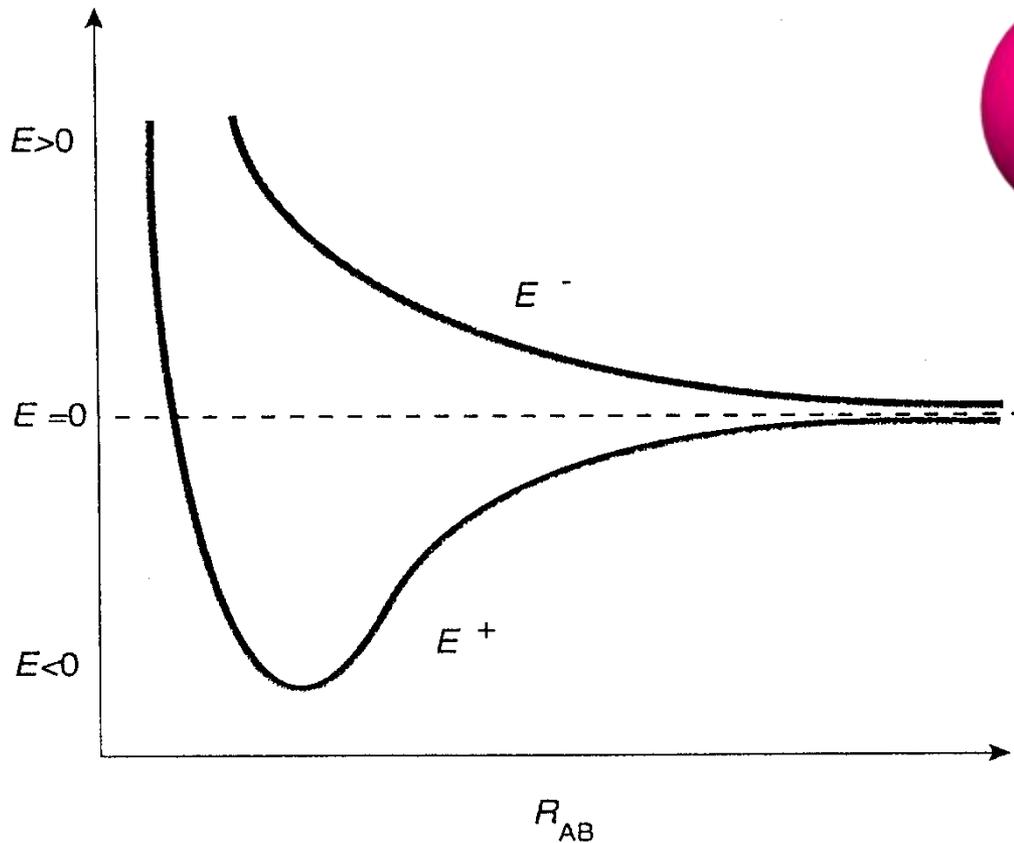


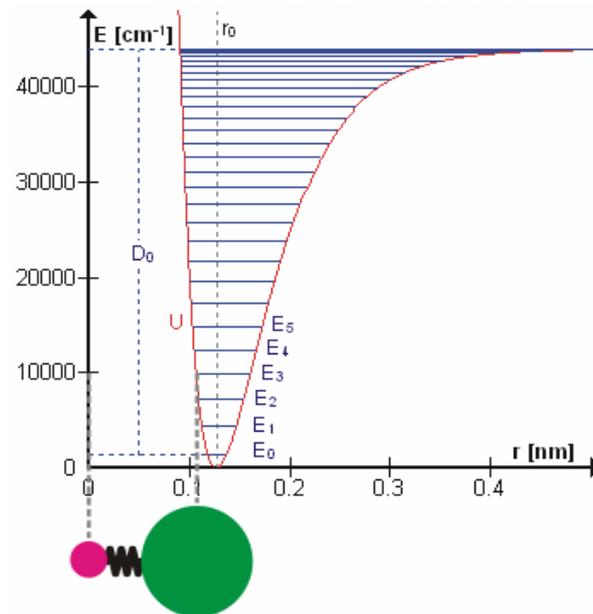
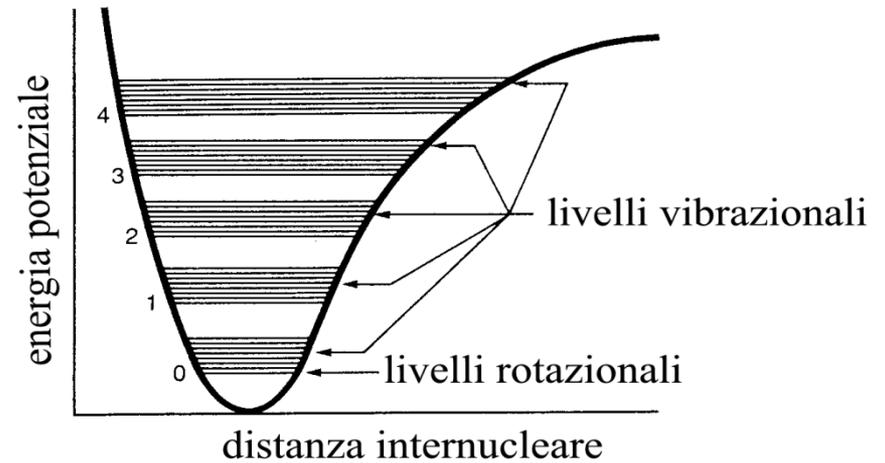
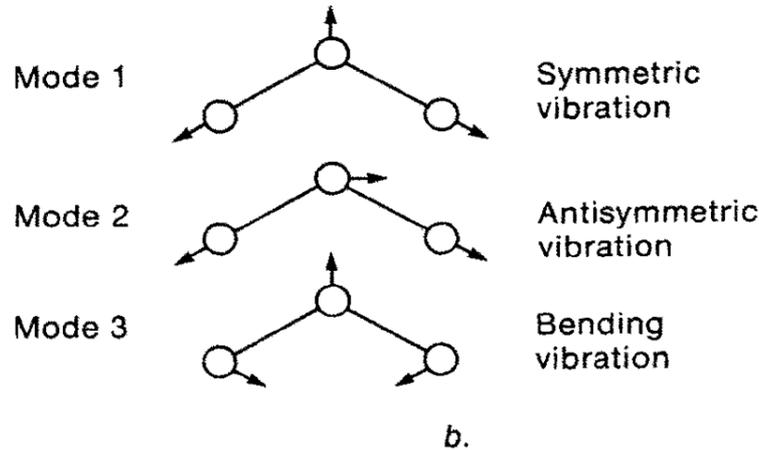
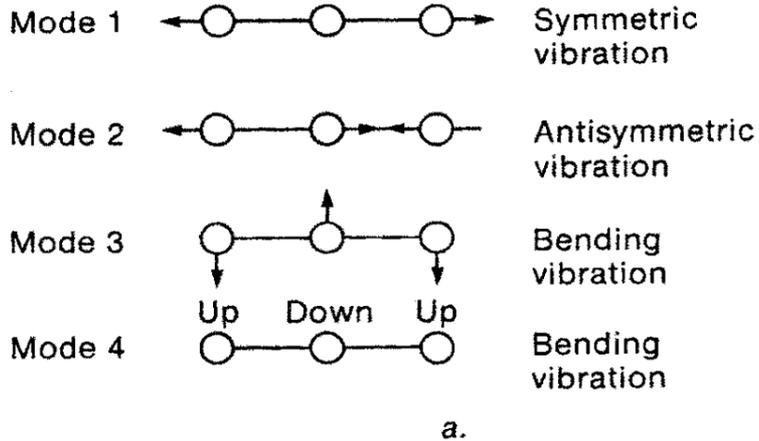
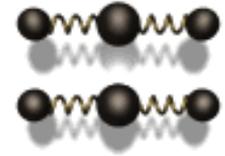
Interazioni energia-materia

Diagramma di Morse

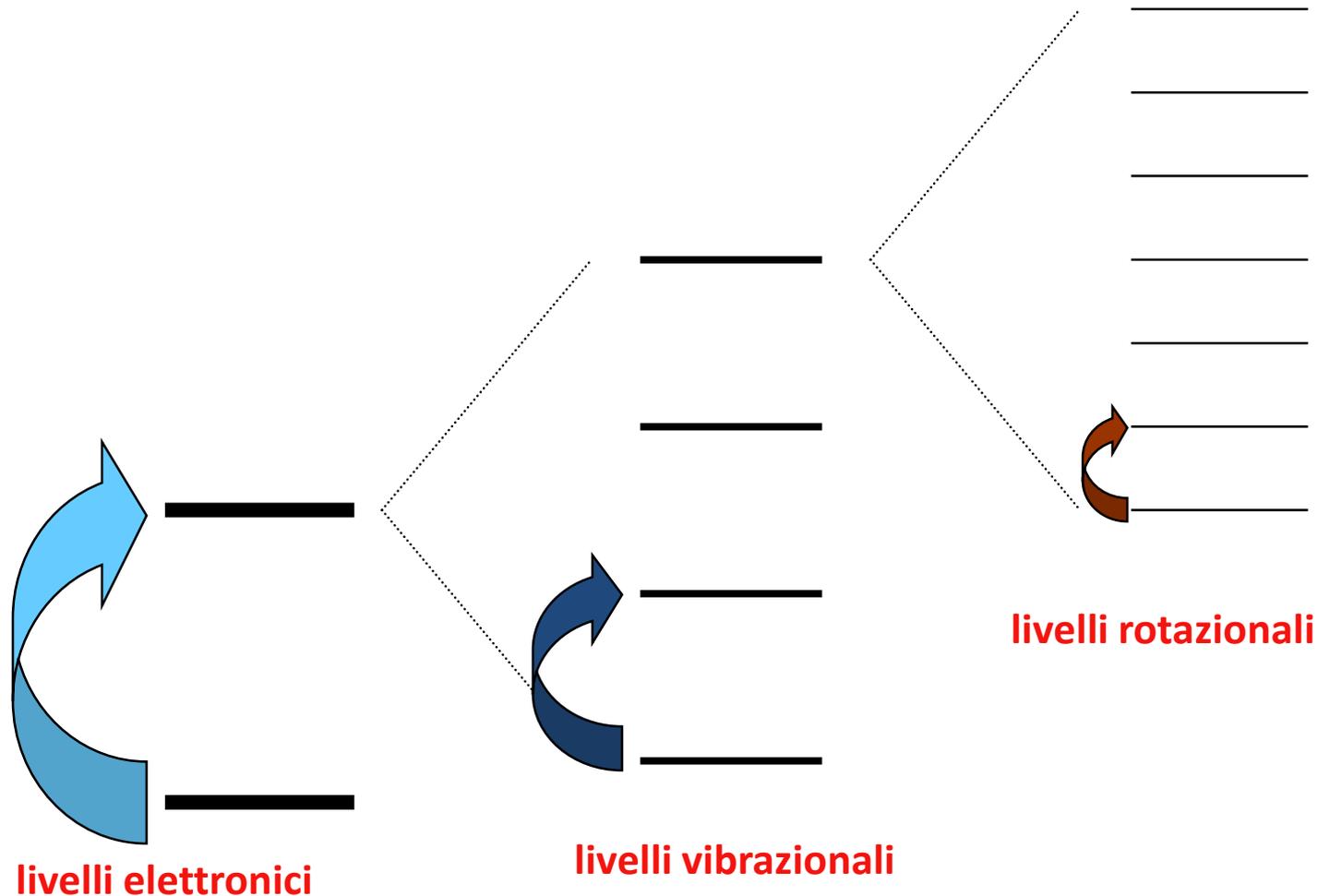


- L'energia potenziale di una molecola biatomica dipende dalla distanza fra gli atomi.
- L'energia potenziale è nulla quando gli atomi sono a distanza infinita e diminuisce quando gli atomi si avvicinano.
- Questo abbassamento corrisponde alla formazione del legame

Moti vibrazionali



L'energia di ogni molecola è quantizzata: ogni molecola può assumere livelli energetici discreti



Livelli energetici molecolari

L'energia di una molecola è data dalla somma dei:

- contributi elettronici (livelli energetici corrispondenti a diversi stati elettronici → diverse disposizioni degli elettroni)
- contributi vibrazionali (livelli energetici corrispondenti a diversi stati vibrazionali → variazioni di distanze tra atomi e degli angoli di legame)
- contributi rotazionali (livelli energetici corrispondenti a diverse orientazioni nello spazio → rotazioni)
- contributi traslazionali

- Si possono trattare le molecole come se possedessero distinte riserve di energia

$$E_{\text{tot}} = E_{\text{spin nucl}} + E_{\text{spin elettr}} + E_{\text{rotaz}} + E_{\text{vibraz}} + E_{\text{elettron}}$$

Tutti i livelli energetici sono quantizzati

- ΔE è molto piccolo per le transizioni di spin nucleare ($< 10^{-3} \text{ J mol}^{-1}$)
- ΔE è più elevato per le transizioni rotazionali ($\sim 10 \text{ J mol}^{-1}$)
- ΔE è molto grande per le transizioni elettroniche ($\sim 10^5 - 10^6 \text{ J mol}^{-1}$)

Legge di Boltzmann

- Comunemente abbiamo a che fare con un numero elevatissimo di molecole
- Ad ogni temperatura si distribuiscono tra gli stati energetici disponibili
- L'esatta distribuzione dipende dalla temperatura (Energia termica) e dall'energia che separa i livelli energetici (ΔE)

$$\frac{n_{\text{upper}}}{n_{\text{lower}}} = e^{-\frac{\Delta E}{k_B T}}$$

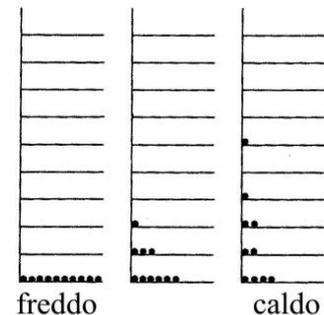
$$k_B = 1.38 \cdot 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$$

$$\Delta E \approx 0; e^{-0} = 1; n_u \approx n_l$$

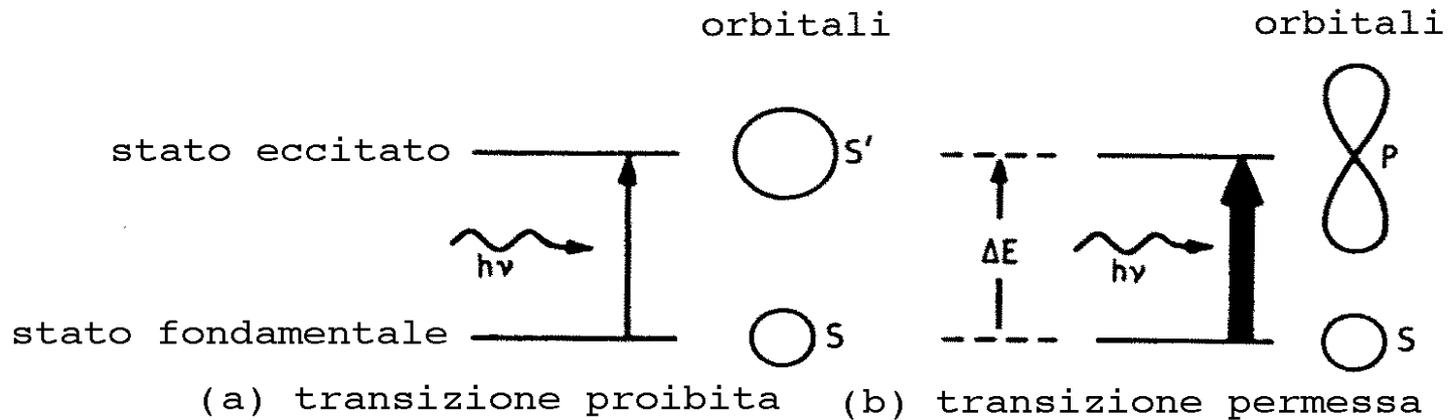
$$\Delta E \gg 0; e^{-\infty} \approx 0; n_u \ll n_l$$

$$T \gg 0; e^{-0} = 1; n_u \approx n_l$$

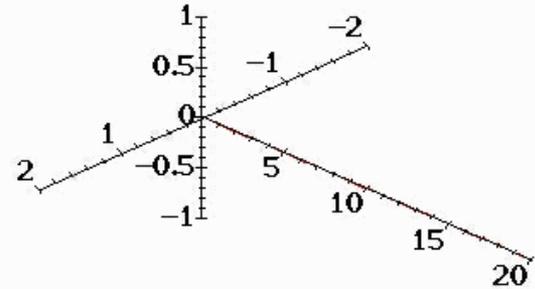
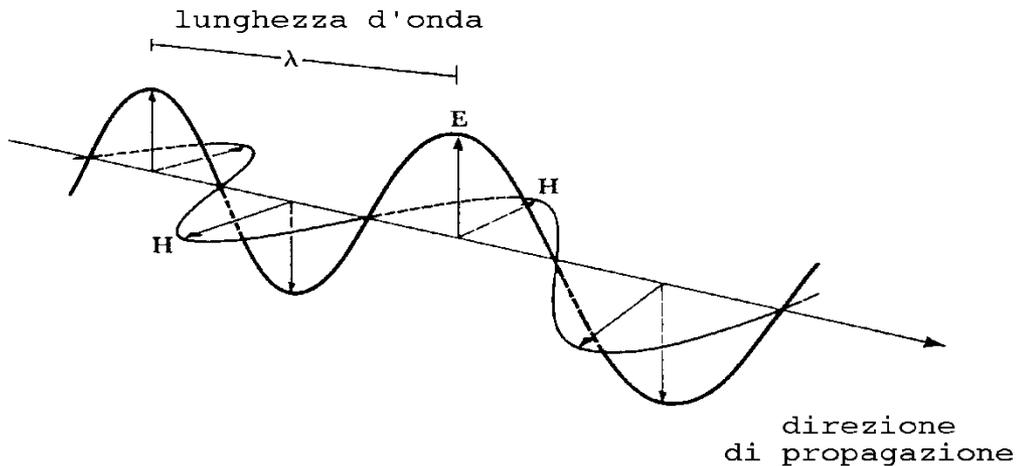
$$T \approx 0; e^{-\infty} \approx 0; n_u \ll n_l$$



Transizione permessa



Onde elettromagnetiche



- Composte da due componenti ondulatorie (un campo elettrico e un campo magnetico)
- Ortogonali l'una rispetto all'altra
- Le energie associate alla componente elettrica e magnetica sono uguali

Le onde elettromagnetiche sono caratterizzate da:

- Frequenza, ν
- Lunghezza d'onda, λ
- Velocità di propagazione, c (è una costante e nel vuoto è pari a $3 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$)

Tali grandezze sono collegate:

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

La frequenza può essere rapidamente convertita in Energia

$$E = h\nu$$

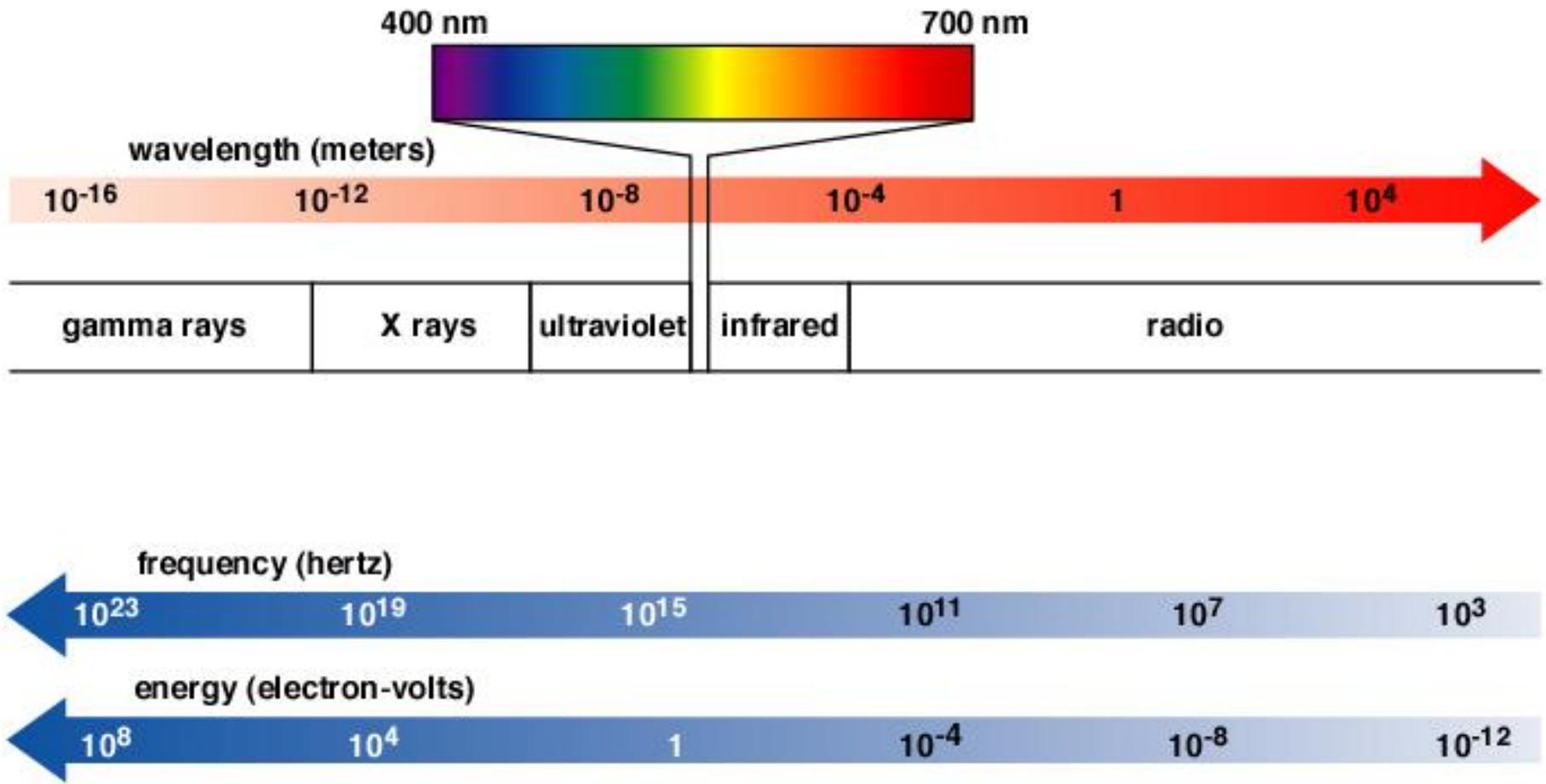
Dove **h** rappresenta la costante di Plank ($6.63 \cdot 10^{-34}$ J s)

Nella spettroscopia infrarossa si utilizzano i numeri d'onda (**ν'** , in cm^{-1})

$$\nu' = \frac{1}{\lambda}$$

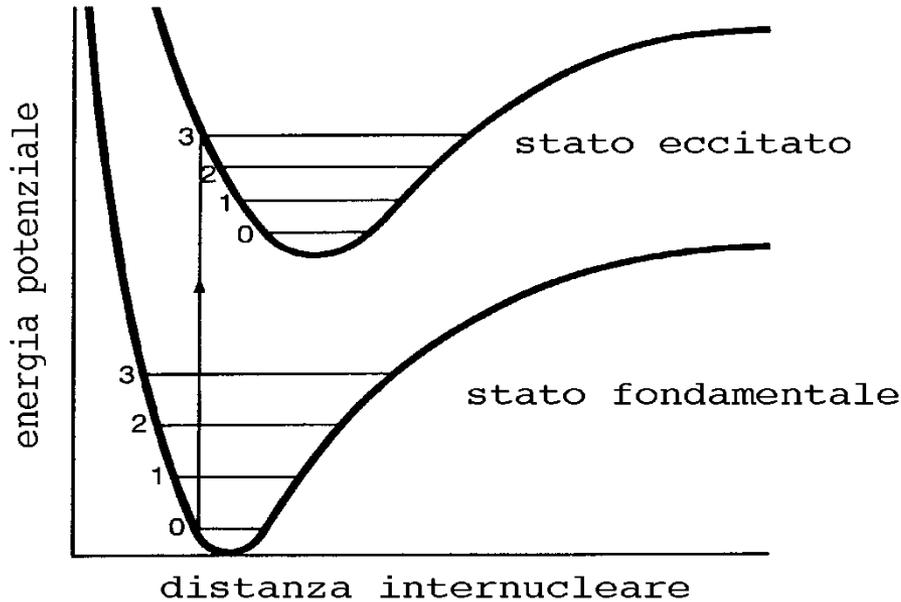
Con **λ** espressa in cm

Lo spettro elettromagnetico

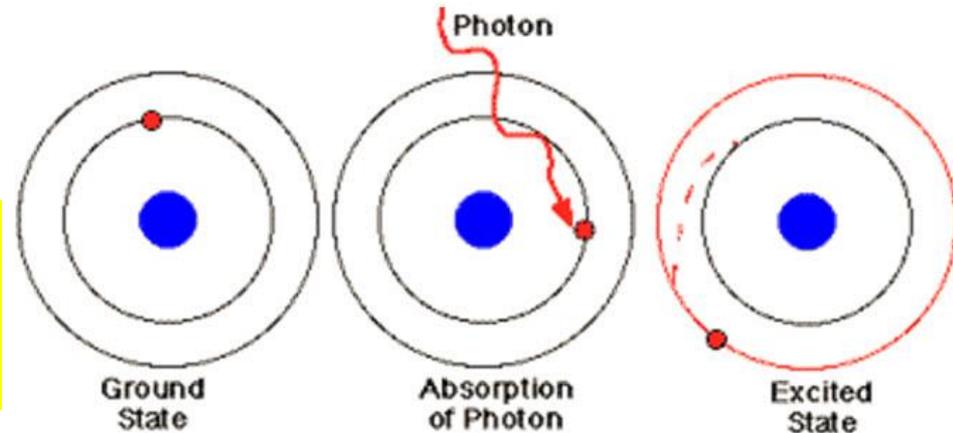


Copyright © Addison Wesley

Transizioni elettroniche



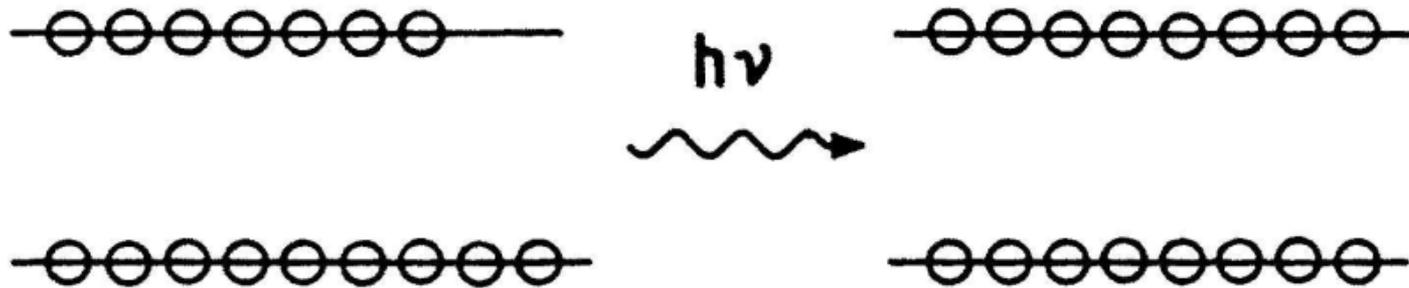
$$\Delta E = h\nu$$



- La maggior parte delle spettroscopie si occupa dell'interazione della componente elettrica delle radiazioni elettromagnetiche con la materia

Saturazione

- Se le transizioni possibili fossero solamente quelle indotte dalle radiazioni elettromagnetiche dopo poco le due popolazioni di molecole tenderebbero ad eguagliarsi



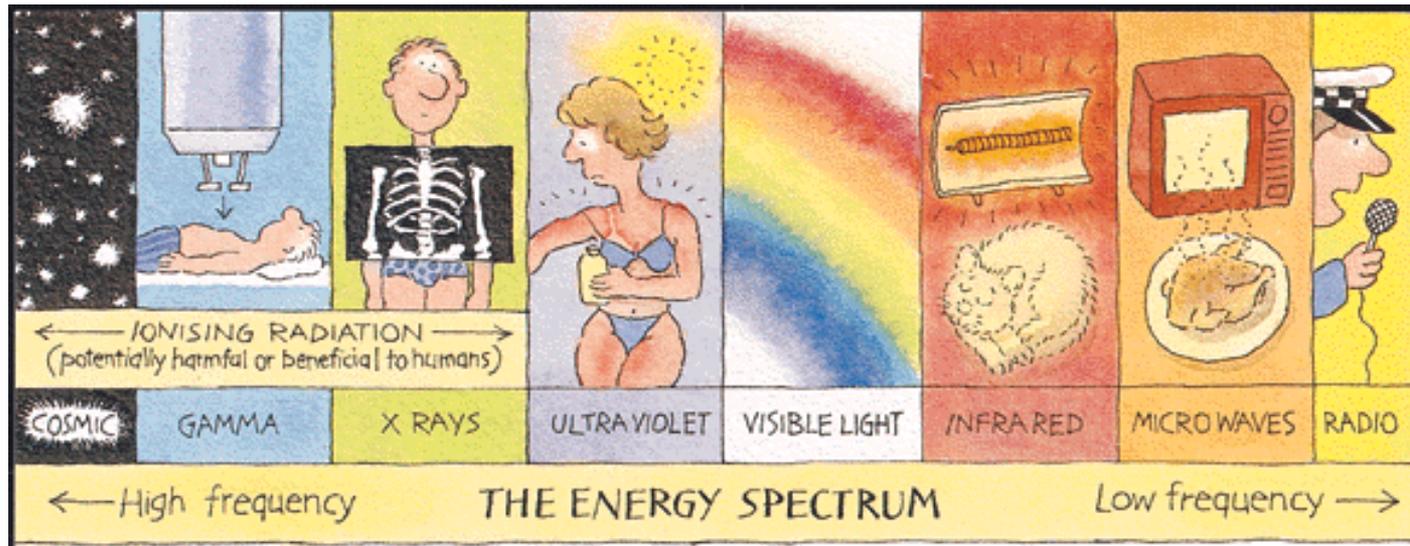
Transizioni spontanee (rilassamento)

Secondo Einstein

$$P \propto \Delta E$$

- Esiste una probabilità finita che avvenga un transizione spontanea che tende a riportare le molecole in una condizione di equilibrio

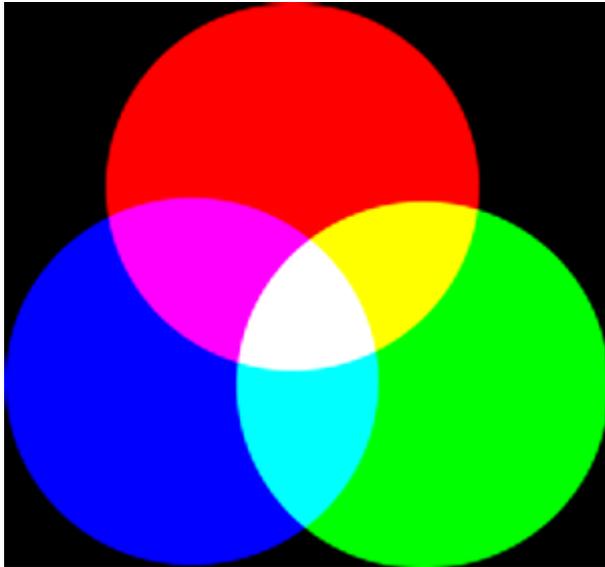
Interazioni energia-materia nell'intervallo spettrale dell'UV-VIS



Applicazione più importante consiste nella determinazione della concentrazione di sostanze di origine biologica in soluzione (DNA, proteine, NADH)

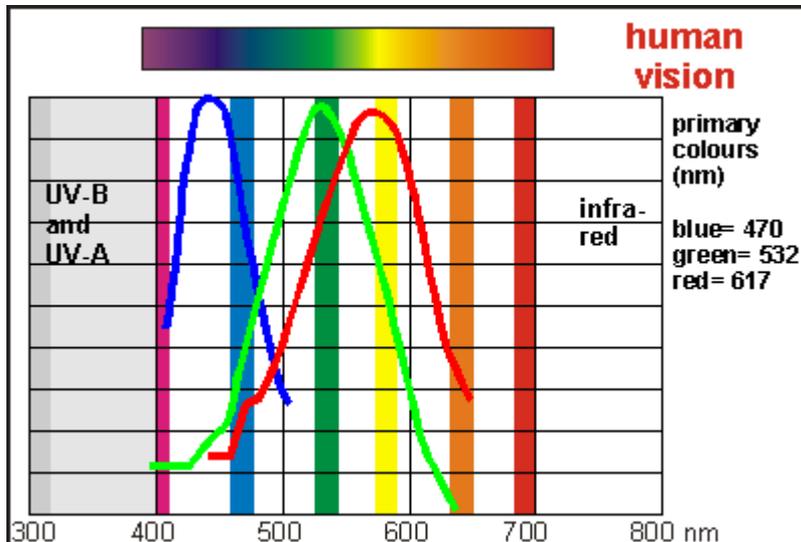
- Vantaggi
 - Semplice
 - Poco costosa
 - Fornisce informazioni molto precise

La percezione dei colori



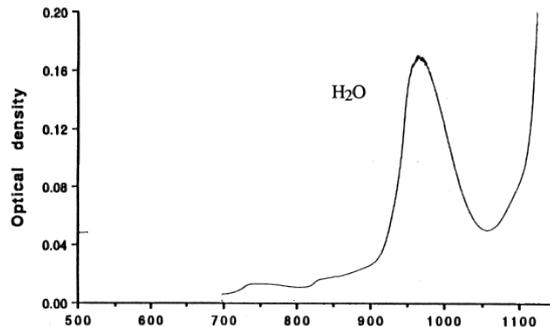
- L'occhio umano vede il colore complementare a quello assorbito

Relazione tra radiazione assorbita e colore



Color absorbed	Color observed	Absorbed radiation(nm)
Violet	Yellow-green	400-435
Blue	Yellow	435-480
Green-blue	Orange	480-490
Blue-green	Red	490-500
Green	Purple	500-560
Yellow-green	Violet	560-580
Yellow	Blue	580-595
Orange	Green-blue	595-605
Red	Blue-green	605-750

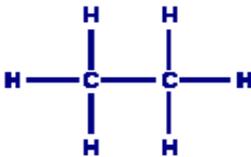
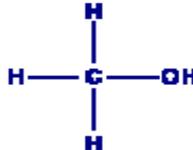
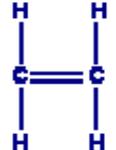
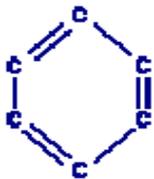
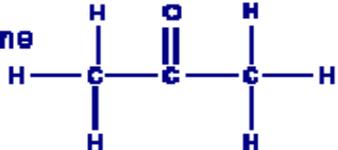
L'assorbimento dell'acqua



L'acqua appare blu

- Le molecole d'acqua assorbono le radiazioni elettromagnetiche nell'intervallo spettrale del vicino infrarosso

I centri di assorbimento

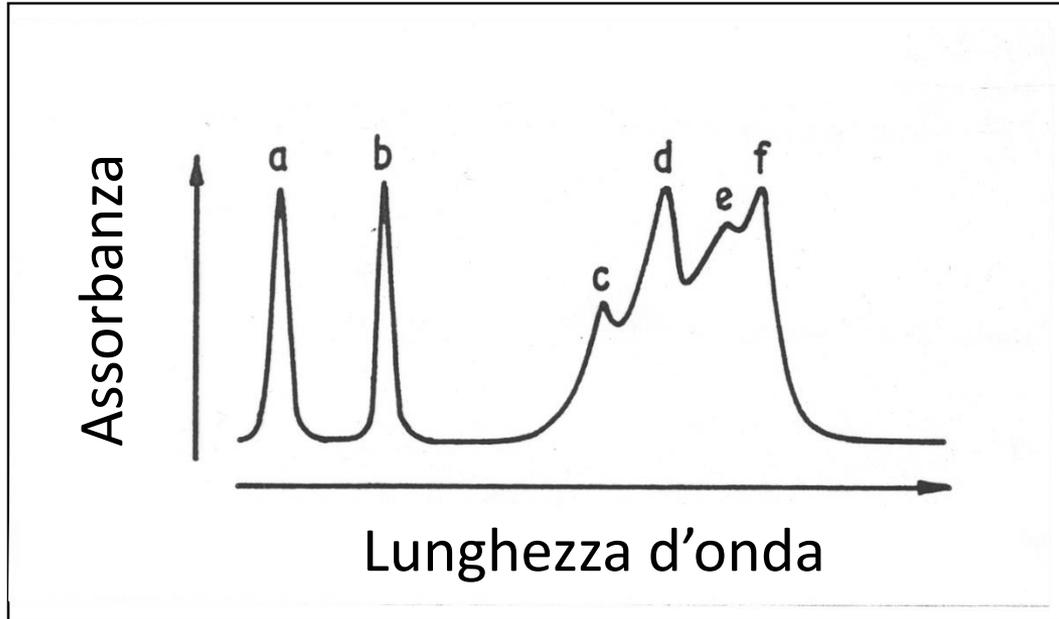
Molecule	Transition	λ_{max} (nm)
 Ethane	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	135
 Methanol	$\sigma \rightarrow \sigma^*$ 150 $n \rightarrow \sigma^*$ 183	
 Ethylene	$\pi \rightarrow \pi^*$	175
 Benzene	$\pi \rightarrow \pi^*$	254
 Acetone	$n \rightarrow \pi^*$	290

- Le molecole o le porzioni molecolari che sono responsabili dell'assorbimento delle radiazioni elettromagnetiche vengono detti **cromofori**

Cromofori naturali

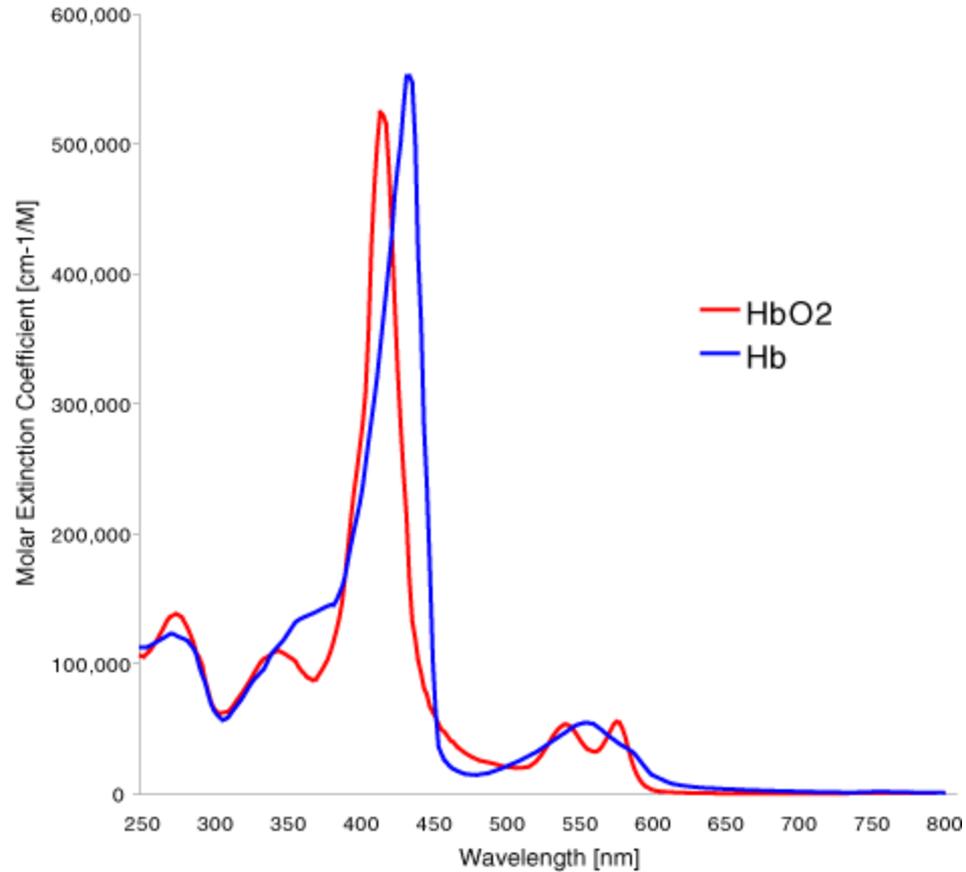
Cromoforo	λ_{\max} (nm)	ϵ alla λ_{\max} ($M^{-1}cm^{-1} \times 10^{-3}$)
Tryptofano	280	5.6
	219	47.0
Tirosina	274	1.4
	222	8.0
Fenilalanina	257	0.2
	206	9.3
Adenina	260	13.4
Guanina	275	8.1
Citosina	267	6.1
Uracile	260	8.2
Timina	265	7.9

Lo spettro

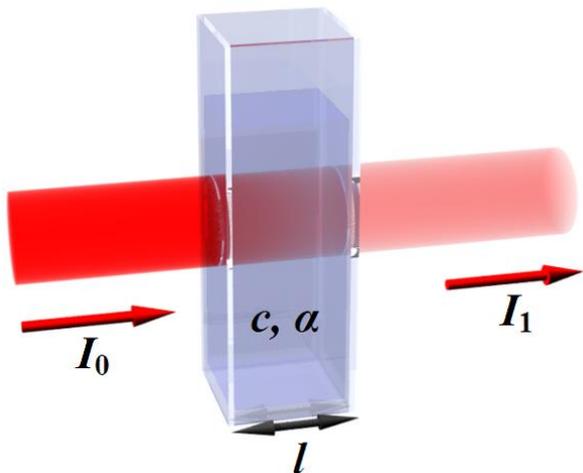


- La misura dell'assorbanza in funzione della lunghezza d'onda della radiazione incidente viene detta **spettro**
- 3 parametri caratterizzano uno spettro di assorbimento
 - La posizione della banda ($\Delta E = h\nu$)
 - L'intensità dell'assorbimento ($A = \varepsilon \cdot c \cdot d$)
 - La larghezza della banda (transizioni vibro-rotazionali, collisioni, microambienti)

Lo spettro dell'emoglobina



Il fenomeno dell'assorbimento



- La trasmissione delle radiazioni elettromagnetiche decresce esponenzialmente con lo spessore del materiale attraversato

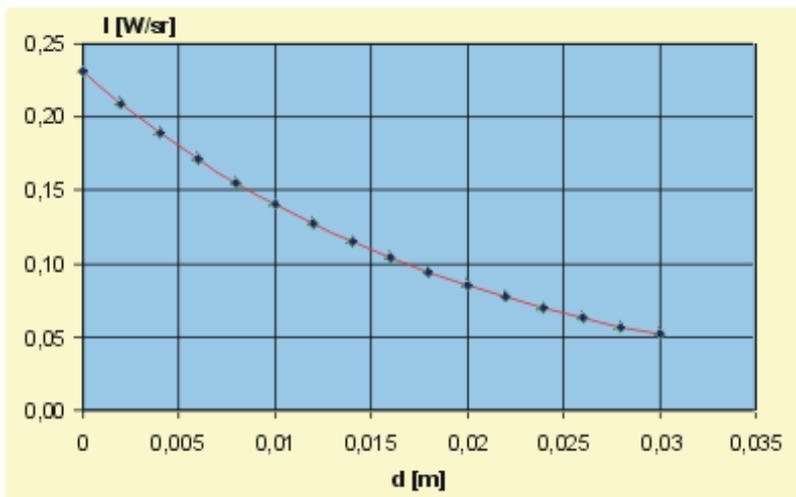
$$T = \frac{I_t}{I_o} = e^{-\varepsilon \cdot c \cdot b}$$

Dove **T** è la trasmittanza

ε è il coefficiente di estinzione molare ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

b è il cammino percorso (cm)

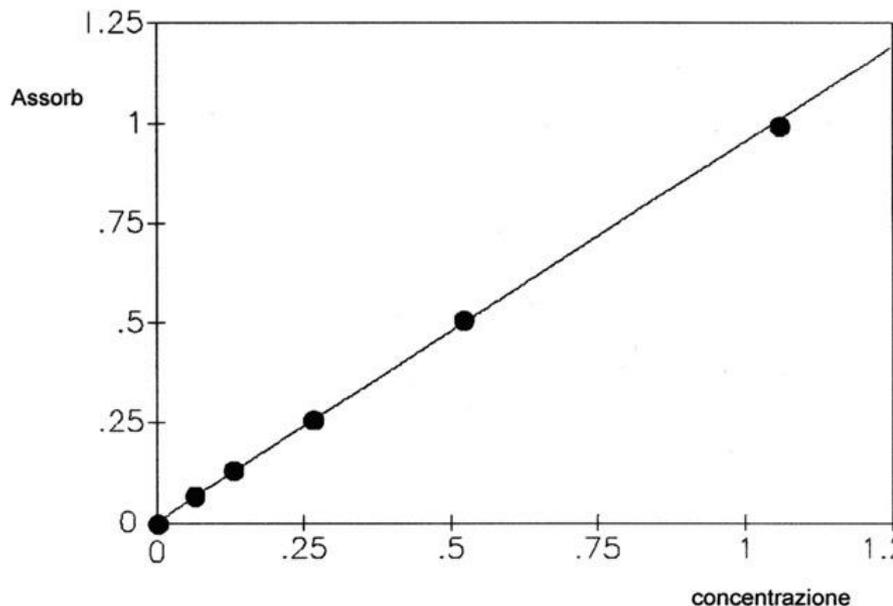
c è la concentrazione (M)



La legge di Lambert-Beer

- L'assorbanza, A , è direttamente proporzionale alla concentrazione del cromoforo

$$A = -\log T = -\log\left(\frac{I_t}{I_o}\right) = \log\left(\frac{I_o}{I_t}\right) = \varepsilon \cdot c \cdot b$$



Condizioni:

- a) i centri di assorbimento devono essere indipendenti ($C \leq 10^{-2} - 10^{-5} \text{ M}$)
- b) il fascio di radiazione deve essere a sezione costante
- c) la radiazione elettromagnetica deve essere monocromatica

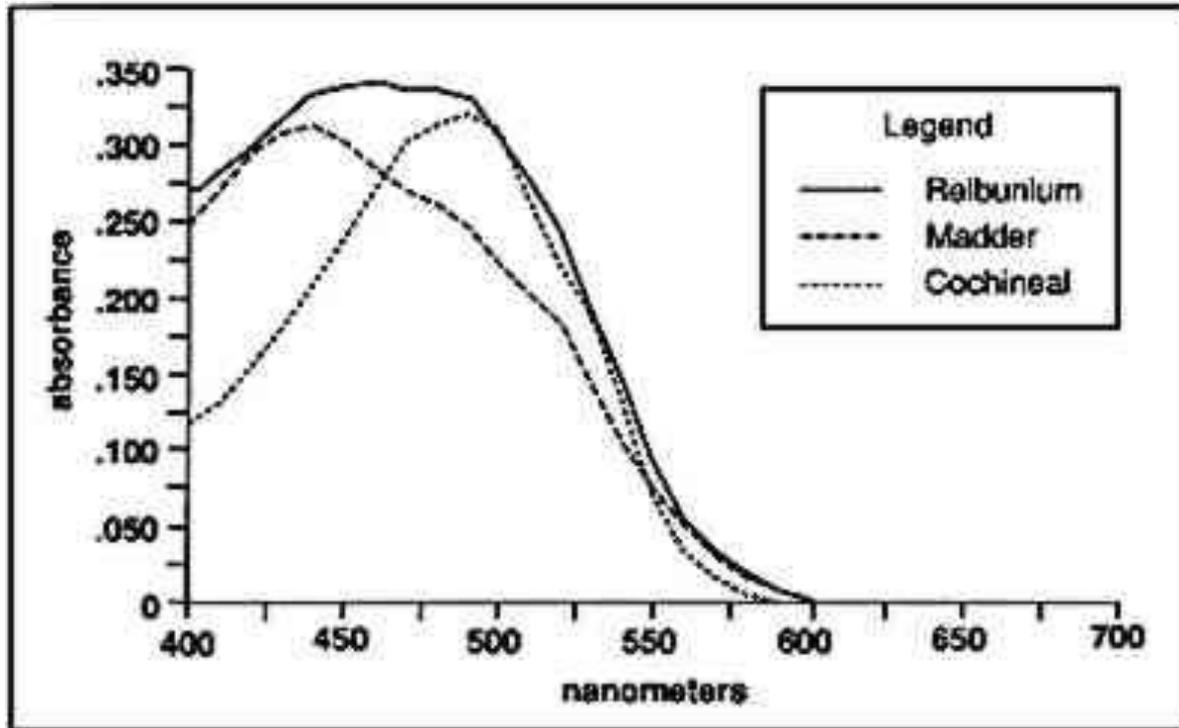
Esercizio

- L'acido ascorbico (vitamina C) presenta un massimo di assorbimento a 265 nm, dove possiede un coefficiente di estinzione molare di $15000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Quale sarà l'assorbanza di una soluzione di acido ascorbico 10^{-5} M in una cuvetta da 3 mL e cammino ottico 1 cm ?

Dato che $A = \epsilon \cdot b \cdot c$

$$A = 15000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1} \cdot 1 \text{ cm} \cdot 10^{-5} \text{ M} = 0.15$$

Miscela di due componenti



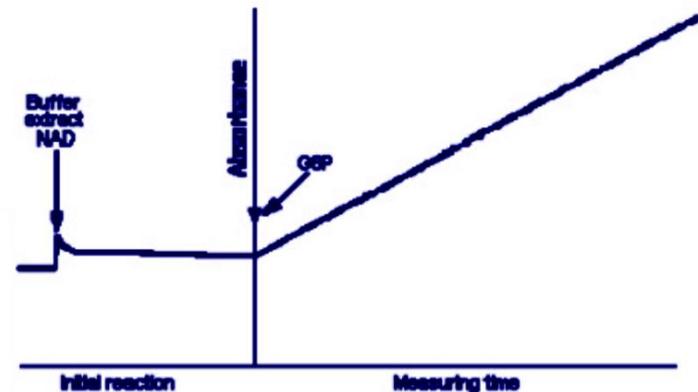
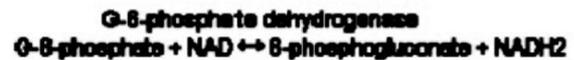
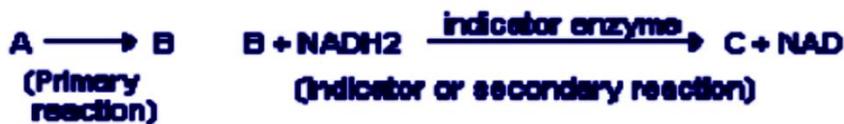
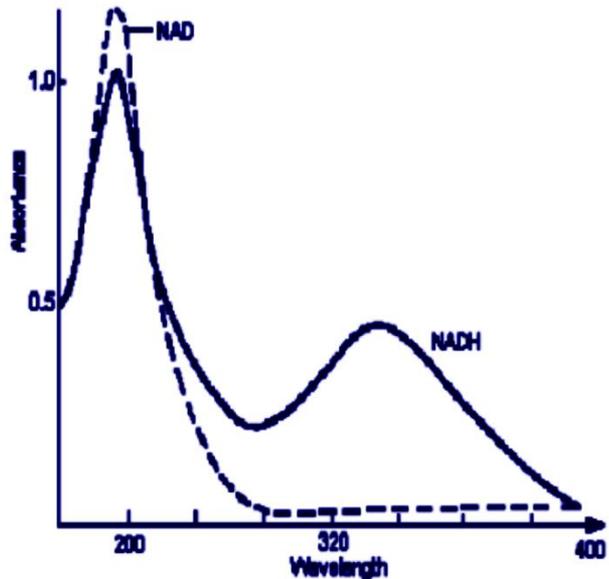
- Ad ogni lunghezza d'onda è valida la relazione di Lambert-Beer

$$A = \varepsilon_1 \cdot c_1 \cdot d + \varepsilon_2 \cdot c_2 \cdot d$$

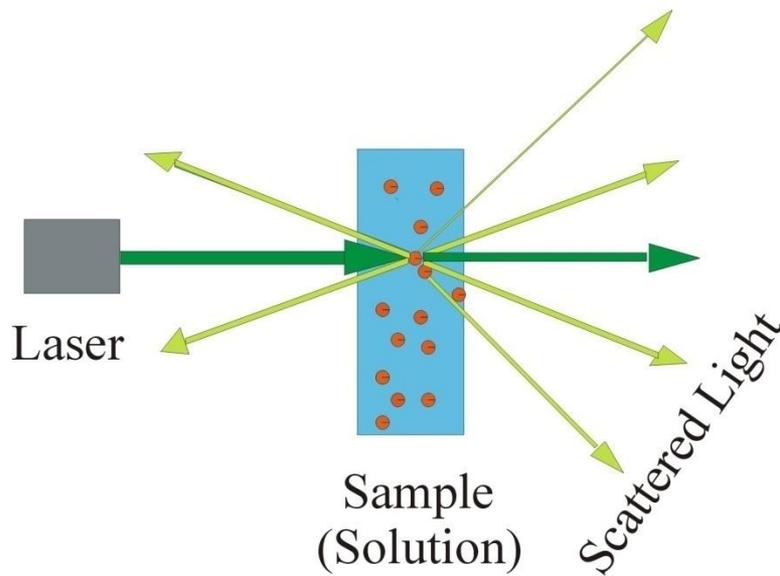
Le misurazioni cinetiche

Il sistema NAD^+/NADH

- Le determinazioni cinetiche vengono effettuate a lunghezza d'onda fissa, osservando le variazioni di assorbanza in funzione del tempo



Lo scattering



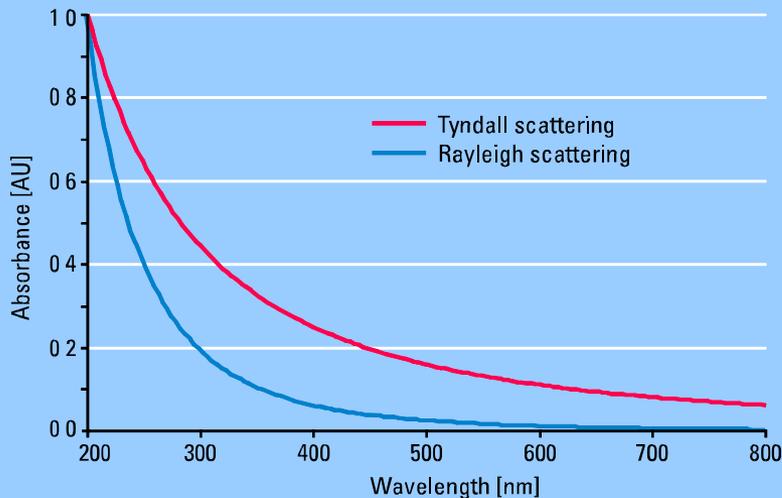
- Causa una apparente diminuzione dell'intensità della radiazione elettromagnetica trasmessa

- Rayleigh scattering

Quando sono presenti in sospensione delle particelle di dimensioni inferiori alla lunghezza d'onda della luce incidente ($S \propto 1/\lambda^4$)

- Tyndall scattering

Quando sono presenti in sospensione delle particelle di dimensioni maggiori della lunghezza d'onda della luce incidente



Interazioni delle radiazioni elettromagnetiche a bassa energia con le molecole



