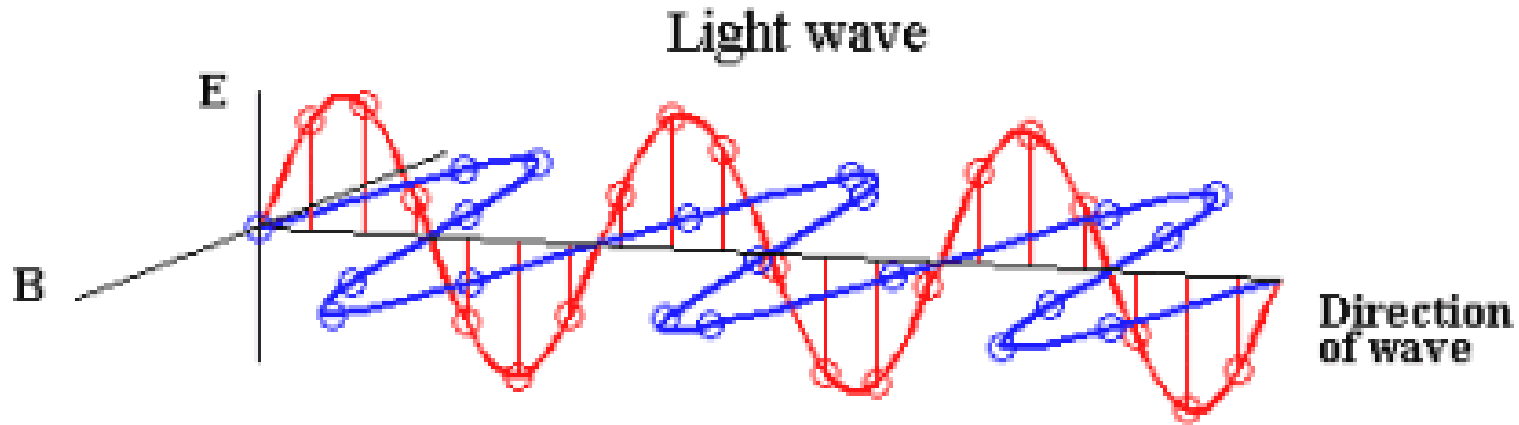


# Spettrofotometri

# La radiazione elettromagnetica

- Le radiazioni elettromagnetiche sono onde caratterizzate da una lunghezza d'onda, da un'ampiezza e da una frequenza. Si possono considerare come un treno di particelle chiamati quanti o fotoni. Il fotone rappresenta l'unità particulata delle radiazioni. Il quanto è la quantità di E contenuta in un singolo fotone.



# Assorbimento dell'Energia delle radiazioni

- **elettronico**: energia degli elettroni negli orbitali (atomici o molecolari) (100 - 1000 kJ/mol)
- **vibrazionale**: dovuta alle vibrazioni a cui sono soggetti gli atomi nelle molecole, che interessano sia gli assi di legame sia gli angoli di legame. (5 - 60 kJ/mol)
- **rotazionale**: dovuta alla rotazione della molecola secondo le tre direzioni nello spazio ( $5 \cdot 10^{-3}$  -  $5 \cdot 10^{-1}$  KJ/mol)

# MONOCROMATORI

- 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 attualmente sono: **Prismi, Reticoli e Filtri**

# La legge di Lambert-Beer

- Quando un raggio di luce monocromatica attraversa un campione di materia, si dice che si è avuto assorbimento se l'intensità  $I$  del raggio emergente è minore di quella  $I^\circ$  del raggio incidente. In sostanza, se contassimo quanti fotoni attraversano una sezione unitaria nell'unità di tempo prima e dopo aver attraversato il campione, troveremmo che in uscita una frazione dei fotoni manca all'appello, ovvero alcuni fotoni entrano nel campione, ma non ne escono e diciamo quindi che questi fotoni sono stati "assorbiti" dal campione.
- L'assorbimento  $A$  (o assorbanza o densità ottica) è definito quantitativamente in termini di  $I$ (intensità) nel modo seguente:
- $A = -\log (I_{\text{trasmessa}}/I_{\text{incidente}})$  ovvero  $= \log 1/T_{\text{trasmittanza}} = -\log T = \log( I_{\text{incidente}} / I_{\text{trasmessa}} )$

- Lambert-Beer, secondo cui l'assorbimento  $A$  di una radiazione elettromagnetica monocromatica a lunghezza d'onda  $\lambda$  da parte di una soluzione che contiene  $N$  specie chimiche capaci di assorbire a quella lunghezza d'onda, è proporzionale alla somma pesata delle loro concentrazioni:  $A = -\log(I/I^\circ) = d \sum \epsilon_i c_i$
- se la specie in grado di dare assorbimento è una sola diventa:  $A^\lambda = \epsilon^\lambda dc$
- La Lambert-Beer si mantiene lineare entro un certo range di assorbanza, per perdere la sua linearità al crescere dell'assorbanza e tendere all'infinito (corpo nero)

# Il controllo di Taratura

- Inquadrando gli spettrofotometri nell'ambito della qualità consideriamo che, come tutti gli strumenti che entrano nei processi di prova, devono essere tarati rispetto a campioni di riferimento internazionali.
- Quindi indipendentemente dal tipo di lettore di Assorbanza presente nel nostro istituto, (spettrofotometri/fotometri a cuvetta e lettori di micropiastre), come tutte le apparecchiature, anche gli apparecchi di misura ad assorbimento ottico/spettrale devono essere tarate per mezzo dei campioni di riferimento.
- Il raggiungimento dell'obiettivo di taratura, avviene con l'applicazione in un processo di taratura descritto e configurato nella POS QUA 006.

- Viene tralasciato per motivi economici e perché non costituisce il fattore di alterazione più frequente, il **controllo di centratura della lunghezza** d'onda sugli spettrofotometri a cuvetta
- Diversamente, è possibile tarare e/o controllare la taratura rispetto all'Assorbanza o Densità Ottica (DO).