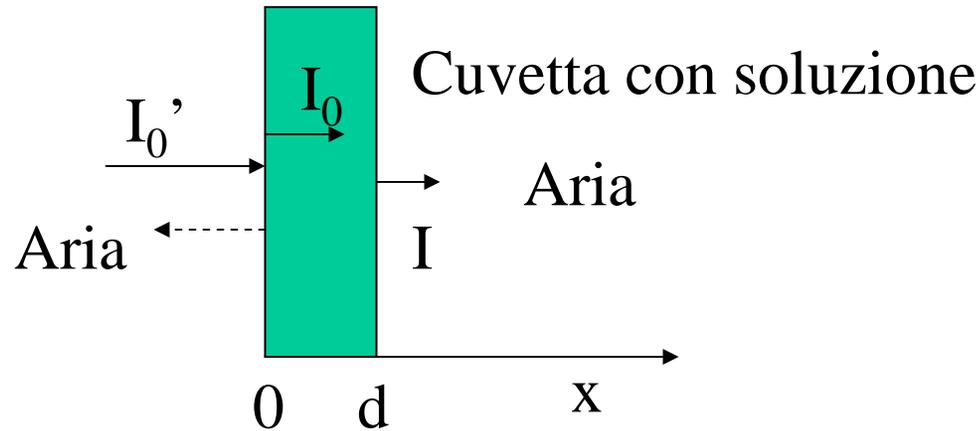


# Assorbimento della radiazione da parte di una soluzione (Legge di Lambert-Beer)

Rientra nella classe dei fenomeni ad andamento esponenziale. Il mezzo si intende omogeneo e la radiazione monocromatica.

Nella prova si verifica che l'intensità della radiazione elettromagnetica trasmessa da una soluzione contenuta, di concentrazione omogenea, diminuisce esponenzialmente. L'assorbimento dipende dalle caratteristiche del soluto, dalla concentrazione della soluzione e dalla lunghezza d'onda  $\lambda$ .



Ricordando la legge di Lambert (vedi “Assorbimento della radiazione da parte di un mezzo”), l'intensità della radiazione elettromagnetica che attraversa la soluzione di concentrazione  $c$  (espressa per esempio in g/l) contenuta in una cuvetta di lato  $d$ , con coefficiente di assorbimento  $k_a$ , è data da:

$$I(\lambda) = I_0(\lambda) \cdot e^{-k_a(\lambda) \cdot c \cdot d}$$

dove  $I_0$  è l'intensità della radiazione appena penetrata nel mezzo ( $x=0$ )

Nella prova si preparano soluzioni con diverse concentrazioni del soluto. Queste soluzioni vengono messe in cuvette di lato  $d$ . La radiazione, emessa da una sorgente continua, è inviata perpendicolarmente alla cuvetta mediante una fibra ottica.

L'intensità trasmessa, che varia con la concentrazione della soluzione, è rilevata in funzione della lunghezza d'onda mediante uno spettrofotometro. Questo è collegato ad un pc che acquisisce gli spettri, in termini di intensità  $I$  (conteggi al secondo, c/s) in funzione di  $\lambda$ .

Se  $S(\lambda)$  è lo spettro misurato con la soluzione,  $D(\lambda)$  è lo spettro misurato con l'ingresso dello spettrofotometro chiuso (segnale dark, serve per ottenere il fondo) e  $R(\lambda)$  è lo spettro misurato con solo il solvente (spettro di riferimento, sostanzialmente è la  $I_0$ ), si definisce assorbanza,  $A(\lambda)$ :

$$A(\lambda) = -\log_{10} \left( \frac{S(\lambda) - D(\lambda)}{R(\lambda) - D(\lambda)} \right)$$

L'assorbanza è collegata alla concentrazione del soluto secondo la relazione:

$$A(\lambda) = \frac{k_a(\lambda) \cdot c \cdot d}{\log_e 10} \approx 0.43429 \cdot k_a(\lambda) \cdot c \cdot d$$

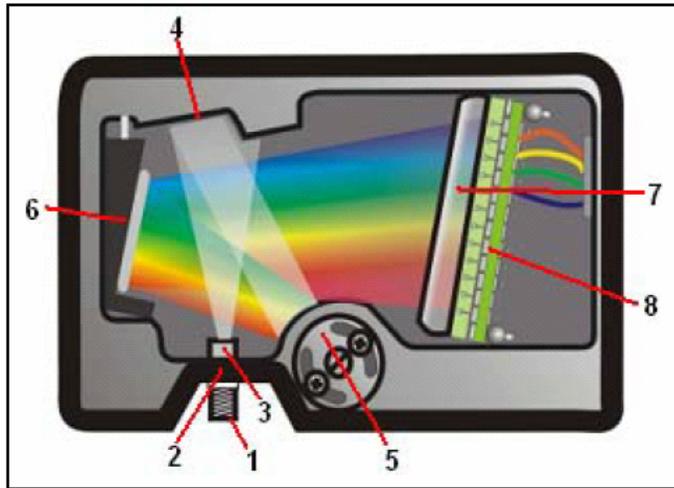
Pertanto la concentrazione  $c$  della soluzione è proporzionale all'assorbanza  $A$ .

Per determinare la concentrazione è necessario conoscere il coefficiente  $k_a$ . In generale non è noto. Si costruisce pertanto una retta di taratura per quel particolare soluto, preparando soluzioni con concentrazioni note e misurando l'assorbanza. Questo permette, misurando l'assorbanza di una soluzione di concentrazione ignota, di determinarne la concentrazione.

# Spettrofotometro

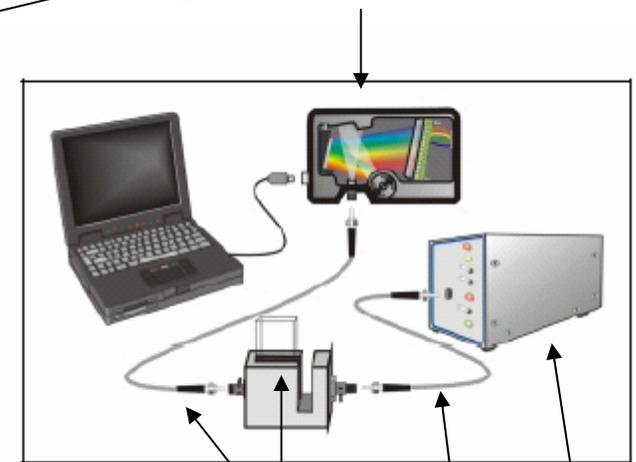
Lo spettrofotometro è uno strumento che permette di misurare l'intensità della radiazione elettromagnetica (o fotoni) in funzione della sua lunghezza d'onda (o, equivalentemente, in funzione dell'energia). All'interno si trova in generale un reticolo (nel passato si utilizzava un prisma) che, sfruttando il fenomeno dell'interferenza, trasmette o riflette fotoni di diverse lunghezze d'onda ad angoli diversi. In questo modo è possibile utilizzare fotoni monocromatici per applicazioni diverse.

Nel disegno è mostrato l'interno di uno spettrofotometro con l'ottica di focalizzazione, il reticolo e l'elemento sensibile (o detector CCD).



- 1 ingresso della luce
- 2 fenditura (20  $\mu\text{m}$ )
- 3 filtro (limita l'intervallo delle lunghezze d'onda per evitare interferenze)
- 4 specchio collimatore, rende il fascio "parallelo" e lo riflette sul reticolo
- 5 reticolo di diffrazione
- 6 specchio focalizzatore, riflette la luce proveniente dal reticolo sul detector
- 7 lente di focalizzazione
- 8 detector CCD, converte il segnale ottico in segnale elettrico (digitale)

spettrofotometro



campione

sorgente

fibre ottiche