

Spettrofotometria nel visibile

- 1. Introduzione*
- 2. I diversi tipi di radiazione elettromagnetica*
- 3. Lo spettro del visibile*
- 4. Da luce policromatica a luce monocromatica*
- 5. Gli strumenti*
- 6. Struttura generale*
- 7. Schema dello spettrofotometro monoraggio*
- 8. Schema dello spettrofotometro doppio raggio*
- 9. Analisi qualitativa*
- 10. Analisi quantitativa*
- 11. Analisi colorimetrica*

1. Introduzione

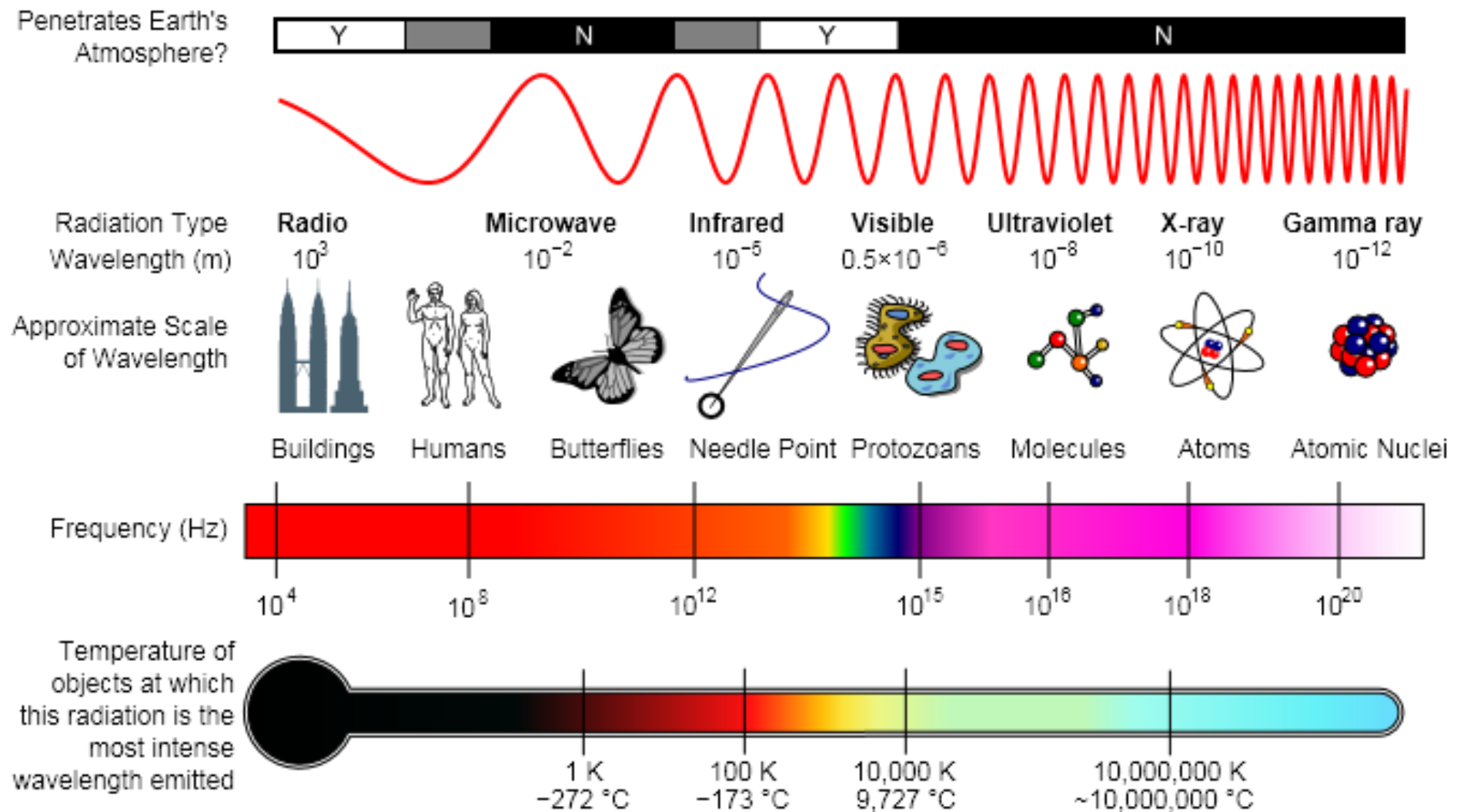
Una parte molto importante della moderna Chimica Analitica Strumentale è basata sullo studio dello scambio di energia (interazioni) tra la radiazione elettromagnetica e la materia.

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.

2. I diversi tipi di radiazione elettromagnetica

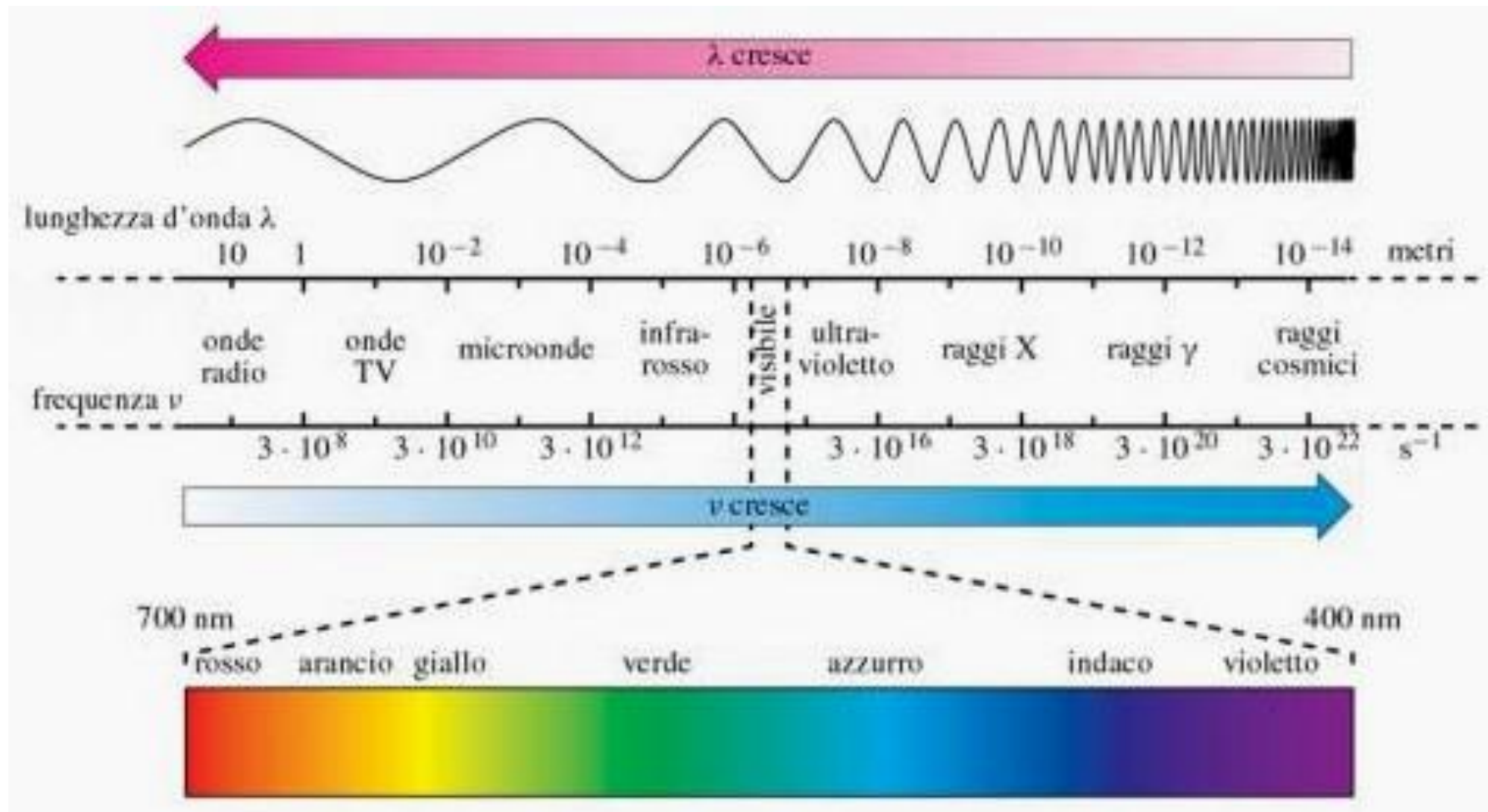
Esistono vari tipi di radiazione elettromagnetica, che differiscono per la loro lunghezza d'onda (e di conseguenza per la loro frequenza ed energia); sono riassunti nello spettro delle radiazioni elettromagnetiche:



3. Lo spettro del visibile

Come appena visto, la radiazione visibile rappresenta solo una piccola parte dello spettro elettromagnetico. La luce visibile è un tipo di radiazione elettromagnetica, detta semplicemente radiazione.

Altri tipi di radiazione elettromagnetica sono i raggi gamma, i raggi X, la luce ultravioletta e infrarossa e le onde radio. Nessuna di queste radiazioni può essere percepita dall'occhio umano. Questi tipi di radiazione fanno parte dello spettro elettromagnetico riportato in figura. Tutte le forme di radiazione elettromagnetica si diffondono attraverso il vuoto alla stessa velocità. La velocità della luce è pari a $3,00 \times 10^8$ metri al secondo ed è rappresentata dalla lettera c . La formula è: $c = f \cdot \lambda$

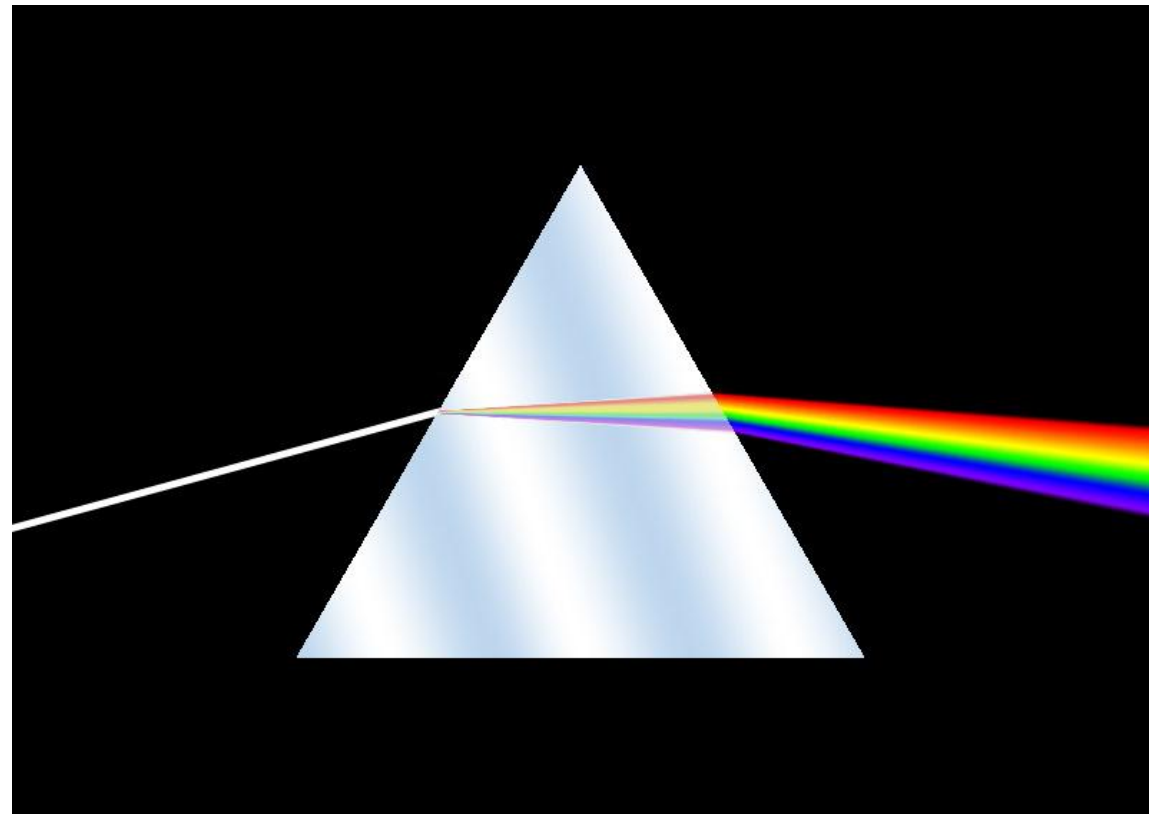


4. Da luce policromatica a luce monocromatica

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:

- a. la luce "bianca" è in realtà un miscuglio di radiazioni di diversa frequenza e quindi corrispondenti a tutti i colori;
- b. 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.)

- La luce bianca proveniente dal sole è policromatica.
- Si parla di fascio di luce policromatica quando esso è costituito da radiazioni di frequenza e lunghezza d'onda diverse.
- 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.
- 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.



5. *Gli strumenti*

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.

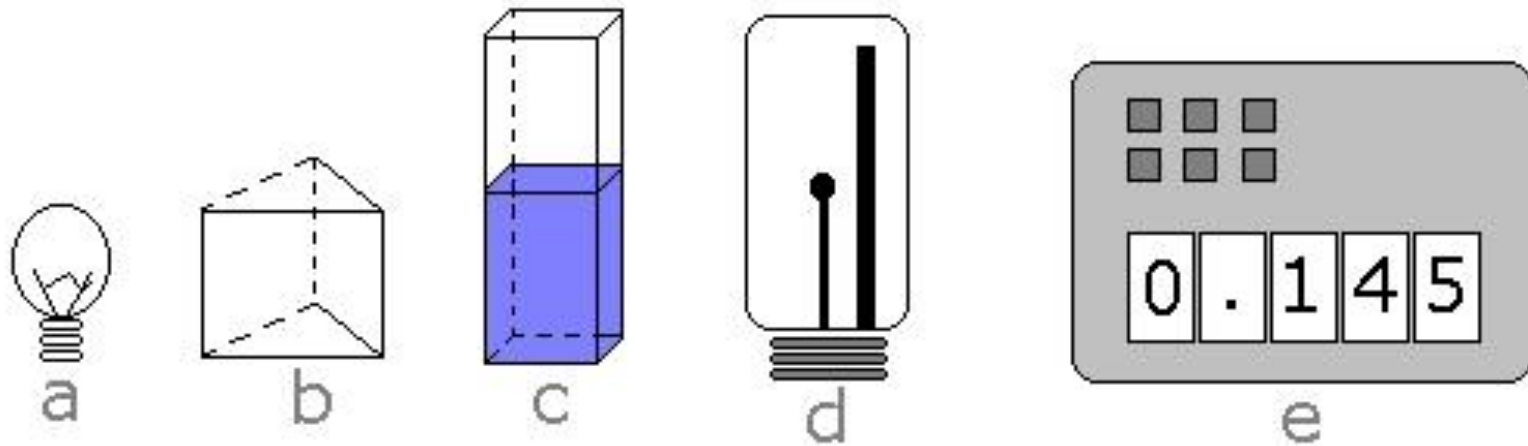
La scelta dello strumento da utilizzare viene effettuata in base ai tipi di analisi da svolgere: non esiste uno strumento 'migliore di tutti', bensì esiste lo strumento migliore per quel tipo di analisi.

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).

6. Struttura generale

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



a. *Sorgente luminosa.*

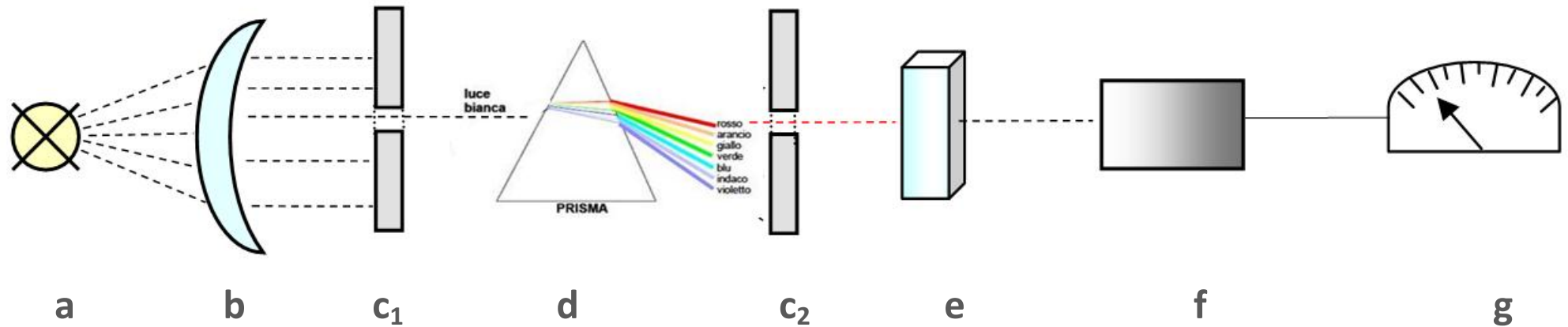
b. *Monocromatore.*

c. *Cuvetta porta campione.*

d. *Rivelatore.*

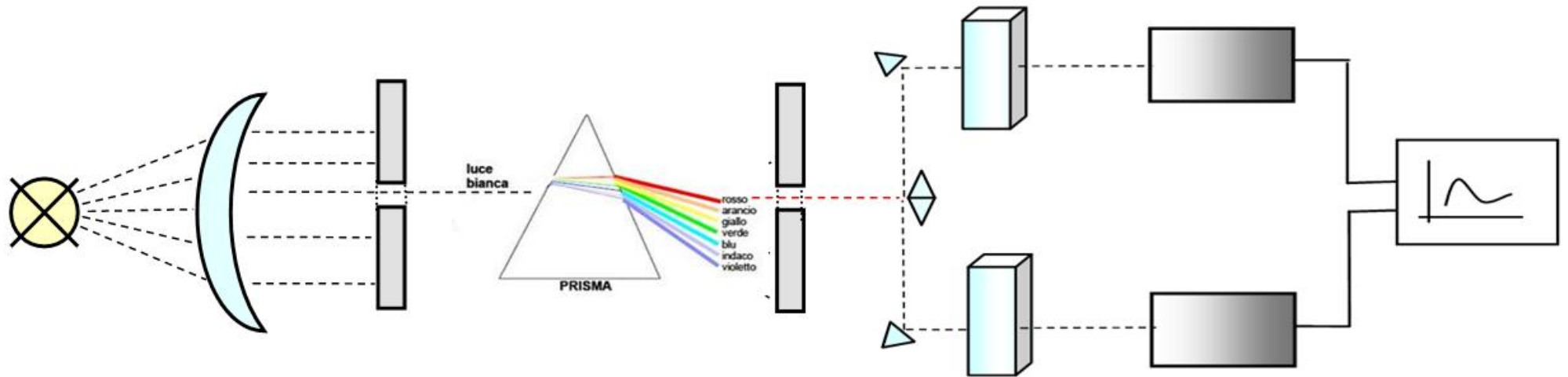
e. *Misuratore digitale.*

Schema spettrofotometro monoraggio

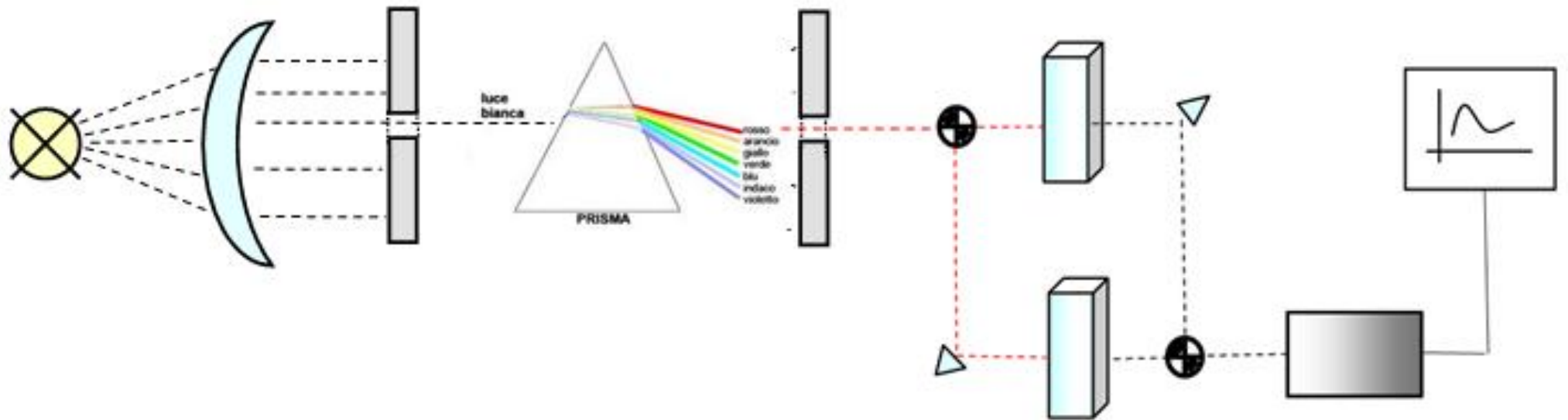


- a. **Sorgente:** è costituita da una lampada ad idrogeno o al deuterio per le analisi nel campo dell'ultravioletto (UV) e da una lampada ad incandescenza con filamento al tungsteno per le analisi nel campo del visibile.
- b. **Lente:** serve per rendere parallele le radiazioni emesse dalla sorgente luminosa ed evitare luce diffusa nello strumento .
- c₁. **Fenditura primaria o di entrata:** serve per selezionare un unico raggio da mandare al monocromatore.
- d. **Monocromatore:** serve per scindere la luce policromatica in luce monocromatica. Generalmente è costituito da un prisma che opportunamente ruotato permette di selezionare la lunghezza d'onda.
- c₂. **Fenditura secondaria o di uscita:** serve a selezionare un raggio monocromatico.
- e. **Cuvetta:** contiene il campione da analizzare. Per le analisi nell'UV si utilizzano delle celle al quarzo. Per le analisi nel campo del visibile si utilizzano delle celle di vetro ottico.
- f. **Rivelatore:** si tratta di una cellula fotoelettrica o fotomoltiplicatore. È un dispositivo capace di produrre una corrente elettrica d'intensità proporzionale a quella delle radiazioni che lo investono.
- g. **Apparato di misura:** si tratta di un galvanometro, tarato in trasmittanza o in assorbanza, che misura la corrente elettrica prodotta dal rivelatore.

Schema spettrofotometro a doppio raggio nello spazio



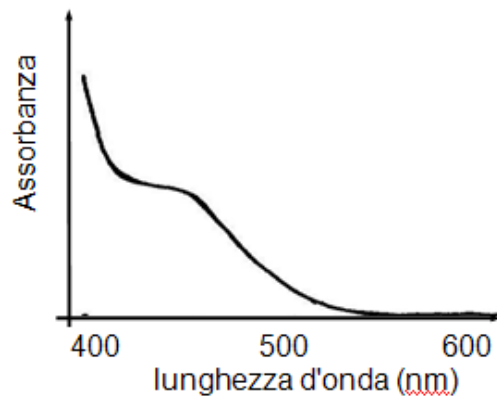
Schema spettrofotometro a doppio raggio nel tempo



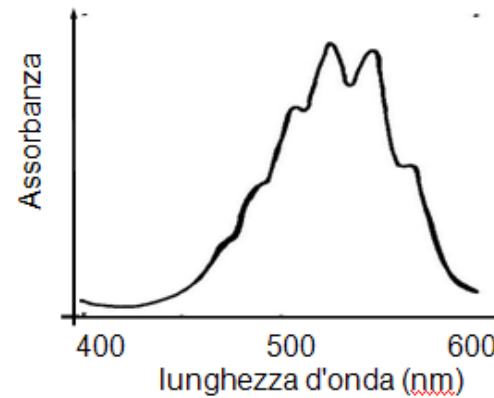
12. Analisi qualitativa

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 degli spettri di assorbimento nel visibile di due diverse sostanze:



soluzione $K_2Cr_2O_7$



soluzione $KMnO_4$

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.

13. 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.

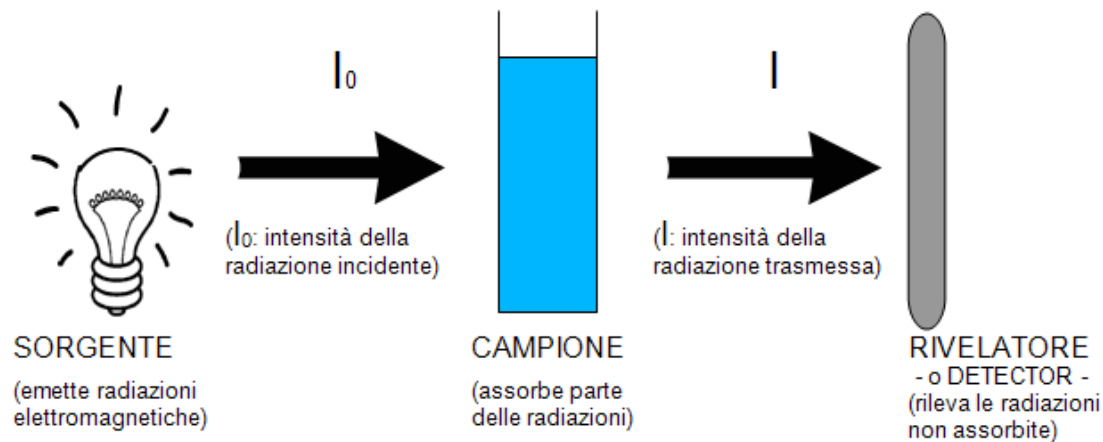
Le determinazioni quantitative sono basate sul fatto che, quando una radiazione attraversa una soluzione, viene assorbita più o meno intensamente a seconda della concentrazione; in altre parole ***l'assorbimento dipende dalla concentrazione***

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:



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).

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.

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.

Determinazione della concentrazione della sostanza in esame

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:

$$A = \epsilon \times b \times C$$

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

Metodo diretto

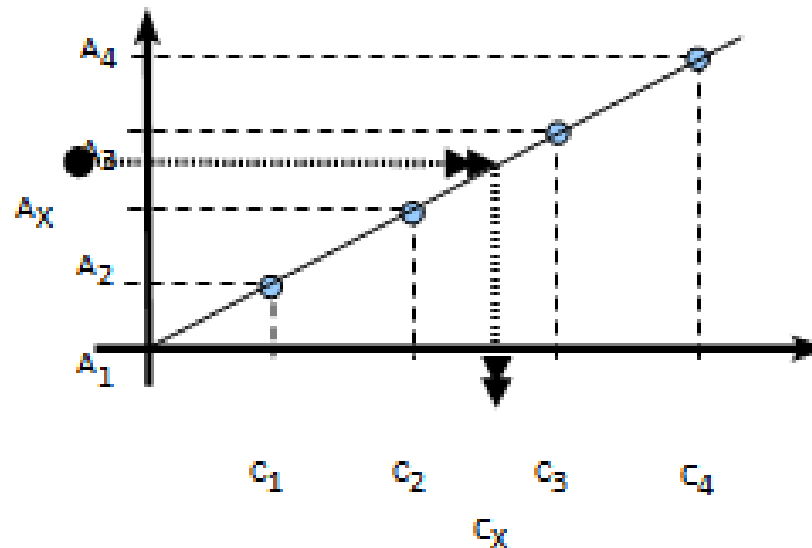
Questo metodo prevede di essere certi che si sta lavorando in situazione di proporzionalità diretta (retta passante per l'origine) tra Assorbanza e Concentrazione.

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, della sostanza in esame, a concentrazioni diverse e note e si misura la loro assorbanza.

Si avranno così 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*



La legge di Lambert-Beer

Questa legge regola l'assorbimento delle radiazioni in ogni campo dello spettro elettromagnetico, indipendentemente dal meccanismo col quale l'assorbimento stesso si verifica e dallo stato fisico (solido, liquido, gassoso) della sostanza che assorbe.

Gran parte delle analisi chimiche basate sull'assorbimento delle radiazioni, riguarda però le soluzioni, alle quali perciò si farà riferimento in questa trattazione.

Quando una radiazione monocromatica attraversa una soluzione, in ogni punto la sua intensità dipende soltanto dalla concentrazione – **c** - della soluzione e dallo spessore - **b** - della cuvetta che generalmente è di 1cm.

Esiste dunque una proporzionalità diretta tra assorbimento della radiazione e concentrazione della soluzione sottoposta ad assorbimento.

Data questa relazione si può affermare anche che il rapporto tra l'assorbimento e la concentrazione relativa è costante e questo rapporto è espresso dalla lettera – **a** - nella formula generale della legge.

Esempio. ($A_1/C_1 = A_2/C_2 = A_3/C_3 = A_4/C_4$ ecc.) = **a**

dove **A** sta per assorbimento e **c** per concentrazione

Da queste premesse deriva la legge generale di Lambert-Beer:

$$A = a * b * c$$

ovvero:

$$c = A / a * b$$

1. *Analisi colorimetrica*

Le analisi colorimetriche si basano sull'assorbimento della luce da parte di sistemi chimici colorati; l'intensità di colore (dovuto alla sostanza da determinare come tale e dopo che ha reagito con un adatto reagente colorimetrico).

L'assorbimento viene misurato allo spettrofotometro, oppure viene comparato il colore facendo riferimento ad un'apposita scala cromatica (analisi visuali). In tutti e due i casi resta comunque valida la legge di Lambert-Beer.

Per quanto riguarda le soluzioni da sottoporre ad analisi colorimetrica (spettrofotometrica o comparazione visuale) e ciò vale sia per quelle soluzioni che di per sé sono già colorate, sia per quelle che richiedono l'aggiunta di un reagente cromogeno, dovrebbero almeno in teoria rispondere alle seguenti caratteristiche:

Stabilità per un tempo sufficiente all'esecuzione di misure accurate

L'instabilità che si manifesta come diminuzione di colore nel tempo può essere eliminata, o almeno ridotta, modificando la composizione chimica della soluzione. Ciò è possibile se l'instabilità è imputabile o all'effetto ossidante dell'ossigeno atmosferico o alla decomposizione fotochimica del composto colorato o all'azione dell'acidità, della temperatura e del solvente.

Colorazione intensa

Questa caratteristica essenziale per una buona sensibilità della determinazione, può essere controllata, entro certi limiti, cambiando solvente o scegliendo il reagente cromogeno di adatta sensibilità.

Insensibilità a piccole variazioni di pH, di temperatura e di forza ionica

Se così non fosse, la preparazione delle soluzioni per l'analisi, diverrebbe eccessivamente complicata, per la necessità di controllare esattamente i suddetti parametri.

Anche il reagente cromogeno deve avere determinate caratteristiche e più precisamente:

Deve essere stabile in soluzione

Le soluzioni che si alterano in poche ore devono essere preparate molto spesso con un conseguente allungamento dei tempi di esecuzione delle analisi. Lo sviluppo della colorazione deve essere molto rapido ed il reagente colorante deve essere trasparente nella regione spettrale interessata.

Il cromogeno deve formare un complesso definito con tutta la sostanza da determinare

Infatti solo se la reazione è quantitativa la colorazione è proporzionale alla concentrazione.

Il cromogeno deve essere "specifico"

Infatti la misura del colore deve essere peculiare per la sostanza da determinare.