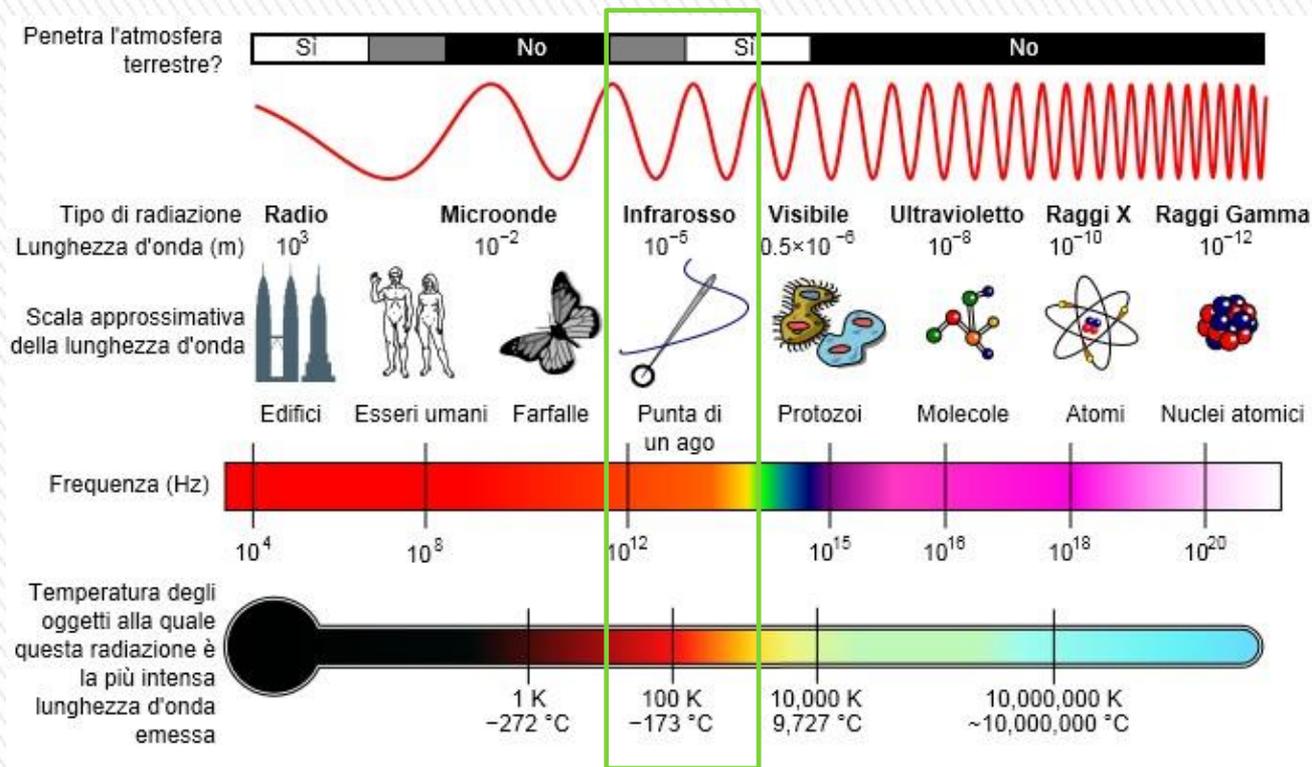


Spettroscopia Infrarossa (IR) o spettroscopia vibrazionale



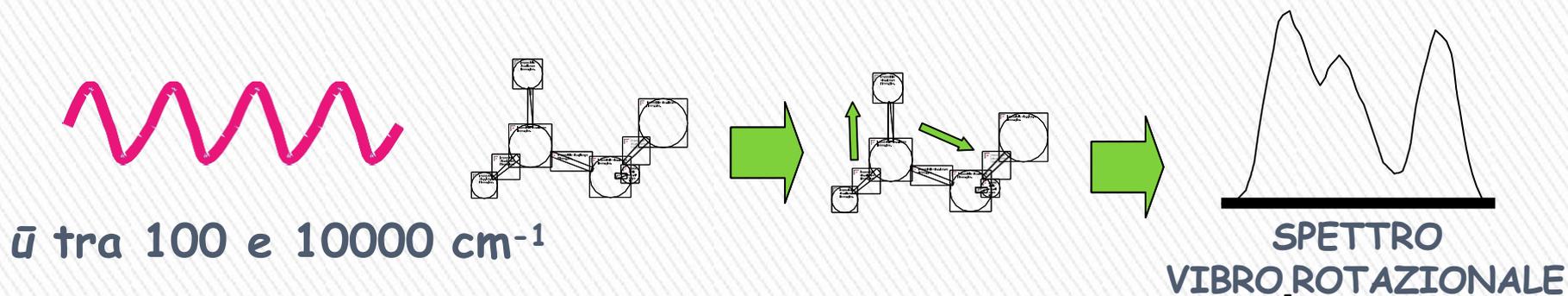
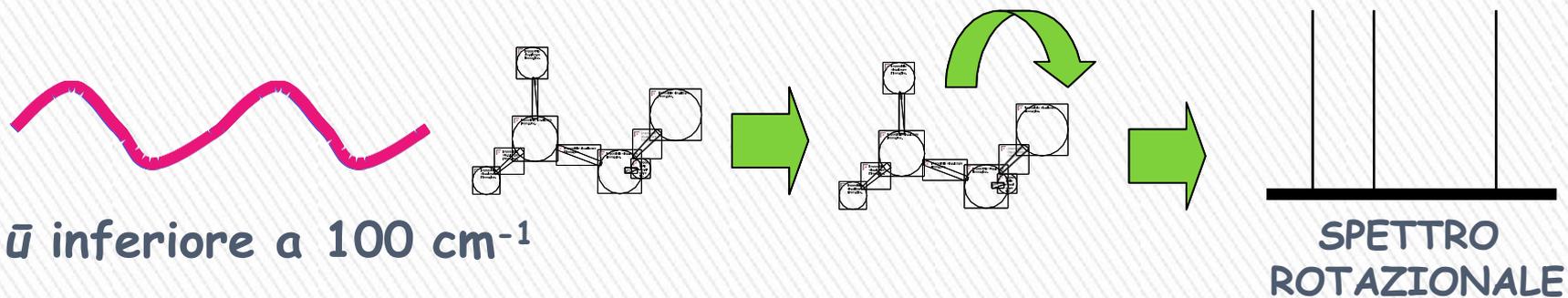
Spettroscopia IR e spettro elettromagnetico

La radiazione infrarossa si trova nella parte dello spettro elettromagnetico tra le regioni del visibile e delle microonde. La porzione di maggiore interesse per la spettroscopia IR è quella compresa tra **4000 e 400 cm^{-1}** .



Principi generali

- La regione dell'infrarosso è suddivisa in: **vicino IR** (14000-4000 cm^{-1}), **medio IR** (4000-500 cm^{-1}) e **lontano IR** (500-20 cm^{-1}), che vengono usati per osservare diversi **modi vibrazionali**
- La radiazione IR con **frequenza inferiore a 100 cm^{-1}** viene assorbita da una molecola organica e convertita in **energia rotazionale**. Questo assorbimento è quantizzato e perciò uno **spettro rotazionale** è costituito da **linee separate**
- La radiazione IR, nell'intervallo **da circa 10000 a 100 cm^{-1}** , viene assorbita da una molecola e convertita in **energia vibrazionale**. Anche qui l'assorbimento è quantizzato, ma lo **spettro vibrazionale** presenta delle **bande** perché ad una singola variazione dell'energia vibrazionale sono associati un certo numero di livelli di energia rotazionale.
- E' PROPRIO SULLO STUDIO DI QUESTE **BANDE** CHE SI BASA LA SPETTROSCOPIA IR, IN PARTICOLARE DI QUELLE **COMPRESSE TRA 4000 E 400 cm^{-1}**



Le frequenze di assorbimento dipendono:

- dalle **masse relative** degli **atomi**,
- dalle **costanti di forza** dei **legami**,
- dalla **geometria** degli **atomi**.



- Le posizioni delle bande nello spettro IR sono indicate come **numeri d'onda ($\bar{\nu}$)** la cui unità di misura è il reciproco del centimetro (cm^{-1}); questa unità è proporzionale alla energia vibrazionale.
- La **lunghezza d'onda (λ)** era utilizzata nella letteratura più vecchia in unità di micrometri ($\text{mm} = 10^{-6} \text{ m}$, anche chiamati micron).
- I numeri d'onda sono inversamente proporzionali alla lunghezza d'onda
- I numeri d'onda non corrispondono esattamente alle frequenze poiché mentre essi corrispondono a

$$\bar{\nu} = 1 \times 10^4 / \lambda$$

con λ in unità di μm ,

le **frequenze (ν in Hz)** corrispondono a

$$c / \lambda$$

con λ in cm e c velocità della luce ($3 \times 10^{10} \text{ cm/s}$).



Le intensità delle bande IR possono essere espresse in **trasmittanza** (T) o in **assorbanza** (A).

- La **trasmittanza** è la frazione di luce incidente che attraversa un campione ad una data lunghezza d'onda, cioè il rapporto tra la potenza radiale trasmessa da un campione e quella di riferimento,

$$T = I_0 / I$$

$$\%T = \text{intensità} / \text{intensità originale} \times 100$$

- L'**assorbanza** è:

$$A = \log_{10}(1/T)$$

Normalmente gli spettri vengono visualizzati in trasmittanza (picchi di assorbimento vibrazionale rivolti verso il basso)



Modi di vibrazione molecolare

Esistono due **modi di vibrazione molecolare**:

- di **STRETCHING** (o **STIRAMENTO**) e
- di **BENDING** (o **PIEGAMENTO**).

Una **vibrazione di stretching** è un movimento ritmico lungo l'asse di legame con conseguente aumento e diminuzione della distanza interatomica.

Una **vibrazione di bending** può essere dovuta ad una variazione nell'angolo nei legami con un atomo in comune oppure ad un movimento di un gruppo di atomi rispetto al resto della molecola.

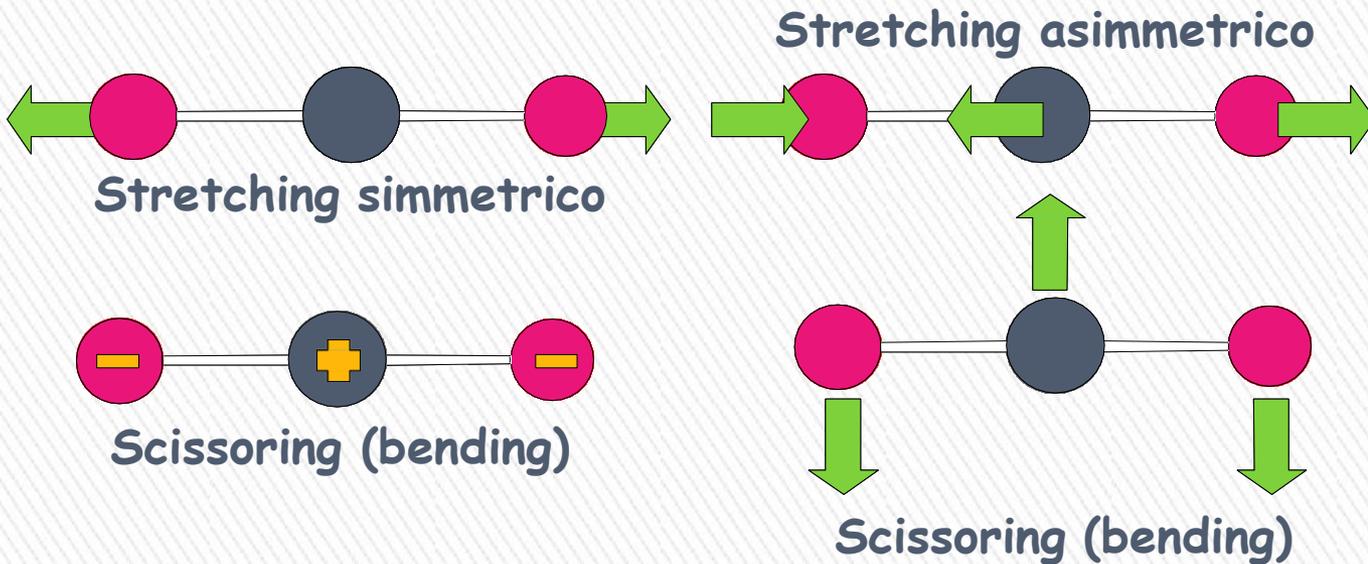
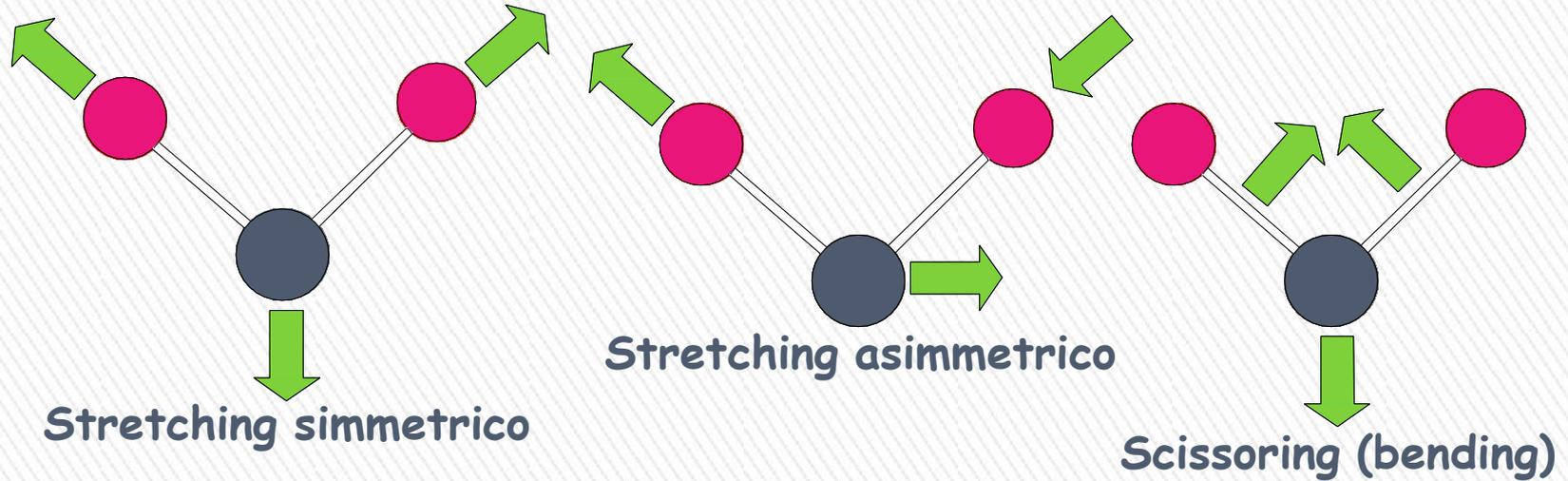
La deformazione può pure essere:

- simmetrica nel piano, detta **scissoring** (apertura e chiusura di una forbice),
- asimmetrica nel piano, chiamata **rocking** (oscillazione),
- simmetrica fuori dal piano, detta **twisting** (torsione)
- asimmetrica fuori dal piano, chiamata **wagging** («agitamento»).



http://it.wikipedia.org/wiki/Spettroscopia_infrarossa

Le tre vibrazioni fondamentali di una molecola triatomica come H_2O e le quattro vibrazioni fondamentali di una molecola come CO_2 sono:



- Vengono osservate nell'IR soltanto le vibrazioni che portano ad una **variazione ritmica del momento dipolare della molecola**.
- Il campo elettrico alternante, prodotto dal cambiamento di distribuzione della carica, accoppia la vibrazione della molecola al campo elettrico oscillante della radiazione elettromagnetica.
- Le frequenze di stretching possono essere calcolate applicando la **legge di Hooke** di un **oscillatore armonico**:

$$\nu = \frac{1}{2\pi c} \left[\frac{f}{(M_x M_y)/(M_x + M_y)} \right]^{1/2}$$

dove:

ν = frequenza di vibrazione (cm⁻¹)

c = velocità della luce

f = costante di forza del legame

M_x ed M_y = massa degli atomi x ed y



- Il termine a denominatore $M_x M_y / (M_x + M_y)$ aumenta con l'aumentare della massa dei due atomi X ed Y; in prima approssimazione **la frequenza ν è inversamente proporzionale alle masse degli atomi che vibrano.**
- Passando da C-H a C-C la frequenza diminuisce, così come da H-O a C-O
- Bisogna considerare anche **f , costante di forza del legame.**
- **f** aumenta con l'aumentare della differenza di elettronegatività degli atomi coinvolti nel legame, cioè con l'aumentare del carattere ionico del legame
- F-H ha una frequenza di assorbimento maggiore di C-H, pur essendo il F più pesante del C, in quanto spostandosi da sinistra a destra nelle prime due righe della tavola periodica, la costante di forza f del legame con l'idrogeno aumenta e questo effetto è prevalente!!
- Vedi anche serie C-C, C=C, C≡C



Frequenze di stretching per alcuni tipi di legame:

Tipo di legame	Regione di assorbimento (cm ⁻¹)
C-C, C-O, C-N	1300-800
C=C, C=O, C=N, N=O	1900-1500
alchini, azidi, nitrili	2300-2000
C-H, O-H, N-H	3800-2700



Il legame ad idrogeno

Il legame ad idrogeno modifica la costante di forza f di entrambi i gruppi di atomi.

Le bande dello stretching di X-H e C=O si spostano a frequenze più basse.

E' come se le masse oscillanti aumentassero.



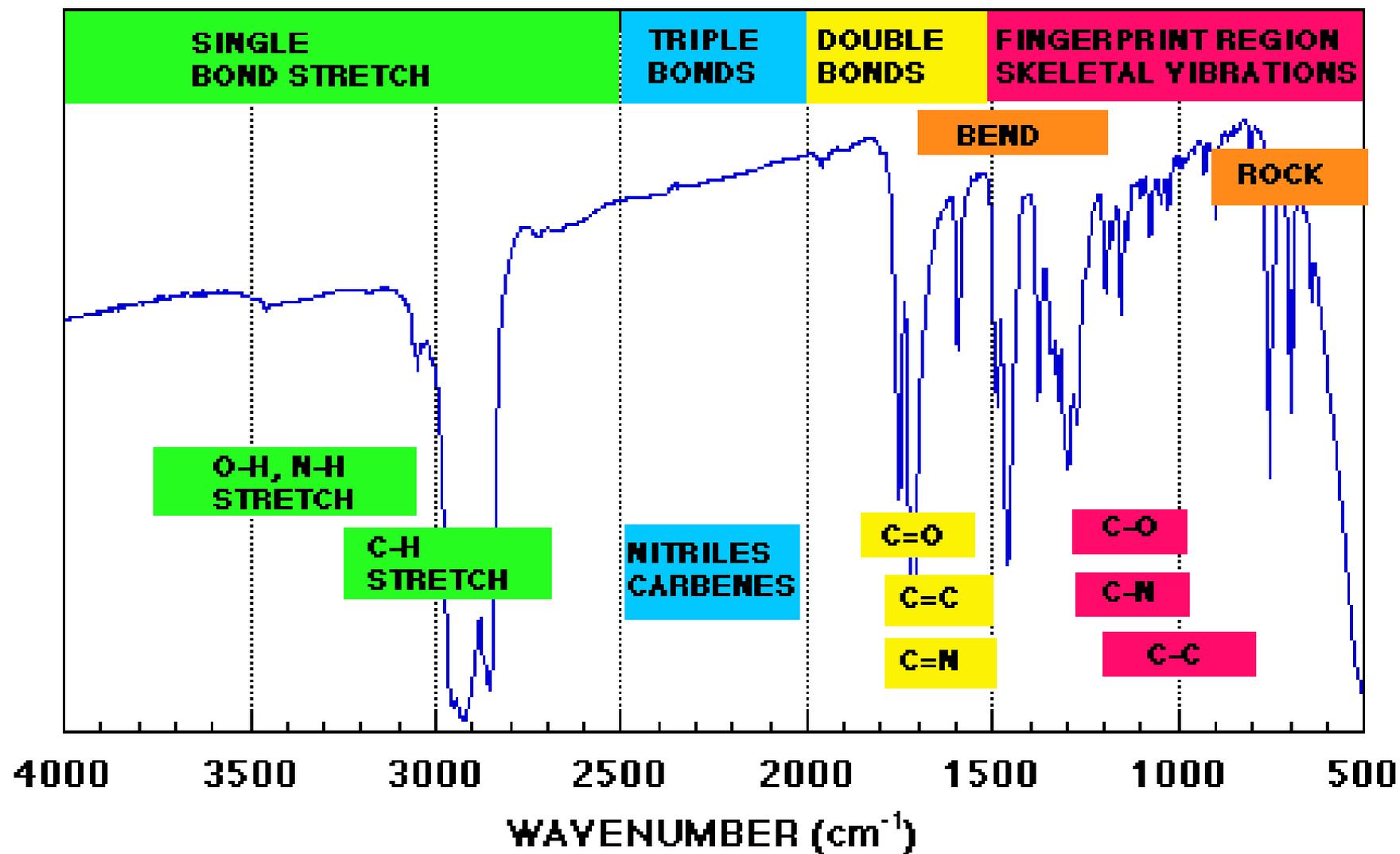
Se il legame è intramolecolare non dipende dalla concentrazione delle molecole, se è intermolecolare scompare con la diluizione.



Leggere uno spettro IR

- Una molecola molto semplice può avere uno spettro IR molto complesso composto da molte bande di assorbimento: l'analista considera lo spettro IR come un' **"impronta digitale"** di un composto.
- E' estremamente improbabile che composti diversi diano spettri uguali.
- Tuttavia **CI SONO DELLE BANDE CARATTERISTICHE CHE DENOTANO LA PRESENZA DI UN CERTO GRUPPO FUNZIONALE**



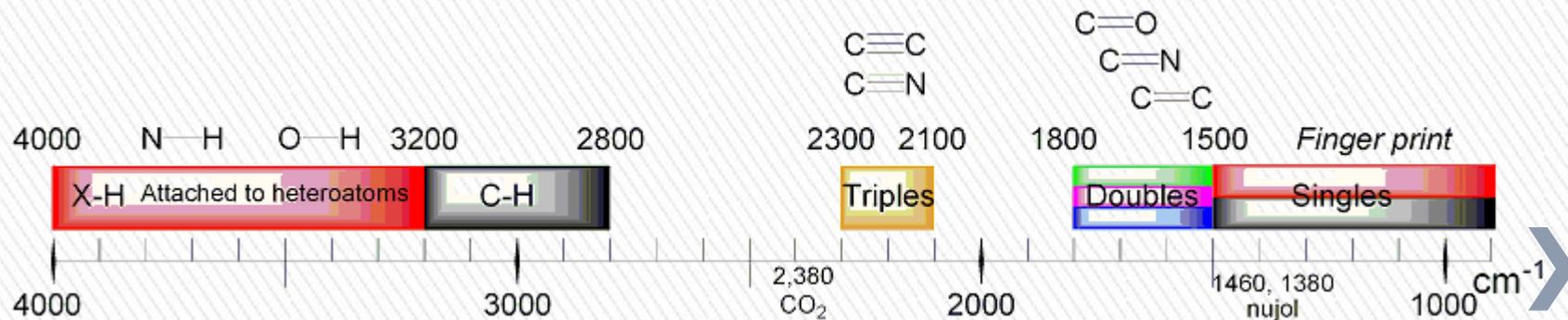
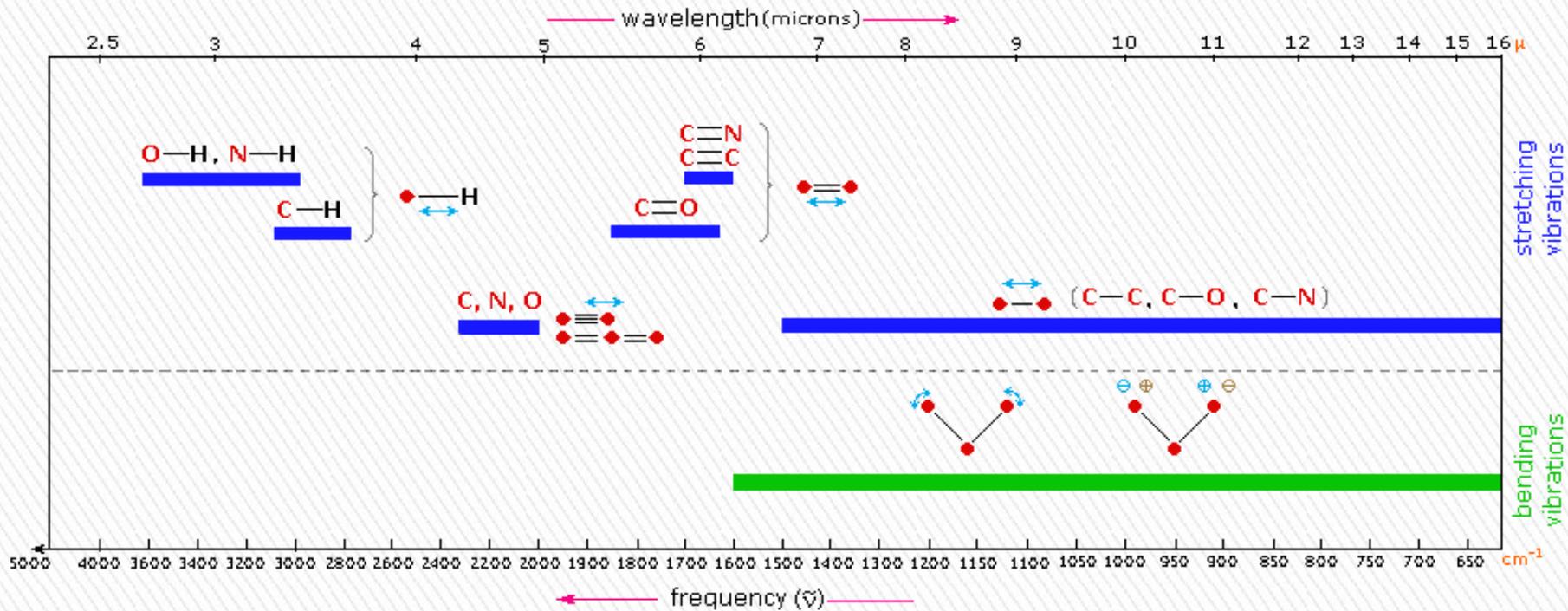


Regole generali:

- Le frequenze di stretching sono in generale più alte delle corrispondenti frequenze di bending
- Atomi legati ad idrogeno hanno frequenze maggiori che se legati ad atomi più pesanti
- Carboni con tripli legami hanno frequenze maggiori di quelli con doppi legami, i quali hanno frequenze maggiori di quelli con legami semplici

$$\nu = \frac{1}{2\pi c} \left[\frac{f}{(M_x M_y)/(M_x + M_y)} \right]^{1/2}$$





Alcoli e fenoli

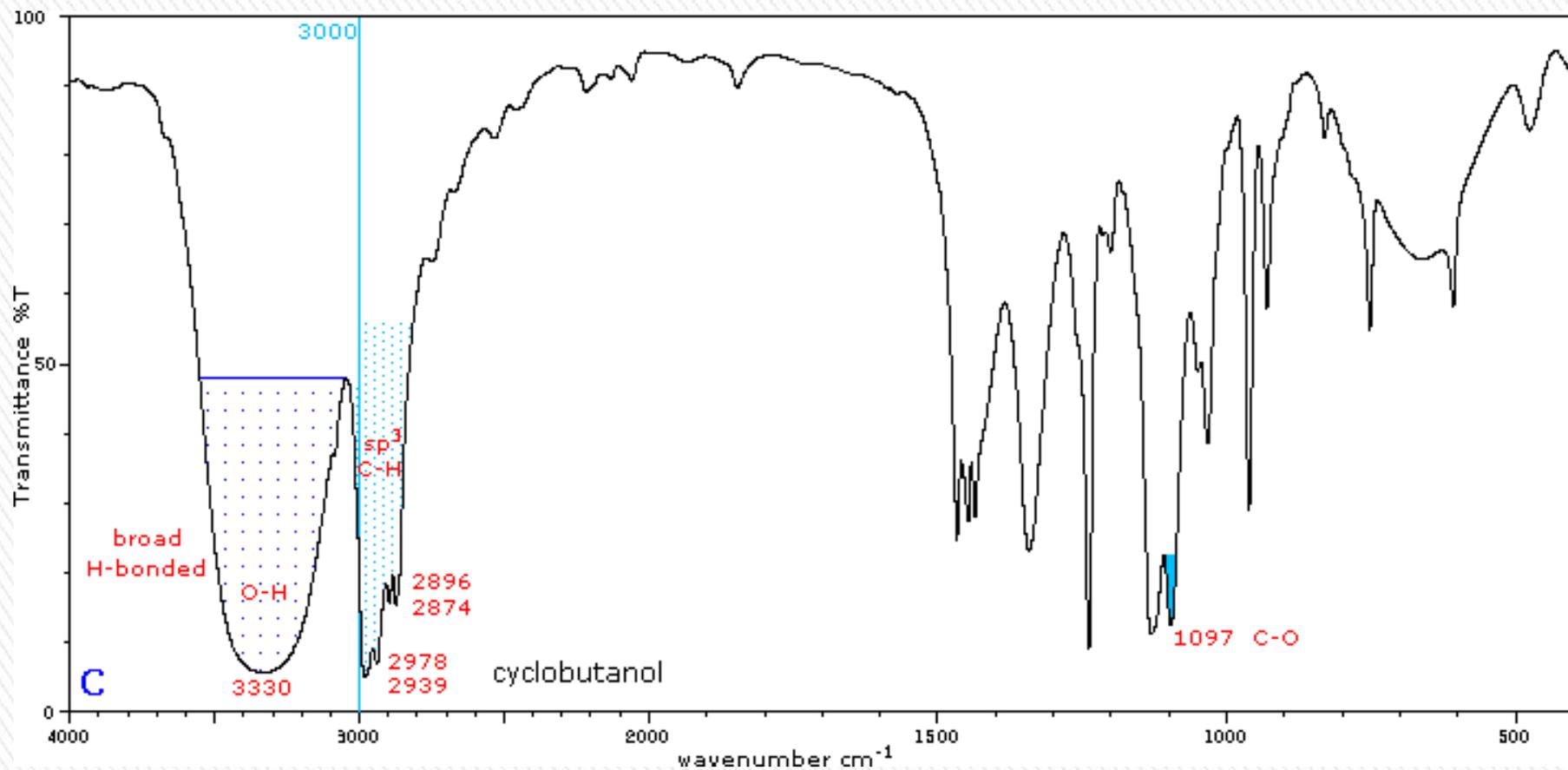
Stretching di O-H e C-O:

- **OH: 3650-3580 cm^{-1}** banda larga
possibilità di spostamento a frequenze + basse per formazione di legame ad idrogeno in soluzioni concentrate (fino a 3200 cm^{-1})
- **C-O: 1260-1000 cm^{-1}**

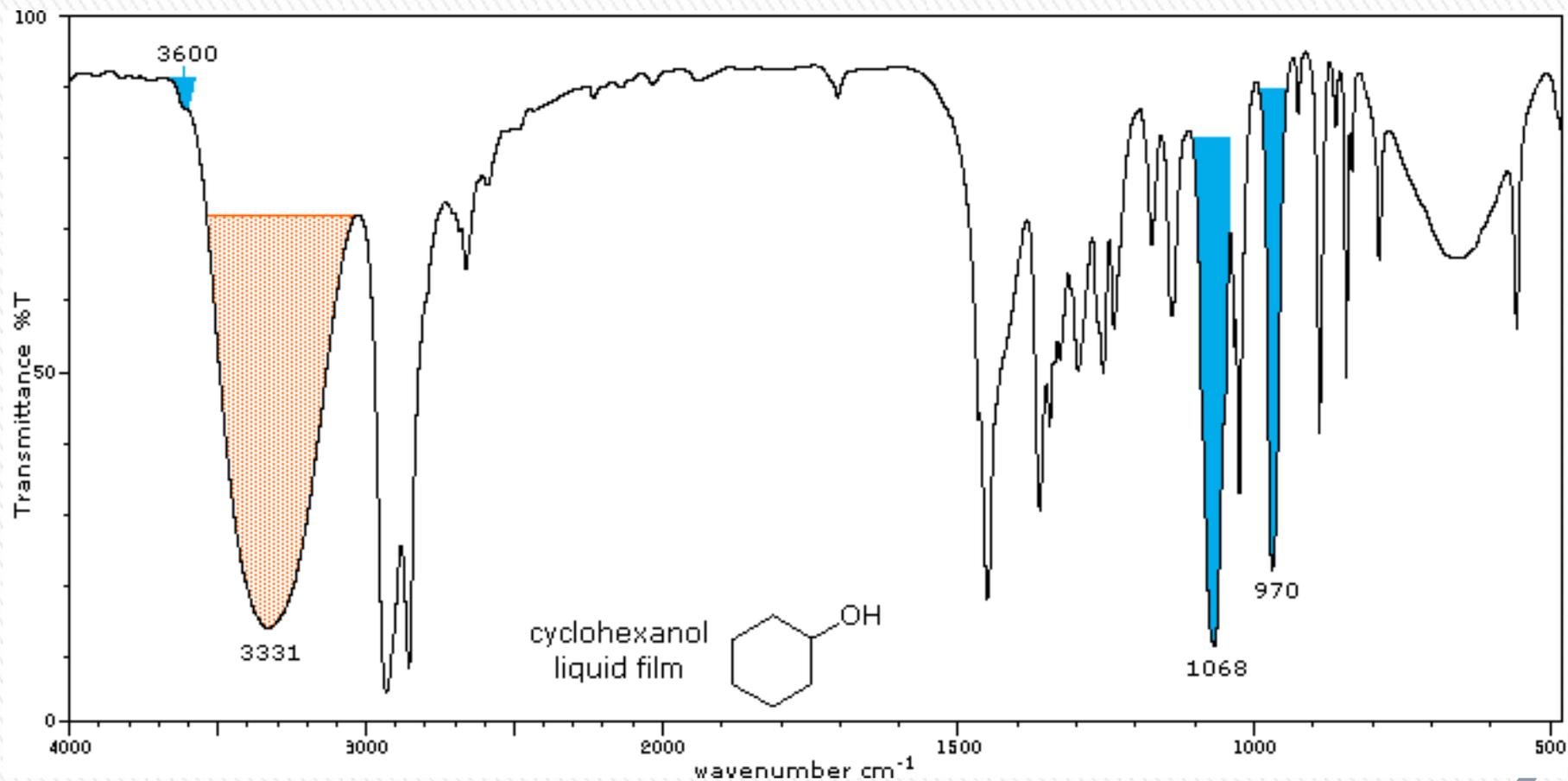
Bending O-H: 1300-1200 cm^{-1}



Ciclobutanolo



Cicloesanololo



Aldeidi e chetoni

- **Aldeidi**: stretching di **C=O** a **1740-1720 cm⁻¹**

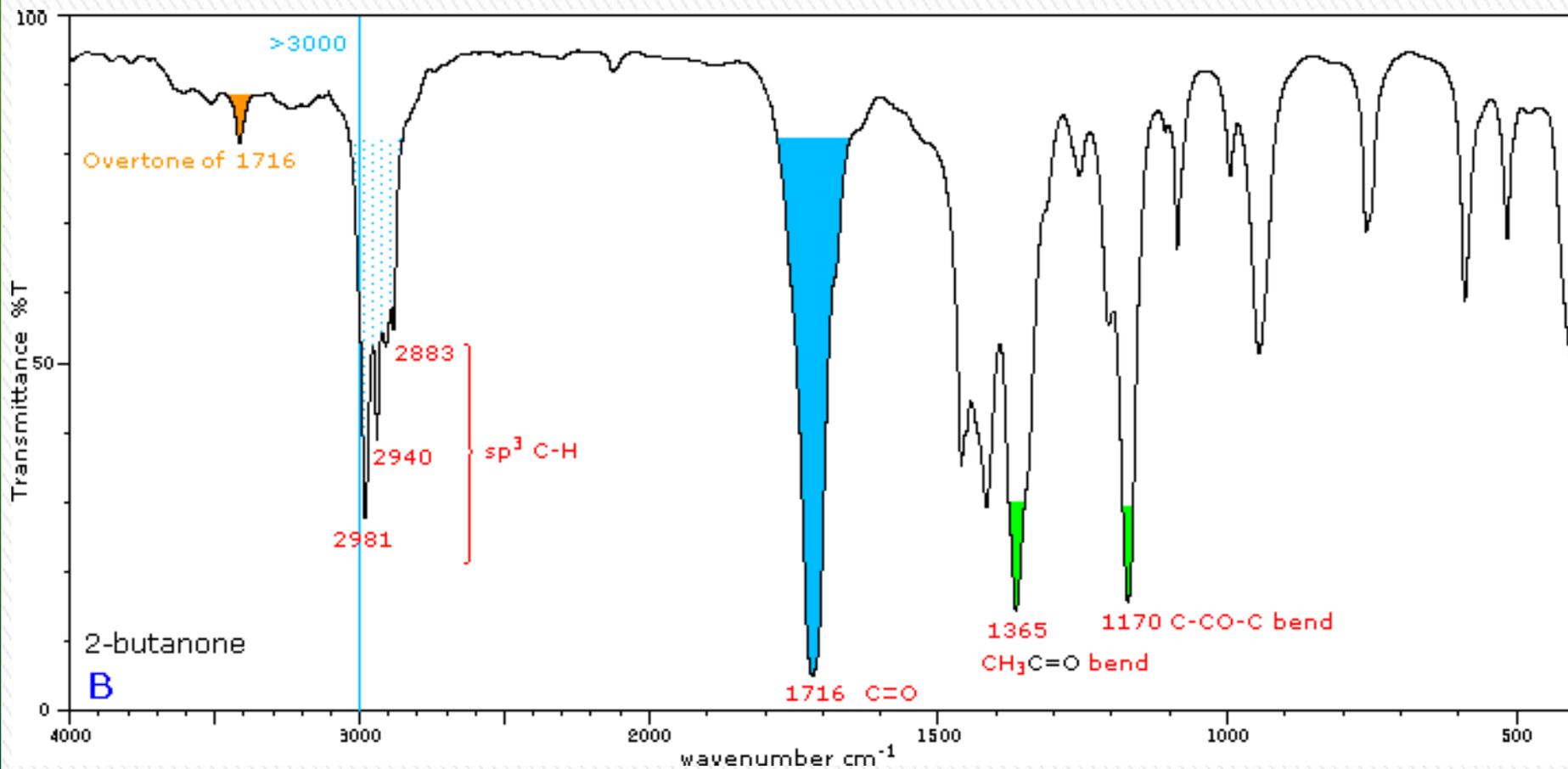
Stretching del **C-H aldeidico**: due bandine a **2850-2750 cm⁻¹** a destra della regione dei C-H alifatici

- **Chetoni**: stretching di **C=O** a **1725-1705 cm⁻¹**

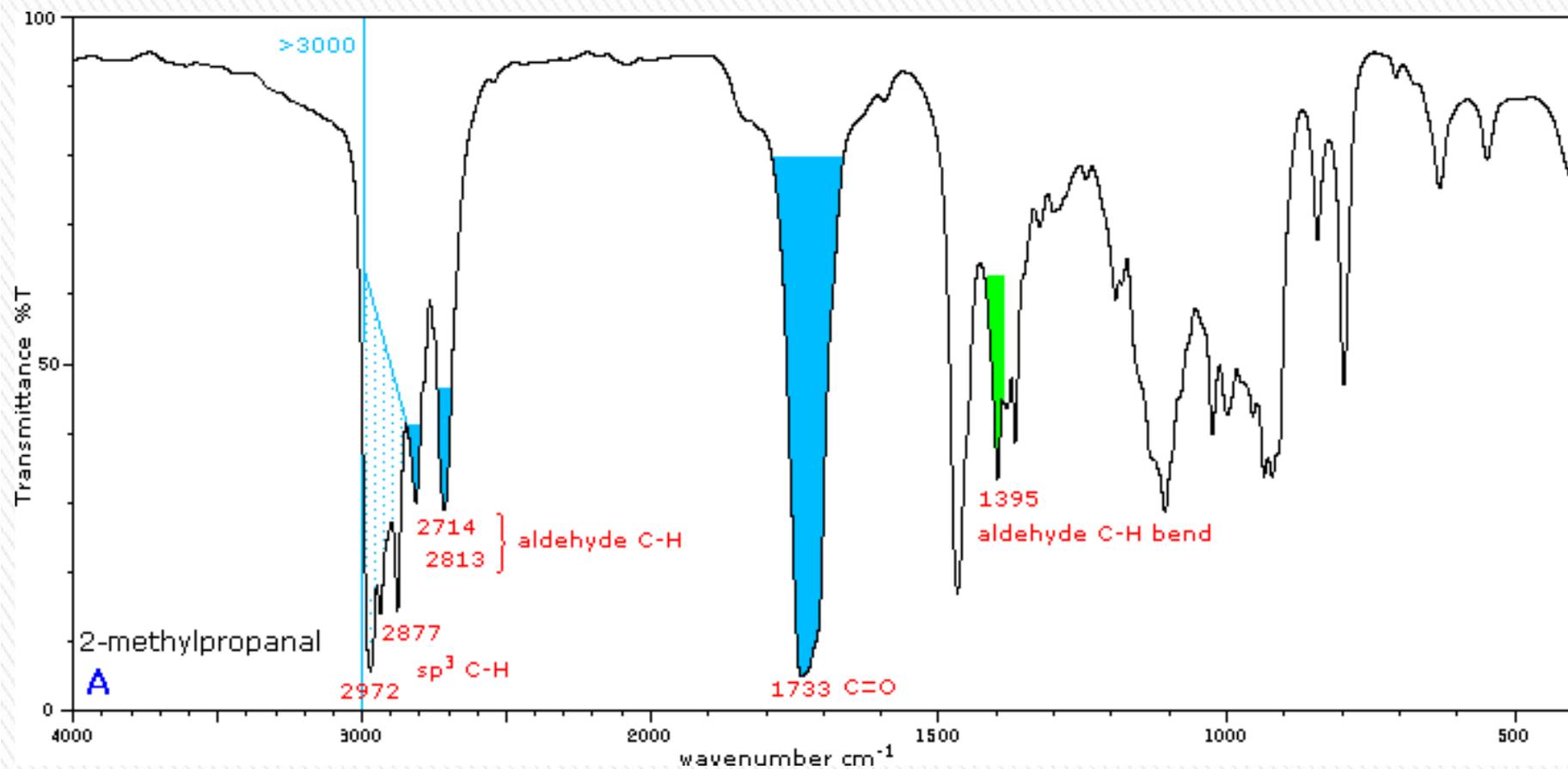
Assenza bandine C-H aldeidico



2-butanone



2-metilpropanale



Ammine

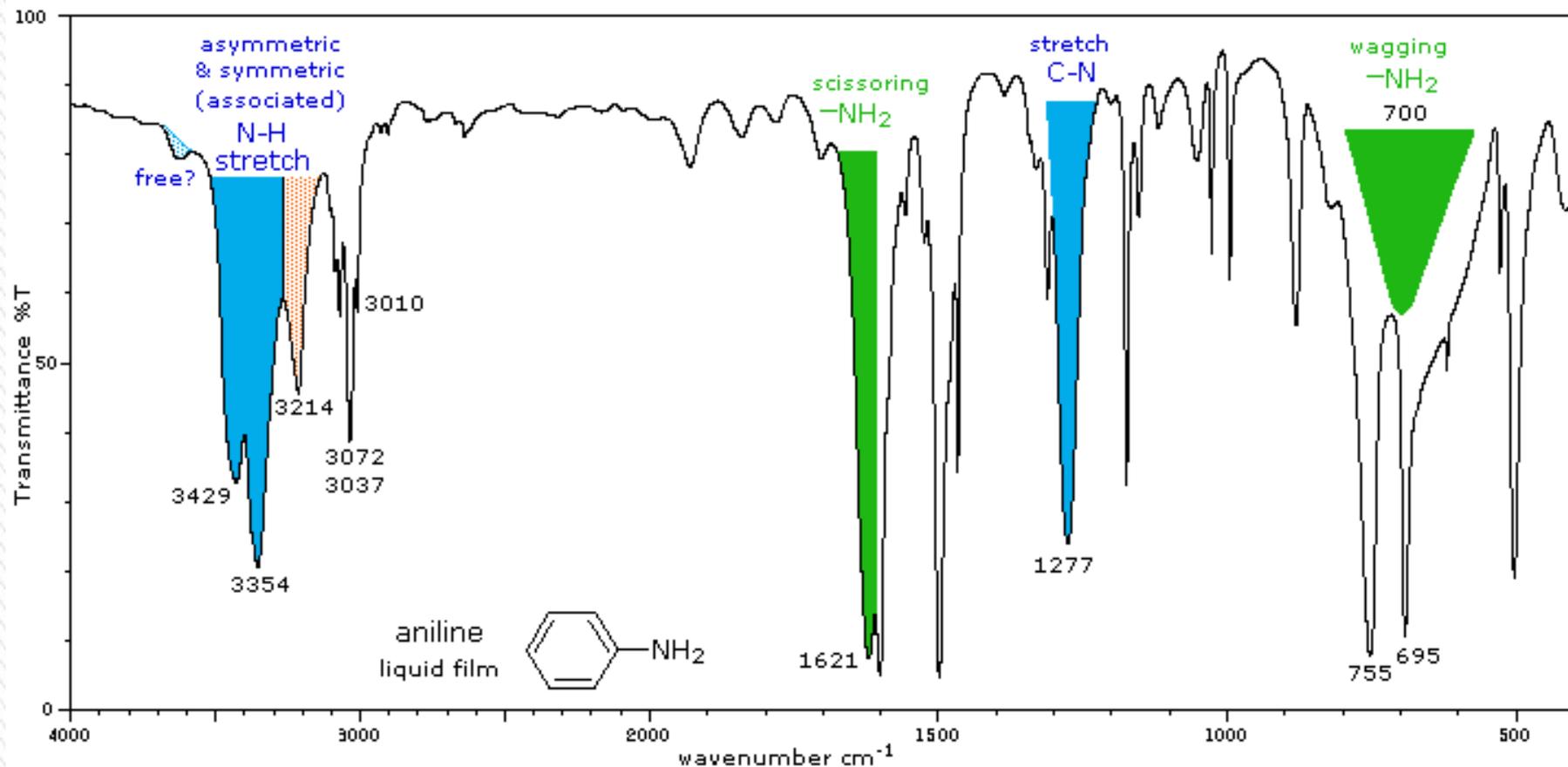
Stretching di NH e CN:

- **N-H: 3400-3500 cm^{-1}** : 2 bande per le primarie, 1 banda a 3420 cm^{-1} per le secondarie, nessuna per le terziarie
- **C-N: 1200-1350 cm^{-1}**

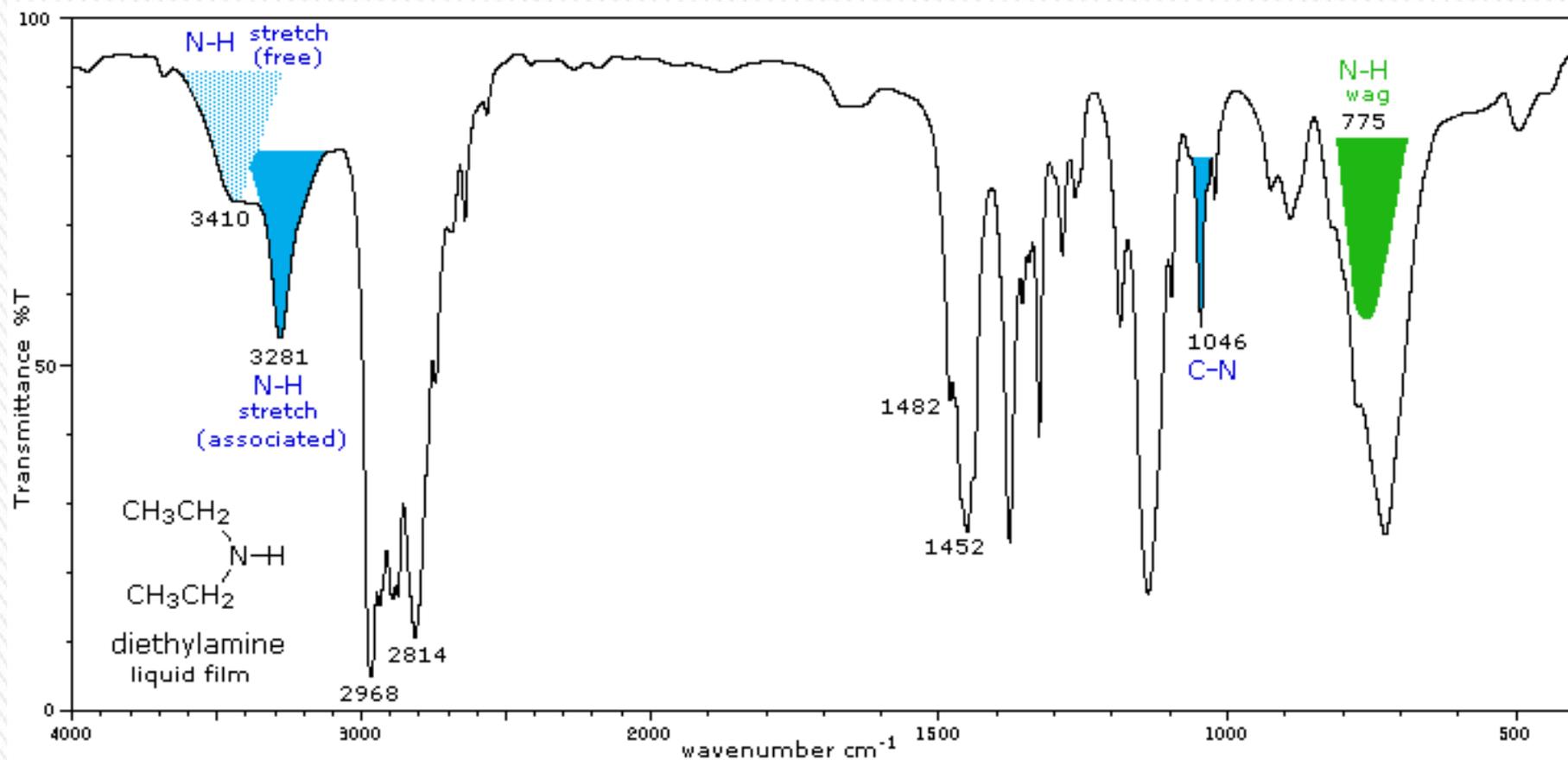
Primarie: forte bending a 1550-1650 cm^{-1} e wagging 650-900 cm^{-1}



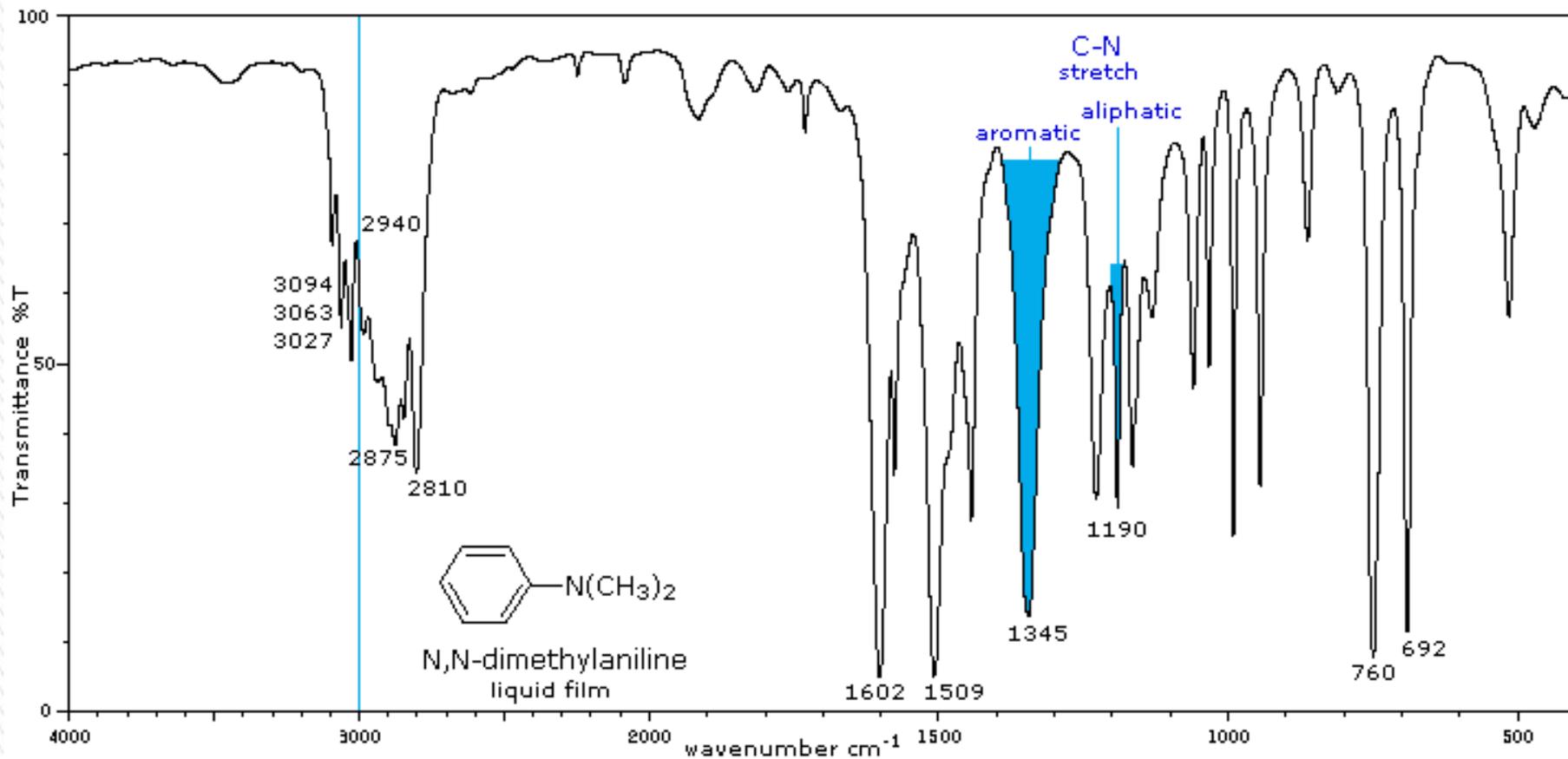
Fenilammina



Dietilammina



N,N-dimetilanilina



Acidi carbossilici e loro derivati

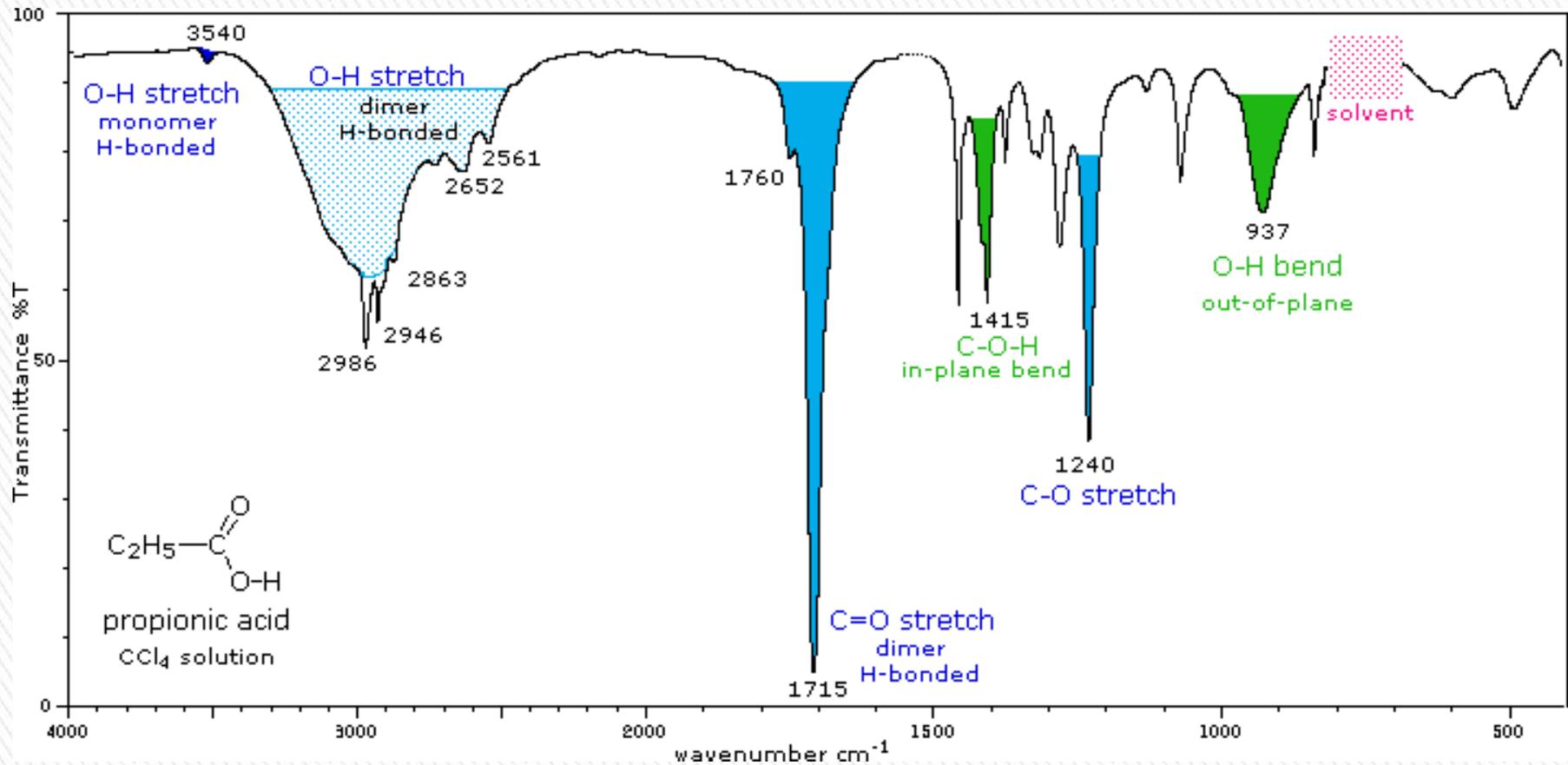
Stretching O-H e C=O::

- O-H: 2500-3300 cm^{-1}
- C=O: 1710 cm^{-1}

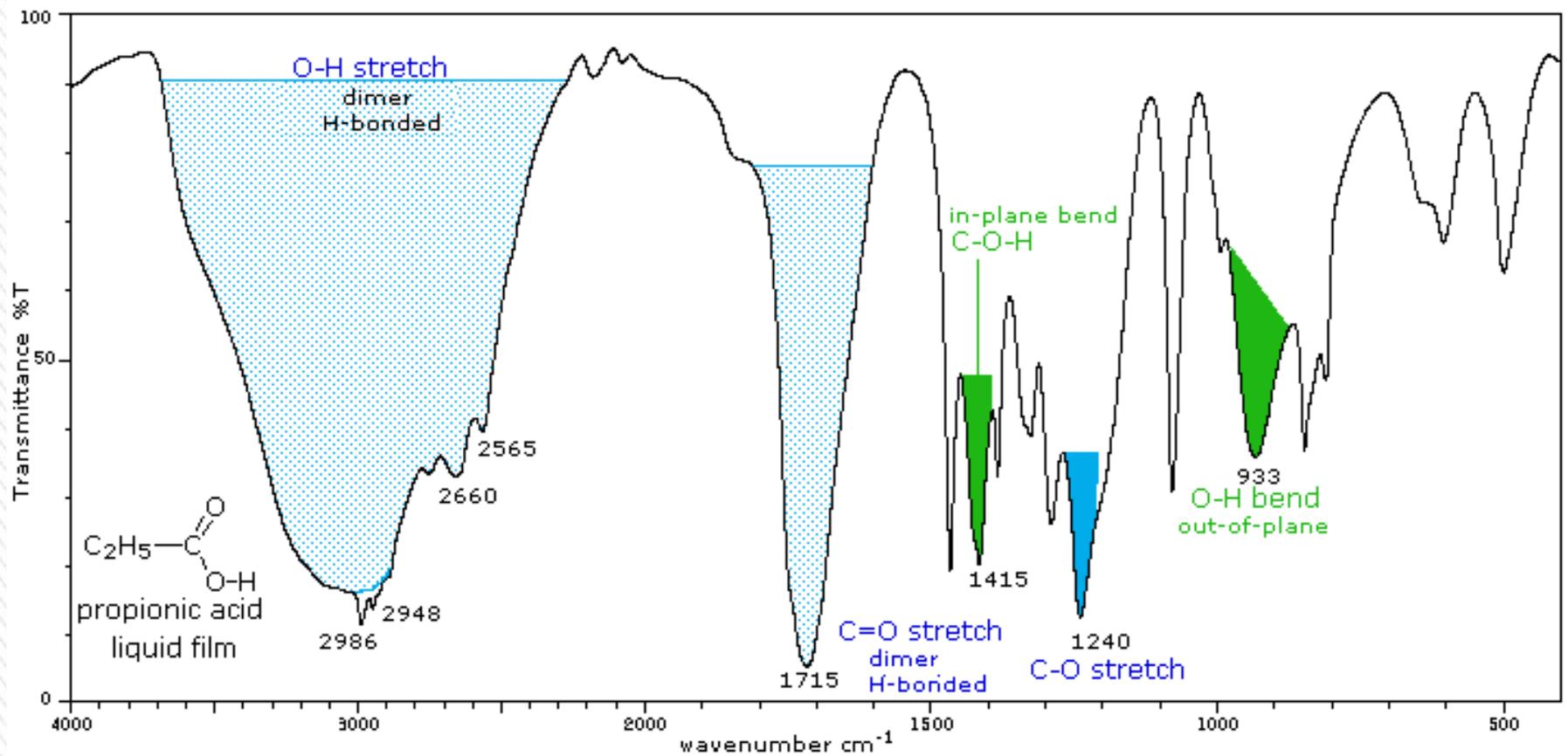
Effetto del legame ad idrogeno su O-H e C=O, shift a frequenze minori passando dalla soluzione alla fase gassosa (niente legami H)



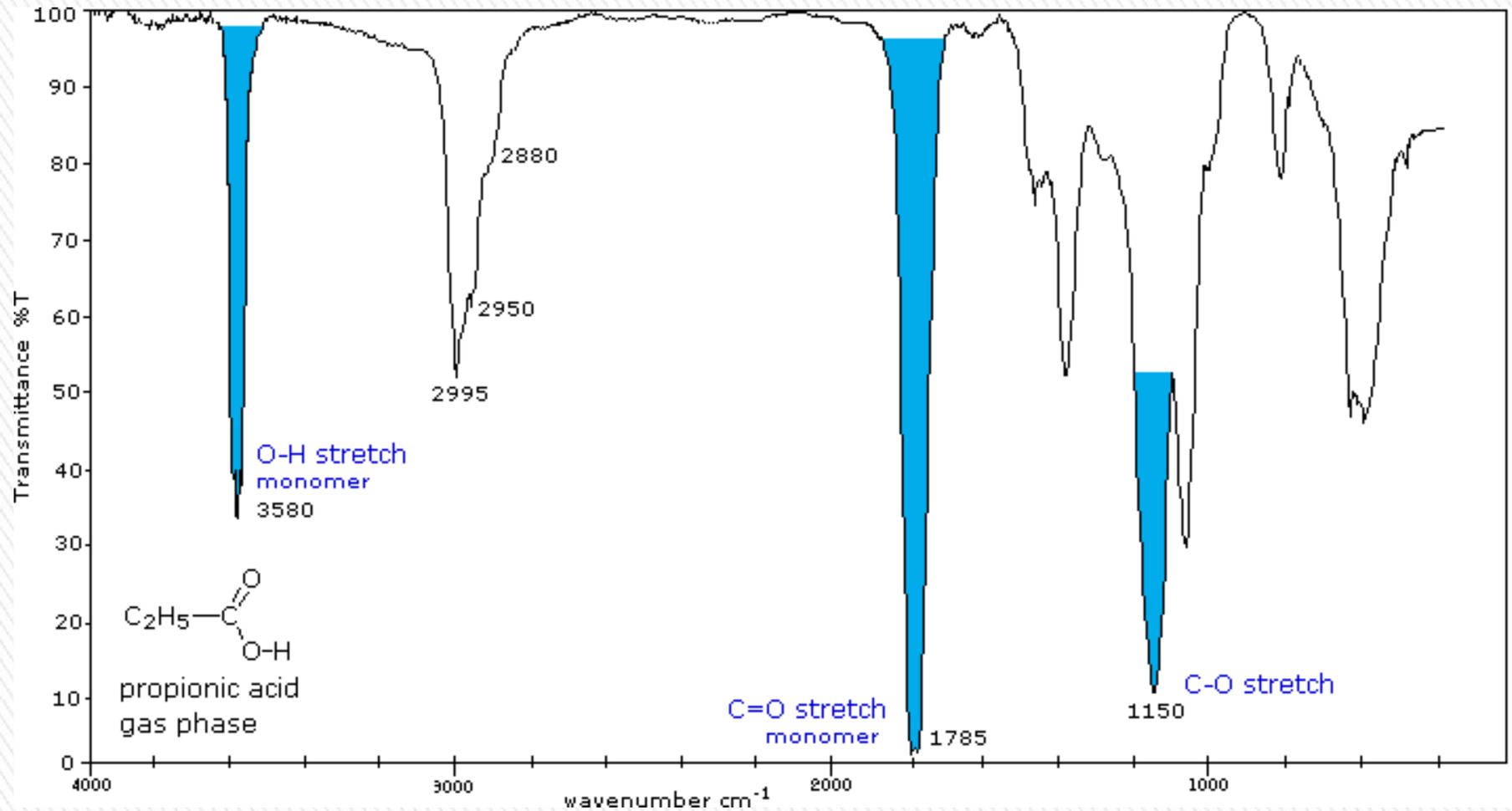
Acido propionico dimero



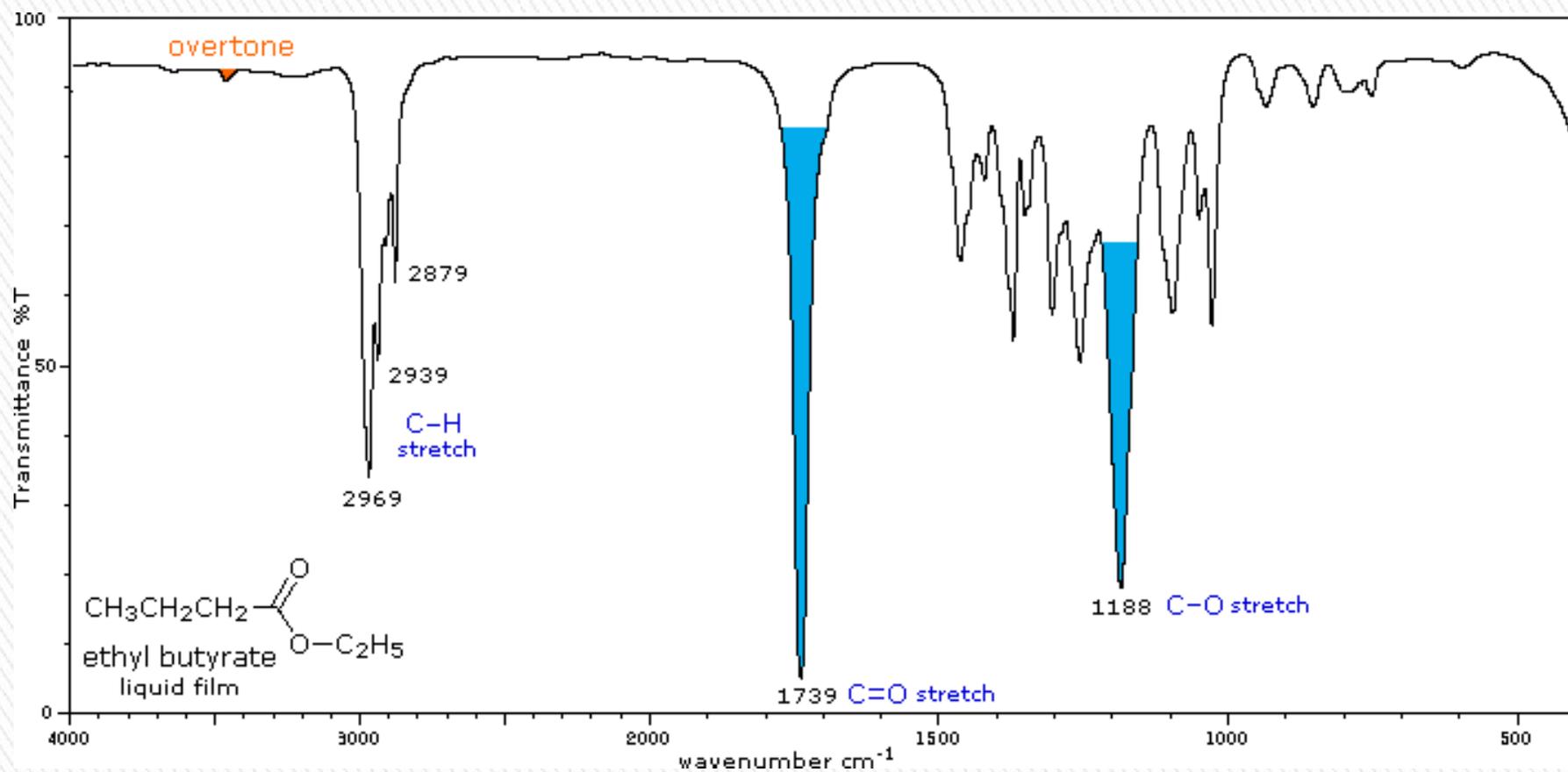
Acido propionico dimero



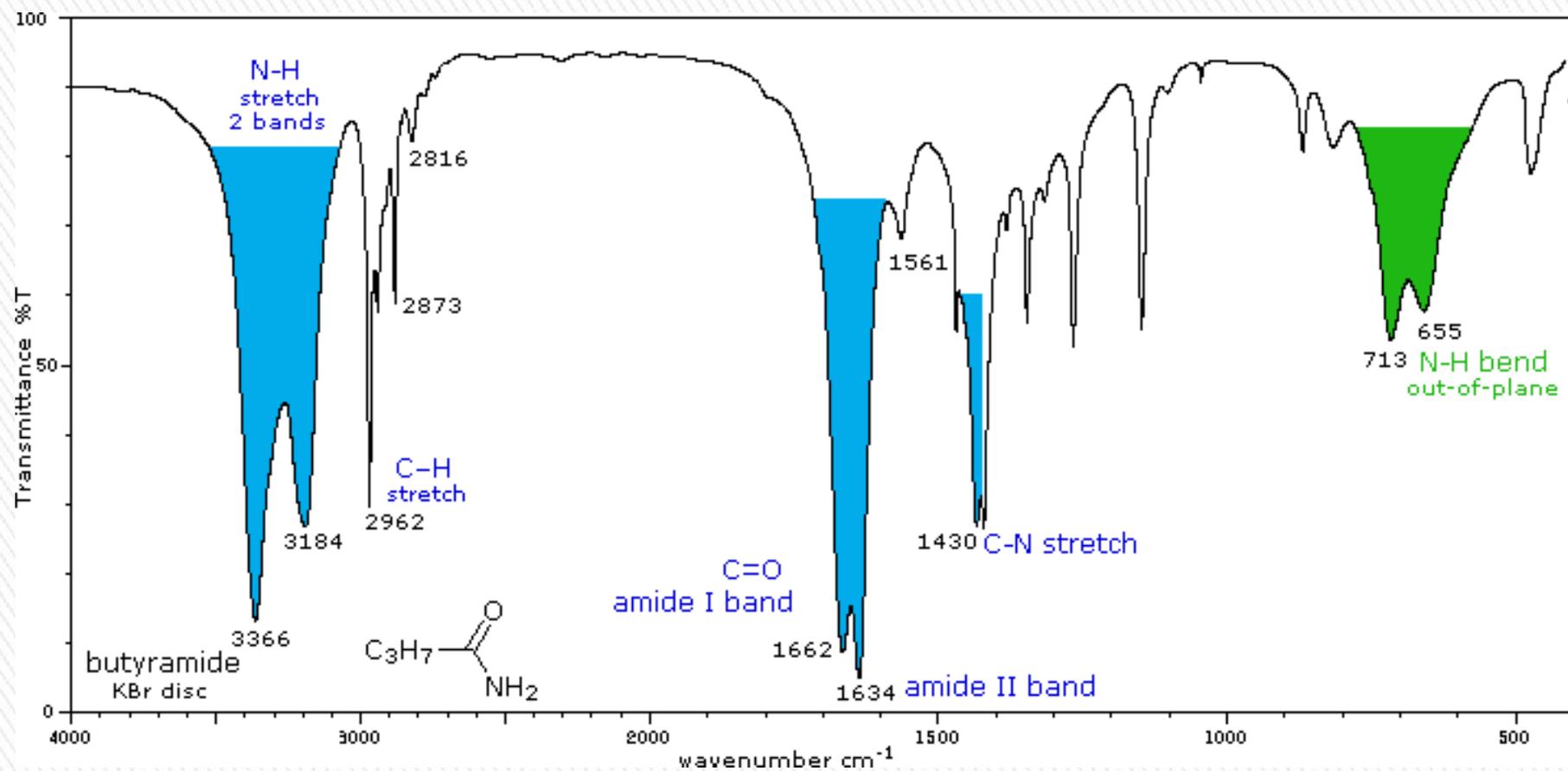
Acido propionico monomero



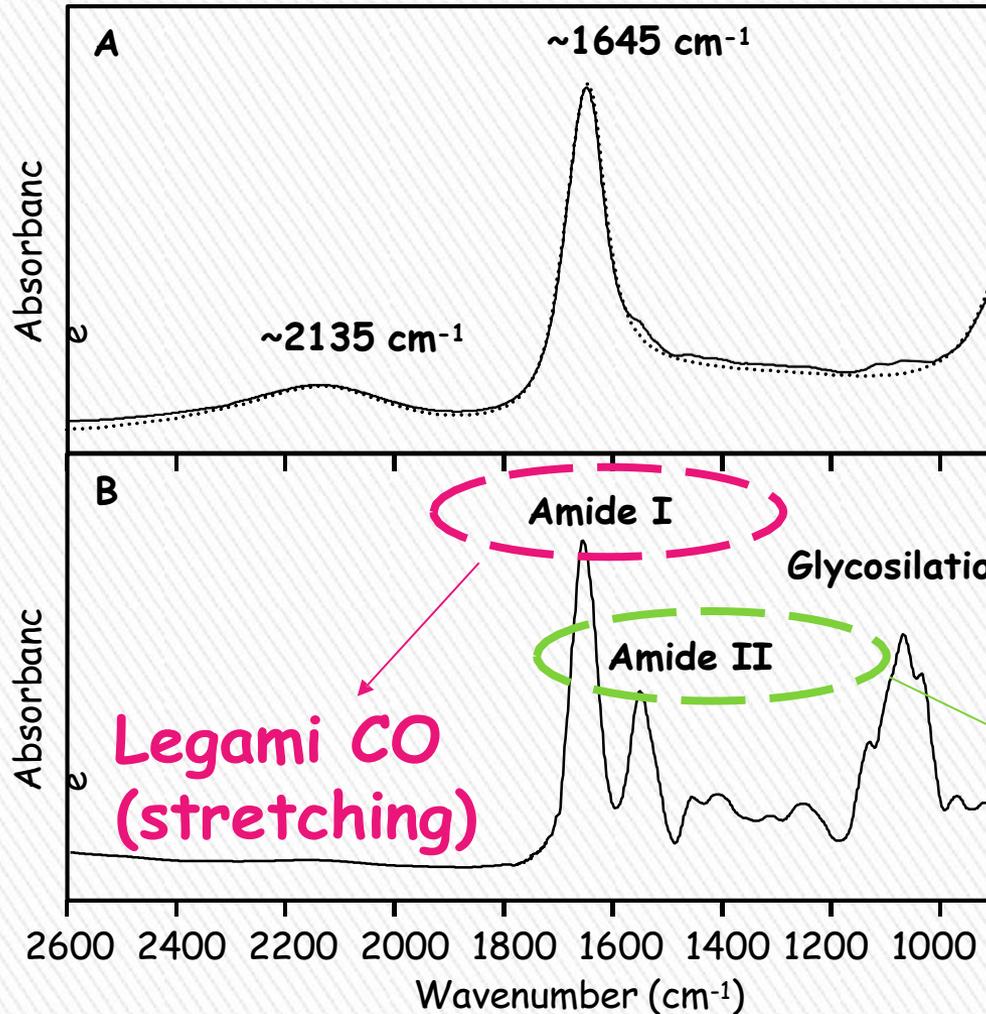
Etil butirrato



Butirrammide



IR di proteine



A) Spettro IR della proteina CRL1 in acqua (linea continua) e spettro di acqua pura (linea punteggiata)

B) Differenza

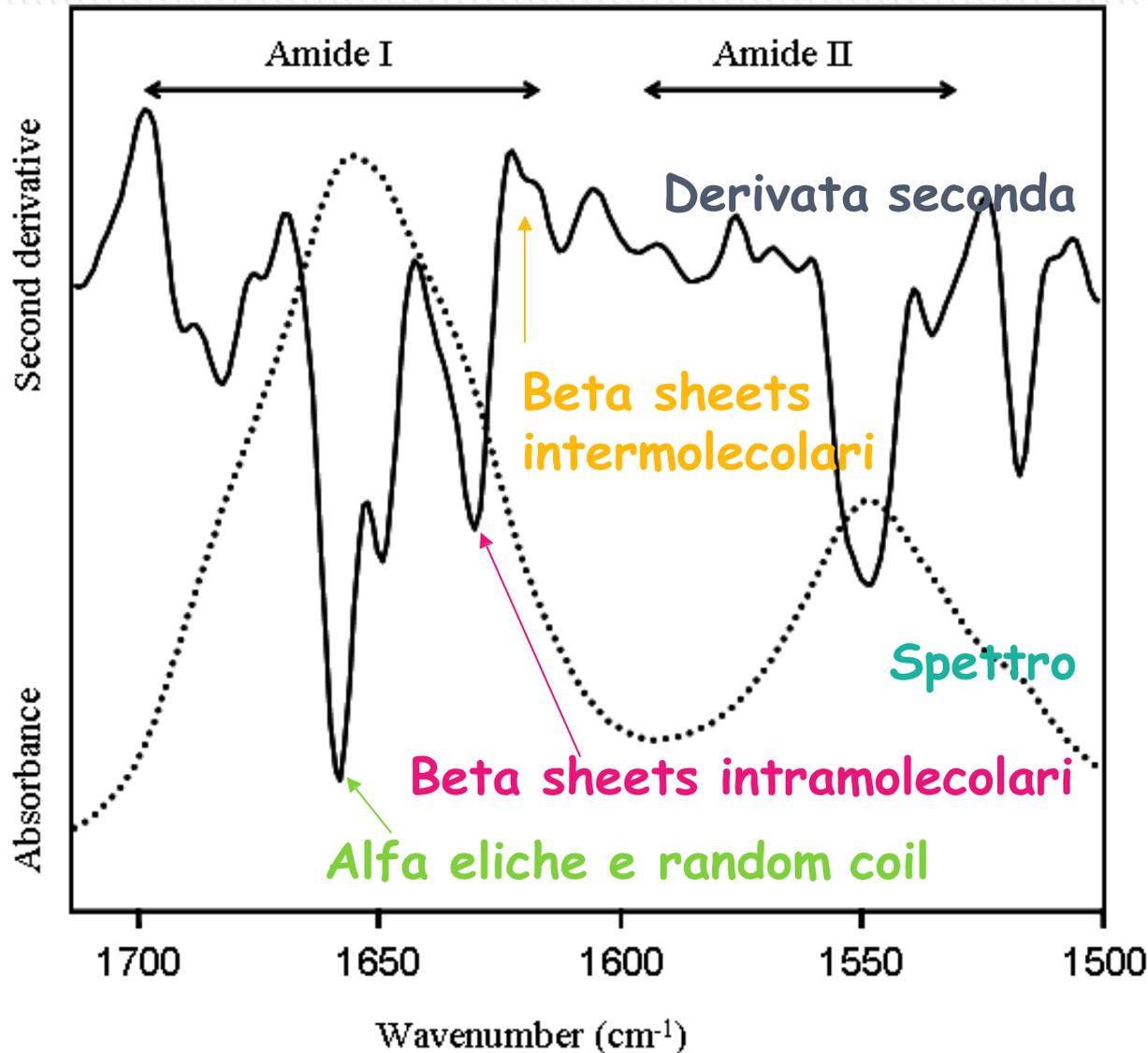
A. Natalello *et al.*
Biochem J. 2005,
385, 511-517

Legami NH (bending)

I legami CO e NH del backbone sono coinvolti nella struttura secondaria e la loro frequenza di vibrazione dipende dalla struttura secondaria

Numero d'onda decrescente
Lunghezza d'onda crescente

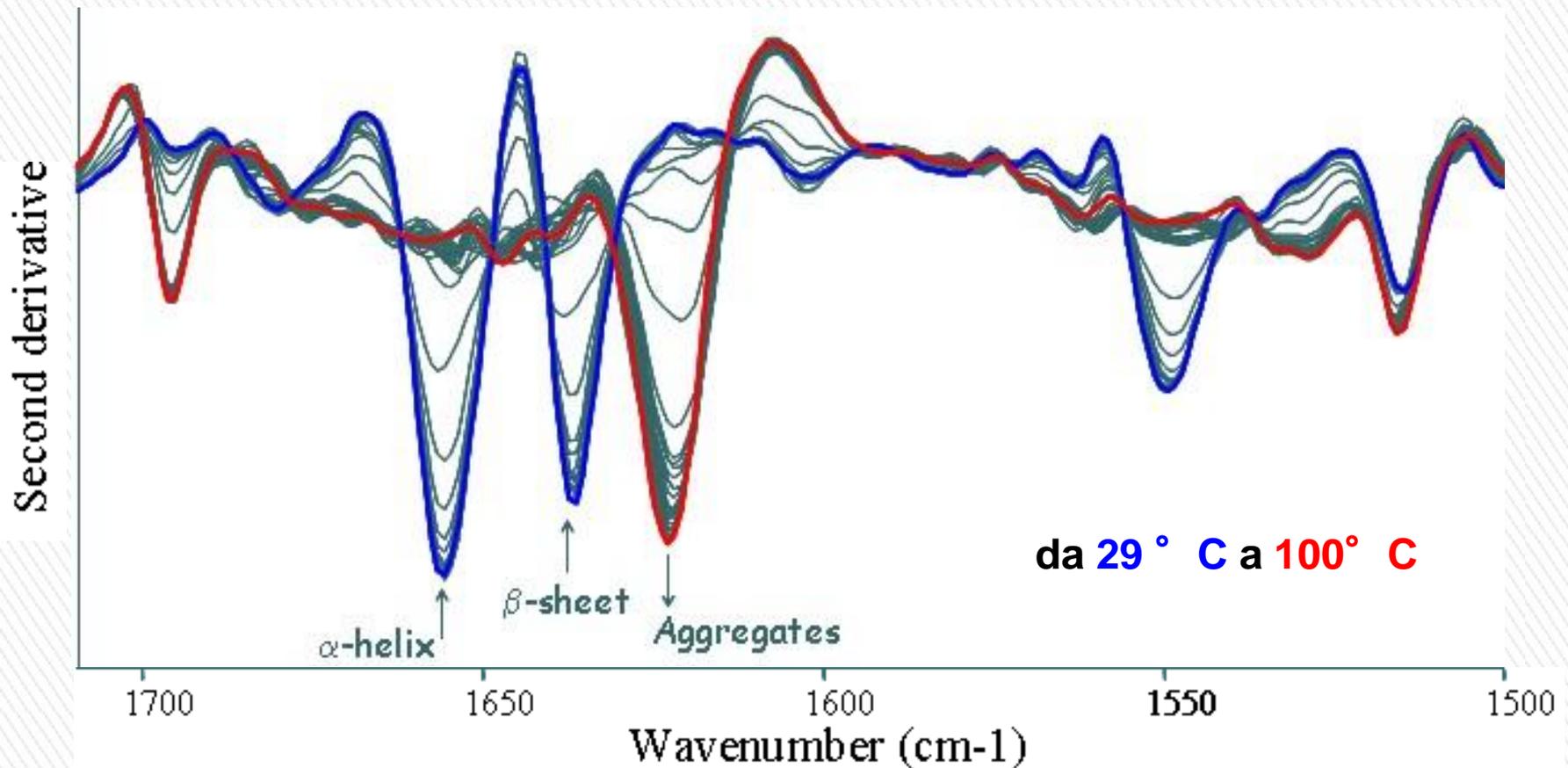
Derivata seconda (più informativa)



Nella regione dell'Amide I si distinguono contributi dei diversi tipi di struttura secondaria (alfa e beta) e degli aggregati (beta intermolecolari)

Elica e random coil hanno contributi sovrapposti. Per distinguerli bisogna fare misure in D₂O

Denaturazione termica della proteina Wrba



Si perde struttura secondaria e si accumulano aggregati