

ESERCIZI – SPETTROFOTOMETRIA UV/VISIBILE

A SPUNTI DI RIFLESSIONE

1. Oggi, grazie alla larga disponibilità di tecniche analitiche di ogni genere, l'utilità degli spettri UV/visibile nel campo dell'analisi qualitativa si è abbastanza ridotta. Per quale motivo il suo impiego in tal senso può comunque trovare non poche difficoltà?

.....
.....
.....

2. Lo spettro UV/visibile può rivelarsi decisivo per evidenziare perlomeno la presenza/assenza di composti aromatici. Spiegare perché.

.....
.....
.....

3. Lo spettro in derivata può essere di grande aiuto per distinguere sostanze fra loro molto simili. Spiegare perché.

.....
.....
.....

4. Spiegare perché di solito non si osserva l'assorbimento dell'acetone a 188 nm, mentre la sua presenza anche in tracce può compromettere le misure quantitative intorno a 300 nm.

.....
.....
.....

5. Trovare qualche esempio numerico che mostri l'effetto della coniugazione sulla λ_{\max} del carbonile a opera del doppio legame.

.....
.....
.....

6. Che tipo di gruppi funzionali deve avere la molecola di una sostanza organica perché appaia colorata?

.....
.....
.....

7. Che cosa si intende per **effetto batocromo**?

.....
.....
.....

8. Perché la fenolftaleina assume una colorazione rossa in ambiente nettamente basico, mentre è incolore in ambiente neutro o acido?

.....
.....
.....

9. Per quale motivo le macchie colorate di frutta sui tessuti, a volte, possono scomparire per aggiunta di una goccia di limone o di aceto bianco?

.....
.....
.....

10. Per il sistema biochimico di una pianta, richiede più energia la sintesi di un pigmento giallo o di un pigmento blu?

.....
.....
.....

11. Per quale motivo i raggi UV-C, di lunghezza d'onda più corta rispetto agli UV-B e UV-A, sono più pericolosi di questi ultimi per l'organismo?

.....
.....
.....

12. A quale molecola presente nella stratosfera si deve il maggior effetto protettivo nei confronti dei raggi UV-C e perché?

.....
.....
.....

13. Qual è la differenza sostanziale, sul piano delle applicazioni, fra spettrofotometri monoraggio non computerizzati e spettrofotometri doppio raggio?

.....
.....
.....

14. Qual è la differenza sostanziale fra spettrofotometri a dispersione tradizionali e spettrofotometri a serie di diodi?

.....
.....
.....

15. Discutere l'importanza dell'ampiezza della banda passante nell'analisi spettrofotometrica UV/visibile.

.....
.....
.....

16. Esiste qualche relazione fra la natura corpuscolare delle radiazioni elettromagnetiche e il rumore di fondo di un rivelatore UV/visibile?

.....
.....
.....

17. In certi casi, specie in ambiente biochimico, il metodo ufficiale di analisi quantitativa in UV/visibile indica la lunghezza d'onda di lavoro e prevede l'utilizzo di un determinato valore di ϵ . In generale tuttavia, quando si imposta un'analisi di questo genere è utile conoscere il valore orientativo di ϵ (alla λ prescelta o da stabilire) ma non è quasi mai necessario avere un valore molto accurato di tale grandezza. Perché?

.....
.....
.....

18. Perché una soluzione torbida può determinare errori significativi nelle misure di assorbanza?

.....
.....
.....

19. Spiegare qual è il ruolo della luce diffusa dovuta a cause strumentali, nell'analisi UV/visibile.

.....
.....
.....

20. Quali sono i criteri per scegliere correttamente le cuvette da usare in UV/visibile, sia per quanto riguarda il cammino ottico sia per la natura del materiale?

.....
.....
.....

21. Spiegare in quali circostanze lo spettro in derivata può rivelarsi molto utile per l'analisi quantitativa.

.....
.....
.....

22. Lo ione Fe^{2+} idratato, di per sé lievemente colorato di verde, di solito non viene determinato come tale nelle acque, ma solo dopo trattamento con *o*-fenantrolina. Spiegare perché.

.....
.....
.....

23. Perché i reticoli a riflessione hanno quasi completamente soppiantato quelli a trasmissione e i prismi?

.....
.....
.....

24. Per determinare la concentrazione di uno ione metallico in tracce è meglio usare il metodo della retta di taratura o quello dell'aggiunta?

.....
.....
.....

25. Quando si devono analizzare soluzioni molto diluite si possono usare cuvette aventi un cammino ottico maggiore di 1 cm (ad esempio, 2 o 4 cm). Ciò consente di ridurre l'errore di misura associato a valori troppo bassi dell'assorbanza e di migliorare la qualità della misura stessa, ma vi sono anche controindicazioni legate alle caratteristiche fisiche della soluzione: quali?

.....
.....
.....

26. Molti composti organici e di coordinazione forniscono bande di assorbimento larghe fino a qualche decina di nanometri. Questo fatto spiega perché per l'analisi non è necessario disporre di strumenti con monocromatori di potere risolvante molto elevato?

.....
.....
.....

27. Se si misura l'assorbanza di un campione a una λ che induce fenomeni di fluorescenza, quale effetto si osserva sulla misura di assorbanza della soluzione?

.....
.....
.....

28. Discutere i parametri che influenzano la qualità degli spettri UV/visibile.

.....
.....
.....

29. La registrazione di spettri in soluzione richiede l'abbattimento del segnale del solvente. Con gli strumenti monoraggio si registra pertanto precedentemente lo spettro del solvente, che verrà poi sottratto allo spettro del campione, mentre con gli strumenti doppio raggio si colloca la cella contenente il solvente puro sul cammino del raggio di riferimento. Perché tale accorgimento non ha comunque successo in una regione spettrale in cui il solvente assorbe in modo sensibile?

.....
.....
.....

B PROBLEMI NUMERICI

1. Il coefficiente di assorbimento molare di molte sostanze nella regione UV/visibile è spesso maggiore di 10^4 , mentre per l'IR vale circa 500. Stabilire quale delle due tecniche è più adatta all'analisi di tracce assumendo che il valore minimo misurabile di assorbanza sia di 0,0044.

.....
.....

2. Calcolare il coefficiente di assorbimento molare di un composto colorato sapendo che una sua soluzione $7,63 \cdot 10^{-6} M$ fornisce, a 480 nm e in una cella con cammino ottico di 1 cm, un'assorbanza di 0,280. Considerando il valore di ϵ calcolato, prevedere se tale composto è, con più probabilità, un idrocarburo alifatico, un composto di coordinazione o un composto aromatico.

.....
.....

3. Il testosterone (un tipico ormone steroideo contenente un gruppo carbonilico α,β -insaturo) assorbe a 244 nm ($\epsilon = 1,6 \cdot 10^4$). Calcolare orientativamente la concentrazione di una sua soluzione sapendo che a questa lunghezza d'onda fornisce un'assorbanza di 0,126 in una cella con un cammino ottico di 1 cm. Proporre un metodo per realizzare una determinazione quantitativa dell'ormone più accurata.

.....
.....



4. Il coefficiente di assorbimento del complesso di Fe(II) con 1,10-fenantrolina, espresso in L/g · cm (riferito al ferro, MM = 55,85 g/mol) vale circa 200 (a 510 nm). Calcolare il coefficiente di assorbimento molare tenendo conto che $\epsilon = \alpha \cdot MM$.

.....
.....

5. Stabilire se la determinazione spettrofotometrica di tracce ($< 10^{-4}$ - 10^{-5} mol/L) di Co(II) in soluzione acquosa può essere effettuata basandosi sull'assorbimento dello ione $Co(H_2O)_6^{2+}$, che appare rosa e ha una ϵ di circa 10 L/mol cm. Assumere per l'assorbanza un valore minimo misurabile di 0,004.

.....
.....

6. Per una certa sostanza, in soluzione acquosa a 470 nm, si misura un'assorbanza di 0,430. Assumendo che l'andamento sia lineare, stabilire il colore della soluzione e il valore dell'assorbanza e della trasmittanza percentuale nel caso che la concentrazione raddoppi.

.....
.....

7. Per determinare la concentrazione di fosforo in un campione di detersivo (che ne dovrebbe contenere meno dell'1%) si è scelto il metodo della retta di taratura. Si sono ottenuti i seguenti risultati sperimentali:

	STD-1	STD-2	STD-3	STD-4	Campione
Assorbanza	0,076	0,151	0,235	0,380	0,268
Concentrazione	0,5	1	1,5	2,5	?

Calcolare:

- la concentrazione di fosforo nella soluzione sottoposta alla misura
- la concentrazione nel campione originario sapendo che 2,8650 g di esso sono stati trattati con persolfato in autoclave e diluiti a 1 L. Infine, sono stati prelevati 10 mL di questa soluzione e trattati con i reagenti opportuni, portando il volume a 100 mL, prima di effettuare la misura di assorbanza

.....
.....

8. Calcolare il valore ottimale della banda passante da usare per l'analisi di un composto il cui picco di assorbimento è largo 40 nm a metà altezza.

.....
.....

9. Una soluzione sottoposta ad analisi ha una trasmittanza percentuale del 20%. Calcolare:

- l'assorbanza della soluzione
- l'assorbanza che si misurerebbe se al raggio campione e al raggio di riferimento si aggiungesse anche una luce diffusa pari al 2% di quella che attraversa il riferimento
- il conseguente errore relativo nella misura di assorbanza

.....
.....

10. Proporre una strategia per determinare la concentrazione di un analita in una soluzione (che per qualche motivo non sia possibile diluire ulteriormente) la cui assorbanza si colloca poco oltre l'intervallo di linearità.

.....
.....

11. Si deve effettuare la determinazione spettrofotometrica dell'ammoniaca. Stabilire le modalità opportune (pesata iniziale e diluizioni) per preparare una soluzione standard di NH_4Cl , che deve contenere 100 mg/L di azoto, espresso come N- NH_3 , partendo dal sale puro.

[MM(N) = 14,00 g/mol; MM(NH_3) = 17,00 g/mol; MM(NH_4Cl) = 53,5 g/mol]

12. Stabilire le modalità per preparare una soluzione standard di Cr(VI) usando dicromato di potassio; la soluzione deve contenere 200 mg/L di Cr(VI).

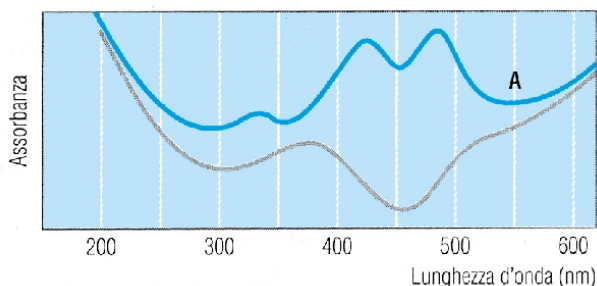
[MM (Cr) = 51,996 g/mol; MM ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) = 294,188 g/mol]

13. A 50 mL di una soluzione sono stati aggiunti 50 μL di soluzione standard di un analita X a concentrazione di 100 mg/L. Calcolare la concentrazione di X nella soluzione finale, sia trascurando la variazione di volume sia tenendone conto. Valutare l'errore commesso nel primo caso.

14. La vitamina D [MM = 397 g/mol] ha un coefficiente di assorbimento molare $\varepsilon = 1,82 \cdot 10^3 \text{ L/mol} \cdot \text{cm}$ (a 264 nm) in etanolo. Allo scopo di determinare la quantità di tale sostanza in un complesso vitaminico che ne contiene circa il 10% in massa stabilire:

- l'assorbività (in $\text{L/g} \cdot \text{cm}$)
- la concentrazione approssimativa (in mg/L) della soluzione da sottoporre a misurazione, in modo tale che l'assorbanza sia compresa fra 0,2 e 0,8 con una cella da 1 cm
- la quantità (in g) di complesso vitaminico che si deve pesare per ottenere, mediante opportune diluizioni, la soluzione di cui al punto precedente

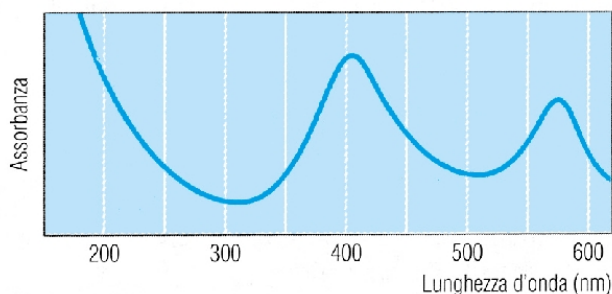
15. Sulla base degli spettri mostrati qui sotto, attribuibili alla sostanza A in concentrazione circa 10^{-5} M e a impurezze presenti nella matrice (tracciato grigio), scegliere la lunghezza d'onda di lavoro più opportuna per l'analisi quantitativa della sostanza A, tenendo conto anche delle possibili interferenze individuabili nello spettro.



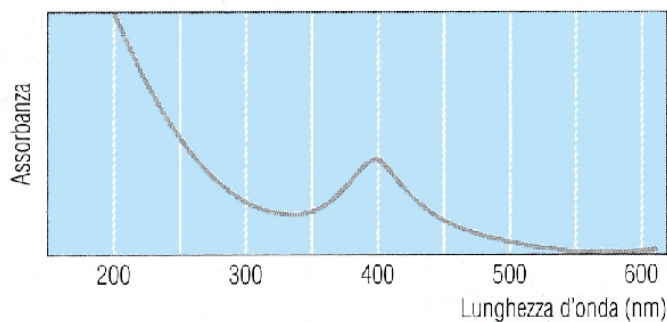
16. La concentrazione di una soluzione standard concentrata di un analita X, da sottoporre ad analisi, è di 900 mg/L. Scrivere tutte le operazioni di calcolo per preparare 5 soluzioni standard, con concentrazioni comprese fra circa 1 e 10 mg/L, necessarie per costruire una retta di taratura assorbanza/concentrazione (mg/L).



17. Suggestire un procedimento analitico per determinare quantitativamente la sostanza X del problema precedente in una soluzione incognita sapendo che, dopo reazione con la sostanza B, fornisce il seguente spettro.



Il composto XB è stabile in un intervallo di pH compreso fra 3 e 5 e la concentrazione prevista di X in soluzione è di circa 500 mg/L. Si tenga anche conto che il reagente B fornisce da solo il seguente spettro.



18. Per determinare la concentrazione di un analita A in una serie di campioni si è scelto il metodo della retta di taratura. Avendo a disposizione una soluzione standard, contenente 2,000 g/L del composto A₂B, scrivere tutte le operazioni di calcolo da eseguire per preparare 5 soluzioni aventi concentrazioni di A comprese fra circa 0,50 e 10 mg/L.

[MM (A₂B) = 200 g/mol; MM (A) = 50 g/mol]

19. Dopo aver effettuato i calcoli per preparare le soluzioni del problema precedente, si deve costruire la retta di taratura. Proporre il procedimento da seguire tenendo conto dei seguenti dati:

- a) A non assorbe nel visibile
- b) A + C → AC; il composto AC è colorato e stabile fra pH 8 e 10
- c) AC è solubile in acqua e presenta picchi a 410, 520 e 580 nm
- d) presenta picchi a 400 e 515 nm
- e) la formazione del composto AC si può considerare completa dopo 15 minuti

Definire anche la composizione del bianco reagenti.

20. Un analista deve preparare 2 L di soluzione standard concentrata di A_2B alla concentrazione di 1,200 g/L. In laboratorio egli ha a disposizione un recipiente contenente A_2B puro e una soluzione di A_2B al 60% in peso ($d = 1,40$ g/mL). L'analista decide di prelevare da quest'ultima il volume necessario per preparare i 2 L di soluzione standard, di trasferirlo in un matraccio da 2 L e di portarlo a volume con acqua distillata:

- a) quanti millilitri preleva?
- b) ha scelto il procedimento più corretto? Perché?

.....
.....

21. Per determinare la concentrazione di un analita usando una retta di taratura si effettuano le seguenti operazioni:

- a) 100 mL di campione vengono neutralizzati con 10 mL di una base
- b) a 25 mL di campione neutralizzato si aggiungono 5 mL di soluzione tampone e 5 mL di un reagente cromogeno (cioè di un reagente che forma un composto colorato con l'analita). Si misura infine l'assorbanza che, inserita nella retta di taratura, corrisponde alla concentrazione di 3 mg/L. Qual è l'effettiva concentrazione di analita nel campione?

.....
.....
.....
.....