

Appunti di Tecniche avanzate per il controllo degli alimenti

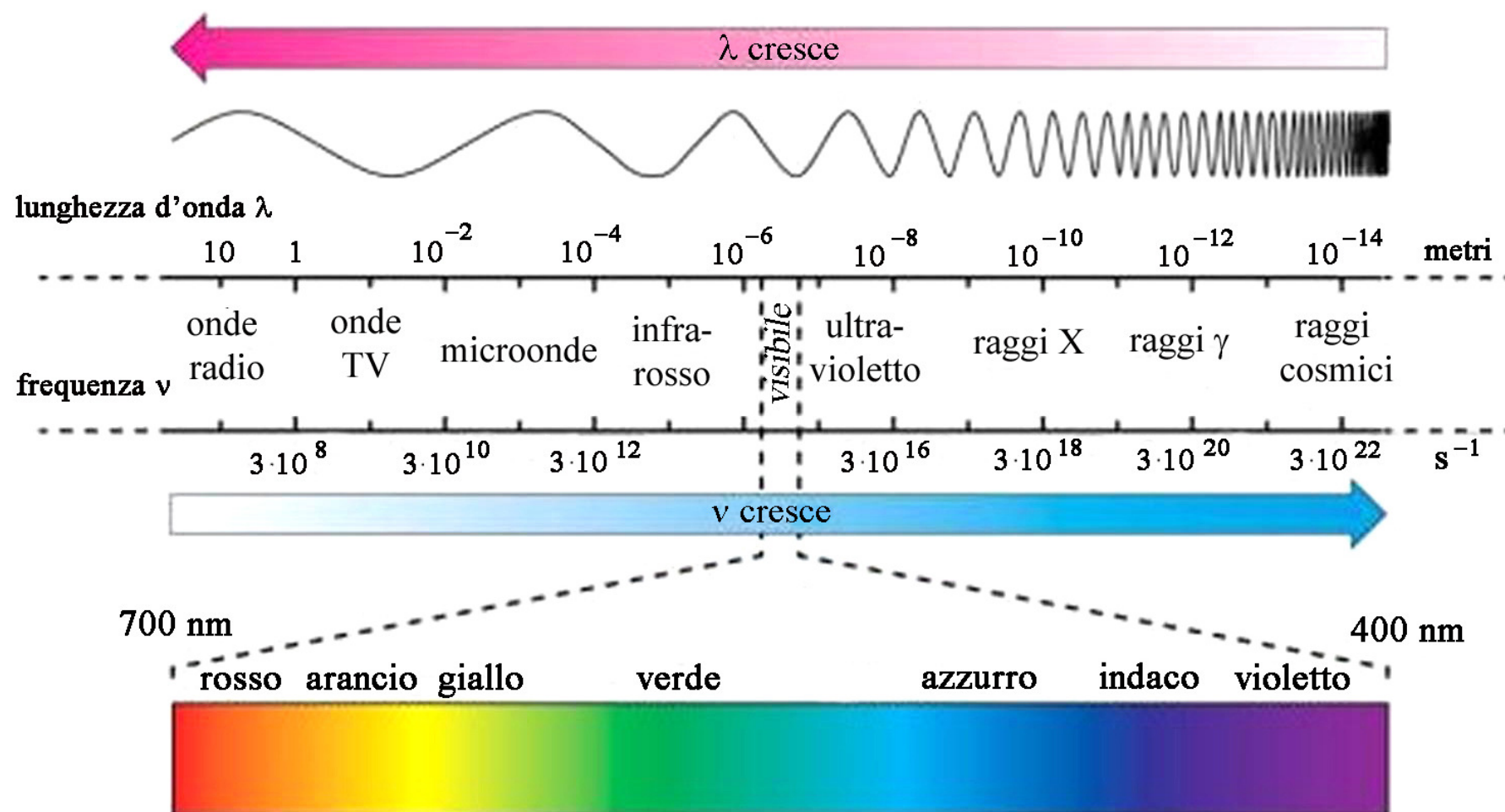
Parte 8

ZEPPA G. – BELVISO S.
Università degli Studi di Torino



Spettrometria o spettrofotometria

Misurazione dell'assorbimento o dell'emissione di radiazione elettromagnetica da parte della materia



Una radiazione elettromagnetica è una forma di energia che si propaga o più precisamente è un fenomeno ondulatorio dovuto alla simultanea propagazione nello spazio della perturbazione di un campo elettrico (E) e di un campo magnetico (B) oscillanti e perpendicolari fra di loro.

Ogni onda è caratterizzata dai seguenti parametri:

- Lunghezza d'onda (λ) cioè la distanza fra due punti successivi in fase fra di loro nel profilo spaziale; espressa in nanometri (10^{-9} m) o micrometri (10^{-6} m)
- Frequenza (ν) cioè il numero di oscillazioni al secondo
- Ampiezza (A) cioè il massimo spostamento di un punto rispetto alla posizione di equilibrio

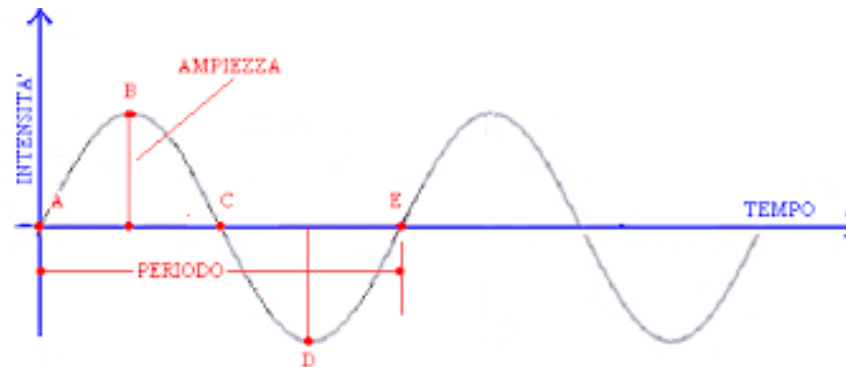


Lunghezza d'onda e frequenza sono legate dalla relazione

$$\lambda = \frac{v}{\nu} \cong \frac{c}{\nu}$$

dove c =velocità nel vuoto = $2.997 \cdot 10^8$ m/s

- Periodo (T) cioè la distanza fra due punti consecutivi in fase fra di loro nel profilo temporale dell'onda; equivale al reciproco della frequenza $T=1/\nu$
- Intensità (I) cioè l'energia che l'onda trasporta in 1 secondo attraverso una superficie di area unitaria perpendicolare alla direzione di propagazione; è proporzionale sia al quadrato dell'ampiezza sia al quadrato della frequenza



Ad ogni radiazione è associata una energia che in base alla legge di Planck è direttamente proporzionale alla sua frequenza

$$E = h * \nu = h * c/\lambda$$

Dove h = costante di Planck $\rightarrow 6.6262 \cdot 10^{-34} \text{ J.s} \rightarrow 1.5837 \cdot 10^{-34} \text{ cal.s}$

Le radiazioni a maggiore energia sono quindi quelle a più alta frequenza (e minore lunghezza d'onda)

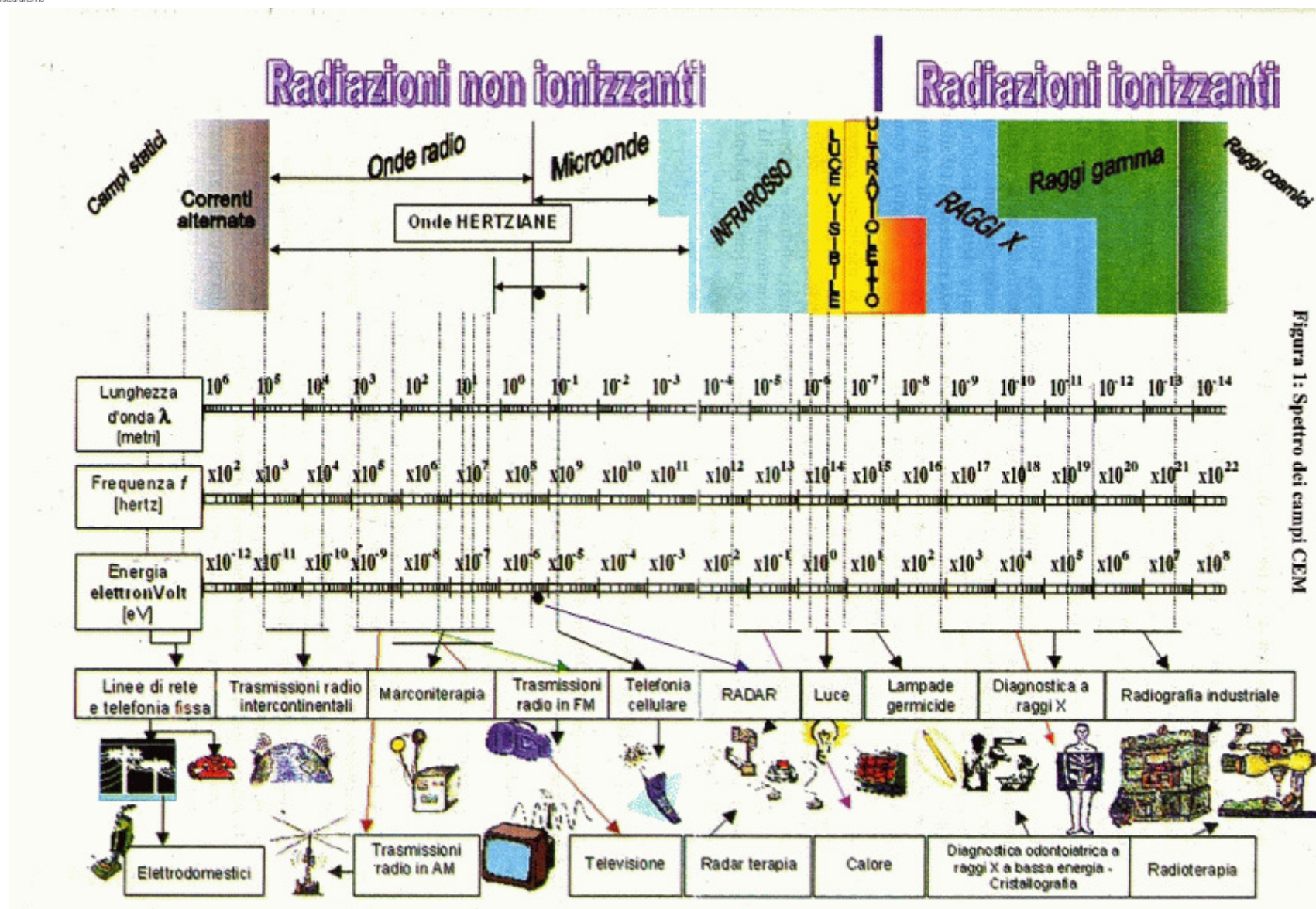


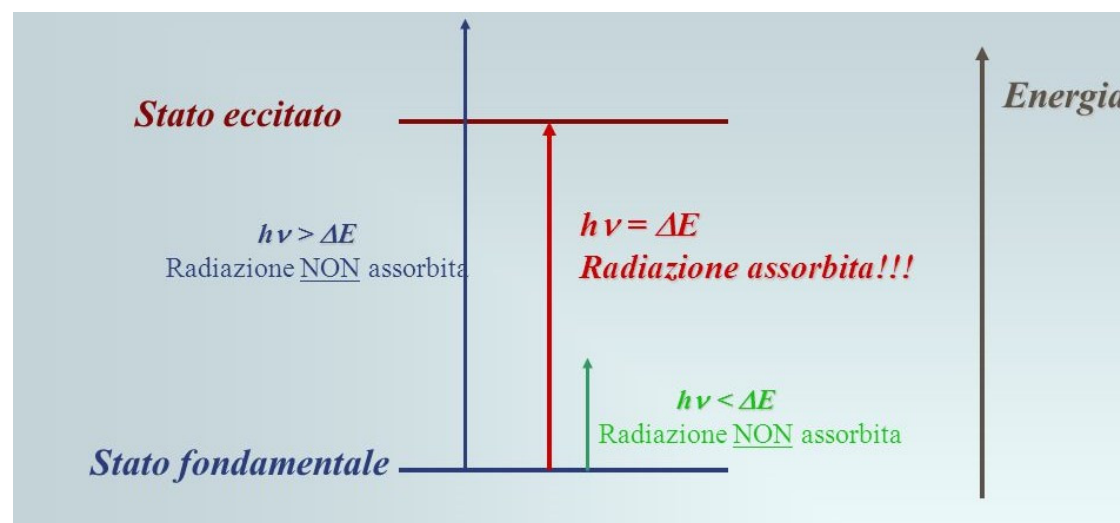
Figura 1: Spettro dei campi CEM

Quando una radiazione elettromagnetica interagisce con la materia possono verificarsi diversi fenomeni tutti riconducibili a due eventi fondamentali : un trasferimento di energia dalla radiazione alla materia (**assorbimento**) cui segue la completa restituzione di energia sotto varie forme (**emissione**).

Atomi e molecole si trovano nel rispettivo stato fondamentale cui corrisponde la minima energia.

Quando vengono sollecitati da una opportuna quantità di energia passano ad uno stato eccitato cui corrisponde maggiore energia. Questo stato non è stabile ed atomi/molecole restituiscono all'ambiente l'energia assorbita (processo di rilassamento).

L'eccitazione è data da energia elettromagnetica, termica od elettrica e la emissione in forma di calore e/o radiazione elettromagnetica.



Sollecitando la materia con radiazioni di opportuna energia si ottengono risposte strumentali più o meno complesse che possono essere sfruttate per l'analisi di campioni.

Possiamo così avere:

- 1) Riflessione
- 2) Rifrazione
- 3) Diffusione
- 4) Polarizzazione
- 5) Interferenza
- 6) Diffrazione
- 7) Luminescenza
- 8) Assorbimento
- 9) Emissione

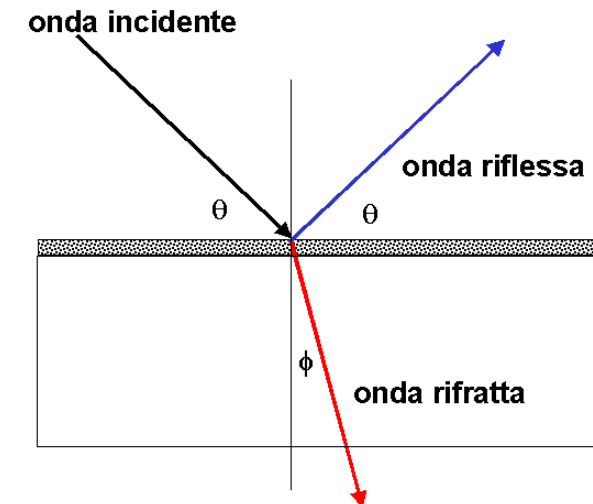
1 - Riflessione

Quando una radiazione elettromagnetica colpisce una superficie di un mezzo non trasparente che la «respinge» si verifica una **riflessione**

Se la superficie è liscia ossia le dimensioni delle scabrosità sono trascurabili rispetto alla lunghezza d'onda della radiazione incidente, la riflessione è **speculare o regolare** ed il raggio di riflessione è uguale a quello di incidenza.

La lunghezza d'onda e la frequenza della radiazione riflessa sono uguali a quelle dell'onda incidente

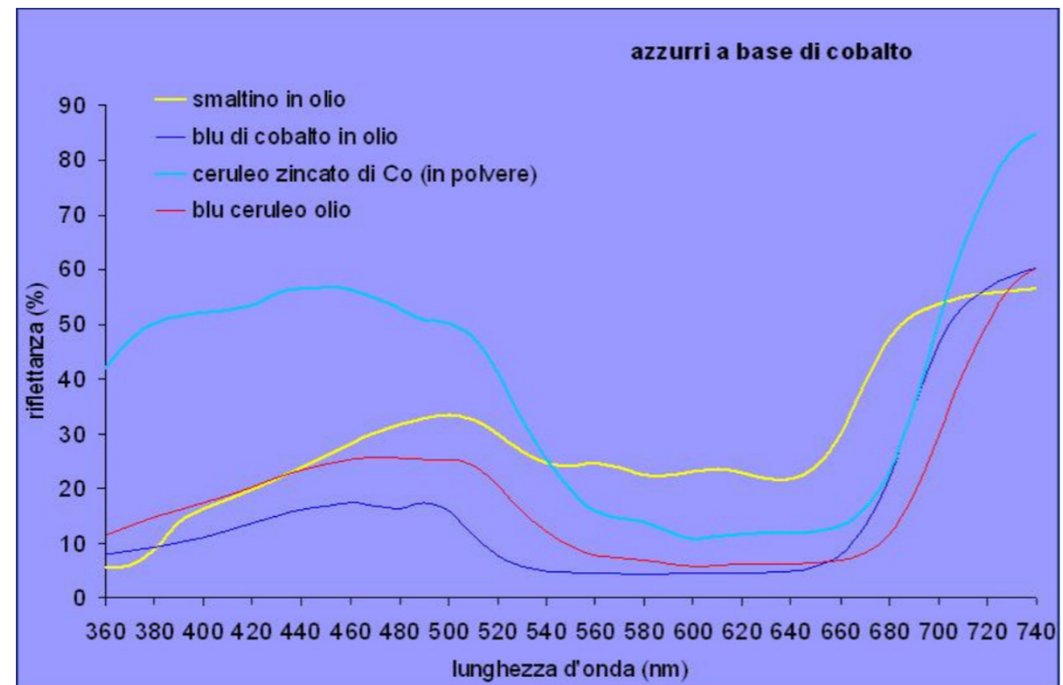
Se le scabrosità non sono trascurabili rispetto alla lunghezza d'onda della radiazione incidente si ha una **riflessione diffusa**: una parte della radiazione è catturata e trasformata in calore, la parte restante diffusa in modo casuale e non uniforme.



La **spettroscopia di riflettanza** misura il rapporto percentuale fra l'intensità della radiazione riflessa e diffusa (I) e quello della radiazione incidente (I_0) che viene detto **riflettanza** (R%)

$$R\% = \frac{I}{I_0} * 100$$

La tecnica ha molte applicazioni come lo studio dei pigmenti nei dipinti o la valutazione delle prestazioni di una cera. Si possono ottenere anche spettri di assorbimento in riflettanza

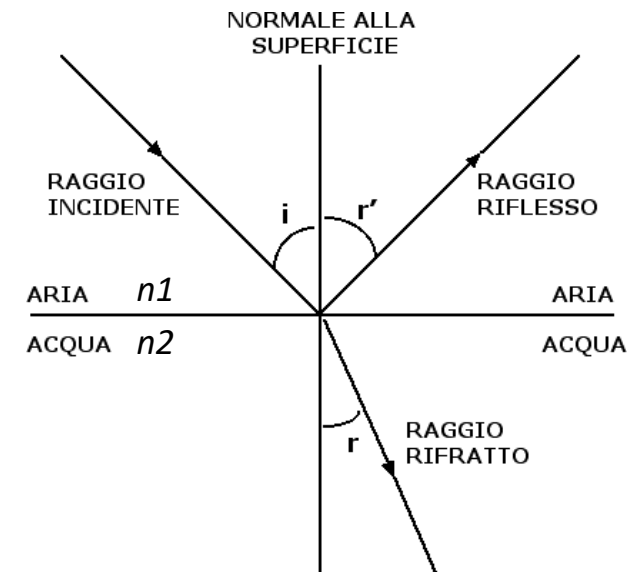


2- Rifrazione

Quando una radiazione attraversa la superficie di separazione fra due diversi mezzi trasparenti il raggio incidente oltre a formare un raggio riflesso origina un raggio **rifratto** che si propaga nel secondo mezzo con una direzione diversa da quello incidente. Per ogni mezzo si ha quindi un **indice di rifrazione** dato dal rapporto fra la velocità della luce nel vuoto e nel mezzo considerato.

Poiché nel vuoto la velocità della luce è sempre maggiore che in un mezzo, ne deriva che l'indice di rifrazione è sempre superiore ad 1

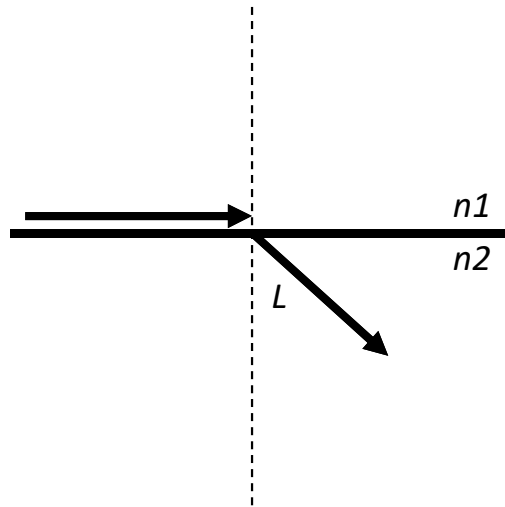
Nella rifrazione il raggio rifratto ha la stessa frequenza della radiazione incidente ma diversa lunghezza d'onda. Infatti nel passaggio da un mezzo all'altro cambia la velocità e quindi per mantenere costante la frequenza deve cambiare la lunghezza d'onda



$$\frac{\sin i}{\sin r} = \frac{n_2}{n_1} = \text{legge di Snell}$$

Esiste un **angolo limite** ossia l'angolo che ha la radiazione rifratta quando la radiazione incidente è a 90° rispetto alla perpendicolare ed è il massimo valore dell'angolo di rifrazione.

Qualsiasi radiazione con un angolo di incidenza superiore verrà completamente riflessa.



$$\frac{\sin 90}{\sin L} = \frac{n_2}{n_1}$$

$$\sin L = \frac{n_1}{n_2}$$



3 - Diffusione

La diffusione o scattering è la riemissione in direzioni non casuali di una radiazione incidente su un sistema costituito da particelle più o meno disperse e di grandezza variabile

La luce diffusa può avere la stessa lunghezza d'onda della incidente (diffusione di Reyleigh, diffusione di Mie, effetto Tyndall) o diversa (diffusione Raman)

Diffusione di Reyleigh

La radiazione incontra particelle con diametro inferiore (almeno $1/10$) alla propria lunghezza d'onda

La luce diffusa ha la stessa lunghezza d'onda della incidente

L'intensità della luce diffusa è direttamente proporzionale alla quarta potenza della frequenza della luce incidente → in un fascio policromatico le radiazioni di minore lunghezza d'onda vengono diffuse con maggiore efficienza

Le molecole di N_2 ed O_2 diffondono i fotoni luminosi e quindi il cielo appare blu (non viola per la minore sensibilità dell'occhio)

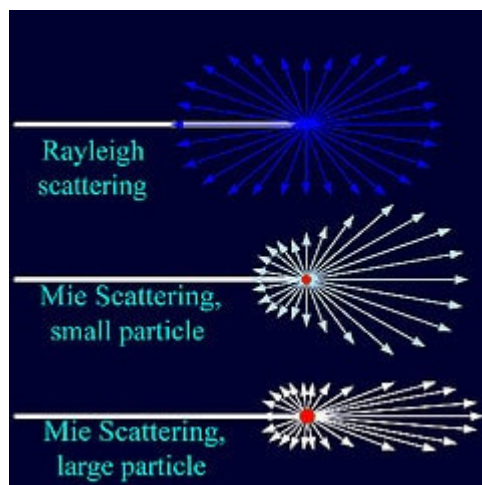
Al tramonto la luce solare attraversa uno strato maggiore e quindi anche i fotoni gialli e rossi sono diffusi e quindi visibili

Le nuvole appaiono bianche in quanto le particelle acquose sono maggiori della lunghezza d'onda e quindi diffondono tutte le frequenze

Diffusione di Mie

Si verifica con particelle relativamente grandi ($> 1/10$ di λ). Anche in questo caso l'intensità dipende dalla lunghezza d'onda ma con potenza minore.

Con particelle grandi (come nei sistemi colloidali) l'intensità non dipende dalla lunghezza d'onda e la luce diffusa appare bianca (fumo di sigaretta, smog)



Effetto Tyndall

Si verifica quando le particelle hanno dimensioni confrontabili con le lunghezze d'onda della luce visibile.

La luce diffusa viene anche detta **luce di opalescenza**

L'intensità della luce diffusa è proporzionale alla seconda potenza della frequenza della luce incidente



Tutti questi fenomeni sono alla base di due tecniche di analisi:

- **Torbidimetria** – si misura la luce retro diffusa verso la sorgente (back scattering) o diffusa davanti al campione lungo la direttrice della luce incidente (direct scattering) o davanti la campione ma secondo una piccola angolatura (forward scattering)
- **Nefelometria** – si misura la luce diffusa a 90° rispetto alla luce incidente (side scattering)



Diffusione Raman

Si verifica quando una piccola frazione della luce incidente che viene diffusa ha frequenze di poco diverse rispetto alla radiazione incidente.

Si tratta quindi di un caso particolare della diffusione Rayleigh

La radiazione Raman può essere sfruttata per studi strutturali soprattutto usando sorgenti laser

Rientra fra le tecniche basate sulla luminescenza. Verrà quindi trattata in altro capitolo

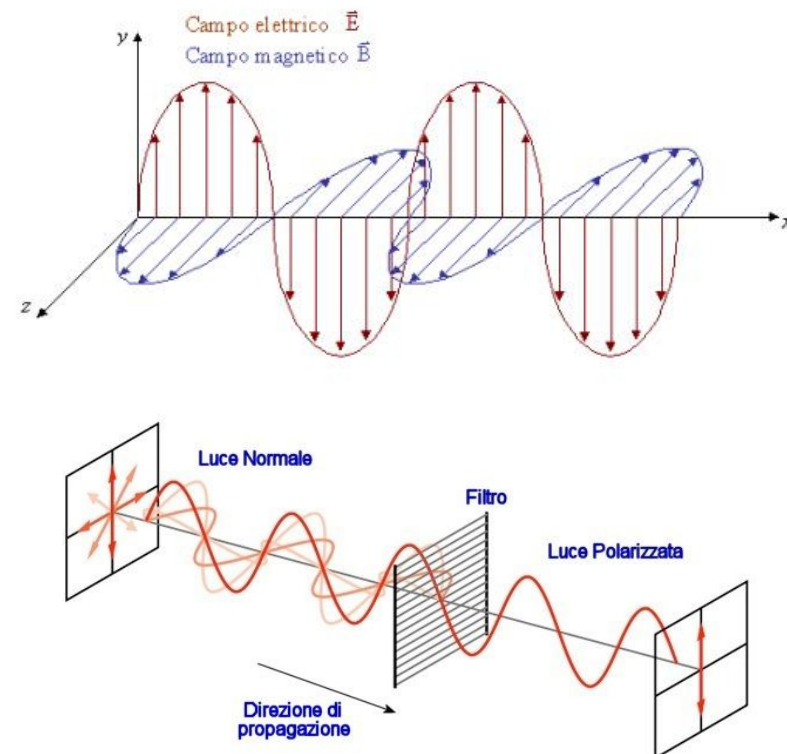
4 - Polarizzazione

Nella luce ordinaria i vettori campo elettrico (E) e campo magnetico (B) sono perpendicolari fra di loro ed oscillano lungo gli infiniti piani che passano per la retta lungo cui si propaga la radiazione.

Quando il campo elettrico (E) oscilla in uno solo dei possibili piani si ha la luce polarizzata

Alcuni composti sono in grado di ruotare il piano della luce polarizzata e quindi sono **otticamente attivi**

L'angolo di deviazione detto **angolo di polarizzazione** è caratteristico di ogni composto e dipende dalla concentrazione della soluzione, dal cammino ottico, dalla temperatura e dalla lunghezza d'onda.



Ogni sostanza otticamente attiva è caratterizzata da un potere rotatorio specifico

$$[\alpha]_{\lambda}^t = \frac{\alpha}{lC}$$

...dove

α = angolo di rotazione

l = percorso ottico (dm)

C = concentrazione (g/mL)

λ = lunghezza d'onda luce polarizzata

t = temperatura (°C)

Il potere rotatorio è riferito alla riga D del sodio ($\lambda=589.3$) ed alla temperatura di 20 °C

I due **enantiomeri** di una sostanza otticamente attiva ruotano il piano di una luce polarizzata nei due versi opposti: il **destrogiro** (ruota verso destra, ossia in senso orario) è indicato con d o $+$, il **levogiro** (ruota verso sinistra, ossia in senso antiorario) è indicato con l o $-$. La miscela al 50% dei due da origine ad un **racemo**

La misurazione del potere rotatorio di una sostanza è fatta con un **polarimetro** e da questo si può risalire alla concentrazione di specie otticamente attive.

Potere rotatorio specifico a 20 °C con luce al sodio

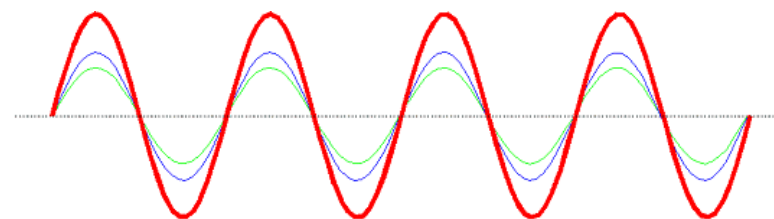
	Solvente	Rotazione (°)
Saccarosio	acqua	+66.412
D-glucosio	acqua	+52.5
Galattosio	acqua	+83.9
Zucchero invertito	acqua	-19.7
Lattosio	acqua	+52.4
Fruttosio	acqua	-88.5
Tartrato di potassio	acqua	+27.14
Nicotina	acqua	-77
Solfato di chinina	acqua	+27.14

5 - Interferenza

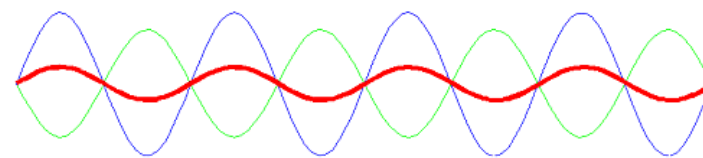
Quando una o più onde interagiscono fra di loro si ha una interferenza che può essere costruttiva o distruttiva a seconda che le onde si intensifichino o si indeboliscano sino anche ad annullarsi.

Nei punti di interferenza l'ampiezza dell'onda risultante è uguale alla somma algebrica delle ampiezze delle onde che interferiscono fra di loro

In fisica l'interferometria è un metodo di misura che sfrutta le interferenze fra più onde coerenti fra loro, utilizzando degli strumenti detti **interferometri**, permettendo di eseguire misurazioni di lunghezze d'onda, di distanze e di spostamenti dello stesso ordine di grandezza della lunghezza d'onda utilizzata



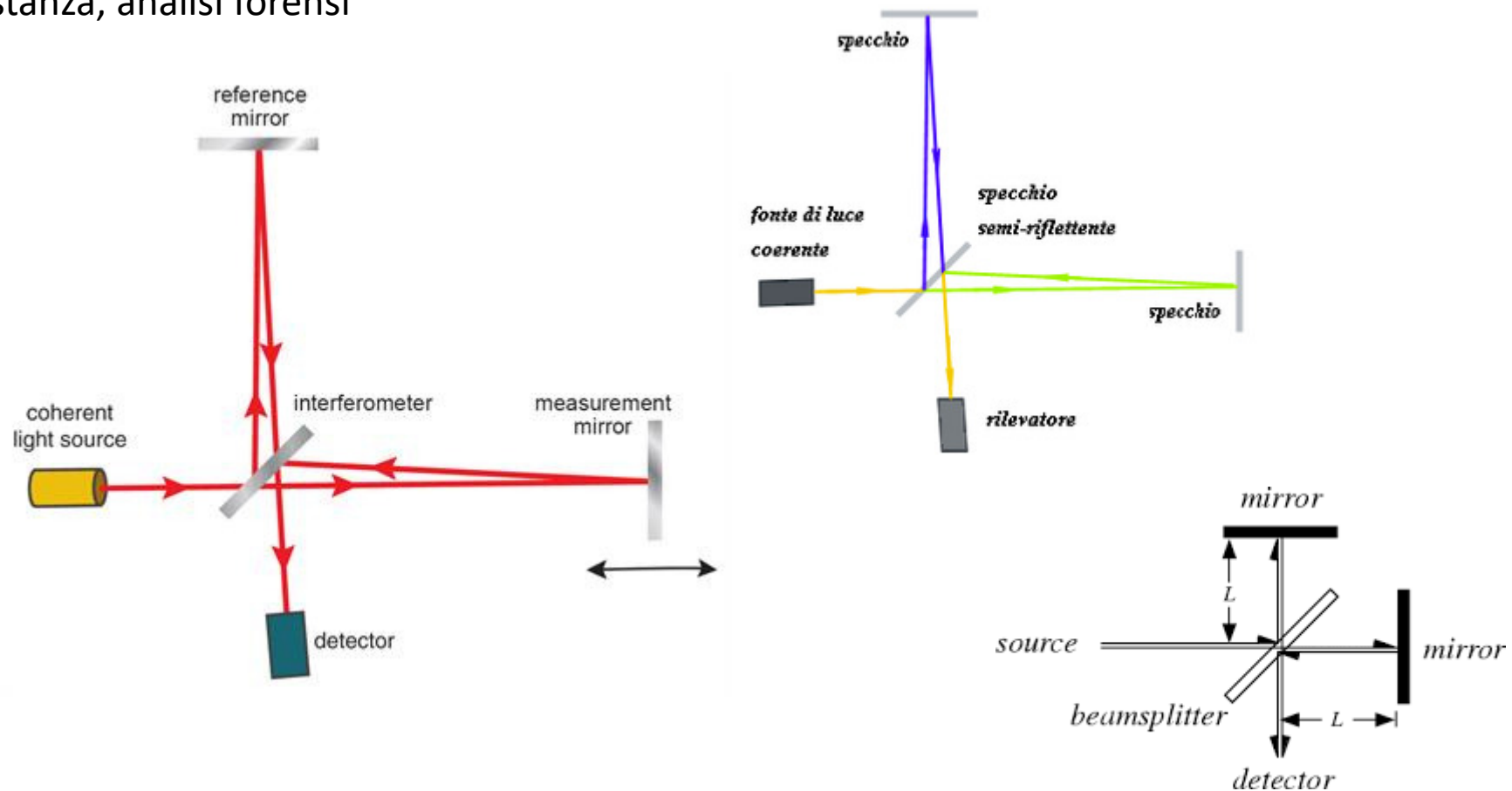
Onde in fase: si ha ovunque interferenza costruttiva



Onde in controfase: si ha ovunque interferenza distruttiva

Con l'interferometria è possibile misurare anche le velocità di propagazione della luce in vari mezzi e per vari indici di rifrazione.

L'interferometria è quindi una tecnica diagnostica e/o investigativa utilizzata in diversi campi come astronomia, fibre ottiche, metrologia ingegneristica, metrologia ottica, oceanografia, sismologia, meccanica dei quanti, fisica del plasma, rilevamento a distanza, analisi forensi



Con un **filtro interferenziale** è possibile costruire un **monocromatore**. Si tratta di una lamina di MgF_2 resa semi-trasparente da due film di argento metallico. La radiazione incide perpendicolarmente sul filtro e rimbalza molte volte sulla lamina perché lo strato di argento ne riflette ogni volta circa la metà e ne lascia passare altrettanta. Venendo continuamente riflessa avanti e indietro, la luce acquista dopo ogni tragitto completo una differenza di fase rispetto al raggio precedente di δ

$$\delta = \left(\frac{2\pi}{\lambda} \right) = 2 n l \cos \theta$$

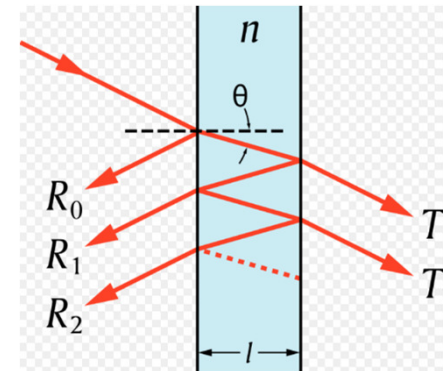
dove

n è l'indice di rifrazione dell'interferometro

l è la lunghezza della cavità

λ è la lunghezza d'onda della luce

θ l'angolo sotto il quale viaggia la luce



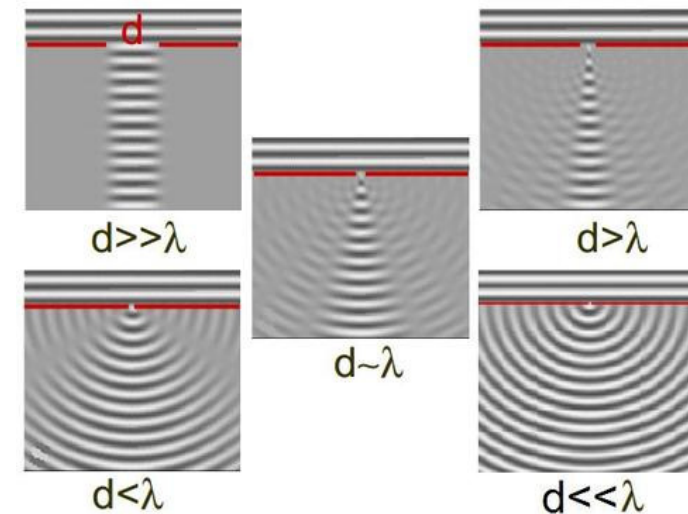
6 - Diffrazione

Se si illumina con raggi paralleli e di un solo colore uno schermo opaco con una fenditura, su uno schermo posto oltre la fenditura si osserva una striscia luminosa a contorni definiti.

Se si restringe la fenditura la striscia luminosa si allarga e l'effetto è tanto più pronunciato quanto più la fenditura è stretta.

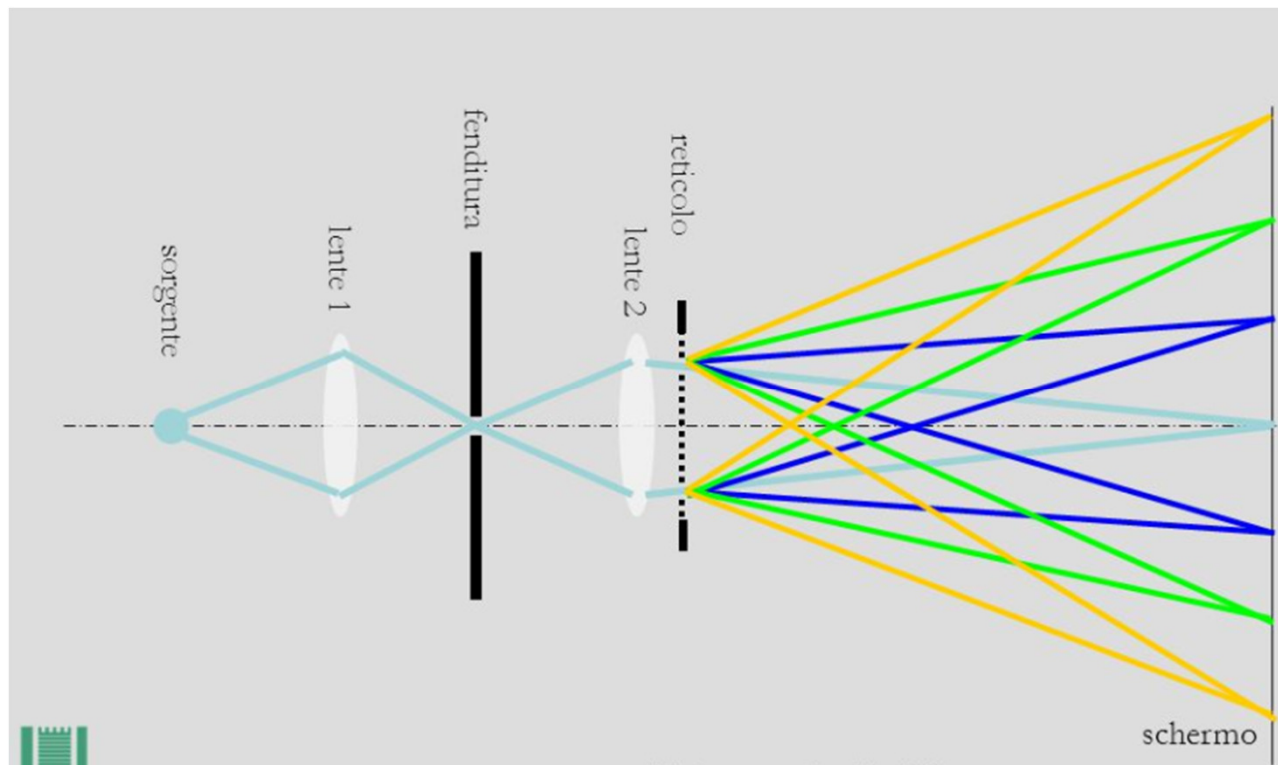
Si ha così la **diffrazione** che si manifesta quando la dimensione dell'apertura è paragonabile o minore alla lunghezza d'onda.

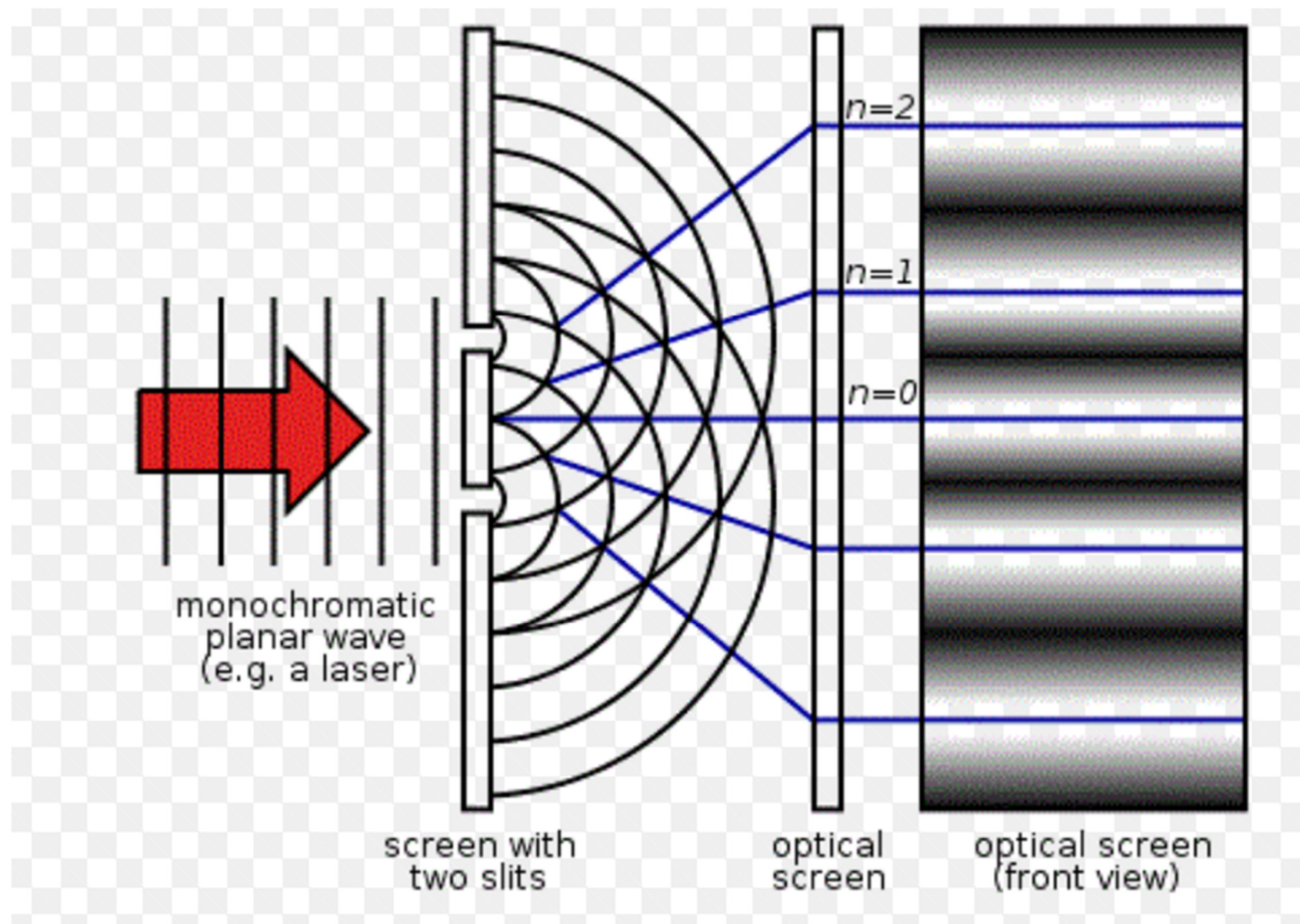
La diffrazione può essere spiegata con il fenomeno dell'interferenza. Infatti per il principio di Huygens-Fresnel ogni punto della fenditura diventa una sorgente di onde che si propagano in tutte le direzioni e l'interferenza fra queste onde produce l'alternanza di zone luminose e scure.



Nella strumentazione la diffrazione può essere realizzata mediante due tipi di dispositivi:

- **Reticoli di trasmissione** : una superficie trasparente su cui viene depositato uno strato sottile di materiale opaco sul quale viene incisa una serie molto fitta di fenditure (sino a 2000 per mm). Ogni fenditura si comporta come un generatore di onde che interferiscono fra di loro. Si avranno così dei massimi e dei minimi che su uno schermo frontale si evidenziano come strisce chiare e scure



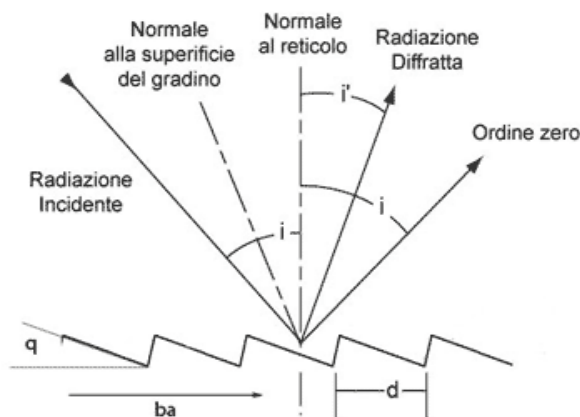


Ipotizzando che la radiazione incidente sia formata da tutte le radiazioni nel campo UV/vis cioè 200-800 nm ed un reticolo di 1000 righe/mm si può calcolare a quale angolo si trovano le singole lunghezze d'onda

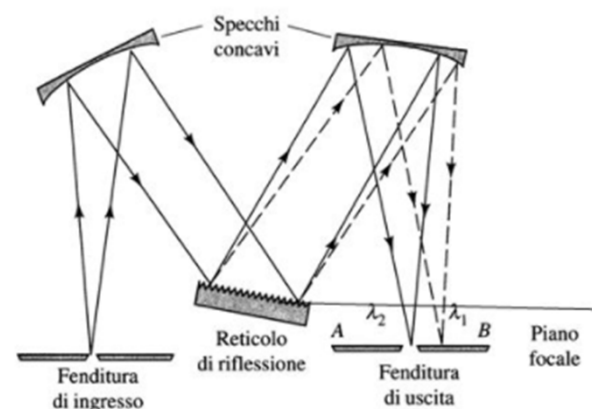
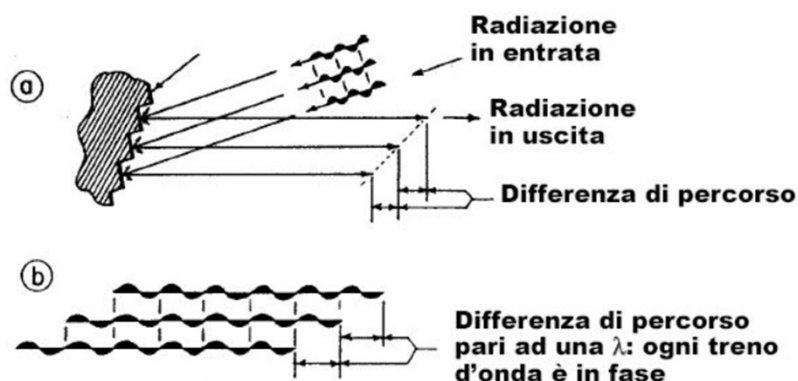
nm	Spettro 1° ordine (θ)	Spettro 2° ordine (θ)	Spettro 3° ordine (θ)
200	11.537	23.578	36.870
300	17.458	36.870	64.158
400	23.578	53.130	>90
500	30.000	90.000	>90
600	36.870	>90	>90
700	44.427	>90	>90
800	53.130	>90	>90

- **Reticoli di riflessione** : su una superficie riflettente vengono praticate delle incisioni (sino a 6000 per mm). In questo caso l'insieme dei raggi riflessi dà origine a fenomeni di interferenza (simili a quelle che si vedono in un compact disc).

I solchi hanno un angolo di taglio caratteristico (*angolo blaze*) e possono essere di tipo *échelette* (la riflessione è fatta sul lato lungo; migliaia di solchi per mm) o *échelle* (la riflessione è fatta sul lato corto; meno di 100 solchi per mm).



Il monocromatore



7 - Luminescenza

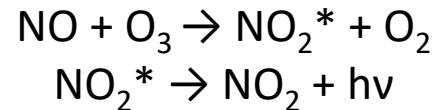
Sono compresi tutti i fenomeni che portano all'emissione di luce visibile da parte della materia in seguito ad eccitazione

Si ha:

- Radioluminescenza → energia di eccitazione da radiazioni come i raggi X o beta. Esempio i quadranti degli orologi in cui il trizio è unito a fosforo. Il gas trizio è contenuto in un piccolo tubo di vetro, rivestito all'interno con fosforo. Le particelle beta emesse dal trizio colpiscono le molecole di fosforo e le inducono a fluorescenza, che emette la luce, generalmente di colore giallo-verde.



- Chemiluminescenza → energia da reazioni chimiche. Sono poche le reazioni chimiche che producono chemiluminescenza, ma alcune sono molto importanti da un punto di vista ambientale; questo unito alla selettività e alla sensibilità del metodo rende le tecniche basate su questo fenomeno utili in chimica analitica. Un esempio può essere l'analisi del monossido di azoto presente nell'aria, analisi che si basa sulla reazione di questo con ozono:



Vari ioni metallici catalizzano la reazione del luminolo con perossido di idrogeno e sfruttando questa attività catalitica, è possibile rivelare ad esempio tracce di sangue in quanto anche il ferro contenuto nell'emoglobina catalizza la reazione del luminolo.

- Bioluminescenza → energia da reazioni biochimiche attivate da enzimi. E' diffusa nel regno animale con diversi meccanismi. In molti casi la bioluminescenza implica l'azione di almeno due composti chimici: un substrato organico che emette la luce, chiamato "luciferina", e un enzima catalizzatore chiamato "luciferasi". La luciferina, in presenza di ATP (adenosintrifosfato), magnesio e dell'enzima luciferasi, cede elettroni, i quali, passando ad un livello minore di energia, liberano energia sotto forma di luce. La reazione si utilizza per la valutazione dell'igiene delle superfici in quanto valuta l'ATP presente con un bioluminometro



In genere si considera pulita ogni superficie che ha rilevato un valore inferiore a 10 RLU (Unità di Luce Relativa), non adeguatamente pulita una superficie con valori compresi fra 11 e 29 RLU, mentre si ritengono sporche le superfici che rilevano letture superiori a 30 RLU. Si considera 1 RLU = 10^{-15} moli ATP



- Triboluminescenza → è un particolare tipo di luminescenza che si manifesta in alcuni materiali che, sottoposti a sforzi meccanici (ad esempio schiacciandoli, graffiandoli o sfregandoli), emettono parte dell'energia assorbita sotto forma di onde elettromagnetiche. Ad esempio il saccarosio agitato violentemente da una leggera luminosità. L'effetto non è ancora stato spiegato completamente, ma si ipotizza che durante la rottura di materiali asimmetrici avvenga una separazione di carica e, quando le cariche si ricombinano, la scarica elettrica ionizza l'aria causando il lampo di luce. Tali ipotesi richiedono che i cristalli che evidenziano questo effetto abbiano difetti di simmetria (per consentire la separazione della carica) e che siano cattivi conduttori, tuttavia esistono sostanze che pur non possedendo tali qualità sono soggette al fenomeno. Se si vuole enfatizzare il fenomeno si può utilizzare il metil-2-idrossibenzoato più noto come salicilato di metile (presente nelle caramelle alla menta) che è una sostanza fluorescente ed assorbe la luce ultravioletta nella stessa regione spettrale di quelle emanate dal saccarosio pertanto la radiazione emanata dalla triboluminescenza dello zucchero serve ad eccitare il salicilato di metile, che a sua volta emette la luce blu in modo più eclatante rispetto a quello dello zucchero.

- Termoluminescenza → Si parla di termoluminescenza quando il materiale emette luce mentre viene riscaldato: si tratta di un processo d'emissione stimolata che si verifica dopo che il corpo ha assorbito energia mediante esposizione a radiazione. L'energia assorbita in seguito all'esposizione a radiazione consente agli elettroni di muoversi attraverso il reticolo cristallino e alcuni di essi vengono intrappolati dai difetti reticolari. Il successivo riscaldamento del materiale rende possibile il rilascio con emissione di luce degli elettroni intrappolati. Assumendo una velocità di riscaldamento lineare, risulta che l'intensità della termoluminescenza è legata all'energia d'attivazione del livello di trappola da una relazione nota; misurando l'andamento dell'intensità in funzione della temperatura è pertanto possibile risalire alla profondità dei centri di trappola e associarla alla quantità di radiazione assorbita.

La tecnica viene utilizzata in archeologia per la datazione della ceramica, molti dei cui componenti, quali quarzi e feldspati sono termoluminescenti.

La cottura del manufatto elimina ogni termoluminescenza presente nei materiali che fanno parte dell'impasto, ma l'irraggiamento ambientale porta con il passare del tempo ad un nuovo accumulo di energia.

Riscaldando nuovamente il materiale ad una temperatura di qualche centinaio di gradi, si può rilevare la quantità di termoluminescenza per mezzo di fotomoltiplicatori.

Questa quantità dipende dal tempo trascorso dalla cottura, oltre che dalla quantità di irraggiamento subito (per cui i parametri di riferimento possono variare da luogo a luogo) e dal tipo di materiale presente nell'impasto.

Va inoltre tenuto conto di altri eventuali riscaldamenti subiti dal manufatto (per esempio per un incendio). I campioni non vanno inoltre sottoposti a sorgenti di radioattività artificiale.

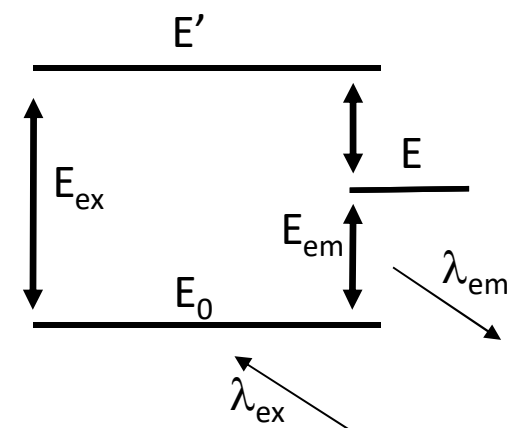
La tecnica è applicabile, oltre che alla ceramica, alla terra o alle pietre di un focolare, alle terre di fusione dei bronzi, alle sculture o decorazioni architettoniche in terracotta, ai mattoni, oppure ancora alla lava solidificata di un'antica eruzione. Per i forni da vasaio consente la datazione solo dell'ultimo utilizzo.

Si possono ottenere, di norma, datazioni con una accuratezza del 5-10% nell'intervallo indicativo di età tra 50 e 20.000 anni.

- Fotoluminescenza → energia eccitante di tipo elettromagnetico; si hanno tre fenomeni fondamentali: *fluorescenza* (molecolare o atomica), *fosforescenza* (molecolare) ed *emissione Raman*

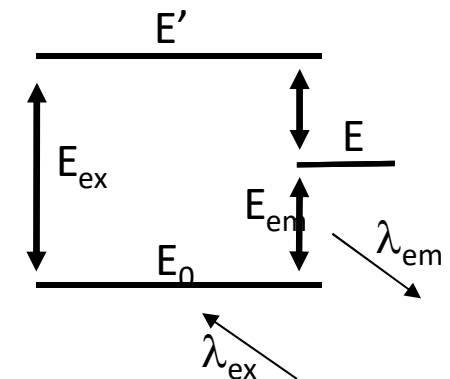
→ Fluorescenza/fosforescenza molecolare

Ipotizziamo che un fotone di energia venga assorbito da una molecola di fluorocromo o fluoroforo allo stato « E_0 ». La molecola viene eccitata allo stato « E' » in quanto si ha il trasferimento di un elettrone in una orbita di energia più alta.



In un tempo molto breve ($10^{-8}/10^{-9}$ secondi) la molecola può avere vari comportamenti:

- Fluorescenza di risonanza : la molecola torna allo stato originario « E_0 » emettendo radiazioni uguali a quelle di eccitamento
- Rilassamento vibrazionale : la molecola passa da « E' » ad uno stato energetico inferiore « E » e di qui può avere ulteriori evoluzioni:
 - Si ha un decadimento non radiante in cui la molecola disperde energia nelle collisioni con altre molecole
 - Si ha emissione di energia radiante con liberazione di un fotone di energia che costituisce la **luce di fluorescenza**. L'energia di questo fotone è però minore quindi la lunghezza d'onda maggiore. La differenza fra l'energia del fotone di eccitazione e quella del fotone di emissione è una delle proprietà fondamentali che caratterizzano un fluoroforo, è detto **shift di Stokes**.
 - Si ha una inversione di spin dell'elettrone con emissione di energia radiante e quindi di **fosforescenza molecolare**. E' un processo raro e più lento della fluorescenza



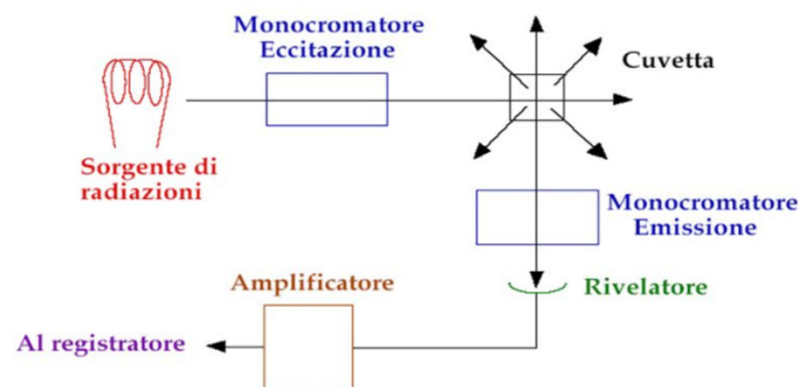
La fluorescenza è misurata con **fluorimetri**, strumenti che misurano una radiazione fluorescente emessa da un campione eccitato da una opportuna radiazione.

Si possono misurare molecole fluorescenti ma anche molecole rese fluorescenti con opportuni cromofori (dansil cloruro, etidio bromuro, acido 1-anilinonaftalen-8-solfonico) Usando uno strumento con due monocromatori, uno dopo la sorgente e uno dopo la cella del campione, è possibile ottenere due tipi di spettri:

→ spettro di emissione: mantenendo costante la lunghezza d'onda di eccitazione e facendo variare la lunghezza d'onda di emissione

→ spettro di eccitazione: mantenendo costante la lunghezza d'onda di emissione e registrando il variare della sua intensità in funzione del variare della lunghezza d'onda di eccitazione.

L'intensità della fluorescenza è direttamente correlata alla concentrazione della molecola fluorescente.



→ Fluorescenza atomica

Il fenomeno è simile a quello della fluorescenza molecolare ma interessa un atomo che passa da uno stato normale ad uno eccitato per assorbimento di un fotone quindi ritorna allo stato normale mediante diversi meccanismi e liberazione di un fotone di energia con intensità minore e quindi con una radiazione di lunghezza d'onda maggiore.

La fluorescenza viene generalmente misurata ad un angolo di 90° dalla fonte di eccitazione per ridurre al minimo la raccolta di luce diffusa dalla sorgente di eccitazione; spesso tale rotazione è fornita tramite un prisma di Pellin-Broca su una piattaforma girevole che separa anche la luce nel suo spettro per una più stretta analisi.

La lunghezza d'onda ancora una volta rivela l'identità degli atomi. Per le basse assorbanze (e dunque basse concentrazioni) l'intensità della luce che diventa fluorescente è direttamente proporzionale alla concentrazione degli atomi. La fluorescenza atomica è in genere più sensibile (vale a dire può rilevare concentrazioni più basse) dell'assorbimento atomico.

→ Emissione Raman

Se una radiazione colpisce particelle di diametro inferiore ad $1/10$ della lunghezza d'onda si ha una diffusione (effetto Reyleigh)

Una frazione di luce diffusa ha però una frequenza di poco diversa (maggiore e minore) di quella incidente : **emissione o diffusione Raman**

La **spettroscopia** Raman è largamente utilizzata nello studio dei materiali, sia allo stato solido che liquido o in fase di gas. È una tecnica non distruttiva, che dà risposte in tempi brevi, che non richiede particolari condizioni per l'esecuzione della misura e può essere effettuata direttamente sul campione senza nessuna preparazione.

In un esperimento di scattering Raman il campione da analizzare viene colpito da una radiazione elettromagnetica monocromatica proveniente da una sorgente laser. La radiazione elettromagnetica interagendo con gli elettroni delle molecole induce su di esse un dipolo elettrico oscillante responsabile del processo di diffusione della radiazione incidente. Analizzando la radiazione diffusa si possono distinguere componenti con diverse energie. La componente Rayleigh che rappresenta la quasi totalità della radiazione diffusa, proviene da un processo di diffusione elastico che non comporta scambio di energia con il sistema ed ha la stessa energia della radiazione incidente. Le componenti Stokes che hanno energie minori e le componenti anti-Stokes che hanno energie maggiori rispetto alla radiazione incidente provengono da processi di diffusione anelastici.

La non distruttività e la possibilità di effettuare misure direttamente in sito, rende la tecnica Raman molto efficace per lo studio dei materiali in generale. Si possono ricavare informazioni sia sulla natura chimica del materiale che sulla struttura e le interazioni si stabiliscono all'interno del sistema.

Queste qualità hanno favorito l'applicazione della tecnica Raman per lo studio, la conservazione delle opere d'arte e come metodologia anti contraffazione

La possibilità di registrare spettri direttamente in soluzioni acquose (al contrario di ciò che avviene per la spettroscopia infrarossa) rende la tecnica Raman indispensabile per lo studio di sistemi biologici in vivo.

L'utilizzo di sistemi di nanoparticelle metalliche sia in soluzioni colloidali che deposte su opportuni substrati per la registrazione di spettri Raman può portare ad un aumento delle intensità di scattering. Questa spettroscopia è denominata Surface Enhanced Raman Scattering (SERS)



8 – Assorbimento

Si intende l'acquisizione di energia di radiazioni elettromagnetiche da parte della materia.

L'assorbimento è molto rapido e in genere è seguito da una rapida ri-emissione sotto forma di calore a seguito di urti con atomi e molecole vicine

Nella emissione non si produce energia radiante.

Durante l'assorbimento atomi e molecole aumentano l'energia e si hanno fenomeni diversi in funzione delle energie delle radiazioni:

- Radiofrequenze : reagiscono solo con lo spin di alcuni nuclei
- Microonde : rotazioni nelle molecole
- IR : oscillazioni dei legami molecolari
- UV/vis : eccitazione degli elettroni di valenza
- Raggi X : separano elettroni

A causa dell'assorbimento l'intensità di una radiazione misurata a valle di un campione irraggiato risulta inferiore a quella incidente e su questo fatto si basano le tecniche di **spettroscopia** (o **spettrofotometria**) di **assorbimento atomico** o **molecolare**.

Nello strumento sono presenti:

- Una sorgente di radiazioni
- Un monocromatore
- Un rivelatore

Si può avere una **spettroscopia** (si rilevano solo le variazioni di energia) o una **spettrometria/spettrofotometria** (si misura la variazione di energia)

Nell'analisi quantitativa si confronta la radiazione in uscita dal campione con quella in ingresso ad una determinata lunghezza d'onda mentre in quella qualitativa si rileva la radiazione in uscita per tutte le lunghezze d'onda. Si ottiene così lo **spettro di assorbimento**

In funzione delle condizioni operative e del tipo di radiazione si può avere un **assorbimento atomico** od un **assorbimento molecolare**

9 – Emissione

Quando si fornisce energia alla materia sotto forma di calore o di elettricità la emissione conseguente di radiazioni è indicata come emissione.

Il fenomeno è simile a quello visto per l'assorbimento ma in questo caso si ha il ritorno allo stato normale con formazione di radiazioni elettromagnetiche la cui lunghezza d'onda dipende dall'energia assorbita.

La **spettroscopia di emissione** raccoglie tecniche basate su questo fenomeno ed in cui la sorgente energetica può essere una scintilla od il plasma.

Spettrofotometria UV/visibile

Si basa sull'assorbimento selettivo, da parte di molecole di radiazioni con λ compresa fra 10 nm e 780 nm.

Si ha così

- UV lontano : 10 -200 nm
- UV vicino : 200-380 nm
- Visibile : 380-780 nm

In genere si usano UV vicino/visibile perché nell'UV lontano l'ossigeno assorbe e quindi si deve operare sotto vuoto

L'assorbimento di radiazioni da parte di una molecola è regolato dalla legge di Beer o Lambert-Beer:

$$A = \epsilon l C$$

Dove

A = assorbanza

ϵ = coefficiente di assorbimento molare

l = cammino ottico (cm)

C = concentrazione sostanza (moli/L)

Il coefficiente di assorbimento molare dipende dalla lunghezza d'onda, dal solvente e dalla sostanza

Se il percorso ottico è costante l'equazione rappresenta una retta $A = kC$ dove $k = \epsilon$ se $l = 1$ cm e k è il coefficiente angolare della retta

Molto importante anche la trasmittanza $T = I / I_0$

Dove I_0 = intensità radiazione incidente e I è l'intensità della radiazione in uscita

Trasmittanza ed assorbanza sono legate da $A = \log 1/T$

Poiché la trasmittanza è espressa in percentuale (T% ossia $T \cdot 100$) ne deriva che

$$A = \log (100/T\%) = \log 100 - \log T\% = 2 - \log T\%$$

quindi

$$-\log T\% = A - 2$$

$$\log T\% = 2 - A$$

$$T\% = 10^{2-A}$$

L'assorbanza può avere qualsiasi valore superiore a 0 mentre T% vale da 0 a 100

Gli strumenti non forniscono valori di assorbanza superiori a 2 (raramente 3) perché a

$A=3$ si ha $T\%=0.1$ e quindi il segnale è troppo debole per essere misurato

Gli strumenti sono spettrofotometri e colorimetri e sono formati da:

- Sorgente
- Monocromatore
- Celle/cuvette
- Rivelatore
- Sistema elaborazione

Sorgente

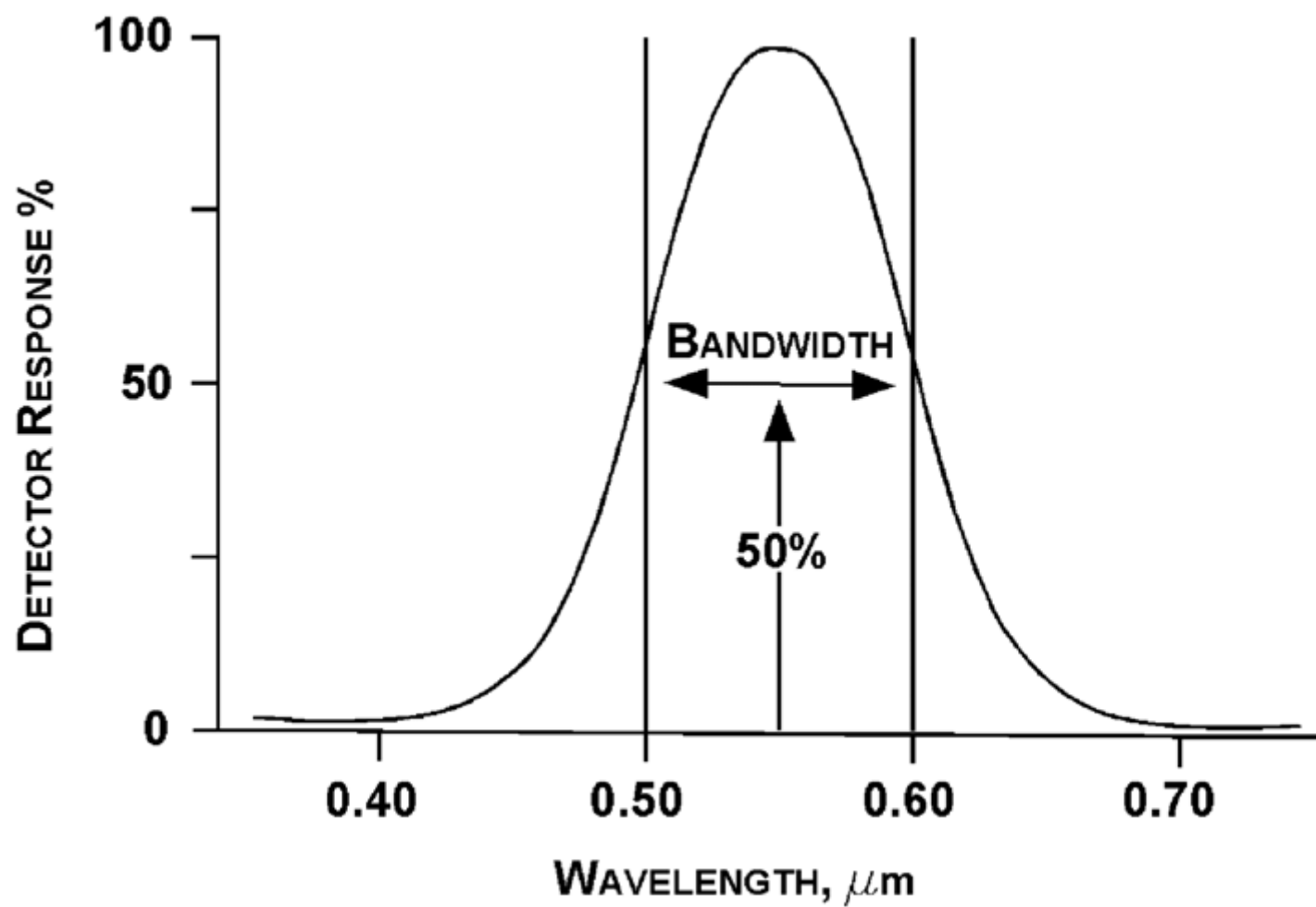
Regione del visibile → Lampade a filamento di tungsteno, lampade a quarzo-iodio, lampade tungsteno-alogeno

Regione dell'UV → lampade a deuterio, lampade a vapori di mercurio (per applicazioni speciali)

Monocromatore

Parametri di valutazione:

Ampiezza della banda passante (Spectral Band Width SBW): intervallo di lunghezze d'onda del fascio che emerge dal monocromatore con una energia superiore al 50% della energia della radiazione nominale; è espressa in nm. Ad esempio con radiazione di 580 nm e banda passante di 20 nm avremo radiazioni da 570 a 590 nm con intensità pari a 1/2



Potere risolvente (R) : capacità del monocromatore di separare due diverse lunghezze d'onda

$$R = \frac{\Delta\lambda}{\Delta l}$$

$\Delta\lambda$ = differenze fra due lunghezze d'onda

Δl = distanza fra le due radiazioni misurata sul piano di uscita dal monocromatore (mm)

Quindi è la differenza di lunghezza d'onda fra due radiazioni separate da 1 mm sul piano della fenditura di uscita

Poiché si lavora con bande anziché righe si preferisce parlare di **risoluzione spettrale** intesa come la distanza fra due diverse lunghezze d'onda che consente di separare due bande all'80% della rispettiva energia

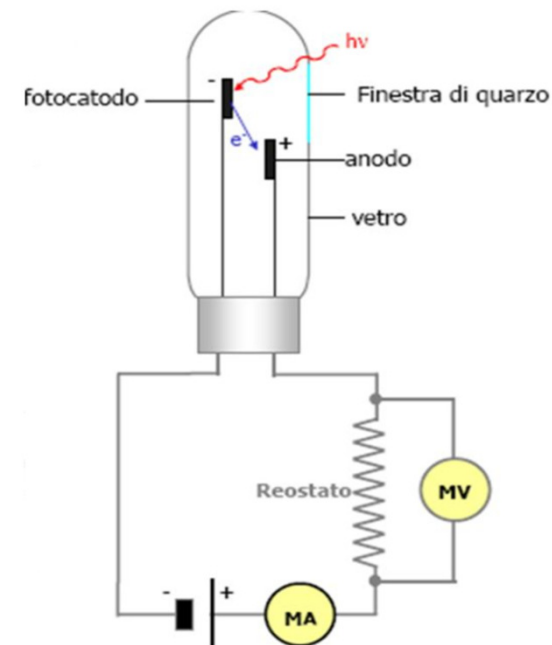
I monocromatori sono:

- Filtri
 - filtri di assorbimento : sono i più economici; banda spettrale media 250 nm; unendo più filtri si arriva a 35-60 nm di banda ma l'energia trasmessa è molto bassa
 - Filtri a interferenza e di scattering : banda passante di 10-20 nm
- Prismi : poichè la dispersione di un prisma non è lineare ed il potere disperdente aumenta al diminuire della lunghezza d'onda le bande arrivano a 0.1 nm con fenditure da 0.1 mm
- Reticoli : di trasmissione o di diffrazione, di riflessione, a riflessione di fase. In genere si usano quelli a riflessione che restituiscono quasi tutta la radiazione incidente e non sono sensibili al calore

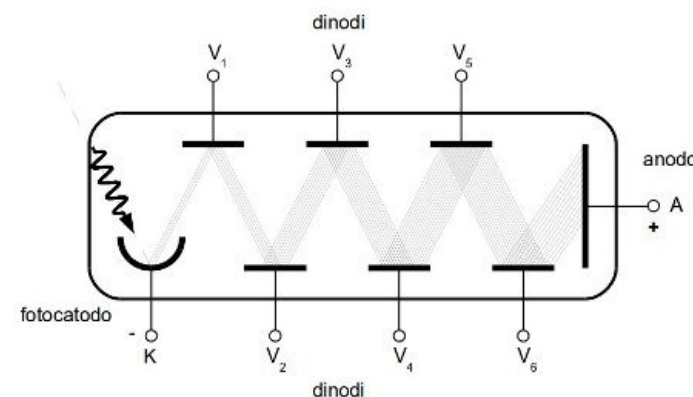
Rivelatori

Trasformano l'energia radiante in un segnale elettrico:

- Celle fotovoltaiche : nei semiconduttori (es. selenio) gli elettroni più esterni possono essere eccitati con relativa facilità; le radiazioni UV/vis hanno energia sufficiente energia per provocare queste transizioni che a loro volta generano una corrente elettrica. Lavorano in un intervallo spettrale ristretto (400-750 nm) e quindi sono usati in strumenti semplici; hanno una risposta lenta e tendono ad attenuare il segnale quando attraversati per lungo tempo da una radiazione; hanno costi contenuti; sono robusti e non richiedono amplificatori di segnale
- Fototubi : le radiazioni UV/vis hanno energia sufficiente per provocare l'effetto fotoelettrico (emissione di elettroni da materiali cui sia applicata una specifica d.d.p.; sono fotoemissivi nell'intervallo 190-650 nm; usati per strumenti di medio costo

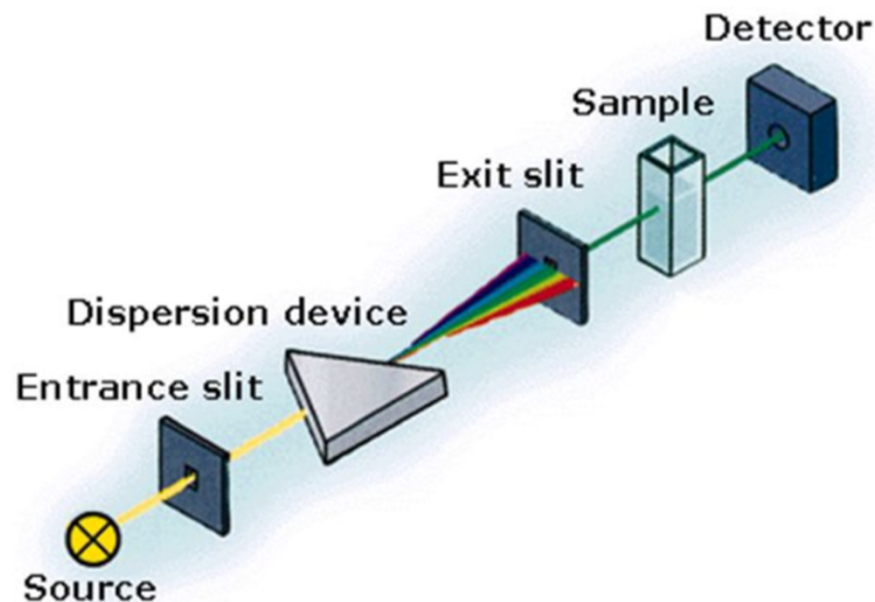


- Fotomoltiplicatori : sono simili ai fototubi ma hanno una sensibilità maggiore per l'effetto «a cascata» degli elettroni; sono costosi e si usano in strumenti di alta gamma, sono molto sensibili alla luce ambientale
- Fotodiodi : sono costituiti da diodi di silicio o germanio su cui i fotoni determinano un eccesso od una lacuna di elettroni che fanno variare la d.d.p. del sistema

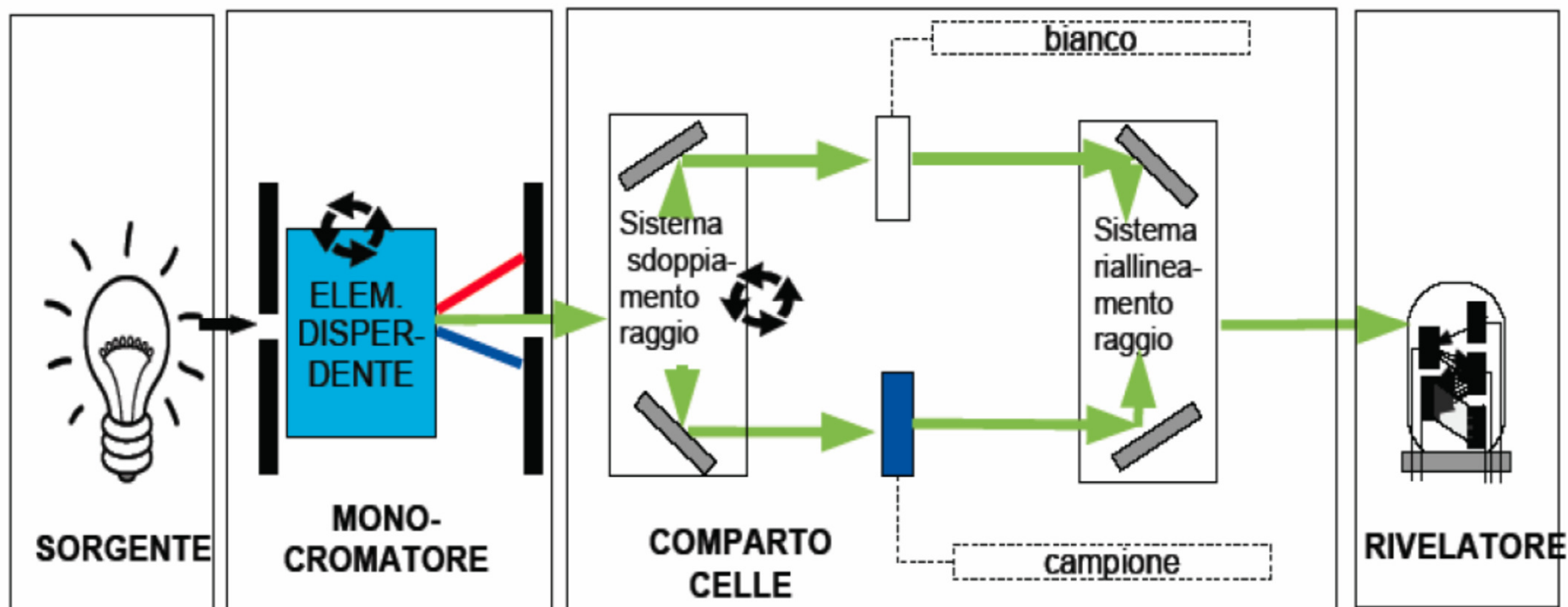


Tipi di strumento

- Monoraggio : sono molto semplici e con prestazioni modeste ma adeguate per specifiche attività; il raggio selezionato dal monocromatore colpisce il campione e la radiazione in uscita viene letta; sono usati prevalentemente in analisi quantitativa. La difficoltà sta nel fatto che per ogni misura 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.

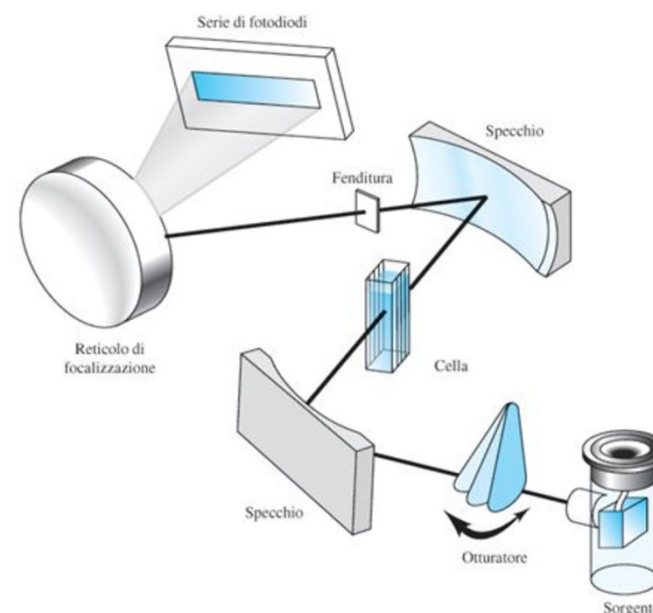


- Doppio raggio : il raggio in uscita dal monocromatore viene sdoppiato ed i due raggi vengono inviati uno al campione ed uno al riferimento posti in due cuvette uguali



- A serie di diodi : sono dei monoraggio in cui un policromatore posto dopo il campione scompone la radiazione nelle diverse componenti monocromatiche e le invia ad un banco di diodi. Il rivelatore è costituito da 256-512 fotodiodi posizionati uno a fianco all'altro su un cristallo di silicio cosicchè ciascuno raccolga 1.25-2 nm di radiazione. La risoluzione dipende dal numero di diodi. Sono molto rapidi nella scansione (meno di 100 ms) con una elevata riproducibilità perché non vi sono organi in movimento. Sono usati come rivelatori per HPLC

- A fibra ottica : la radiazione che colpisce il campione e quella che arriva dal campione viene trasmessa con una fibra ottica. Può lavorare in riflettanza che in trasmittanza

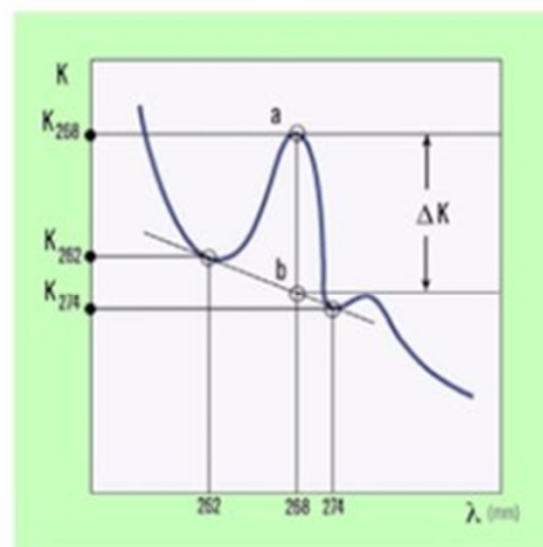
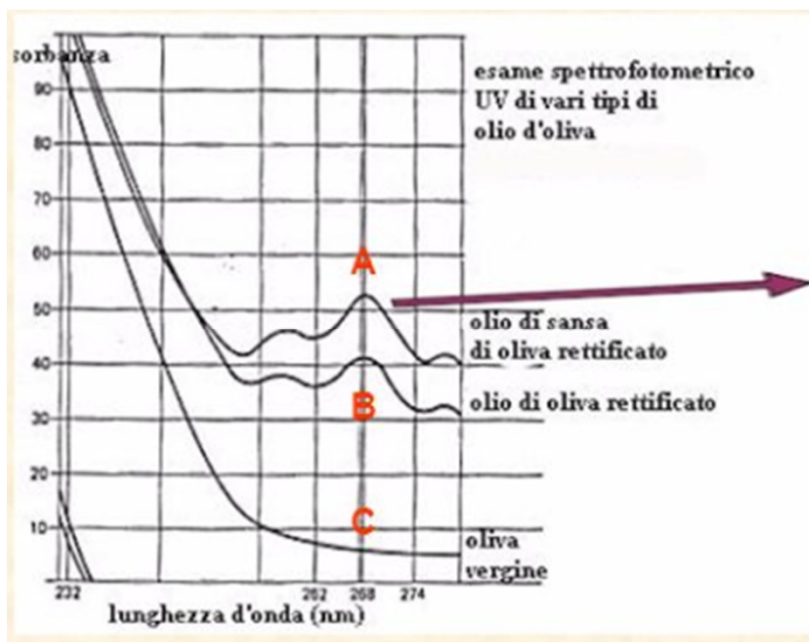


Esame spettrofotometrico olio

Gruppo cromoforo	λ_{max} (nm)
Legame singolo	170
Diene (trans,trans)	231
Diene (cis,trans)	232-235
Triene (trans,trans,trans)	259 268 279
Triene (cis,cis,cis e trans,trans,cis)	262 271 279
Triene (cis,cis,trans))	265 275 387

Soluzione olio 1% in iso-ottano

$$DK = K_{268} - (K_{274} + K_{262})/2$$



Spettrofotometria IR

Si basa sull'assorbimento di composti delle radiazioni con λ comprese fra 0.78 μm (limite del visibile) e 100 μm . La gamma spettrale è divisa in tre regioni:

- IR vicino (o NIR o NearIR) da 0.78 a 2.5 μm
- IR medio (o MIR o MidIR) da 2.5 a 50 μm
- IR lontano (o FIR o FarIR) da 50 a 100 μm

La regione più interessante analiticamente è il MIR che fornisce informazioni sulla struttura dei composti.

Il NIR ha bande complesse correlabili a gruppi funzionali; viene usato per l'analisi quantitativa di prodotti alimentari

Il FIR è di interesse per la caratterizzazione di composti organici e metallorganici

Per l'analisi si possono utilizzare

- Spettrofotometri a dispersione
- Spettrofotometri a interferenza e trasformata di Fourier



Spettrofotometri a dispersione

Sono simili ad uno spettrofotometro UV/vis a doppio raggio. Varie le sorgenti (globalar, filamento di Nerst, striscia di nichel-cromo, filamento di ceramica) a cui segue un monocromatore (reticolo a dispersione).

La radiazione viene quindi divisa in due e fatta incidere sul campione.

Un rivelatore (in genere un cristallo piroelettrico) converte la radiazione in uscita dal campione in un segnale elettrico

Spettrofotometri a trasformata di Fourier (FT-IR)

Nei sistemi a dispersione lo spettro viene registrato in modo sequenziale mentre nel FT_IR lo spettro viene registrato in modo simultaneo alle varie lunghezze d'onda.

Alla base del FT-IR un interferometro e la trasformata di Fourier.

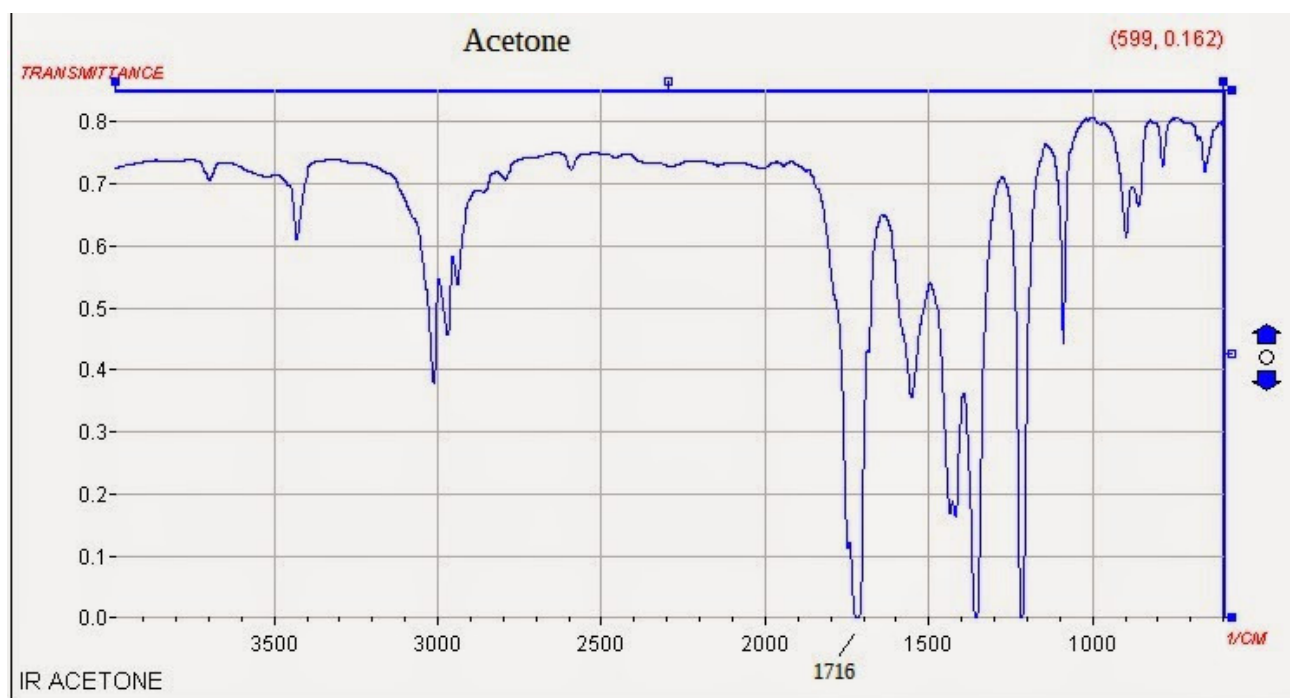
Uno spettrofotometro FT-IR ha molti vantaggi rispetto ad un sistema a dispersione:

- l'energia in arrivo al rivelatore è maggiore quindi anche il rapporto segnale/rumore
- L'acquisizione dei dati è molto rapida
- Elevata accuratezza e riproducibilità delle λ
- Non vi è luce diffusa
- Non si ha riscaldamento del campione in quanto la sorgente è lontana



Per l'IR non si possono usare celle in vetro o quarzo ma altri materiali quali NaCl (poco costoso); KBr (maggiore intervallo spettrale, più igroscopico, si fessura facilmente); CsI (molto igroscopico, intervallo spettrale molto ampio, reattivo con molti composti); CaF₂ (duro, stabile, molto resistente, poco igroscopico, intervallo spettrale ristretto) ed altri. In alcuni casi il materiale viene unito al sale e poi trasformato in pastiglia.

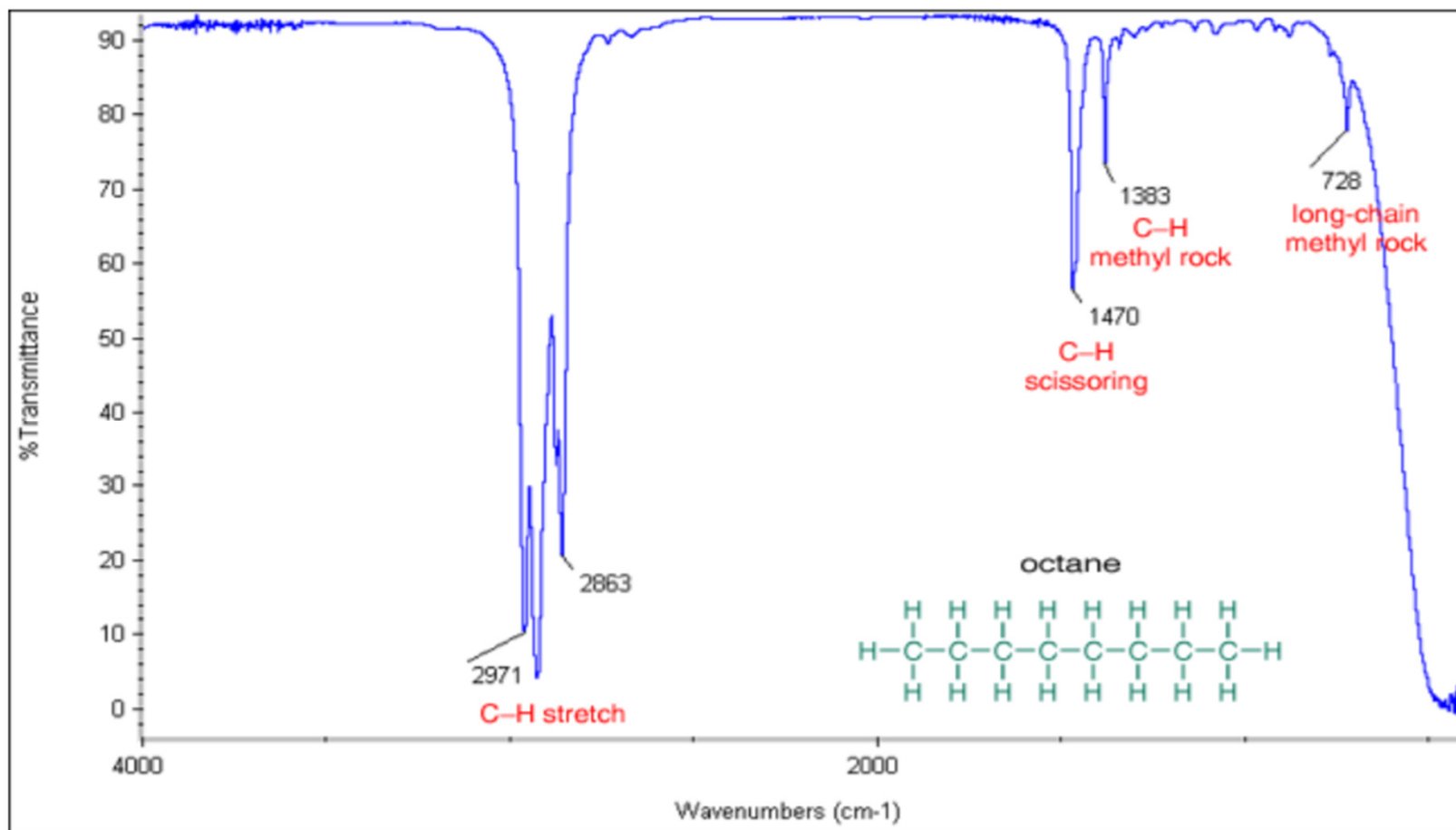
Gli FT-IR possono essere accoppiati ad HPLC, Raman, microscopi (ottenere immagini di superfici eccitate con IR)



Analisi qualitativa

Ogni molecola ha uno spettro di assorbimento caratteristico che non può sovrapporsi a quello di altre molecole. Ogni gruppo funzionale ha zone specifiche di assorbimento che aiutano nell'identificazione.

Gruppo	Classe di Composti	Intervallo, cm ⁻¹	Intensità
C-H	Alcano	2965-2850 (stretch)	forte
	-CH ₃	1450 (bend)	media
		1380 (bend)	media
	-CH ₂	1465	media
	Alchene	3095-3010 (stretch)	media
		700-1000 (bend)	forte
	Alchino	3300 circa	forte
	Aldeide	2900-2820	debole
C-C		2775-2700	debole
	Alcano	700-1200 (generalmente non utilizzabile)	debole
	Alchene	1680-1620	variabile
	Alchino	2260-2100	variabile
C=O	Chetone	1715	forte
	Aldeide	1725	forte
	Acido carbossilico	1710	forte
	Etere	1735	forte
	Ammide	1650	forte
	Anidride	1820-1760	forte
C-O	Alcoli, esteri, acidi carbossilici, eteri	1300-1000	forte
O-H	Alcol		
	monomero	3650-3590	variabile e netta
	legato con legame H	3400-3200	forte e allargata
	Acido carbossilico legato con legame H	3300-2500	variabile e allargata



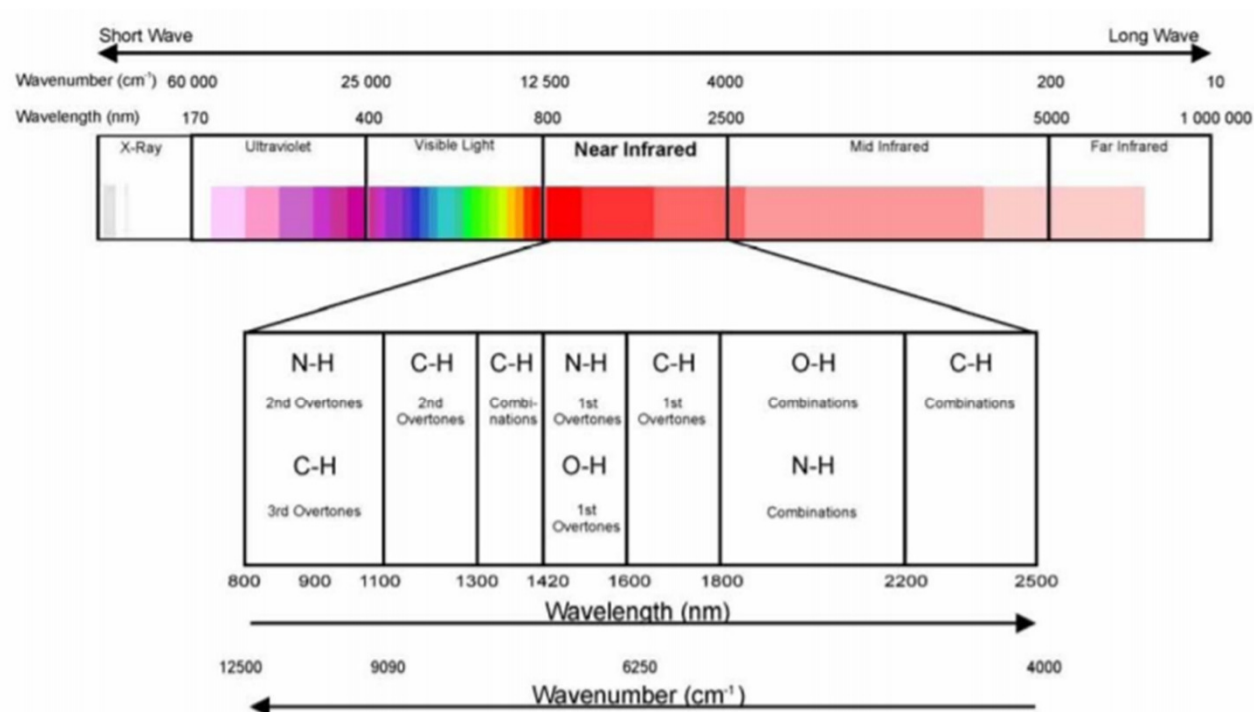
Analisi quantitativa

L'analisi si basa sulla legge di Lambert-Beer ed è quindi fondamentale definire una banda su cui effettuare la misura di assorbanza.

Nel caso di miscugli è necessario individuare una banda esente da sovrapposizioni e ben distanziata da altre bande

Spettrofotometri NIR

Gli spettrofotometri NIR operano nel vicino infrarosso



Spettro radiazioni elettromagnetiche

Secondo la teoria quantistica ciascun atomo o molecola possiede un proprio stato energetico detto “stato fondamentale” in cui la struttura ha la più bassa energia possibile.

Se quest’atomo, o molecola, è colpito da radiazioni si osserva un assorbimento delle stesse solo se l’energia portata dalla radiazione corrisponde ad un salto di stato energetico della struttura.

L’interazione che coinvolge la radiazione NIR è la “transazione vibrazionale” ovvero muta l’ampiezza delle vibrazioni tra gli atomi della molecola in esame.

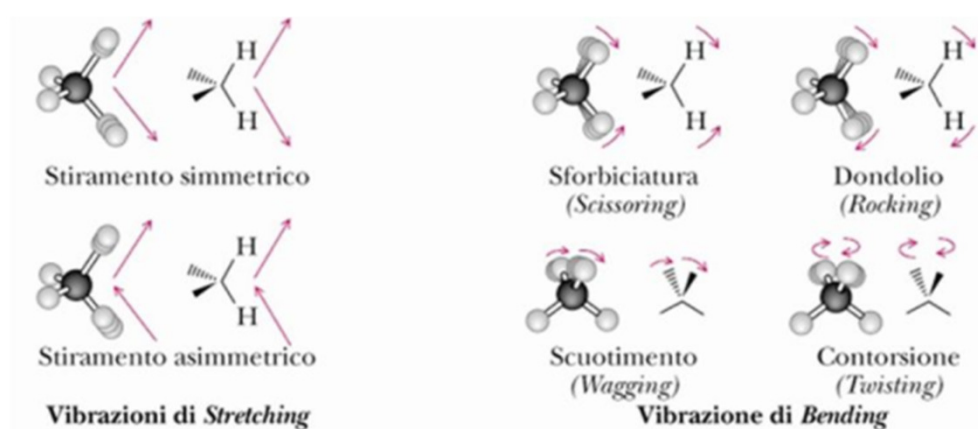
Le variazioni dell’energia vibrazionale all’interno della molecola sono quindi quantizzate, ciascuna coppia d’atomi assorbe le lunghezze d’onda specifiche della radiazione in base alla loro massa atomica e alla forza del legame che li tiene uniti (nel caso della molecola d’acqua è interessato il legame H-O).

Nell’ambito delle transazioni vibrazionali possiamo individuare due sottogruppi della modalità principale:

- l’elongazione (o “stretching”) : si ha una vibrazione che implica un continuo cambiamento della distanza interatomica lungo l’asse di un legame dipolare
- la flessione (o “bending”) : si ha il continuo cambiamento dell’angolo tra due legami aventi in comune un atomo.

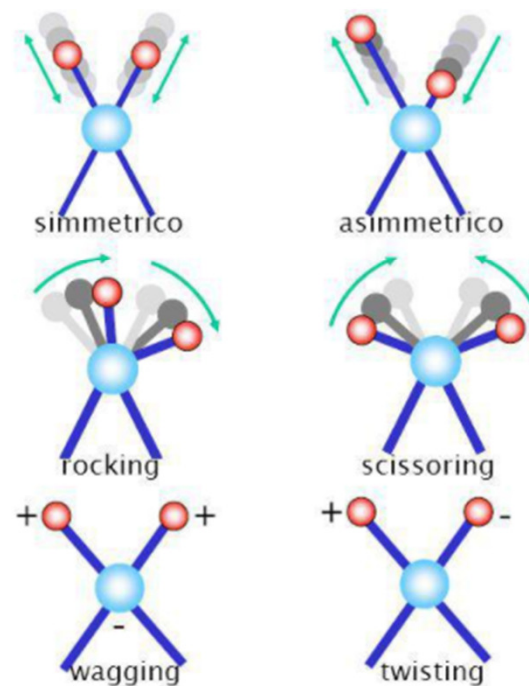
Il fenomeno della flessione ha poi quattro modalità d’espressione : “scissoring”, “rocking”, “wagging” e “twisting”.

Questi quattro modi di vibrazione sono corrispondenti ai diversi piani in cui si trovano i legami e secondo le direzioni delle vibrazioni che possono essere “concordi” od “opposte”.



MODI NORMALI DI VIBRAZIONE

- **stretching:**
variazione distanza di legame
lungo asse internucleare
- **bending:**
variazione angolo tra due legami



In conseguenza di queste possibilità di vibrazioni si verificano quattro bande d'assorbimento nel vicino infrarosso

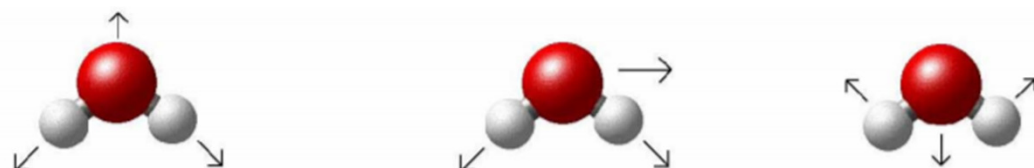
- **Bande fondamentali**
- **Bande armoniche**
- **Bande di combinazione**
- **Bande di differenza**

Le **bande fondamentali** corrispondono all'assorbimento d'energia sufficiente alla transazione da un livello vibrazionale fondamentale ad un primo stadio d'eccitazione. Generalmente avvengono nella regione spettrale che va da 4000 a 400 cm^{-1} . Sono bande poco indicative per l'indagine NIR poiché sono ai limiti dello spettro, rivestono importanza nelle analisi eseguite con spettrometri MIR o FIR.

Le **bande armoniche**, fondamentali nell'analisi con spettrometri NIR, sono derivate dall'assorbimento d'energia multipla a quella necessaria per la banda fondamentale, una sorta di risonanza di frequenze (armonica) multiple. Sono definite spesso "Overtones" nella letteratura riguardante il vicino infrarosso.

Le **bande di combinazione** e le **bande di differenza** si producono solo quando i fotoni assorbiti modificano nello stesso tempo il livello d'energia di due o più legami interatomici. Esse non appaiono se non a frequenze uguali alla somma o alla differenza delle frequenze della vibrazione. Sono sicuramente osservabili nel campo del vicino infrarosso ed hanno le stesse intensità delle bande armoniche.

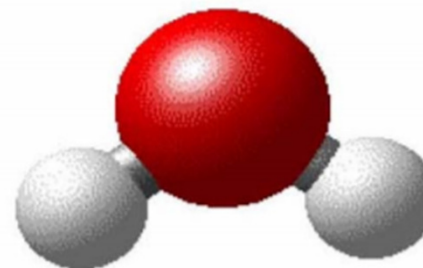
Ad esempio nel caso di una molecola d'acqua, queste vibrazioni fondamentali si osservano alla lunghezza d'onda 2734 nm con una vibrazione simmetrica della molecola, alla lunghezza d'onda di 6270 nm si osserva una vibrazione asimmetrica ed infine alla lunghezza d'onda di 2662 nm si registra un'altra vibrazione simmetrica della molecola.



Vibrazione simmetrica	Vibrazione asimmetrica	Vibrazione simmetrica
2734 nm [3657 cm ⁻¹]	6270 nm [1595 cm ⁻¹]	2662 nm [3756 cm ⁻¹]

Si hanno poi le vibrazioni combinate (armoniche) dell'acqua

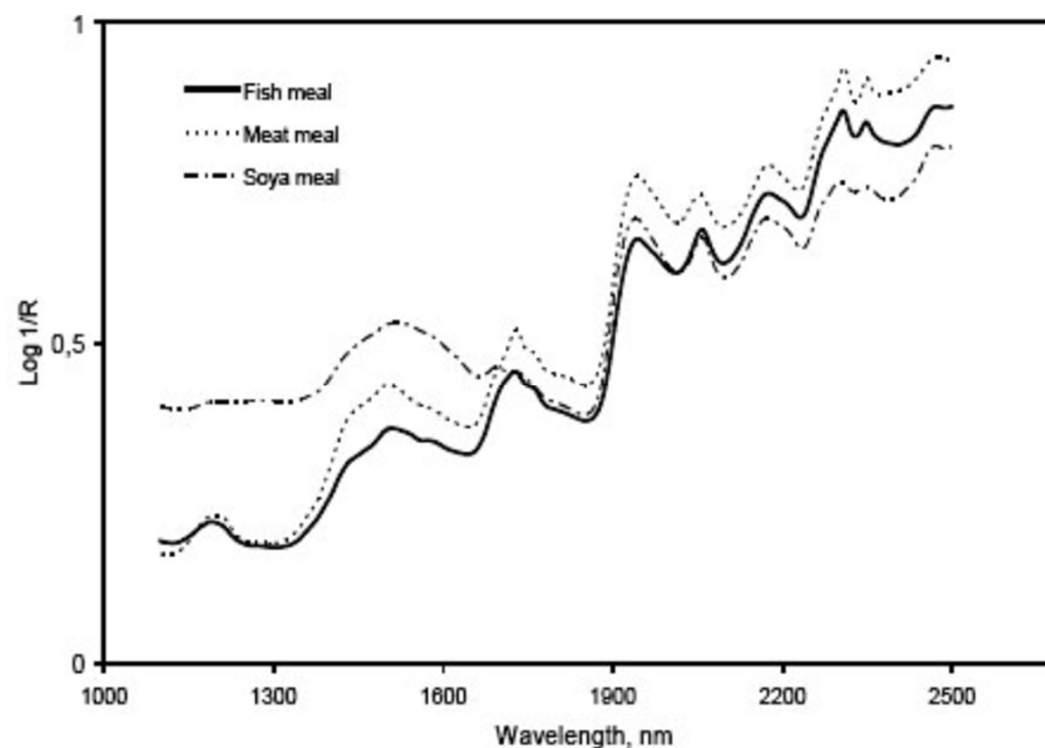
$\nu_2 + \nu_3$	1875 nm	5333 cm ⁻¹
$2\nu_2 + \nu_3$	1455 nm	6874 cm ⁻¹
$\nu_1 + \nu_3$	1380 nm	7251 cm ⁻¹
$\nu_1 + \nu_2 + \nu_3$	1135 nm	8807 cm ⁻¹



Queste vibrazioni nel loro insieme caratterizzano la molecola dell'acqua e sono estremamente specifiche.

Le radiazioni NIR benché d'intensità più debole rispetto alla regione del MIR o del FIR sono uno strumento d'indagine molto versatile e flessibile che trova applicazione in molti campi d'analisi. Inoltre l'indagine NIR è in grado di dare in pochi minuti un'analisi completa di diversi parametri su di una matrice senza preparazione del campione e senza distruggere il campione. La regione dello spettro NIR è caratterizzata da deboli assorbimenti e da una forte sovrapposizione delle bande che però risultano di semplice assegnazione a strutture chimiche. Nella regione NIR si osservano solo le bande che contengono legami molecolari forti e atomi relativamente leggeri ovvero i legami C-H, O-H e N-H.

Poiché nell'analisi NIR si associano le bande delle armoniche superiori e delle loro combinazioni, gli spettri risultanti sono caratterizzati da grosse sovrapposizioni di bande e danno come risultato picchi molto allargati. Questo inficia la possibilità di un'interpretazione visiva degli spettri come invece avviene nell'analisi IR classica (il termine FIR non è comunemente utilizzato). Viene di norma utilizzato un software chemiometrico per interpretare gli spettri ottenuti e dare risultati sia qualitativi sia quantitativi.



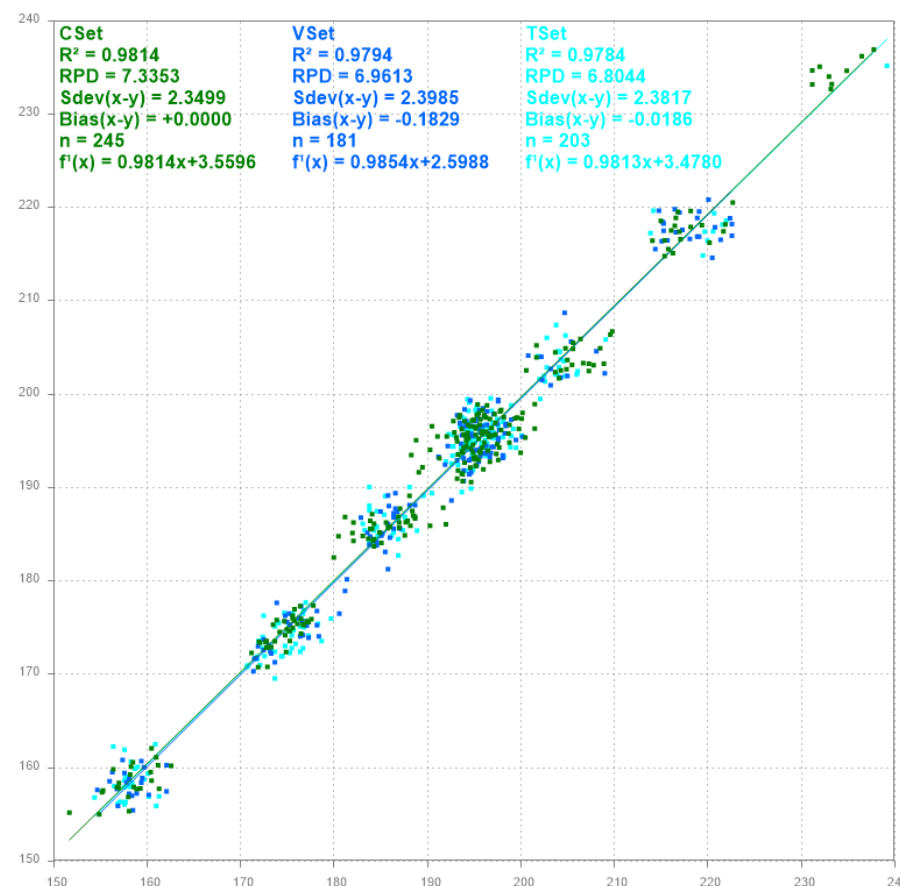
Vantaggi della tecnica NIR

- Veloce (per l'acquisizione spettrale del campione bastano pochi minuti)
- Non distruttiva
- Non invasiva (radiazioni di basso valore energetico, non provocano trasferimenti di calore)
- Non necessita di preparazione del campione



Il NIR però richiede una **calibrazione** ossia è necessario correlare un elevato numero di spettri a valori standard.

In pratica si devono acquisire un elevato numero di spettri di campioni che coprano il più possibile l'intervallo di misura, determinare mediante un metodo di riferimento i valori esatti dei parametri da determinare e quindi mediante uno studio statistico definire delle funzioni di regressione fra lo spettro ed i valori esatti. E' indispensabile che i campioni siano rappresentativi e ben distribuiti nell'intervallo di misura.



Spettrofotometria di assorbimento atomico (AAS)

E' una delle tecniche più utilizzate per l'analisi di elementi in tracce, soprattutto quantitativa.

L'elemento in esame viene atomizzato e colpito con radiazioni di lunghezza d'onda opportuna: l'assorbimento atomico determina una riduzione dell'intensità e l'attenuazione può essere correlata alla concentrazione mediante la legge di Lambert-Beer.

Quando un atomo è colpito da radiazioni elettromagnetiche in zona UV/vis di determinate λ può assorbire energia e passare ad uno stato eccitato. Un elettrone esterno quindi va ad occupare un orbitale di maggiore energia per poi tornare rapidamente allo stato normale restituendo l'energia accumulata sotto forma termica.

L'atomizzazione è in genere ottenuta mediante riscaldamento con una fiamma

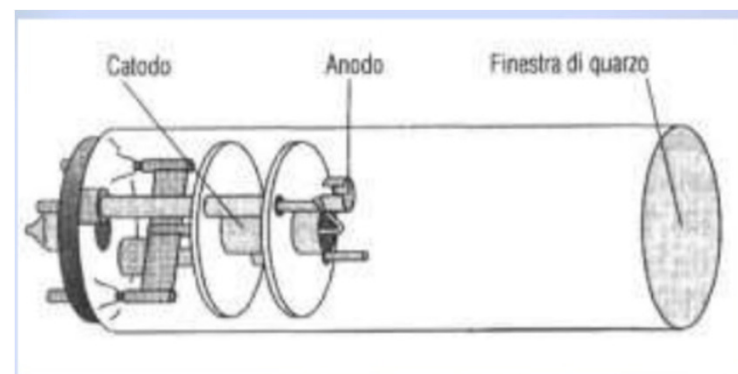
Lo spettrofotometro per assorbimento atomico può essere mono-raggio o doppio-raggio ed è costituito da

- Sorgente
- Sistema atomizzazione
- Monocromatore
- Rivelatore



Sorgente

Poiché si opera in quantitativa servono sorgenti che emettano spettri di righe e quindi siano monocromatiche. Si usano lampade a catodo cavo (le più usate ma non idonee per metalli alcalini ed elementi volatili, con vita breve ed emissione a bassa intensità), a scarica elettrodica di gas ed a scarica di radiofrequenza



Sistema di atomizzazione

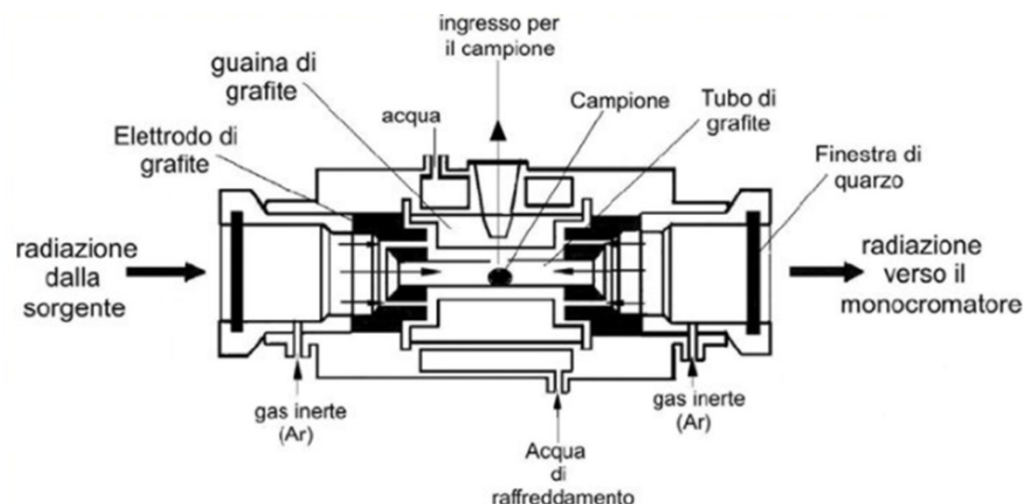
In genere è una fiamma in cui viene nebulizzato il campione. La testata è in titanio e si possono usare diversi tipi di fiamma

TIPO DI FIAMMA	TEMPERATURE RAGGIUNTE	ELEMENTI ANALIZZABILI
Aria – acetilene	$\approx 2300^{\circ}\text{C}$	La più usata, è per tutti i metalli
Aria – idrogeno	$\approx 2050^{\circ}\text{C}$	Metalli alcalini
Protossido d'azoto – acetilene	$\approx 2800^{\circ}\text{C}$	Per elementi difficilmente ionizzabili perché tendono a dare composti indissociati (ossidi)
Aria - propano	$\approx 1900^{\circ}\text{C}$	abbandonata

Può essere utilizzato anche un fornello di grafite che abbassa i limiti di rilevabilità e consente di operare su campioni anche solidi

Si tratta di un tubo in grafite nel quale viene posto il campione che viene riscaldato elettricamente. Inizialmente viene eliminata l'aria quindi il campione viene essiccato, incenerito e atomizzato mediante una rampa termica programmata

Il tempo di analisi può scendere sotto i 30 sec



Spettroscopia di emissione atomica (AES)

Comprende un insieme di tecniche per l'analisi qualitativa e quantitativa di elementi.

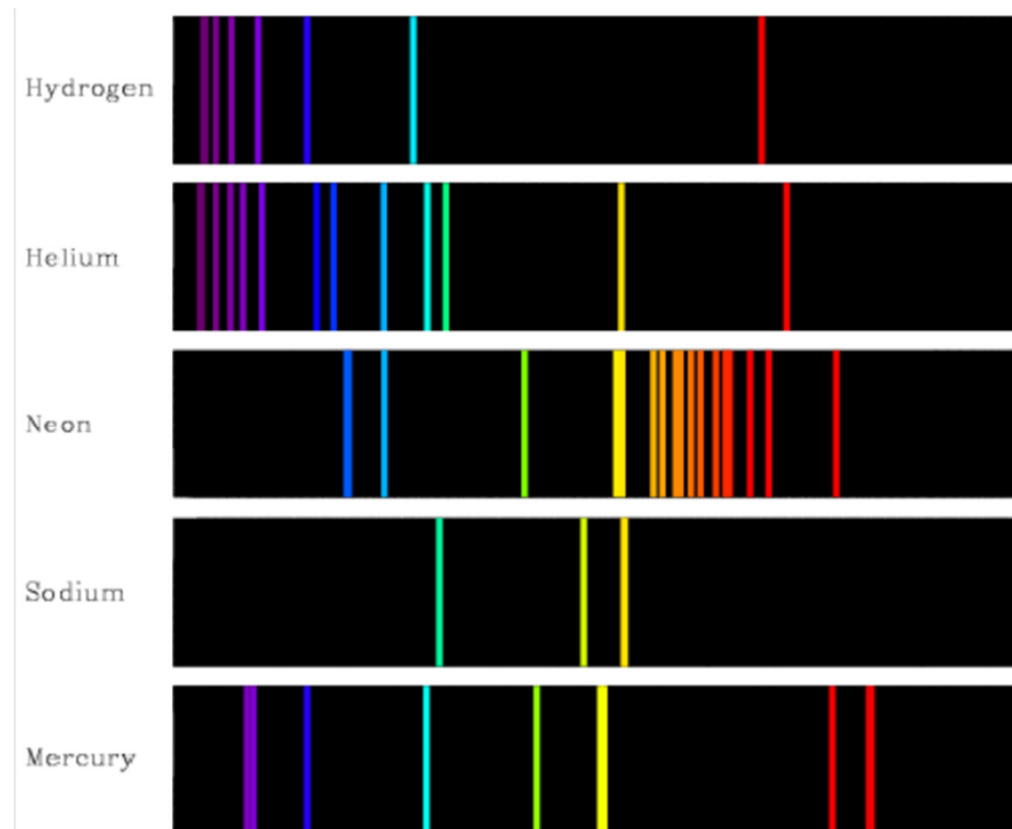
Quando un atomo viene eccitato passano ad uno stato elettronico di energia maggiore rispetto allo stato fondamentale e restituiscono tutta o parte dell'energia «in più» sotto forma di radiazioni elettromagnetiche.

L'emissione atomica consiste nella produzione di onde elettromagnetiche da parte di atomi eccitati per via termica od elettrica.

Ogni elemento è caratterizzato da uno specifico sistema di elettroni distribuiti in precisi livelli di energia quindi l'emissione avviene in modo caratteristico per ogni elemento.

Se si raccolgono le radiazioni emesse si ha uno spettrogramma ossia l'immagine dello spettro di righe di emissione caratteristico di ciascun elemento.

Ogni riga dello spettro corrisponde ad un salto elettronico

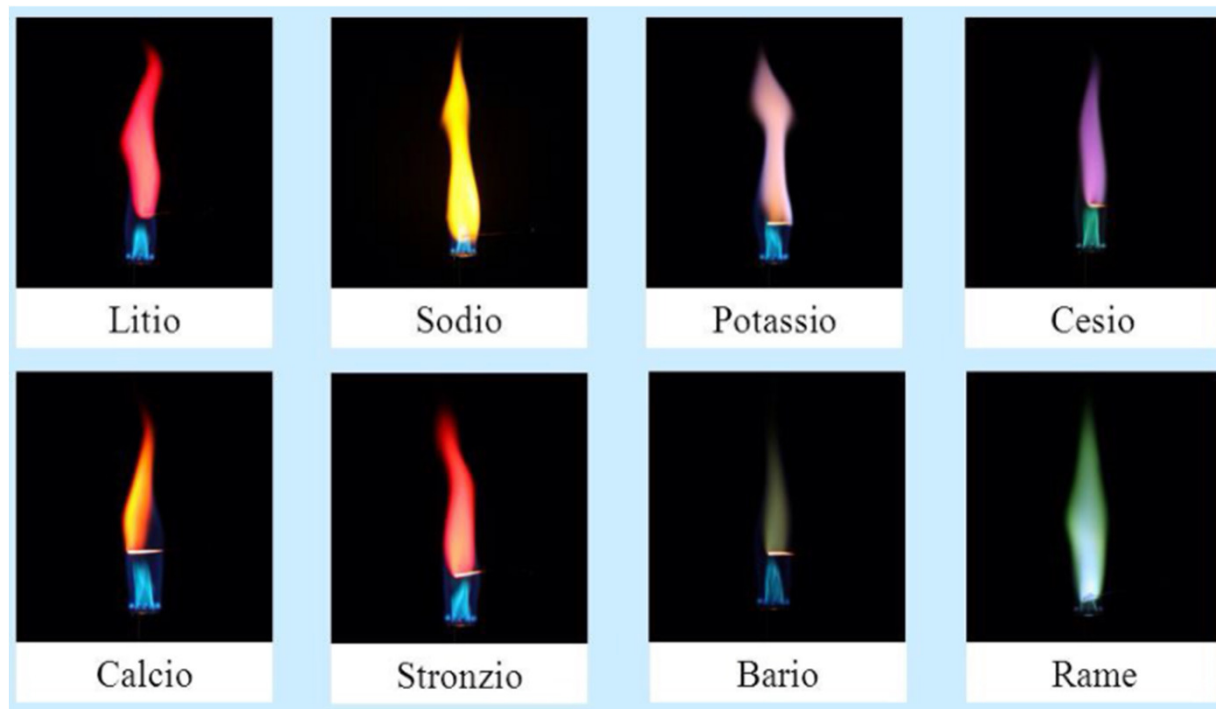


I sistemi di righe sono caratteristici di ogni elemento ma dipendono anche dalla temperatura e quindi se l'intensità della sorgente è bassa si possono rilevare solo le righe di emissione più intense.

Inoltre specie chimiche iso-elettroniche (quindi ioni od atomi con numero uguale di elettroni) forniscono spettri di emissione simili.

Spettrometria di emissione a fiamma

E' la versione automatizzata dei
«saggi alla fiamma»



Il campione viene nebulizzato in una fiamma dove si ha la sua atomizzazione ed eccitazione con formazione di radiazioni elettromagnetiche raccolte da un monocromatore e misurate da un rivelatore

La fiamma è ottenuta con una miscela aria-butano/propano o aria/acetilene ed il bruciatore è simile a quello utilizzato in AAS

Le applicazioni analitiche sono scarse: buone rilevazioni per Li, Na, K, Mg e Ca; solo con strumenti evoluti per Cs, Rb, Sr, Ba, Cu, Cr, Ga, In, Fe, Pb e Mn.

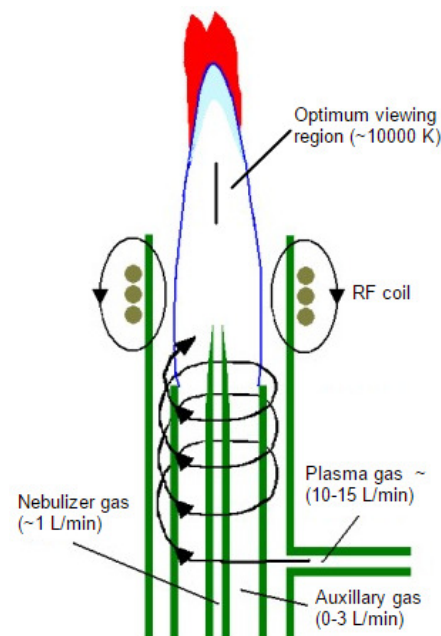
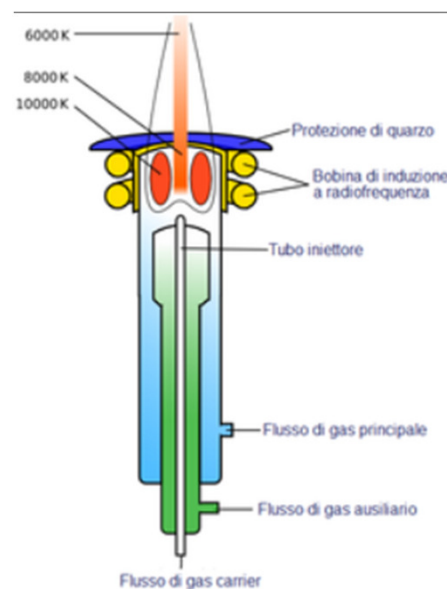
Spettrometria di emissione al plasma

Poiché la fiamma è instabile ed a bassa temperatura si utilizza plasma che opera a 5-6000 K. Il principio di funzionamento dello strumento è uguale a quello a fiamma ma il plasma è più stabile, ha temperature più elevate, ha alta riproducibilità ed elevato rapporto segnale/rumore

A differenza della AAS si possono esaminare miscele complesse.

Il plasma viene creato innescando la formazione di ioni in un flusso di argon mediante una scarica elettrica e accelerando questi ioni con un campo magnetico oscillante generato da una bobina a radiofrequenza (sistema ICP, Inductively Coupled Plasma).

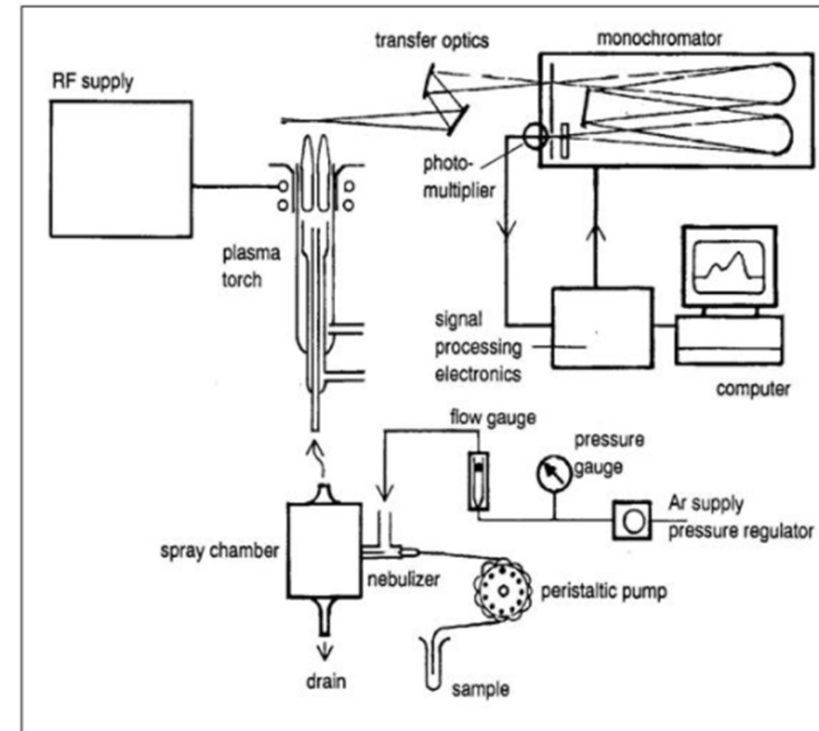
Il plasma viene creato con una **torcia** formata da tre tubi di quarzo concentrici. Nel centrale arriva il campione con un flusso di argon (circa 1 mL/min). Nella camicia intermedia scorre argon (1-3 mL/min) che facilita l'inserimento dell'aerosol nel plasma. Nella camicia esterna l'argon scorre a spirale (7-15 mL/min) e alimenta la torcia che si sviluppa da 6000 a 10.000 K.



Le radiazioni emesse dalla torcia sono raccolte dalla zona a temperatura più elevata e concentrate mediante apposite lenti

Vi sono quindi dei rivelatori che trasformano la radiazione emessa in segnali elettrici

L'ICP può essere accoppiato anche ad uno spettrometro di massa (ICP-MS) in cui lo spettrometro rileva atomi o ioni in funzione del rispettivo rapporto massa/carica.
La torcia quindi serve a produrre atomi e ioni che vengono quindi inviati allo spettrometro. Ha grande sensibilità e grande rapidità di analisi. Può determinare sino ad 80 elementi simultaneamente



Spettrometria di emissione con eccitazione elettrotermica

Si utilizzano **spettrometri** o **quantometri** (un tempo **spettrografi**) in cui il campione viene eccitato con energia elettrica o sorgenti laser

Nel caso di eccitazione con energia elettrica si utilizzano *archi elettrici* (in corrente continua od alternata usando il materiale stesso come elettrodo; se non è possibile lo si pone su un elettrodo di grafite; molto sensibile ma poco riproducibile), *scintille* (si colpisce il campione con una scintilla con voltaggio 15-40 kV ripetuta più volte; sensibilità minore ma più riproducibile; più adatte all'analisi quantitativa), *scarica a bagliori o a incandescenza* (è un particolare tipo di scarica ottenuta con elettrodi di particolare configurazione in cui si formano ioni Ar^+ che bombardando il catodo formato dal campione provocano la formazione di radiazioni; più costosa ma più sensibile e riproducibile)

Sono strumenti costosi ed in genere utilizzati per applicazioni particolari (meccanica) però potendo lavorare direttamente sul materiale (anche non conduttivo) semplificano l'analisi



REOLOGIA

La reologia da «reo – scorrere» è un ramo della fisica ed è la scienza che studia gli equilibri raggiunti nella materia deformata per effetto di sollecitazioni.

Si distinguono:

- *Fluidi newtoniani* → quando la velocità di flusso aumenta linearmente con l'aumentare dello sforzo applicato. La viscosità è costante e dipende solo da pressione e temperatura. Supponendo di porre il fluido fra due superfici e di muovere una delle due la forza che si deve esercitare per mantenerla in moto uniforme è data dalla legge di Newton:

$$F = \eta A \frac{\Delta u}{\Delta y} + \sigma_0$$

dove :

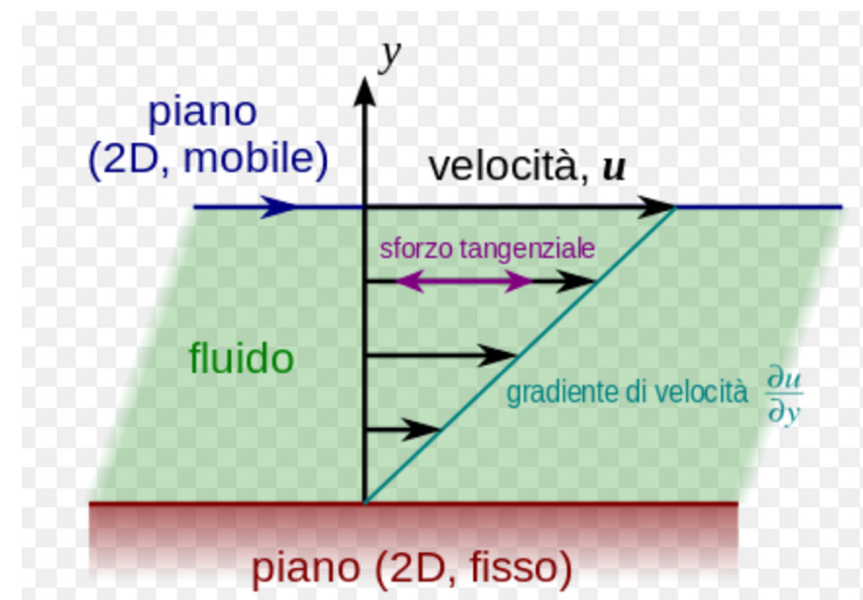
F= forza che viene applicata ai piani di misurazione

η = viscosità dinamica

Δu = differenza di velocità tra i due piani

Δy = distanza tra i due piani

A = superficie dei due piani



- *Fluidi plastici o di Bingham* → sono fluidi che presentano comportamento di tipo plastico ed iniziano a scorrere solo dopo che la forza di taglio ha superato un certo valore soglia, σ_0 , che prende il nome di "limite di scorrimento« o «yeld stress». Superato questo valore, il fluido si comporta come Newtoniano. L'equazione che rappresenta questo comportamento è l'equazione di Bingham

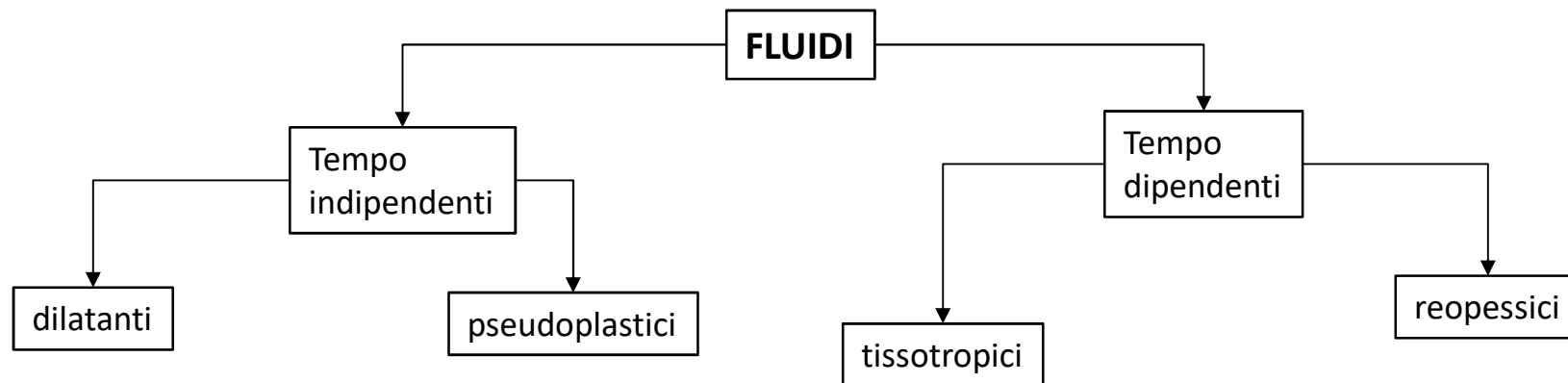
$$F = \eta A \frac{\Delta u}{\Delta y} + \sigma_0$$

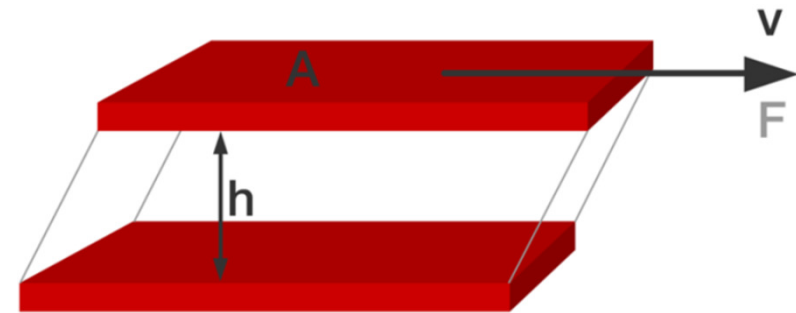
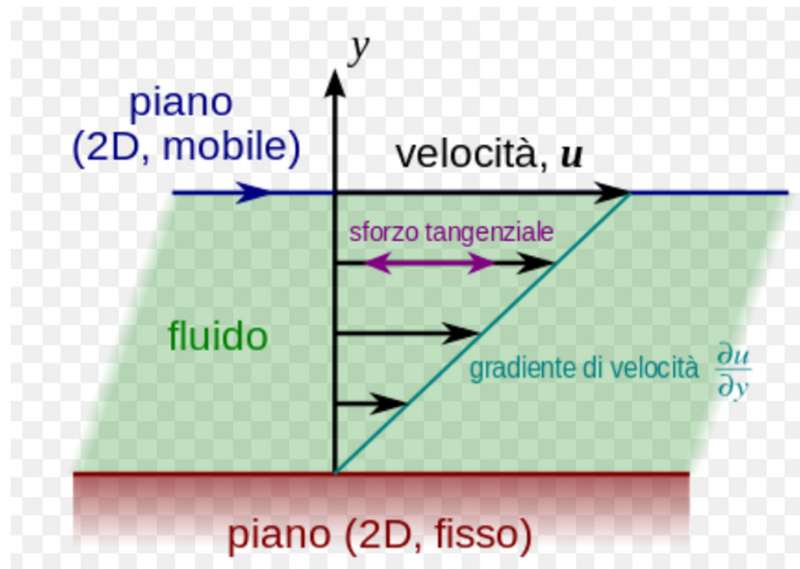
- *Fluidi pseudo-plastici* → sono fluidi il cui scorrimento inizia anche per azione di forze modeste, e la velocità di flusso aumenta con l'aumentare dello sforzo applicato. A differenza dei fluidi Newtoniani, il reogramma ha un andamento curvilineo e quindi non è possibile esprimere con un unico valore il coefficiente di viscosità del fluido. La viscosità di un sistema pseudoplastico diminuisce via via che aumenta la velocità di taglio. Esempio purea di mela o di banana, succo concentrato di arancia

- *Fluidi dilatanti* → Si definisce dilatante un fluido il cui lo scorrimento inizia anche per azione di forze modeste. Il flusso dilatante è caratteristico delle sospensioni molto concentrate (oltre il 50% in peso) di particelle solide sufficientemente piccole e non flocculate. Le particelle allo stato di quiete sono impacchettate in misura tale da ridurre al minimo gli spazi inter particellari e la quantità di liquido trattenuta in questi spazi è appena sufficiente ad assicurare una lubrificazione che permette, a bassa velocità di taglio, un certo scorrimento. Quando il sistema viene agitato rapidamente, diventa più viscoso in quanto il moto delle particelle determina un aumento di volume del sistema, per cui la limitata quantità di veicolo liquido non essendo sufficiente a riempire gli spazi vuoti non può più assicurare la lubrificazione necessaria a ridurre l'attrito fra particelle (responsabile dell'aumento di viscosità). Esempio cioccolata liquida, miscela acqua/amido, dispersioni tipo sabbia in acqua, vernici

- *Fluidi tissotropici* → sono fluidi pseudo-plastici che possono variare la loro aeriformità quando sottoposti a sollecitazioni di taglio oppure nel caso di lunghi periodi di quiete o sottoposti a movimenti peristaltici. In queste condizioni il fluido può passare dallo stato di grasso pastoso quasi solido a quello di liquido o, più in generale, da quello di gel a quello di liquido. Esempio il ketchup, la margarina, mastici al silicone, le creme

- *Fluidi reopessici/reopeptici* → sono alcuni fluidi non newtoniani che mostrano un aumento di viscosità nel tempo quando applicata una forza di taglio. La reopessia è molto particolare e rara. Sono quindi fluidi con comportamento opposto alla tissotropia in cui la viscosità dipende dal tempo. Esempio le miscele acqua/argilla o acqua/bentonite





Gradiente di velocità o velocità di deformazione o shear rate $\rightarrow \dot{\gamma} = \frac{\Delta u}{\Delta y} = s^{-1}$

Sforzo di taglio o sforzo tangenziale o shear stress $\rightarrow \tau = \frac{F}{A} = N/m^2 = Pa$

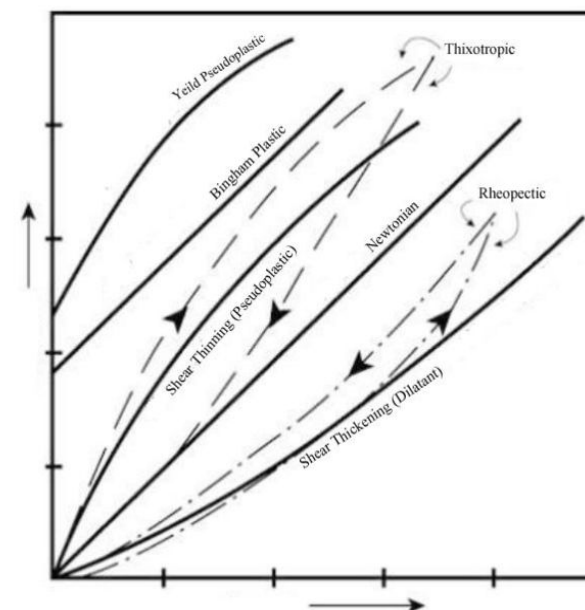
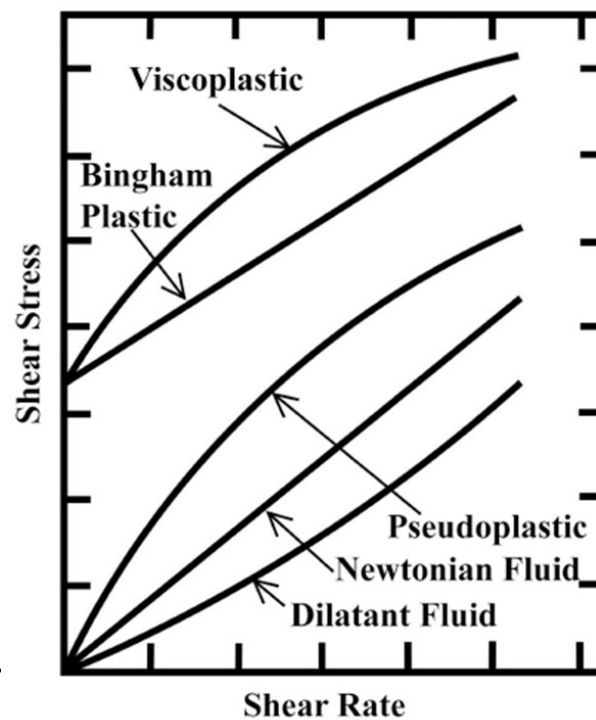
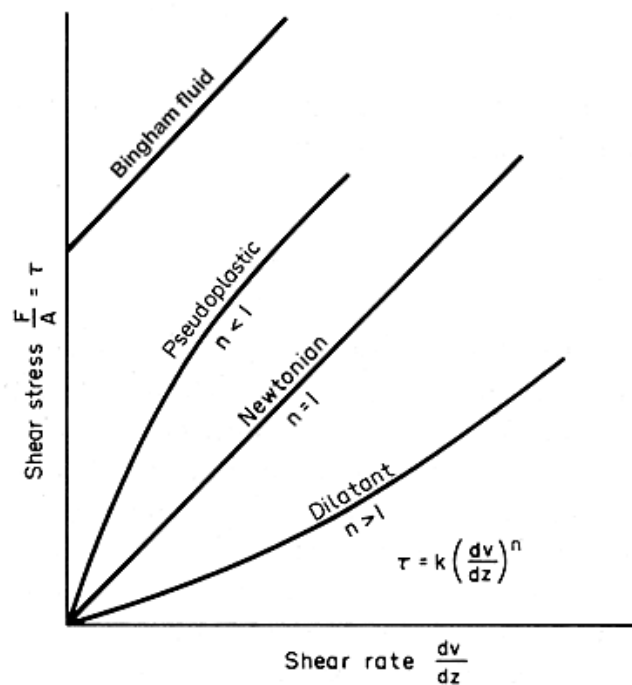
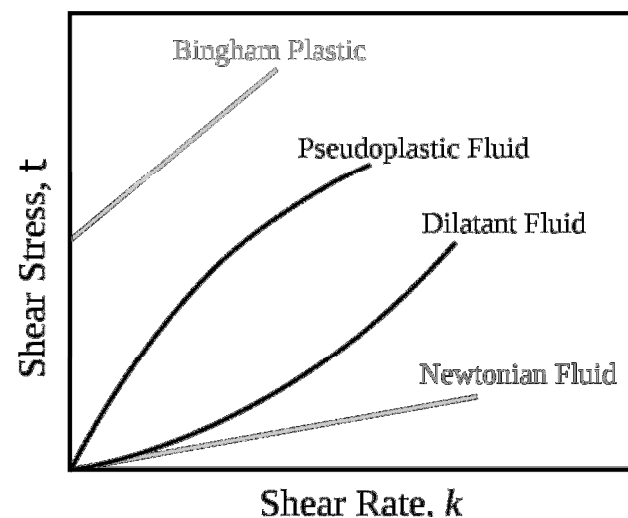
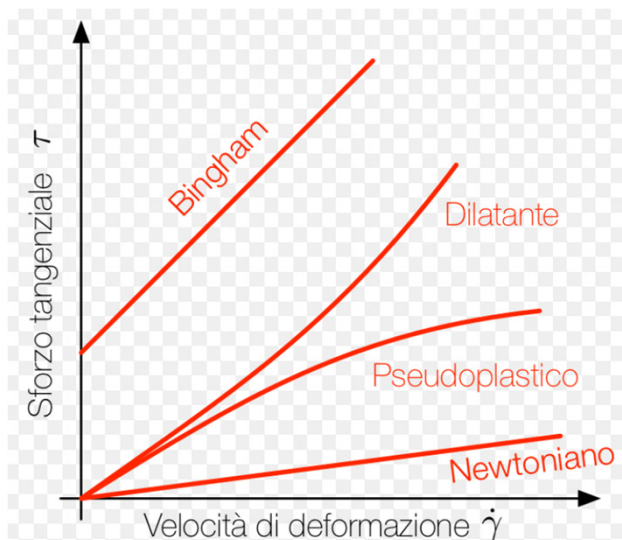
Legge di Newton $\rightarrow F = \eta A \frac{\Delta u}{\Delta y} \rightarrow F = \eta A \dot{\gamma} \rightarrow \tau = \eta \dot{\gamma} \rightarrow \eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} = Pa * s$

Viscosità

La viscosità misura gli attriti interni di un fluido e caratterizza il comportamento di un fluido nei confronti delle resistenze che si oppongono al moto.

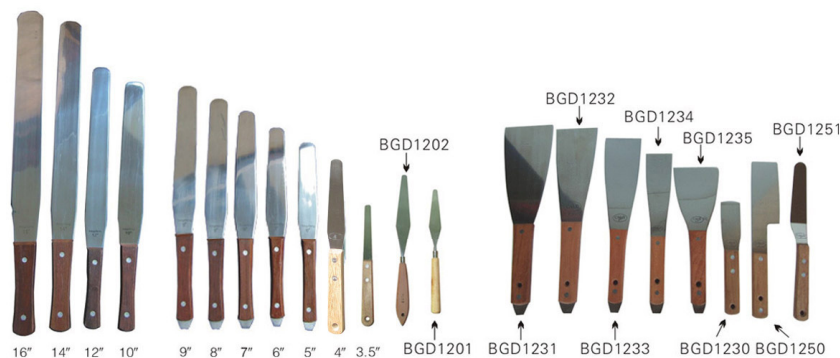
Si ha una viscosità dinamica η misurata in PI (Poiseuille; 1 PI=Pa*s) ed una viscosità cinematica ν pari a $\nu=\eta/\rho$ misurata in m²/s e che per l'acqua vale circa 10⁻⁶ m²/s. Nelle misure condotte su liquidi mediante viscosimetri capillari (Ubbelohde, Cannon - Fenske) si misura la viscosità cinematica ed in questo caso il liquido è soggetto semplicemente alla forza di gravità, per cui è importante la densità ρ .

	Viscosità
Gas, aria	0.01-0.02 mPas
Acqua 20 °C	1 mPas
Latte	2-10 mPas
Olio oliva	100 mPas
Olio motore SAE 10W-30 a 23 °C/100 °C	175/20 mPas
Bitume 80 °C/0 °C	200 Pas/1 MPas



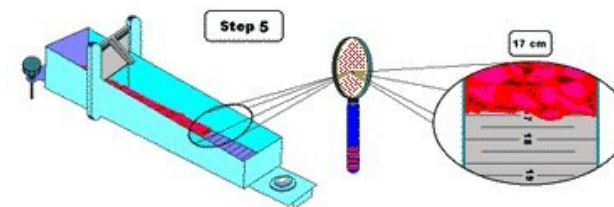
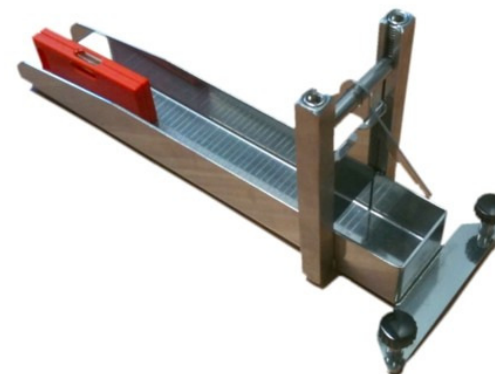
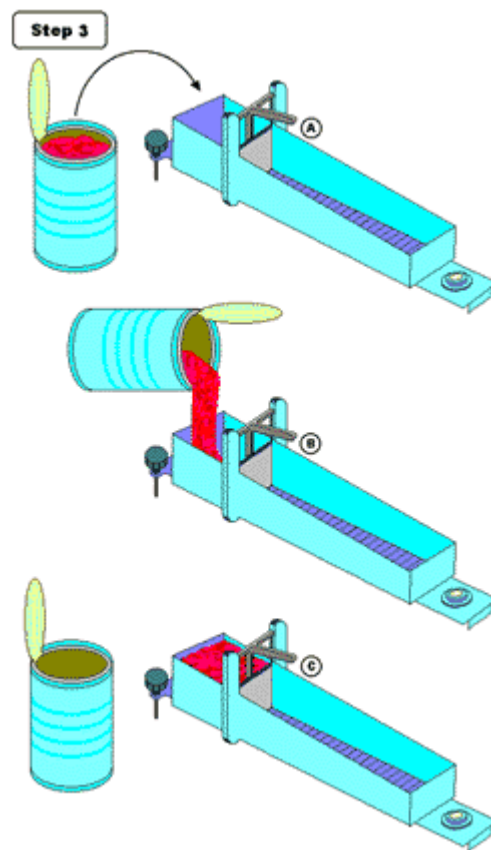
Viscosimetria

Spatula test – si immerge la spatola nel materiale e poi si misura il tempo o la quantità di prodotto rilasciato in verticale od orizzontale. Molto rapido, influenzato dall'utilizzo e dalle condizioni ambientali

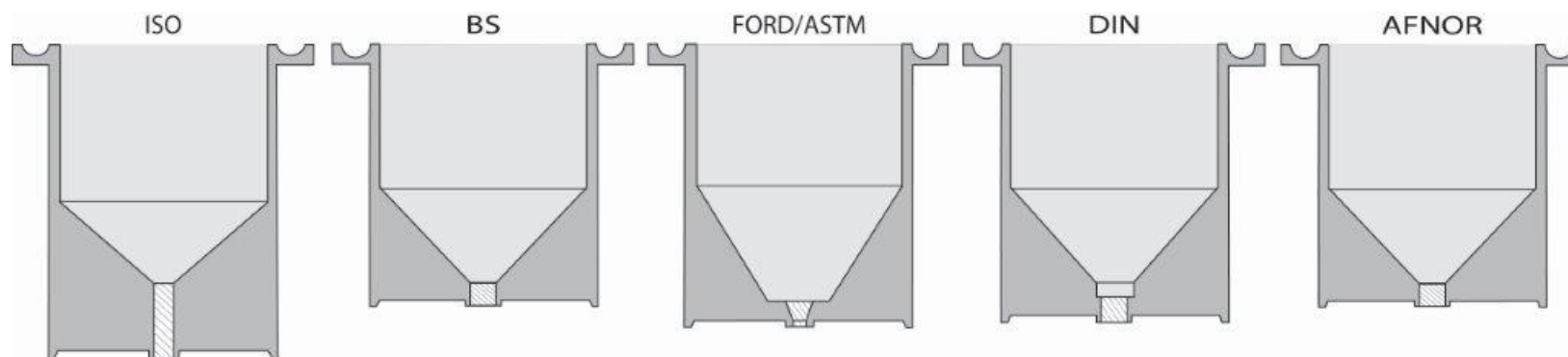


BIUGED INSTRUMENTS

Viscosimetro Bostwick – misura la consistenza e la velocità di scorrimento di un prodotto. Usato in genere per i derivati del pomodoro. Un canale in acciaio inclinato in cui viene fatto scorrere il prodotto e si misura lo spazio percorso in una unità di tempo od il tempo necessario per percorrere uno spazio



Flow-cups – sistema usato per fluidi a bassa viscosità (inchiostri, vernici). Utilizza un contenitore forato sul fondo e si misura il tempo necessario per la fuoriuscita di un volume noto. Esistono diverse tipologie di contenitori (ISO, Ford, DIN). Si basa sulla forza di gravità.



Viscosimetro a sfera cadente o Falling ball o viscosimetro di Hoppler: viene misurato il tempo necessario a una sfera immersa nel liquido di campionamento, un cilindro inclinato a 80°, per coprire una distanza nota. I valori ottenuti si riferiscono alla viscosità dinamica. È formato da un tubo cilindrico di vetro sul quale sono segnati due traguardi h₁ e h₂ distanti normalmente circa 10 cm l'uno dall'altro. Il cilindro è a sua volta riempito con il liquido in esame e viene posto in posizione leggermente inclinata nell'interno di un bagno termostatoato. Si basa sulla legge di Stokes.

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{(D - d_1)t_1}{(D - d_2)t_2}$$

Dove

D – densità sfera

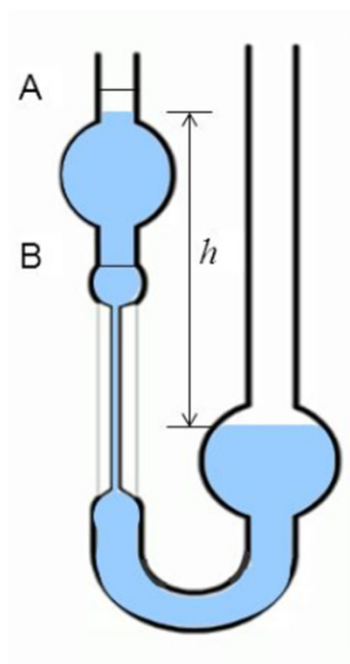
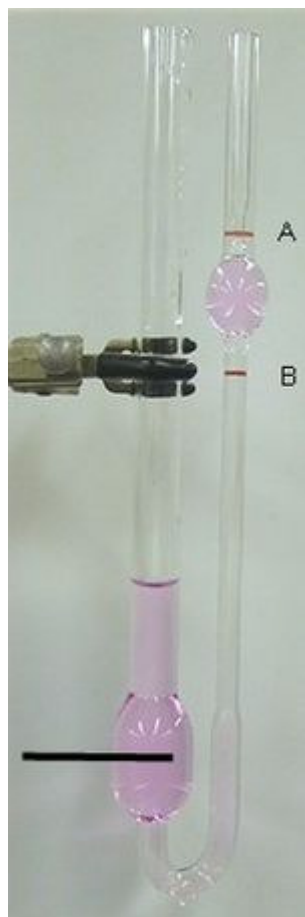
d – densità fluido

t - tempo



Viscosimetro a capillare di vetro o viscosimetro di Ostwald – il fluido viene fatto passare attraverso un capillare di vetro a geometria nota e si misura il tempo di scorrimento. La misura viene fatta a T costante

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{d_1 t_1}{d_2 t_2}$$



Viscosimetro rotazionale o di Brookfield – vi è la rotazione di una girante immersa in un fluido. Si misura il relativo momento torcente necessario a vincere la resistenza al moto del fluido. Nel viscosimetro a cilindri coassiali o di Searle un recipiente cilindrico “a”, contenuto in un altro cilindro “b”, è trascinato in rotazione per mezzo di una coppia motore M

$$M = \tau * 2\pi h r_1^2$$

τ =sforzo tangenziale
h=altezza cilindro
r=raggio cilindro

Poiché la velocità angolare di rotazione del cilindro è data da:

$$\omega = 2\pi \frac{RPM}{60}$$

La velocità tangenziale sarà data da

$$v = \omega * r_1$$

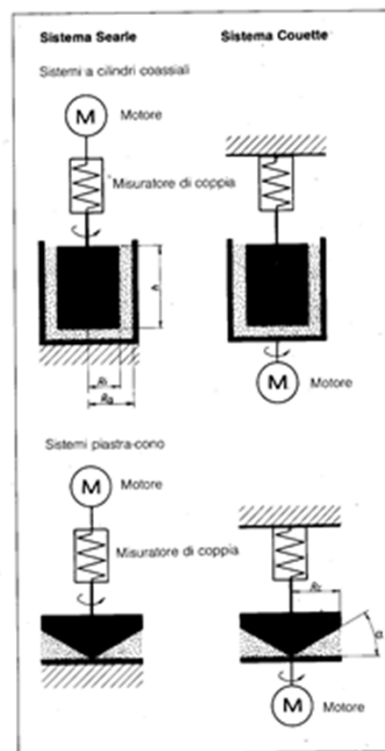
Poiché

$$F = \mu \frac{v * 2\pi h r_1}{r_2 - r_1}$$

Ne deriva che

$$\mu = \frac{F}{2\pi r_1 h} * \frac{r_2 - r_1}{v} = \tau * \frac{r_2 - r_1}{v}$$

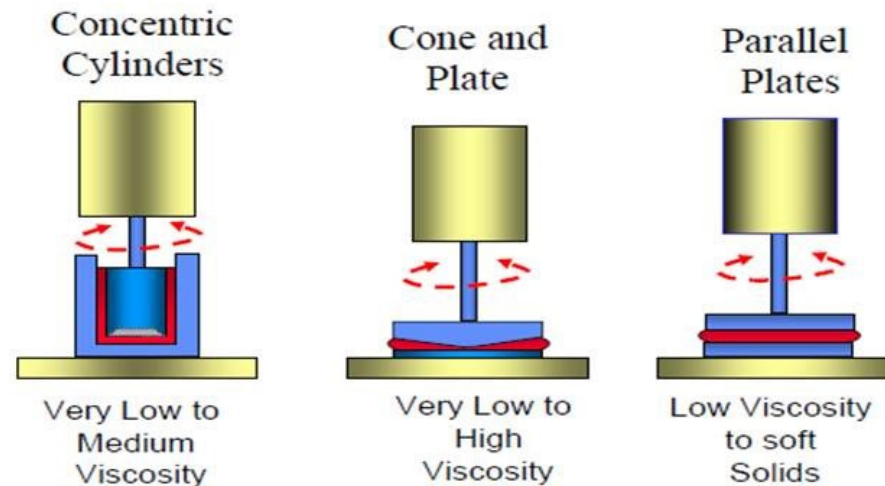
I viscosimetri rotazionali usano diverse tipologie di giranti con diversa geometria. I valori misurati sono relativi e non assoluti. Quindi possono essere usati in test di controllo. E' necessario che il volume del campione sia molto superiore a quello della girante per evitare un effetto «parete». Non vi devono essere frammenti nel prodotto benchè esistano geometrie per fluidi con sospensioni.



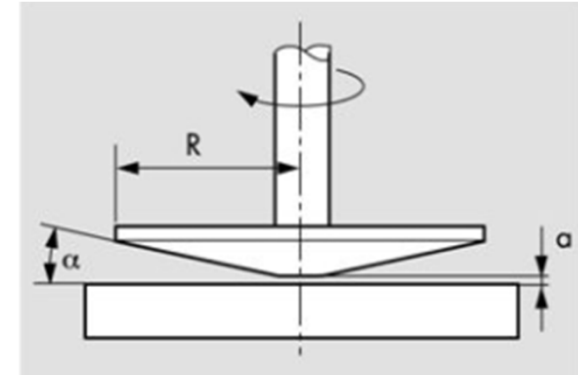
Reometri

Mentre un viscosimetro misura la viscosità mediante un test rotazionale, nei reometri sono possibili anche altre misure. Operano con sistemi cono/piatto, cilindri concentrici e piatto/piatto. Operano su sostanze anche molto viscosi (anche solide), sono di facile pulizia, lavorano con elevati valori di shear rate ma non vi devono essere particelle in sospensione.

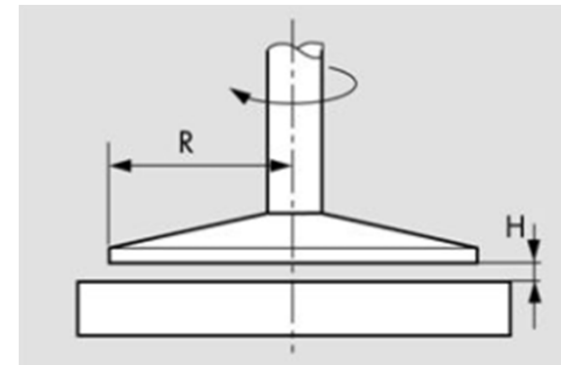
Viene misurato lo sforzo ad una certa velocità (*reometri control shear rate*, CSR che simulano processi che sono dipendenti dalla velocità di flusso o dal volume di flusso come la verniciatura spray o il flusso lungo un tubo) oppure la velocità ad un determinato valore di sforzo (*reometri control shear stress*, CSS che simulano la forza necessaria per iniziare il pompaggio, per spingere un prodotto fuori da una cartuccia o da un tubetto).



Sistemi cono/piatto → idonei per tutti i fluidi. Le particelle devono avere $d \leq a/10$. In genere $\alpha = 1^\circ$ ma può andare da 0.3 a 4° . Molto importante il riempimento del cono con una quantità corretta di materiale. I vantaggi sono le condizioni ottimali di taglio, la piccola quantità di campione (ottimo controllo termico e pulizia). Sono svantaggi la necessità di fluidi privi di particelle e la possibilità di migrazioni od asciugamenti del campione



Sistemi piatto/piatto → idonei per fluidi molto viscosi (paste, gel, solidi morbidi o molto viscosi). Lo spazio fra i piatti arriva sino a $50 \mu\text{m}$. Vantaggi sono la piccola quantità di campione, possibilità di operare su fluidi molto viscosi o solidi morbidi. Gli svantaggi sono lo shear rate diverso fra la periferia ed il centro, la possibilità di migrazioni od asciugamenti del campione, difficoltà di controllo termico se la gestione viene fatta da un solo lato



Sistemi a cilindri concentrici → usati per fluidi a bassa viscosità. Poiché lo spazio di misura deve essere piccolo il rapporto fra la coppa e la girante è inferiore a 1.0847. I vantaggi sono la facilità di riempimento, è possibile un controllo accurato della temperatura, non è possibile per i fluidi a bassa tensione superficiale uscire dal sistema (come in CP o PP). Svantaggio la quantità elevata di campione

