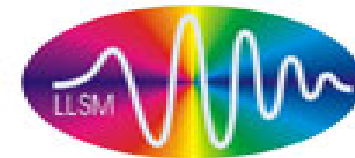


Przegląd liniowych metod spektroskopii wibracyjnej

SPEKTROSKOPIA CHEMIA st 2



MIĘDZYRESORTOWY INSTYTUT TECHNIKI RADIACYJNEJ
WYDZIAŁ CHEMICZNY POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ



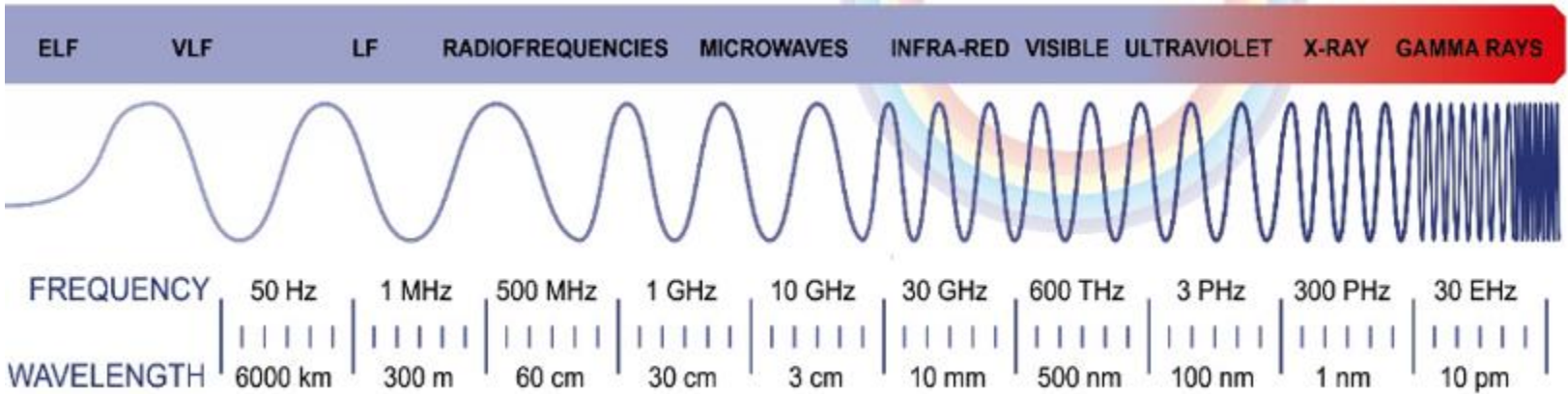
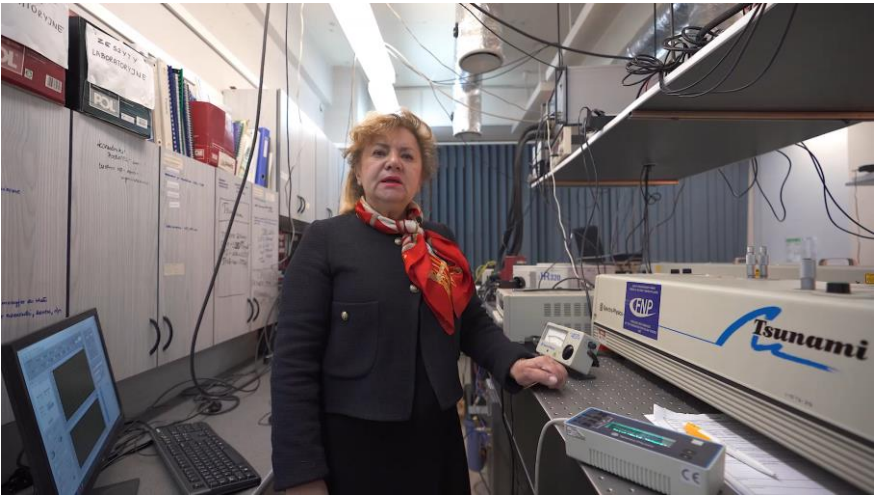
Prof. dr hab. Halina Abramczyk
<http://www.mitr.p.lodz.pl/raman/>

**Politechnika Łódzka, Wydział Chemiczny,
Laboratorium Laserowej Spektroskopii Molekularnej,
Łódź**



MIĘDZYRESORTOWY INSTYTUT TECHNIKI RADIACYJNEJ
WYDZIAŁ CHEMICZNY POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ

Exa Laboratory Laserowej Spektroskopii Molekularnej - PEM z zakresu MHz to EHz

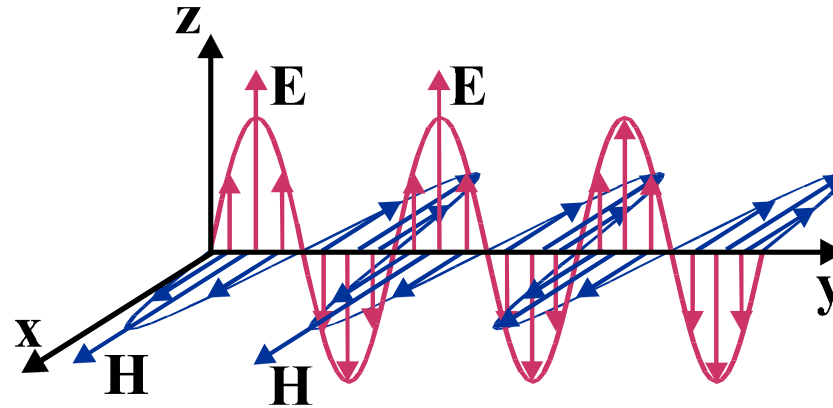


Exahertz = 10^{18}
HZ

Promieniowanie elektromagnetyczne jest zaburzeniem pola elektromagnetycznego . Pole elektromagnetyczne jest układem dwóch pól: pola elektrycznego $\mathbf{E}$ i pola magnetycznego $\mathbf{H}$. Pola te są związane a wzajemną relację pól opisują [równania Maxwella](#)

POMOC- WYKŁAD 1-
[kliknij tutaj](#)

Szczególnym przypadkiem pola elektromagnetycznego jest fala płaska rozchodząca się w próżni. Fala płaska jest falą poprzeczną , w której drgania wektora pola elektrycznego $\mathbf{E}$ i magnetycznego $\mathbf{H}$ są wzajemnie prostopadłe i prostopadłe do kierunku propagacji $\mathbf{k}$

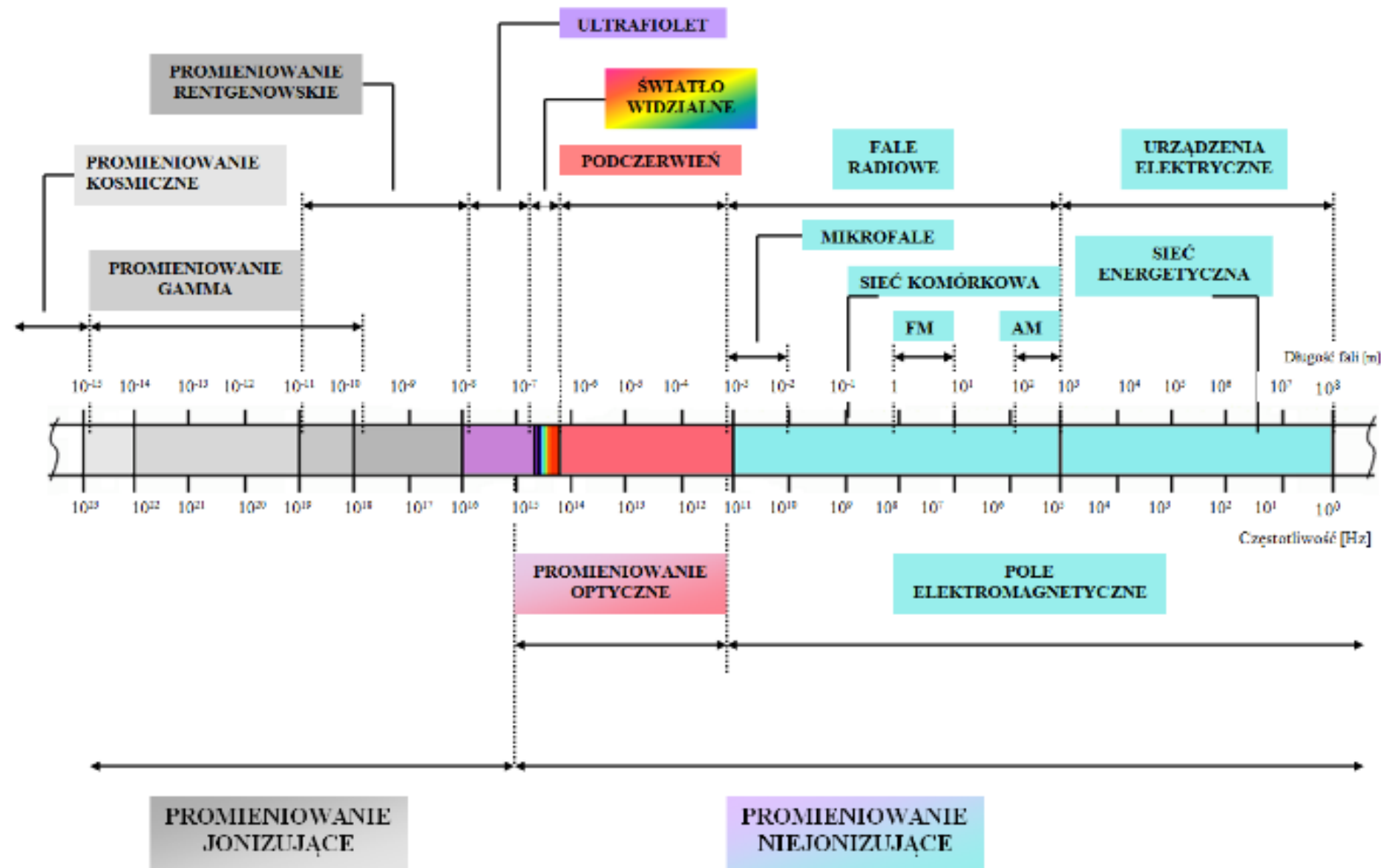


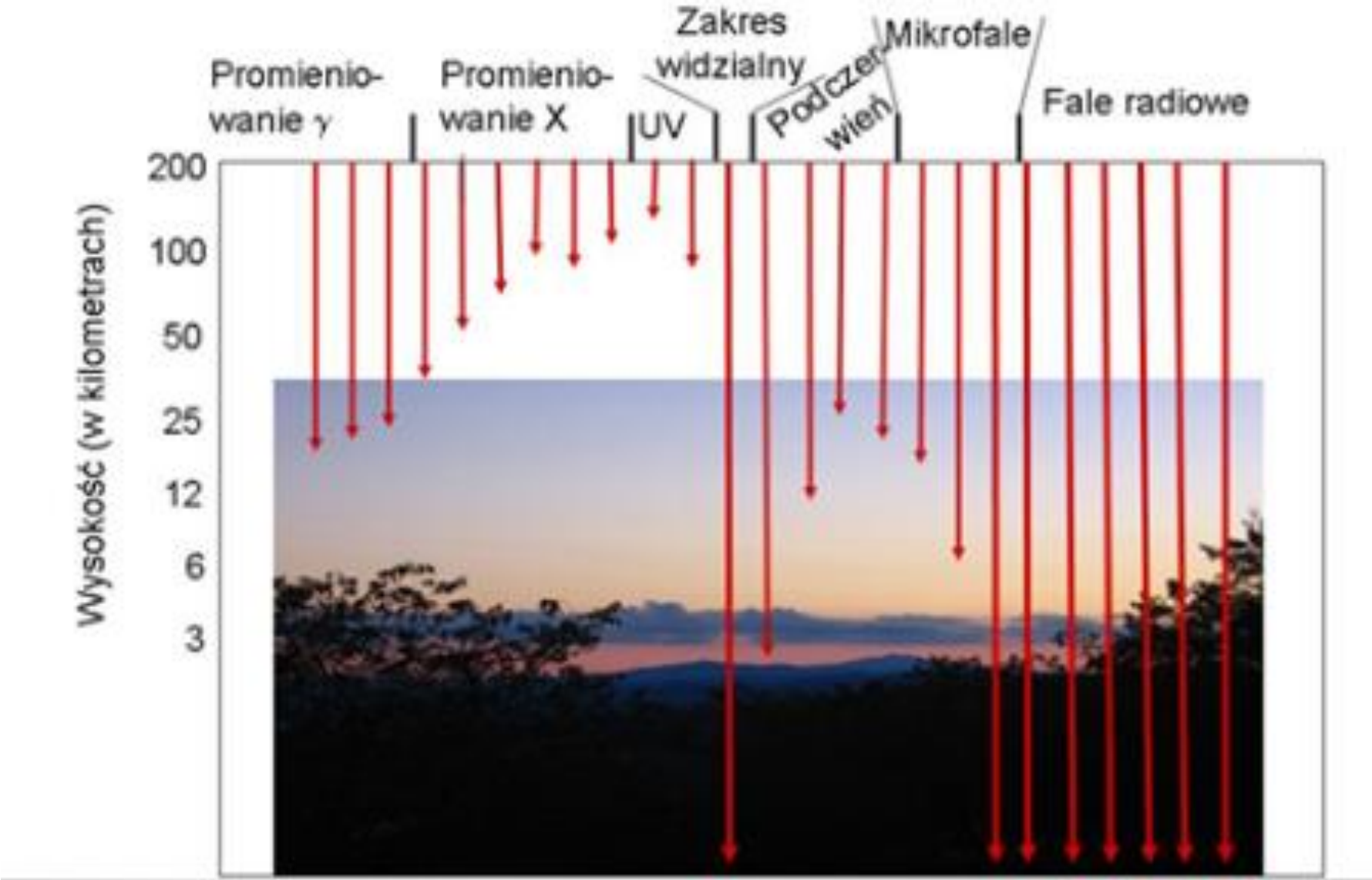
$$\mathbf{E} = E_0 \sin(\omega t - kx)$$

Wektor falowy $\mathbf{k}$ $\mathbf{k} = \frac{2\pi}{\lambda}$ $\omega = 2\pi\nu$ $T = \frac{1}{\nu}$ Okres drgań T

$$E = (m^2 c^4 + p^2 c^2)^{1/2}, \quad \text{dla fotonu } m = 0 \Rightarrow$$

$$\frac{E}{c} = p \Rightarrow p = \hbar k$$

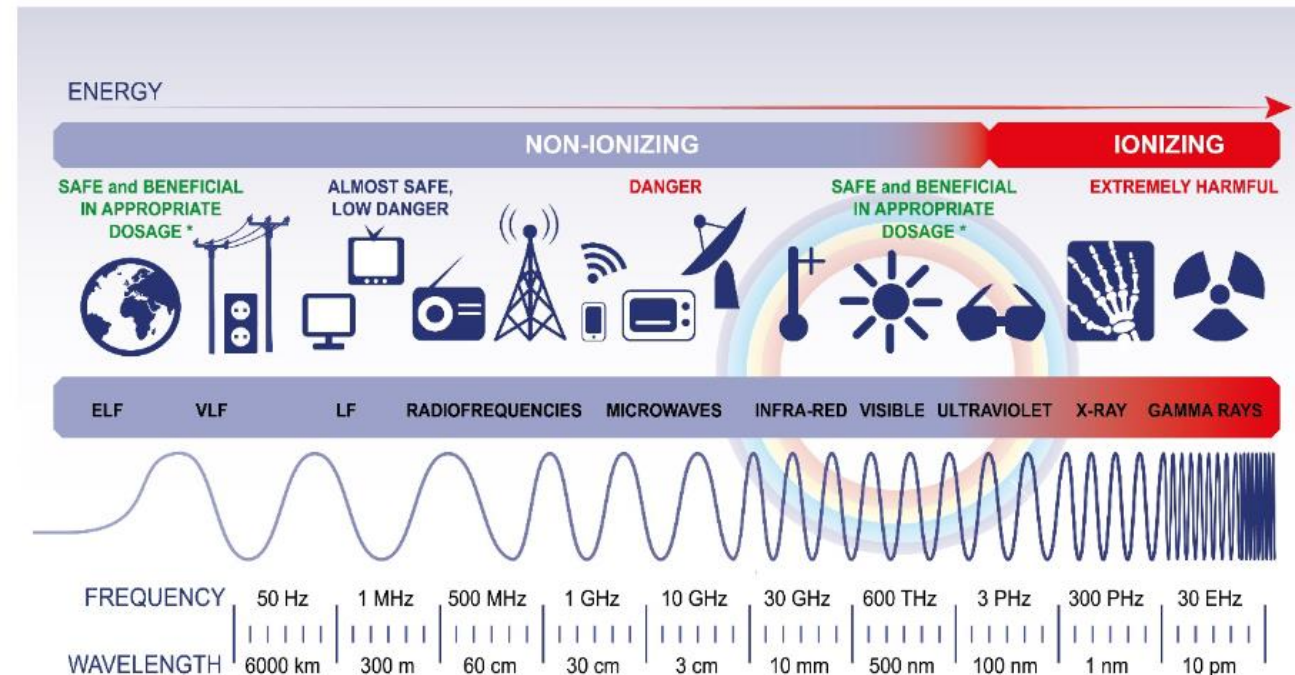




Difference between 5G and current technology

Employing millimetre waves and higher frequencies than previous technologies, 5G needs a much more extensive network of antennas and other transmitting devices. Electromagnetic fields (EMF) are invisible areas of energy,⁷ measured in hertz (Hz). Longer wavelengths with lower frequency are less powerful in terms of energy, while shorter wavelengths at higher frequencies are more powerful. Depending on the frequency, there are two categories of EMF: ionising and non-ionising radiation (see Figure 1).

Figure 1 – Electromagnetic spectrum



Source: Polina Kudelkina / Shutterstock.com.

Ionising radiation (mid to high-frequency) includes ultraviolet rays, x-rays and gamma rays. The

Electromagnetic-radiation absorption of water

Absorpcję wody można określić ilościowo za pomocą widm strat dielektrycznych, które ujawniają ogromny pik przy częstotliwości wzbudzającego pola elektrycznego około 20 GHz

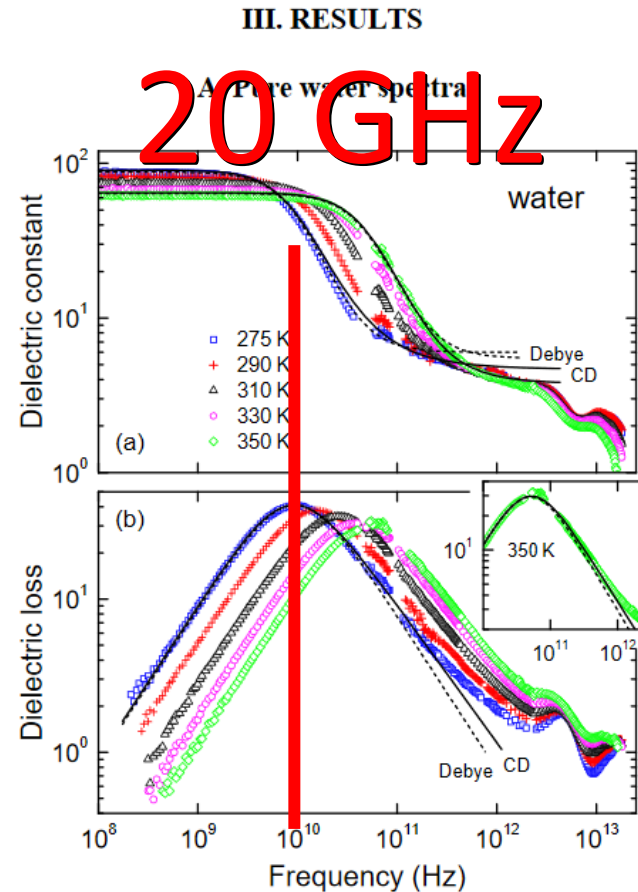
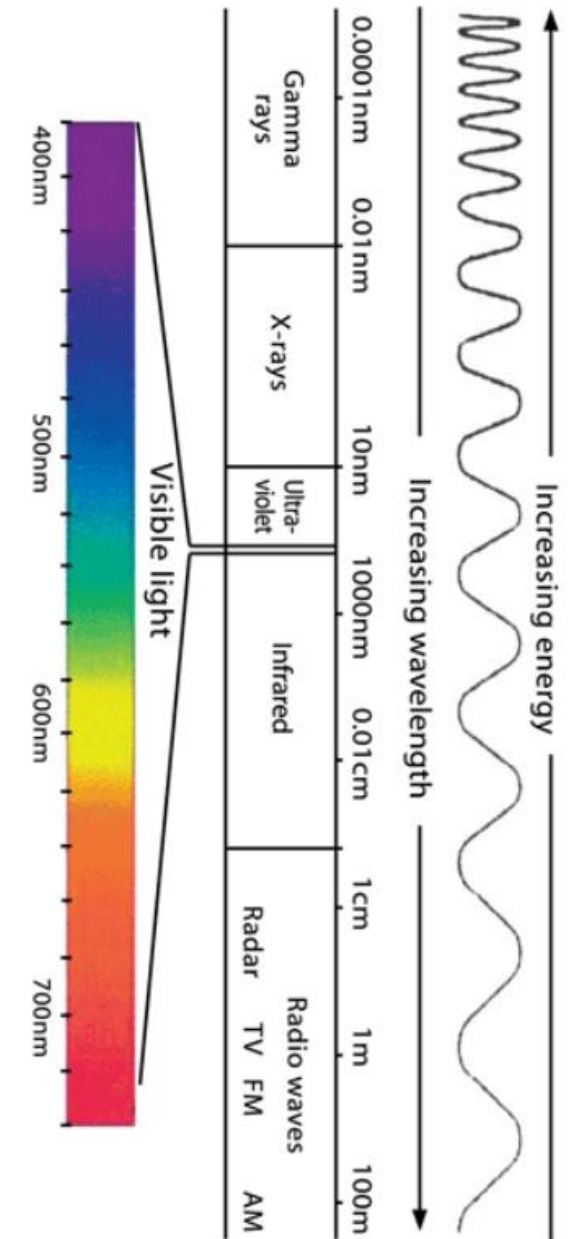
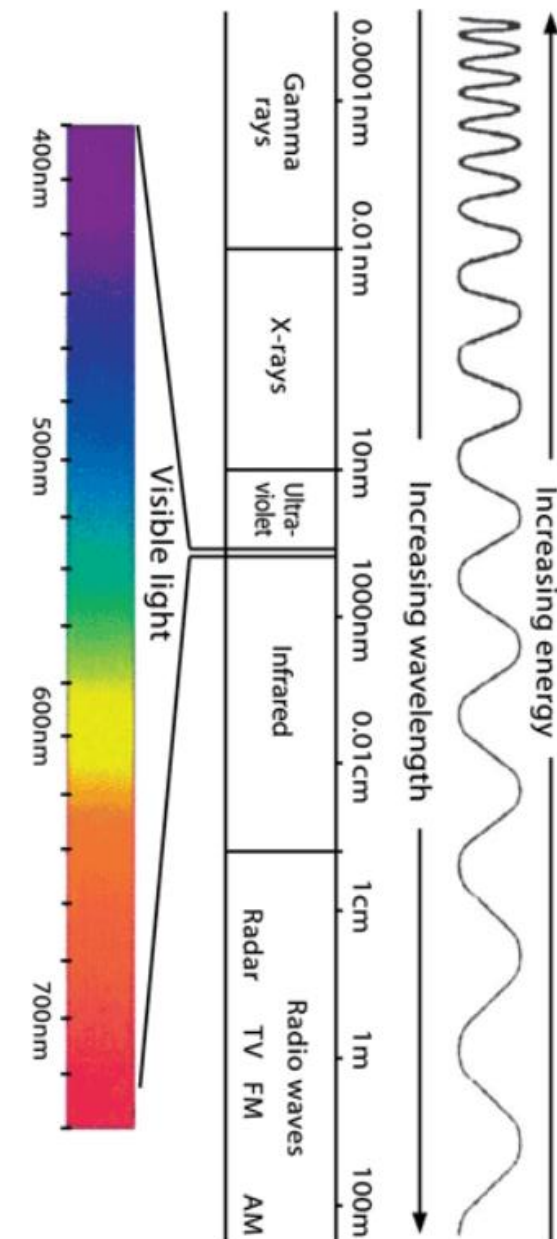


FIG. 1. Dielectric permittivity of pure water. (a) Dielectric constant and (b) loss spectra of water at selected temperatures (for more temperatures, see Fig. 5 in Appendix A). The dashed and solid lines are fits with the Debye and CD functions, respectively. Inset: Loss for 350 K with fits.

- W roku 1800 William Herschel odkrył promieniowanie ciepłe (podczerwone) i stwierdził, że podobnie jak światło ulega ono odbiciu i załamaniu.
- W latach 1801–1803 Thomas Young zaproponował falową teorię światła.
- W 1801 Johann Wilhelm Ritter odkrył promieniowanie ultrafioletowe.
- W latach 1815–1818 Augustin Jean Fresnel rozwinął falową teorię światła i za jej pomocą wyjaśnił wiele zjawisk optycznych.
- W 1820 Hans Christian Ørsted odkrył, że prąd elektryczny wytwarza pole magnetyczne, wykazując w ten sposób związek między elektrycznością i magnetyzmem.
- W 1831 Michael Faraday odkrył, że zmienne pole magnetyczne wytwarza pole elektryczne.
- W 1838 James Forbes stwierdził, że zarówno widzialne, jak i niewidzialne promieniowanie słoneczne ulega polaryzacji.
- W latach 1849–1850 Armand Fizeau oraz Jean Bernard Léon Foucault wykonali pomiary prędkości światła w powietrzu i innych ośrodkach przezroczystych.
- James Clerk Maxwell w roku 1861 zebrał prawa elektrodynamiki w cztery równania, które opisują również falę elektromagnetyczną. Zasugerował też, że zjawiska elektromagnetyczne i światło mają wspólną naturę.



- W 1875 Hendrik Lorentz wyeliminował koncepcję eteru i nadał równaniom Maxwella sens, jaki znamy dzisiaj.
- Pierwszej emisji i odbioru fal elektromagnetycznych (w zakresie fal radiowych) dokonał Heinrich Hertz w roku 1886.
- W roku 1895 Wilhelm Conrad Röntgen odkrył promieniowanie, nazwane później rentgenowskim, za co w 1901 otrzymał pierwszą nagrodę Nobla.
- W 1896 Antoine Henri Becquerel odkrył promieniowanie jądrowe.
- W 1900 Paul Villard wykrył w promieniowaniu jądrowym promieniowanie gamma.
- W 1900 Max Planck analizując widmo promieniowania elektromagnetycznego ciała doskonale czarnego doszedł do wniosku, że energia tego promieniowania jest skwantowana. Za to osiągnięcie otrzymał w 1918 nagrodę Nobla.
- W 1905 Albert Einstein analizując zjawisko fotoemisji doszedł do wniosku, że energia tego promieniowania jest zależna od częstotliwości fali. Za to osiągnięcie otrzymał w 1921 nagrodę Nobla.
- 1922 Arthur Compton ogłosił wyniki doświadczeń, w których promieniowanie rentgenowskie oddziałuje z elektronami i spełnia prawa zderzenia. W roku 1927 otrzymał za tę pracę Nagrodę Nobla.



Techniki spektroskopowe stanowią bardzo uniwersalne narzędzie badawcze w chemii, fizyce, biologii, medycynie, diagnostyce, inżynierii materiałowej, farmacji i telekomunikacji. Podstawową ideą spektroskopii jest wykorzystanie oddziaływań fal elektromagnetycznych z cząsteczkami związków chemicznych do uzyskania informacji na temat budowy tych molekuł i procesów w nich zachodzących. Istnieje wiele metod spektroskopowych, z których największe zastosowanie mają:

Spektroskopia NMR

Spektroskopia EPR

Spektroskopia rotacyjna

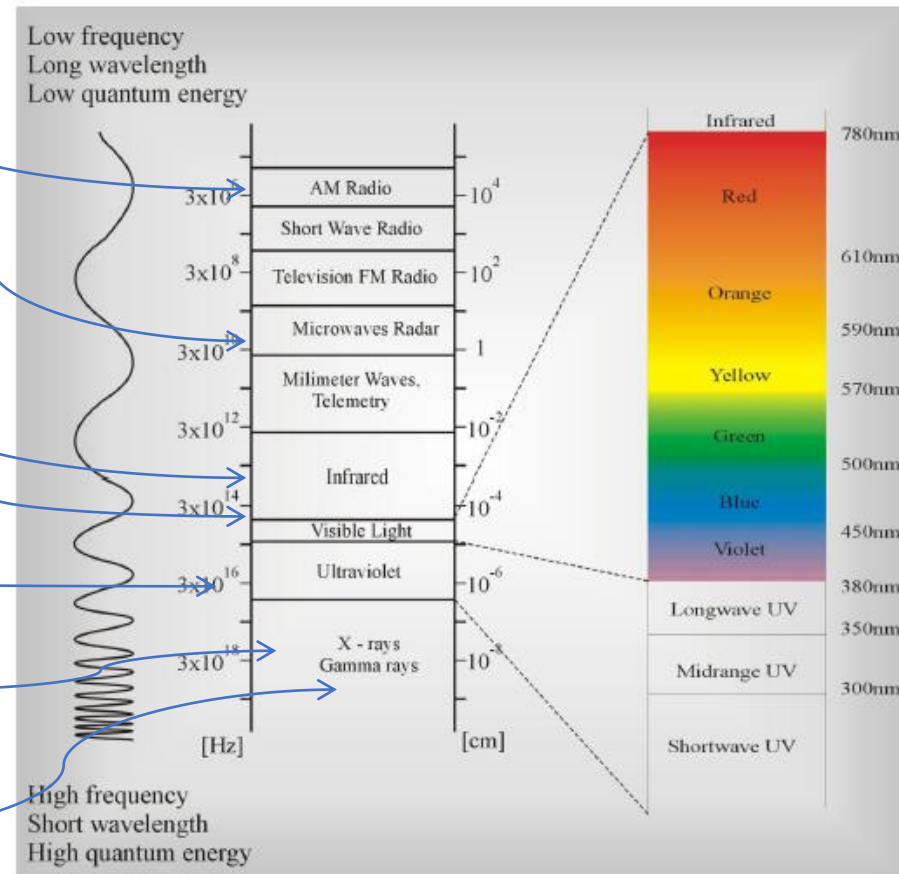
Spektroskopia IR

Spektroskopia Ramana

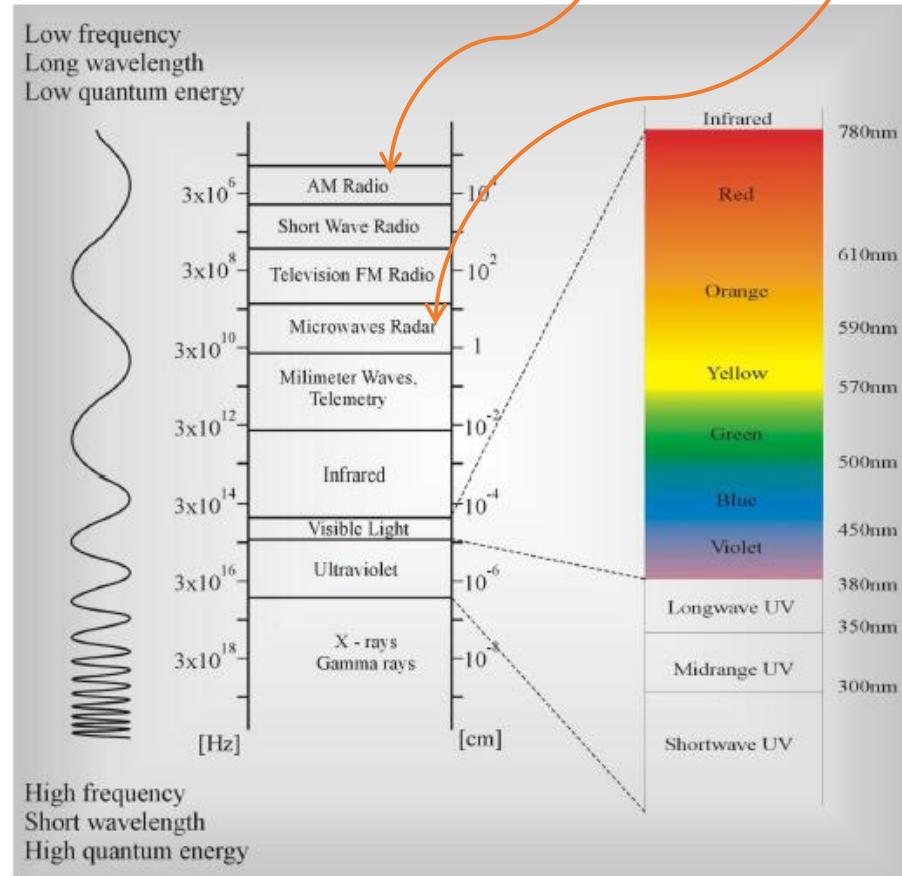
Spektroskopia VIS-UV

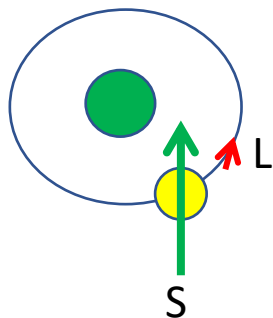
Spektroskopia promieniowania X

Spektroskopia Mössbauera



Spektroskopia NMR i EPR





EPR

$$\mathbf{L} = \sum \mathbf{L}_i$$

$$\vec{\mathbf{J}} = \vec{\mathbf{L}} + \vec{\mathbf{S}}$$

$\vec{\mathbf{L}}$ - moment orbitalny elektronu

$\vec{\mathbf{S}}$ - spin elektronu

$$m_J = -J, \dots, 0, \dots, +J$$

magnetyczna liczba kwantowa dla spinu elektronu

$$|\vec{\mu}|_J = g \sqrt{J(J+1)} \mu_B$$

moment magnetyczny

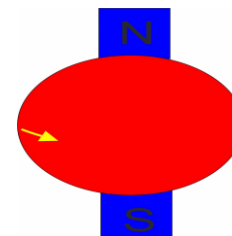
g – współczynnik magnetogiryczny elektronu

μ_B - magneton Bohra

$$\mu_B = \frac{e\hbar}{2m_e c}$$

m_e - masa elektronu

Wartości spinów niektórych jąder -
kliknij



$$m_I = -I, \dots, 0, \dots, +I$$

magnetyczna liczba kwantowa dla spinu jądra

$$|\vec{\mu}|_I = \gamma \sqrt{I(I+1)} \mu_N$$

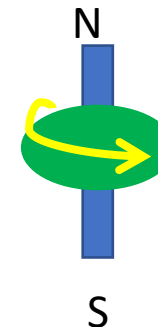
γ - współczynnik magnetogiryczny jądra

μ_N - magneton jądrowy

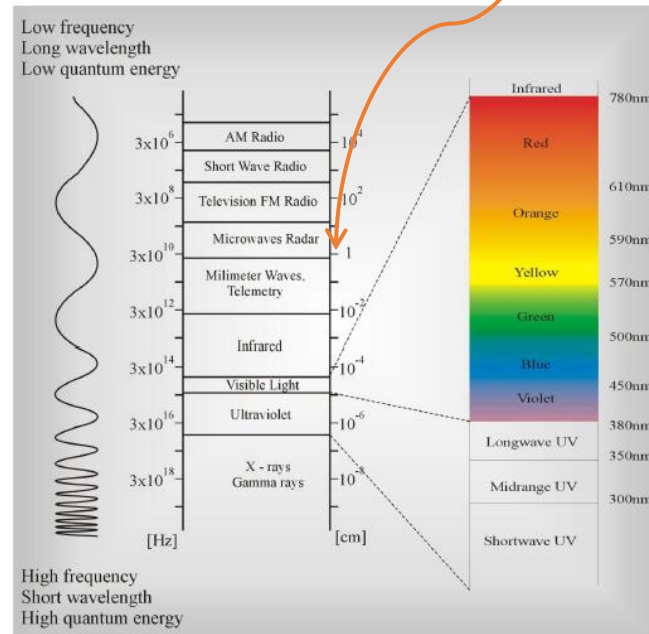
$$\mu_N = \frac{e\hbar}{2m c}$$

m – masa jądra

$$g = 1 + \frac{J(J+1) + S(S+1) - L(L+1)}{2J(J+1)}$$



SPEKTROSKOPIA ROTACYJNA



Reguły wyboru dla widma rotacyjnego

1) $\Delta E = h\nu$ (foton, który ma być pochłonięty przez molekułę musi pasować do różnicy poziomów energetycznych)

2) $\int \Psi_n \mu \Psi_m d\tau \neq 0$ dla przejścia $\mathbf{n} \rightarrow \mathbf{m}$

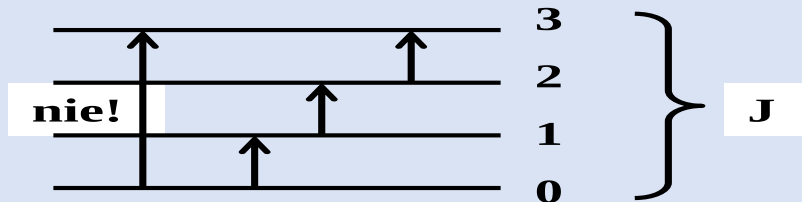
μ - trwały moment dipolowy cząsteczki

Ψ_n, Ψ_m - funkcja falowa opisująca rotator w stanie energetycznym $\mathbf{n}$ i $\mathbf{m}$

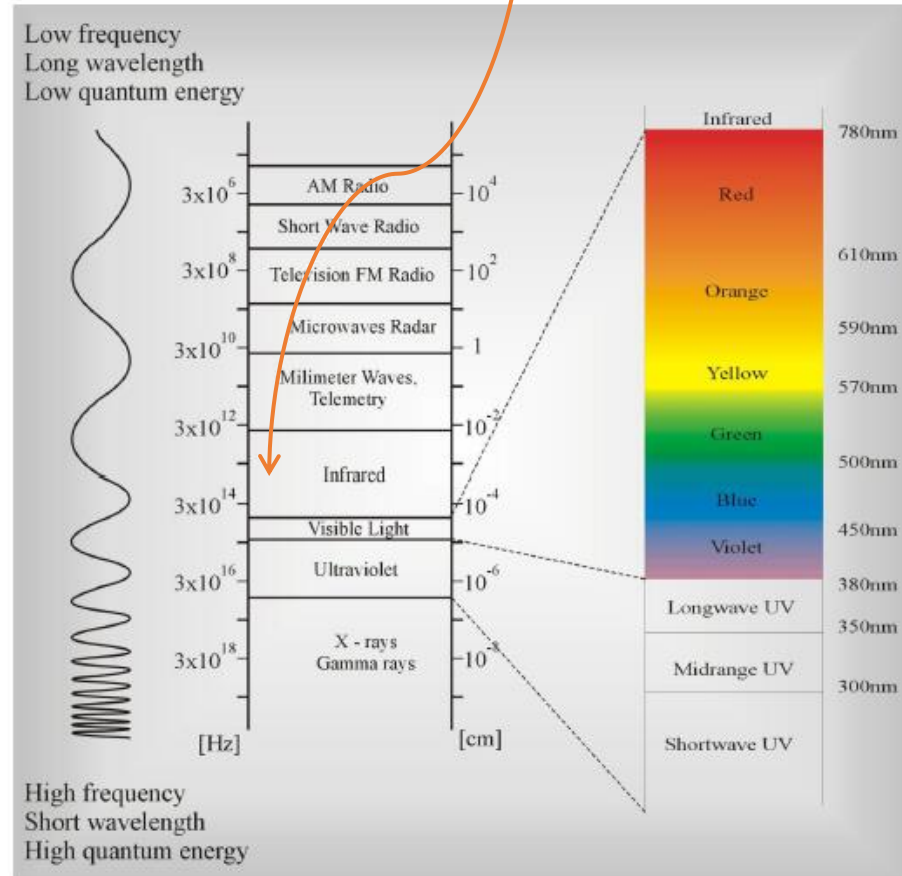
Oznacza to, że aby obserwować absorpcyjne widmo rotacyjne, molekuły muszą być obdarzone trwałym momentem dipolowym.

3) $\Delta J = +1$ (molekuła może przenieść się w jednym akcie absorpcji tylko na poziom sąsiedni)

$\Delta J = 2, 3$ są zabronione ! ! ! !



Spektroskopia IR

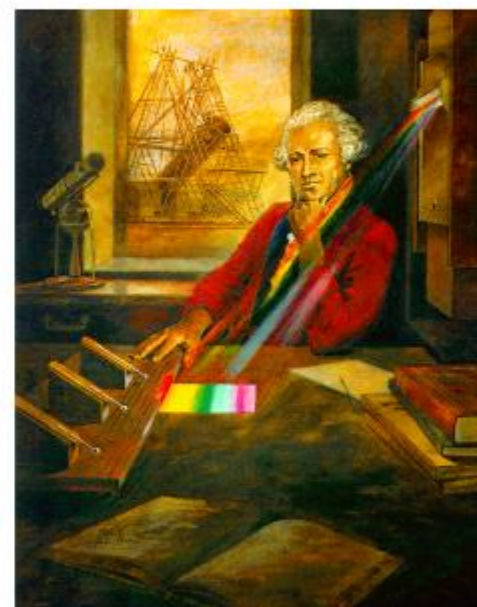


SPEKTROSKOPIA IR

Promieniowanie o długości fali 2-50 μm nazywamy promieniowaniem podczerwonym. Absorpcja lub emisja promieniowania z tego zakresu jest selektywna i stanowi przedmiot badań spektroskopii oscylacyjnej. Szczególnie użyteczną jest spektroskopia absorpcyjna w podczerwieni, obserwacja widm emisyjnych w IR jest trudniejsza i znacznie rzadziej stosowana.

Za odkrywcę promieniowania IR uważa się Sir Fredericka Williama Herschel'a który w 1800 r. stwierdził, że istnieje promieniowanie poza obszarem widzialnym .

To „promieniowanie ciepłe” nazwano później promieniowaniem podczerwony (prefix *infra* oznacza 'pod'). Eksperyment Herschel'a był ważny nie tylko dlatego, że doprowadził do odkrycia promieniowania IR, ale również dlatego, że po raz pierwszy zauważono istnienie formy światła niewidzialnego dla ludzkiego oka.



Model oscylatora harmonicznego

- Drgania cząsteczek można opisywać za pomocą modeli mechanicznych posługując się prawami mechaniki klasycznej.
- Najczęściej wyobrażamy sobie drgania cząsteczek za pomocą oscylatora harmonicznego, gdzie dwie masy m_1 i m_2 połączone są sprężyną, o sprężystości charakteryzowanej przez stałą siłową f [N/m]
- Oscylator harmoniczny to taki oscylator który spełnia prawo Hooke'a
- $$F = -fq$$
- które mówi, że siła F jaka potrzebna jest do rozciągnięcia sprężyny jest proporcjonalna do wychylenia q i skierowana przeciwnie do wychylenia



W czasie drgania wychylenie q zmienia się periodycznie

$$q = Q \cos 2\pi \nu t$$

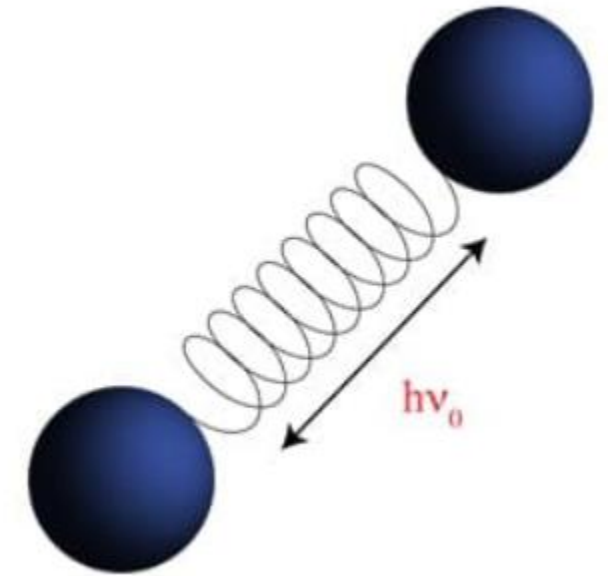
gdzie: ν jest częstością drgania oscylatora, a Q jest amplitudą wychylenia.

Oscylator harmoniczny to taki oscylator, który spełnia prawo Hooke'a. Wynika z tego, że:

$$F = -f q$$

czyli, że siła jest proporcjonalna do wychylenia.

Współczynnik proporcjonalności f nazywamy **stałą siłową**. Stała siłowa jest wielkością charakteryzującą „sprężystość” sprężyny i jest równa sile przypadającej na jednostkę wychylenia [N/m].



Policzmy, jaka jest częstość oscylatora harmonicznego

$$\mathbf{F} = -f\mathbf{q}$$

$$\mathbf{q} = \mathbf{r} - \mathbf{r}_e$$

f – stała siłowa

$\mathbf{r}$ – odległość między atomami

$\mathbf{r}_e$ – odległość równowagowa

$$\mathbf{q} = Q \cos 2\pi\nu t$$

Q – amplituda

ν - częstość drgań [Hz] = $\left[\frac{1}{s}\right]$

Energia potencjalna oscylatora:
praca wykonana nad układem

$$dU = (-F)dq$$

$$dU = f q dq$$

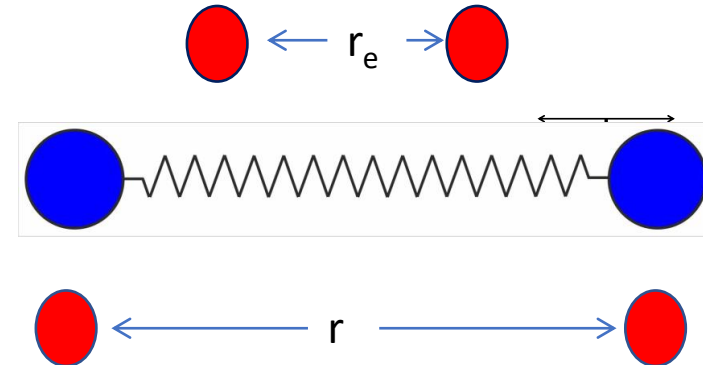
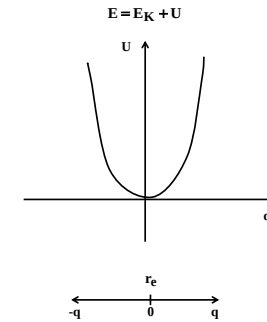
$$\frac{dU}{dq} = f q$$

$$\frac{d^2 U}{dq^2} = f$$

a) oscylator klasyczny

$$U = \frac{f q^2}{2} \quad E_k = \frac{m v^2}{2} = \frac{m \dot{q}^2}{2}$$

energia całkowita:



$$U = \int (-F) dq = \int f q dq = \frac{1}{2} f q^2$$

$$U = \frac{1}{2} f q^2$$

$$\begin{array}{c} \mathbf{m} \cdot \mathbf{a} = \mathbf{F} \\ \swarrow \\ \mathbf{m} \cdot \frac{d^2 \mathbf{q}}{dt^2} = -f \mathbf{q} \end{array}$$

podstawiając

$$\mathbf{q} = \mathbf{Q} \cos 2\pi \nu \mathbf{t}$$

otrzymujemy

$$\mathbf{m}(2\pi \nu)^2 = \mathbf{f} \Rightarrow$$

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{\mathbf{f}}{\mathbf{m}}}$$

$$m_{red} = \frac{m_1 \times m_2}{m_1 + m_2} \quad [kg]$$

Otrzymaliśmy, że częstość oscylatora harmonicznego zależy od stałej siłowej f oraz od masy

- zredukowanej m oscylatora, gdzie $m = m_1 m_2 / (m_1 + m_2)$

a) oscylator kwantowy

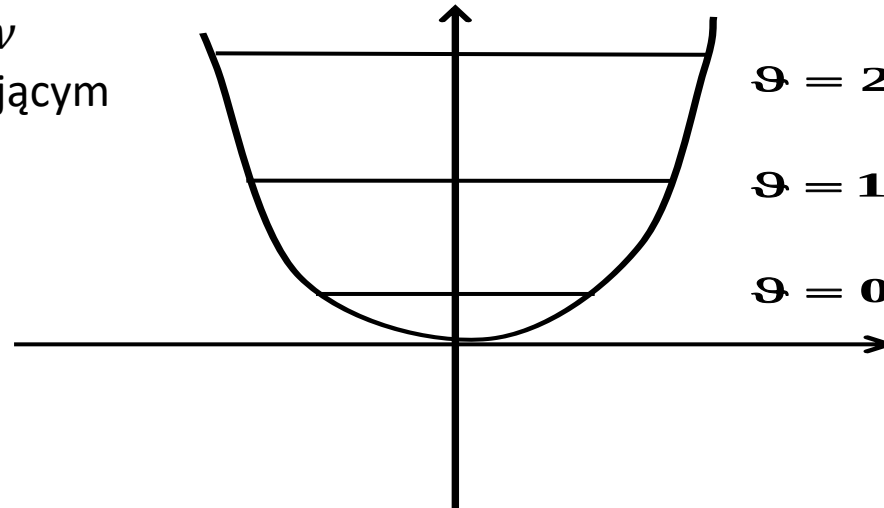
dla oscylatora kwantowego należy rozwiązać równanie Schrödingera

$$-\frac{\hbar^2}{2m} \frac{\partial^2 \Psi}{\partial q^2} + \frac{fq^2}{2} \Psi = E\Psi \quad \Rightarrow$$

W przypadku stosowania metod kwantowo-mechanicznych energia drgań oscylatora harmonicznego w stanie opisanym kwantową liczbą oscylacyjną ν wyraża się następującym wzorem

$$E = h\nu\left(\nu + \frac{1}{2}\right)$$

$$\nu = 0, 1, 2, \dots$$



[POMOC – CHEMIA](#)
[KWANTOWA-WYKŁAD](#)
1 | 2

$$E_2 = \frac{5}{2} h\nu$$

$$E_1 = \frac{3}{2} h\nu$$

$$E_0 = \frac{h\nu}{2}$$

Czyli dla $\nu = 0$, energia nie jest równa zero. Ta energia nosi nazwę energii punktu zerowego.

Oscylator anharmoniczny

Oscylator anharmoniczny nie spełnia prawa Hooke'a.

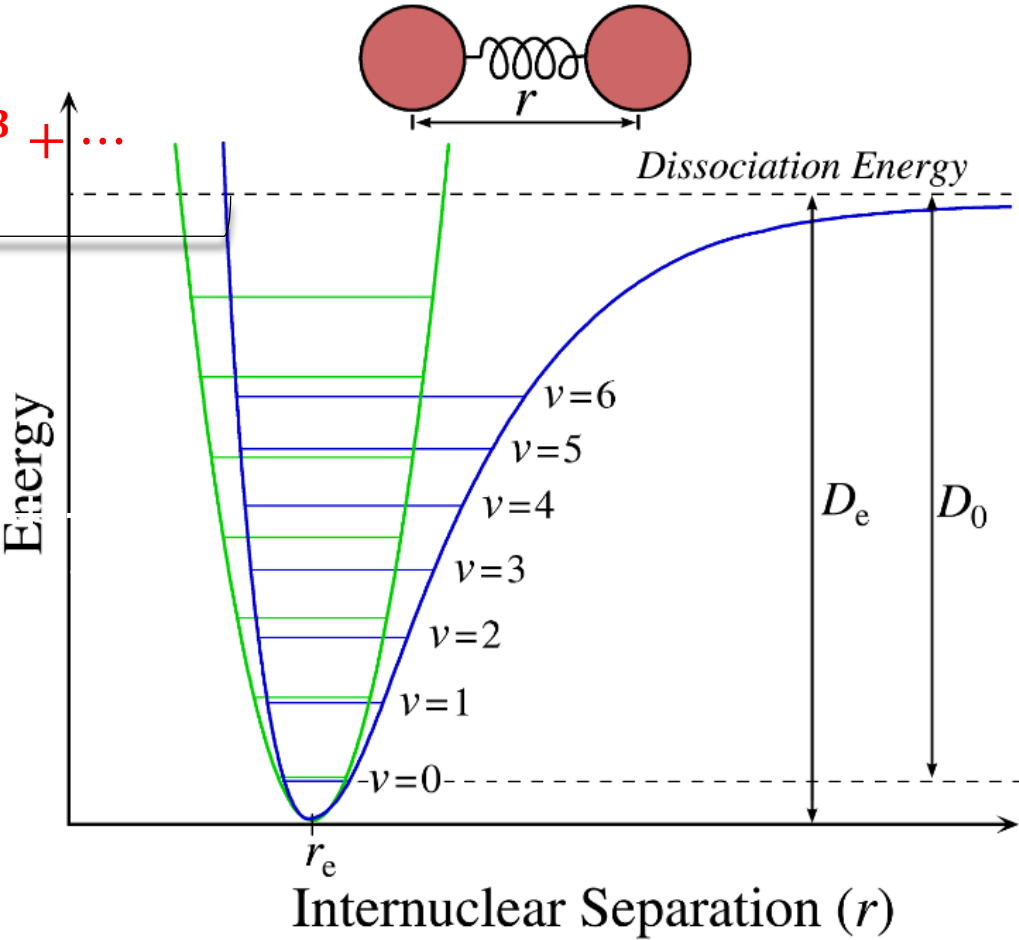
Gdy nie znamy matematycznej postaci funkcji $U(q)$ rozwijamy funkcję w szereg Taylora lub, jeśli to możliwe, w szereg Maclaurina.

$$U(q) = \underbrace{U_{q=0}}_0 + \underbrace{\frac{1}{1!} \left(\frac{dU}{dq} \right)_{q=0}}_0 q + \frac{1}{2!} \left(\frac{d^2 U}{dq^2} \right)_{q=0} q^2 + \frac{1}{3!} \left(\frac{d^3 U}{dq^3} \right)_{q=0} q^3 + \dots$$

energia oscylatora anharmonicznego

$$E_{osc.anh.} = h\nu \left(v + \frac{1}{2} \right) - h\nu x \left(v + \frac{1}{2} \right)^2$$

$$\Delta E_{osc.anh.} = h\nu [1 - 2x(v + 1)]$$



Model oscylatora harmonicznego, którego krzywa energii jest parabolą nie opisuje prawidłowo energii cząsteczki dla wszystkich odległości międzyjądrowych, ponieważ nie pozwala on na dysocjację wiązania. W rzeczywistych sytuacjach molekularne oscylatory są anharmoniczne. Energia przejść zmniejsza się wraz ze wzrostem kwantowej liczby oscylacyjnej, aż do momentu dysocjacji molekuł.

a) oscylator anharmoniczny

$$-\frac{\hbar^2}{2m} \frac{\partial^2 \Psi}{\partial q^2} + U\Psi = E\Psi \quad (1)$$

$$\text{ale} \quad U \neq \frac{fq^2}{2}$$

i wyraża się bardziej skomplikowaną zależnością

$$U(q) = U(0) + \left(\frac{\partial U}{\partial q} \right) q + \frac{1}{2!} \underbrace{\frac{\partial^2 U}{\partial q^2}}_f q^2 + \frac{1}{3!} \underbrace{\frac{\partial^3 U}{\partial q^3}}_k q^3 + \dots$$

czyli

$$U(q) = \frac{fq^2}{2} + \frac{1}{6}kq^3 \quad (2) \Rightarrow (1) + (2)$$

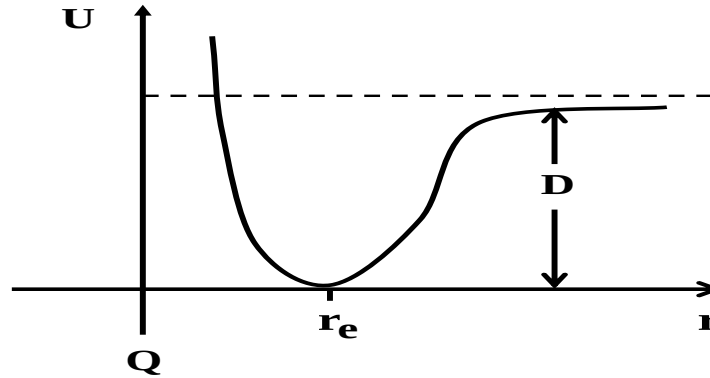
$$E = h\nu \left(\vartheta + \frac{1}{2} \right) - h\nu x \left(\vartheta + \frac{1}{2} \right)^2$$

$$\Delta E = h\nu[1 - 2x(\vartheta + 1)]$$

gdzie x jest tzw stałą anharmoniczności.



Krzywą energii oscylatora anharmonicznego aproksymuje się funkcją Morse'a przedstawioną poniżej:



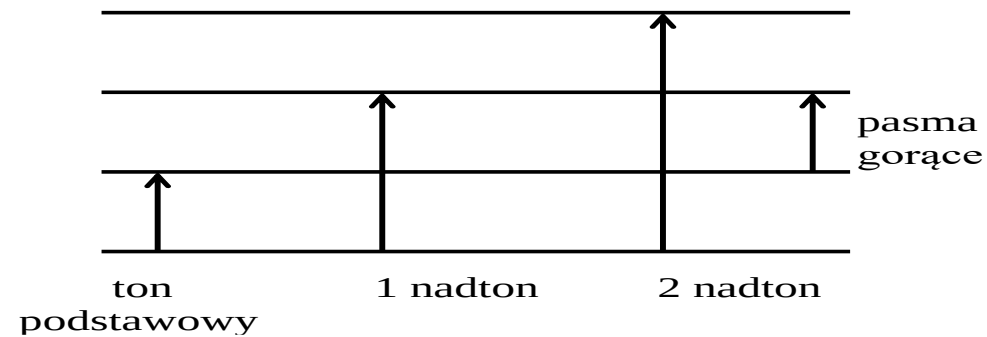
$$U(q) = D(1 - e^{-\beta q})^2$$

$$\Delta \mathfrak{S} = \pm 1$$

dla oscylatora
harmonicznego

$$\Delta \mathfrak{S} = \pm 1, \pm 2, \pm 3$$

dla oscylatora
anharmonicznego



SPEKTROSKOPIA IR

- Spektroskopia IR i spektroskopia Ramana dostarczają informacji o wibracjach cząsteczek
 - Spektroskopia IR jest spektroskopią absorpcyjną.
 - Spektroskopia Ramana jest spektroskopią, w której wykorzystuje się zjawisko rozpraszania światła.
- Aby cząsteczki zaabsorbowały promieniowanie IR musi być spełnionych kilka warunków, warunki te noszą nazwę **reguł wyboru**.

SPEKTROSKOPIA IR

Reguły wyboru dla przejść w spektroskopii IR

1. Fotony promieniowania muszą mieć energię równą różnicy energii wibracyjnych poziomów energetycznych:

$$h\nu = \Delta E$$

2. Przejście zachodzi tylko wtedy, gdy kwantowa liczba oscylacji zmienia się o 1, 2, 3...

$$\Delta v = +1 \quad \text{oscylator harmoniczny}$$

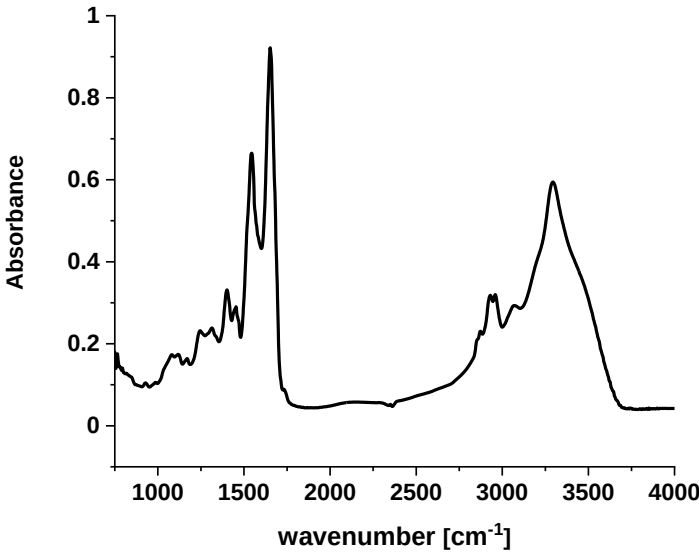
$$\Delta v = +1, +2, +3, \dots, \quad \text{oscylator anharmoniczny}$$

3. W trakcie drgania musi nastąpić zmiana momentu dipolowego cząsteczki $\frac{\partial \mu}{\partial q} \neq 0$

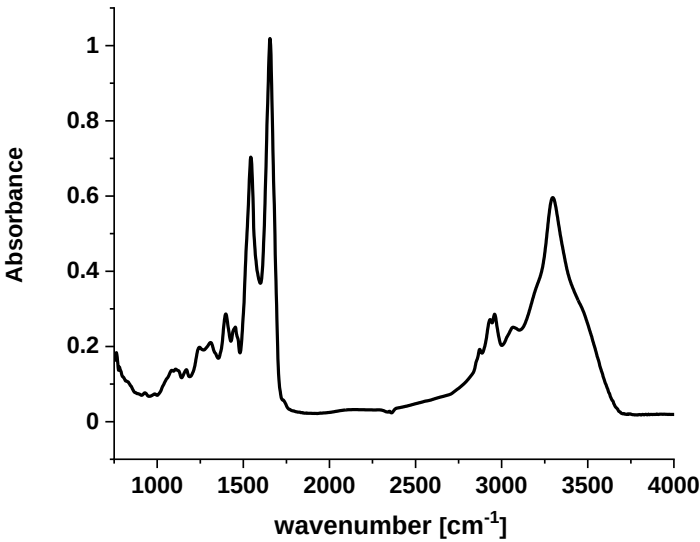
Ponad to prawdopodobieństwo pojawienia się tonów podstawowych jest zarówno w molekułach dwu- jak i wieloatomowych proporcjonalne do kwadratu pochodnej momentu dipolowego względem współrzędnej normalnej drgania, a integralny współczynnik absorpcji jest tym większy im bardziej moment dipolowy zmienia się w trakcie drgania.

SPEKTROSKOPIA IR

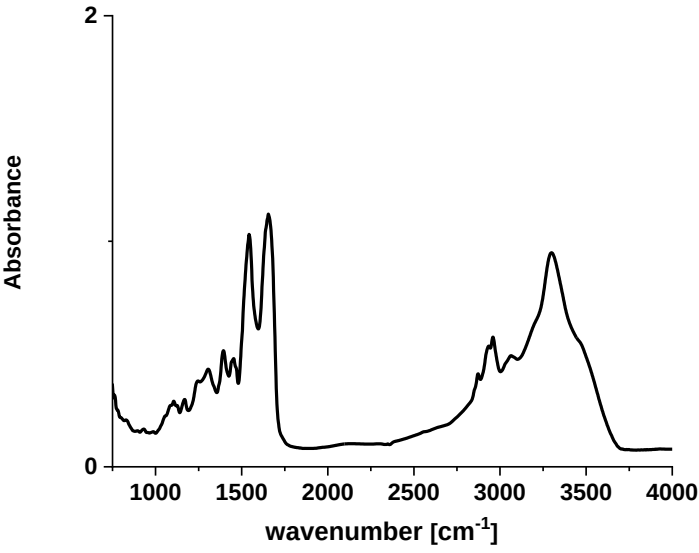
IR osocze



mix



red cell



Reguły wyboru dla przejść w spektroskopii IR (podczerwień)

Aby nastąpiła absorpcja promieniowania w oscylatorze molekularnym (jest to obszar podczerwieni):

- 1) Fotony promieniowania muszą mieć energię równą różnicy energii wibracyjnych poziomów energetycznych

$$h\nu = \Delta E$$

- 2) Przejście zachodzi tylko wtedy, gdy kwantowa liczba oscylacji $\mathfrak{J}$ zmienia się o 1, 2, 3...

$$\begin{array}{ll} \Delta \mathfrak{J} = +1 & \text{dla oscylatora harmonicznego} \\ \Delta \mathfrak{J} = +1, +2, +3 & \text{dla oscylatora anharmonicznego} \end{array}$$

- 3) Przejścia między stanami kwantowymi $\mathbf{l}$ i $\mathbf{m}$ $\mathbf{l} \rightarrow \mathbf{1}$ są widoczne w spektroskopii IR tylko dla takich oscylatorów, w których w czasie drgania zmienia się moment dipolowy molekuly, czyli $\frac{\partial \mu}{\partial q} \neq 0$

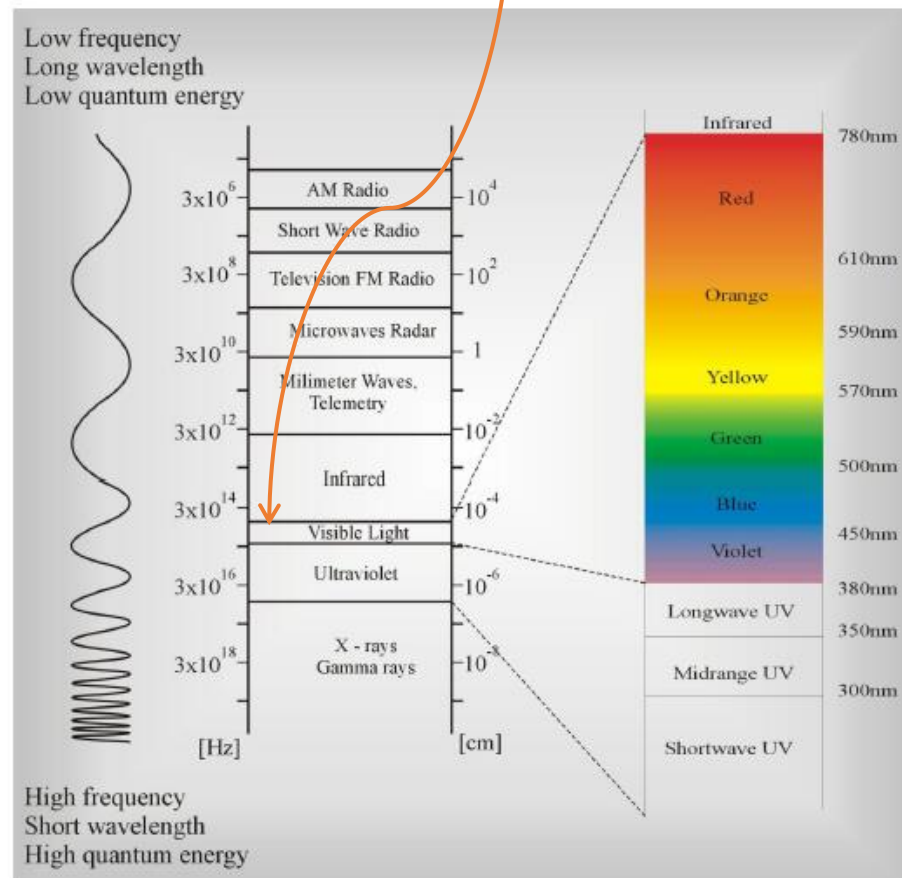
$$\mathbf{l} \rightarrow \mathbf{m}$$

$$\mu_{lm} = \int_{-\infty}^{\infty} \Psi_l \mu \Psi_m dq = \int_{-\infty}^{\infty} \Psi_l \frac{\partial \mu}{\partial q} \Psi_m dq \neq 0$$

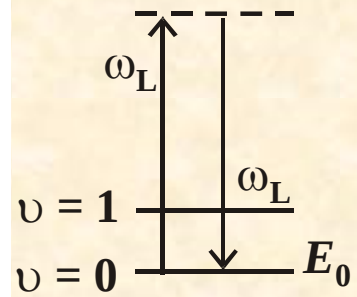
gdzie

$$\left. \begin{array}{l} \Psi_l \\ \Psi_m \end{array} \right\} \begin{array}{l} \text{funkcje falowe oscylatora harmonicznego} \\ \text{w stanie } \mathbf{l} \text{ i } \mathbf{m} \end{array}$$

Spektroskopia Ramana

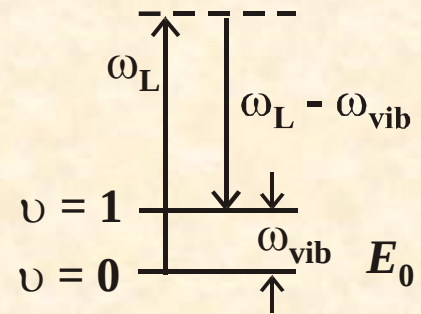


$$\begin{array}{l} \nu = 1 \text{ —————} \\ \nu = 0 \text{ —————} E_1 \end{array}$$



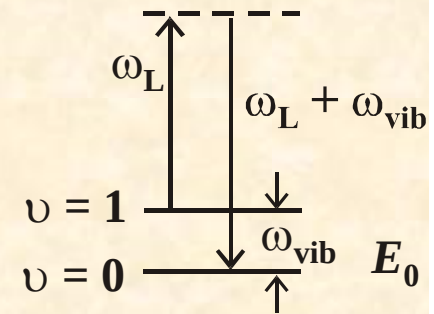
**Rayleigh
scattering**

$$\begin{array}{l} \nu = 1 \text{ —————} \\ \nu = 0 \text{ —————} E_1 \end{array}$$



**Raman scattering
Stokes**

$$\begin{array}{l} \nu = 1 \text{ —————} \\ \nu = 0 \text{ —————} E_1 \end{array}$$



**Raman scattering
anti-Stokes**

Widmo RAMANA

Teoria polaryzowalności Placzka

$$\mu_{ind} = \alpha E_0 \cos 2\pi \nu_0 t \tag{1}$$

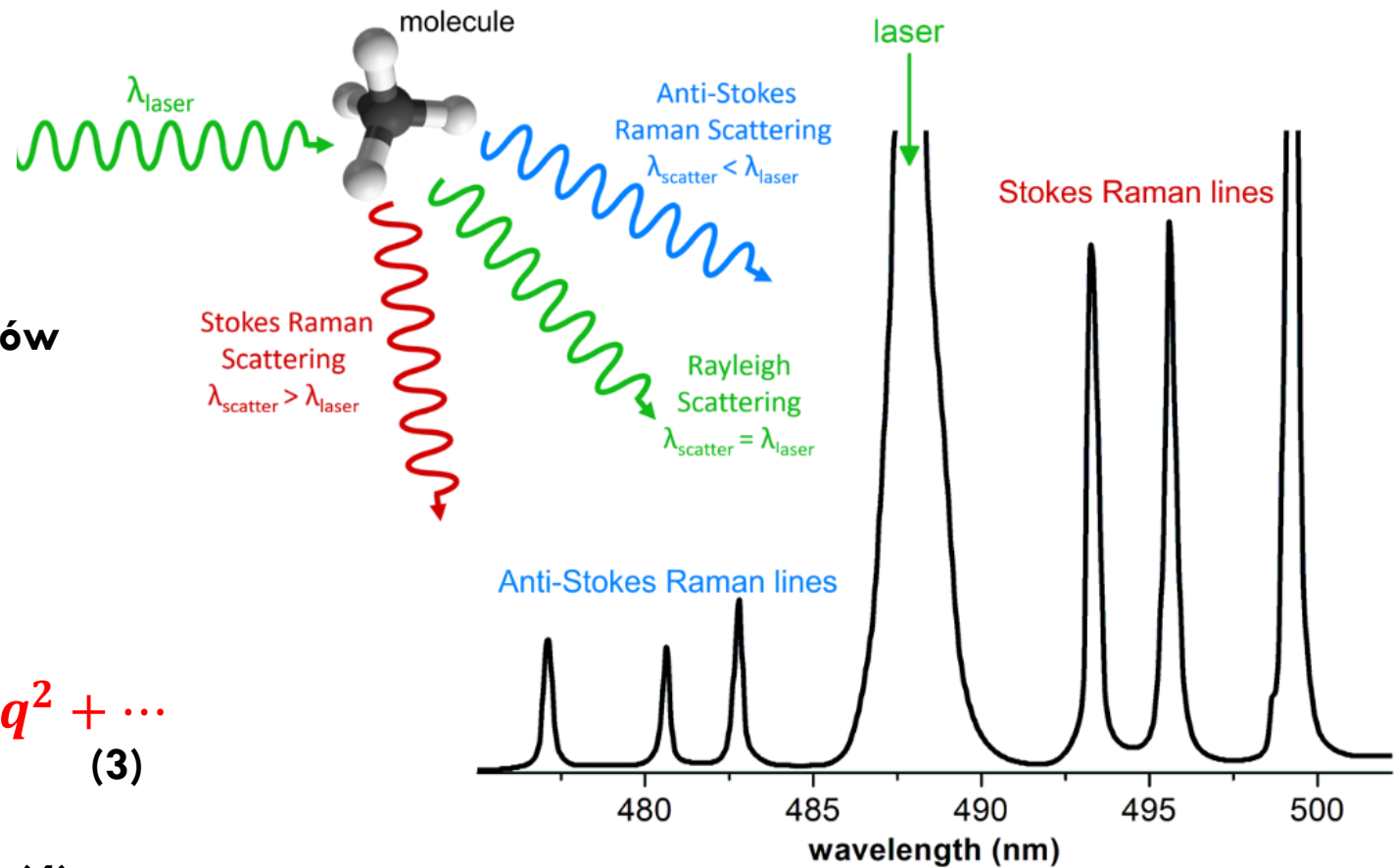
polaryzowalność:

potencjalna zdolność przemieszczania się elektronów
względem jąder w polu elektrycznym

$$\alpha = f(q) \tag{2}$$

$$\alpha(q) = \alpha_{q=0} + \frac{1}{1!} \left(\frac{d\alpha}{dq} \right)_{q=0} q + \frac{1}{2!} \left(\frac{d^2\alpha}{dq^2} \right)_{q=0} q^2 + \dots \tag{3}$$

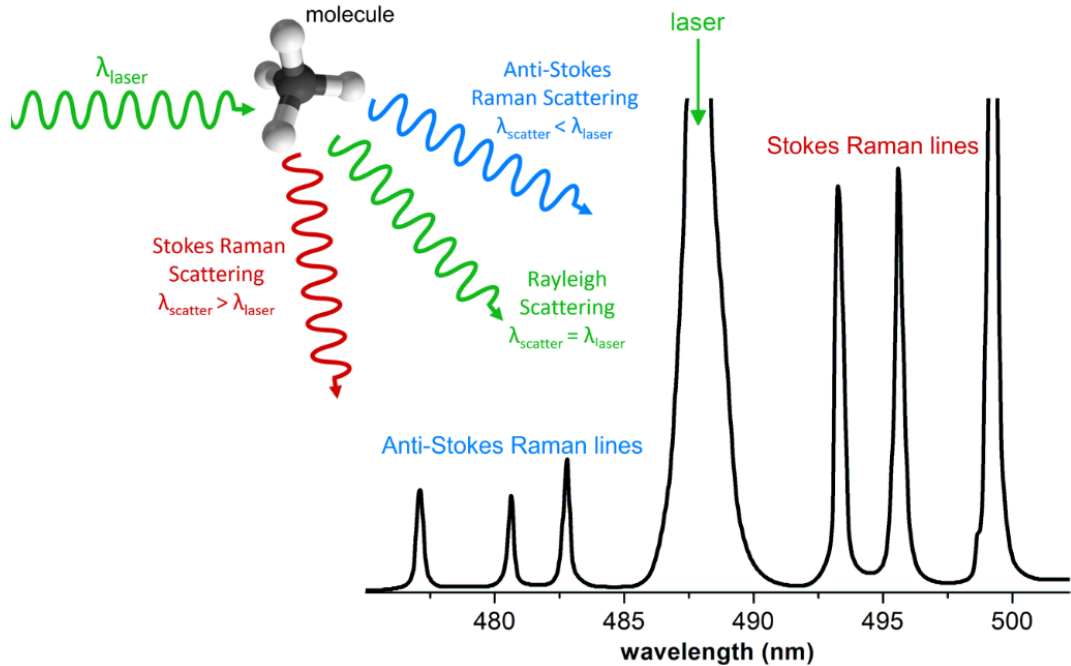
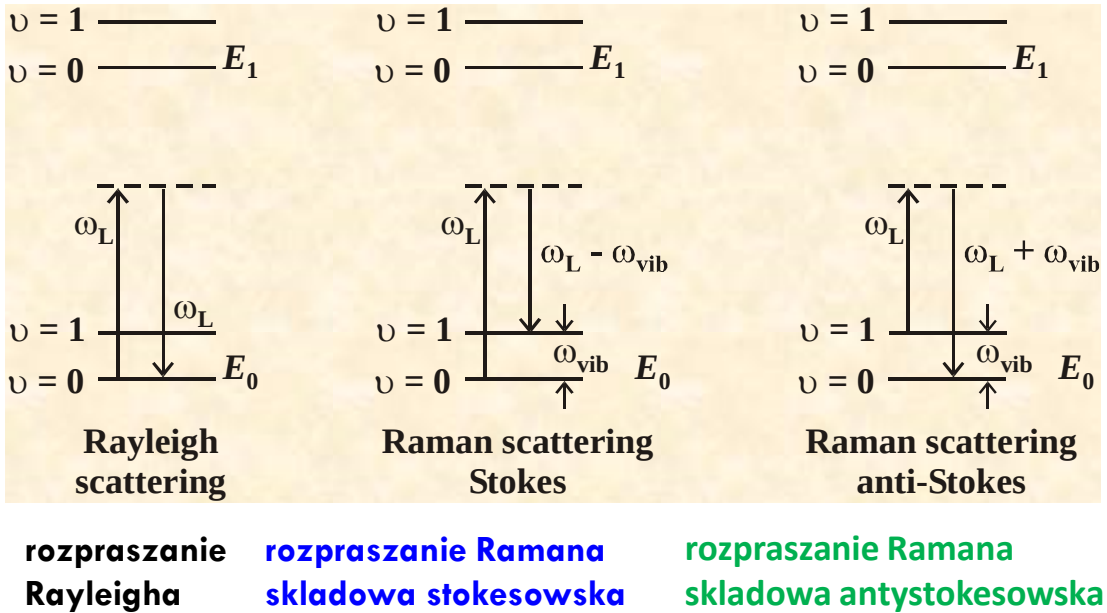
$$q = Q \cos 2\pi \nu t \tag{4}$$



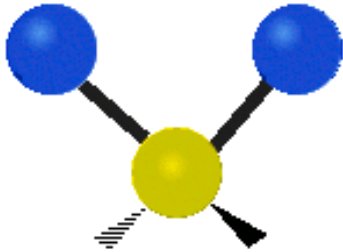
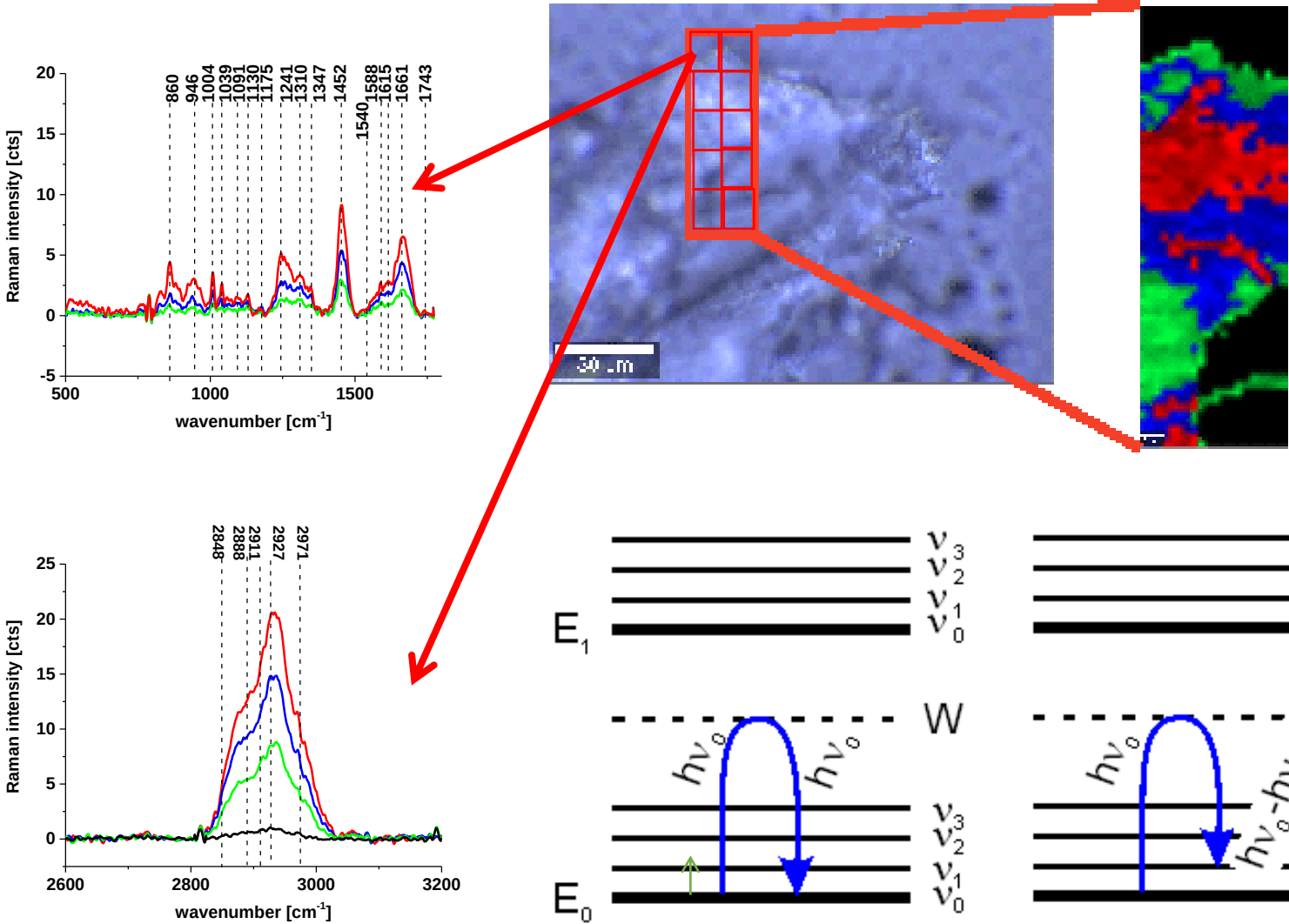
$$\alpha(q) = \alpha_0 + \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_0 Q \cos 2\pi \nu t \tag{5}$$

polaryzowalność zmienia się z częstotliwością drgania normalnego, ale tylko wtedy gdy pochodna polaryzowalności po współrzędnej drgania nie jest równa zero
ostatecznie można pokazać, że:

$$\mu_{ind} = \alpha_0 E_0 \cos 2\pi \nu_0 t + \frac{1}{2} \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_0 Q E_0 \cos 2\pi (\nu_0 - \nu) t + \frac{1}{2} \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_0 Q E_0 \cos 2\pi (\nu_0 + \nu) t \tag{6}$$



Spektroskopia i obrazowanie RAMANA



SPEKTROSKOPIA RAMANA
+
MIKROSKOPIA

SPEKTROSKOPIA RAMANA

W przypadku spektroskopii Ramana reguły wyboru są zaś następujące:

1. Różnica energia fotonu padającego i rozproszonego pasuje do różnicy poziomów oscylacyjnych:

$$h\nu_0 - h\nu_R = \Delta E$$

2. Przejście musi nastąpić tak by kwantowa liczba oscylacji zmieniała się o 1 (dla oscylatora harmonicznego)

czyli $\Delta v = +1$ oscylator harmoniczny

$\Delta v = +1, +2, +3, \dots$, oscylator anharmoniczny

3. W trakcie drgania musi nastąpić zmiana polaryzowalności cząsteczki

$$\frac{d\alpha}{dq} \neq 0$$

SPEKTROSKOPIA IR I RAMANA

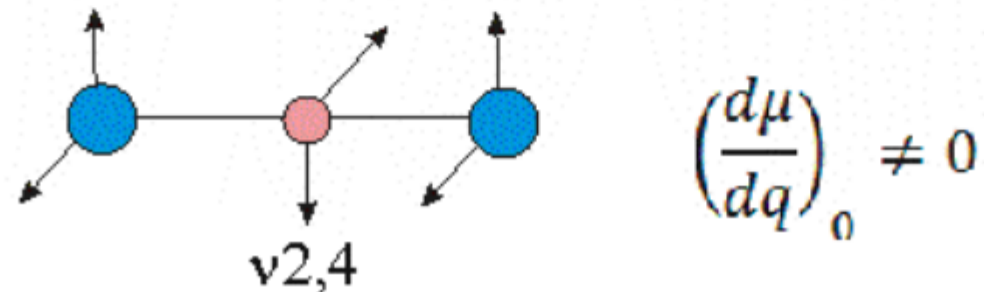
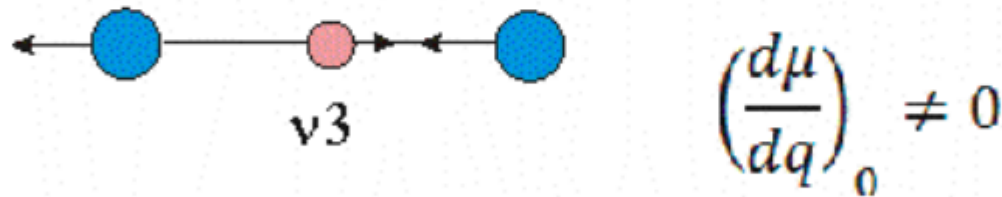
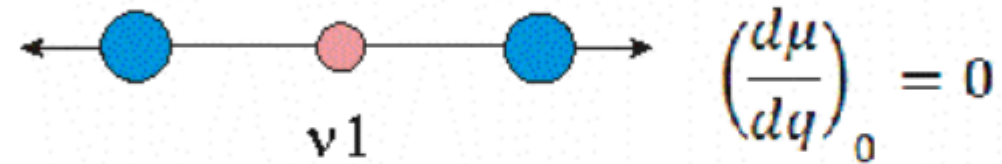
Spektroskopia IR i spektroskopia Ramana są metodami komplementarnymi

Nieliniowa cząsteczka wykazuje $3N-6$ drgań, niektóre z nich ujawniają się jako pasma aktywne w IR, niektóre zaś w widmie Ramana. Zależy to od symetrii cząsteczki i od symetrii drgania. **Dla cząsteczek mających środek inwersji obowiązuje zasada wykluczania - drgania aktywne w IR, nie są aktywne w spektroskopii Ramana i odwrotnie.** Np. drgania symetryczne CO_2 lub N_2 są niewidoczne w spektroskopii IR, podczas gdy w spektroskopii Ramana obserwujemy silne pasma odpowiadające tym drganiom. Spektroskopia Ramana wypełnia więc lukę w możliwościach spektroskopii IR. Dopiero silnie polarne molekuly jak np.: NaCl nie dają widma Ramana, ale za to ich widmo w IR jest dozwolone i silne.

SPEKTROSKOPIA IR I RAMANA

Rozważmy zasadę komplementarności na przykładzie molekuły CO₂.

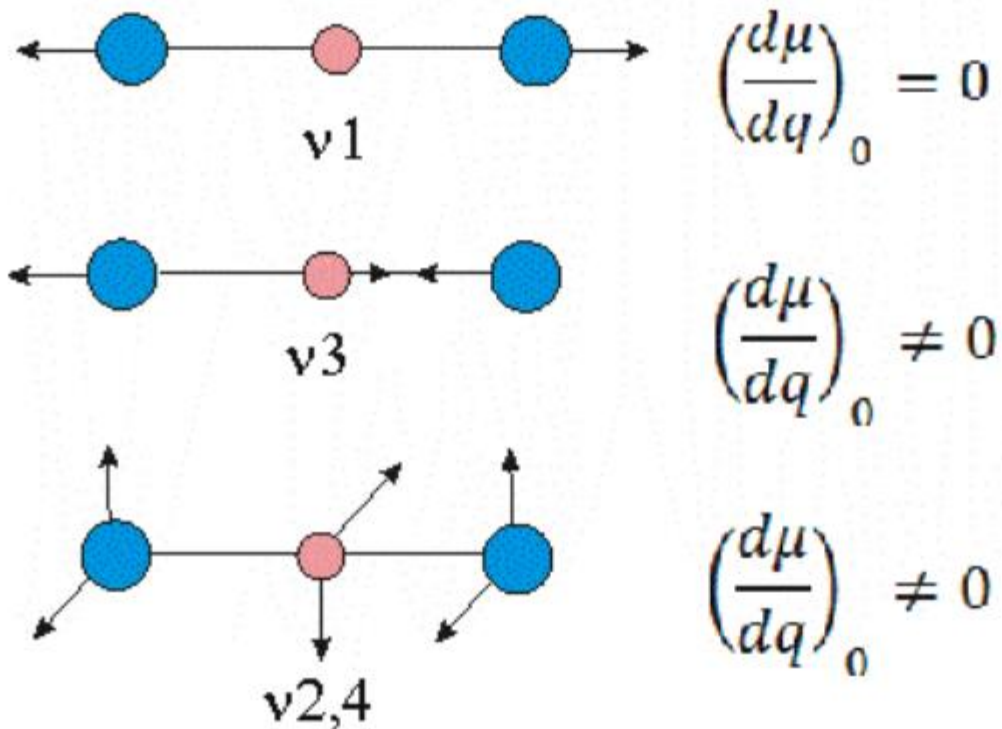
Cząsteczka CO₂ nie ma trwałego momentu dipolowego, w czasie symetrycznego rozciągającego drgania ν_1 położenie środków ciężkości ładunków nie zmienia się czyli nie zmienia się moment dipolowy, **drganie ν_1 jest w IR nieaktywne.**



SPEKTROSKOPIA IR I RAMANA

Rozważmy zasadę komplementarności na przykładzie molekuly CO_2 .

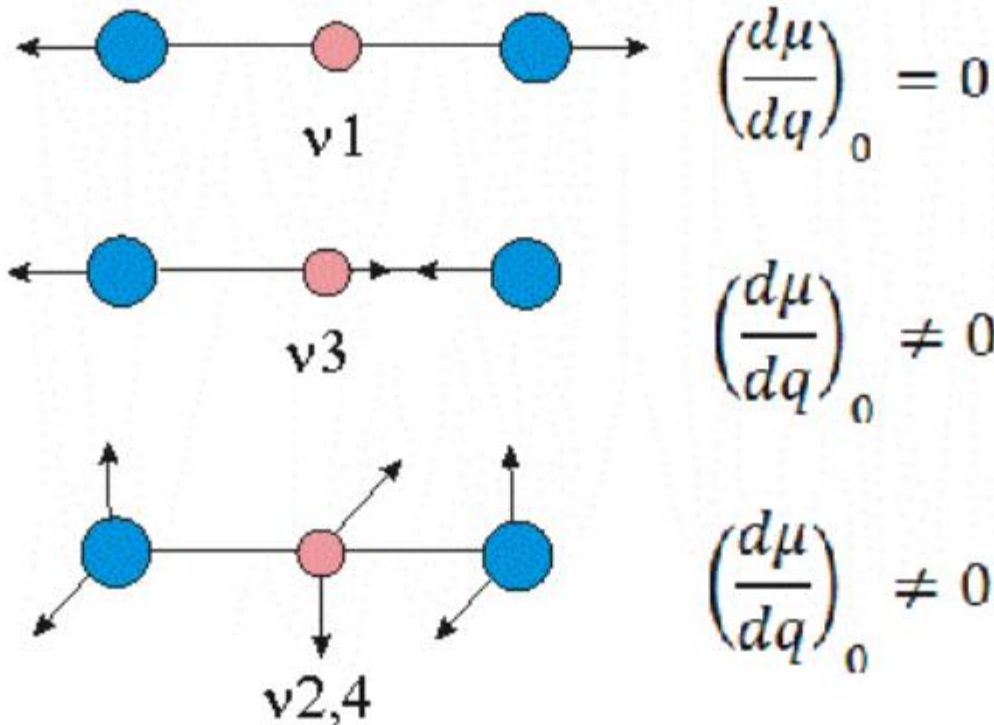
W czasie antysymetrycznego rozciągającego drgania ν_3 położenie środka ciężkości ładunku dodatniego przemieszcza się w jedną stronę, a ładunku ujemnego w stronę przeciwną, powstaje oscylujący wokół zera moment dipolowy, **drganie ν_3 jest w IR aktywne.**



SPEKTROSKOPIA IR I RAMANA

Rozważmy zasadę komplementarności na przykładzie molekuly CO_2 .

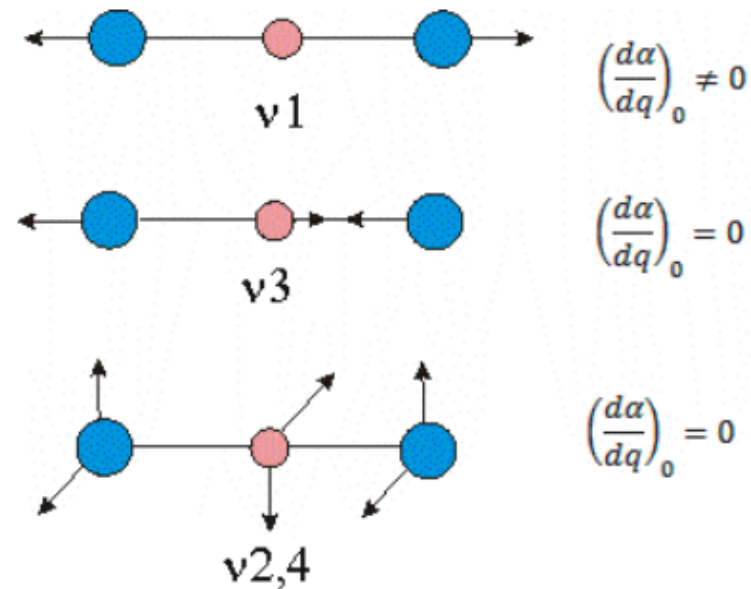
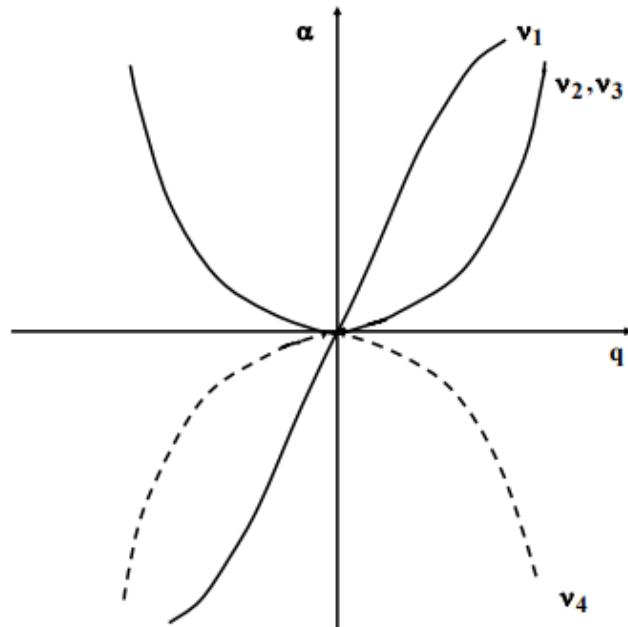
W dwukrotnie zdegenerowanym drganiu zginającym $\nu_{2,4}$ środki ciężkości ładunków rozsuwają się periodycznie w kierunku prostopadłym do osi najwyższej symetrii i powstaje oscylujący wokół zera moment dipolowy prostopadły do osi molekuly, **drganie $\nu_{2,4}$ jest w IR aktywne.**



SPEKTROSKOPIA IR I RAMANA

Rozważmy zasadę komplementarności na przykładzie molekuly CO_2 .

Polaryzowalność molekuly CO_2 zmienia się inaczej niż moment dipolowy. W drganiu ν_1 polaryzowalność w jednym półokresie jest mniejsza, a w drugim większa niż w stanie równowagi. Funkcja $\alpha=f(q)$ jest więc funkcją monotoniczną i jej pochodna w punkcie równowagi jest **różna od zera**. **Drganie ν_1 jest aktywne w widmie Ramana**. W przypadku pozostałych drgań: dla ν_3 polaryzowalność w obu półokresach jest mniejsza, a dla $\nu_{2,4}$ większa niż w stanie równowagi. **Drgania ν_3 oraz $\nu_{2,4}$ są w widmie Ramana nieaktywne**.



SPEKTROSKOPIA IR I RAMANA

Kiedy przejście ramanowskie jest zabronione?

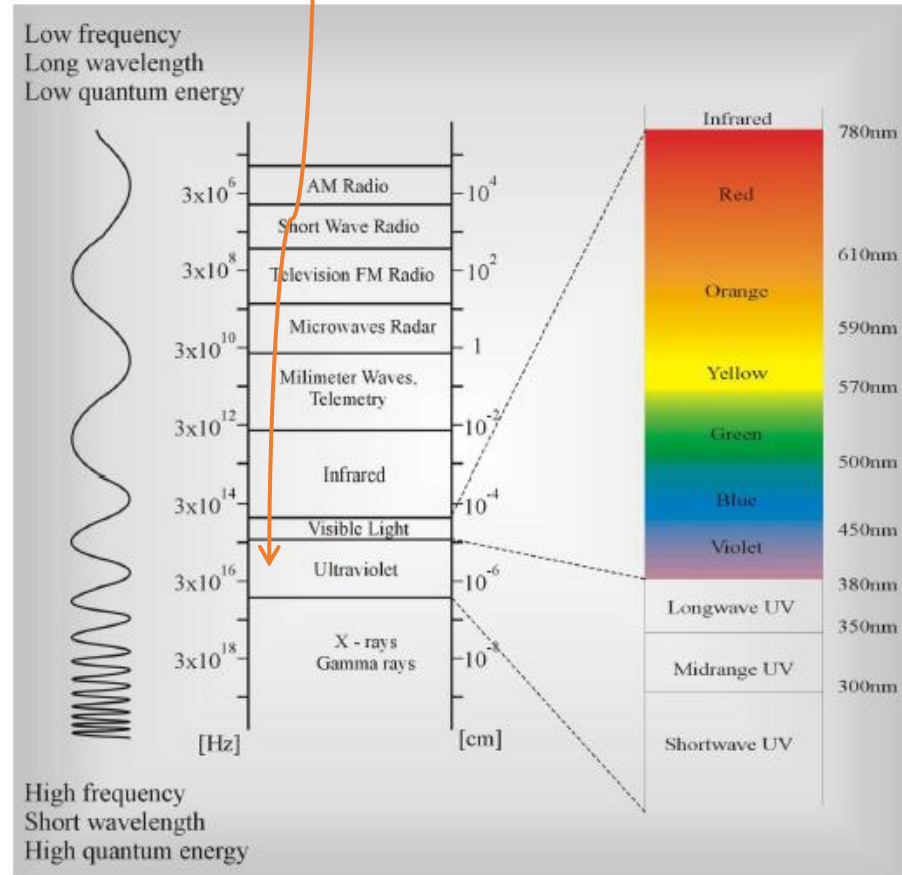
a) Polaryzowalność nie jest funkcją współrzędnej normalnej drgania (wiązania jonowe, **NaCl, KCl**)

spektroskopowe kryterium polarności wiązania: jeżeli intensywności pasma w IR rośnie, a w widmie Ramana maleje, to odpowiednie wiązanie w molekułe staje się bardziej spolaryzowane

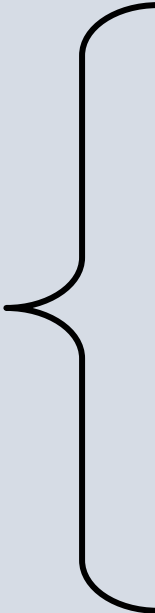
b) Polaryzowalność w trakcie drgania zmienia się tak, że w stanie równowagi pochodna polaryzowalności po współrzędnej normalnej drgania ma ekstremum

SPEKTROSKOPIA VIS-UV

Spektroskopia elektronowa



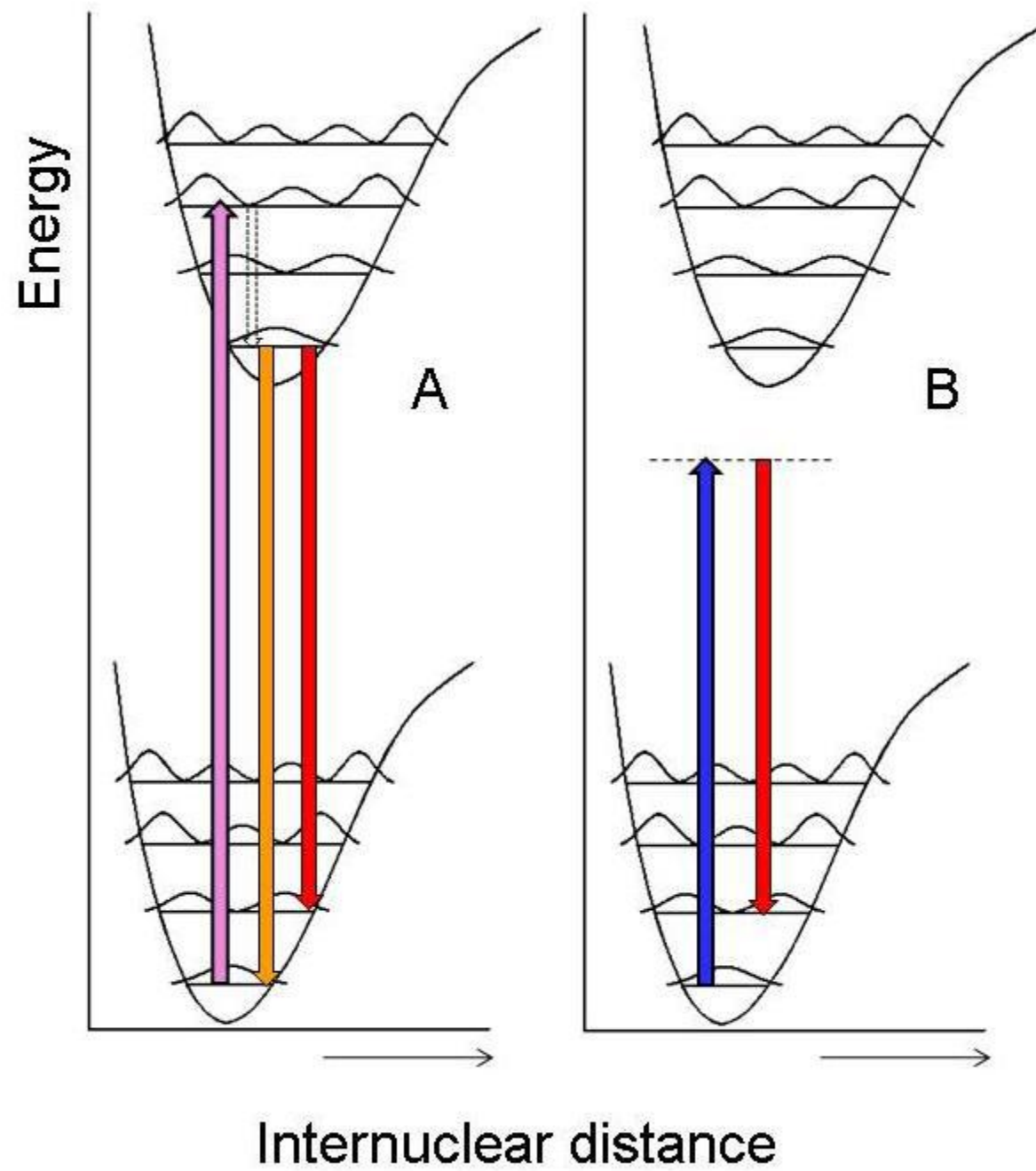
Reguły wyboru spektroskopii elektronowej


$$\Delta E = h\nu$$

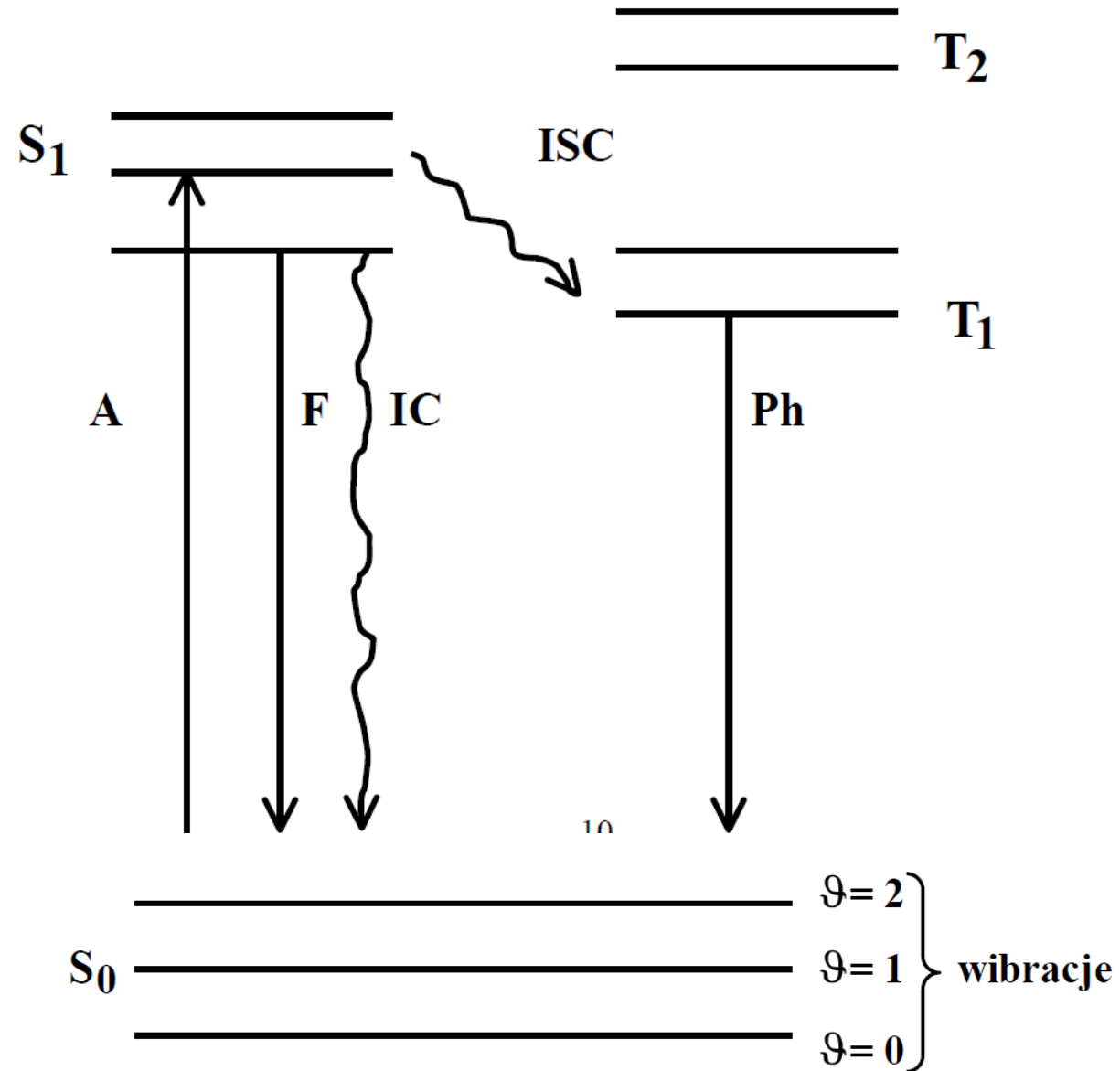
$$\int \Psi_n^* \mu \Psi_k d\tau = \mu_{nk} \neq 0$$

μ_{nk} (dipolowy moment przejścia $n \rightarrow k$)

$$\Delta S = 0$$



Schemat Jabłońskiego



SPEKTROSKOPIA WIBRACYJNA

OBRAZOWANIE WIBRACYJNE

LABORATORY OF LASER MOLECULAR SPECTROSCOPY

www.mitr.p.lodz.pl/raman



Laboratory of Raman spectroscopy

Ramanor U 1000 (Jobin Yvon), 488-514nm



Microscope Raman/AFM/SNOM/TERS, Witec



Laboratory of Raman imaging

Raman confocal microscope (Renishaw)



Laboratory of femtosecond spectroscopy

Millennia, Tsunami, Empower30, Spitfire Ace, Topas (Spectra Physics)

LABORATORY OF LASER MOLECULAR SPECTROSCOPY

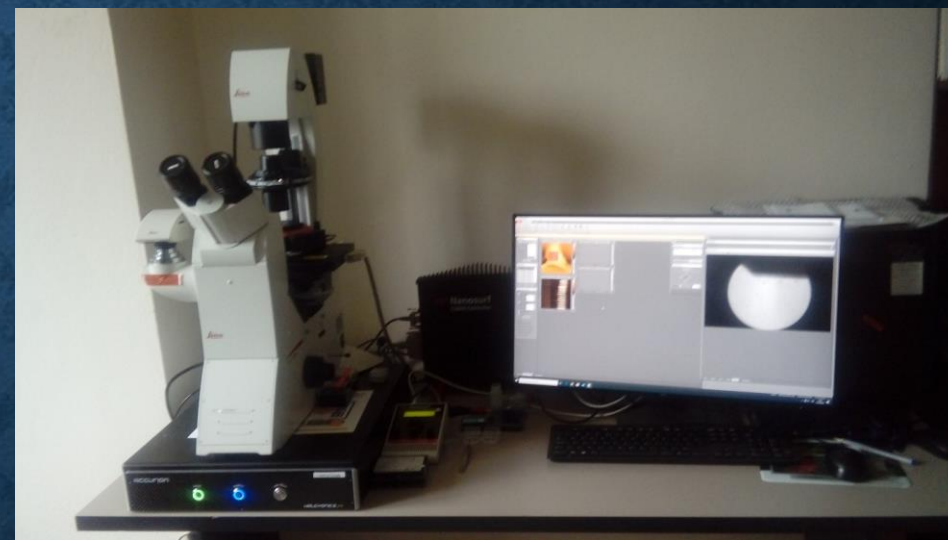
www.mitr.p.lodz.pl/raman

Laboratory of IR imaging



FTIR microscope (Agilent Technologies
Cary 600 Series)

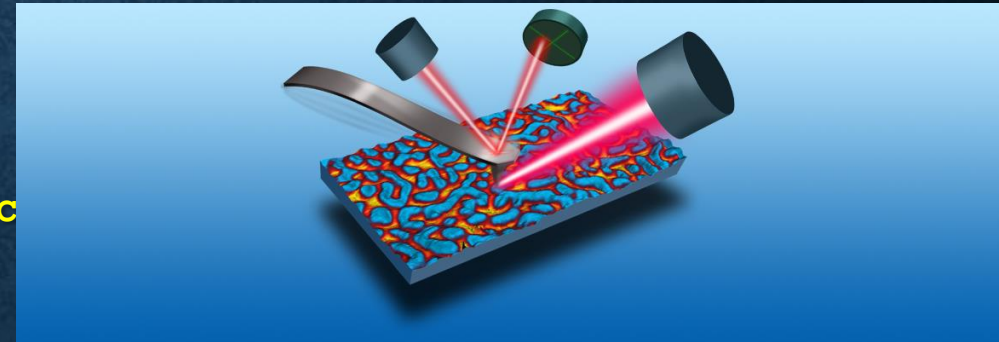
Laboratory of AFM imaging



-atomic force microscope with a controller and scanning range of $100 \times 100 \mu\text{m}$ in the X and Y axes and $15 \mu\text{m}$ in the Z axis with a positioning resolution in the XY axis of 6 pm and in the Z axis of 0.9 pm , equipped with an inverted microscope, enabling measurements in air and liquid, in contact and tapping modes, equipped with software to generate maps of mechanical properties, including: topography, stiffness,

NANOSCALE IR-AFM CHEMICAL IMAGING SOLUTION

- A system that uses the effect of photothermally induced expansion (thermal expansion) that allows the simultaneous measurement of infrared radiation absorption, sample topography and nanomechanical properties of the sample by recording changes in the amplitude and oscillation frequency of the AFM probe.
- **10nm resolution** and monolayer sensitivity IR chemical imaging
- High-speed chemical imaging - 10x faster
- Direct FTIR correlation enabling nanoscale FTIR
- The highest nanoIR performance with Tapping AFM-IR and FASTspectra



BIOLABORATORY



LABORATORY OF MOLECULAR AND CELL BIOLOGY

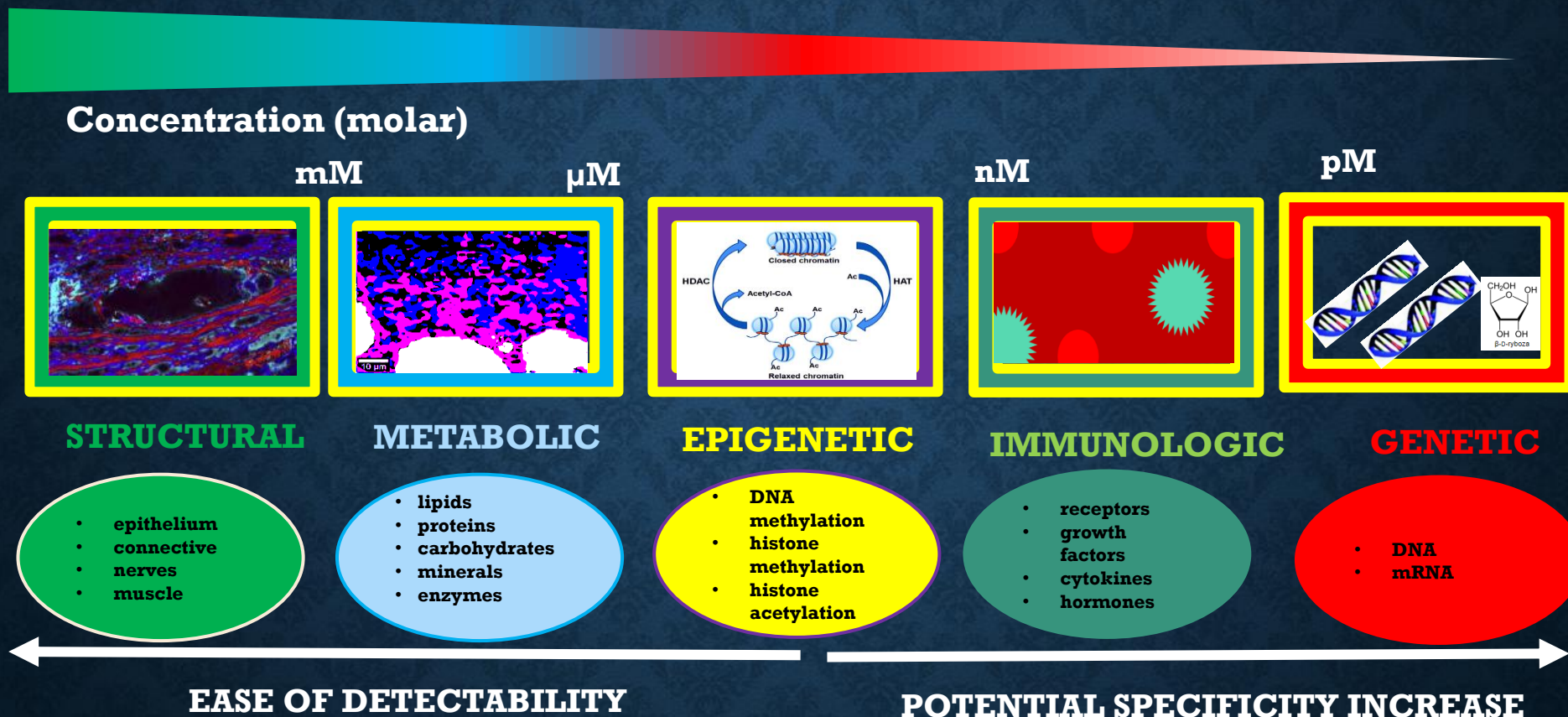


Set for cell viability analysis based on absorbance and fluorescence measurements, equipped with an automatic, inverted fluorescence microscope, for cellular bright field imaging, fluorescence and optical phase contrast imaging, equipped with a multi-detection of microplate reader - enabling the detection of fluorescence intensity, fluorescence polarization, luminescence and absorbance. Detection with 96 or 384-well plate; a set that meets the requirement of full control of imaging conditions - temperature, humidity and atmosphere composition (CO₂ / O₂) enabling measurements in cell culture conditions. Equipped with a fully insulated imaging chamber that can be heated to a minimum of 60°C, the system is equipped with an external peristaltic pump module that allows dosing of various reagents directly into the set well of the microplate

LABORATORY OF MOLECULAR AND CELL BIOLOGY

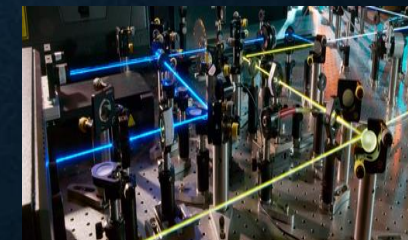
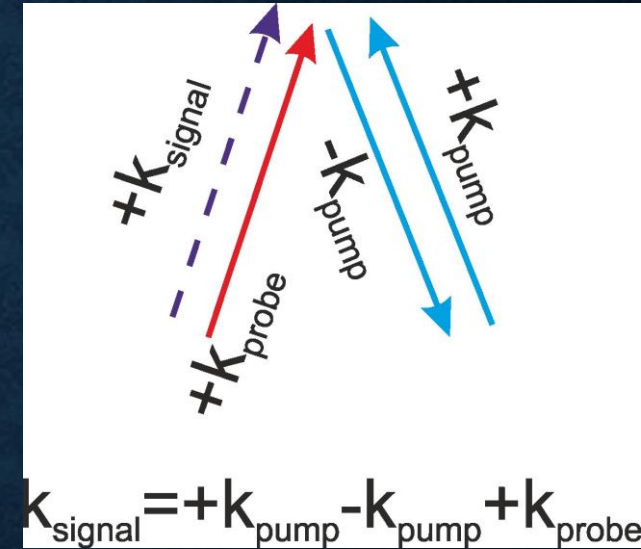
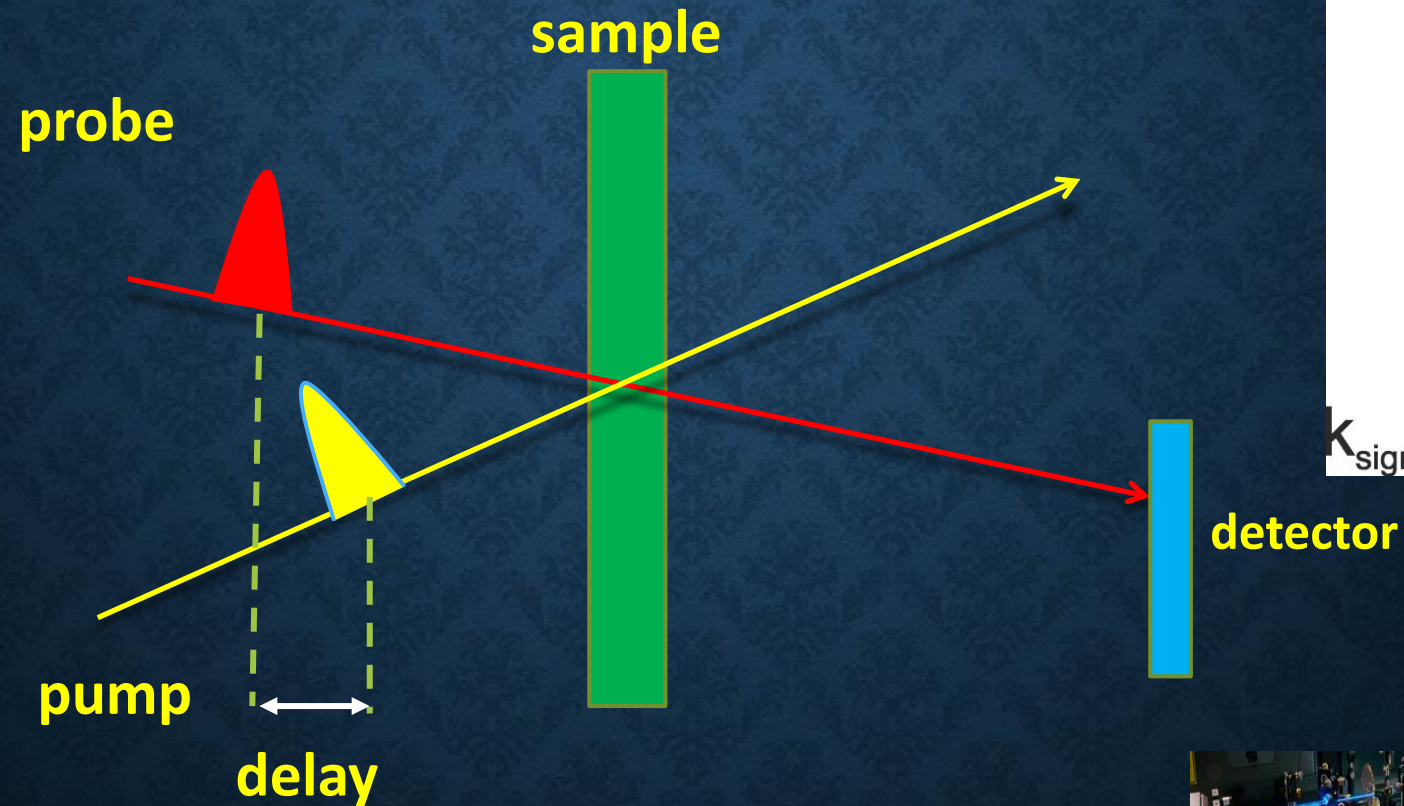
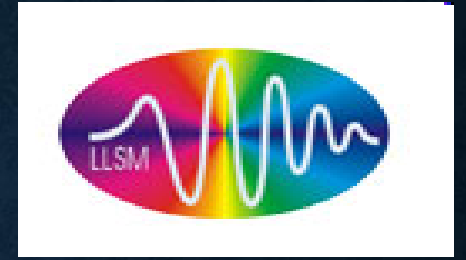


- Set for the analysis of fluorescence and chemiluminescence of biological systems enabling the visualization of proteins and antibodies, equipped with kits enabling the isolation of proteins and their staining, based on the western blot analysis, which includes the preparation of samples with the analyzed protein mixture, electrophoresis, transfer of separated proteins from the gel to the membrane, incubation with appropriate antibodies and the detection of the desired protein, by using visible and infrared light.

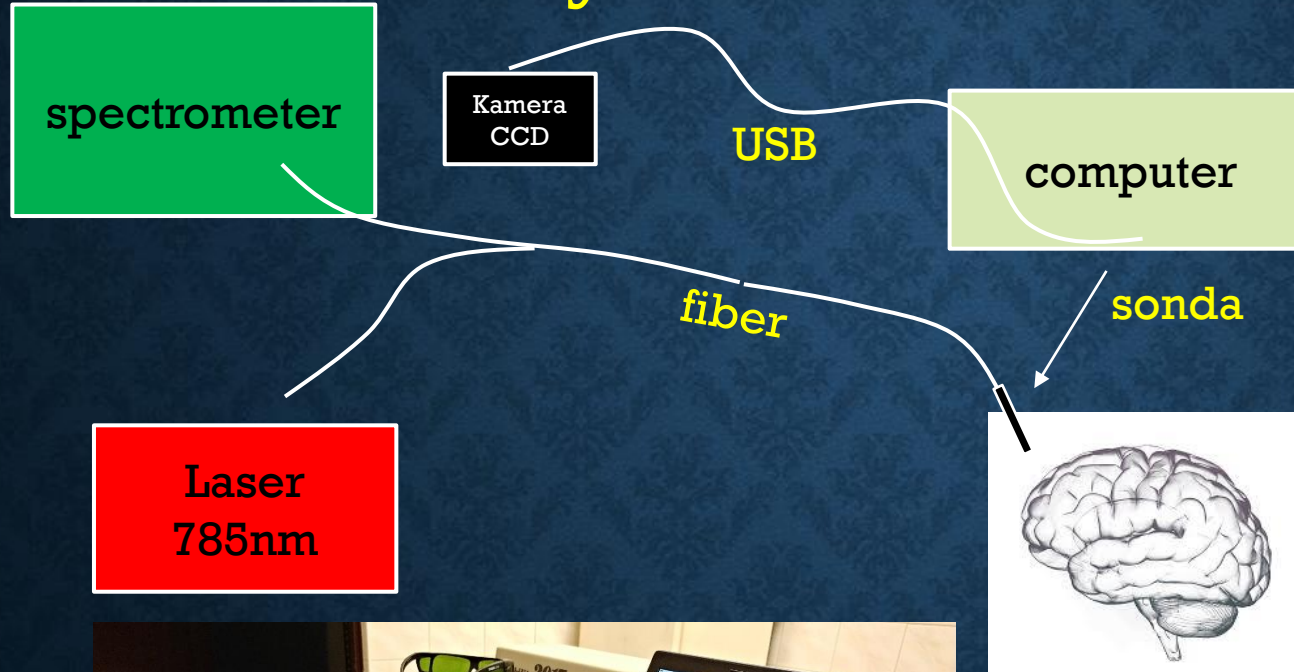


Detectable molecular features in tissue can be divided into five physiological categories: structural, metabolic, epigenetic, immunologic and genetic. The key factor limiting most imaging methods is signal-to-noise related to the concentration of the feature to be imaged. Fig.1 shows detectable molecular features in tissue (specificity) vs. concentration (sensitivity). Metabolic markers and immunologic markers (growth factors, cytokines or hormones) can be secreted at concentrations several times higher than surface receptors, which make them easier to detect.

PUMP - PROBE TRANSIENT ABSORPTION SPECTROSCOPY



The real-time *in vivo* neurosurgical Raman system in our laboratory

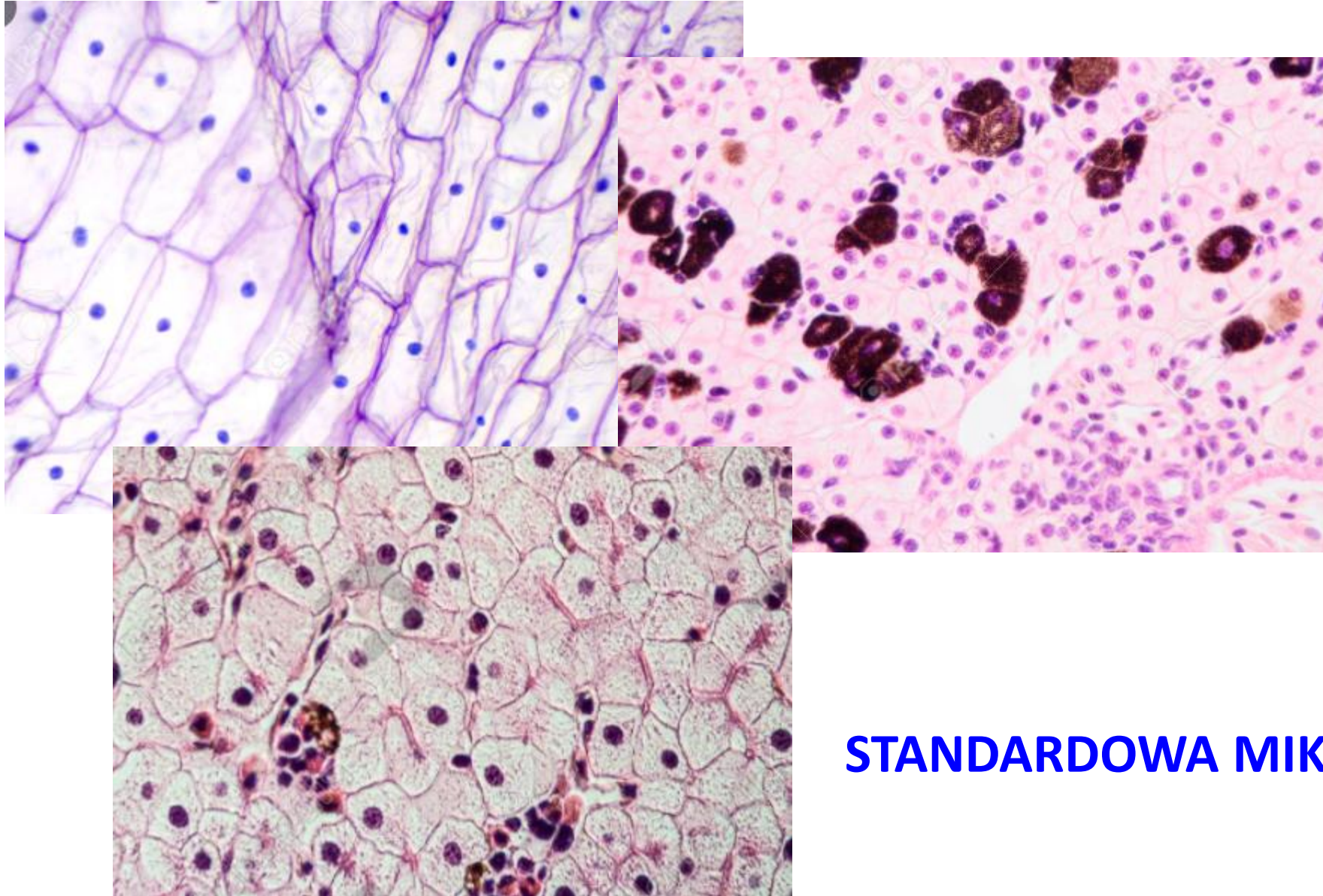


RAMAN SPECTROSCOPY GUIDES IN VIVO BRAIN OPTICAL BIOPSIES



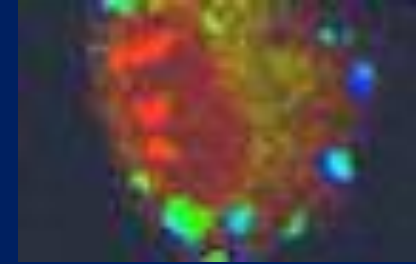
OBRAZOWANIE RAMANA





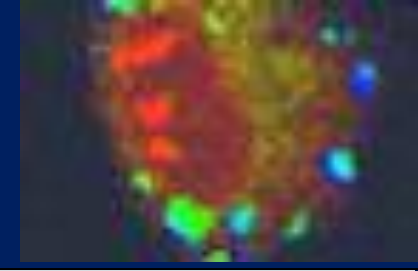
STANDARDOWA MIKROSKOPIA OPTYCZNA

Obrazowanie Ramana

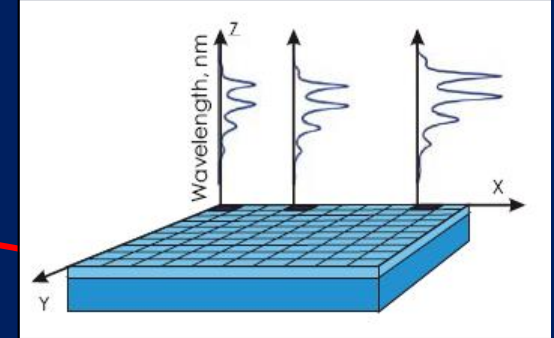


- Mikroskopia Ramana
- Konfokalna mikroskopia Ramana
- Zebranie przestrzennie rozdzielonych danych metodą skanowania zogniskowanej wiązki laserowej, albo przesuwanie próbki za pomocą mikroskopowego stolika translacyjnego
- Otrzymane dane zostają wykorzystane do zbudowania obrazu spektralnego
- Ulepszenie obrazów spektralnych metodami statystycznymi Principal Component analysis (PCA), Vertex Component Analysis (VCA), Hierarchical Cluster Analysis (HCA)

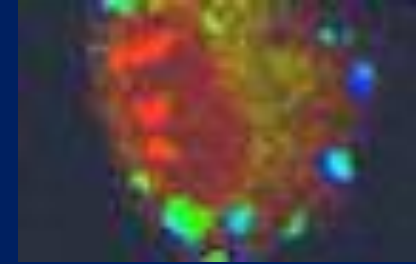
Obrazowanie Ramana



- Mikroskopia Ramana
- Konfokalna mikroskopia Ramana
- Zebranie przestrzennie rozdzielonych danych metodą skanowania zogniskowanej wiązki laserowej, albo przesuwanie próbki za pomocą mikroskopowego stolika translacyjnego
- Otrzymane dane zostają wykorzystane do zbudowania obrazu spektralnego
- Ulepszenie obrazów spektralnych metodami statystycznymi Principal Component analysis (PCA), Vertex Component Analysis (VCA), Hierarchical Cluster Analysis (HCA)



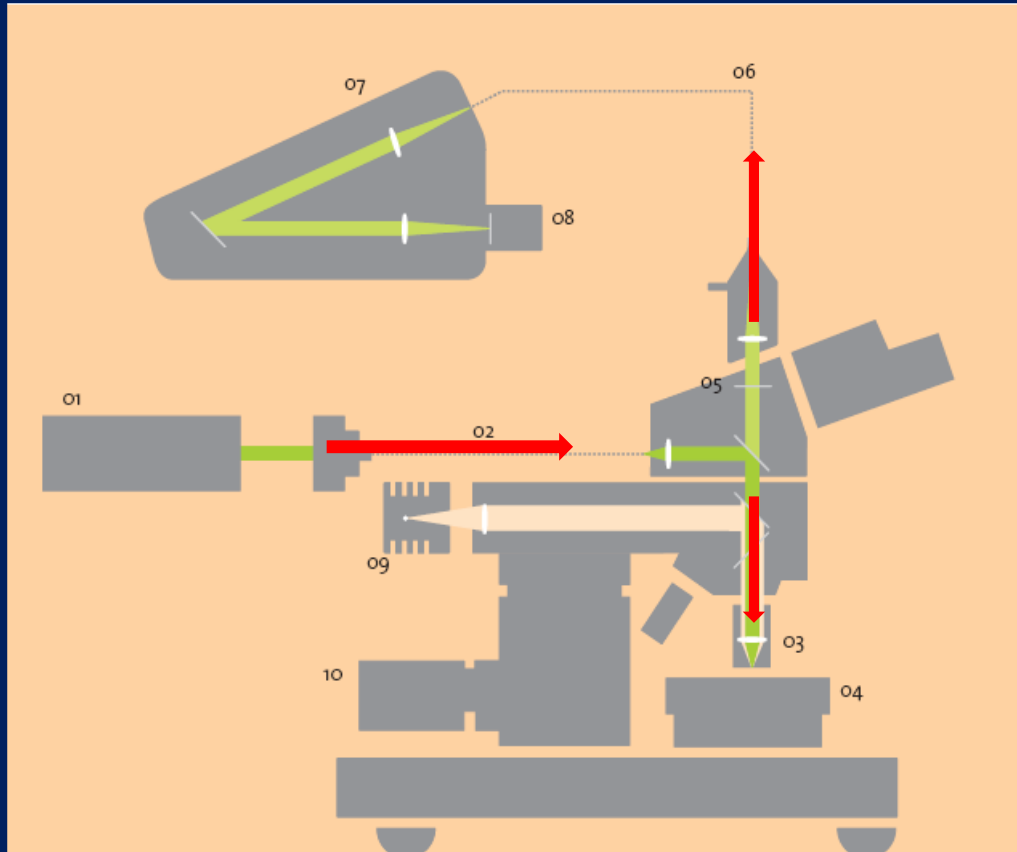
Obrazowanie Ramana



- Mikroskopia Ramana
- Konfokalna mikroskopia Ramana
- Zebranie przestrzennie rozdzielonych danych metodą skanowania zogniskowanej wiązki laserowej, albo przesuwanie próbki za pomocą mikroskopowego stolika translacyjnego
- Otrzymane dane zostają wykorzystane do zbudowania obrazu spektralnego
- Ulepszenie obrazów spektralnych metodami statystycznymi Principal Component analysis (PCA), Vertex Component Analysis (VCA), Hierarchical Cluster Analysis (HCA)

<http://www.witec.de/en/download/Raman/alpha300Rflyer.pdf>

Obrazowanie Ramana



alpha300 R Beam Path

01. laser
02. single mode fiber
03. objective
04. scan table
05. filter

06. multi mode fiber
07. lense based spectroscopy system UHTS 300
08. CCD detector
09. white light illumination
10. Z-stage for focusing

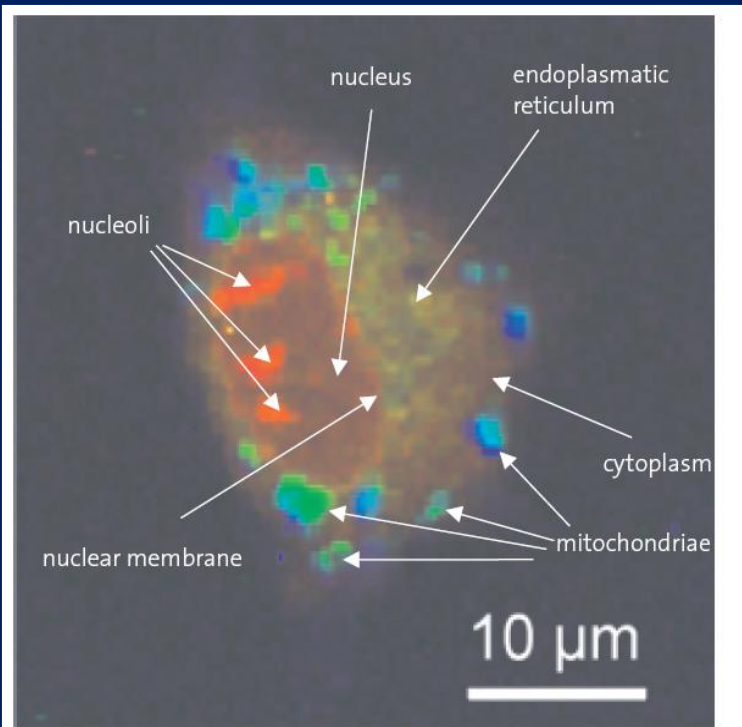
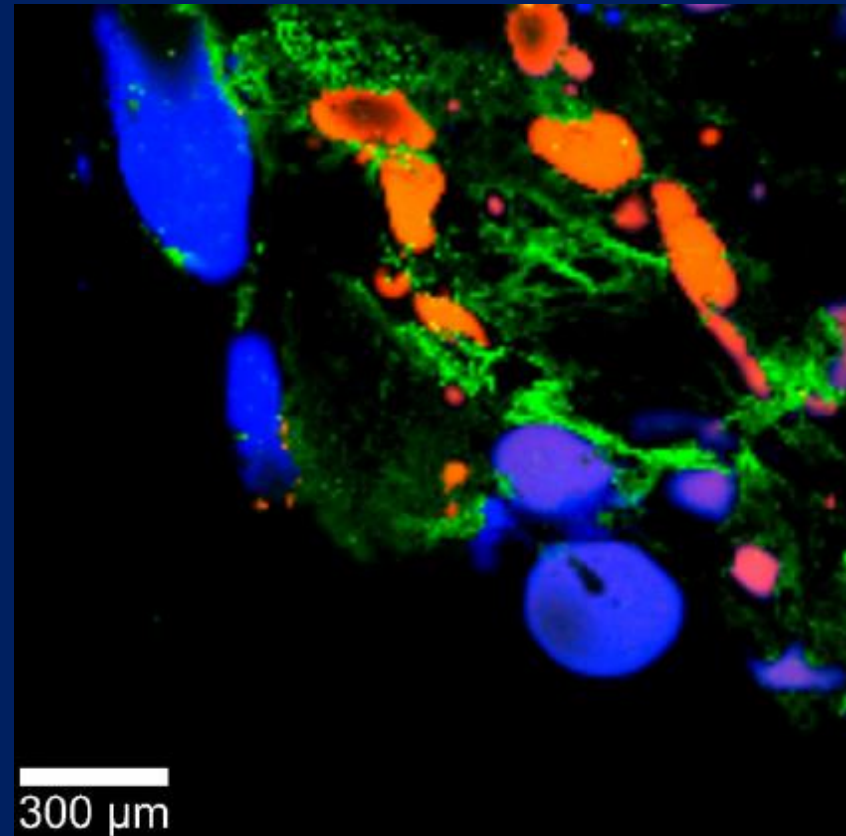


Fig. 5: Color- coded image of the different regions of the cell.
Using the CRM 200 and its software tools, it is not necessary to dye the sample in advance.

alpha 700 RA (Witec)

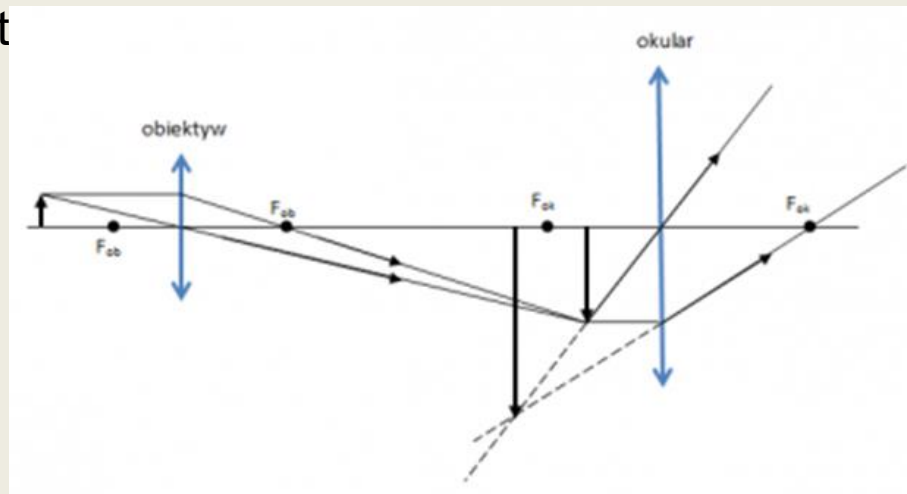


**Raman human breast tissue image-
Raman „optical histopathology” image**

Typically, the sample in Raman imaging is illuminated with ca. 10 mW of the laser power focused into a spot of ca. 200 nm radius that gives a power density of 10^7 W/cm^2 which is about a limit of damage for the biological tissue.

Źródło światła np. żarówka. **Obiekttyw** i **okular** są soczewkami skupiającymi lub częścią

układami soczewek o dodat

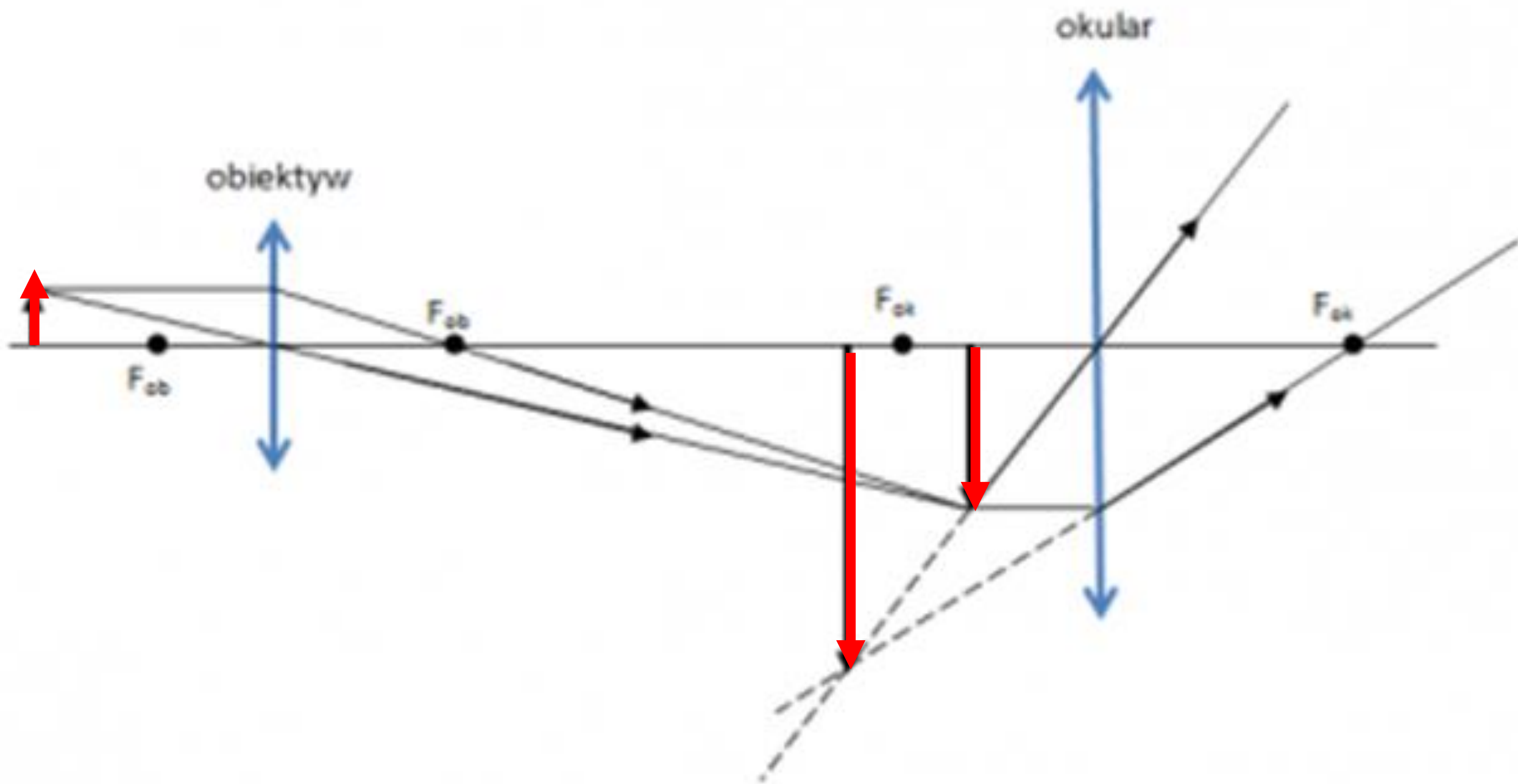


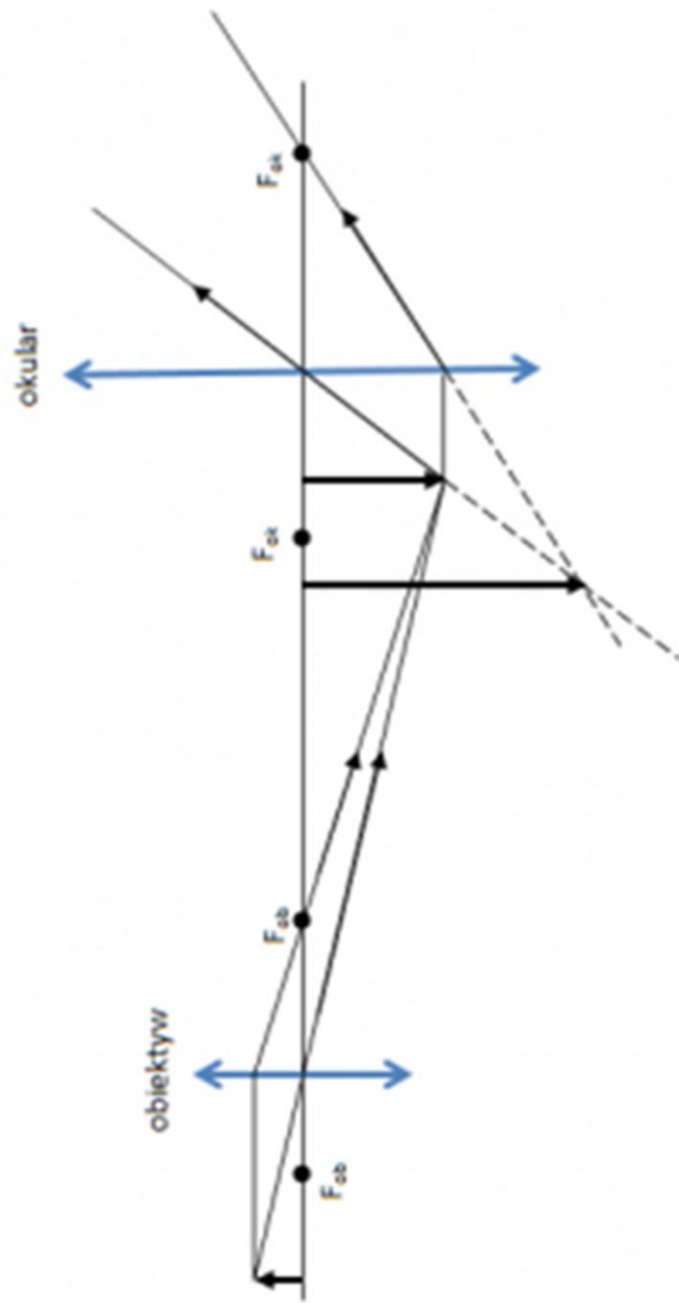
Na rysunku przedstawiono konstrukcję obrazu powstającego w **mikroskopie**. Wiązka promieni, przechodząca przez **obiektyw**, tworzy odwrócony, rzeczywisty i powiększony (do ok. 100 razy) obraz badanego przedmiotu. Następnie obraz ten jest oglądany przez **okular**, pełniący rolę **lupy**, która go dodatkowo powiększa do około 20 razy.

Przybliżone powiększenie **mikroskopu optycznego** można obliczyć ze wzoru:

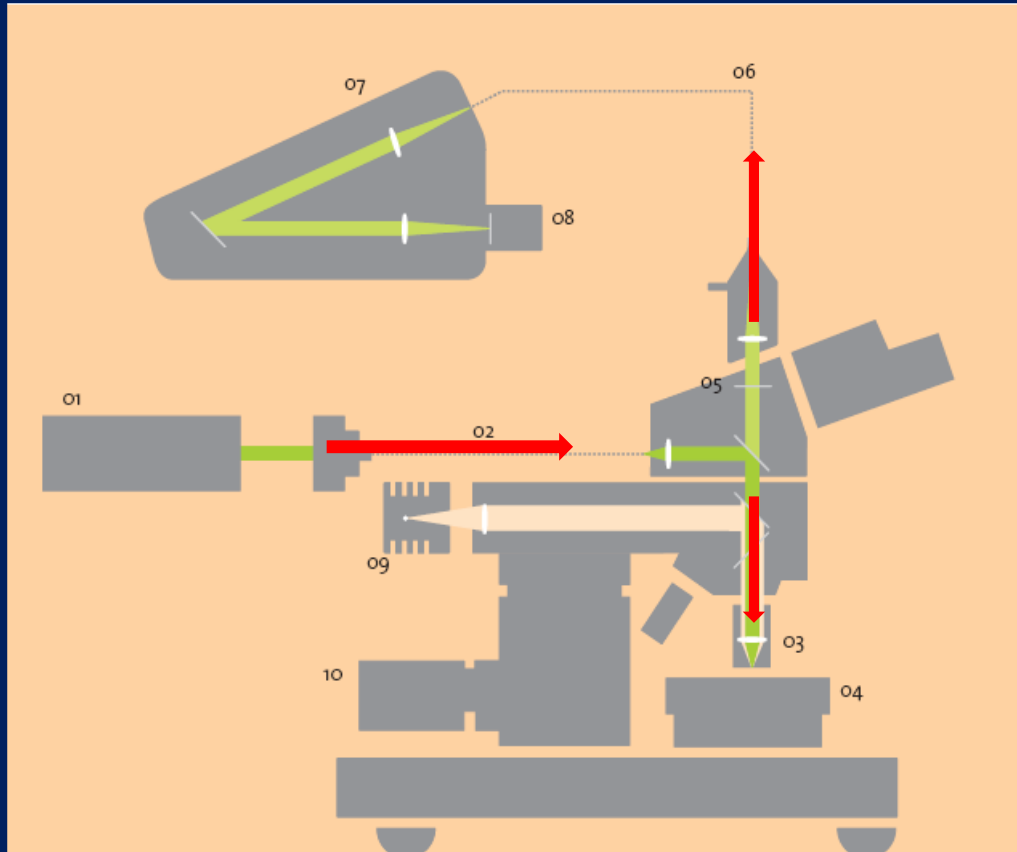
gdzie: l – długość tubusu mikroskopu, $D \approx 25 \text{ cm}$ – odległość dobrego widzenia, f_{ob} – ogniskowa obiektywu, f_{ok} – ogniskowa okularu.

Maksymalne powiększenie uzyskiwane przez **mikroskop optyczny** jest ograniczone poprzez **zjawisko dyfrakcji światła**, które przy dużych powiększeniach znacznie zmniejsza zdolność rozdzielczą przyrządu. W celu uzyskania powiększeń większych od 2000 razy należy posłużyć się **mikroskopem elektronowym**, który działa w oparciu o **prawa fizyki kwantowej**.





Obrazowanie Ramana



zjawisko dyfrakcji światła,
które przy dużych
powiększeniach znacznie
zmniejsza zdolność
rozdzielczą przyrządu

$$\delta_{lat} = 0.61 \lambda / NA$$

$$\delta_{ax} = \frac{2 \lambda n}{(NA)^2}$$

alpha300 R Beam Path

- 01. laser
- 02. single mode fiber
- 03. objective
- 04. scan table
- 05. filter

- 06. multi mode fiber
- 07. lense based spectroscopy system UHTS 300
- 08. CCD detector
- 09. white light illumination
- 10. Z-stage for focusing

CONFOCAL FLUORESCENCE MICROSCOPY

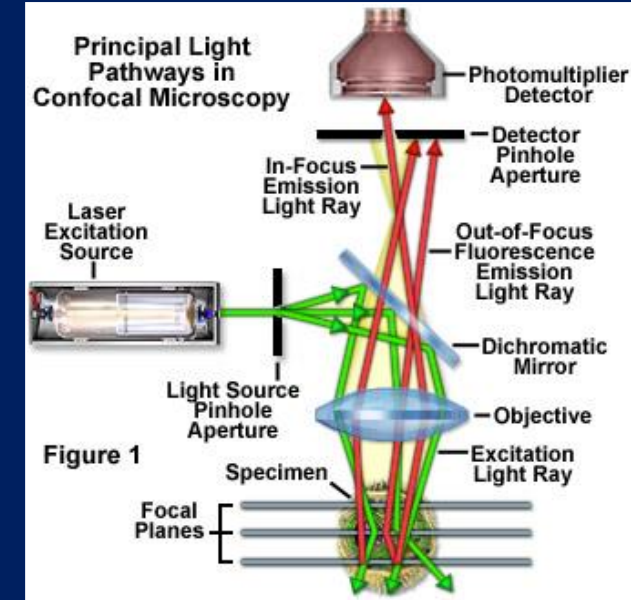
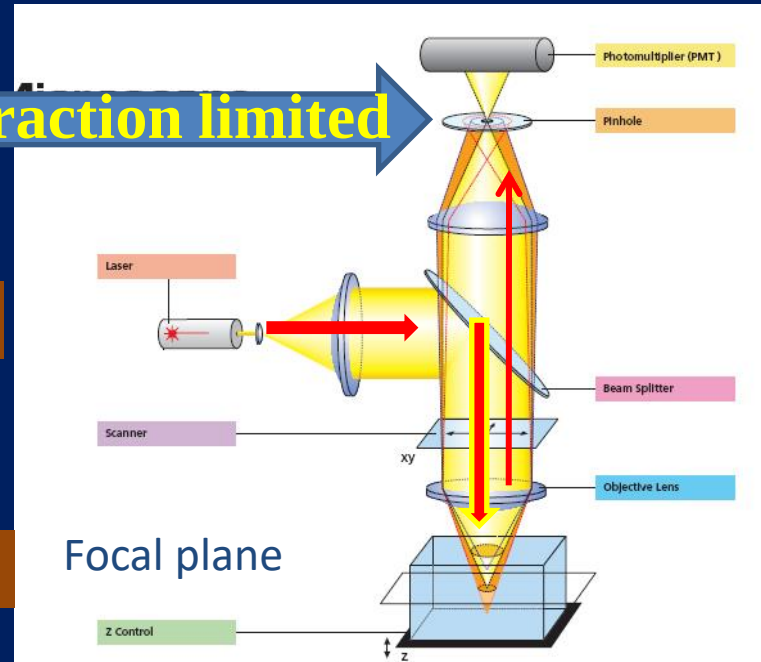
diffraction limited

$$\delta_{lat} = 0.61 \lambda / NA$$

lateral

$$\delta_{ax} = 2 \lambda n / (NA)^2$$

axial



3D imaging and deep profiling
due to confocal configuration

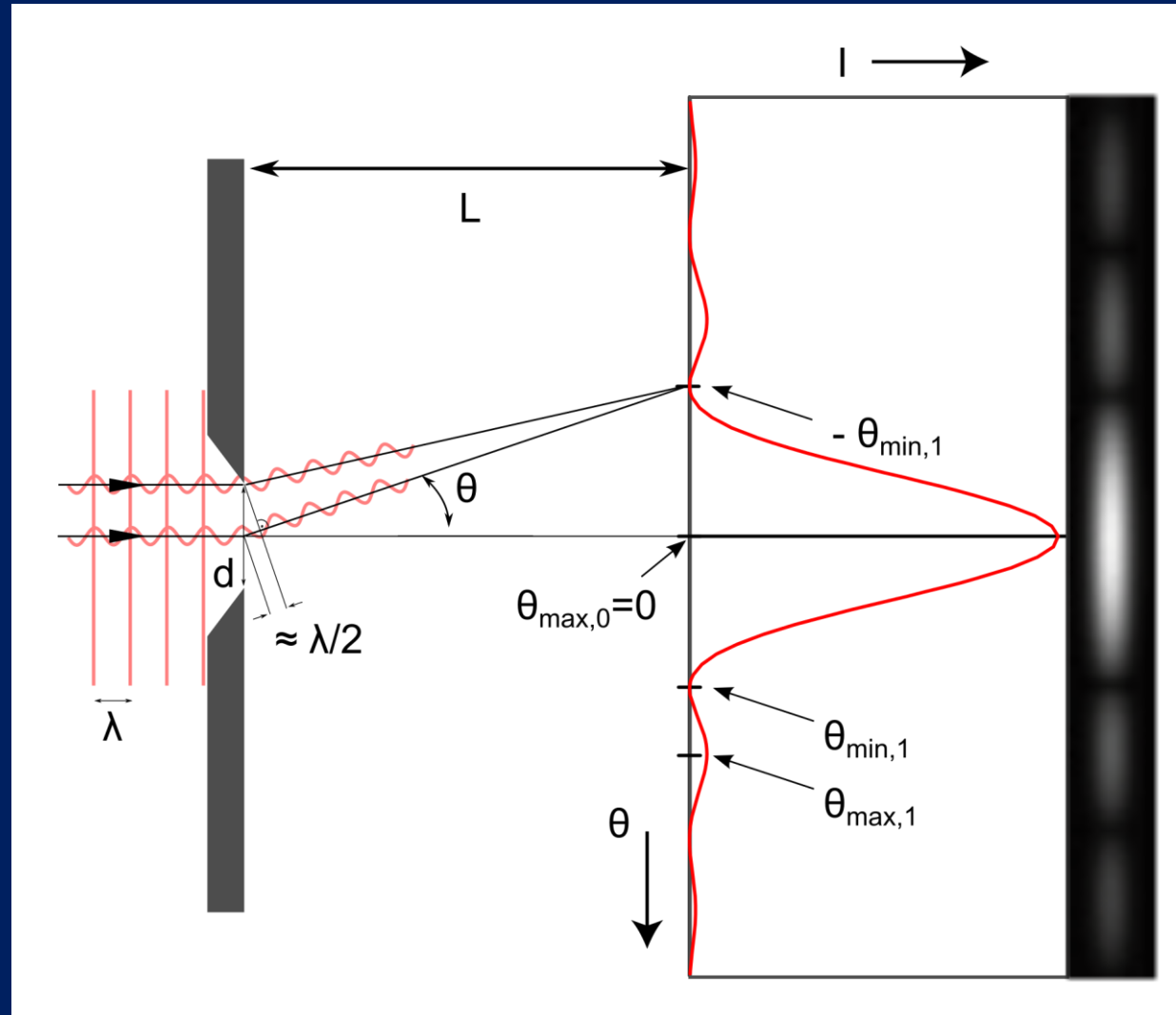
wide-field microscopy

$$R \gg \lambda$$



The lateral and axial spatial resolution, δ_{lat} and δ_{ax} , are determined by the diffraction limit, as discussed before:
 $\delta_{lat} = 0.61 \lambda / NA$
 $\delta_{ax} = 2 \lambda n / (NA)^2$
 where λ is the wavelength of exciting light, n the refractive index, and NA the numeric aperture of the objective.

Dyfrakcja na szczelinie

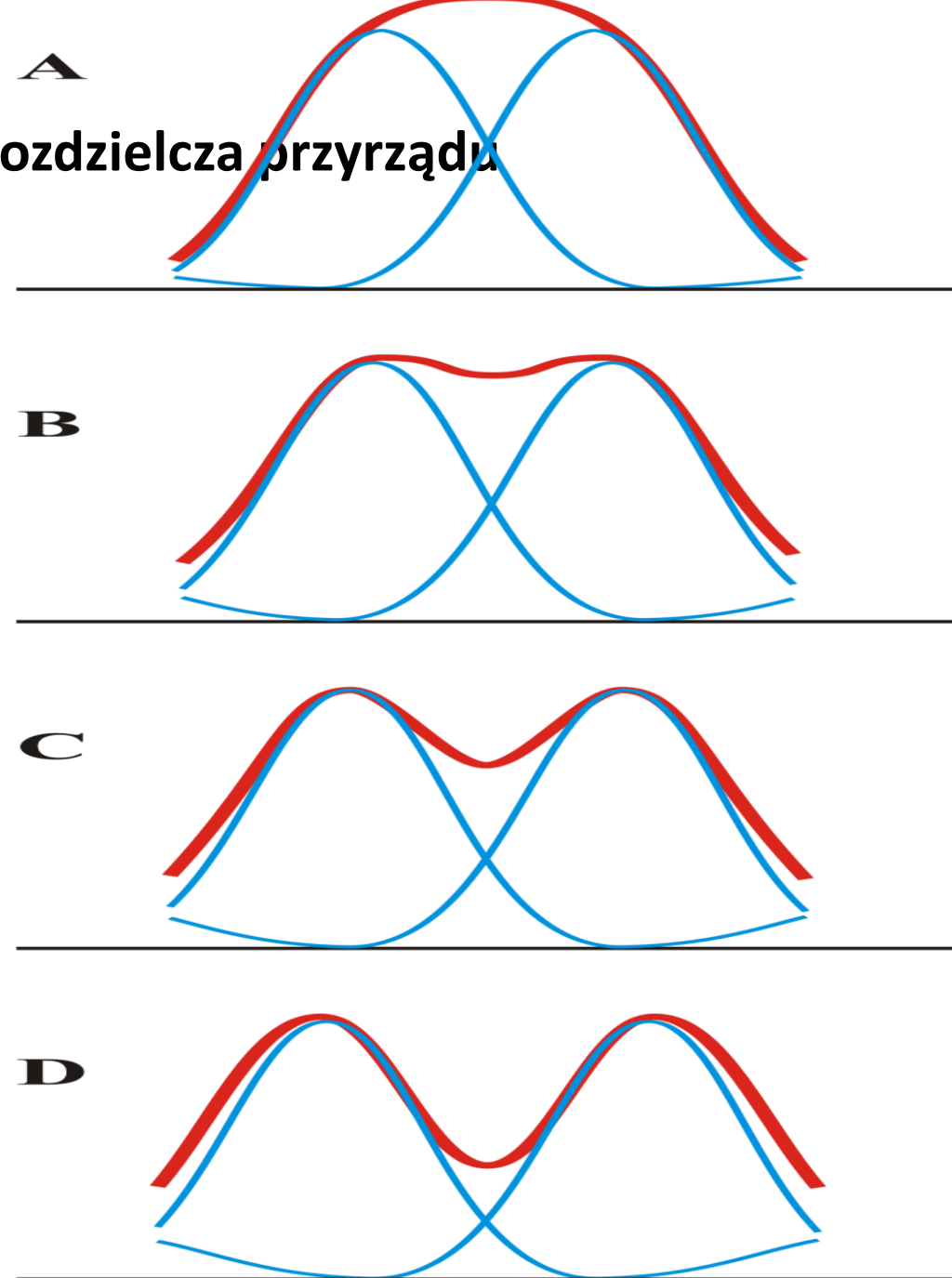


Kryterium Rayleigha zdolność rozdzielcza przyrządu

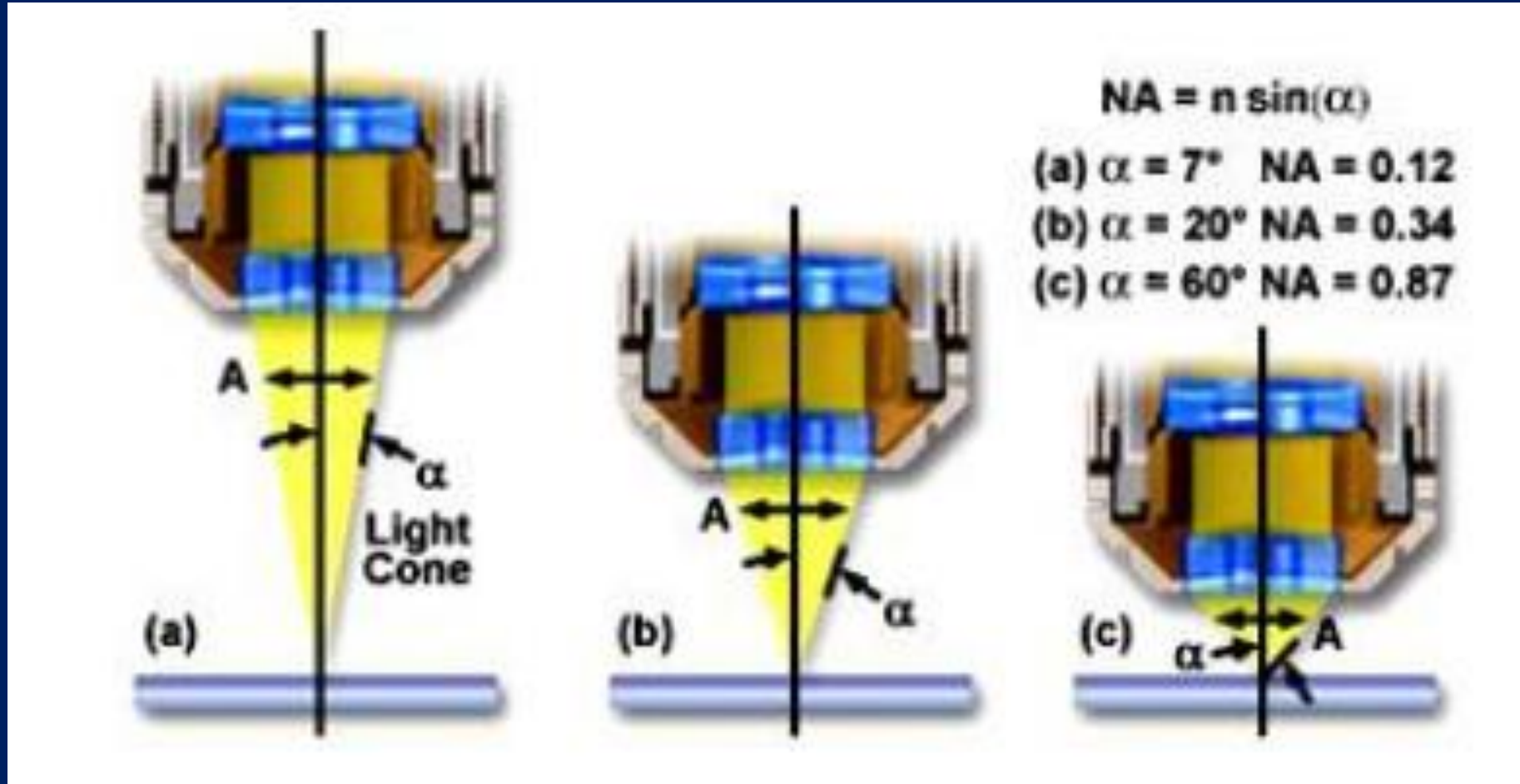
orientacyjne kryterium pozwalające ocenić, czy dwie linie widmowe światła są rozdzielone. Lord Rayleigh, najprawdopodobniej autor pojęcia „zdolność rozdzielcza”, za warunek rozróżnialności obrazów dyfrakcyjnych dwóch równoległych linii widmowych przyjął następujące kryterium:

Maksimum jednego obrazu dyfrakcyjnego leży w miejscu minimum drugiego obrazu

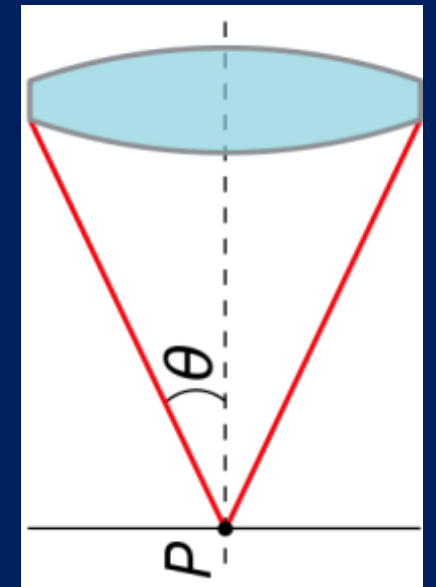
Kryterium to stosowane jest do określania zdolności rozdzielczej elementów i układów optycznych. Nie jest ono ścisłym prawem i ma charakter jedynie narzędzia pomocniczego. W zależności od warunków (natężenia światła, braku lub obecności światła rozproszonego, powierzchni ekranu) można rozróżniać obiekty, które nie spełniają ściśle kryterium Rayleigha. W niesprzyjających warunkach, nawet obrazy spełniające warunek Rayleigha mogą pozostać nierozróżnialne.



APERTURA NUMERYCZNA

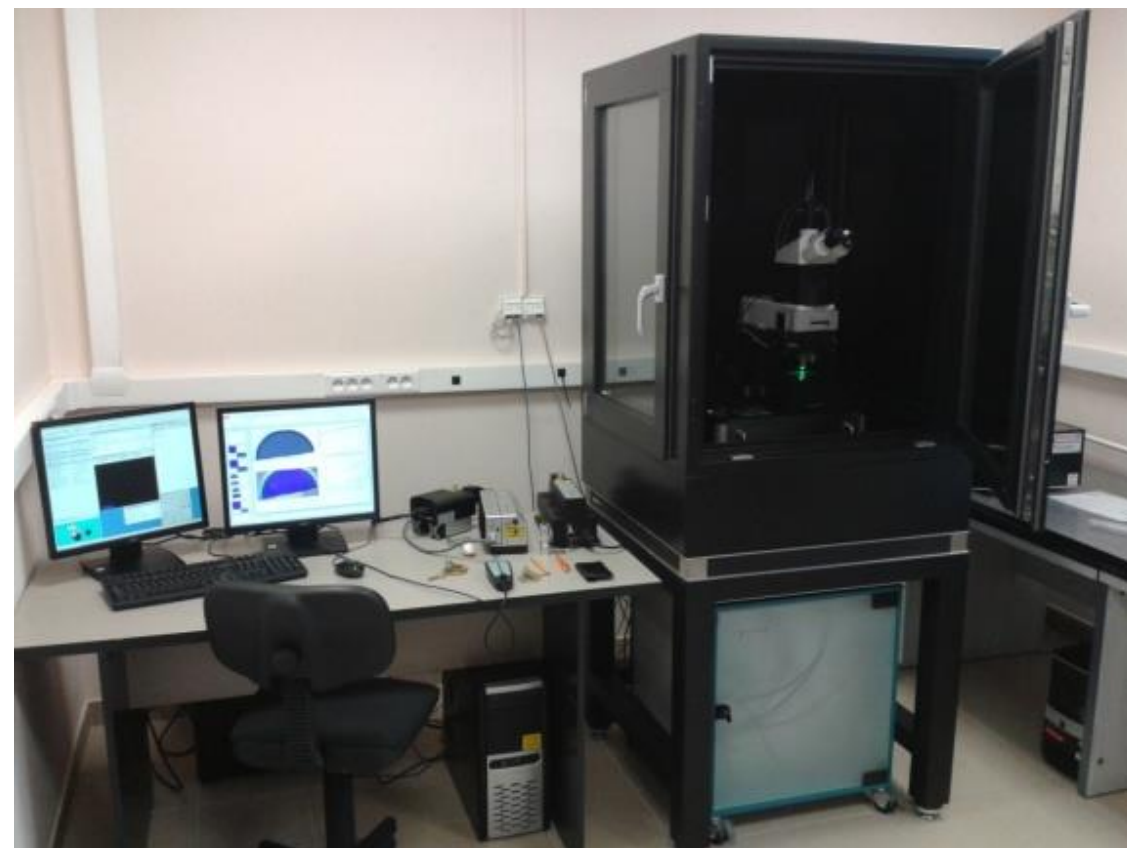
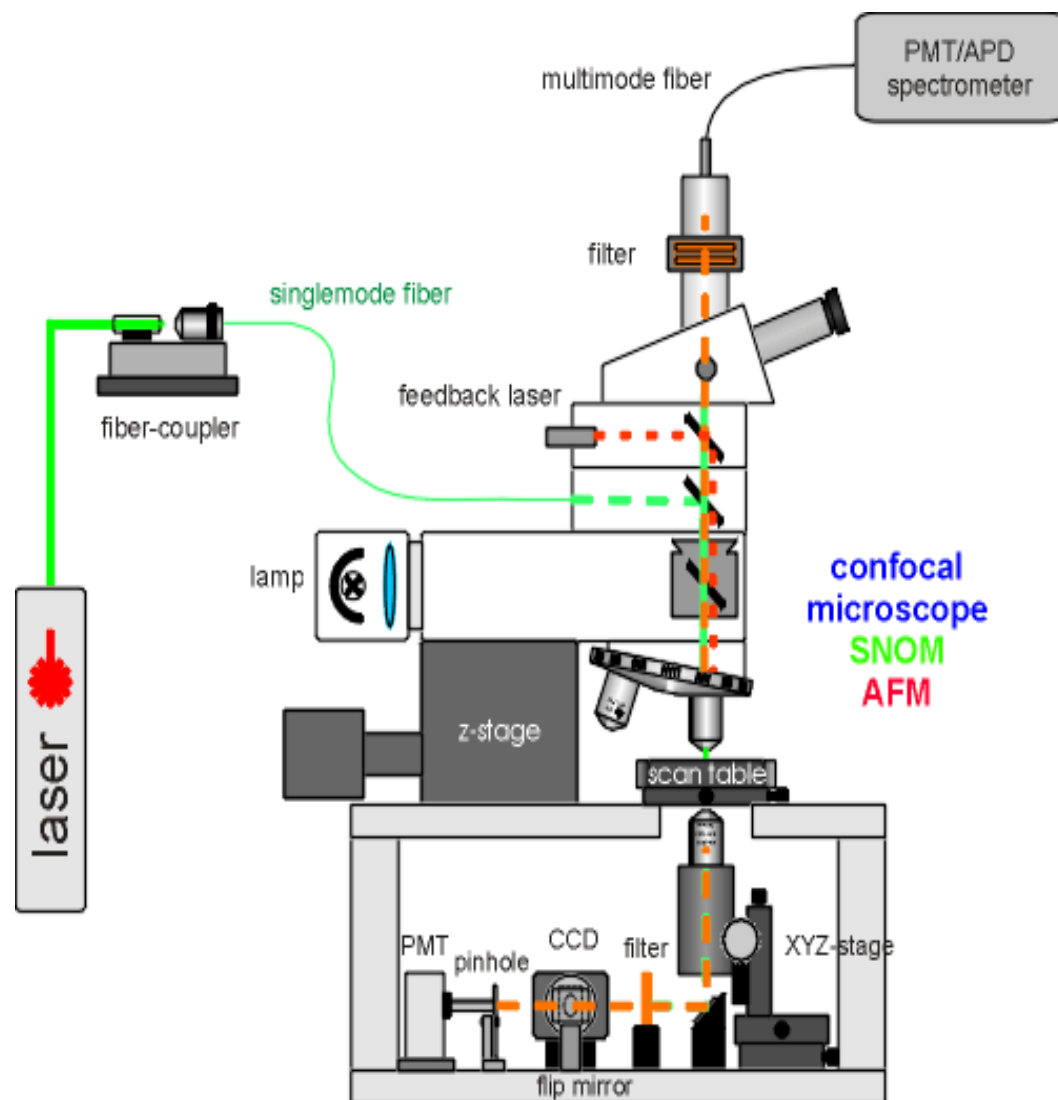


$$NA = n \sin \Theta$$



θ - połowa maksymalnego kąta pod którym światło może padać z punktu na przyrząd

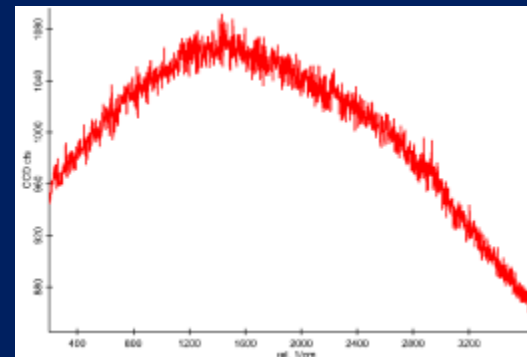
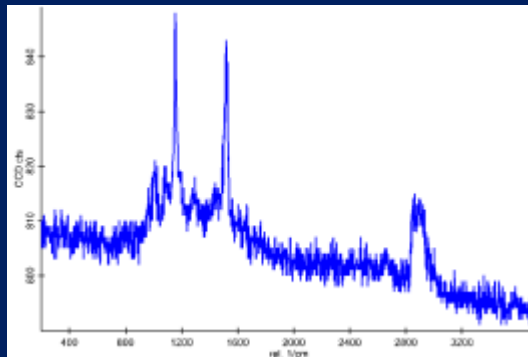
KONFOKALNA MIKROSPEKTROSKOPIA RAMAN



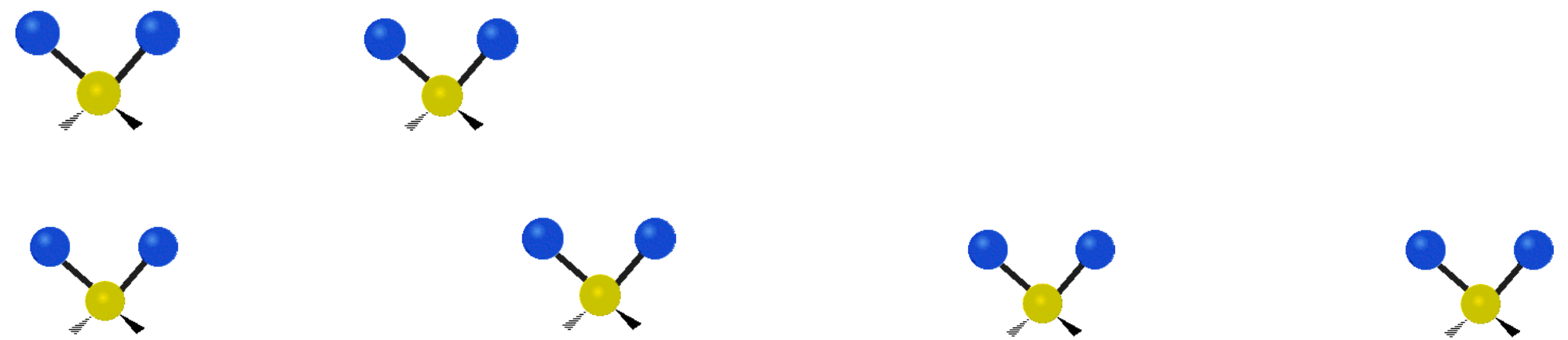
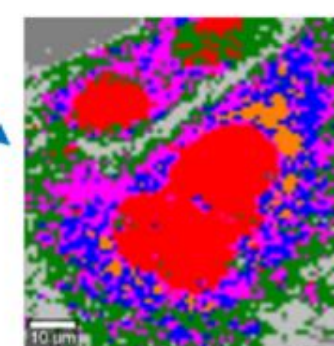
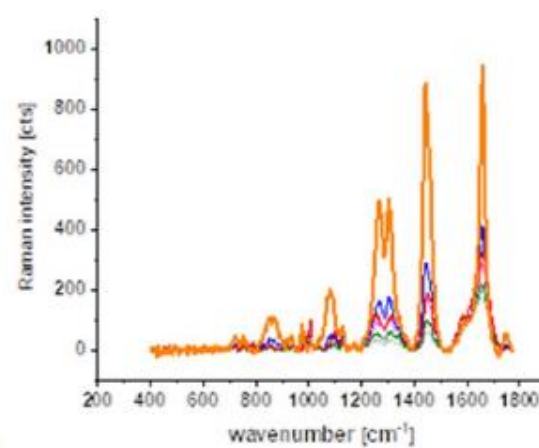
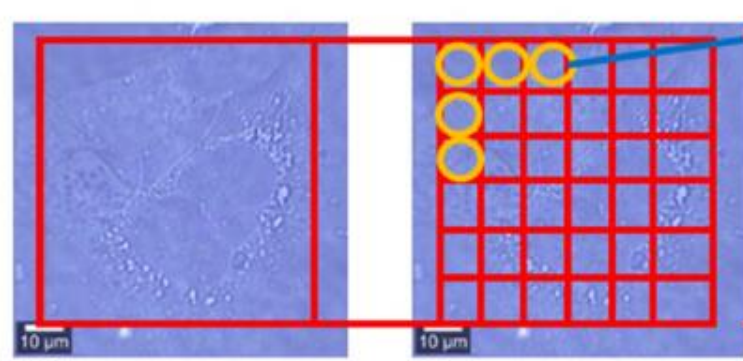
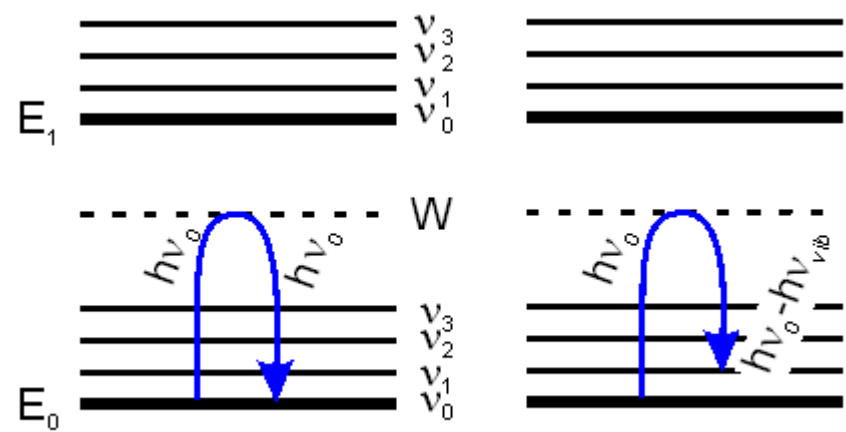
*Konfokalny mikroskop
ramanowski*

Advantages of Raman microscopy over fluorescence

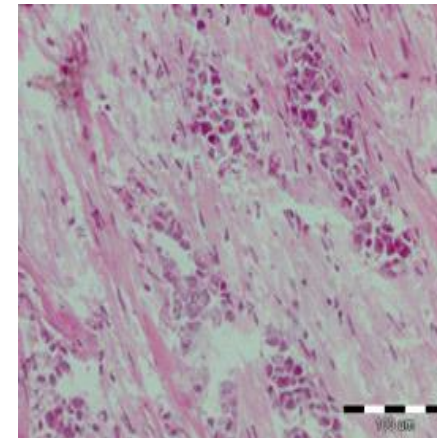
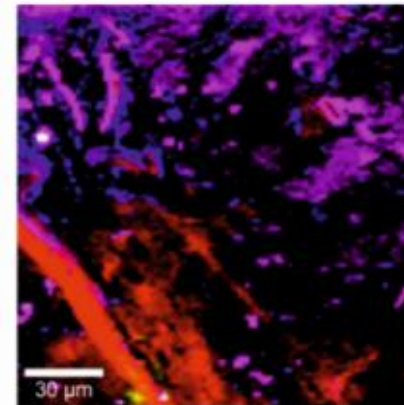
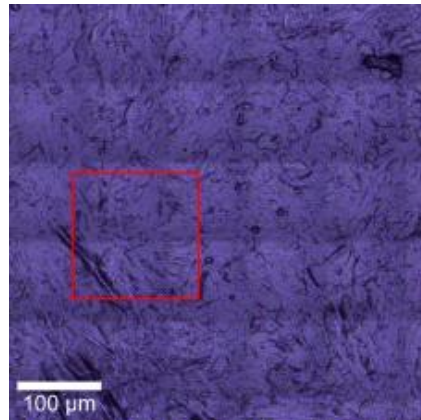
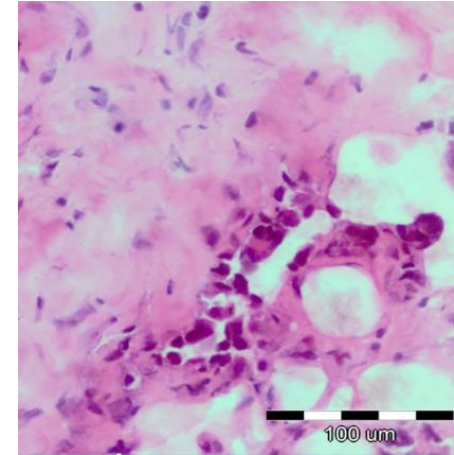
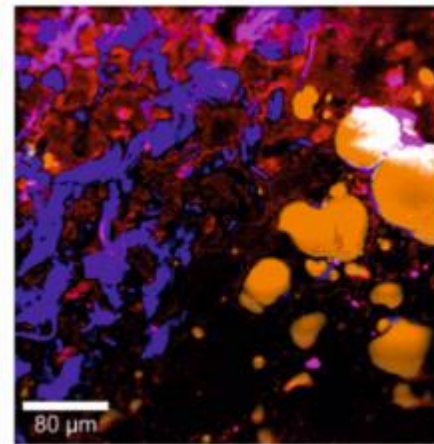
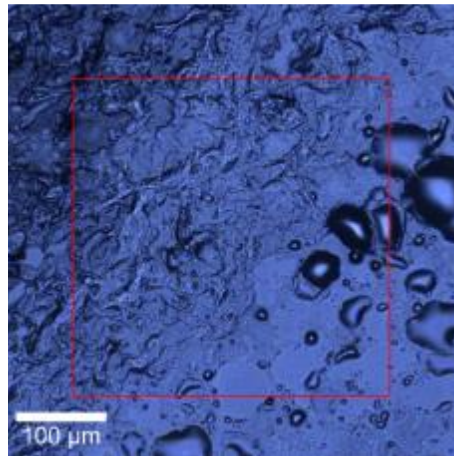
- Raman spectroscopy needs no external labelling
 - Raman scattering (induced polarizability)
- Biochemical signatures of the molecules are richer as each component of the tissue provides its own pattern of vibrational behaviour, for example nucleic acids, lipids, biological chromophores, proteins are characterized by narrow vibrational peaks in different spectral regions



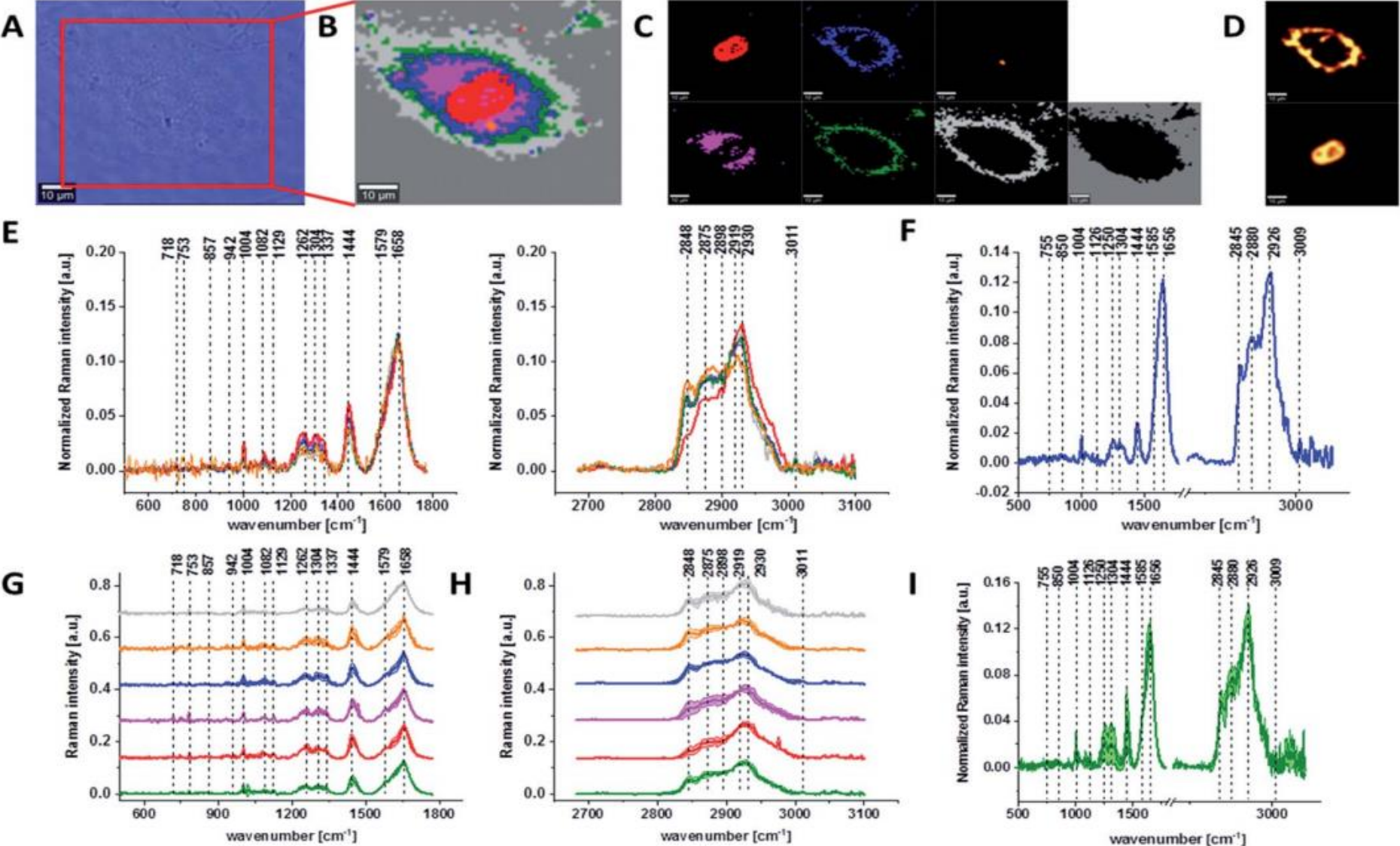
SKANINGOWA KONFOKALNA MIKROSPEKTROSKOPIA RAMANA



SKANINGOWA KONFOKALNA MIKROSPEKTROSKOPIA RAMANA

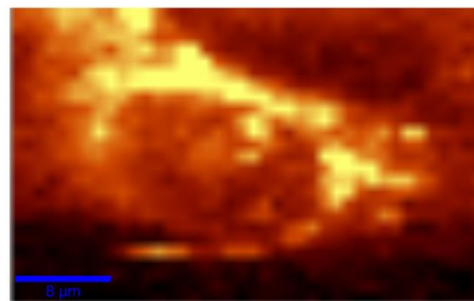
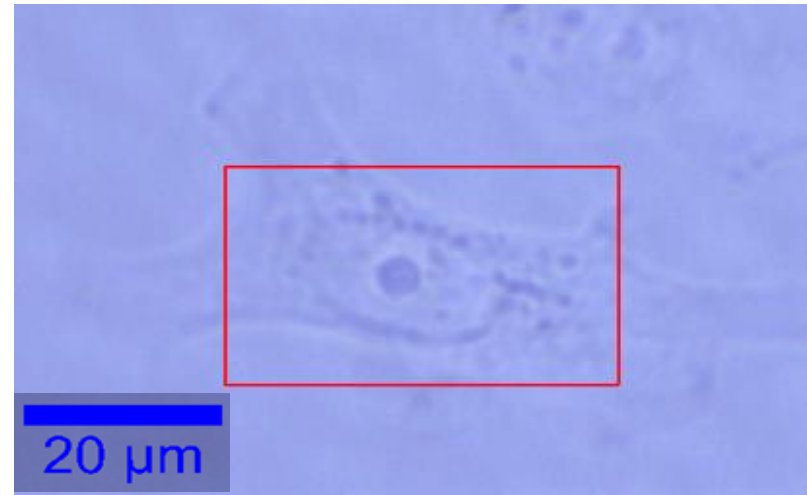


SKANINGOWA KONFOKALNA MIKROSPEKTROSKOPIA RAMANA

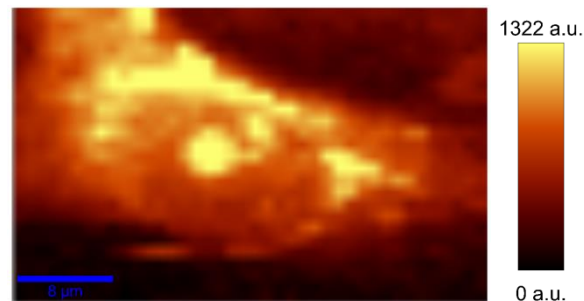


Biochemistry and Nanomechanical Properties of Human Colon Cells upon Simvastatin, Lovastatin, and Mevastatin Supplementations: Raman Imaging and AFM Studies
Karolina Beton* and Beata Brożek-Pluska*

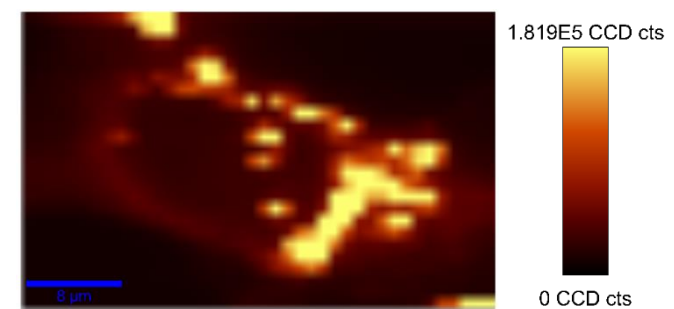
SKANINGOWA KONFOKALNA MIKROSPEKTROSKOPIA RAMANA



Lipid droplets
(2820-2870 1/cm)



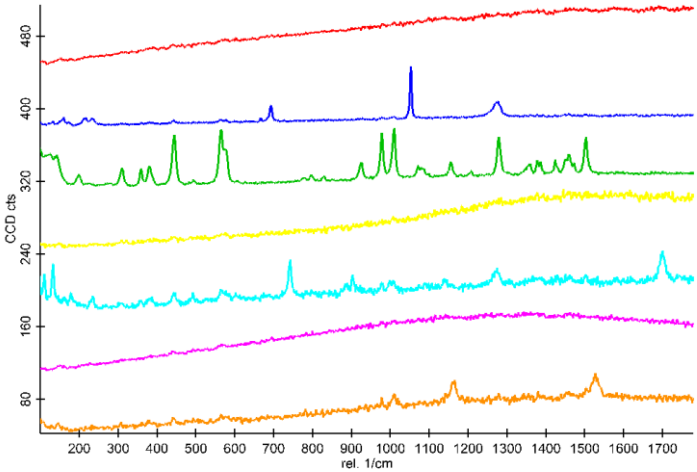
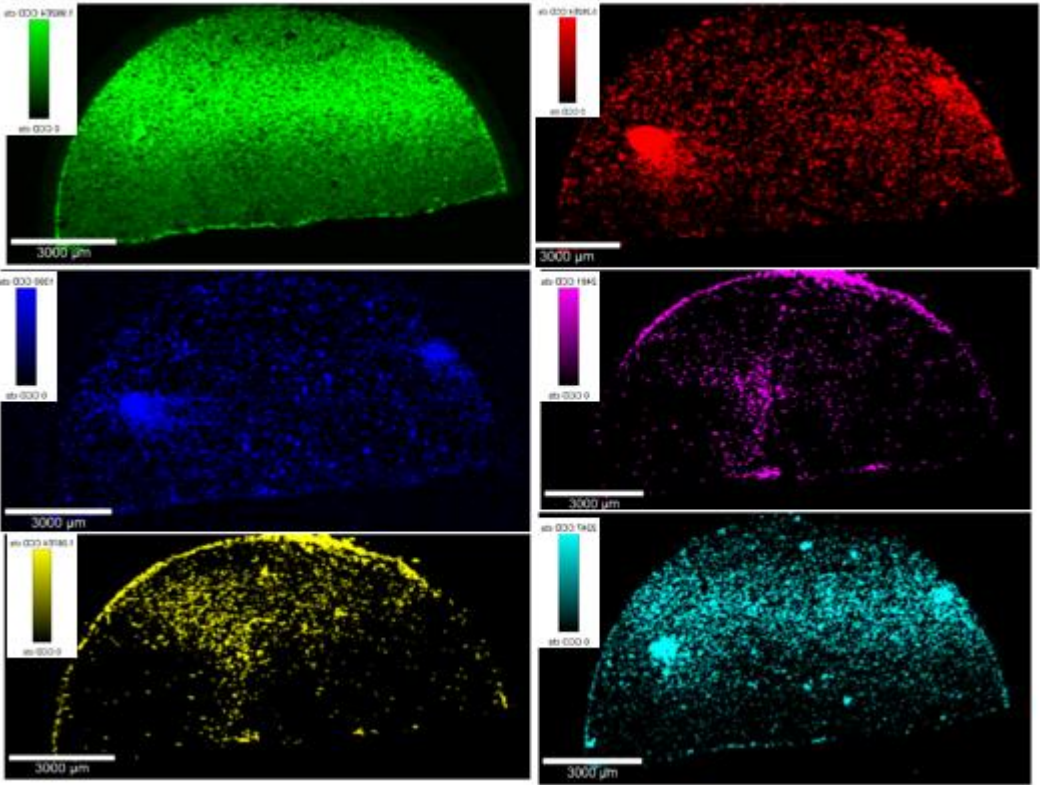
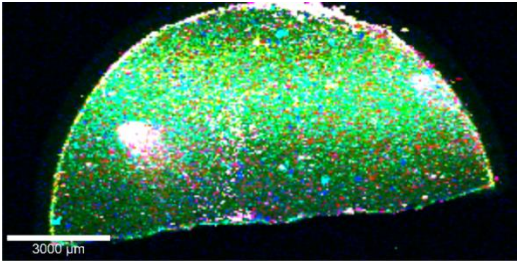
Proteins/DNA
(2900-2980 1/cm)



Fluorescence of Red Oil O

SKANINGOWA KONFOKALNA MIKROSPEKTROSKOPIA RAMANA

FRAMACEUTYKI



widma Ramana i obrazowanie Ramana składników tabletki

