

SPETTROFOTOMETRIA

Studio della struttura e della dinamica della materia (molecole, atomi, ioni, ...) attraverso l'analisi dell'interazione con la luce

Principio: la lunghezza d'onda della luce (la sua energia) determina il modo in cui questa interagisce con la materia

Serve per :

Quantificare specie chimiche

Identificare specie chimiche

Analizzare cambiamenti dinamici nella composizione o nella struttura delle molecole (cinetica di reazioni ...)

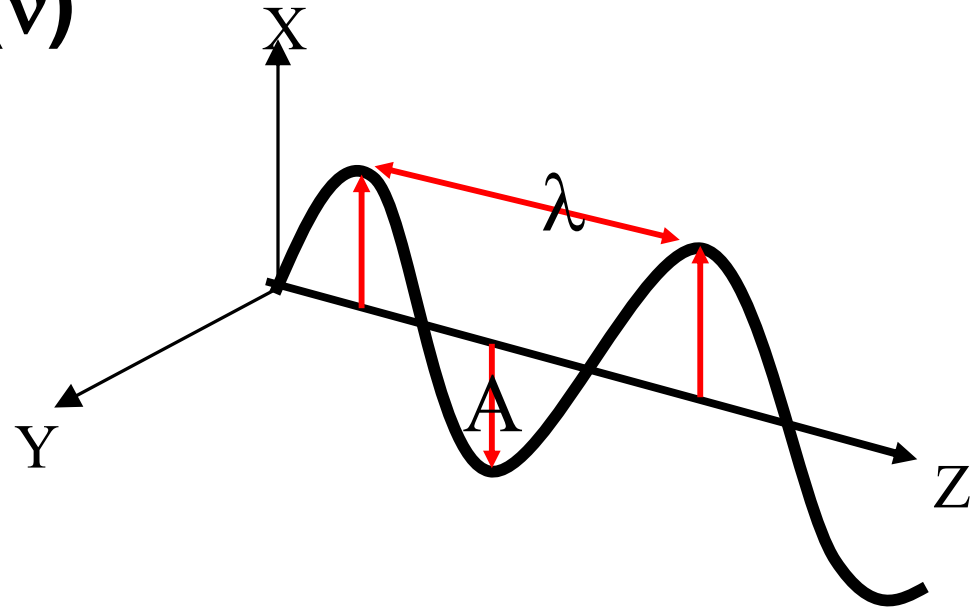
Proprietà della radiazione elettromagnetica

Secondo la meccanica quantistica, la radiazione elettromagnetica ha una doppia natura e possiede le proprietà di un'onda e di un corpuscolo

NATURA ONDULATORIA DELLA RADIAZIONE

lunghezza d'onda (λ)
frequenza (ν)

$$\nu = c / \lambda$$



Parametri di un'onda:

Lunghezza d'onda (λ): distanza tra due massimi

Frequenza (ν): numero di oscillazioni in 1 secondo (Hz = 1 ciclo/s)

nel vuoto $c \cong 3 \times 10^8$ m/s.

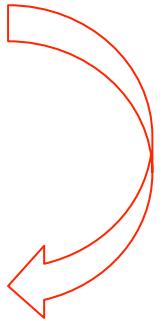
Frequenza e lunghezza d'onda sono **INVERSAMENTE PROPORZIONALI**

NATURA CORPUSCOLARE DELLA RADIAZIONE

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: $h = 6.63 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$
L'energia di un fotone viene a volte espressa anche in elettron-volt ($1\text{eV}=1.6 \cdot 10^{-19} \text{ J}$).



ENERGIA e FREQUENZA sono DIRETTAMENTE PROPORZIONALI

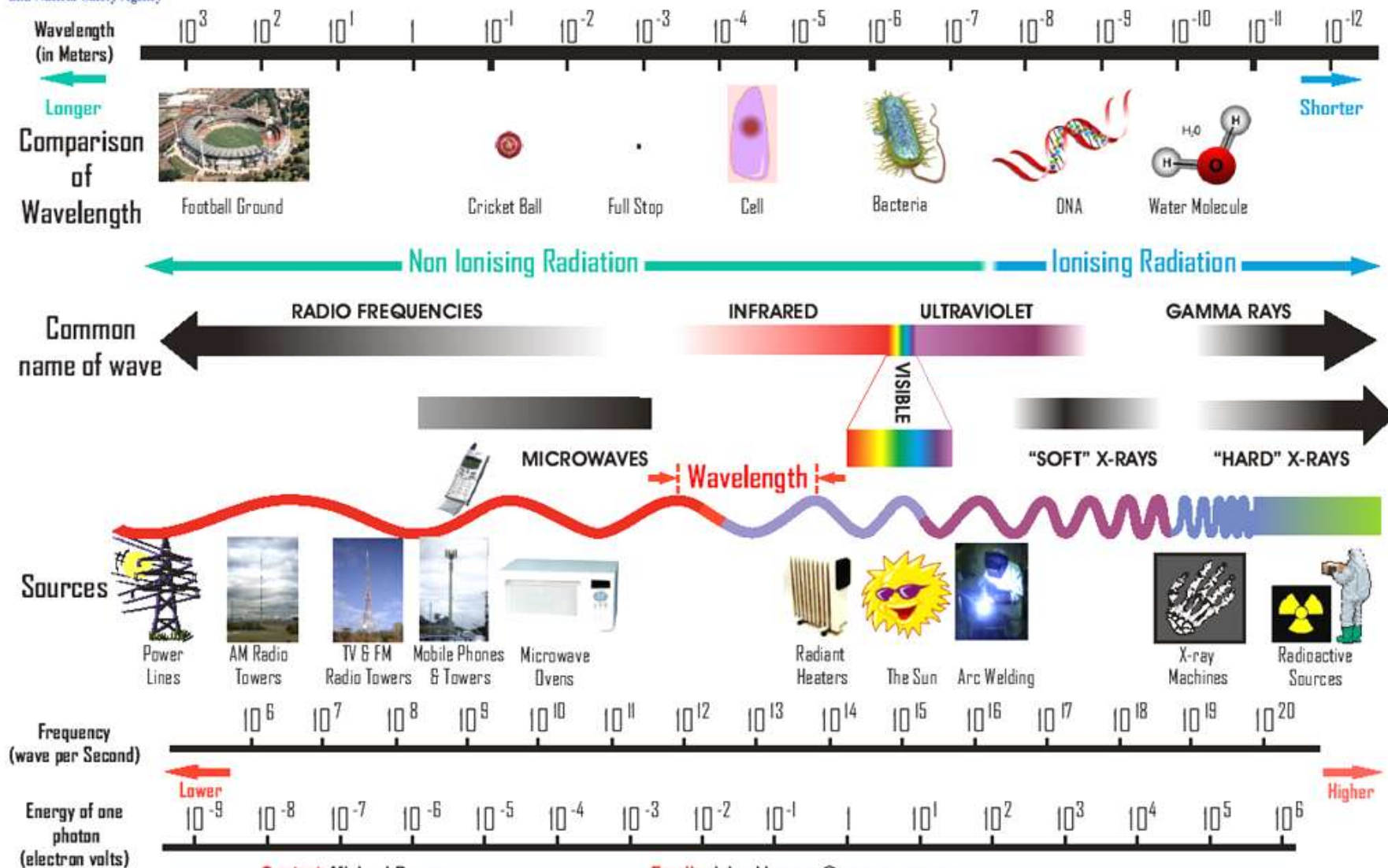
LA relazione indica l'energia associata a ciascun fotone per ogni fascio di frequenza ν .

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.



Australian Government
Australian Radiation Protection
and Nuclear Safety Agency

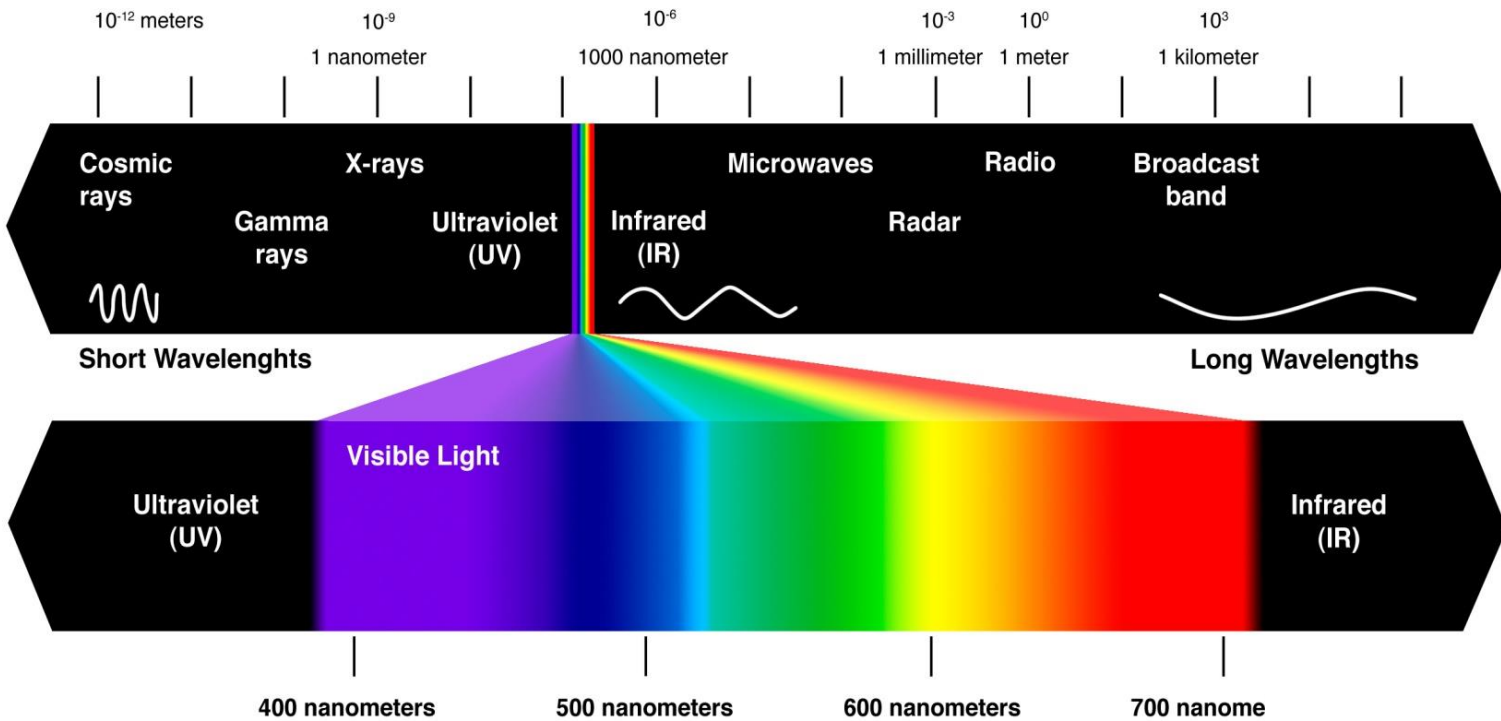
THE ELECTROMAGNETIC SPECTRUM



Contact: Michael Bangay

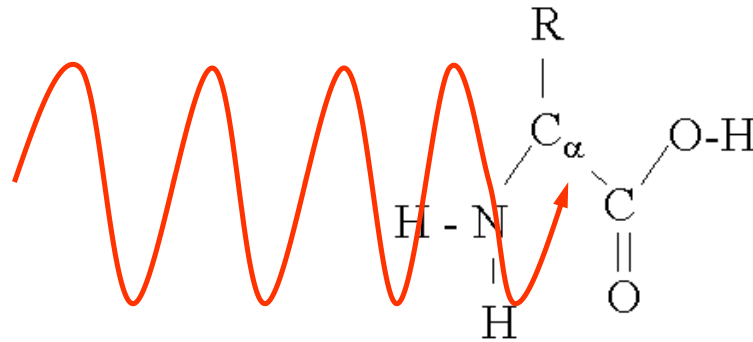
Email: michael.bangay@arpansa.gov.au

SPETTRO DELLA RADIAZIONE ELETTROMAGNETICA



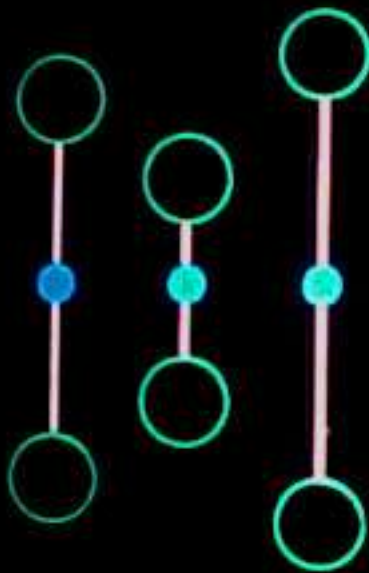
Che accade quando una radiazione luminosa colpisce una molecola ?

- L'energia di una sorgente luminosa **interagisce** con le molecole in diversi modi.
- A livello dei **legami atomici** vediamo la **promozione di elettroni** a più alti livelli energetici.

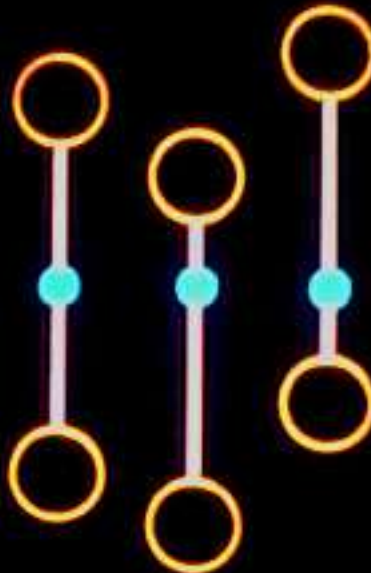


- A livello **molecolare** vediamo **assorbimento** ed **emissione** della luce.
- Le **transizioni** tra livelli energetici non sono limitate agli elettroni. I legami chimici possono andare incontro a una varietà di livelli energetici vibrazionali e atomi connessi da legami covalenti possono ruotare l'uno rispetto all'altro.

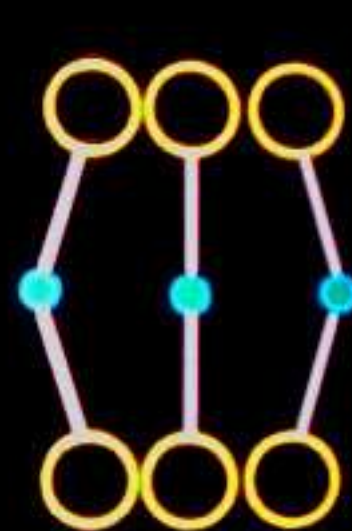
CARBON DIOXIDE VIBRATIONS



(A)
SYM.
STRETCH



(B)
ASYM.
STRETCH



(C)
BENDING
(2)

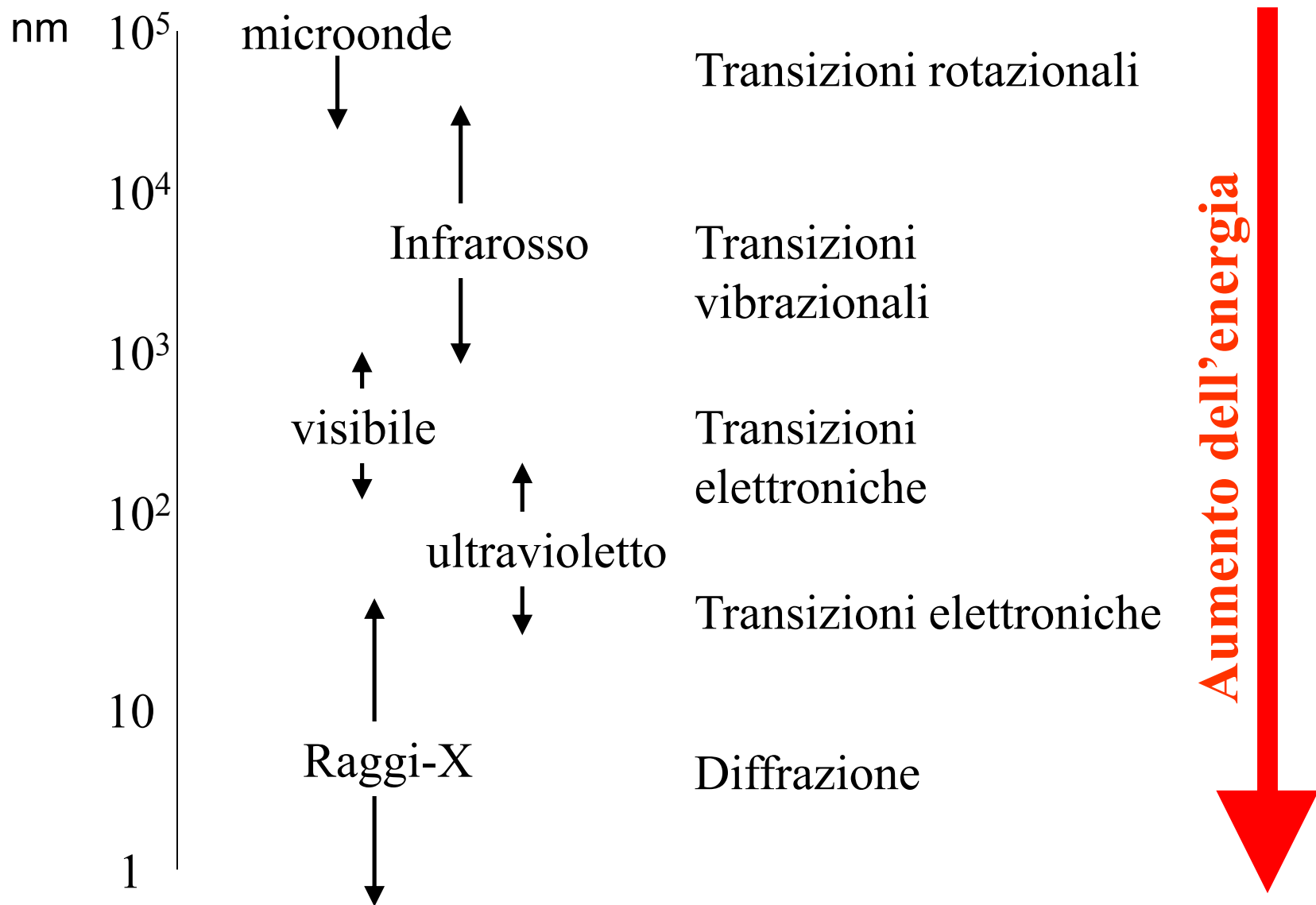
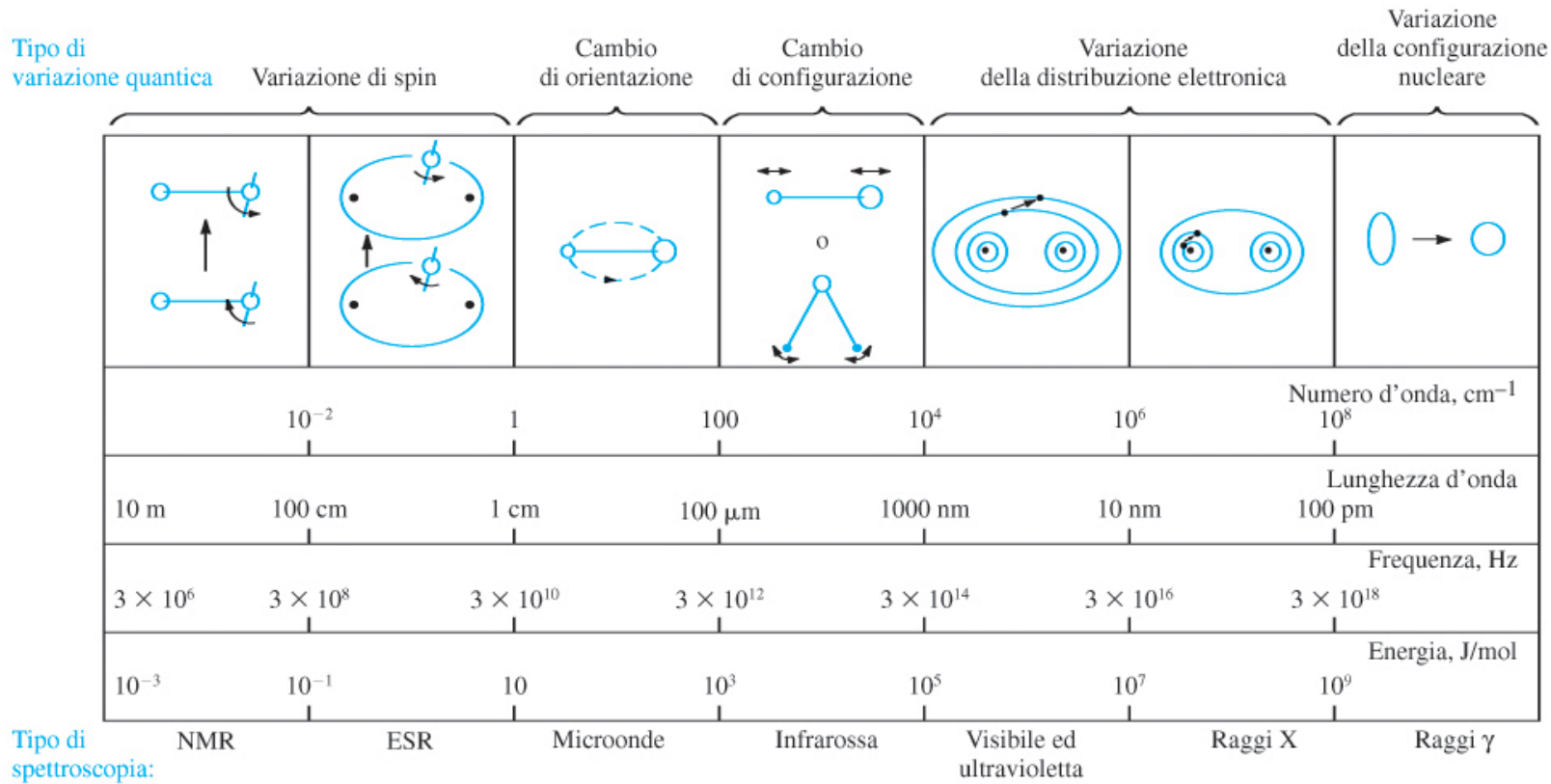


Tabella 9.1 Interazione della radiazione elettromagnetica e di varie parti o “strutture” della materia

Fenomeno	Regione dello spettro	Lunghezza d'onda
Nucleare	Gamma	0.1 nm
Elettroni interni	Raggi X	0.1-1.0 nm
Ionizzazione	Ultravioletto	0-200 nm
Elettroni di valenza	Ultravioletto vicino e visibile	200-800 nm
Vibrazioni molecolari	Infrarosso vicino e infrarosso	0.8-25 μm
Rotazione e orientamento dello spin elettronico in campi magnetici	Microonde	400 μm -30 cm
Orientamento dello spin nucleare in campi magnetici	Onde radio	100 cm e oltre

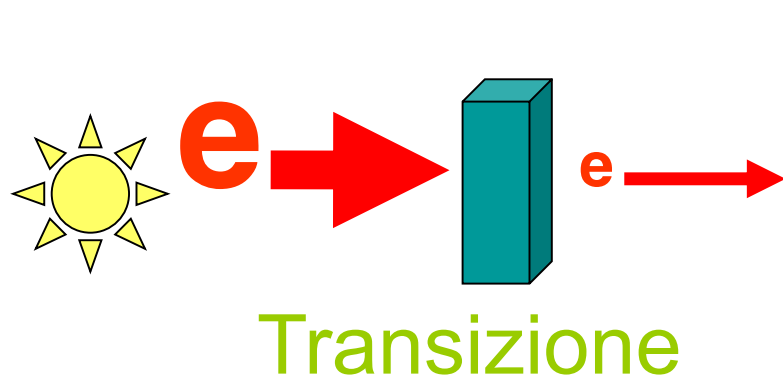


Regioni dello spettro elettromagnetico e relativi processi di interazione con atomi e molecole

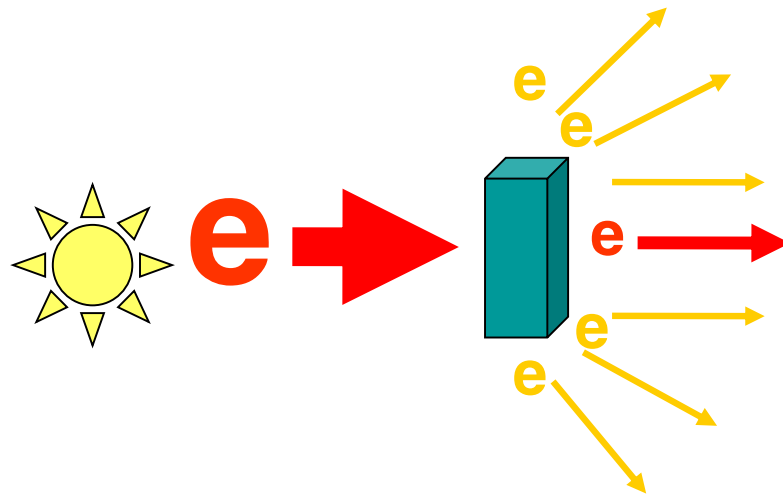


Skoog, West
Fondamenti di chimica analitica
EdiSES

- Una **transizione** avviene quando l'energia di una molecola cambia da uno stato all'altro.



- L'**assorbimento** avviene quando la radiazione causa un aumento di energia nel sistema con cui interagisce.



- L'**emissione** avviene quando la radiazione è prodotta da un sistema durante una transizione da un alto livello energetico a uno più basso

Metodi spettroscopici: emissione

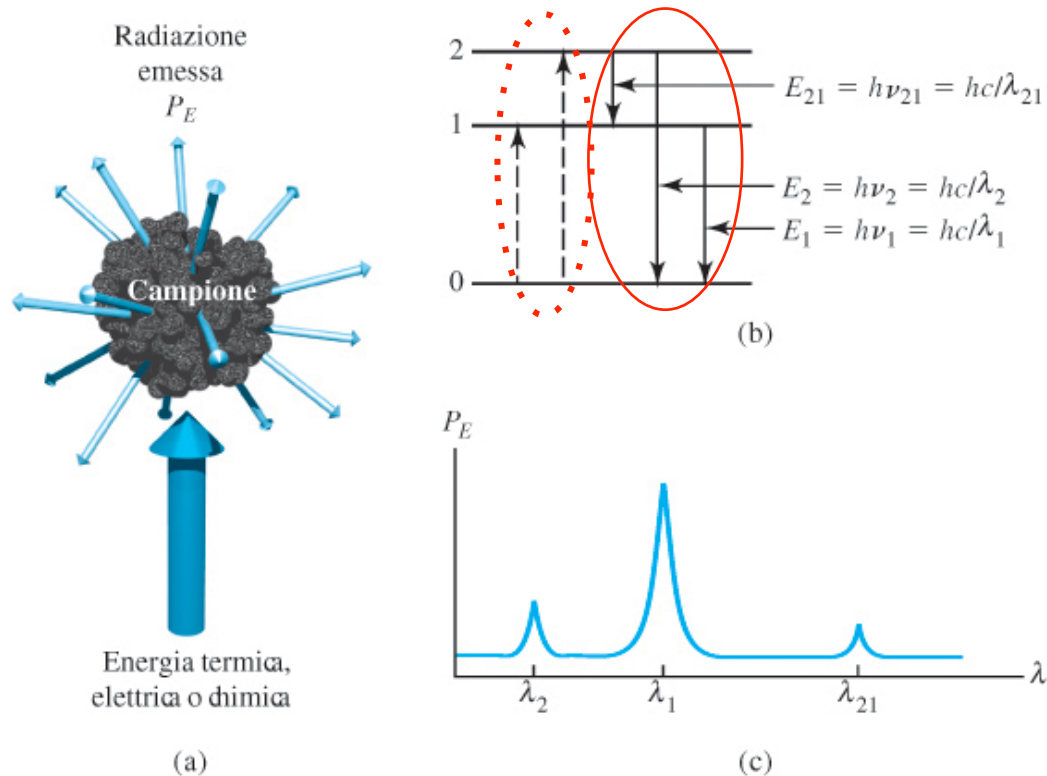


Figura 24-4 Processi di emissione o chemiluminescenza. In (a) il campione viene eccitato mediante energia termica, elettrica o chimica. Questi processi non coinvolgono energia radiante e quindi vengono chiamati processi non radiativi. Nel diagramma dei livelli di energia (b), le linee tratteggiate con le frecce rivolte verso l'alto rappresentano questi processi di eccitazione non radiativi, mentre le linee piene con le frecce rivolte verso il basso indicano che l'analita perde la sua energia emettendo un fotone. In (c) è mostrato lo spettro risultante dalla misura della potenza radiante emessa P_E in funzione della lunghezza d'onda, λ .



Skoog, West
Fondamenti di chimica analitica
Edises

Metodi spettroscopici: assorbimento

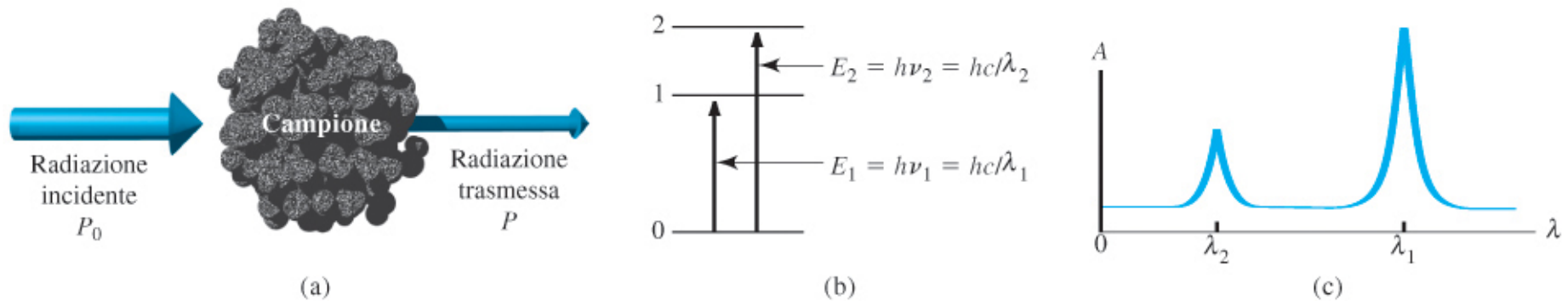


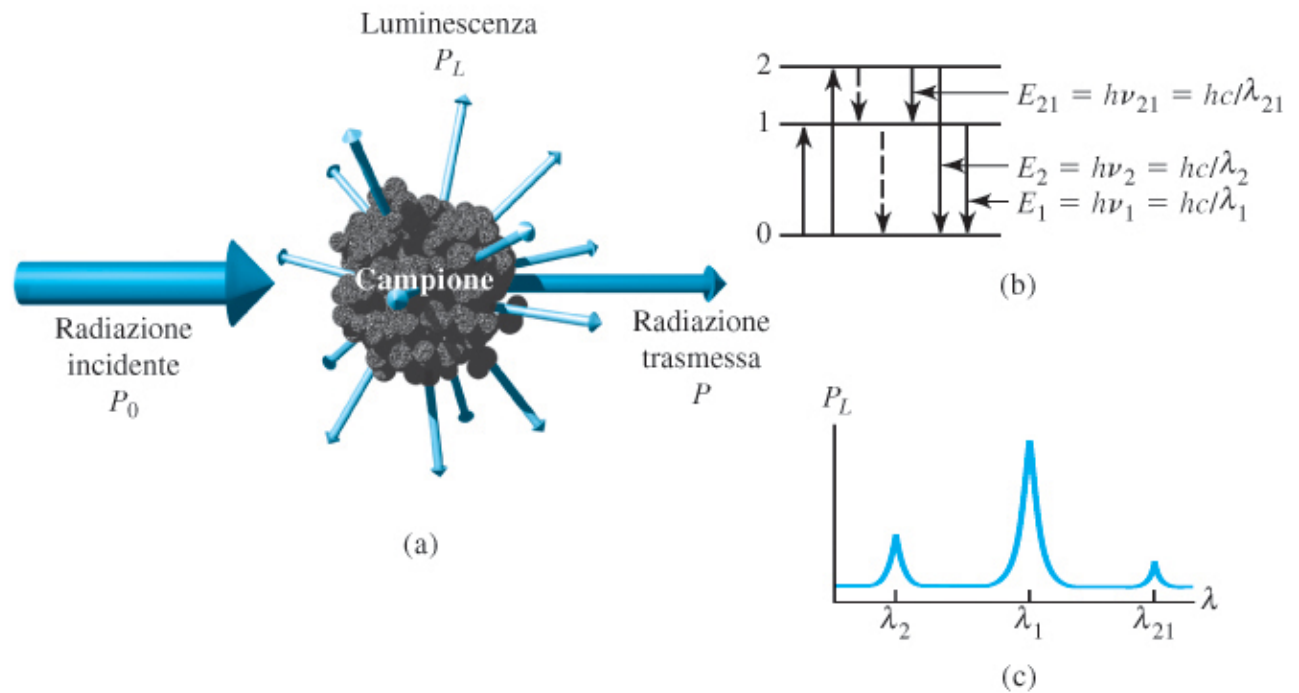
Figura 24-5 Metodi di assorbimento. La radiazione di potenza radiante incidente P_0 può essere assorbita dall'analita con il risultato di una diminuzione della potenza radiante P del fascio trasmesso. Affinché vi sia assorbimento, l'energia del fascio incidente deve essere uguale ad una delle differenze di energia mostrate in (b). Lo spettro di assorbimento risultante è mostrato in (c).



Skoog, West
Fondamenti di chimica analitica
EdiSES

Metodi spettroscopici: fluorescenza e fosforescenza

Figura 24-6 Metodi di fotoluminescenza (fluorescenza e fosforescenza). La fluorescenza e la fosforescenza hanno origine dall'assorbimento della radiazione elettromagnetica e quindi dalla dissipazione dell'energia mediante emissione della radiazione (a). In (b), l'assorbimento può causare l'eccitazione dell'analita allo stato 1 o 2. Una volta eccitato, l'analita può perdere il suo eccesso di energia mediante emissione di un fotone (luminescenza, mostrata dalla linea a tratto pieno) o mediante processi nonradiativi (linee tratteggiate). L'emissione avviene in tutti gli angoli e la lunghezza d'onda emessa (c) corrisponde alle differenze di energia tra i livelli. La principale differenza tra la fluorescenza e la fosforescenza risiede nel tempo dell'emissione, nel caso della fluorescenza inizia subito mentre nella fosforescenza è ritardata.



Spettri di emissione e di assorbimento

Si ottiene uno **spettro di assorbimento** quando si analizza un fascio di luce dopo che ha attraversato una sostanza.

Si ottiene uno **spettro di emissione** quando si analizza un fascio di luce emesso, in opportune condizioni, da una sostanza.

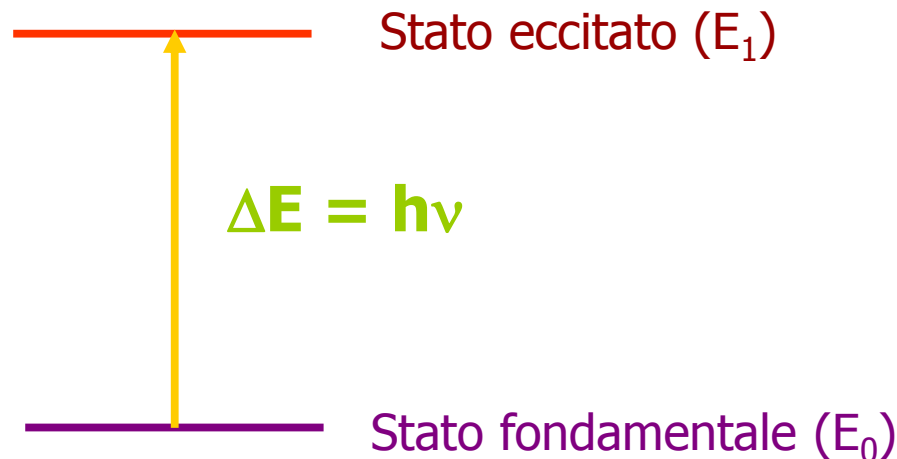
Per una stessa molecola lo spettro di emissione e di assorbimento possono essere assimilati al positivo e al negativo di una fotografia nel senso che una radiazione presente nello spettro di emissione sarà mancante in quello di assorbimento

Quando la luce colpisce un campione, le lunghezze d'onda con energia idonea a promuovere il salto degli elettroni dallo stato fondamentale a quello eccitato sono rimosse dallo spettro trasmesso

Principio :

Quando una radiazione passa attraverso uno strato di sostanza solida, liquida o gassosa, alcune **frequenze** possono essere **rimosse** selettivamente mediante assorbimento, cioè un processo in cui **l'energia elettromagnetica viene trasferita** agli atomi, ioni o molecole che costituiscono il campione.

L'assorbimento di radiazione **promuove** queste particelle dal loro stato normale (**fondamentale**) a uno o più stati **eccitati** ad energia **più alta**.



Secondo la teoria quantistica, gli atomi, le molecole o gli ioni possiedono soltanto un numero limitato di livelli energetici **discreti**; perché si abbia assorbimento della radiazione, l'energia del fotone eccitante deve essere **esattamente uguale** alla differenza di energia fra lo stato fondamentale ed uno degli stati eccitati della specie assorbente.

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

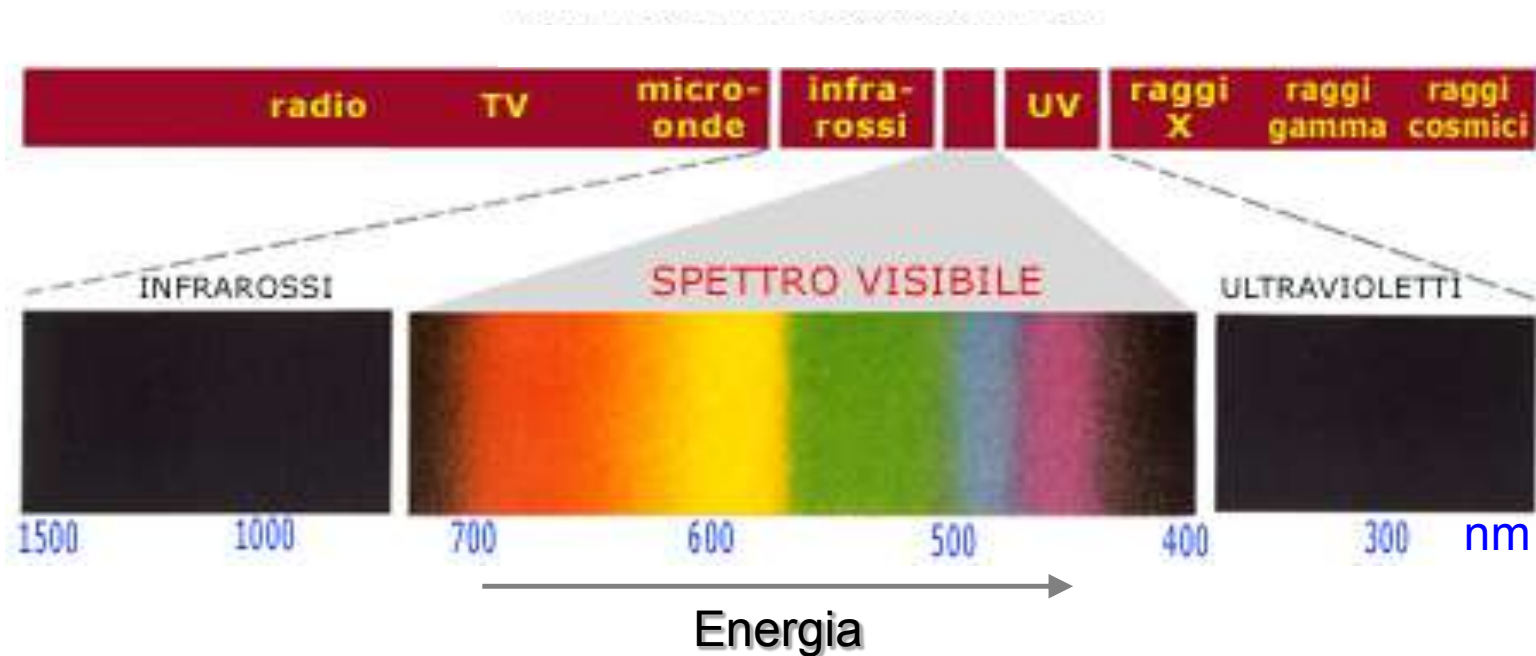
- spettroscopia di **ASSORBIMENTO**: quando atomi o molecole vengono eccitati e passano a stati energetici maggiori
- spettroscopia di **EMISSIONE**: dagli stati eccitati, ritornando allo stato fondamentale, le particelle riemettono energia sotto forma di radiazioni elettromagnetiche ($h\nu$)

Energia delle radiazioni

Nella tecnica **uv-vis** si impiegano radiazioni nell'intervallo 200-800 nm, la cui energia è sufficiente ad attivare transizioni elettroniche, che causano il passaggio di elettroni degli strati esterni a stati eccitati

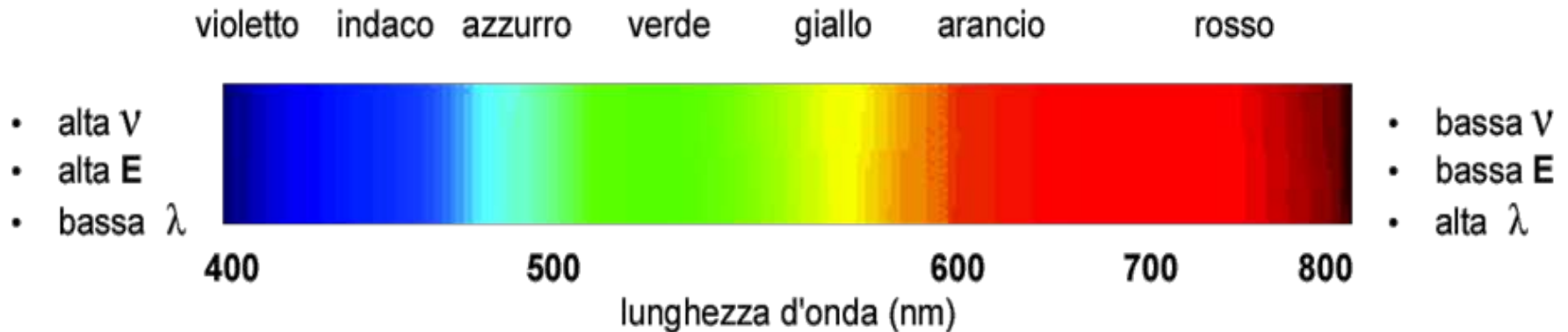
UV (Ultravioletto) \Rightarrow 200 - 400 nm

Visibile \Rightarrow 400 - 800 nm



La luce visibile

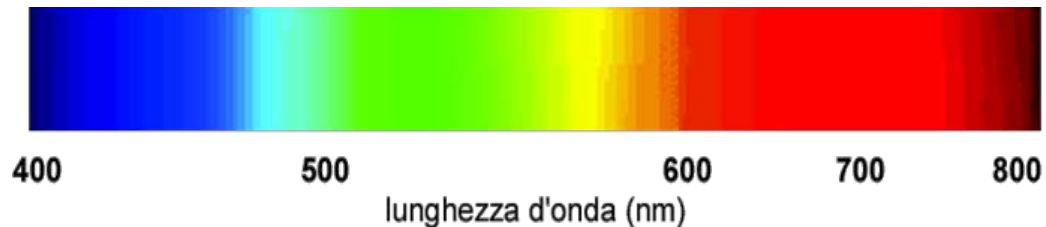
La radiazione visibile rappresenta solo una piccola parte dello spettro elettromagnetico:



Alle **diverse radiazioni visibili** che differiscono per la loro lunghezza d'onda (quindi per la loro diversa frequenza ed energia) corrispondono i **diversi colori**.

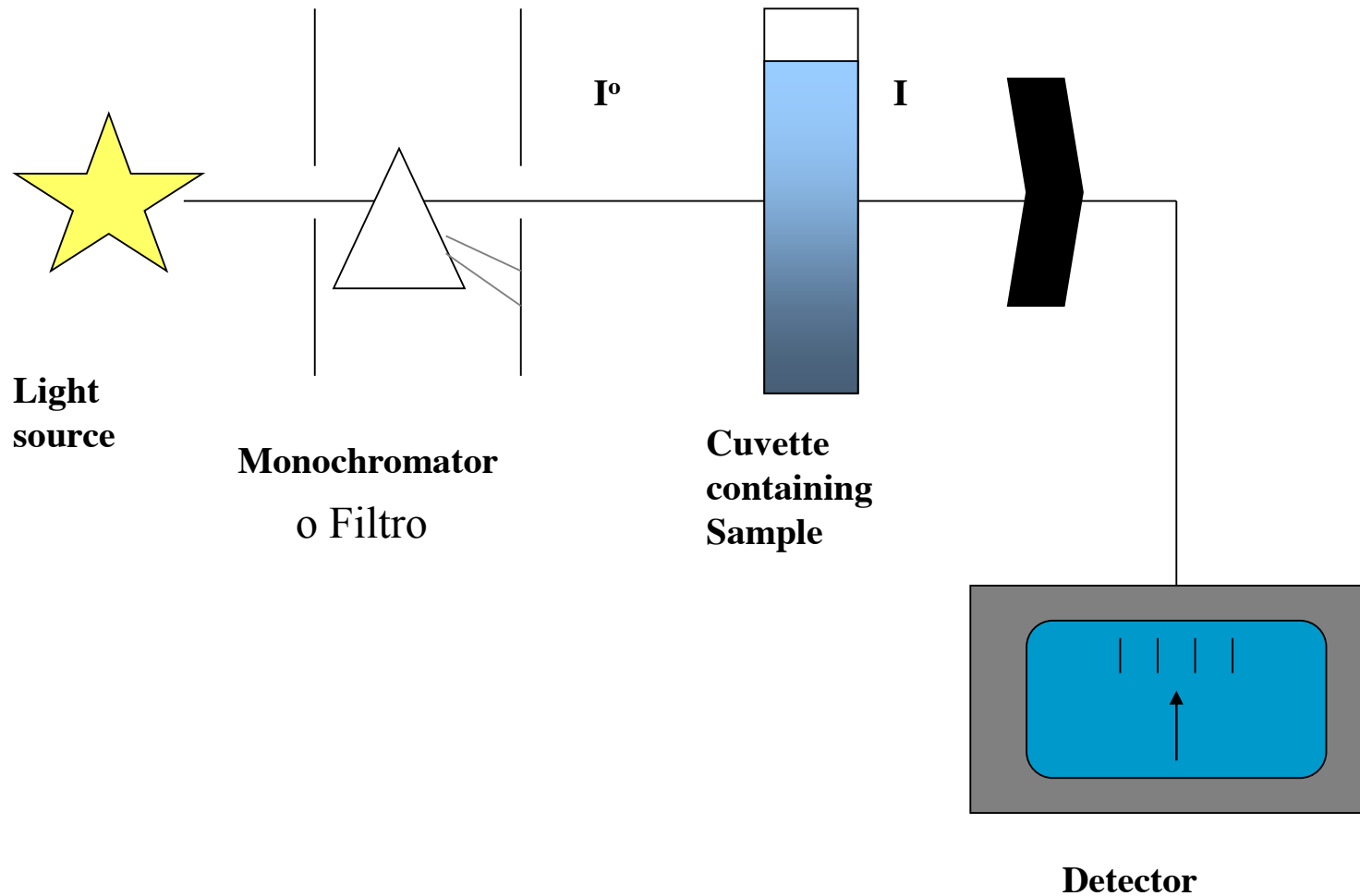
Colori della luce visibile

Lunghezza d'onda	Assorbita	Osservata
380-420	violet	green-yellow
420-440	violet-blue	yellow
440-470	blue	orange
470-500	blue-green	red
500-520	green	purple
520-550	yellow-green	violet
550-580	yellow	violet-blue
580-620	orange	blue
620-680	red	blue-green
680-780	purple	green



Strumentazione per la misura dell'assorbimento

Gli spettri di assorbimento sono misurati tramite **spettrofotometri**



SORGENTI DI RADIAZIONE ELETTROMAGNETICA

Quello che differenzia le fonti di luce (e quindi la qualità della radiazione emessa) è il meccanismo con cui viene generata l'onda elettromagnetica.

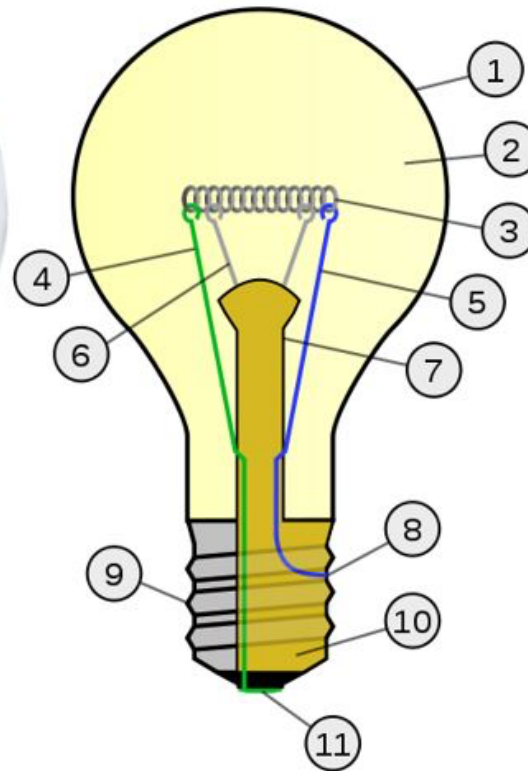
Poiché l'onda trasporta energia, il meccanismo che la genera deve agire su una sostanza (gassosa, liquida o solida) in modo da trasformare una qualche **sorgente di energia** in onde elettromagnetiche.

Le fonti di radiazione più antiche (olio, candele, fiammiferi, ecc.) sfruttano come fonte di energia la combustione di una sostanza (in presenza di O_2) per fornire energia agli atomi presenti nella sostanza in modo che possano passare in livelli eccitati, per poi decadere ed emettere luce.

Il colore della luce dipende dagli elementi che sono presenti e quindi dal tipo di transizioni che si verificano; comunque queste sono sorgenti ad ampio spettro di emissione, visto che contengono composti di molti atomi differenti, per cui le possibilità di transizioni energetiche sono molte (es. presenza di livelli vibrazionali per legami tra atomi e molecole).

SORGENTI TERMICHE (SORGENTI CONTINUE)

Le lampade a incandescenza sono costituite da un sottile filamento di tungsteno (W), posto sotto vuoto in un'ampolla di vetro, che, percorso da corrente elettrica, si riscalda per effetto Joule e quindi viene portato ad alta temperatura (2000-2500°C), emettendo luce.



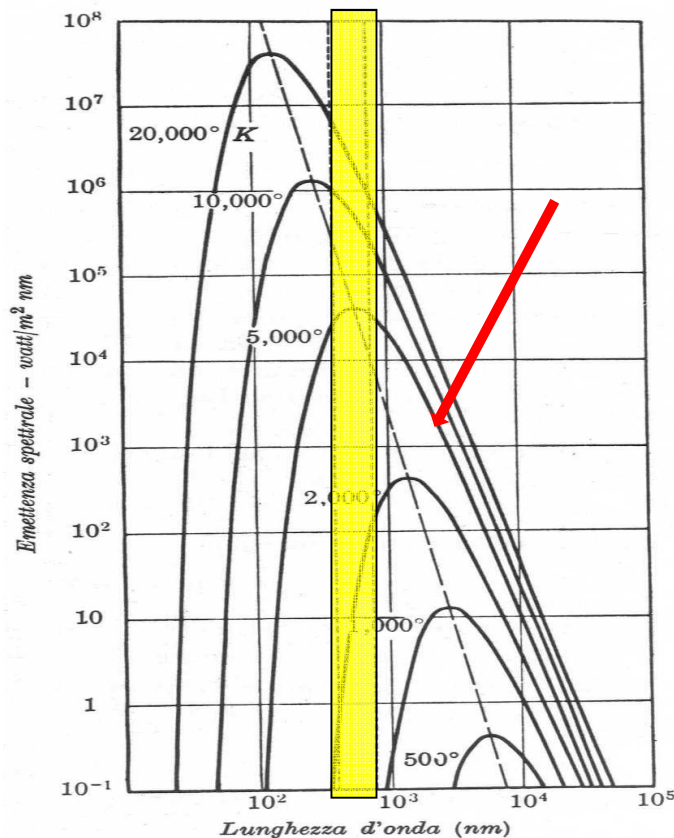
- 1) Bulbo di vetro
- 2) Gas inerte (argon- kripto)
- 3) Filamento di tungsteno
- 4) Filo di andata
- 5) Filo di ritorno
- 6) Supporto del filamento
- 7) Supporto della lampada
- 8) Contatto con la base
- 9) Base a vite
- 10) Isolante
- 11) Contatto sulla base

SORGENTI TERMICHE (SORGENTI CONTINUE)

Poiché W ha un altissimo punto di fusione (circa 3400 °C), il calore ottenuto non arriva a fonderlo o farlo sublimare rapidamente, ma rimane sotto forma di energia cinetica delle vibrazioni degli atomi del metallo.

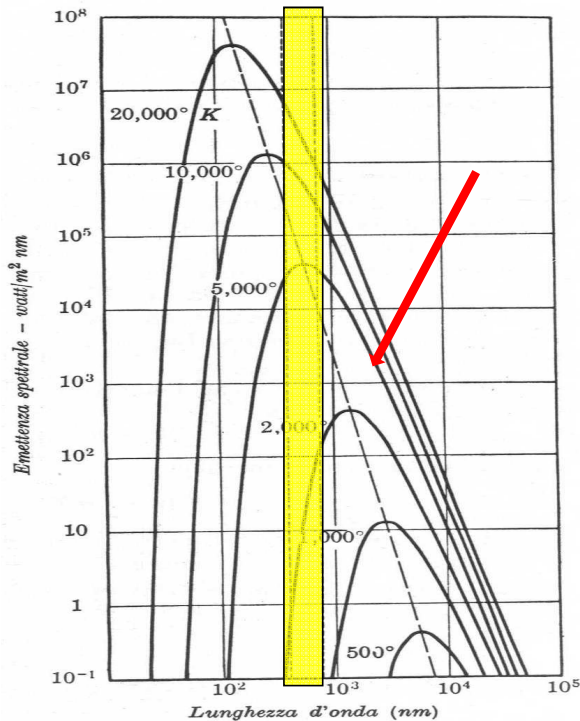
Le vibrazioni avvengono in tanti modi possibili a seconda della struttura del solido, ma di norma il loro numero, frequenza e ampiezza crescono con l'aumento di T.

Anche tutti gli elettroni dei livelli interni vibrano assieme agli ioni, con lo stesso spettro di frequenze, emettendo onde elettromagnetiche; lo spettro di frequenza della radiazione emessa comprende quindi tutte le ν di possibili oscillazioni e infatti è continuo, estendendosi dal **lontano infrarosso fino al visibile**.



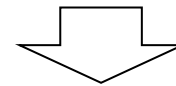
SORGENTI TERMICHE (SORGENTI CONTINUE)

La posizione del picco di intensità di emissione al variare della temperatura e la sua intensità sono espressi dalle **Leggi del corpo nero**



La lunghezza d'onda a cui è massima la radiazione emessa dal corpo nero si calcola dalla Legge di Wien $\lambda_{\text{max}} \cdot T(K) = \text{costante}$

E la potenza totale emessa per unità di superficie è data dalla legge di Stefan-Boltzmann: $I = \sigma T^4$



un qualunque corpo che si trovi a temperatura $T \neq 0 \text{ K}$ è sorgente di radiazione elettromagnetica dovuta al moto di agitazione termica degli atomi che lo compongono

- bassa efficienza energetica (<5%)
- tempo di vita limitato
- fragilità

SORGENTI TERMICHE

Spettro continuo

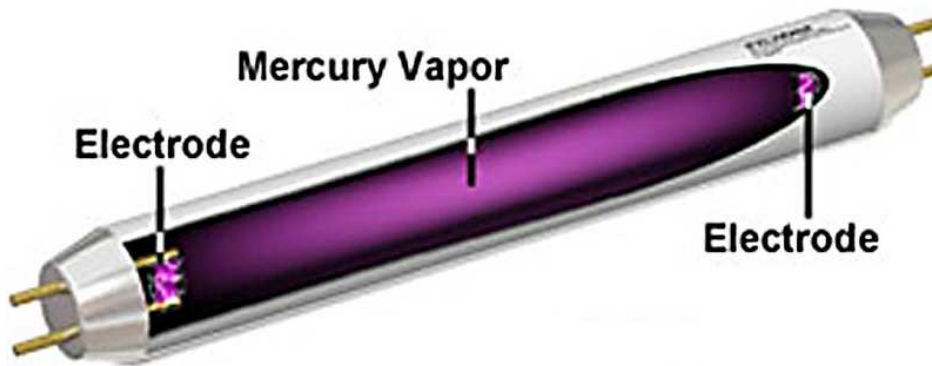
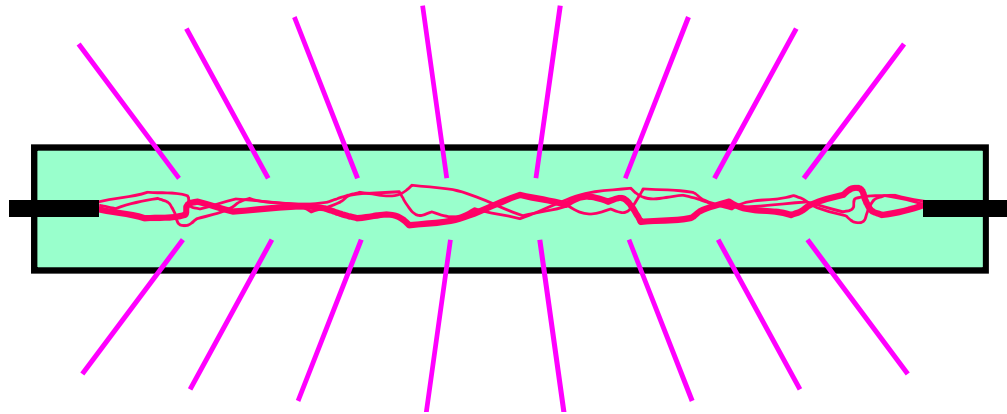


Per migliorare ulteriormente l'emissione nel blu/verde occorre raggiungere T ancora maggiori, che si ottengono con le **lampade alogene**: queste differiscono da quelle normali a incandescenza solo per avere nell'ampolla (di **quarzo**, per resistere meglio alla maggiore T) non il vuoto ma un **gas alogeno** (spesso I) a bassa pressione.

Lo iodio contrasta l'**eventuale evaporazione** di atomi di W: I si lega al W evaporato formando ioduro di tungsteno che, a contatto con il filamento caldo, può decomporre ridepositando W sul filamento, mentre I torna allo stato gassoso

In questo modo, anche lavorando a T maggiori il filamento si deteriora molto meno, la lampada non si rompe troppo presto, e si ottiene una curva di emissione più alta e con più contributo del blu, per cui il colore della luce è bianco/bluastro

LAMPADE A SCARICA DI GAS: SORGENTI DI RIGHE

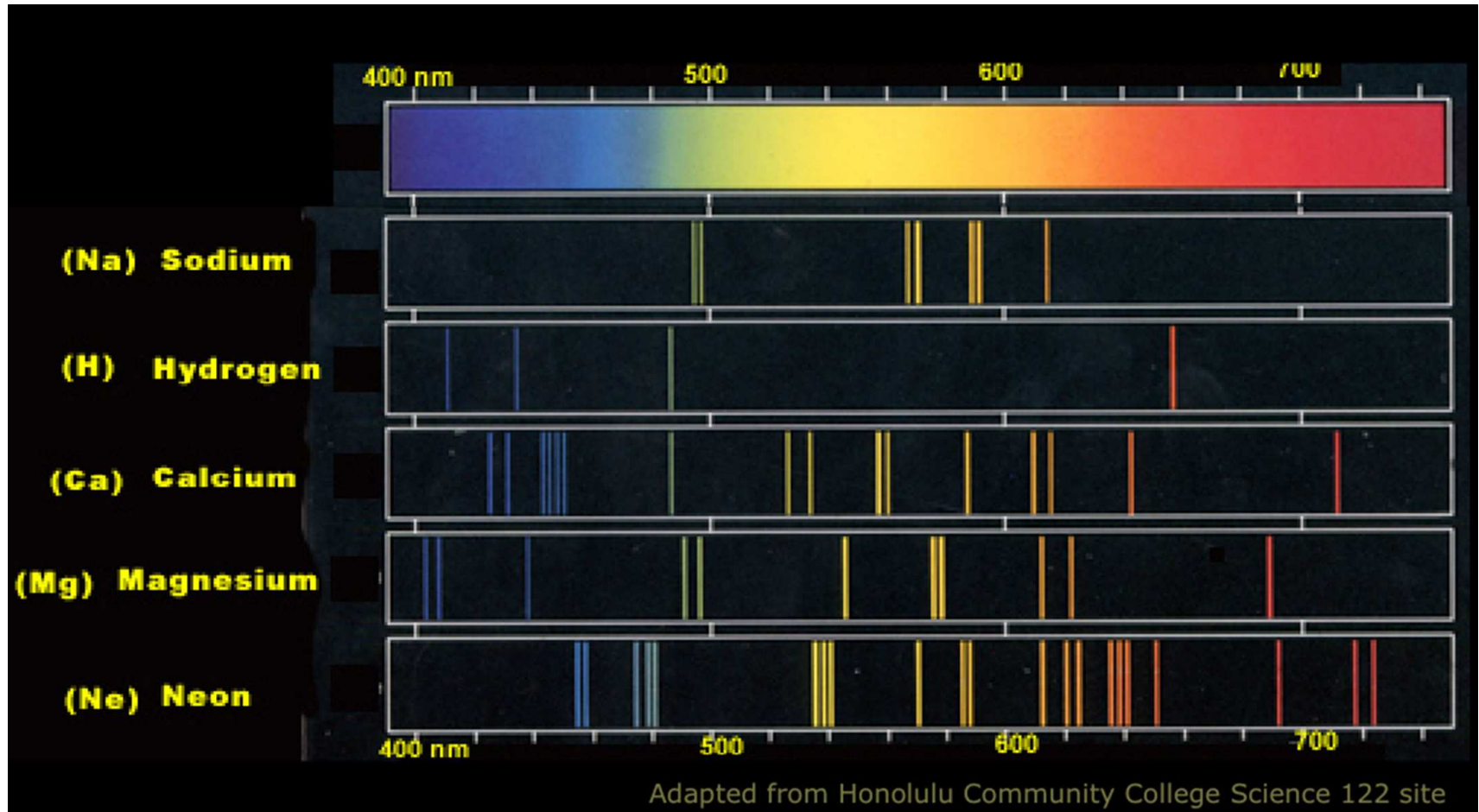


Nel tubo a scarica si applica una grande differenza di potenziale tra i due elettrodi estremi, costituiti ciascuno da un filamento che si riscalda per emettere elettroni (ma non tanto da emettere molta luce).

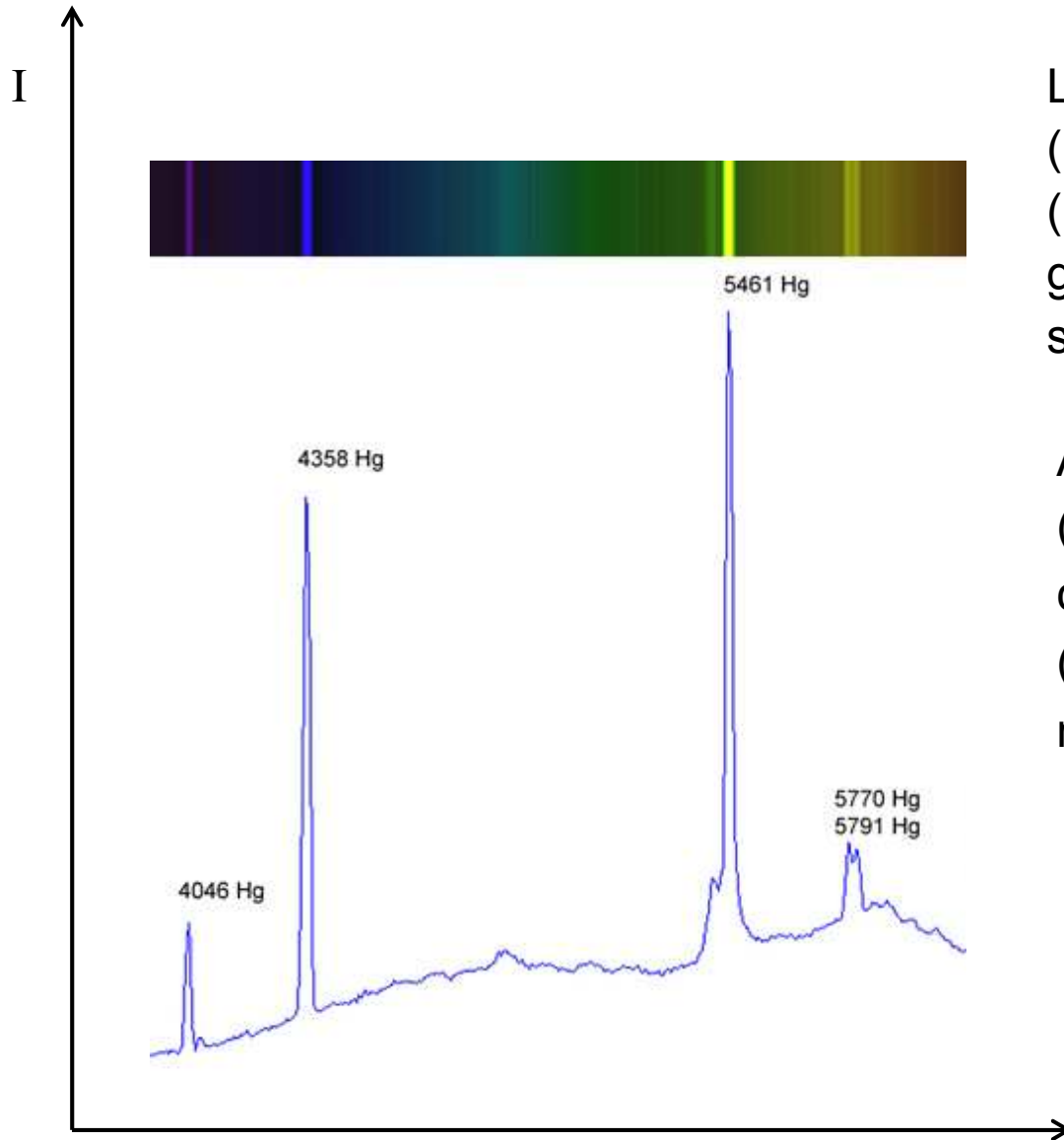
Nel tubo c'è un gas a bassa pressione (es. neon, mercurio), i cui atomi vengono portati a livelli eccitati con l'energia che ricevono negli urti con gli elettroni accelerati dalla differenza di potenziale.

LAMPADE A SCARICA DI GAS: SORGENTI DI RIGHE

Nel decadimento a livelli più bassi si ha emissione di fotoni solo a precisi valori di λ , pertanto lo spettro di emissione è uno SPETTRO DI RIGHE caratteristico del gas usato



LAMPADE A SCARICA DI GAS: SORGENTI DI RIGHE

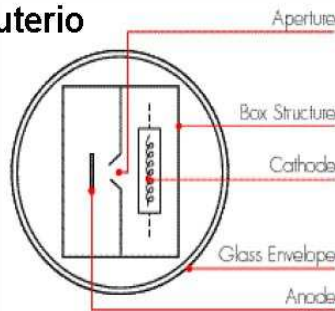


Lampade al **Neon**, **Xenon** (laboratorio), vapori di **Hg** (laboratorio microbiologico – germicida), di **Sodio** (illuminazione stradale), ecc.

Alta efficienza energetica (intorno al 30%) ma bassa resa cromatica luce (quasi monoscromatica, poco naturale e poco gradevole)

LAMPADE A SCARICA DI GAS: A DEUTERIO SORGENTE “QUASI” CONTINUA

Lampada a Deuterio



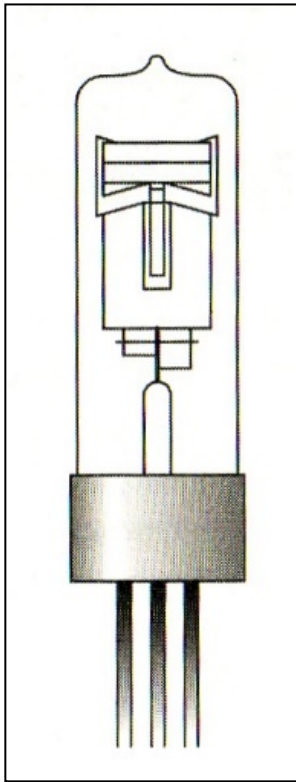
Anche la lampada a deuterio è un tipo di lampada a tubo di scarica, con filamento emettitore di elettroni ed elettrodi di accelerazione, con una struttura ottimizzata per generare la luce da una regione molto delimitata e favorire la collimazione del fascio.



Le lampade a D forniscono uno spettro luminoso **quasi continuo** nel range di lunghezze d'onda che va dall'UV (185-400 nm) al visibile (400-800 nm).

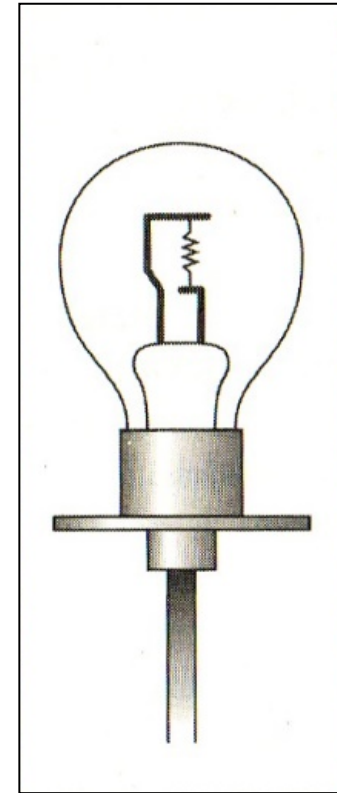
Usate ampiamente come sorgente di luce UV in apparecchiature di laboratorio come spettrofotometri UV/VIS e strumenti di cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC)

SORGENTI CONTINUE PER SPETTROFOTOMETRIA



Lampada al deuterio

UV 200-400 nm



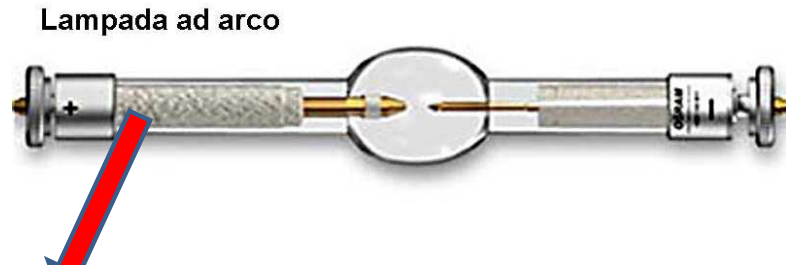
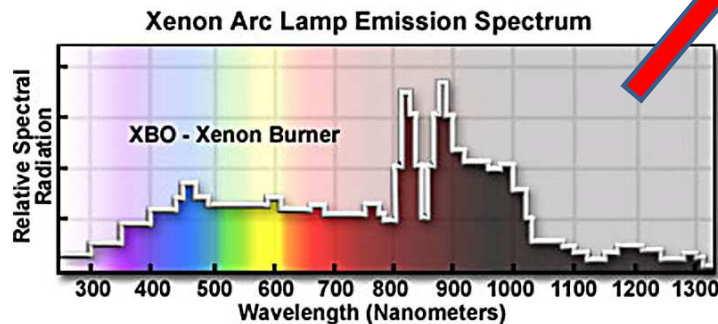
Lampada al tungsteno

VIS 400-800 nm

LAMPADE A SCARICA DI GAS AD ALTA PRESSIONE SORGENTI DI “BANDA”/CONTINUE

Immettendo nella lampada il gas con una pressione maggiore (ma tale da non impedire i processi di urto tra elettroni e atomi, senza i quali la scarica non si innescherebbe e la lampada non funzionerebbe), aumenta moltissimo la possibilità di urti tra atomi che comporta diverse possibilità di scambio di E e di decadimento.

L'effetto complessivo è quello di un notevole **allargamento di ogni riga spettrale**, cioè emissione di fotoni con E maggiore o minore di quella su cui è centrata l'emissione, **sovrapposto a un fondo continuo** di radiazione a tutte le lunghezze d'onda

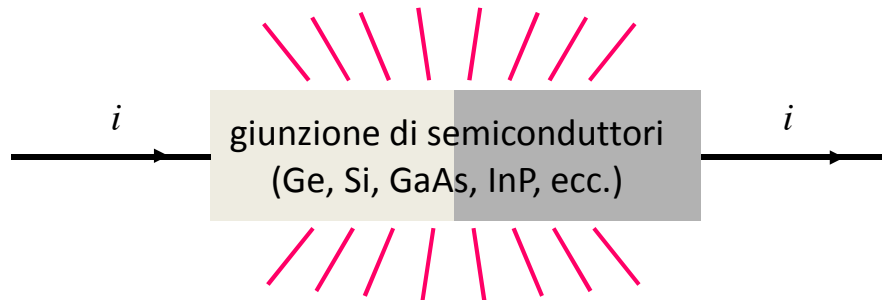


Le lampade ad alta p possono funzionare anche senza elettrodi emettitori di e^- grazie alla creazione di un arco voltaico (regione di plasma, ricca di e^- e ioni) tra due punte ravvicinate (serve in questo caso una ddp applicata molto alta per pochi decimi di s, per poter ottenere l'innesco della scarica nel gas. Successivamente la scarica si autosostiene anche con ddp di pochi V grazie alla continua generazione di ioni ed e^- per effetto degli urti nel gas

LAMPADE A LED: SORGENTI DI “BANDA”

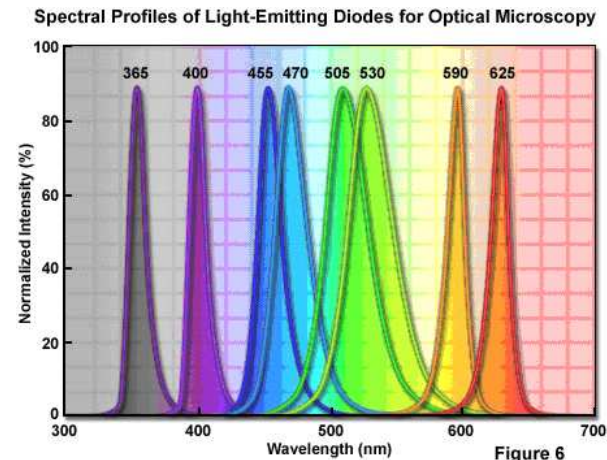
Diodi LED (Light emitting Diode) e Organic Led (OLED)

Il LED è un semiconduttore compatto che emette luce incoerente in uno spettro ristretto (quasi monocromatica) quando viene alimentato. Il colore della luce emessa dipende dalla composizione e dalle condizioni del materiale semiconduttore utilizzato (ad esempio dal drogaggio), e può essere vicino-ultravioletto, visibile, o infrarossi.



spettro a larghe bande di emissione

- buona efficienza ($\approx 20\%$) e luce di diversi colori
- alta durata, robustezza
- miniaturizzazione



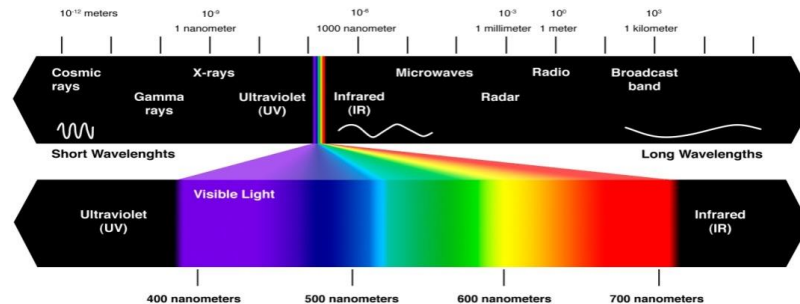
LAMPADE A LED: SORGENTI DI “BANDA STRETTA”

LASER *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*



- alta efficienza e altissima intensità (MW/cm^2 - GW/cm^2)
- luce con coerenza spaziale (fasci collimati) e con coerenza temporale
- possibilità di modulare l'intensità
- luce monocromatica

In sintesi: SORGENTI PIU' USATE



La sorgente luminosa è costituita da una lampada a:



- **deuterio** per la zona dell'UV
emissione: $\approx 160-375$ nm



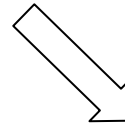
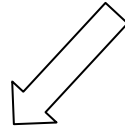
- **tungsteno** per la regione
visibile
emissione: $\approx 350-2500$ nm



- **xenon** per entrambe le zone
emissione: $\approx 190-1100$ nm

Selettori di lunghezza d'onda

Per analizzare la radiazione emessa da una sostanza eccitata (spettroscopia di emissione) o la radiazione assorbita dopo che è passata la radiazione (spettroscopia di assorbimento) è necessario avere un dispositivo che scompone un singolo fascio di luce policromatica in più fasci di luce monocromatica contenente onde di una sola frequenza



FILTRI

Un **filtro** è il più semplice selettore di λ

Consente la trasmissione di alcune lunghezze d'onda di una radiazione mentre assorbe parzialmente o completamente tutte le altre

MONOCROMATORI

Un **monocromatore** è un dispositivo che isola una certa banda di lunghezze d'onda generalmente più stretta di quella ottenibile con un filtro. A differenza dei filtri, consente di ottenere uno **spettro** di assorbimento o di emissione

FILTRI

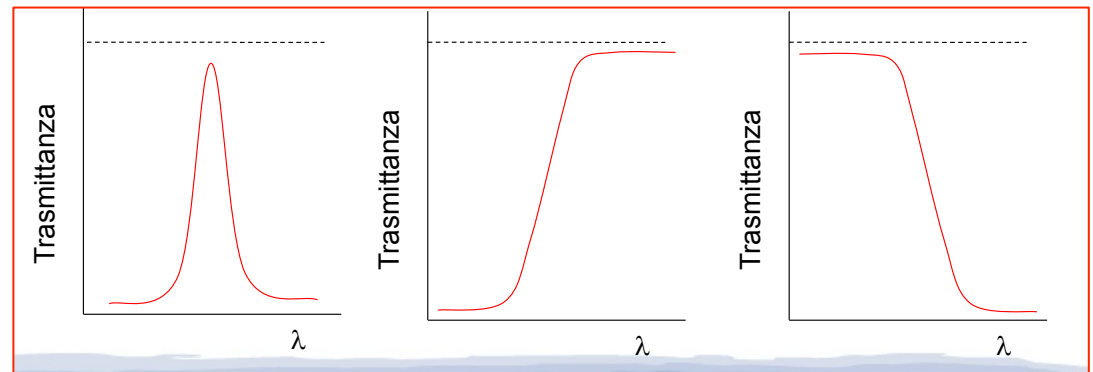
a. FILTRI AD ASSORBIMENTO/ TRASMISSIONE

Nel campo del visibile i filtri a trasmissione sono **vetri colorati** o gelatine colorate che assorbono selettivamente una ben definita parte dello spettro visibile.

Un filtro è caratterizzato da una lunghezza d'onda corrispondente a un massimo di trasmissione dell'intensità e da un'ampiezza della banda di trasmissione intorno a questo massimo che varia da 35 a 60 nm.



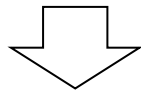
Possono trasmettere un certo intervallo di λ , oppure tutte le radiazioni con λ al di sopra o al di sotto di un determinato valore



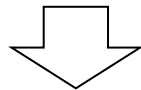
FILTRI: LARGHEZZA DI BANDA EFFICACE

Si definisce ampiezza della banda passante o efficace (Spectral Band Width SBW) l'intervallo di lunghezze d'onda che passa dal filtro con un'energia superiore al 50% dell'energia della λ nominale del filtro.

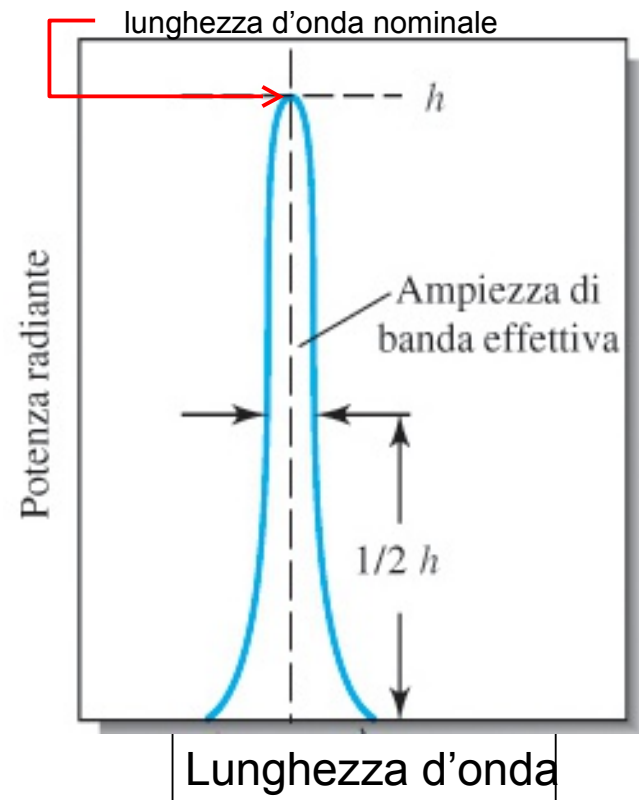
Per i filtri di assorbimento, anche combinando più filtri rimangono bande passanti dell'ordine dei 50 nm



si ha un indebolimento del raggio anche per le λ richieste



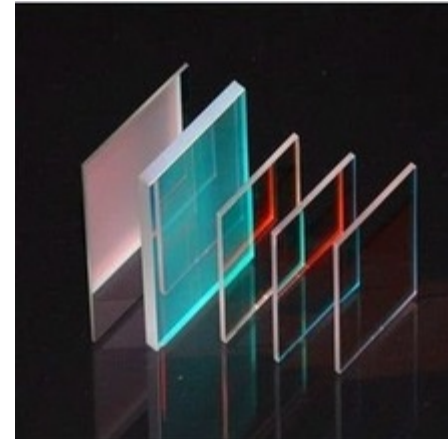
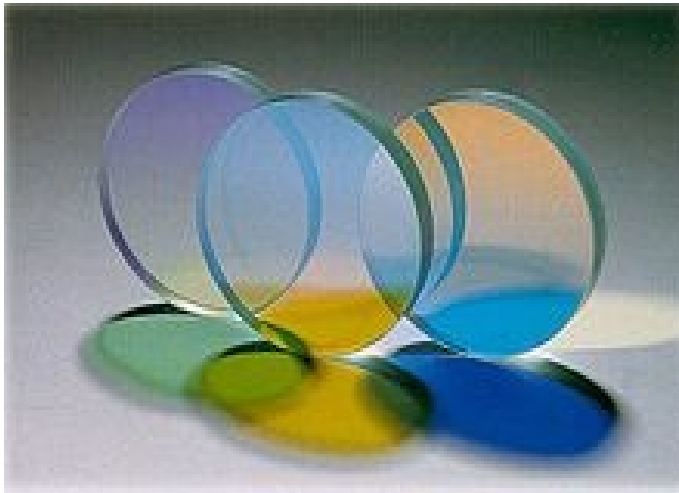
si utilizzano solo nei colorimetri (spettrofotometri a λ fissa nel visibile)



FILTRI

b. FILTRI A INTERFERENZA

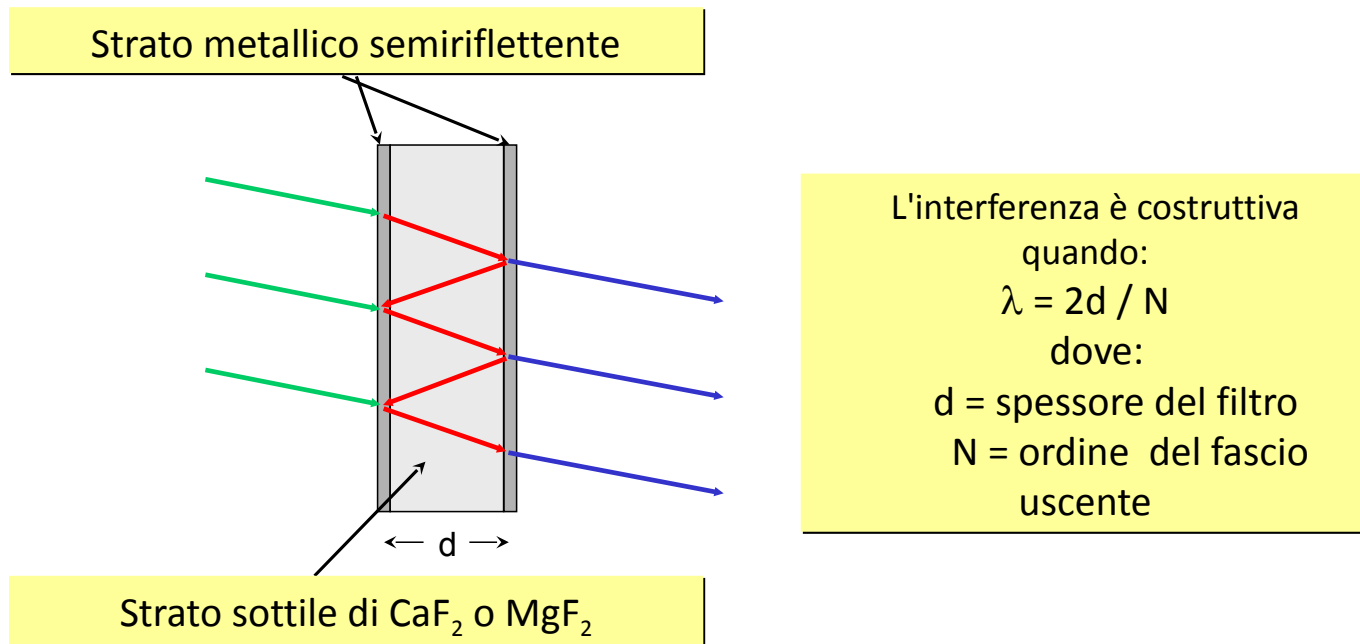
Sono costituiti da due lastre piane e parallele di vetro (o altro materiale trasparente), le cui facce interne sono rese semiriflettenti da uno strato sottile e trasparente di argento (o altro conduttore):



FILTRI

b. FILTRI A INTERFERENZA

- la luce passa attraverso la superficie
- quando arriva sul secondo lato la luce viene riflessa all'indietro
- si realizza una interferenza con la luce incidente, costruttiva o distruttiva, in funzione dello spessore dello strato sottile
- potrà essere trasmessa solo una λ specifica



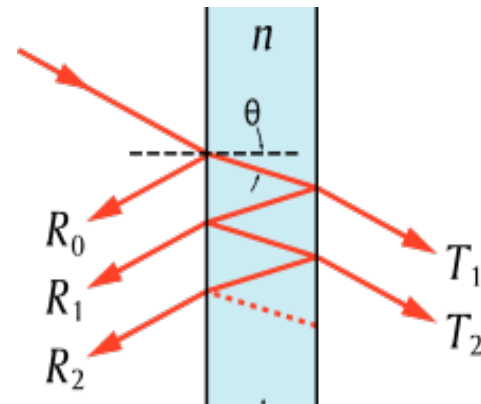
FILTRI

b. FILTRI A INTERFERENZA

L'effetto di “filtro” di radiazione è causato dall'interferenza tra le radiazioni uscenti, che danno interferenza costruttiva solo se la differenza di cammino ottico (che dipende dallo spessore d) tra loro è un multiplo intero della lunghezza d'onda, in pratica passano solo le λ sottomultiple dello spessore del filtro

$$\lambda = 2d/n$$

n = ordine di diffrazione



I filtri interferenziali sono più efficienti dei filtri ad assorbimento, fornendo bande passanti più strette, dell'ampiezza di 20 nm (nel visibile); sono però più costosi e si usano nei colorimetri migliori

EFFICIENZA FILTRI AD ASS. E AD INTERFERENZA



I filtri interferenziali sono più efficienti dei filtri ad assorbimento, fornendo bande passanti più strette, dell'ampiezza di 10-20 nm (nel visibile) vs. circa 50 nm dei filtri ad assorbimento; sono però più costosi e si usano nei colorimetri migliori

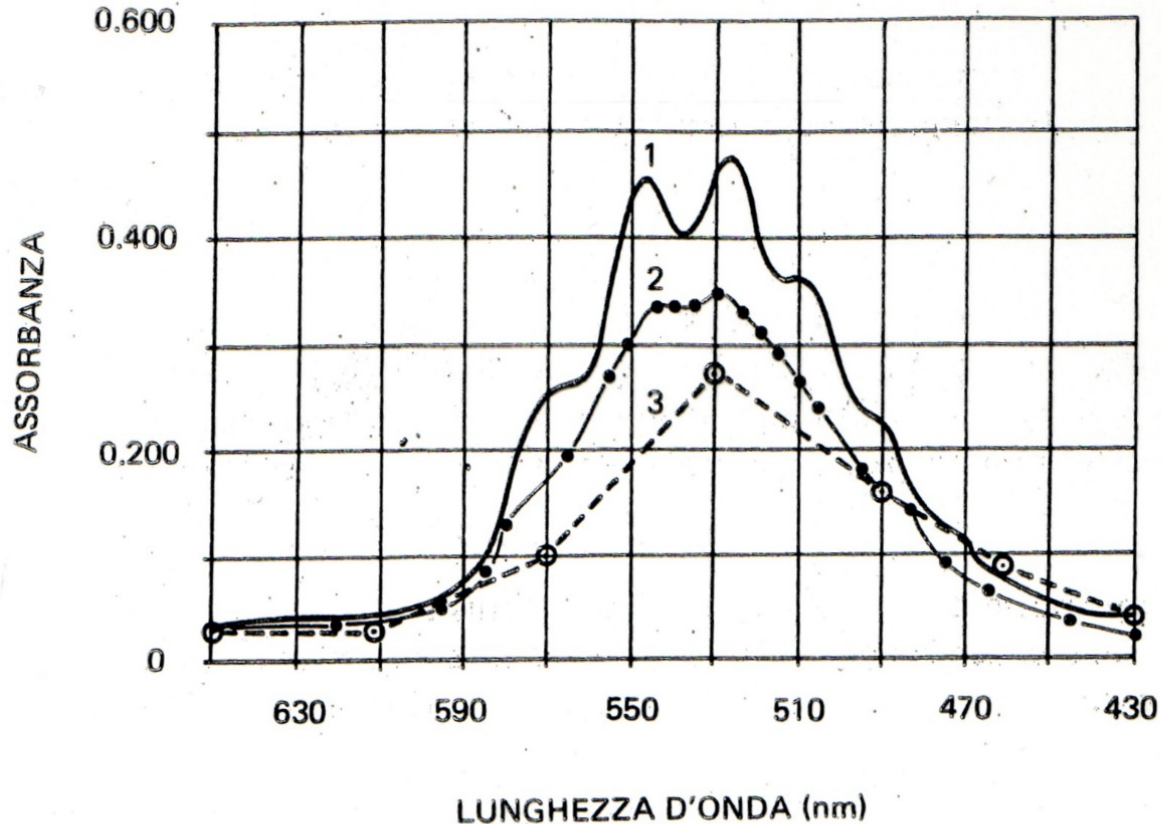
FILTRI

b. FILTRI A INTERFERENZA (recap)

Sfruttano il principio dell'interferenza. Un filtro ad interferenza è costituito da uno strato di materiale trasparente, ad es. nel visibile si usa MgF_2 coperto sulle due parti di un sottile film di Ag.

Ciascun film di Ag riflette circa la metà e trasmette l'altra metà della radiazione incidente: parte della radiazione è quindi riflessa ripetutamente dai film di argento ma a ciascuna riflessione un'altra parte della radiazione è trasmessa fuori. I raggi emergenti si sommano e si rinforzano per interferenza se la loro lunghezza d'onda è esattamente un multiplo pari della distanza che separa i due film di argento (interferenza costruttiva). Per le altre lunghezze d'onda i raggi interferiscono distruggendosi (interferenza distruttiva) cosicché non passa radiazione.

SPETTRO DI ASSORBIMENTO e LARGHEZZA BANDA EFFICACE



Spettri di assorbimento di una soluzione acquosa di KMnO_4 , registrati con tre bande passanti

Banda passante = 1 nm (Spettrofotometro doppio raggio SHIMADZU UV 210)

Banda passante = 10 nm (Spettrofotometro monoraggio COLEMAN 295)

Banda passante = 60 nm (Colorimetro monoraggio a filtri CHEMTRIX-TYPE 24).

MONOCROMATORI

Rappresentano un'alternativa ai filtri.

Mediante un monocromatore è possibile:

- **selezionare** una qualsiasi lunghezza d'onda all'interno dell'intervallo di utilizzazione del monocromatore.
- effettuare una **scansione** di lunghezze d'onda.

I monocromatori in uso attualmente sono: PRISMI e RETICOLI

PRISMI DI RIFRAZIONE

Si basano sul fatto che l'indice di rifrazione di un materiale è funzione della lunghezza d'onda e quindi diverse lunghezze d'onda verranno rifratte con diversi angoli.

I materiali più usati sono:

UV e visibile: quarzo

IR: NaCl, KCl

Attualmente i prismi sono per lo più stati soppiantati dai reticoli di interferenza

PRISMI DI RIFRAZIONE

Quando un raggio di luce bianca colpisce un prisma di vetro viene scomposto in diversi colori (come nell'arcobaleno).

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

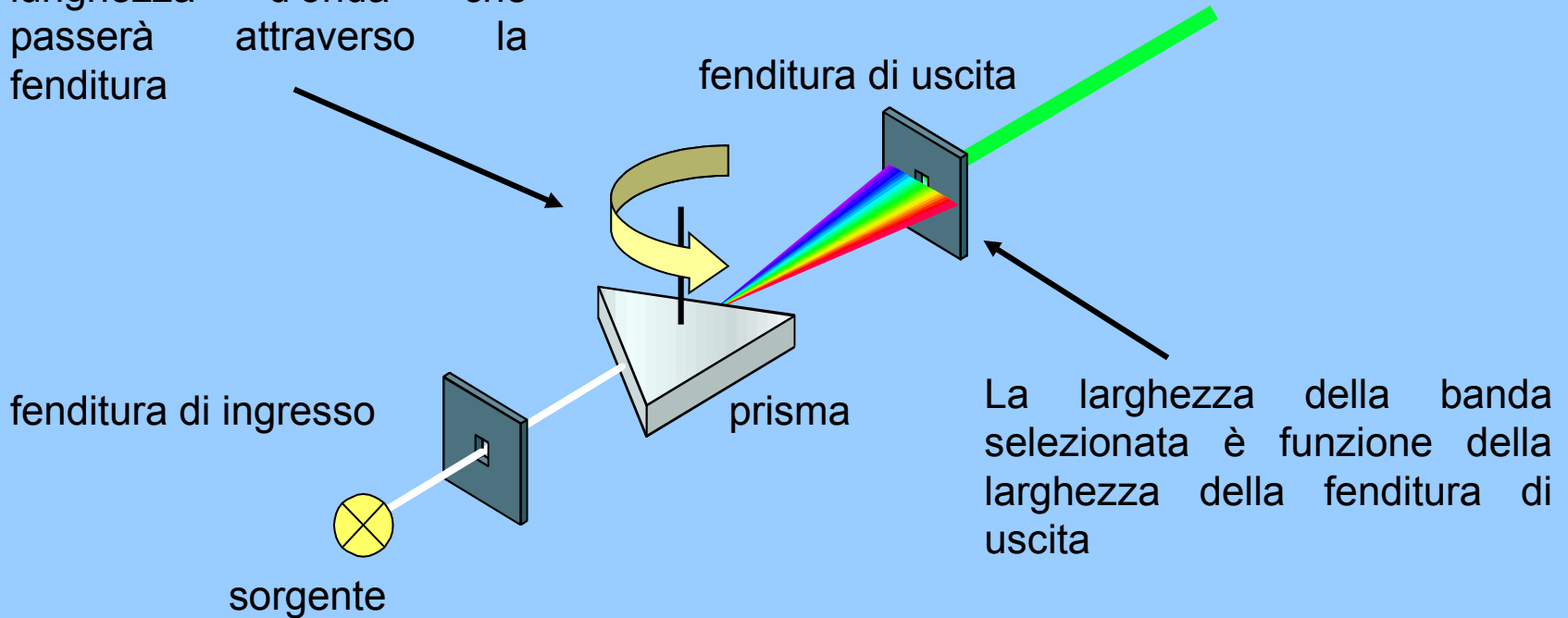
- la luce “bianca” è in realtà un miscuglio di radiazioni di diversa frequenza e quindi corrispondenti a tutti i colori;
- quando un raggio di luce passa da un mezzo ad un altro viene deviato (fenomeno detto “**rifrazione**”): l'entità della deviazione dipende dalla lunghezza d'onda del raggio incidente.



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

PRISMI DI RIFRAZIONE

Modificando la posizione del prisma cambierà la lunghezza d'onda che passerà attraverso la fenditura



PRISMI DI RIFRAZIONE

Vantaggi

- permettono di selezionare un ampio ambito di lunghezze d'onda
- Sono relativamente economici

Svantaggi

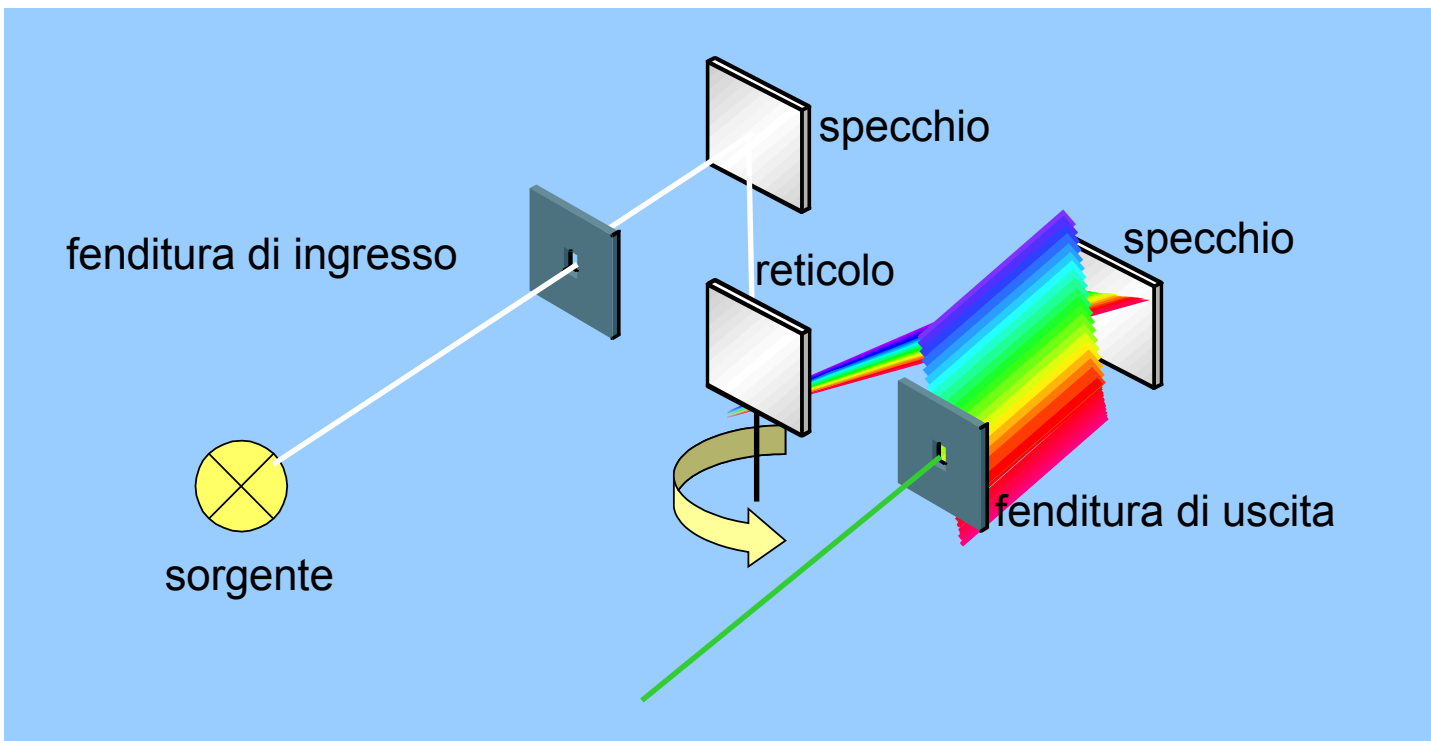
- la luce deve passare attraverso il materiale del prisma e ciò limita l'intervallo di applicazione del prisma (la radiazione non deve essere assorbita)
- la dispersione non è lineare: bassa dispersione a lunghezze d'onda elevate

RETICOLI

I reticoli possono essere:

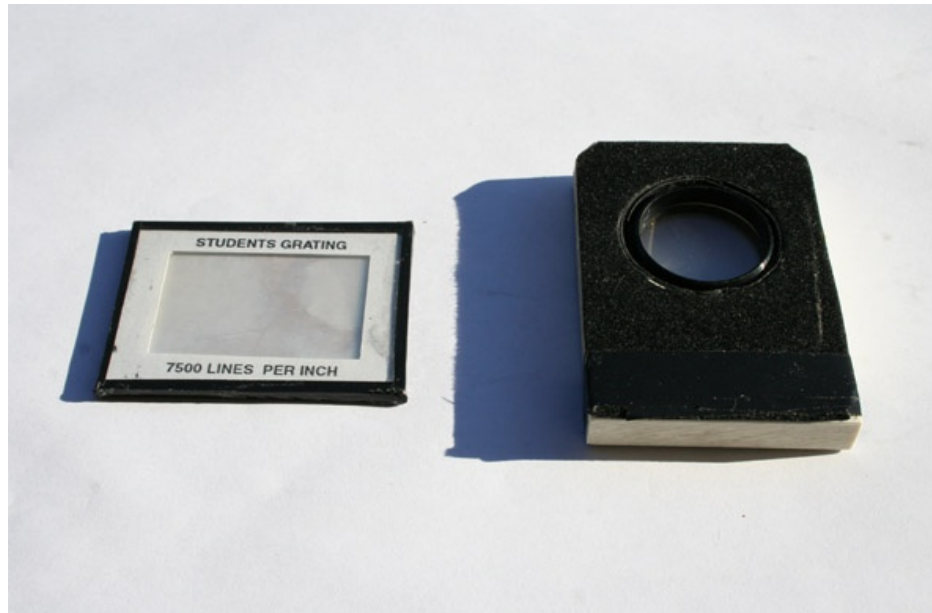
- a trasmissione
- a riflessione

Un monocromatore a reticolo contiene anche lenti e fenditure, necessarie al suo corretto funzionamento



RETICOLI

I reticoli di trasmissione sono costituiti solitamente da una lastra di vetro sulla cui superficie è incisa una trama molto fitta, anche 2000 fenditure al mm, di linee parallele, uguali ed equidistanti, a distanze confrontabili con la lunghezza d'onda della luce; la distanza tra le linee è detta "passo del reticolo"

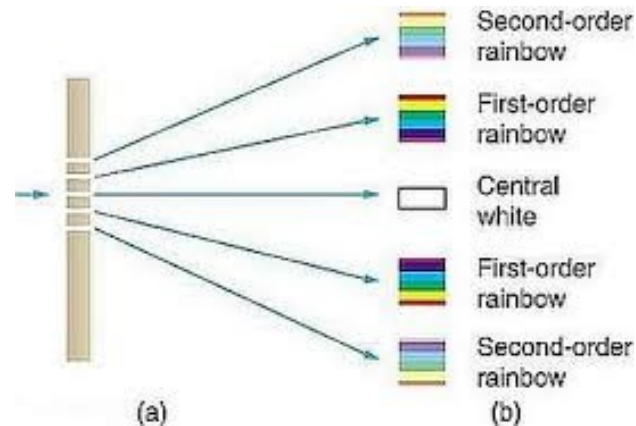
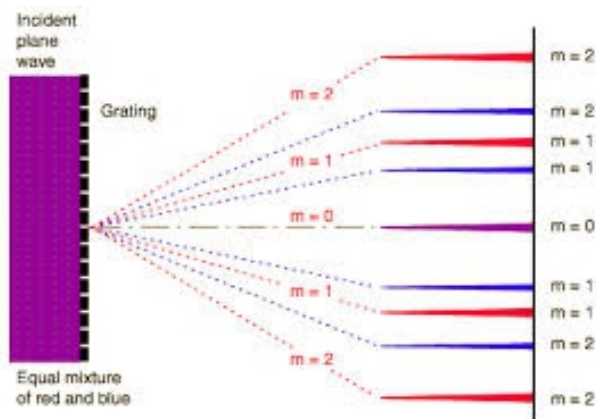


RETICOLI A TRASMISSIONE

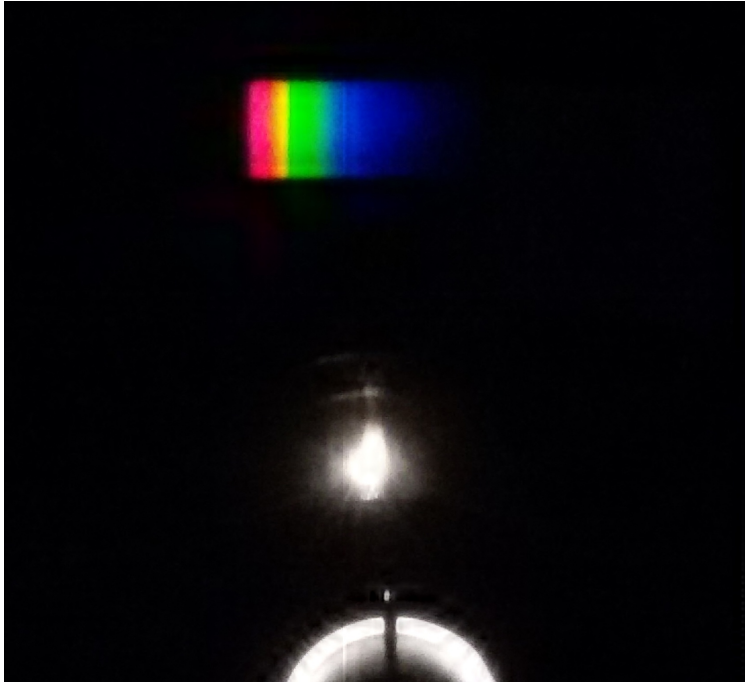
Le onde in uscita dai reticoli di trasmissione danno interferenza costruttiva ad angoli ϑ diversi per le diverse λ e si ottiene così la separazione: $d \sin \vartheta = n \lambda$; si ottengono più immagini, da quella centrale di ordine $m=0$ a quelle di ordine m crescente a mano a mano che si allontanano dal centro:

Separazione di due radiazioni

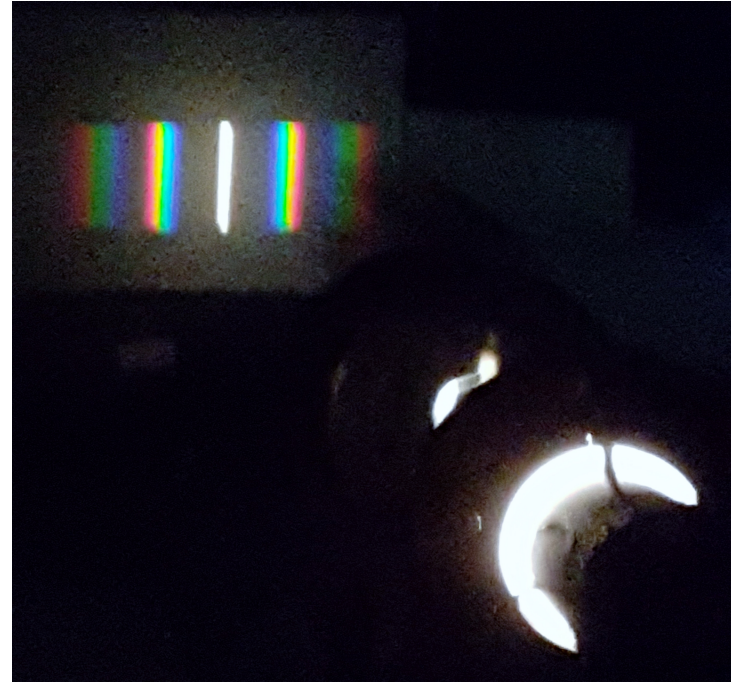
Frangie d'interferenza di luce policromatica



RETICOLI A TRASMISSIONE

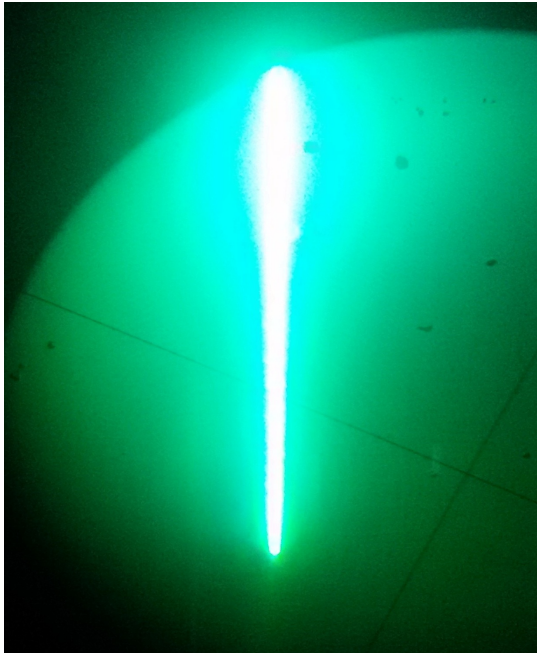


Dispersione di un prisma
(foto:M. Serra-classe IV AC)



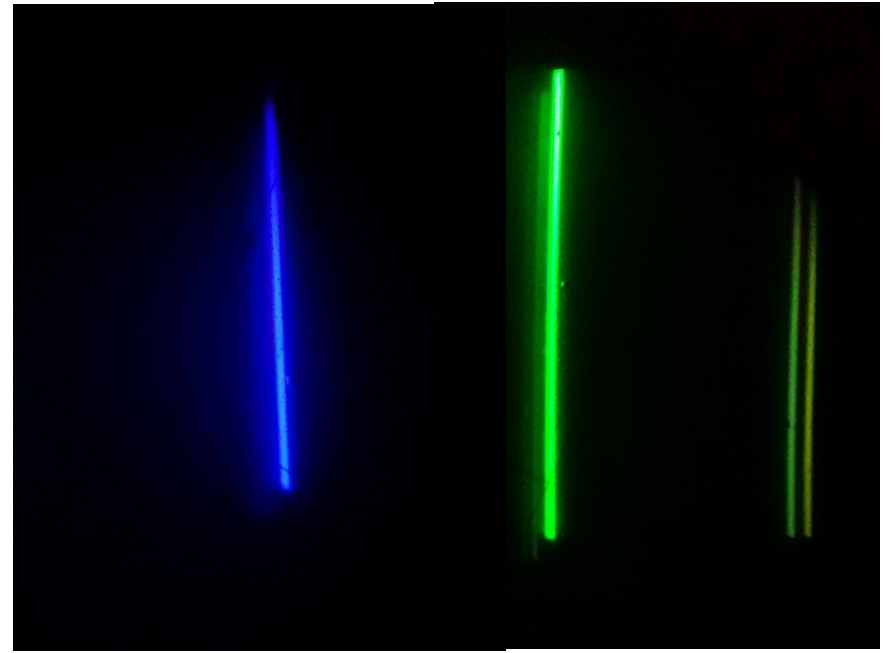
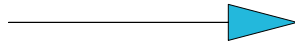
Dispersione di un reticolo a trasmissione,
si vedono la banda centrale (ordine zero) e
gli spettri di primo e secondo ordine
(foto: M. Serra-classe IV AC)

RETICOLI A TRASMISSIONE



Luce emessa dal mercurio vista
attraverso lo spettroscopio
(foto: A.Takafi - classe IV AC)

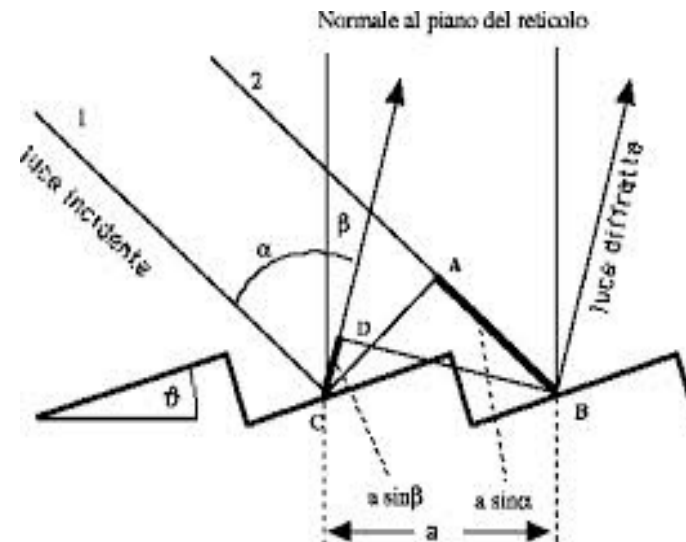
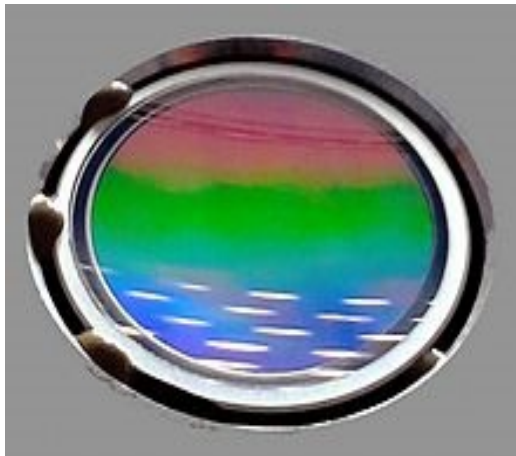
Reticolo a
trasmissione



Righe spettrali del mercurio
(foto: A. Takafi – classe IV AC)

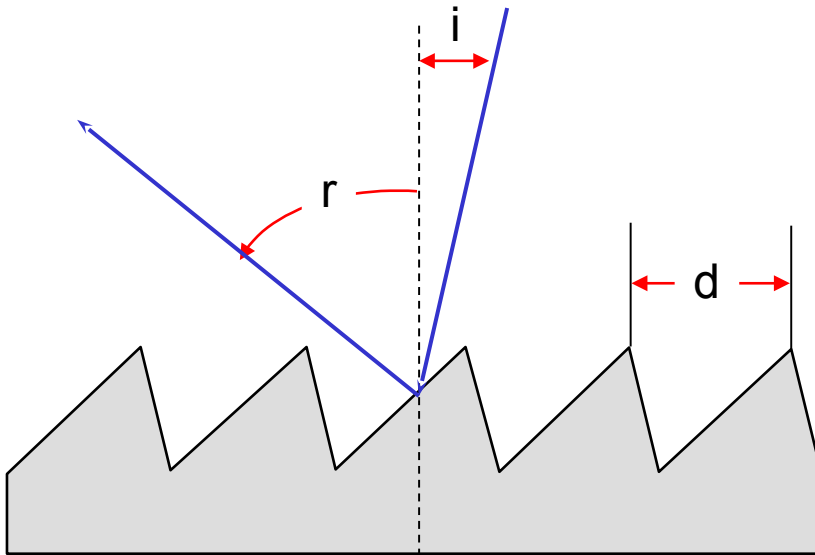
RETICOLI A RIFLESSIONE

Nei reticoli a riflessione di fase i solchi hanno un angolo di taglio caratteristico (detto *angolo blaze* ϑ) e possono essere del tipo *échelette* (la riflessione avviene sul lato più lungo) o *échelle* (la riflessione avviene sul lato più corto)



RETICOLI A RIFLESSIONE

Anche il funzionamento dei reticoli a riflessione è basato sull'interferenza, che è costruttiva quando: $n\lambda = d(\sin r + \sin i)$

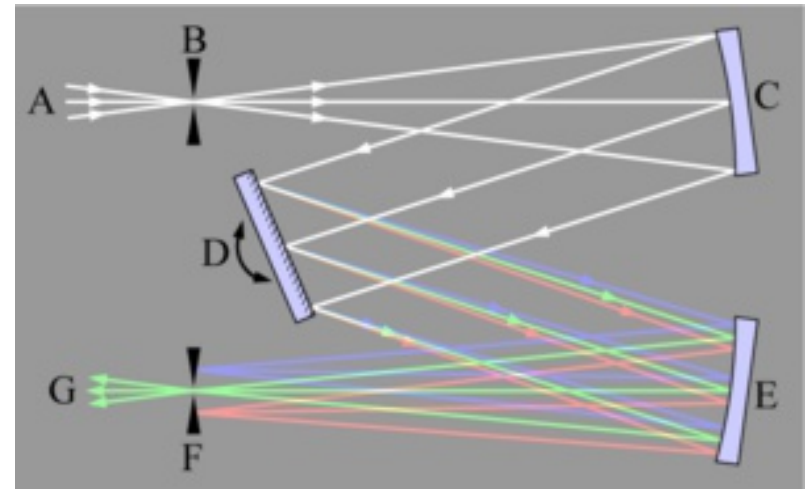


- i : angolo di incidenza della radiazione
- r : angolo di riflessione della radiazione
- d : distanza fra le linee
- n : ordine di riflessione
- λ : lunghezza d'onda

RETICOLI A RIFLESSIONE

Schema di un monocromatore a reticolo di Czerny-Turner :

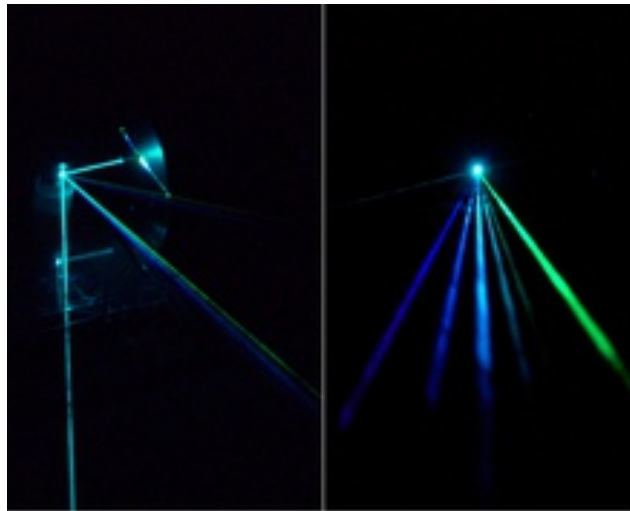
- A: sorgente di luce policromatica
- B: fenditura d'entrata
- C, E: specchi
- D: reticolo piano
- F: fenditura d'uscita
- G: radiazione monocromatica uscente



RETICOLI A RIFLESSIONE

Anche per i reticoli a riflessione di fase l'interferenza dei raggi uscenti è costruttiva ad angoli diversi per le diverse λ

Un raggio laser ad argon policromatico colpisce un reticolo a riflessione di silicio ed è separato in più raggi, uno per ogni lunghezza d'onda (da sinistra a destra 458 nm, 476 nm, 488 nm, 497 nm, 502 nm e 515 nm)



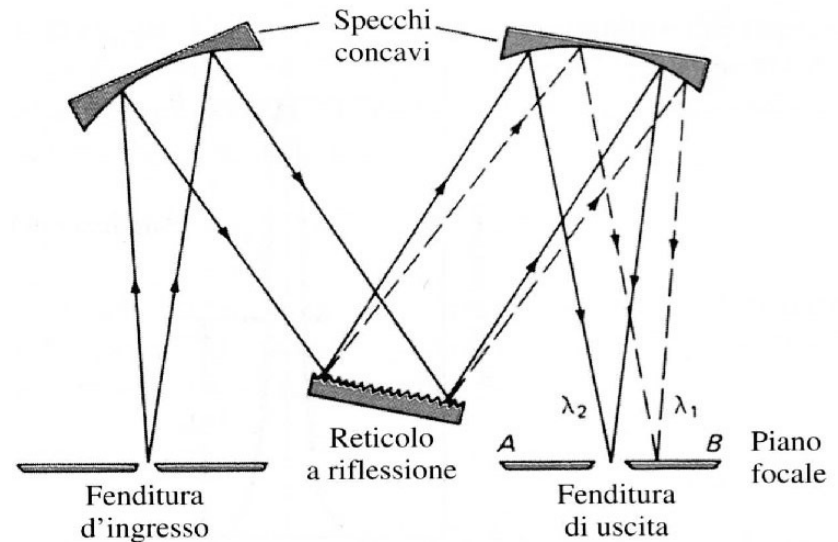
RETICOLO DI DIFFRAZIONE

Il **reticolo di diffrazione** sfrutta il principio ottico dell'interferenza di moltissimi fasci di luce che abbiano una precisa relazione di fase tra loro, ottenuti facendo passare/riflettere la luce usando un gran numero di fenditure regolari (reticolo a trasmissione/riflessione).

Il reticolo è il componente principale del **MONOCROMATORE**, la cui funzione è far uscire in una certa direzione una precisa λ .

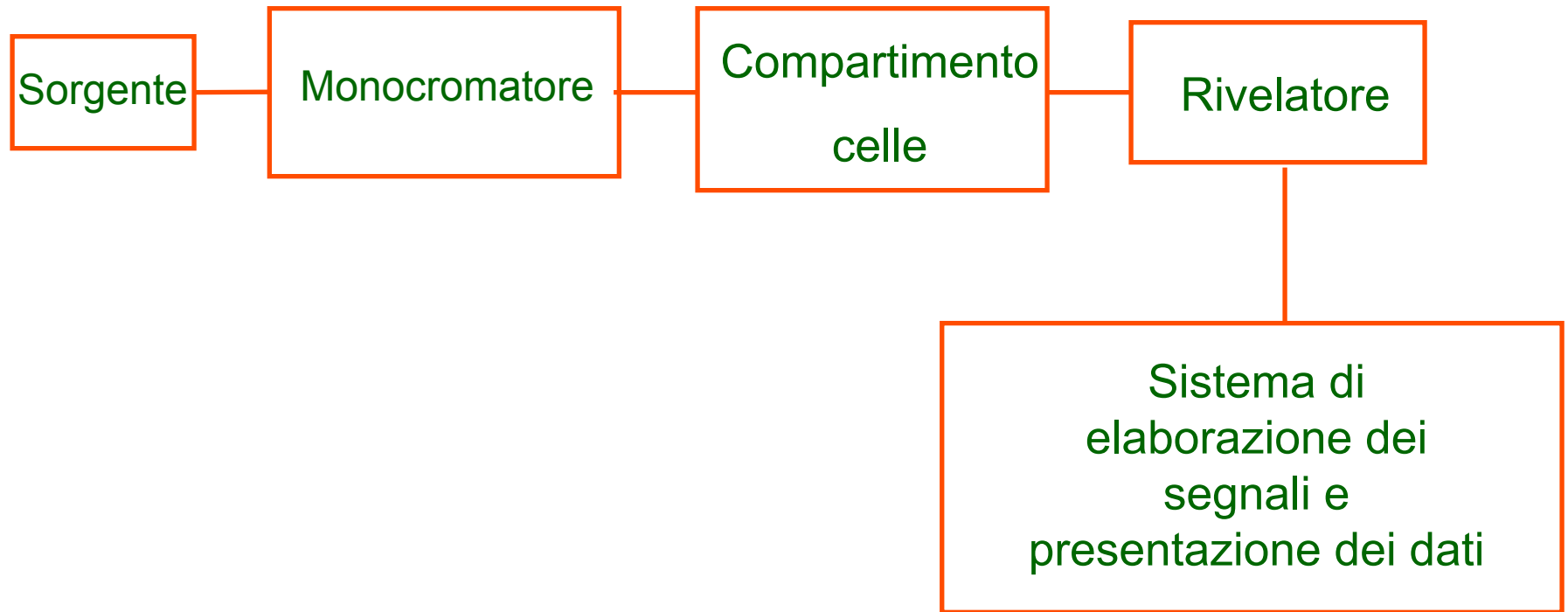


A tal fine, invece di cambiare la direzione della luce bianca rispetto al reticolo, si ruota il reticolo di una piccola frazione di angolo, in modo da ritornare nella condizione di concordanza di fase con una λ diversa.



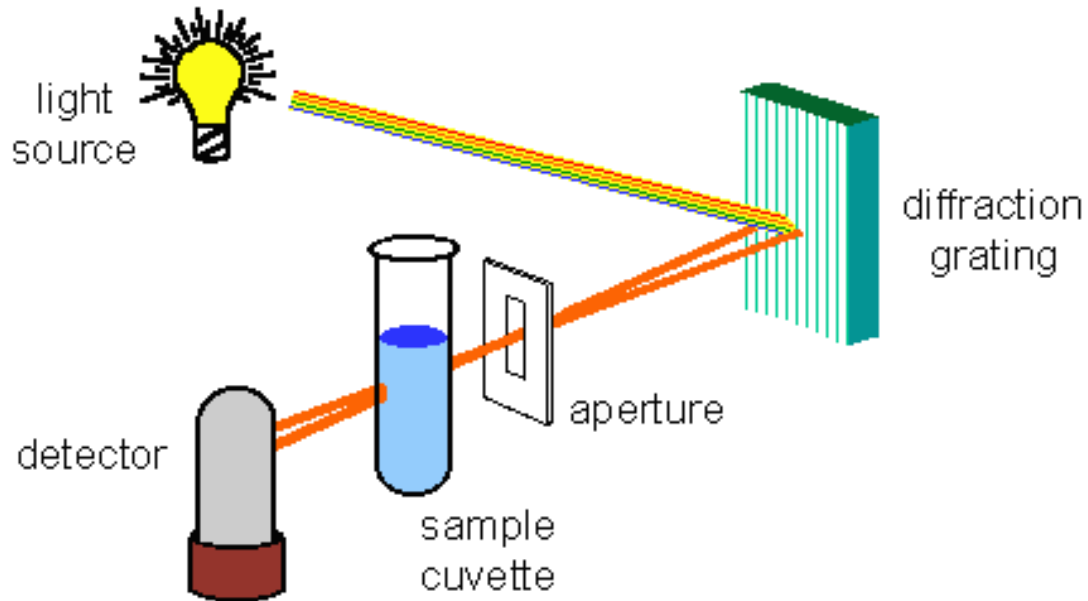
SCHEMA A BLOCCHI SPETTROFOTOMETRO

Ricordando lo schema a blocchi di uno spettrofotometro



SCHEMA A BLOCCHI SPETTROFOTOMETRO

Schematic of a wavelength-selectable, single-beam UV-Vis spectrophotometer

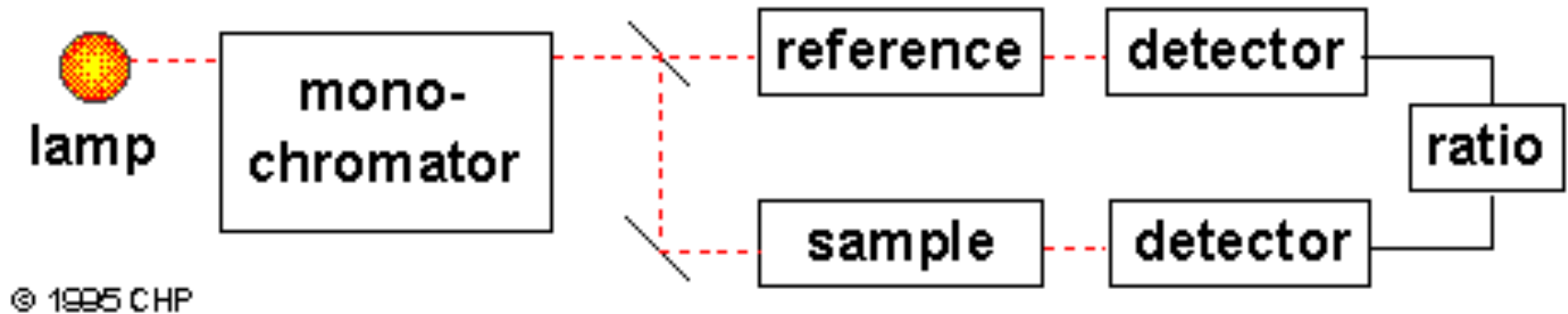


© 2001 B. M. Tissue



SCHEMA A BLOCCHI SPETTROFOTOMETRO

Schematic of a dual-beam UV-VIS spectrophotometer



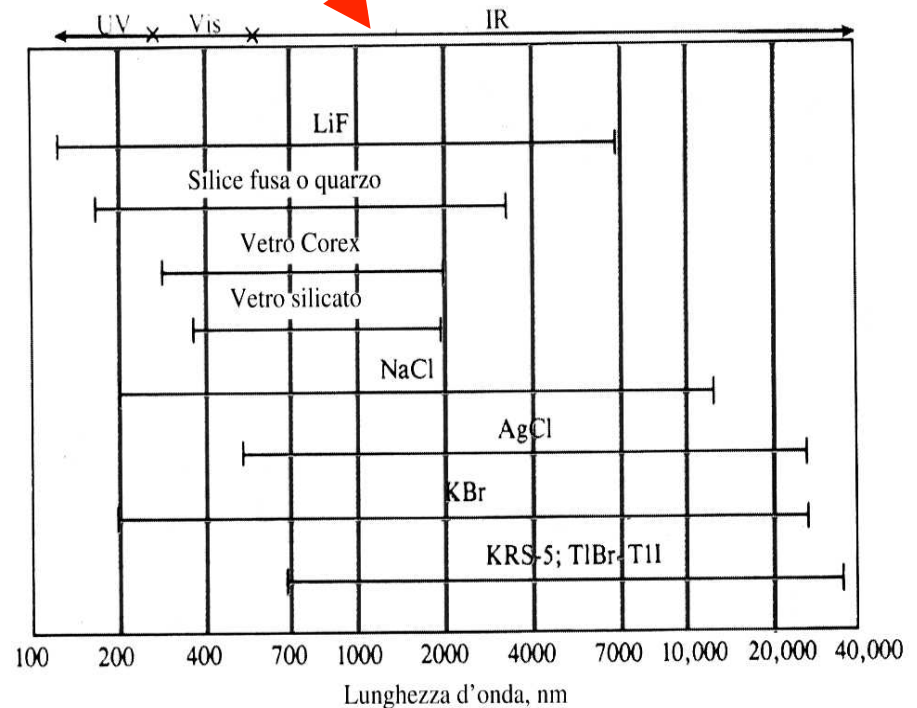
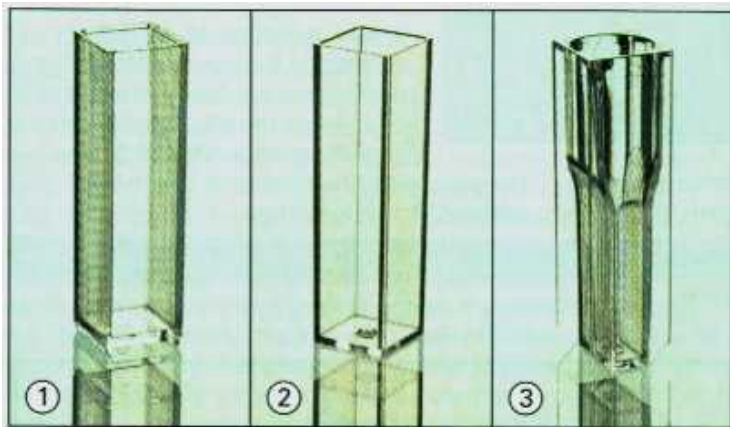
Pictures of Lambda 3A and 4B dual-beam UV-VIS spectrophotometers



CELLE

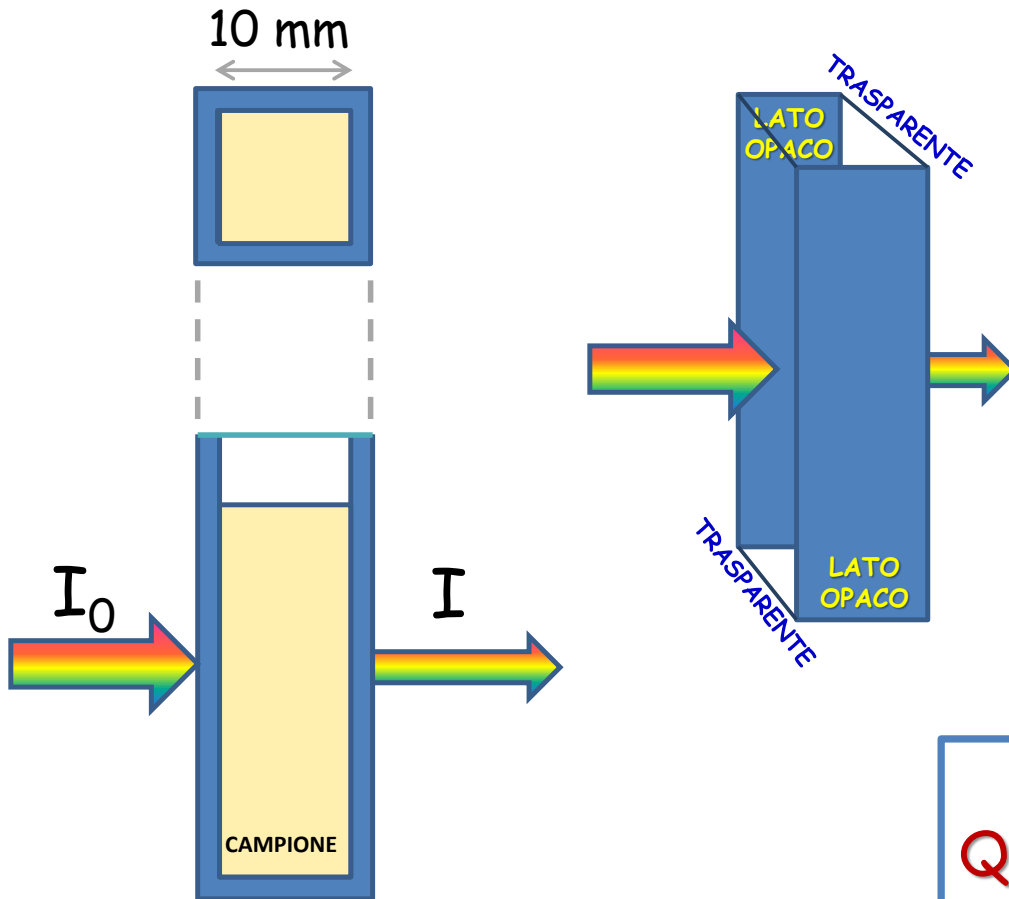
I contenitori per il campione chiamati celle, cellette o cuvette, devono avere finestre costruite con un **materiale trasparente** nella regione spettrale di interesse.

La lunghezza di cella più comune per gli studi nelle regioni ultravioletta e visibile è 1 cm.



Celle di polistirene per misurazioni spettrofotometriche di routine nel visibile (340-800 nm).

CELLA O CUVETTA



Da cosa dipende
la scelta?

	TRASPARENZA
Quarzo	165-2600 nm
Std. silice	220-2500 nm
Vetro	360-1000 nm
Polistirene	360-800 nm
Metacrilato	320-800 nm

CELLE

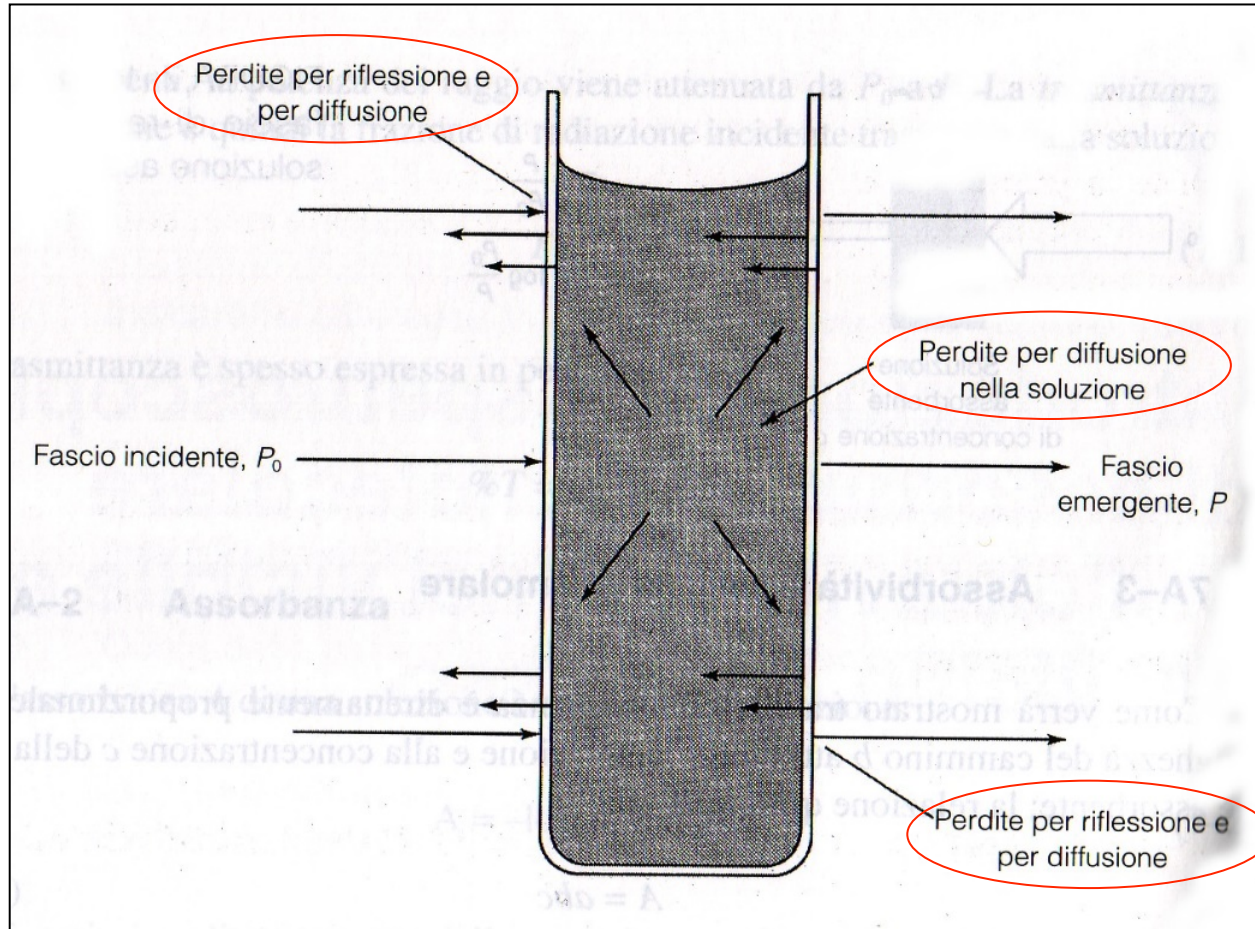


Possono essere acquistate anche celle a diverso cammino ottico (da 0.1 cm a 10 cm).

La qualità dei dati spettroscopici dipende criticamente dal modo in cui le cellette accoppiate sono usate e conservate. Si deve anche porre attenzione ad evitare la presenza di bolle d'aria (centri di dispersione delle radiazioni).

Le celle non devono essere mai asciugate per riscaldamento in un forno o su una fiamma perché questo potrebbe causare un danno fisico o un cambiamento nella lunghezza del cammino ottico.

CELLE



Il materiale delle celle e il loro utilizzo (pulizia, posizionamento) deve essere tale da minimizzare processi di "perdita" di radiazione per processi diversi dall'assorbimento (pareti di ingresso e di uscita, solvente/soluzione)

DETECTOR PER SPETTROFOTOMETRIA

I più comuni sono:

a. **celle fotovoltaiche, fotodiodi**; b. **fototubi, fotomoltiplicatori**.

a. CELLE FOTOVOLTAICHE e FOTODIODI: si riesce a trasformare la radiazione luminosa in segnale elettrico grazie a caratteristiche dei **conduttori**, in cui gli elettroni soggetti a radiazione passano dagli orbitali di legame (banda di valenza) a quelli di antilegame (banda di conduzione). In entrambi i casi, la radiazione colpisce un **semiconduttore**, rivestito da due lamine di metallo, e produce un **segnale di corrente** misurato da un galvanometro.

La grossa differenza consiste nell'applicazione, nelle celle fotoconduttive, di un generatore che permette una misura relativa della corrente (prima e dopo che la radiazione ha colpito il semiconduttore).

DETECTOR PER SPETTROFOTOMETRIA

b. FOTOTUBI e FOTOMOLTIPLICATORI: si sfrutta l'effetto fotoelettrico o di emissione secondaria per cui un metallo è ionizzato da una radiazione di opportuna energia.

I fotomoltiplicatori hanno una elevata sensibilità e sono in grado di ampliare il segnale prodotto dalla radiazione che colpisce la griglia di metallo, grazie ad una disposizione in serie di anodi a potenziale crescente dall'alto verso il basso.

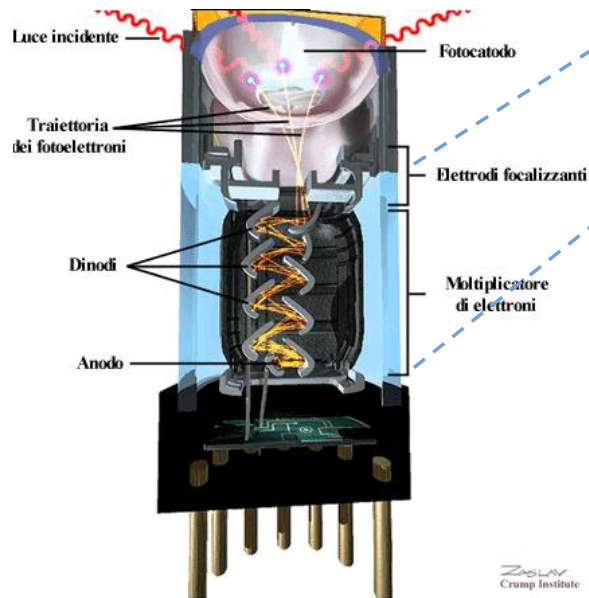
Si ottiene così un effetto a cascata che amplifica il segnale di 10^6 rispetto a quello che si ottiene dai fototubi.

Per tutti i detector (celle fotovoltaiche, fotodiodi, fototubi e fotomoltiplicatori) esiste una relazione di proporzionalità fra l'intensità di corrente generata e quella della radiazione incidente.

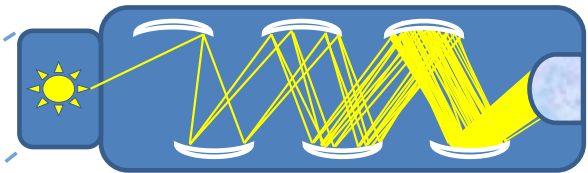
DETECTOR PER SPETTROFOTOMETRIA DETECTOR FOTONICI (EFFETTO FOTOLETTRICO)

Converte l'intensità luminosa in un segnale elettrico: **effetto fotovoltaico**.

Fototubi



Zsolt Crump Institute

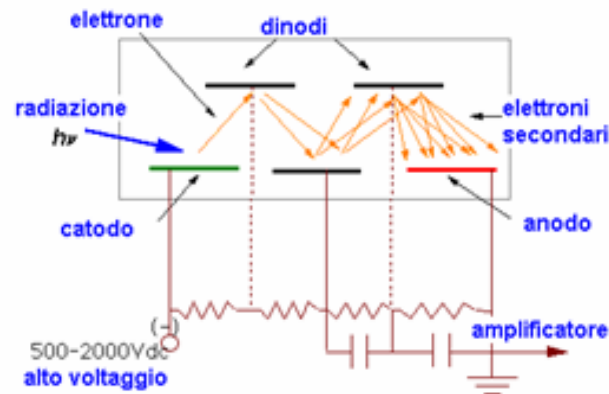


Fotomoltiplicatore

Fotodiodi



Fotocellule



DETECTOR PER SPETTROFOTOMETRIA

DETECTOR FOTONICI (EFFETTO FOTOLETTRICO)

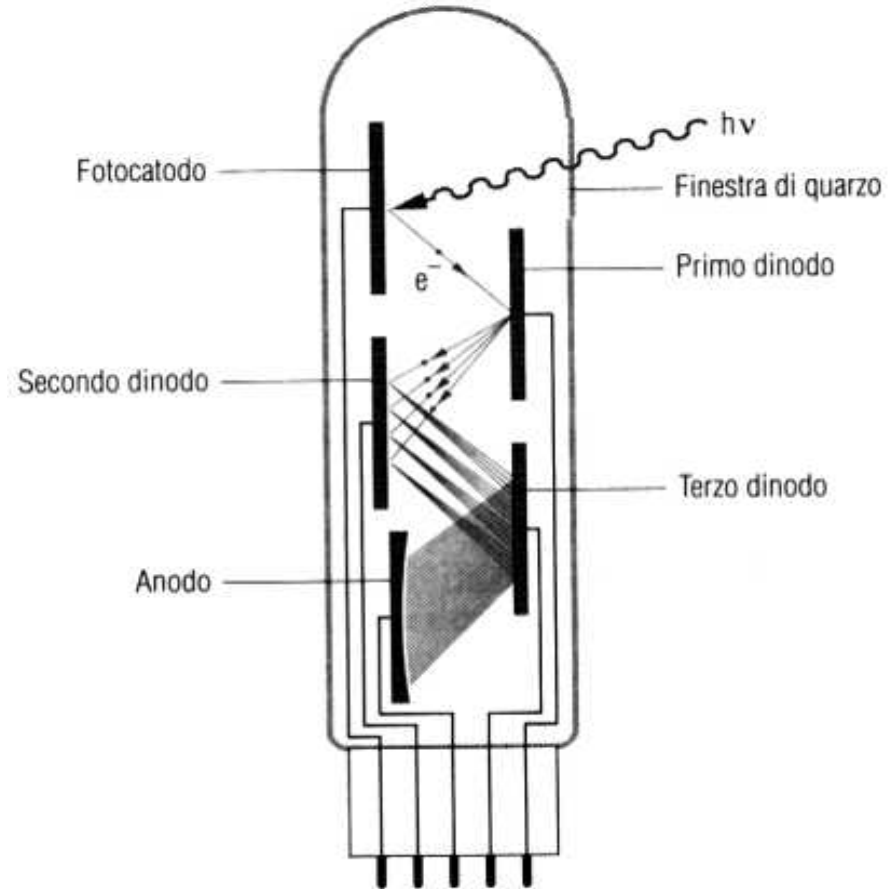
I rivelatori fotonici di più largo impiego sono i fotomoltiplicatori (PhotoMultiplier Tube, PMT).

Sono dispositivi che convertono un segnale luminoso in una corrente elettrica misurabile.

Sono estremamente sensibili (usati anche nella fisica nucleare e delle alte energie, spesso associati a rivelatori a scintillazione).

Si usano i principi fisici di:

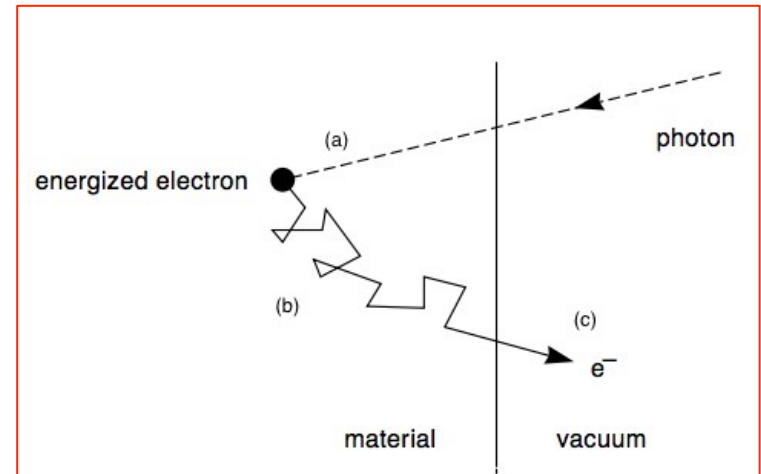
1. fotoemissione
2. emissione secondaria



FOTOMOLTIPLICATORI: FOTOEMISSIONE ED EMISSIONE SECONDARIA

1. **FOTOEMISSIONE.** Il fenomeno della fotoemissione, o **effetto fotoelettrico**, può essere suddiviso in tre fasi:

- (a) i fotoni assorbiti trasferiscono energia agli elettroni nel materiale fotosensibile (es. semiconduttore);
- (b) gli elettroni diffondono nel materiale perdendo parte della loro energia;
- (c) alcuni elettroni raggiungono la superficie con energia sufficiente per abbandonarla.



2. **EMISSIONE SECONDARIA.** L'emissione secondaria è un processo simile all'effetto fotoelettrico, solo che avviene a seguito dell'assorbimento di elettroni. Così come nel caso della fotoemissione possiamo distinguere i tre step di: assorbimento, diffusione ed emissione

FOTOMOLTIPLICATORI: FUNZIONAMENTO

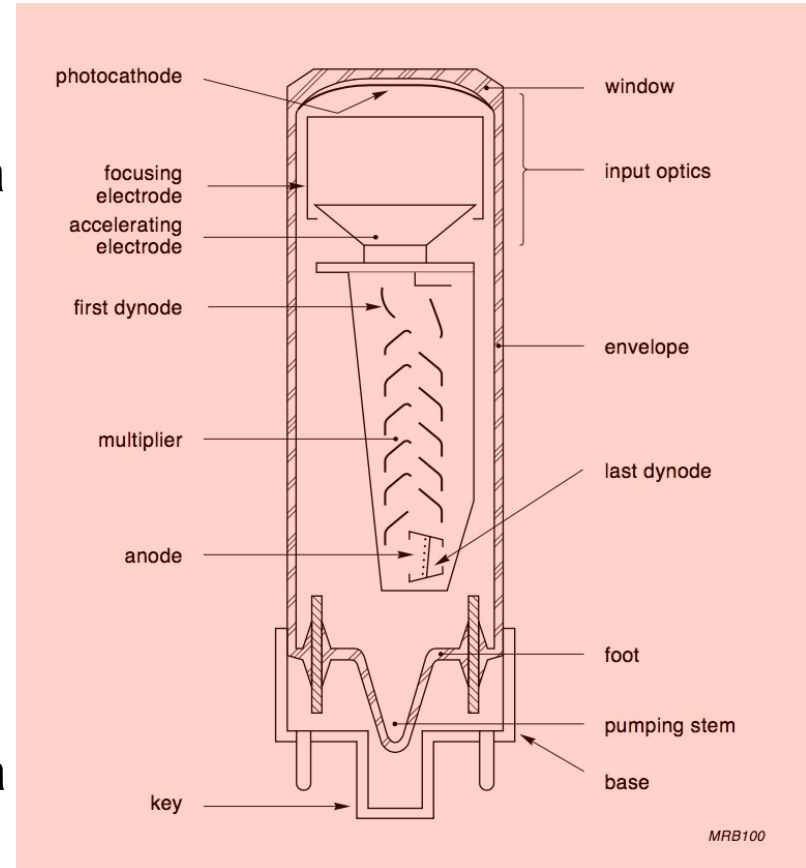
1. **Fotocatodo** (materiale fotosensibile): converte un flusso di fotoni in uno di e^-
2. sistema di **raccolta** di elettroni: focalizza e accelera il flusso degli e^-
3. **moltiplicatore** di e^- : **serie di elettrodi** che emettono elettroni (**dinodi**);
4. **anodo** che raccoglie il flusso di e^- e produce il segnale in uscita.

Quando un fotone incide sul fotocatodo, un e^- è emesso per effetto fotoelettrico.

Poiché ai capi del fototubo è applicata una differenza di potenziale



l'elettrone si dirige verso il primo dinodo. Qui, a seguito della collisione, avviene l'**emissione secondaria** di e^- che sono a loro volta accelerati verso il secondo dinodo e così via. Si genera così una **cascata di e^-** che raggiunge l'anodo dove è raccolta per produrre una **corrente**.



FOTOMOLTIPLICATORI

Fotocatodi

Funzionam. in trasmissione o riflessione

Costituiti da Antimoniuri di alcalini:

- antimoniuro di Cesio (Cs_3Sb)
- tellururo di Cesio (Cs_2Te)
- Ioduro di Cesio (CsI)

bialcalini:

- CsK_2Sb ; Na_2KSb ; CsRb_2Sb

trialcalini:

- Na_2KSb ; CsNaKSb

Argento-ossido cesiato: Ag-O-Cs

Dinodi

- Antimoniuro di Cesio Cs_3Sb ($< 80^\circ$)
- Ossidi cesiati delle leghe Cu-Be e Ag-Mg (CuBeO e AgMgO)
- Fosforo di gallio cesiato

Fotomoltiplicatori

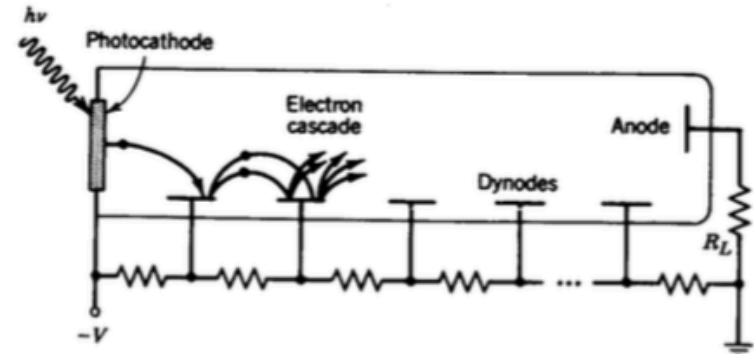
(Moltiplicazione per emissione secondaria)

vantaggi:

- sensibilità (rivelazione di singoli fotoni)
- risposta spettrale (da UV a NIR a seconda del fotocatodo)
- linearità
- risposta veloce
- rumore basso
- guadagno elevato

svantaggi:

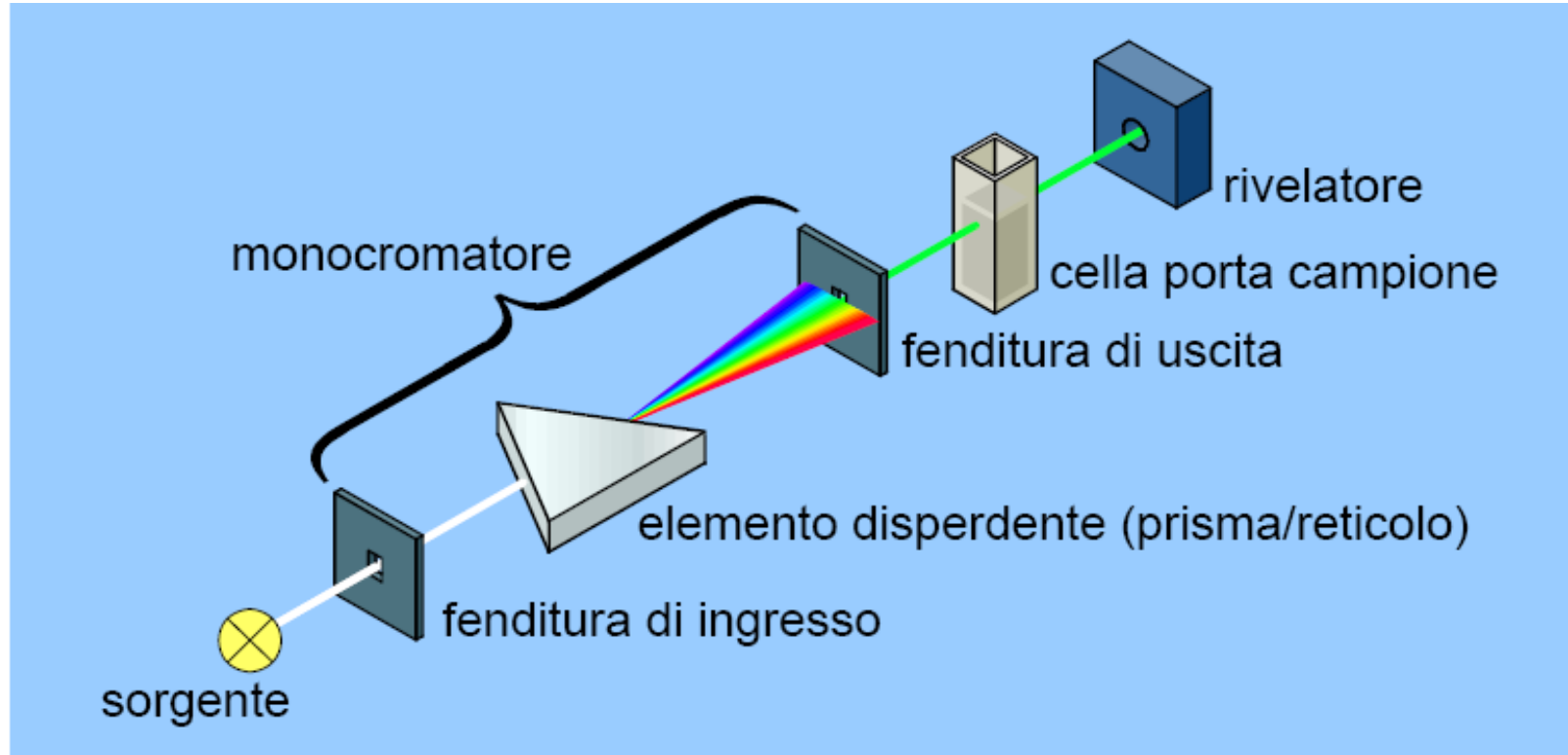
- alte tensioni di polarizzazione
- ingombro
- fragilità ((urti, vibrazioni, campi e.m.)



$n = 8 - 12$ dinodi

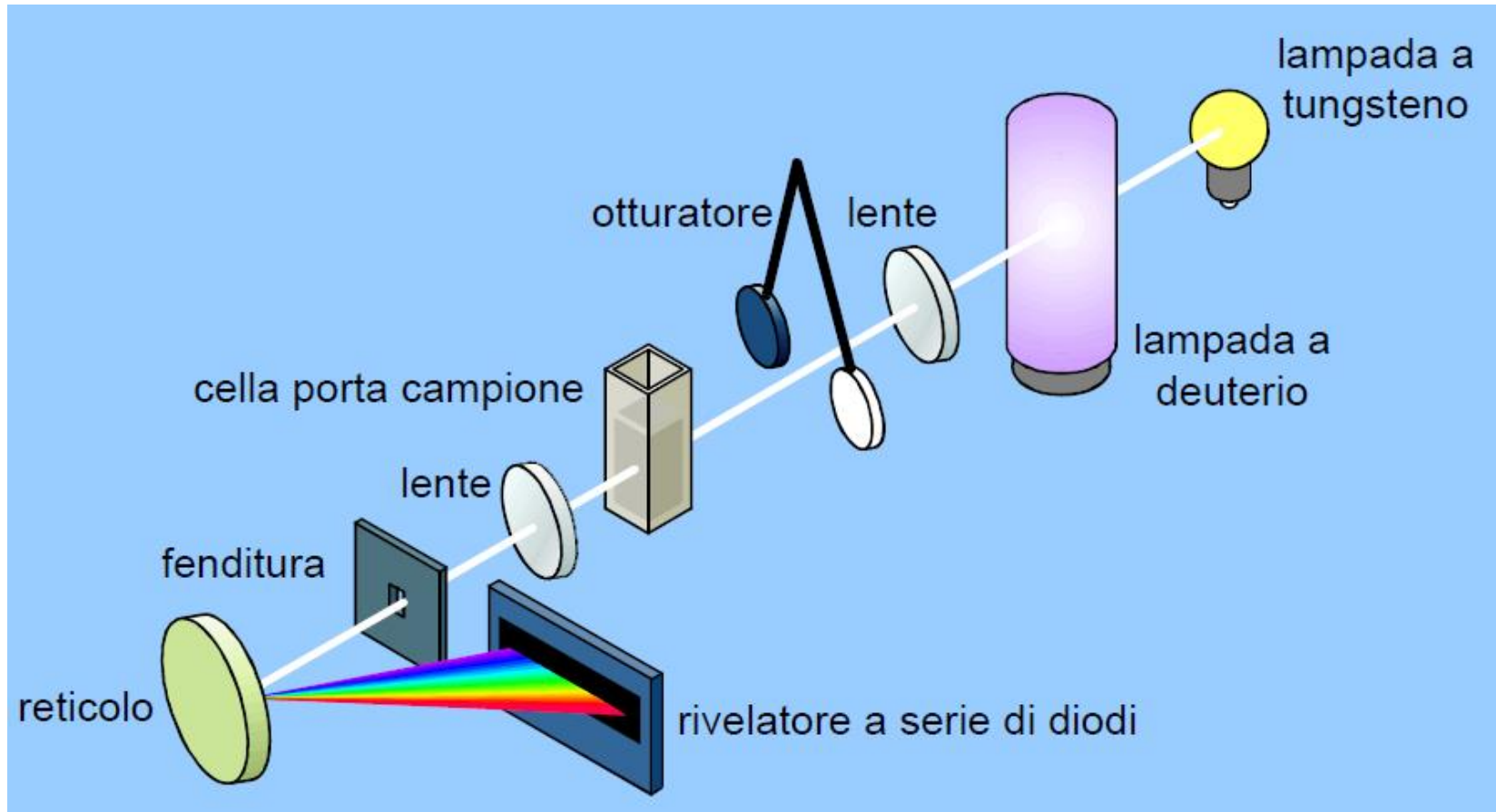
guadagno totale $g^n = 10^4 - 10^8$

SPETTROFOTOMETRI A SINGOLO RAGGIO



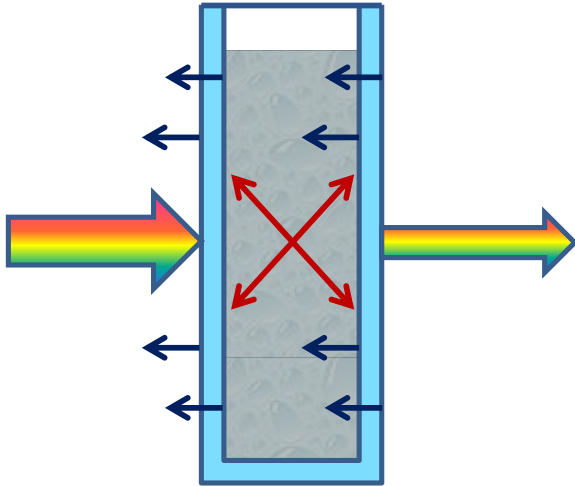
Strumento semplice ed adatto a **singole λ** ,
ma non ottimale per spettri di assorbimento.

SPETTROFOTOMETRI A SINGOLO RAGGIO A SERIE DI DIODI



Tipicamente acquisiscono l'intero spettro di una sostanza.

SPETTROFOTOMETRI A DOPPIO RAGGIO

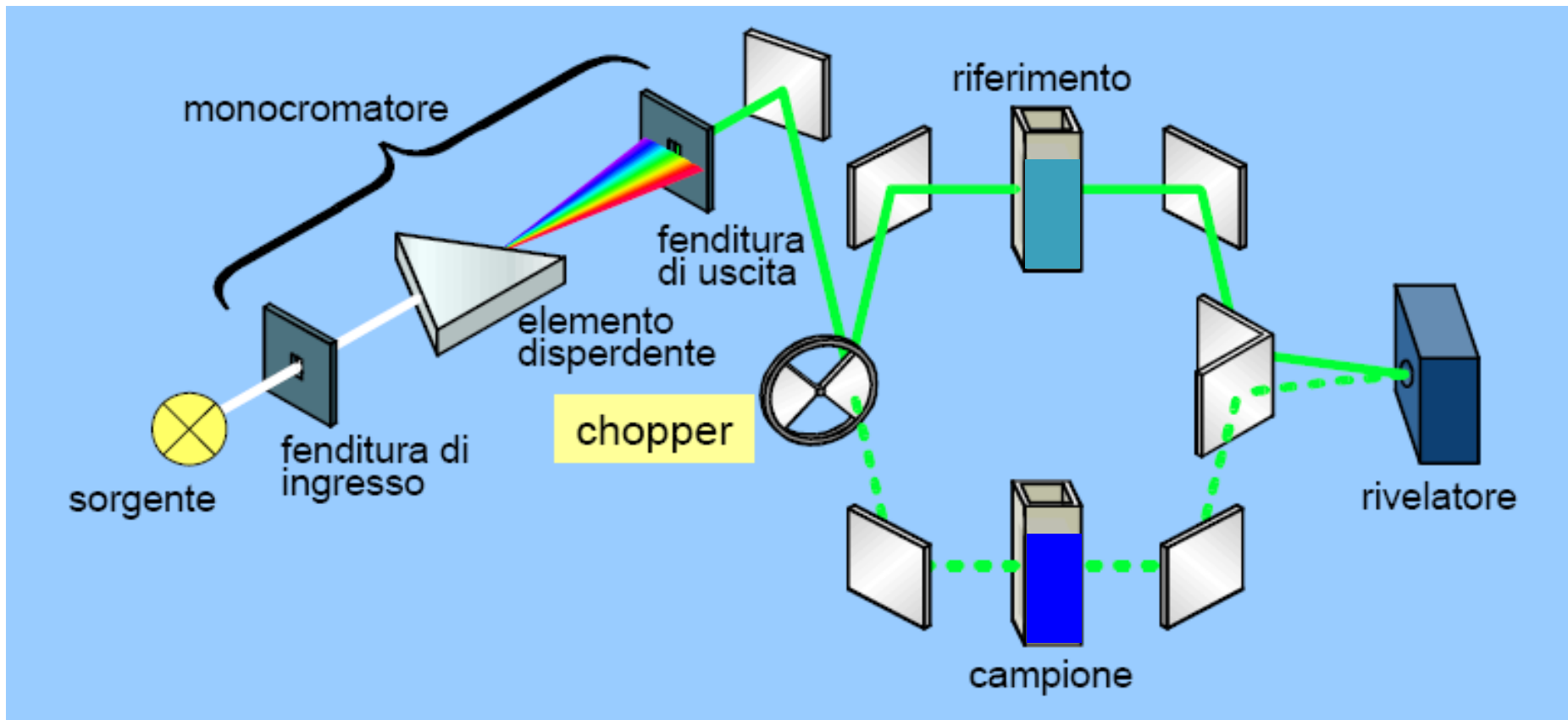


Alle due interfacce aria/parete che a quelle parete/soluzione si verifica **riflessione**.

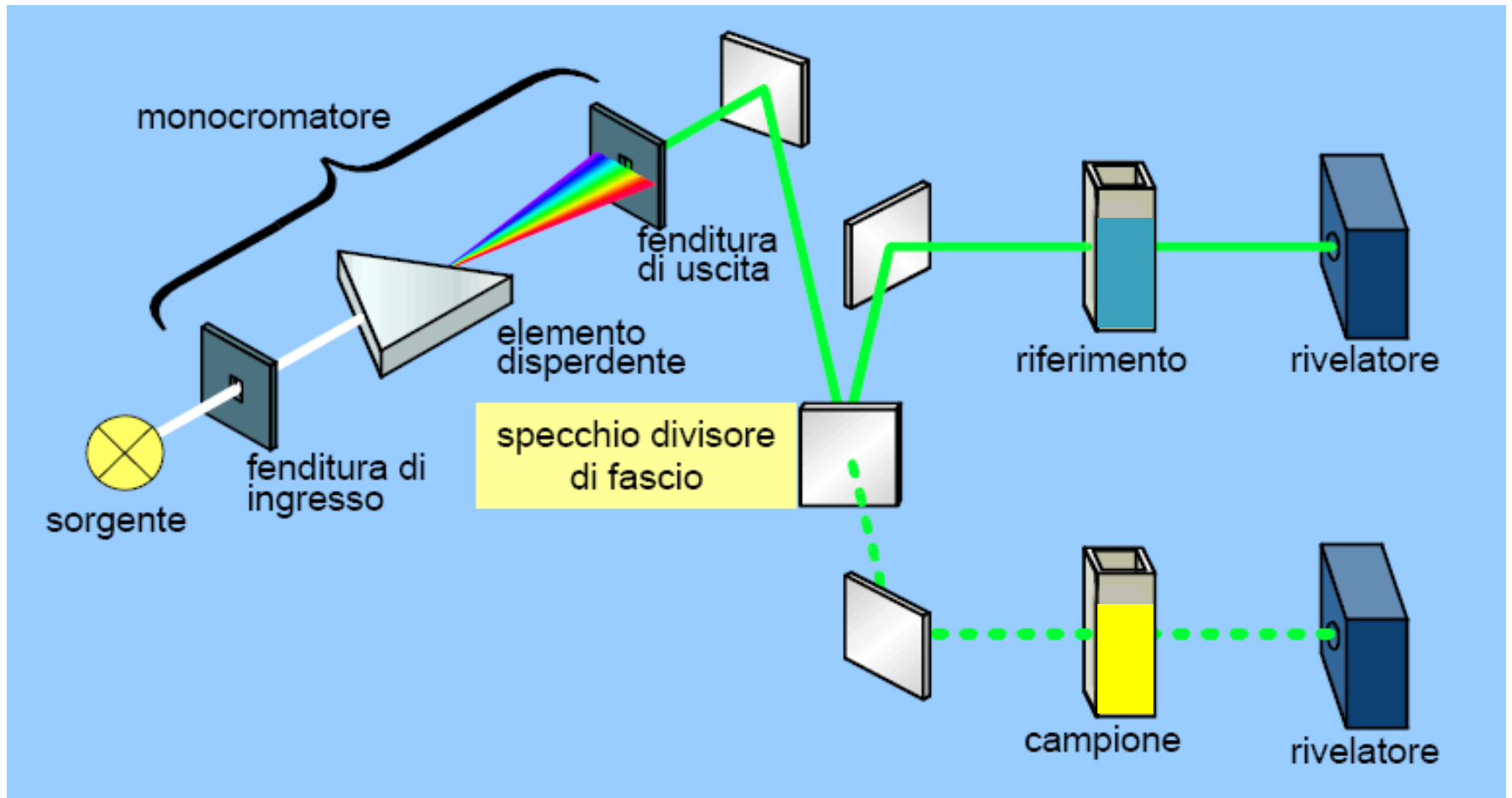
L'attenuazione del fascio è notevole e può esser anche causata da **grosse molecole** presenti in soluzione.

Per considerare tali effetti, il raggio trasmesso dalla soluzione campione viene confrontato con il fascio trasmesso da una **cella identica** contenente **solo solvente**.

SPETTROFOTOMETRI A DOPPIO RAGGIO NEL TEMPO



SPETTROFOTOMETRI A DOPPIO RAGGIO NELLO SPAZIO



SPETTROFOTOMETRI A DOPPIO RAGGIO



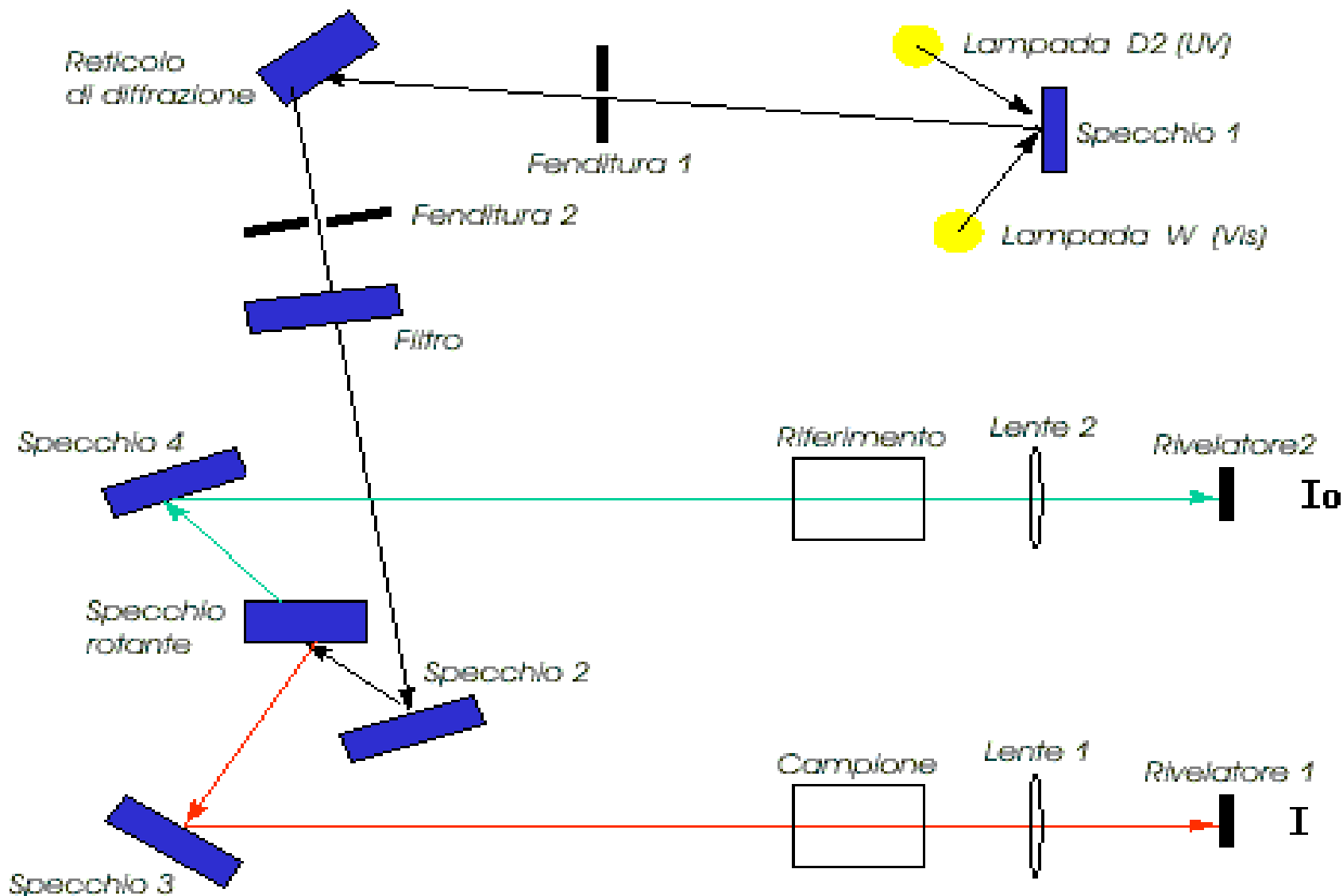
Tengono conto delle attenuazioni della luce per riflessione e diffusione.

In generale:



Riducono gli errori dovuti alle variazioni di emissione della **lampada**.

Schema di uno spettrofotometro a doppio raggio



Confronto tra le caratteristiche medie degli spettrofotometri UV-VIS

	Colorimetro	Spettrofotometro monoraggio	Spettrofotometro doppio raggio	Spettrofotometri a serie di diodi
Sistema ottico	monoraggio	monoraggio	doppio raggio	monoraggio
Monocromatore	filtri	reticolo	reticolo	policromatore a reticolo
Campo di λ (nm)	400-700	400-700	190(220)-400 [D ₂] 330-900 [W]	190-820
Banda passante (nm)	30-60	10-20	0,01-2 (fino a 6 nm)	2
Accuratezza delle λ	—	da ± 1 nm a 585 nm	da $\pm 0,2$ a $\pm 0,5$ nm	± 1 nm
Riproducibilità delle λ	—	da $\pm 0,5$ nm a ± 1 nm	da $\pm 0,1$ a $\pm 0,2$ nm	$\pm 0,05$ nm
Accuratezza fotometrica	—	0,2-0,3 %	da $\pm 0,002 A$ a $\pm 0,005 A$ (rif. a $A=1$)	$\pm 0,005 A$ (rif. a $A=1$)
Riproducibilità fotometrica	—	$\pm 0,5\%$	da $\pm 0,001 A$ a $\pm 0,002 A$ (rif. a $A=1$)	$\pm 0,005 A$
Luce diffusa	—	<0,5% (a 220 nm)	<0,1% (a 220 nm)	