

1.0 - La natura della luce

Studiando la luce si sono ottenute importanti informazioni sulla struttura degli atomi. Sir Isaac Newton, fisico e matematico inglese, sostenne, nella seconda metà del XVII secolo, che la luce è formata da minuscole particelle. Secondo la sua teoria un fascio di luce è un fascio di particelle. Circa nello stesso periodo, Christian Huygens, fisico olandese, suggerì che la luce è formata da onde e quindi si propaga come le onde che si formano in uno stagno dopo che vi si è gettato un sasso.

Circa 200 anni più tardi, nel 1864, James Clerk Maxwell, fisico scozzese, propose una teoria in cui la luce era nuovamente descritta come un fenomeno ondulatorio.

Più tardi, agli inizi del 1900, Max Planck, un fisico tedesco, ritornò alla teoria della luce come particelle. Egli studiò la luce e il calore liberato da un corpo caldo. L'unico modo possibile per spiegare quanto osservava era di ipotizzare che la luce fosse formata da discreti fasci di energia, chiamati quanti. La quantità di energia di ciascun quanto dipendeva dal colore della luce. L'energia di un quanto di luce blu è maggiore di quella contenuta in un quanto di luce rossa. I quanti, detti anche fotoni, sono le unità fondamentali della luce. Questa teoria è conosciuta come teoria dei quanti.

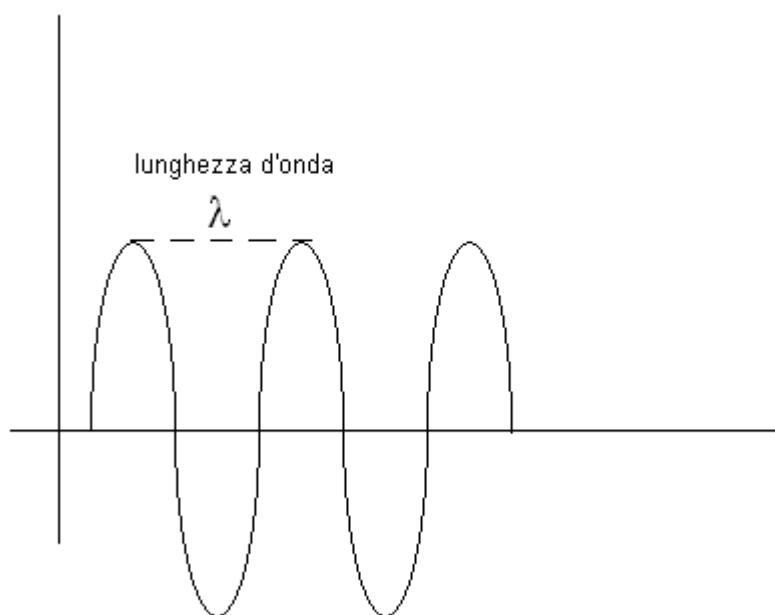
La teoria moderna della luce sostiene che la luce ha una duplice natura: si può comportare come onda e come particella a seconda degli esperimenti effettuati.

1.1 - Natura ondulatoria della luce

Per capire questo concetto è necessario conoscere le grandezze usate per descrivere le onde: la lunghezza d'onda, la frequenza, la velocità e l'intensità di un'onda.

Lunghezza d'onda - Le onde, come illustrato in figura 1-1, sono formate da creste e ventri. La distanza tra due creste o due ventri vicini è detta lunghezza d'onda ed è indicata con λ (lambda).

fig.1-1

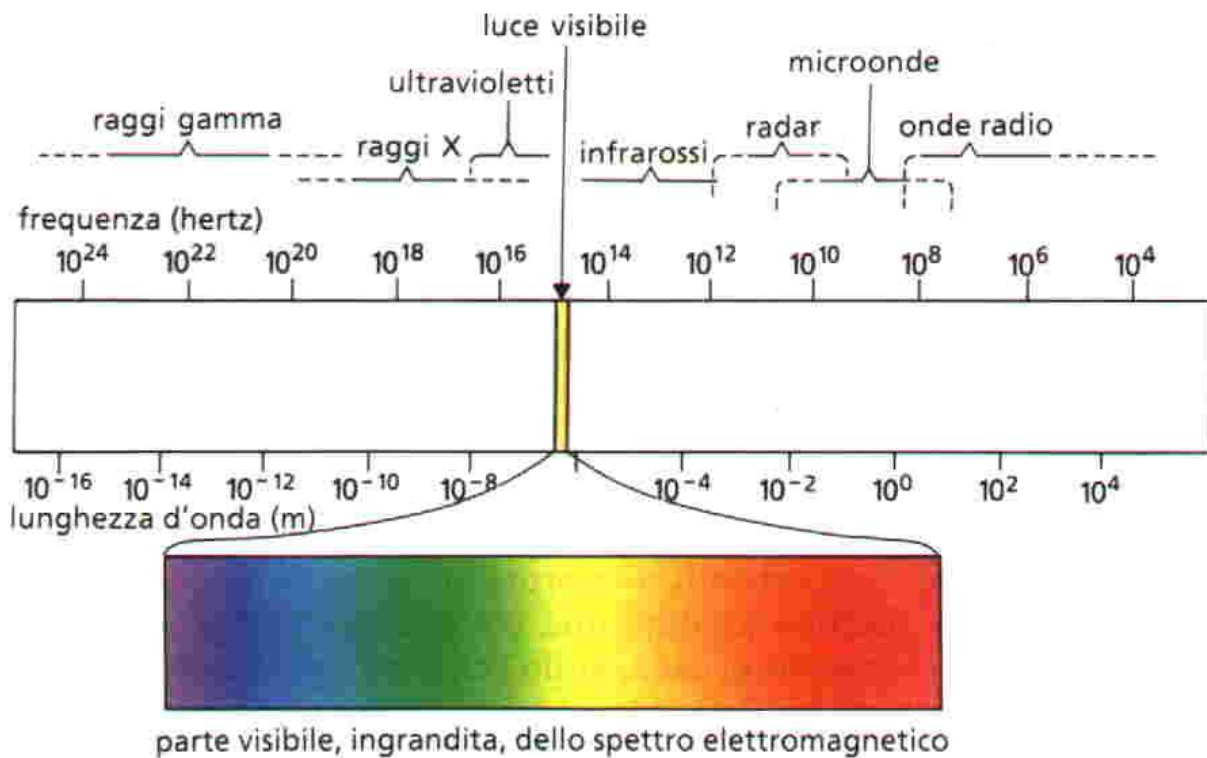


Frequenza - La frequenza di un'onda è il numero di creste che passano da un dato punto ogni secondo. La frequenza è indicata con f ed è espressa in hertz (Hz).

Velocità di un'onda - La velocità di un'onda è la distanza percorsa da una cresta nell'unità di tempo (di solito un secondo). La velocità di un'onda è uguale alla frequenza per la lunghezza d'onda. La velocità è rappresentata da v e la relazione tra la frequenza e la lunghezza d'onda è data dalla formula: $v = f \times l$

Intensità di un'onda - La natura della luce, come già detto, ha un duplice aspetto: corpuscolare ed ondulatorio. L'intensità della luce è determinata dal numero di questi corpuscoli (particelle) o fotoni, che si ritrovano nei raggi, mentre l'energia di ogni particella determina ciò che viene chiamato il colore della luce.

fig.1-2



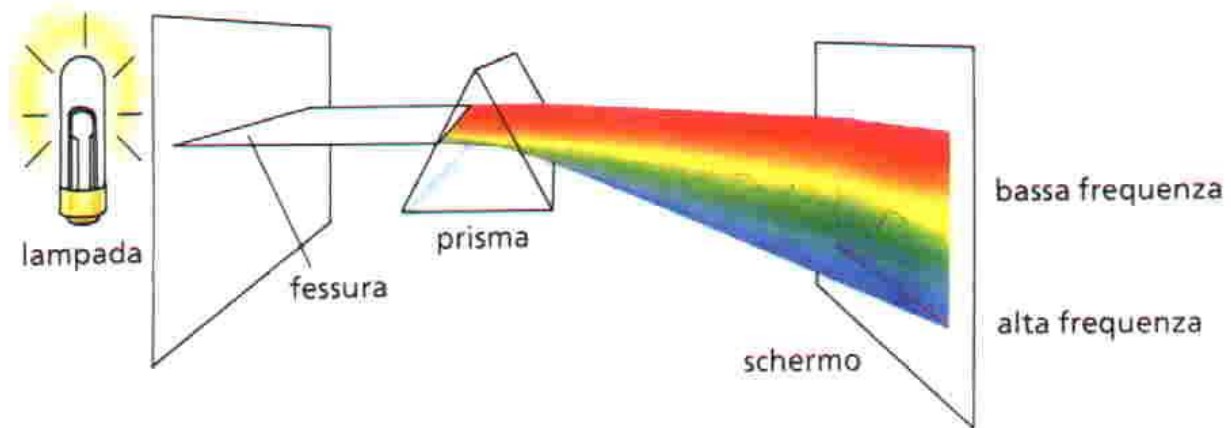
1.3 - Emissione e assorbimento di una radiazione

In certe condizioni gli atomi assorbono o liberano energia luminosa o altri tipi di radiazione elettromagnetica: queste interazioni sono una parte importante dello studio della struttura atomica.

Radiazione elettromagnetica - 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 1-2. 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: $c = f \times l$

Spettro continuo - Quando il filamento di una lampadina si riscalda emette luce. Se un fascio di questa luce passa attraverso un prisma, la luce bianca si divide in una banda di colori dal rosso (lunghezza d'onda maggiore) al violetto (lunghezza d'onda inferiore), chiamata spettro continuo e riportata in figura 1-3

fig.1-3

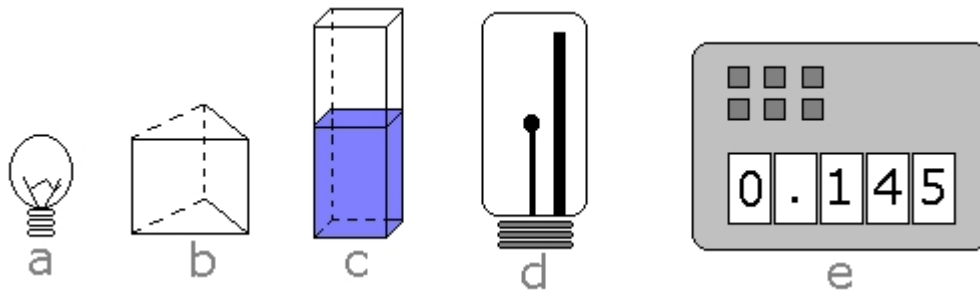


2.0 - Spettrofotometria

Gli strumenti usati per misurare l'assorbimento delle radiazioni vengono indicati col nome generico di fotometri e distinti in colorimetri e spettrofotometri.

Contrariamente a quanto suggerisce il nome, fra i colorimetri non si includono solo apparecchiature adatte per misure nel campo visibile; la differenza sostanziale con gli spettrofotometri sta nel fatto che i colorimetri impiegano, per la misura, una banda spettrale più o meno larga comprendente varie radiazioni e gli spettrofotometri una radiazione (quasi) monocromatica.

fig.2-1



Lo schema in fig.2-1 rappresenta le componenti di uno spettrofotometro dove:

- a.** è la sorgente luminosa costituita da lampade al tungsteno per il visibile e lampade al deuterio per l'U.V.
- b.** è il selettore delle bande spettrali ovvero lo strumento che consente di isolare le radiazioni sulla base della lunghezza d'onda scelta per l'analisi
- c.** è il contenitore (cuvetta) nel quale è contenuto il campione d'analisi: si usano cuvette di plastica per il visibile (400-800 nm.); si usano cuvette di quarzo per l'U.V. (200-400 nm.)
- d.** è il rivelatore ovvero quello strumento che misura la differenza tra la concentrazione della radiazione in entrata (rispetto al campione d'analisi) e quella in uscita
- e.** è il misuratore digitale che esprime direttamente l'assorbimento del campione d'analisi sottoposto a radiazione.

2.1 - 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 1 cm.

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: $c = A / a * b$

2.2 - Colorimetria

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.

2.3 - Analisi con lo spettrofotometro

preparazione di una curva di taratura

Viene definita curva di taratura la pratica mediante la quale si sottopongono ad assorbimento di radiazione specifica un certo numero di soluzioni a concentrazione nota e scalare.

Tale pratica prevede inoltre la costruzione di un grafico di riferimento con i valori delle concentrazioni posti in ascisse e quelli degli assorbimenti in ordinate.

Per mezzo di questa curva di taratura, è possibile (sulla base della relazione di Lambert.-Beer) determinare la concentrazione incognita di una soluzione che rientra fra il valore minimo e massimo delle concentrazioni delle soluzioni preparate.

RICERCA DELLO IONE NO₃⁻

(esempio di analisi spettrofotometrica in UV)

premessa

E' una ricerca spettrofotometrica, basata sul fatto che lo ione nitrico a 210 nm. presenta il massimo assorbimento e segue la legge di Lambert - Beer da concentrazioni di circa 1 mg./l. fino ad un massimo di 6 mg./l.

procedimento

Si prepara una curva di taratura (partendo da una soluzione standard di nitrati contenente 1mg/ml di NO₃) operando nel seguente modo:

1 - SOLUZIONI A CONCENTRAZIONE SCALARE DI NO₃⁻

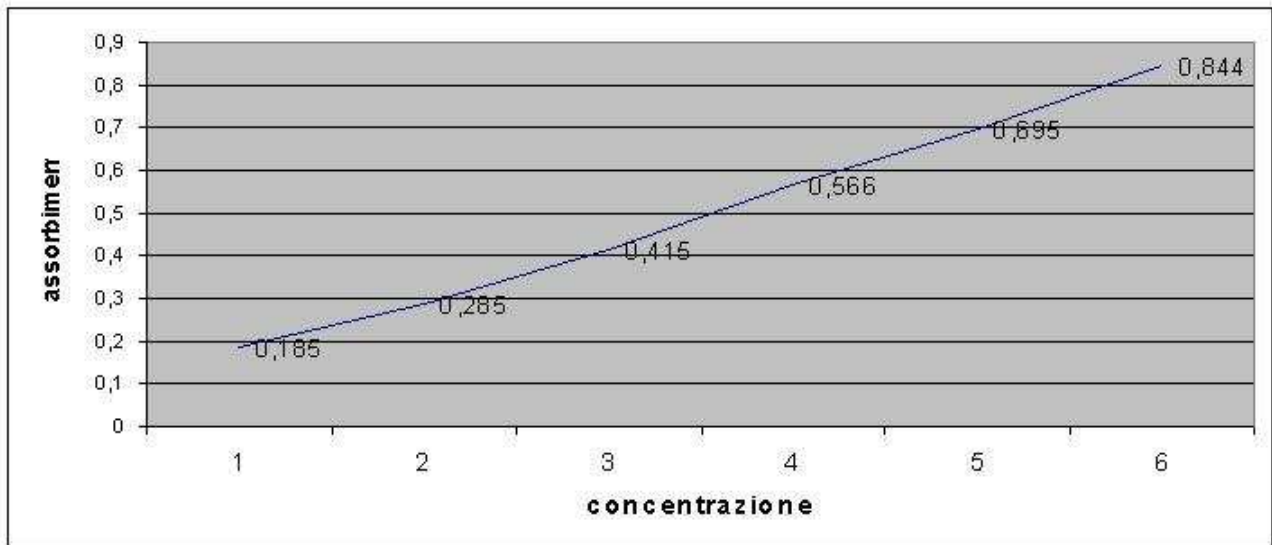
Si prelevano rispettivamente: 0,1- 0,2 - 0,3 - 0,4 - 0,5 - 0,6 ml. di soluzione a concentrazione 1mg/ml. e si diluiscono a 100 ml. in matraccio tarato così da ottenere sei soluzioni che contengono rispettivamente 1,2,3,4,5,6 mg./litro di NO₃.

2 - LETTURE ALLO SPETTROFOTOMETRO E COSTRUZIONE DELLA CURVA DI TARATURA A 210 nm.

E' necessario, per la lettura degli assorbimenti, utilizzare cuvette di quarzo.

Si usa come bianco, acqua distillata o bidistillata, si eseguono le letture che vengono riportate sul grafico ponendo in ascisse la concentrazione, in ordinate gli assorbimenti come in fig 2.2

fig 2.2



3 - CALCOLO DELLA COSTANTE DI PROPORZIONALITA' (K)

Partendo dal presupposto, verificato dal grafico, che esiste proporzionalità diretta fra gli assorbimenti letti allo spettrofotometro e le concentrazioni delle soluzioni a concentrazione scalare esaminate, si calcola la costante di proporzionalità (K) nel seguente modo: $K = A / C$ dove:

A = assorbimento letto allo spettrofotometro

C = concentrazione in mg/l.

quindi:

0,185/1

0,285/2

0,418/3

0,566/4

0,696/5

0,844/6

Dai rapporti sopra riportati, il valore di K risulta essere 0,14.

Conoscendo K ed A, su campioni a C incognita, possiamo determinare le concentrazioni in mg./l. applicando la formula $C = A / K$

Bibliografia

Biffoli Roberto - "Chimica degli alimenti" – Ed. USES Firenze

Ciantelli Giuliano - "Analisi tecniche con metodi chimici strumentali" – Ed. Atlas, Bergamo

Tateo Fernando VOL.II - "Analisi dei prodotti alimentari" – Ed. Chiriotti, Pinerolo