elettronici contengono la funzione "TENDENZA" che permette di ottenere direttamente il valore C_M sulla base dei valori di A misurata (ovviamente con riferimento alle assorbanze misurate per le soluzioni a concentrazione nota).

Di fianco è riportata la schermata che esemplifica l'uso della funzione TENDENZA in OpenOffice.org Calc (il funzionamento è analogo in MS-Excel).

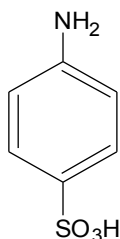
Tutte queste operazioni possono anche essere effettuate per via grafica (cioè senza usare il computer).

	A	B	C
1			
2		C (mg/L N-nitroso)	A
3		0	0
4		0,1	0,24
5		0,2	0,58
6		0,3	0,82
7		0,4	1,17
8		0,16	0,47
9			

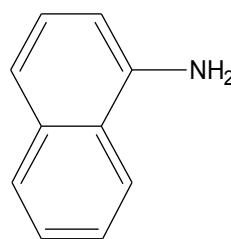
Formula nella cella B8: $\{=TENDENZA(B3:B7;C3:C7;C8;0)\}$

- reazioni chimiche coinvolte nella determinazione dell' azoto nitroso -

Il reattivo di Griess (soluzione unica) è composto da:



acido solfanilico
(ac. 4-amminobenzensolfonico)

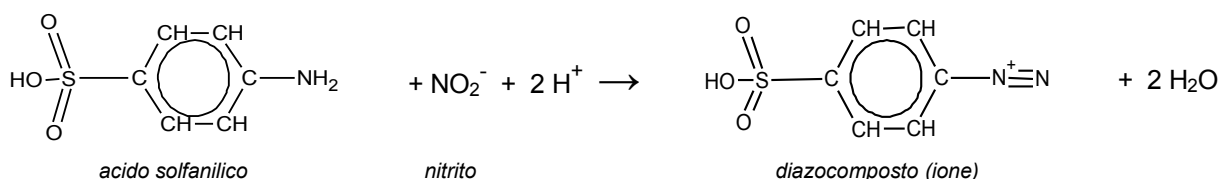


α -naftilammina
(1-naftilammina)

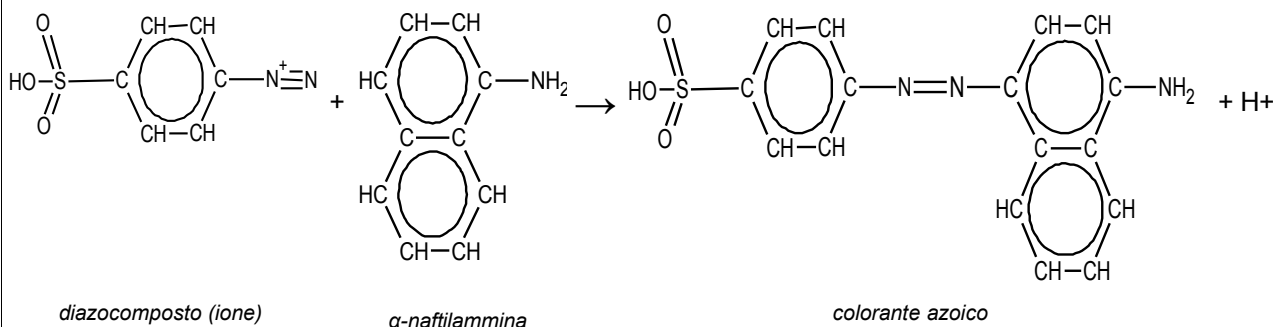
CH₃COOH

acido
acetico

L'acido solfanilico viene diazotato dai nitriti presenti nelle acque formando un diazocomposto ...

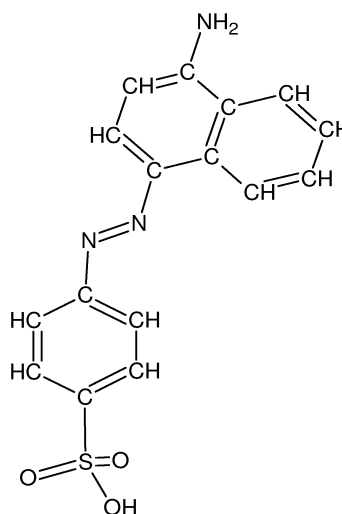


il diazocomposto così ottenuto, copulandosi con l' α -naftilammina, produce un colorante azoico rosso



Rappresentando il colorante azoico con la notazione 'non aromatica' risulta evidente il sistema di **doppi legami coniugati**, che giustifica l'assorbimento nella regione del visibile.

Infatti la presenza di doppi legami coniugati comporta una **delocalizzazione elettronica** con conseguente diminuzione energetica tra un livello e l'altro: per effettuare transizioni occorreranno quindi radiazioni di minor energia, quali, per l'appunto, quelle nel campo visibile.



6 - STRUMENTAZIONE

6.1 Generalità sugli spettrofotometri

Gli strumenti usati che sfruttano i principi esposti sono gli **spettrofotometri** e i **colorimetri**.

La differenza essenziale tra questi due tipi di strumenti consiste nel fatto che nei colorimetri si ha una maggiore ampiezza di banda passante. Ad esempio un colorimetro può avere una banda passante di 40nm, il che significa che impostando una lunghezza d'onda di 580nm passano in realtà radiazioni da 560 a 600nm.

Uno spettrofotometro a doppio raggio può arrivare a bande passanti inferiori al nm, usando così una luce assai più monocromatica (condizione importante per il rispetto della legge di Lambert-Beer ed essenziale per registrare spettri utili a fini qualitativi).

Tali differenze di banda passante dipendono dal fatto che vengono utilizzati diversi monocromatori: nei colorimetri si utilizzano filtri ottici o interferenziali, mentre negli spettrofotometri si usano prismi o reticoli di diffrazione (associati a sistemi di fenditure).

Per quanto riguarda gli spettrofotometri UV-visibile, i tipi più comuni sono il "monoraggio" e il "doppio raggio".

I sistemi monoraggio si utilizzano senza problemi per le analisi quantitative; gli spettrofotometri a doppio raggio sono più complessi e costosi, ma consentono una grande praticità anche nelle analisi qualitative, come si vedrà in seguito.

Naturalmente esistono altri e diversi strumenti di tipo spettrofotometrico, basati sempre sui principi esposti ma con diversi arrangiamenti tecnici.

La scelta dello strumento da utilizzare viene effettuata in base ai tipi di analisi da svolgere: non esiste uno strumento 'migliore di tutti', bensì esiste lo strumento migliore per quel tipo di analisi.

Facendo una sintesi sui metodi spettrometrici più importanti, si può dire che

- uno spettrofotometro UV-visibile a doppio raggio rappresenta una valida soluzione per molte analisi quantitative (e alcuni problemi qualitativi e cinetici) per le più diffuse esigenze di un laboratorio di analisi chimiche;
- uno spettrofotometro IR permette di effettuare numerose indagini qualitative (e quantitative) in campo organico;
- uno spettrometro NMR consente numerose indagini sulle strutture molecolari organiche, con potenzialità notevolissime nell'ambito della ricerca (ma presenta costi elevati di acquisto e funzionamento);
- rivestono infine notevole interesse sistemi strumentali di separazione di miscugli direttamente accoppiati a spettrometri (vedi 'gas-massa', che si allontana però dai principi ora studiati).

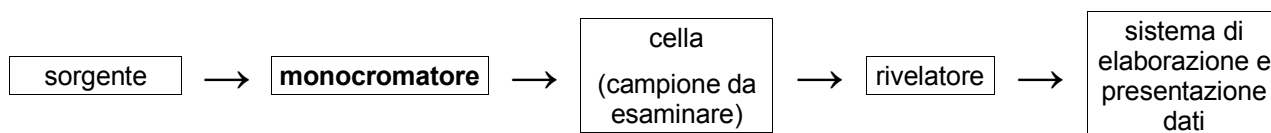
Per capire meglio il funzionamento di tali apparecchiature prenderemo in considerazione principalmente la spettrofotometria UV-visibile.

Naturalmente, passando ad altre parti dello spettro elettromagnetico (come l'infrarosso), le componenti della strumentazione subiranno modifiche più o meno profonde, pur rimanendo invariato il principio: ad esempio una sorgente per l'UV non sarà idonea per l'IR, ma una sorgente dovrà pur sempre esserci!

Tuttavia, nel campo della spettroscopia nelle radiofrequenze (NMR) le differenze si fanno notevoli e, vista la complessità del fenomeno e la sua irrinunciabile trattazione quantistica, l'NMR non rientrerà tra gli obiettivi di questo corso.

6.2 Struttura generale di uno spettrofotometro (UV-visibile o IR)

Dal punto di vista concettuale uno spettrofotometro segue il seguente schema di principio:



Nota sui materiali

*I materiali da utilizzare negli apparati ottici di uno spettrofotometro hanno un ben preciso requisito: devono essere **trasparenti** alle radiazioni impiegate!*

Ad esempio, il vetro è trasparente alla luce visibile ma non agli infrarossi: per questo motivo una cella per infrarossi non sarà di vetro o quarzo, bensì di un sale (ad esempio cloruro di sodio, con gli evidenti problemi connessi).

Il vetro inoltre comincia ad assorbire nell'UV (sotto i 350 nm): per questo motivo negli spettrometri UV viene usato il quarzo come materiale trasparente.

Anche i solventi devono essere scelti in modo che non assorbano significativamente nelle zone di interesse: in UV-visibile l'acqua non dà problemi (che emergono invece quando è necessario usare solventi organici).

Anche l'aria costituisce un limite: ad esempio il campo di studio UV è limitato ai 200nm in quanto l'ossigeno assorbe parecchio le lunghezze d'onda inferiori.

6.3 Sorgenti

La sorgente deve emettere radiazioni policromatiche, contenenti cioè tutte le lunghezze d'onda del campo richiesto.

Per la **regione del visibile** si utilizzano **lampade a incandescenza** (a filamento di tungsteno, lampade quarzo-iodio o lampade tungsteno-alogeno).

Per la **regione UV** si usano **lampade a scarica in un gas** (deuterio o a idrogeno); sono costituite da un'ampolla di quarzo contenente il gas rarefatto (ma non troppo) nella quale viene attivata, tra due elettrodi, una scarica elettrica con la conseguente emissione di radiazioni con spettro continuo.

Gli spettrofotometri UV-visibile avranno quindi al loro interno due diverse lampade, che vengono opportunamente intercambiate dal meccanismo interno.

(Per la **regione IR** si usano barrette di vari materiali, sempre riscaldate elettricamente a temperatura adeguata.)

Dopo la sorgente è posta inoltre la **'fenditura di ingresso'** che serve (associata anche a lenti e/o specchi) a rendere paralleli i raggi ed evitare luce diffusa nello strumento.

6.4 Monocromatori

Come si intuisce, il monocromatore è una delle componenti critiche che caratterizzano lo strumento.

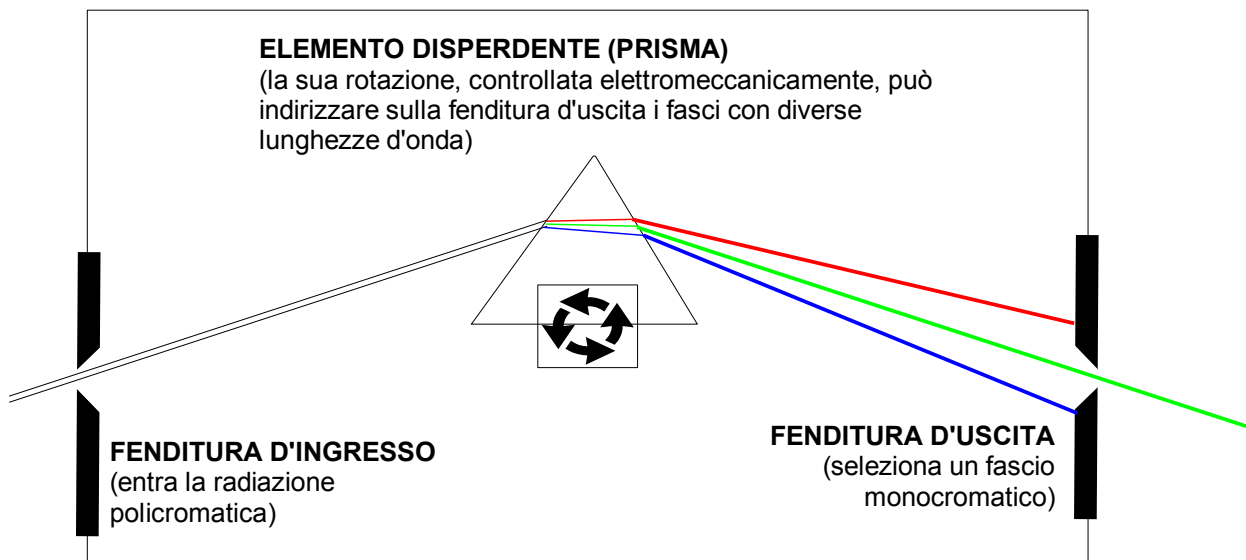
Esistono due tipi di monocromatori:

- basati su **filtri (ottici o interferenziali)**, che bloccano una parte della luce e lasciano passare solo la parte desiderata;
- basati su un **elemento disperdente (prisma o reticolo)**, che separano le varie componenti della radiazione e ne permettono la successiva selezione della banda desiderata.

I **filtri ottici** contengono opportune sostanze che **assorbono** gran parte delle radiazioni visibili lasciando solo la banda desiderata, cioè un certo intervallo di lunghezze d'onda, che ha però notevoli ampiezze (250nm). Anche combinando più filtri, rimangono comunque bande passanti dell'ordine di 50nm e sempre a scapito di un indebolimento del raggio anche per le λ richieste. Si utilizzano solo nei colorimetri.

I **filtri interferenziali** si basano su un fenomeno tipicamente ondulatorio (l'**interferenza**) che causa rafforzamenti o indebolimenti tra due radiazioni che si sommano a seconda che siano o meno in fase tra loro. Sono più efficienti dei filtri basati sull'assorbimento, consentendo bande passanti dell'ampiezza di 20nm (nel visibile); sono tuttavia più costosi e si utilizzano nei colorimetri migliori.

I **monocromatori basati su elementi disperdenti** sono quelli effettivamente usati negli spettrofotometri di qualità. Sono basati sul far incidere il fascio policromatico su un oggetto (un **prisma** o un **reticolo**) in grado di deviare le diverse radiazioni con diversi angoli: la radiazione uscente sarà quella che passa attraverso la fenditura di uscita:



Il **prisma** è in grado di disperdere le radiazioni con diversa λ grazie al fenomeno della **rifrazione**: quando un raggio di luce passa da un mezzo ad un altro subisce una deviazione che dipende però dalla λ della radiazione (cioè, radiazioni con diversa λ subiscono diversa deviazione). Tale fenomeno diventa evidente quando un raggio attraversa un corpo con facce non parallele, come ad esempio un prisma.

I **reticoli** svolgono la stessa funzione del prisma, ma il loro funzionamento è basato sull'interferenza. Sono costituiti da serie di solchi o fenditure parallele tracciati su una superficie a distanza ravvicinata (ad esempio 1000 solchi a mm): il fenomeno è quello che si osserva guardando obliquamente la superficie di un CD.

Nei moderni spettrofotometri si utilizzano reticoli a riflessione, sia nel campo **UV-visibile** sia nell'**IR**.

6.5 Celle

Sono la componente destinata a contenere il campione da esaminare.

Oltre ad essere trasparenti alla radiazione impiegata, devono avere un ben preciso 'cammino ottico' (la lunghezza percorsa dalla radiazione nel campione) che dovrà essere sufficiente ad avere assorbimenti rilevabili dallo strumento.

In UV si utilizzano celle in quarzo (SiO_2), nel visibile in vetro o quarzo o alcuni materiali plastici.

In IR si rendono necessarie celle in NaCl, KBr, CaF_2

Più recentemente, con l'avvento di apparecchi particolarmente sensibili, si è reso possibile non usare celle e far invece viaggiare la luce in sottili fibre ottiche che escono dallo strumento, andando così ad analizzare porzioni piccolissime di materiali (ad esempio parti di cellule).

6.6 Rivelatori

Sono dispositivi capaci di produrre un segnale elettrico che dipende dall'energia delle radiazioni che lo investono. Tale segnale elettrico (proporzionale all'intensità luminosa) viene poi trasferito a un indicatore analogico o elaborato per via elettronica in modo più o meno complesso.

Trattandosi della parte dello strumento che esegue la **misura** vera e propria, è evidente che ne rappresentano

una parte molto importante, in particolare per quanto riguarda sia la **sensibilità** sia l'**accuratezza** dello spettrofotometro.

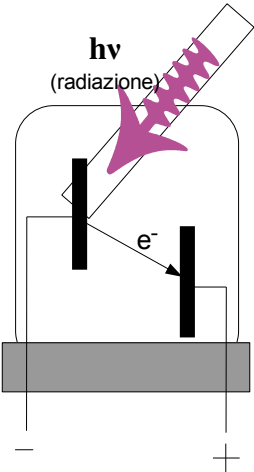
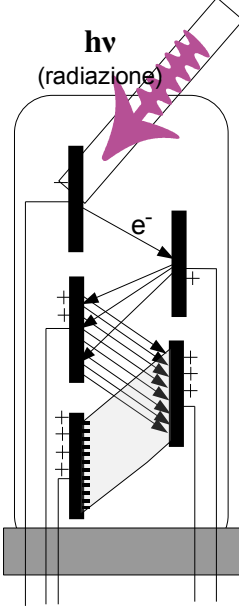
In UV-visibile si possono utilizzare:

- celle fotovoltaiche e celle fotoconduttive;
- fototubi e fotomoltiplicatori;
- fotodiodi.

Le **celle fotovoltaiche e fotoconduttive** sono basate su semiconduttori che generano ai loro capi una d.d.p. direttamente proporzionale all'intensità della radiazione incidente.

Sono poco sensibili e non coprono tutto l'UV-visibile, tuttavia sono resistenti e poco costose: per questo motivo vengono utilizzate in colorimetri o semplici fotometri di basso prezzo.

I **fototubi** e i **fotomoltiplicatori** sono basati sull'*effetto fotoelettrico*, che consiste nell'emissione di elettroni da parte di un materiale quando viene colpito da radiazioni luminose: il numero di elettroni emessi (misurabile per via elettrica) è proporzionale all'intensità della radiazione incidente.

FOTOTUBO	FOTOMOLTIPLICATORE
<p>E' realizzato inserendo due elettrodi in una ampolla sotto vuoto, con una finestra (in quarzo) per il passaggio della radiazione luminosa.</p> <p>Il catodo (elettrodo negativo) è rivestito di un materiale fotosensibile che liberi facilmente elettroni (come il cesio), e tra anodo e catodo viene applicata una d.d.p..</p> <p>Ha prestazioni superiori alle celle fotovoltaiche e fotoconduttive.</p>	<p>E' una variante del fototubo, ma con un accorgimento per aumentarne notevolmente la sensibilità.</p> <p>Vi sono infatti una serie di elettrodi (dinodi) contrapposti, in opportuno materiale, ai quali vengono applicati potenziali crescenti. In questa maniera gli elettroni vengono accelerati da un dinodo all'altro e ad ogni urto liberano più elettroni, moltiplicando così gli effetti finali (con amplificazioni dell'ordine $10^6 - 10^9$).</p> <p>Sono quindi molto sensibili (e costosi).</p>
	

I **fotodiodi**, infine, sono microscopici circuiti su chip di silicio (o germanio) che variano la loro d.d.p. se investiti da radiazioni luminose. Hanno sensibilità inferiore ai fotomoltiplicatori, ma presentano il vantaggio di poter essere inseriti in grande numero su un singolo chip di silicio, prestandosi così in modo efficace alla costruzione di *spettrofotometri a serie di diodi* (di cui si parlerà più avanti)

In IR si utilizzano *rivelatori a cristalli piroelettrici*, basati su cristalli che generano tensioni elettriche fra due facce opposte a seconda di quanto vengono 'riscaldati' dalla radiazione infrarossa ricevuta.

6.7 Sistemi di elaborazione e presentazione dati

Il segnale proveniente dal rivelatore viene opportunamente amplificato e trasmesso a:

- indicatore (digitale o analogico) di A e/o T;
- eventuale registratore su carta;
- eventuale sistema computerizzato di elaborazione dati.

L'elettronica di uno spettrofotometro deve inoltre controllare i movimenti dell'apparato monocromatore e, per gli strumenti a doppio raggio, del sistema di sdoppiamento del raggio incidente.

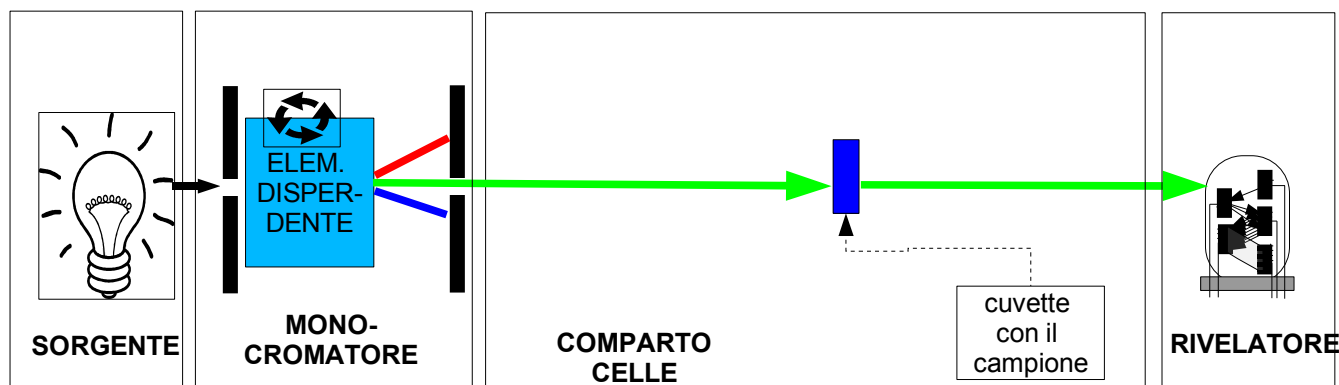
Ovviamente, l'avvento dell'informatica ha fortemente ampliato le possibilità di gestione automatica dei dati raccolti, fino ad arrivare a veri e propri computer interfacciati con lo strumento che ne permettono sia il controllo delle impostazioni sia l'elaborazione e memorizzazione dei risultati, nonché il confronto degli spettri ottenuti con basi di dati su supporto digitale.

6.8 Tipi di spettrofotometro

Esistono diversi tipi di spettrofotometro, a seconda di come sono organizzate le varie componenti:

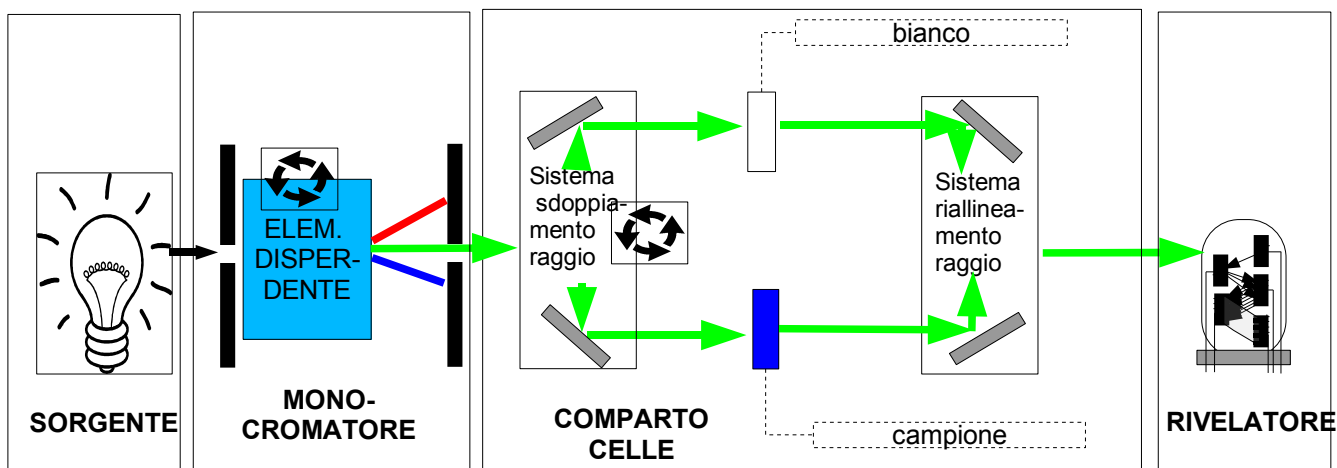
- spettrofotometri **monoraggio**
- spettrofotometri a **doppio raggio**
- spettrofotometri a **serie di diodi** (solo UV-visibile)
- strumenti in **trasformata di Fourier** (solo IR)

Gli **spettrofotometri monoraggio**, sono usati prevalentemente in analisi quantitativa e non sono comodi per ottenere spettri di assorbimento. Lo schema corrisponde a quello di un colorimetro:



La difficoltà nell'ottenere uno spettro sta nel fatto che **per ogni misura ad ogni λ si deve ripetere l'azzeramento contro il bianco**, oppure registrare prima lo spettro del bianco, poi lo spettro del campione ed infine sottrarre al secondo il primo (procedura che può risultare macchinosa).

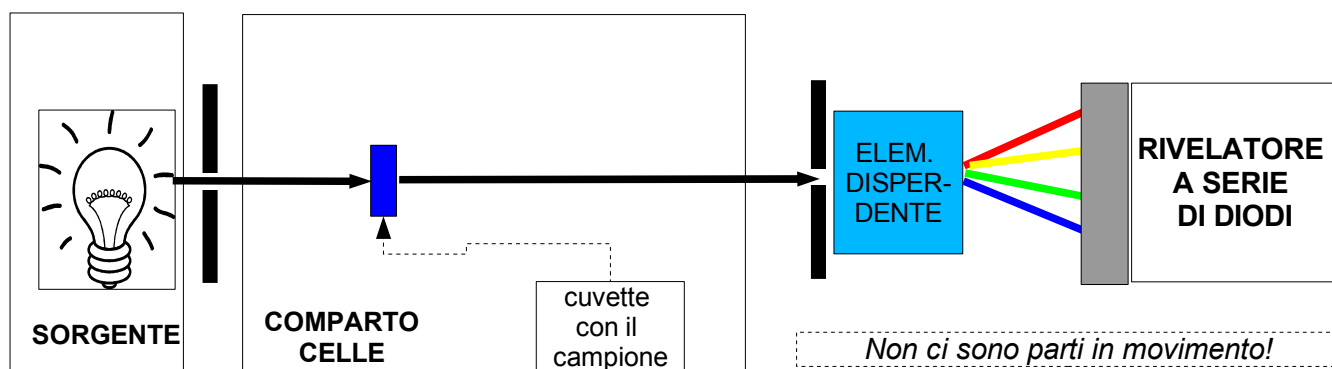
Negli **spettrofotometri a doppio raggio** si ha invece un sistema che invia due raggi, identici per frequenza e intensità, uno attraverso il campione e l'altro attraverso il bianco, per cui si ha un confronto continuo tra l'assorbanza del campione e quella del bianco:



Grazie a queste caratteristiche è possibile effettuare misure direttamente a qualsiasi λ senza ripetere azzeramenti, e soprattutto registrare continuamente lo spettro di assorbimento (fondamentale ai fini qualitativi).

Per questo motivo il doppio raggio è preferito per le applicazioni qualitative sia in UV che in IR (soprattutto).

Esistono poi **strumenti UV-visibile a serie di diodi**, in cui il rivelatore è costituito da un chip con centinaia di fotodiodi allineati, ognuno dei quali misura la particolare banda di radiazione inviatagli dall'elemento dispersivo.



Tali strumenti non hanno una risoluzione elevata, ma presentano però una caratteristica notevole: registrano simultaneamente (in 1/10 di secondo) tutto lo spettro (non ci sono parti in movimento che inviano le λ un po' per volta); grazie a questo sono adatti ad essere collegati all'uscita di strumenti di separazione di miscugli (tipo HPLC) in modo da registrare in tempo reale, secondo per secondo, l'intero spettro della miscela in uscita.

Nel campo IR sono ormai ampiamente diffusi gli **strumenti in 'trasformata di Fourier' (FT-IR)**, con notevoli variazioni sull'apparato strumentale, basato in questo caso su un interferometro (dispositivo meccanico) e su un particolare metodo matematico di trattazione dei dati (trasformata di Fourier) ... e NON su un monocromatore!

Tali strumenti misurano lo spettro in modo simultaneo.

Considerata la complessità dei principi su cui si basano, la trattazione non rientra negli obiettivi del corso.

7 - SPETTROSCOPIA DI EMISSIONE ATOMICA

7.1 Generalità

Come spiegato in precedenza, quando gli atomi vengono eccitati (fornendogli energia, ad esempio, con una fiamma) passano ad uno stato elettronico di maggiore energia; quando ritornano allo stato fondamentale restituiscono l'energia sotto forma di radiazioni elettromagnetiche:

- misurando la **lunghezza d'onda** delle varie radiazioni emesse è possibile identificare gli atomi presenti (analisi **qualitativa**);
- misurando l'**intensità** delle varie radiazioni emesse è possibile la determinare la concentrazione (analisi **quantitativa**).

Gli **spettrografi**, ad esempio, sono strumenti che misurano le radiazioni emesse da un campione (opportunosamente eccitato) in funzione della lunghezza d'onda. Lo spettrogramma risultante conterrà le righe di emissione caratteristiche degli atomi presenti: confrontandolo con campioni noti è quindi possibile stabilire quali elementi sono presenti nel campione.

Gli **spettrometri di emissione a fiamma** ricordano il principio dell'analisi alla fiamma: la soluzione in esame viene nebulizzata all'interno di una fiamma e vengono misurate le intensità delle radiazioni emesse, caratteristiche delle specie chimiche in esame, allo scopo di ottenere analisi quantitative.

Gli **spettrometri di emissione al plasma** sono concettualmente analoghi a quelli a fiamma; la fiamma è però sostituita dal plasma (gas altamente ionizzato, ottenuto attraverso irraggiamento o scariche elettriche), in quanto quest'ultimo è più stabile e permette di raggiungere temperature più elevate, dell'ordine di 5000-6000K. E' pertanto possibile determinare accuratamente numerosi elementi, presenti anche in bassissime concentrazioni (fino ai $\mu\text{g/L}$).

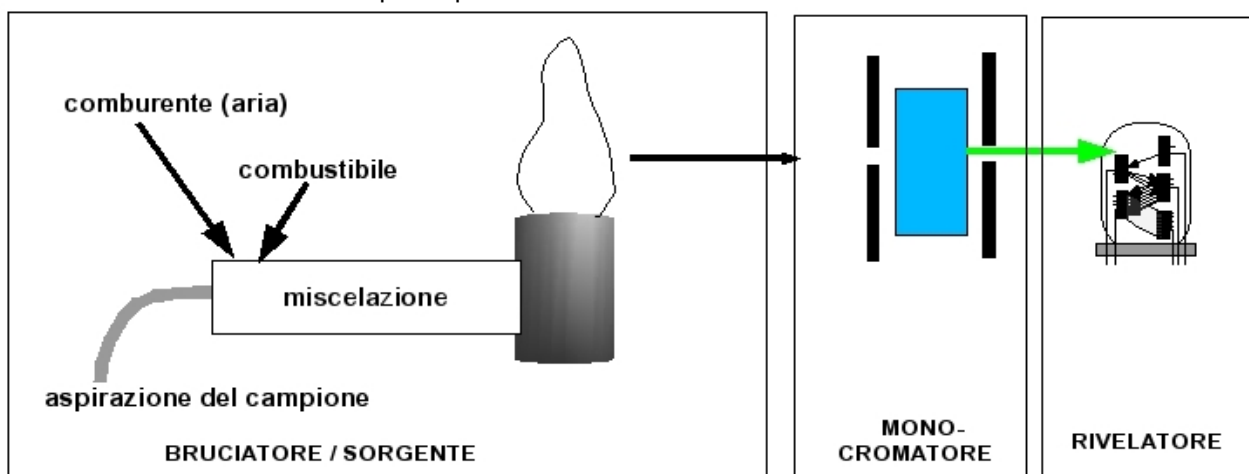
7.2 La spettroscopia di emissione a fiamma

La spettroscopia ad emissione di fiamma si presta essenzialmente a determinazioni quantitative; ad esempio i più comuni strumenti sono dedicati all'analisi quantitativa dei metalli alcalini e alcalino terrosi (Li, Na, K, Ca, Mg) in soluzione.

L'analisi quantitativa si basa sul fatto che intensità della radiazione emessa e concentrazione sono direttamente proporzionali ($I_E = K \cdot C$).

Anche in questo caso si procede alla costruzione della curva di lavoro (o retta di taratura).

Osserviamo lo schema di un semplice spettrometro a emissione di fiamma:



Trattandosi di uno strumento in emissione, la sorgente è costituita dalla fiamma stessa, all'interno della quale viene nebulizzata la soluzione da esaminare.

La fiamma (che non supera mai i 3000K) riesce ad eccitare facilmente gli atomi di Li, Na, K, Ca e Mg, i quali emettono poi le loro radiazioni caratteristiche nell'ambito del visibile.

Un opportuno sistema di specchi (non rappresentato) convoglierà la luce al monocromatore.

Un monocromatore, generalmente basato su filtri, farà sì che giunga al rivelatore solo la radiazione utile all'analisi di un singolo elemento.

Il rivelatore determina la sensibilità dello strumento: con un fototubo si può arrivare al massimo alle ppm (mg/L), mentre con fotomoltiplicatori si può arrivare fino a 0,01ppm (10 µg/L).

8 - ESERCITAZIONI E VERIFICHE

8.1 Esercizi su calcoli utili per le analisi spettrofotometriche

Es. 1: DETERMINAZIONE DI UNA CONCENTRAZIONE CON LA CURVA DI LAVORO

Sono state preparate 4 soluzioni a titolo noto di una sostanza colorata e ne è stata misurata l'assorbanza ad una opportuna lunghezza d'onda. I dati sono riportati in tabella:

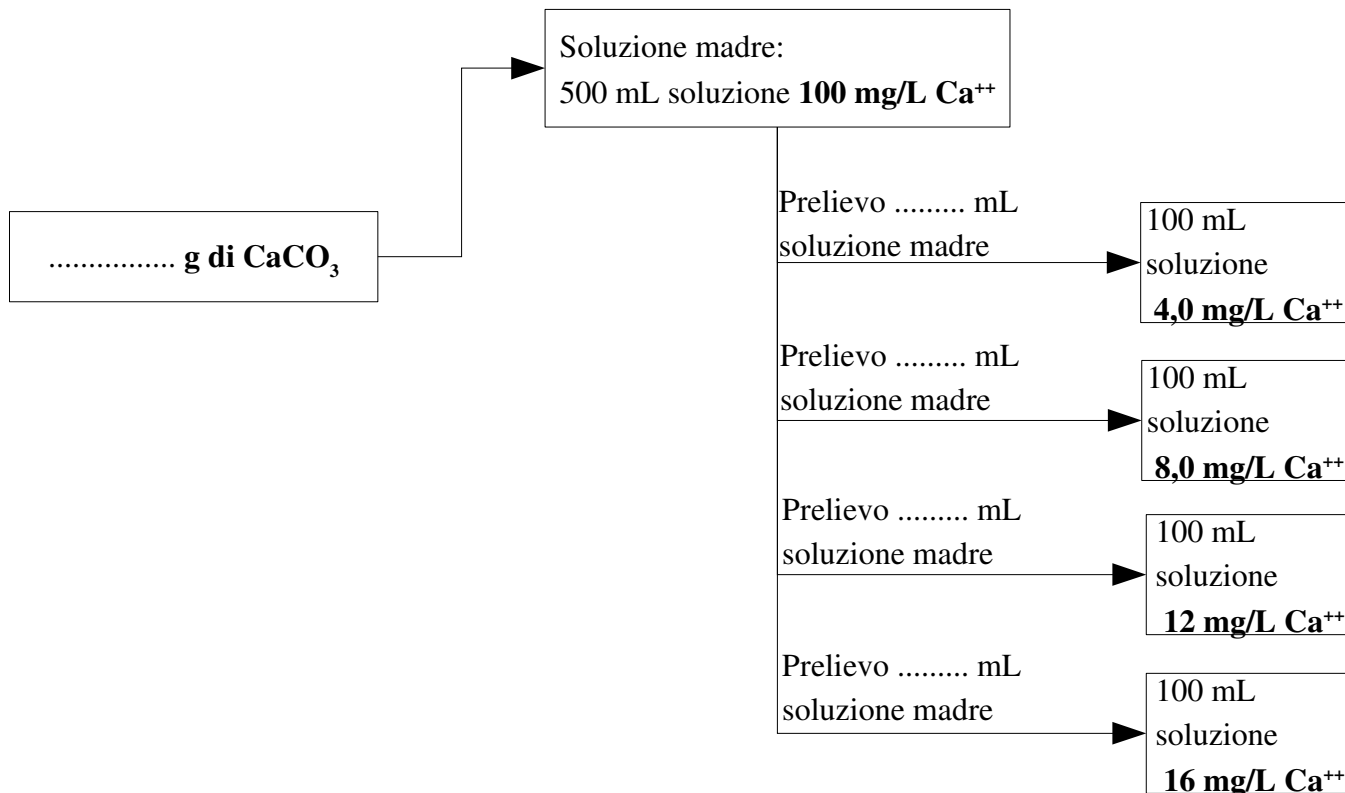
C (mg/L)	A
2,5	0,23
5,0	0,40
10,0	0,91
15,0	1,26

Misurando nelle stesse condizioni l'assorbanza di una soluzione a concentrazione incognita è stato ottenuto un valore di $A=0,64$: quale è la concentrazione della soluzione esaminata?

Es. 2: SCHEMI DI DILUIZIONE PER LA PREPARAZIONE DI SOLUZIONI A TITOLO NOTO

Si devono preparare 4 soluzioni (di volume 100 mL) contenenti ioni Ca^{++} con concentrazioni : $C_1=4,0$ mg/L di Ca^{++} $C_2=8,0$ mg/L di Ca^{++} $C_3=12$ mg/L di Ca^{++} $C_4=16$ mg/L di Ca^{++}
Per ottenerle si prepara prima una soluzione standard contenente 100 mg/L di Ca^{++} , introducendo l'opportuna quantità di carbonato di calcio in un matraccio da 500 mL, attaccandolo con HCl fino a ottenimento di una soluzione e portando a volume.

- Quanto carbonato di calcio deve essere introdotto nel matraccio?
- Come si deve procedere nei prelievi di soluzione madre per ottenere le 4 soluzioni finali?



Es. 3: DETERMINAZIONE SPETTROFOTOMETRICA DEL FERRO IN UNA SOLUZIONE**Parte 1°: Preparazione delle soluzioni standard**

- E' stata preparata una soluzione standard concentrata portando in soluzione (per attacco acido) 0,200 g di ferro purissimo e diluendo in matraccio tarato da 1 L.
- La soluzione standard diluita è stata preparata diluendo 50 mL di soluzione concentrata fino a volume di 1 L.

Parte 2°: Costruzione curva di lavoro

- Sono state preparate 4 soluzioni per la curva di taratura, aggiungendo l'apposito reattivo ai prelievi di soluzione standard diluita riportati in tabella, e portando a volume in matraccio da 50 mL
- E' stata misurata l'assorbanza delle 4 soluzioni: i dati sono riportati in tabella.

	V(mL) sol. standard diluita prelevati	Assorbanza misurata
soluz. 1:	2,0	0,10
soluz. 2:	3,0	0,16
soluz. 3:	4,0	0,21
soluz. 4:	5,0	0,26

Parte 3°: Analisi

- Sono stati prelevati 50,0 mL del campione di soluzione in esame, opportunamente trattati e addizionati del reattivo e portati ad un volume di 100 mL: la soluzione risultante presentava $A=0,18$.

Parte 4°: Calcoli

- Determina la concentrazione della soluzione standard concentrata
- Determina la concentrazione della soluzione standard diluita
- Determina la concentrazione delle 4 soluzioni preparate per la curva di lavoro
- Costruisci la curva di lavoro
- Ricava la concentrazione della soluzione esaminata
- Calcola la concentrazione del ferro nel campione di soluzione in esame (in mg/L e in mol/L)

8.2 Quesiti a risposta aperta

- 1) Le radiazioni elettromagnetiche: natura, grandezze caratteristiche, classificazione. (max 25 righe)
- 2) Su quali principi si basano le analisi spettrofotometriche? (max 25 righe)
- 3) Livelli energetici nei materiali e interazioni con le radiazioni elettromagnetiche. (max 25 righe)
- 4) Spettrofotometri mono e doppio-raggio: descrizione e confronto. (max 25 righe)
- 5) Descrivi sinteticamente le procedure impiegate per effettuare analisi spettrofotometriche in assorbimento. (max 25 righe)
- 6) Spettroscopia di emissione atomica (principio di funzionamento e applicazioni). (max 25 righe)
- 7) La legge di Lambert Beer (espressione, significato, utilizzo) (max 10 righe)
- 8) A cosa serve l'azzeramento contro il bianco? (max 10 righe)
- 9) Cosa è il monocromatore? (max 10 righe)
- 10) Quali sono i principali tipi di rivelatori usati negli spettrofotometri? Su che principi si basano? (max 10 righe)

8.3 Quesiti a risposta multipla

Indica la risposta corretta

1. **Una radiazione elettromagnetica...**
 - si propaga solo nel vuoto
 - consiste nell'oscillazione di un campo elettrico e di un campo magnetico
 - ha energia direttamente proporzionale alla lunghezza d'onda
 - ha una frequenza direttamente proporzionale alla lunghezza d'onda

2. **L'energia di un fotone....**
 - è direttamente proporzionale alla sua frequenza
 - è direttamente proporzionale alla sua lunghezza d'onda
 - è inversamente proporzionale alla sua frequenza
 - è inversamente proporzionale alla sua velocità

3. **Quale delle seguenti radiazioni presenta energia piu' elevata?**
 - ultravioletti
 - infrarossi
 - onde radio
 - raggi X

4. **Quale delle seguenti radiazioni presenta frequenza piu' bassa?**
 - ultravioletti
 - infrarossi
 - onde radio
 - raggi X

5. **L'energia di una molecola è QUANTIZZATA: significa che..**
 - si puo' calcolare
 - puo' assumere solo ben determinati valori
 - è molto elevata
 - e' sempre la stessa

6. **Una sostanza organica assorbe radiazioni visibili. Posso dedurre che...**
 - non assorbe radiazioni UV
 - non assorbe radiazioni IR
 - presenta doppi legami coniugati
 - presenta legami ionici

7. **Secondo la legge di Lambert-Beer...**
 - trasmittanza e concentrazione sono direttamente proporzionali
 - assorbanza e concentrazione sono direttamente proporzionali
 - frequenza e concentrazione sono direttamente proporzionali
 - lunghezza d'onda e concentrazione sono direttamente proporzionali

8. **Di quale materiale e' fatta una cuvette per spettroscopia UV?**
 - plastica
 - cloruro di sodio
 - vetro
 - quarzo

9. **Quale dei seguenti strumenti e' preferibile per analisi qualitative?**
 - un colorimetro a filtri ottici
 - un colorimetro a filtri interferenziali
 - uno spettrofotometro monoraggio
 - uno spettrofotometro a doppio raggio

10. **Su quale fenomeno ottico si basa l'azione disperdente di un prisma?**
 - interferenza
 - rifrazione
 - effetto fotoelettrico
 - legge di Lambert-Beer