

składem badanej próbki. Ze względu na dużą czułość metody spektrofotometryczne stosuje się do oznaczania małych stężeń substancji w próbce (do $10^{-4}\%$, tj. 1 ppm). Przez zastosowanie metod zagęszczania śladów czułość zwiększa się do $10^{-6}\%$, a nawet do $10^{-7}\%$. Między innymi dlatego spektrofotometria jest metodą najczęściej stosowaną w analizie śladów [3.17]. Rzadziej jest stosowana do oznaczania dużych stężeń substancji. Można wtedy stosować spektrofotometrię różnicową albo oznaczać substancję w postaci związków o małych molowych współczynnikach absorpcji. Obiektywne oznaczenie spektrofotometryczne charakteryzuje się dużą precyzją. Błędy względne precyzji zawierają się zwykle w granicach $\pm 2\text{--}\pm 5\%$ i można je zredukować o rząd wielkości przez zastosowanie spektrofotometrii różnicowej ($\pm 0,2\text{--}\pm 0,5\%$). Kolorymetria charakteryzuje się prostą techniką pomiarową oraz często nieskomplikowaną i dość taną aparaturą. Dotyczy to przede wszystkim łatwo dostępnych kolorymetrów fotoelektrycznych. Oznaczenia spektrofotometryczne są dokładniejsze od wykonanych w kolorymetrach fotoelektrycznych, ale koszty spektrofotometrów jest o wiele większy. Stosując spektrofotometr można oznaczyć obok siebie kilka składników i wyeliminować całkowicie lub w dużym stopniu wpływ substancji przeszkadzających.

Spektrofotometria ustępuje niektórym metodom instrumentalnym pod względem czasochłonności. Jednoczesne oznaczenie tą metodą (bez wspólnego rozdzielania) większej liczby pierwiastków nie jest możliwe, w przeciwieństwie np. do spektrografii emisyjnej lub fluorescencji rentgenowskiej.

Spowodowane jest to dość małą selektywnością spektrofotometrii. Wzrost selektywności metod spektrofotometrycznych uzyskuje się dzięki maskowaniu jonów przeszkadzających i doborowi odpowiedniego pH środowiska reakcji. Pozwala to czasami na oznaczenie kilku składników obok siebie i wyeliminowanie całkowicie lub w dużym stopniu substancji przeszkadzających. Nową techniką spektrofotometryczną pozwalającą niejednokrotnie na większą selektywność jest spektrofotometria pochodna. Wymaga ona jednak stosowania spektrofotometrów wyposażonych w mikroprocesory. Ostatnio obserwuje się znaczny wzrost zainteresowania tą techniką. O ile do roku 1984 ukazały się 42 publikacje na jej temat, to w pięcioleciu 1990–1994 liczba publikacji wyniosła 138 [3.28]. Dotyczyły one oznaczania zarówno związków nieorganicznych, jak i organicznych, które ostatnio dominowały.

Spektrofotometria jest wśród metod instrumentalnych metodą najbardziej „chemiczną”. Zazwyczaj związki barwne tworzą się w wyniku reakcji z odpowiednimi odczynnikami spektrofotometrycznymi.

Metody spektrofotometryczne są powszechnie stosowane nie tylko w analizie chemicznej, lecz także w analizie biochemicznej, klinicznej i farmaceutycznej.

Spektrofotometria w podczerwieni (IR) ma dużo mniejsze zastosowanie analityczne. Jest ona natomiast ważną metodą identyfikacji i badania struktury związków organicznych.

3.3. Spektrometria ramanowska

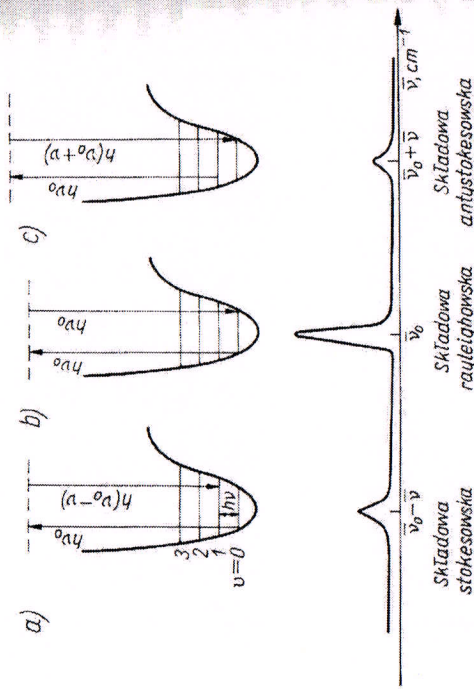
3.3.1. Podstawy teoretyczne

Spektrometria Ramana (R) obejmuje badania widm promieniowania elektromagnetycznego rozproszonego niesprężycie na cząsteczkach danej substancji. Zjawisko rozproszenia polega (zgodnie z teoriami klasycznymi) na wymuszaniu drgań wewnątrzatomowych i wewnątrzcząsteczkowych układów elektrycznych. Takie drganie dipoli elektrycznych indukowanych przez falę elektromagnetyczną odbywa się z częstotliwością fali wzбудzającej (różną od częstotliwości własnej drgającego oscylatora). Indukowany dipol elektryczny jest więc źródłem fali elektromagnetycznej o częstotliwości promieniowania wzбудzającego. Gdyby częstotliwość promieniowania wzbudzającego była równa częstotliwości własnej drgań dipoli, zachodziłaby absorpcja [3.21].

Zmiany stanu energetycznego oscylacyjno-rotacyjnego cząsteczek pod wpływem promieniowania mogą więc być rejestrowane nie tylko jako widma w podczerwieni, lecz także jako widma rozproszenia Ramana.

Po napromienowaniu badanej cząsteczki monochromatycznym światłem o częstotliwości ν_0 , w wyniku absorpcji zwiększa się jej stan energetyczny o kwant $h\nu_0$. Cząsteczka osiąga wyższy – nietrwały – stan energetyczny i dąży do pozbycia się nadmiaru energii przez emisję fotonu o tej samej energii $h\nu_0$ (energia oscylacyjno-rotacyjna cząsteczki się nie zmienia) lub fotonu o innej energii, jeżeli energia oscylacji cząsteczki zmieni się o kwant ściśle pasujący do jej poziomów oscylacyjnych.

Oddziaływanie promieniowania elektromagnetycznego z oscylującą cząsteczką można przedstawić za pomocą przejść energetycznych — rys. 3.48 [1.3], [3.22].



RYСУNEK 3.48. Schemat powstawania widma ramanowskiego: a) rozproszenie stokesowskie, b) rozproszenie Rayleigha, c) rozproszenie antystokesowskie, ν_0 — częstotliwość promieniowania wzбудzającego, ν — częstotliwość oscylacji własnej

a) Rozproszenie Stokesa; część energii padającego kwantu $h\nu_0$ cząsteczka zużywa na zwiększenie częstotliwości drgań własnych, resztę emituje w postaci promieniowania rozproszonego o energii $h\nu_0 - h\nu$. Po akcie emisji zasób energii cząsteczki jest większy o $h\nu$. Liczba falowa oscylacji zmienia się z $\nu = 0$ do $\nu = 1$, w widmie pojawiają się linie leżące przy większej długości fali, tzw. *linie Stokesa*.

b) Rozproszenie Rayleigha; przed aktem absorpcji fotonu $h\nu_0$ cząsteczka znajdowała się w stanie podstawowym o liczbie kwantowej oscylacji $\nu = 0$. Po czasie równym czasowi życia cząsteczki w stanie wzbudzonym zachodzi emisja promieniowania o tej samej częstotliwości ν_0 , cząsteczka wraca do stanu podstawowego.

c) Rozproszenie antystokesowskie; cząsteczka znajdującą się w wyższym stanie energetycznym niż podstawowy, o liczbie kwantowej oscylacji $\nu = 1$, po akcie absorpcji fotonu wzbudzającego $h\nu_0$ emituje promieniowanie rozproszone o energii $h\nu_0 + h\nu$ i wraca do stanu podstawowego

0). Powstający w widmie prążek leży w obszarze fal krótszych i nazywa się *prążkiem antystokesowskim*.

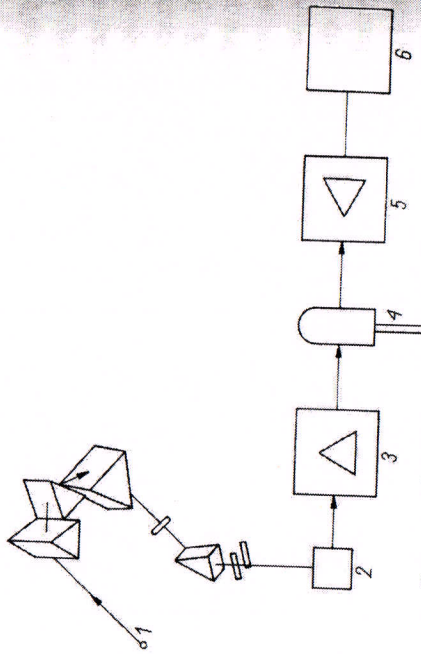
Nateżenie pasm stokesowskich jest około 100 razy większe niż pasm antystokesowskich, gdyż w temperaturze pokojowej tylko niewielka liczba cząsteczek substancji znajduje się w stanie oscylacyjnym wzbudzonym ($\nu > 0$). Z tego powodu w praktyce korzysta się tylko z obszaru pasm stokesowskich. Linie stokesowskie i antystokesowskie są położone symetrycznie względem pasma wzbudzającego o częstotliwości ν_0 , gdyż ich częstotliwości wynoszą $(\nu_0 - \nu)$ i $(\nu_0 + \nu)$. Linie te są indywidualną cechą substancji, nie zależą od częstotliwości promieniowania wzbudzającego. Maksymalna liczba pasm w widmie Ramana (bez pasm Rayleigha) odpowiada podwójonej wartości drgań normalnych. Dla nieliniowej N -atomowej cząsteczki liczba drgań normalnych wynosi $3N - 6$. Ze względu na reguły wyboru liczba obserwowanych pasm jest zwykle mniejsza. W widmie ramanowskim aktywne są drgania symetryczne względem środka symetrii (szkielet węglowy), natomiast drgania asymetryczne (grup funkcyjnych) powodują powstawanie widm w podzerwienu. Wynika stąd, że oba rodzaje widm oscylacyjnych uzupełniają się wzajemnie.

Zgodnie z ogólną regułą najintensywniejsze linie w widmie Ramana odpowiadają drganiom wiązań niepolarnych, które mogą ulegać polaryzacji.

Badanie widm Ramana umożliwia identyfikację cząsteczek, badanie ich struktury, a także analizę ilościową.

3.3.2. Schemat spektrometru ramanowskiego

W spektrometrii ramanowskiej stosuje się monochromatyczne promieniowanie wzbudzające z zakresu widzialnego lub nadfioletu. Dawniej spektrometry były wyposażone w lampy rтięciowe, obecnie stosuje się głównie lasery helowo-neonowe emitujące czerwoną linię $\lambda = 622,3$ nm o dużym nateżeniu i lasery argonowe o dwóch silnych liniach 514,5 i 488 nm. Ostatnio stosuje się lasery barwnikowe umożliwiające przetwarzanie na różne długości fal. Pomiar światła rozproszonego odbywa się najczęściej pod kątem 90° do kierunku padania promieniowania wzbudzającego. Na rysunku 3.49 [3.33] przedstawiono schemat spektrometru do rejestracji widm Ramana. Ze źródła promieniowania I (laser) za pomocą



RYSUNEK 3.49. Schemat spektrometru ramanowskiego

układu optycznego wyodrębnia się monochromatyczną wiązkę promieniowania, która pada prostopadle na kuwetę z próbką 2. Promieniowanie emitowane przez próbkę pada na monochromator siatkowy 3 umieszczony pod kątem 90° , skąd kierowane jest do detektora 4 — najczęściej fotopowielacza, wzmacniacza 5, a następnie do rejestratora 6.

3.3.3. Znaczenie spektrometrii ramanowskiej

Podobnie jak widma w podczerwieni widma ramanowskie stosuje się głównie do identyfikacji substancji i do badania struktury cząsteczek. Podstawą analizy ilościowej jest wprost proporcjonalna zależność natężenia pasma I od stężenia c substancji naświetlanej wiązką wzбудzającą

$$I = ac \quad (3.50)$$

gdzie a — współczynnik rozproszenia charakterystyczny dla danej substancji.

Do wyznaczenia stężenia substancji w analizowanej próbce stosuje się metodę krzywej wzorcowej sporządzonej na podstawie widm serii roztworów o znanym stężeniu.

Do zalet spektrometrii ramanowskiej należy to, że próbka może być w dowolnym stanie skupienia, a próbki proszkowe nie wymagają wstęp-

niego przygotowania. Można rejestrować widma próbek kilkumiligramowych lub mniejszych (najmniejsze stężenie wynosiło $0,04 \text{ mg/l}$ [3.21]). Probka ciekła może być umieszczona w naczynku szklanym pojemności $0,3 \text{ ml}$ lub zatopiona w kapilarach szklanych pojemności $0,02 \text{ ml}$. Stosowanie kuwet szklanych jest znacznie łatwiejsze niż higroskopijnych okienek z NaCl lub KCl używanych w podczerwieni. Bez trudu daje się rejestrować widmo w obszarze małych liczb falowych (poniżej 400 cm^{-1}), gdyż dla zakresu podczerwieni wymaga specjalnych urządzeń. Uzyskane widmo jest prostsze, ponieważ natężenie nadtonów i tonów złożonych (patrz s. 190 i 195) jest dużo mniejsze niż w podczerwieni. Tak więc widma Ramana są nie tylko uzupełnieniem widma w podczerwieni, lecz mają także wiele zalet, dzięki którym spektrometria ramanowska wykazuje często przewagę nad spektrofotometrią IR.

3.4. Spektrometria fluorescencyjna cząsteczkowa

Metoda badania substancji na podstawie pomiaru natężenia promieniowania fluorescencyjnego cząsteczek nazywa się *fluorymetrią* (analiza fluorescencyjna, analiza fluorymetryczna), a na podstawie pomiaru natężenia promieniowania fosforescencyjnego cząsteczek — *fosforymetrią*. Fluorymetria i fosforymetria należą do emisyjnych metod cząsteczkowych, natomiast do emisyjnych metod atomowych należy fluorescencyjna spektrometria atomowa (s. 137) i spektrometria fluorescencyjna rentgenowskiej (s. 341). W tym rozdziale omówiono fluorymetrię i fosforymetrię. W metodach tych wzbudzenie odbywa się przez pochłonięcie promieniowania o odpowiedniej częstotliwości (wzbudzenie optyczne).

3.4.1. Fluorescencja i fosforescencja

Fluorescencja i fosforescencja są przypadkami fotoluminescencji. Termin luminescencja wprowadzony przez Wiedemanna obejmuje wszelkiego rodzaju emisję promieniowania elektromagnetycznego (niezależnie od promieniowania termicznego), następującą w czasie nie krótszym niż

5.3. Stany oscylacyjne

Stany oscylacyjne cząsteczki analizuje się, badając światło przechodzące lub światło rozproszone. W pierwszym przypadku metoda eksperymentalna to **spektroskopia IR (w podczerwieni)** (IR, ang. *infrared spectroscopy*). Promieniowanie podczerwone, którego zakres rozciąga się między mikrofalami i promieniowaniem widzialnym, może być dodatkowo podzielone na trzy podzakresy:

- 1) bliska podczerwień (0,75–2,5 μm ; 13335–5000 cm^{-1}),
- 2) średnia podczerwień (2,5–50 μm ; 5000–400 cm^{-1})
- 3) daleka podczerwień (50–1000 μm ; 400–10 cm^{-1})

Spektroskopia absorpcyjna, obejmująca zakres bliskiej podczerwieni (NIR, ang. *Near Infrared*), umożliwia badania nadtonów w ruchach oscylacyjnych cząsteczek oraz analizę stanów oscylacyjnych o wysokiej energii. Ten typ spektroskopii stosuje się zazwyczaj w analizie ilościowej grup funkcyjnych, głównie OH, NH i C=O w związkach organicznych.

Analiza światła rozproszonego również umożliwia badania stanów oscylacyjnych cząsteczek. W odpowiednich eksperymentach wykorzystuje się światło w zakresie widzialnym. Metoda badawcza nosi nazwę **spektroskopii Ramana**.

W badaniach makrocząsteczek biologicznych obie techniki pomiarowe niosą informację o ich strukturze drugorzędowej. Nowe techniki pomiarowe, jak spektroskopia IR z transformacją Fouriera i spektroskopia wielowymiarowa IR, przynoszą informacje o dynamice badanych układów. Przy czym jest to analiza procesów zachodzących w czasie rzędu 10^{-9} – 10^{-12} sekundy.

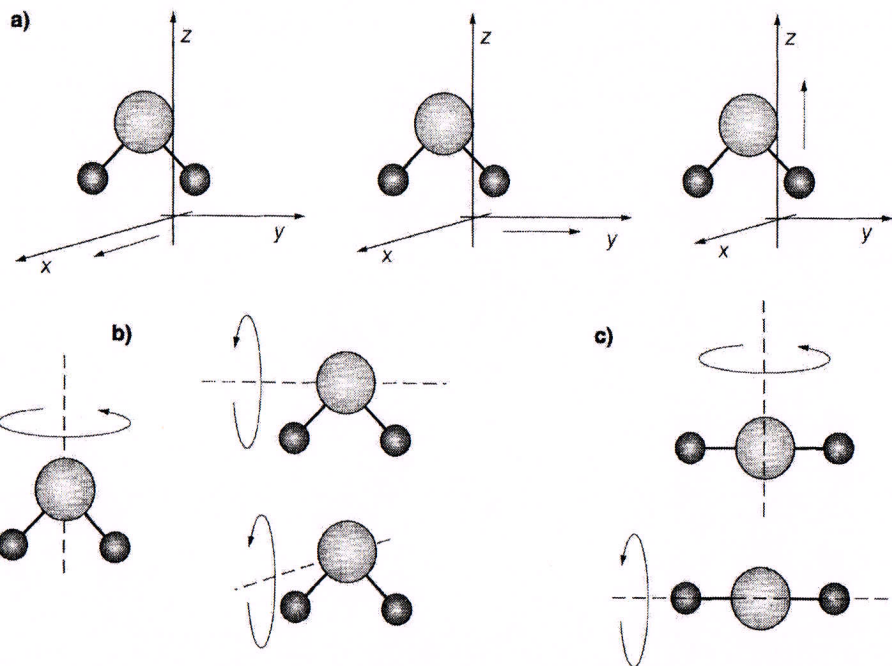
5.3.1. Opis ruchu drgającego cząsteczek

Formy ruchu i stopnie swobody

Dla każdej cząsteczki możemy określić trzy formy ruchu: ruch translacyjny, ruch rotacyjny i ruch oscylacyjny.

Ruchem translacyjnym nazywamy przemieszczanie się całych cząsteczek w przestrzeni. Przykładem tej formy ruchu są ruchy Browna. Jest to wędrówka po linii prostej, od zderzenia do zderzenia (rys. 5.6). Przy założeniu, że taki ruch jest opisany wektorem, można przyjąć, iż ruch translacyjny cząsteczki można zawsze rozłożyć na trzy składowe odpowiadające przemieszczaniu się cząsteczki wzdłuż trzech prostopadłych kierunków dowolnego układu odniesienia. W ten sposób cząsteczka, która wykonuje ruch translacyjny, przypisuje się trzy stopnie swobody, ponieważ „ma ona do dyspozycji” trzy niezależne kierunki ruchu.

Drugą formą ruchu jest rotacja. Są to obroty cząsteczki wokół określonej osi własnej. Przy czym dla każdej cząsteczki nieliniowej możemy wyróżnić trzy wzajemnie prostopadłe, niezależne osie rotacji. Każdy obrót cząsteczki jest złożeniem obrotów wokół tych osi. W ruchu rotacyjnym, podobnie jak w ruchu translacyjnym cząsteczka ma zatem trzy stopnie swobody. Wyjątek stanowi cząsteczka liniowa (rys. 5.6c). W tym przypadku można wyróżnić jedynie dwie niezależne osie rotacji – oś równoległą do osi głównej cząsteczki i oś do niej prostopadłą. Cząsteczka liniowa ma zatem tylko dwa stopnie swobody.



Rys. 5.6. Formy ruchu cząsteczek: a) ruch translacyjny (3 stopnie swobody), b) ruch rotacyjny (3 stopnie swobody), c) ruch rotacyjny (2 stopnie swobody)

Trzecią formą ruchu są oscylacje. Ruch ten definiuje się jako drgania atomów cząsteczki wokół ich położenia równowagi. Ruchy atomów łączą się ze zmianami długości wiązań oraz ze zmianami kątów płaskich lub dwuściennych między wiązaniami. W tym przypadku liczba stopni swobody zależy od liczby atomów tworzących cząsteczkę. Cząsteczka zbudowana z N atomów posiada $3N$ stopni swobody. Jest tak dlatego, że każdy z N atomów tej cząsteczki ma trzy stopnie swobody w swoim ruchu translacyjnym wokół położenia równowagi. Ruch translacyjny poszczególnych atomów składa się nie tylko na oscylacje cząsteczki, ale także na jej ruchy rotacyjne i translacyjne. Dochodzi do tego wówczas, gdy sumaryczny ruch wszystkich atomów w danej chwili spowoduje przesunięcie lub obrót całej cząsteczki. Jeżeli zatem w ruchu translacyjnym cząsteczka ma trzy stopnie swobody i w ruchu rotacyjnym (w ogólnym przypadku) też trzy stopnie swobody, to w ruchu „czysto” oscylacyjnym cząsteczka ma $3N - 6$ stopni swobody. Tylko w przypadku cząsteczki liniowej, ze względu na liczbę stopni swobody w ruchu rotacyjnym, liczba ta zmienia się na $3N - 5$.

Drgania normalne cząsteczki

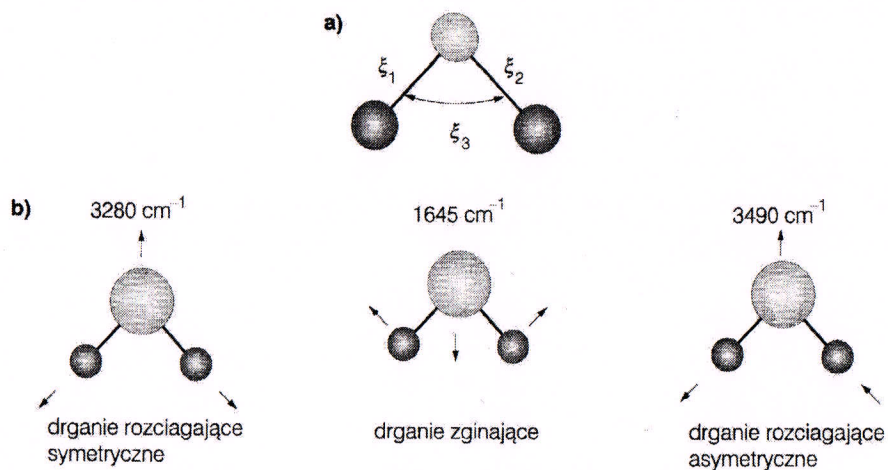
W spektroskopii oscylacyjnej analizie poddane są oczywiście tylko takie drgania atomów, które nie powodują translacji lub rotacji całej cząsteczki. Drgania takie nazywamy **drzganiami własnymi** cząsteczki. Dla dowolnej cząsteczki zbudowanej z N atomów istnieje $3N - 6$ takich drgań.

b) 32
Drgania symetryczne

Rys. 5.7. Współ

Drgania współrzędne cząsteczki w płaszczyźnie wewnętrznej oraz współrzędne Drgania współrzędne może być rozni $(3N - 6)$ -niezależne i nie nazywamy jednoczesne częstotliwość i wzmocnienie i na zmianę ze względu

5.3.2. Spektroskop poci wyznaczym działan przechodzi i swo W tego mienlowani nikiem prop



Rys. 5.7. Współrzędne wewnętrzne (a) oraz schemat drgań normalnych cząsteczki wody (b)

Drgania cząsteczki opisuje się w **układzie współrzędnych wewnętrznych**. Liczba współrzędnych wewnętrznych odpowiada liczbie stopni swobody cząsteczki. Na przykład cząsteczce wody H_2O , która zbudowana jest z trzech atomów, przypisuje się trzy współrzędne wewnętrzne – dwie współrzędne ξ_1 i ξ_2 , opisujące rozciąganie dwóch wiązań OH, oraz współrzędną ξ_3 , opisującą zmiany kąta między tymi wiązaniami (rys. 5.7a).

Drgania własne cząsteczki mogą być zapisane w $(3N - 6)$ -wymiarowej przestrzeni współrzędnych wewnętrznych. Tak jak każdy wektor w przestrzeni trójwymiarowej może być rozłożony na trzy wzajemnie prostopadłe wektory składowe, tak w przestrzeni $(3N - 6)$ -wymiarowej drgania własne cząsteczki mogą być rozłożone na wzajemnie niezależne i ortogonalne (ogólne pojęcie prostopadłości) drgania składowe. Drgania te nazywamy **drganiami normalnymi** cząsteczki. Tę formę drgań definiujemy jako jednoczesne oscylacje atomów wokół położenia równowagi odbywające się z tą samą częstością i w tej samej fazie (rys. 5.7b). Drgania normalne wieloatomowej molekule są znacznie bardziej złożone niż drgania cząsteczki wody. Porządkuje się je ze względu na zmiany długości wiązań chemicznych, zmiany kątów między wiązaniami, a także ze względu na symetrię.

5.3.2. Spektroskopia absorpcyjna w podczerwieni

Spektroskopia w podczerwieni analizuje promieniowanie przechodzące. Proces absorpcji wyznacza zatem możliwość rejestracji jakichkolwiek zmian. W układzie poddanym działaniu promieniowania dochodzi do zjawiska absorpcji wymuszonej, a układ przechodzi ze stanu energetycznego j do stanu k o wyższej energii. Prawdopodobieństwo W tego, że taki proces będzie miał miejsce, jest proporcjonalne do gęstości promieniowania ρ (ilości fotonów w jednostce objętości układu badanego), a współczynnikiem proporcjonalności jest współczynnik Einsteina B_{jk} .

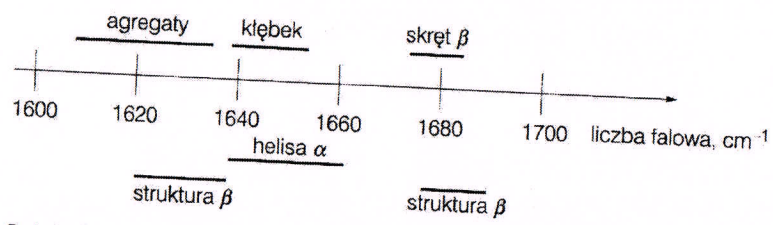
$$W = B_{jk}\rho \quad (5.13)$$

falowymi tych impulsów pojawia się z kierunku

(5.16)

nych. Amplituda i faza przez „zmieszanie” go z znanymi w odstępach czasu funkcją τ_1 i τ_2 . Transmisja na domenę częstości

już pod koniec lat czterdziestych zanim rozwinęła się spektroskopia w badaniach biologicznych. Do dnia dzisiejszego przypisuje się drugą nazwę **drgań** strukturalnych drugorzędowej, **pasmo amidowe I**.



Rys. 5.16. Położenie pasm amidowych I w przypadku różnych form struktury drugo- i trzeciorzędowej

Pasmo to występuje w zakresie 1600–1700 cm^{-1} . Przy czym, w zależności od elementów struktury drugorzędowej, jego szczegółowe położenie się zmienia (rys. 5.16). Trudność polega jednak na tym, że w widmie widoczne są nałożone na siebie pasma amidowe I pochodzące od wszystkich wiązań peptydowych. Wymieszane są zatem informacje o wszystkich elementach struktury drugorzędowej. Zaproponowano numeryczną analizę widm IR. Wyróżnia się dwie procedury: metodę dekonwolucji prowadzącą do znacznego zwężenia poszczególnych pasm składowych oraz metodę opartą na rozpoznawaniu wzoru (ang. *pattern recognition method*). W drugim przypadku analizie podlegają pasma amidowe I i II. Sama procedura jest bardzo zbliżona do tej, jaką stosuje się w analizie widm CD.

Rozdzielenie pasm amidowych I pochodzących od różnych wiązań peptydowych możliwe jest także eksperymentalnie, przez zastosowanie znakowania izotopowego. Procedura ta została wprowadzona do spektroskopii IR w połowie lat osiemdziesiątych XX w. [24]. Najbardziej efektywne jest podstawienie izotopem ^{13}C . Zamiana izotopów w wiązaniu peptydowym przesuwają pasmo amidowe I o 35 do 40 cm^{-1} w stronę mniejszych wartości liczby falowej. Stosuje się również podstawienie izotopem azotu ^{15}N . Nie zmienia ono zasadniczo położenia pasma amidowego I, ale powoduje istotne przesunięcie pasma amidowego II.

Za pomocą spektroskopii 2D IR najczęściej rejestruje się widma w zakresie pasma amidowego I. Widma 2D IR niosą informację o wiązaniach chemicznych oraz o oddziaływaniach białek z cząsteczkami otoczenia. Poza tym metoda ta może być wykorzystana w badaniach DNA lub ogólnie w badaniach reakcji chemicznych, w tym reakcji wymiany (np. wymiany H/D). Spektroskopia impulsowa IR przeznaczona jest bowiem do analizy procesów dynamicznych (w przedziale czasowym pikosekund).

Opracowano również eksperymenty, których wynikiem są widma dwuwymiarowe w spektroskopii Ramana.

5.3.3. Spektroskopia Ramana

Spektroskopia Ramana jest również metodą analizy ruchów oscylacyjnych w układzie molekularnym. Opiera się ona jednak nie na absorpcji promieniowania jak spektroskopia w podczerwieni, lecz na zjawisku rozpraszania. Zakres fal elektromagnetycznych wykorzystywanych w tej metodzie to przede wszystkim światło widzialne.

Zjawisko rozpraszania światła w zakresie widzialnym jest przedstawione w podrzdziale 4.2. Opis ten dotyczy jednak rozpraszania Rayleigha. Już w połowie lat dwudziestych XX w. fizycy teoretycy zaczęli wysuwać hipotezę, iż oprócz pasma

Rayleigha w świetle rozproszonym powinno być widoczne inne pasmo. To promieniowanie powinno mieć częstość różną od częstości promieniowania padającego – pomniejszoną lub powiększoną o częstość oscylacji i rotacji. Potwierdzeniem poprawności tej hipotezy były doświadczenia przeprowadzone przez **Chandrasekhara V. Ramana**⁹⁹ oraz **G.S. Landsberga** i **L.I. Mandelsztama**. Pokazali oni, że zarówno w cieczech, jak i w ciele stałym nowe zjawisko rozpraszania jest widoczne.

Mechanizm rozpraszania Ramana opisuje się zwykle na podstawie teorii polaryzowalności **Placzka**. Światło rozproszone jest emitowane przez indukowany, drgający moment elektryczny. Jego wielkość opisana jest wzorem

$$\mu = \alpha E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (5.17)$$

w którym $E_0 \cos(2\pi\nu_0 t)$ opisuje pole elektryczne fali o częstości ν_0 padającej na układ cząsteczek, natomiast α oznacza polaryzowalność elektronową cząsteczek. Wielkość ta zmienia się w trakcie ruchu drgającego atomów, gdy długości wiązań i kąty pomiędzy wiązaniami ulegają zmianie. W bardzo prostym układzie dwóch atomów, gdy wychylenie z położenia równowagi jest niewielkie, polaryzowalność jest funkcją wychylenia $\alpha(q)$

$$\alpha(q) = \alpha_0 + \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_0 Q \cos(2\pi\nu t) \quad (5.18)$$

Po uwzględnieniu tych założeń, indukowany moment dipolowy ma postać

$$\begin{aligned} \mu = & \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_0 Q E_0 \cos[2\pi(\nu_0 - \nu_{osc})t] + \\ & + \frac{1}{2} \left(\frac{d\alpha}{dq}\right)_0 Q E_0 \cos[2\pi(\nu_0 + \nu_{osc})t] \end{aligned} \quad (5.19)$$

Wynik ten wyjaśnia pochodzenie zjawiska rozpraszania Ramana. Zmieniający się w czasie indukowany moment dipolowy emituje fale elektromagnetyczne o częstości ν_0 , $(\nu_0 - \nu)$ oraz $(\nu_0 + \nu)$. Fala o częstości ν_0 jest efektem rozpraszania Rayleigha, natomiast fale o częstościach $(\nu_0 - \nu)$ oraz $(\nu_0 + \nu)$ są efektem rozpraszania Ramana. Są to odpowiednio składowa stokesowska i składowa antystokesowska (rys. 5.17).

W eksperymencie nie jest to jednak pojedyncza linia widmowa ale pasmo linii różniących się wielkością częstości oscylacji molekularnych ν . **Rozpraszanie Rayleigha to rozpraszanie sprężyste**. Cząsteczka przechodzi ze stanu podstawowego do stanu wirtualnego i następnie wraca do stanu podstawowego. Energia promieniowania rozproszonego jest taka sama jak energia promieniowania padającego. **Rozpraszanie Ramana odpowiadające składowej stokesowskiej to rozpraszanie niesprężyste**. Cząsteczka przechodzi do stanu wirtualnego, lecz powraca na wyższy

⁹⁹ **Chandraseckhar V. Raman** (1888–1970) – fizyk hinduski, laureat Nagrody Nobla w dziedzinie fizyki (1930). Nagrodę przyznano za badania procesu rozpraszania światła i odkrycie efektu, który dzisiaj nazywa się rozpraszaniem Ramana. Praca na temat nowo odkrytego zjawiska: Raman C.V., Krishnan K.S., „New type of secondary radiation”, *Nature*, **121**, 501 (1928). Przedmiotem tych badań było rozpraszanie światła w benzenie. Zajmował się również wybranymi zagadnieniami akustyki, np. akustyką instrumentów muzycznych.

Rys. 5.17. W schemat prze

niż pierwot Rayleigha. **praszanie** n praszanie n szego pozi przesunięte rystyczne ol antystokeso Ramana pr.

Wynik nie się linii **skopii Ran** podczas drę ci α . Wraca mie Ramar widoczne w małej masie Ramana, ta

Opisan **tu klasyczn rezonansow** W tym dość wszystkie, a nansowe ro: podlega pro różnych poz lektywne i p go otoczeni.

pasmo. To promieniowanie padającego – potwierdzeniem poprawności teorii Chandrasekhara V. Kazali oni, że zarówno w widocznym, jak i w podczerwieni, podstawie teorii polaryzacji światła indukowanej, drga-

(5.17)

padającej na układ cząsteczek. Wielkość wiązania i kąty pomiędzy atomami, gdy wybrana jest funkcją wychy-

(5.18)

postać

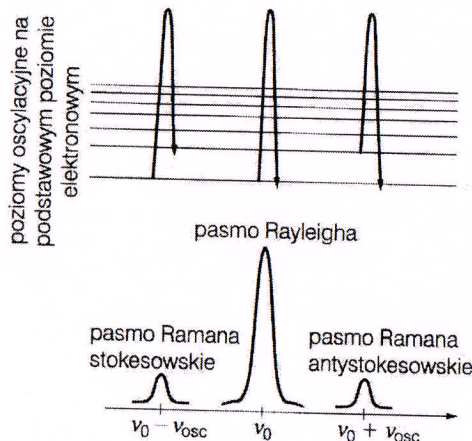
ν_{osc}

(5.19)

Zmieniający się magnetyczny o częstotliwości rozpraszania Rayleigha, na rozpraszania Ramana. (rys. 5.17).

ale pasmo linii rozpraszania Rayleigha. Energia promieniowania padającego. Rozpraszanie to rozpraszanie powraca na wyższy

Nobla w dziedzinie fizyki, który dzisiaj nazywa się K.R. Raman, „New type of scattering of light in benzene. I. Experimental results.”



Rys. 5.17. Widmo światła rozproszonego zawiera pasmo Rayleigha oraz pasma Ramana. Powyżej schemat przejść pomiędzy poziomami oscylacyjnymi na podstawowym poziomie elektronowym

niż pierwotnie stan oscylacyjny. Pasma stokesowskie ma częstotliwość niższą niż pasmo Rayleigha. Różnica odpowiada odległości poziomów oscylacyjnych cząsteczki. **Rozpraszanie Ramana** odpowiadające **składowej antystokesowskiej** to również rozpraszanie niesprężyste. Tym razem cząsteczka przechodzi do stanu wirtualnego z wyższego poziomu oscylacyjnego i powraca do stanu podstawowego. Pasma to jest przesunięte ku wyższym częstotliwościom niż pasmo Rayleigha. Ze względu na charakterystyczne obsadzenie poziomów energetycznych opisanego rozkładem Boltzmanna, linie antystokesowskie mają mniejszą intensywność niż linie stokesowskie. W spektroskopii Ramana przedmiotem analizy jest pasmo stokesowskie lub antystokesowskie.

Wynik zapisany w równaniu (5.19) wskazuje też na kryteria warunkujące pojawienie się linii widmowej określonego drgania normalnego (**reguła wyboru w spektroskopii Ramana**). Obie składowe są różne od zera pod warunkiem, że ruch atomów podczas drgania normalnego określonego rodzaju wywołuje zmianę polaryzowalności α . Wracając do przykładu cząsteczki CO_2 (rys. 5.8), drganiem widocznym w widmie Ramana jest jedynie drganie rozciągające symetryczne, które nie jest z kolei widoczne w widmie w podczerwieni. W cząsteczkach wieloatomowych o względnie małej masie atomowej rejestrowane są równoległe widma w podczerwieni i widma Ramana, tak by można było analizować wszystkie drgania normalne tych cząsteczek.

Opisane tu w zarysie podstawy spektroskopii Ramana odnoszą się do **eksperymentu klasycznego, nierezonansowego**. Nowe metody pomiarowe to przede wszystkim **rezonansowa spektroskopia Ramana (RRS, ang. Resonance Raman Spectroscopy)**. W tym doświadczeniu linie widmowe ulegają znacznemu wzmocnieniu. Jednak nie wszystkie, ale tylko te, które odpowiadają drganiom normalnym chromoforu. Rezonansowe rozpraszanie Ramana jest bowiem eksperymentem, w którym rozpraszaniu podlega promieniowanie w zakresie UV, a analizie poddane są stany oscylacyjne na różnych poziomach elektronowych. Doświadczenie to jest w ten sposób bardzo selektywne i pozwala wyciągać wnioski co do samego chromoforu i jego bezpośredniego otoczenia chemicznego.

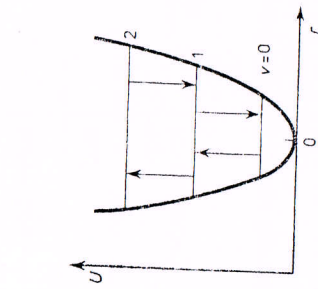
z równania będącego klasycznym wyrażeniem na częstość oscylacji oscylatora harmonicznego:

$$\nu_0 = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{f}{m_r}} \quad (8.8)$$

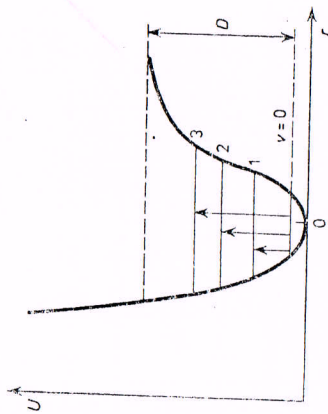
w którym f jest stałą siłową, a m_r masą zredukowaną: w przypadku cząsteczki dwuatomowej $m_r = m_1 m_2 / (m_1 + m_2)$, przy czym m_1 i m_2 są masami atomów 1 i 2.

Jak wynika z równ. (8.7) energia oscylacyjna E_v nigdy nie osiąga wartości zerowej, a przejściu między sąsiednimi poziomami energetycznymi o kolejnych liczbach kwantowych v i $v+1$ odpowiada różnica energii $\Delta E = E_{v+1} - E_v = h\nu_0$.

W rzeczywistości oscylator cząsteczkowy nie zachowuje się tak jak oscylator harmoniczny. Siła działająca między atomami oscylującą cząsteczki nie jest proporcjonalna do ich wychylenia z położenia równowagi, jak to ma miejsce w przypadku oscylatora harmo-



Rys. 8.3. Krzywa energii potencjalnej (U) oscylatora harmonicznego; r — wychylenie ze stanu równowagi. Strzałkami oznaczono możliwe przejścia oscylacyjne



Rys. 8.4. Krzywa energii potencjalnej (U) oscylatora anharmonicznego; r — wychylenie ze stanu równowagi, D — energia dysocjacji cząsteczki. Strzałkami zaznaczono przejścia odpowiadające $\Delta v = +1; +2; +3; \dots$

nicznego. Oscylator cząsteczkowy zachowuje się jak oscylator anharmoniczny. Krzywa energii potencjalnej dla dwuatomowego oscylatora harmonicznego (rys. 8.3) jest parabolą, a dla oscylatora anharmonicznego jest wykresem funkcji Morse'a (rys. 8.4).

Reguła wyboru opisująca przejścia energetyczne dozwolone w przypadku oscylatora harmonicznego nie opisuje ściśle przejść obserwowanych w rzeczywistości dla cząsteczki. Przejścia te można opisać regułą wyboru dla oscylatora anharmonicznego.

Reguła wyboru dla oscylatora harmonicznego jest następująca:

$$\Delta v = \pm 1 \quad (8.9)$$

Możliwe są tylko przejścia między sąsiadującymi z sobą poziomami energetycznymi. Są to tzw. przejścia (tony) podstawowe.

Analogiczna reguła wyboru dla oscylatora anharmonicznego ma postać:

$$\Delta v = \pm 1, \pm 2, \pm 3, \dots \quad (8.10)$$

Poza przejściami (tonami) podstawowymi $\Delta v = \pm 1$, występują przejścia przy $\Delta v = \pm 2$ lub ± 3 itd. Są to tzw. nadtony.

Na rysunkach 8.3 i 8.4 przedstawiono krzywe energii potencjalnej i przejścia energetyczne możliwe w przypadku oscylatora harmonicznego i anharmonicznego. Każdemu drganiu normalnemu cząsteczki możemy przypisać jeden charakterystyczny dla tego drgania oscylator. Cząsteczkę o $3N-6$ stopniach swobody przedstawia $3N-6$ oscylatorów.

W widmach oscylacyjnych rzeczywistych cząsteczek wieloatomowych obserwuje się poza tonami podstawowymi i nadtonami także tony złożone, którym odpowiada suma lub różnica częstości tonów podstawowych, nadtonów lub nadtonów i tonów podstawowych różnych oscylatorów.

Możliwe jest również występowanie między sprzężonymi oscylatorami cząsteczkowymi tzw. rezonansu Fermiego. Warunkami tego rezonansu są: prawie jednakowa częstość tonu podstawowego jednego oscylatora i nadtonu lub tonu złożonego innych oscylatorów oraz jednakowa symetria drgań, którym odpowiadają powyższe tony. Obserwuje się wówczas zamiast pasma odpowiadającego tonowi podstawowemu dwa pasma o częstości większej i mniejszej. Zjawisko to zaobserwował po raz pierwszy Fermi dla cząsteczki CO_2 .

Podstawową wielkością związaną ze strukturą cząsteczek, którą można obliczyć ze zmierzonych doświadczalnie widm oscylacyjnych jest stała siłowa f w równ. (8.8). Oczywiście zarówno wzory jak i obliczenia stałych siłowych dla cząsteczek wieloatomowych są o wiele bardziej skomplikowane [1, 3] niż dla cząsteczek dwuatomowych. Jednakże dane uzyskiwane z widm IR i R dla cząsteczek podstawianych różnymi izotopami pierwiastków w nich występujących umożliwiają, przy obecnych elektronicznych technikach obliczeniowych, wyznaczenie stałych siłowych charakteryzujących wiązania chemiczne cząsteczki.

Natężenie poszczególnych pasm w widmie oscylacyjnym danego związku chemicznego jest związane z prawdopodobieństwem przejść między odpowiednimi poziomami oscylacyjnymi i z liczebnością obsadzeń danych poziomów, która zależy od temperatury bezwzględnej. Zależność od temperatury bezwzględnej podaje funkcja rozkładu energii Boltzmanna. W przypadku przejść oscylacyjnych ma ona postać:

$$N_v = N_0 \cdot e^{-(E_v - E_0)/kT} \quad (8.11)$$

W równaniu tym N_0 jest liczbą cząsteczek na poziomie oscylacyjnym v ; N_0 — liczbą cząsteczek na najniższym poziomie oscylacyjnym (podstawowym $v=0$); k — stałą Boltzmana; T — temperatura w kelwinach; E_v i E_0 — energią poziomów oscylacyjnych o liczbach kwantowych oscylacyjnych odpowiednio v i 0.

Z równania (8.11) wynika, że w zbiorze cząsteczek najsilniej jest obsadzony poziom podstawowy [1], a więc najlepiej widoczne w widmie oscylacyjnym jest przejście $0 \rightarrow 1$. Przejścia między poziomami wyższymi, np. $1 \rightarrow 2$, $2 \rightarrow 3$, tzw. pasma gorące (ang. hot bands), pojawiają się dopiero w odpowiednio wysokich temperaturach, gdy wzrośnie obsadzenie wyższych poziomów.

8.6. Widma IR i Ramana

Metody absorpcji w zakresie podczerwieni (spektrometria IR) i rozproszenia ramanowskiego (spektrometria R) umożliwiają rejestrowanie widm oscylacyjno-rotacyjnych cząsteczek.

Reguły wyboru, czyli warunki konieczne, aby rozpatrywana rotacja czy oscylacja cząsteczki pojawiła się w widmie w postaci linii rotacyjnej lub pasma oscylacyjno-rotacyjnego

Położenie *maksimum pasma* (odpowiadająca mu częstość, liczba falowa) jest podstawowym parametrem strukturalnej analizy jakościowej.

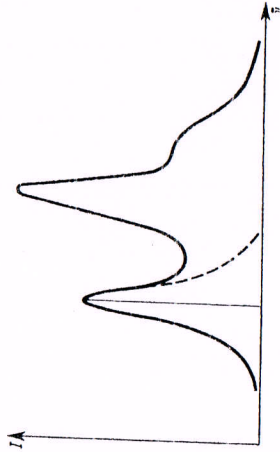
Natężenie pasma jest podstawowym parametrem strukturalnej analizy ilościowej.

Natężenie integralne pasma w widmach Ramana opisuje równanie:

$$I_{\infty} = \int_{-\infty}^{+\infty} I(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu} \quad (8.12)$$

w którym $I(\tilde{\nu})$ jest funkcją podającą zależność natężenia pasma I od liczby falowej $\tilde{\nu}$.

Analogicznie jest zdefiniowana *absorbancja integralna*. W równaniu (8.12) zamiast natężenia I występuje absorbancja A . W praktyce zarówno natężenie integralne jak i absorbancję integralną mierzy się najczęściej przez planimetrywanie powierzchni między konturem pasma a tłem. Tf_0 zazwyczaj odcina się za pomocą odcinka prostej prowadzonego



Rys. 8.6. Nakładanie się pasm

między stałymi wartościami liczb falowych (na rys. 8.5 $\tilde{\nu}_1$ i $\tilde{\nu}_2$) wybranymi dla konkretnego pasma odpowiednio do kształtu widma. W przypadku nakładania się pasm często odtwarza się pełny kontur pasma przy założeniu jego symetryczności (rys. 8.6).

W analizie ilościowej, gdy porównuje się natężenie tego samego pasma rejestrowanego w identycznych warunkach aparaturowych dla próbek oznaczanych i wzorców, wystarczająco dokładną miarą natężenia integralnego jest natężenie w maksimum (I_{max}), jeżeli szerokość połowikowa konturu (σ) jest w granicach błędów pomiaru stała dla zakresu oznaczanych stężeń.

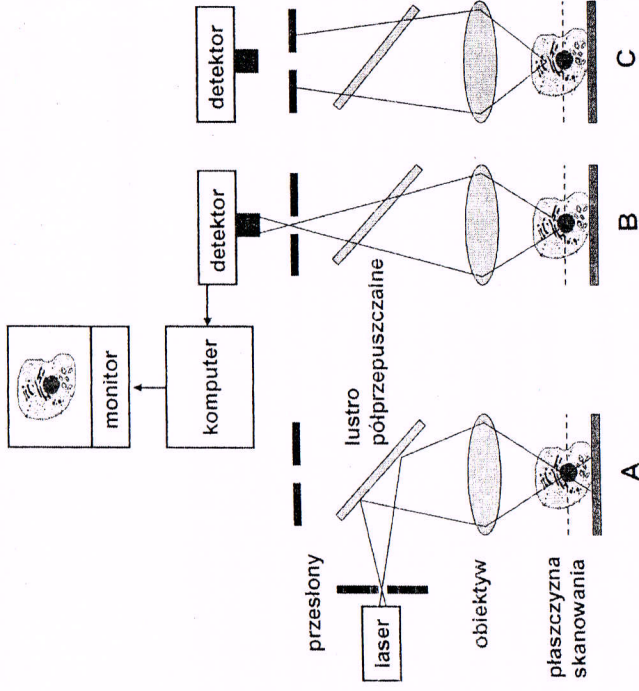
Technika komputerowa rozwija się szczególnie tak szybko, że można przewidywać rychłe zastosowanie aparaturowego całkowania powierzchni pod konturem pasma, czyli aparaturowego mierzenia natężenia integralnego także w analizie rutynowej. Również łatwiejsze stanie się rozdzielanie nakładających się pasm.

Literatura

1. Kecki Z., „Podstawy spektroskopii molekularnej”, wyd. 2, PWN, Warszawa 1975.
2. Sobczyk L., Kiszka A., „Chemia fizyczna dla przyrodników”, PWN, Warszawa 1975.
3. Barrow G. M., „Wstęp do spektroskopii molekularnej”, PWN, Warszawa 1968 (tłum. z ang.).
4. Dyer J. R., „Spektroskopia absorpcyjna w chemii organicznej”, PWN, Warszawa 1967 (tłum. z ang.).
5. Silverstein R. M., Bassler G. C., „Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych”, PWN, Warszawa 1970 (tłum. z ang.).
6. Alpert N. L., Keiser W. E., Szymanski H. A., „Spektroskopia w podczterwieni. Teoria i praktyka”, PWN, Warszawa 1974 (tłum. z ang.).

9. ATLAS WIDM

Próbki substancji, których widma zostały umieszczone w tym atlasie, były przed badaniem odpowiednio oczyszczone (destylacja, sublimacja, krystalizacja, chromatografia) w celu uzyskania możliwie najlepszej jakości widm ramanowskich nie wykazujących pasm fluorescencyjnych. Widma ramanowskie czystych substancji w zatopionych szklanych kapilarach zostały zarejestrowane za pomocą spektrometru Coderg PHO z użyciem szeliny o szerokości 6–8 cm^{-1} . Jako źródło światła wzбудzającego służył laser helowo-neonowy, a konkretnie linia światła czerwonego o długości fali 632,8 nm. Ze względu na spadek czułości fotopowielacza wraz ze wzrostem długości fali (tzn. w miarę oddalania się od linii wzбудzającej), pewne istotne elementy widma w zakresie powyżej 2000 cm^{-1} były powtarzane z zastosowaniem jako źródła światła lasera argonowego (linia o długości fali 488 nm — światło niebieskozielone) w celu zwiększenia intensywności pasm w zakresie ok. 3000 cm^{-1} . Uzyskuje się wówczas bardziej prawidłowy stosunek natężeń pasm w całym badanym zakresie, tzn. od zera do 4000 cm^{-1} . Widma w podczterwieni zostały uzyskane za pomocą siatkowego spektrometru Perkin-Elmer 577 z zastosowaniem szeliny o auto-matycznie regulowanej szerokości zapewniającej jednakowy dopływ energii do detektora podczas badania widma w zakresie 4000–400 cm^{-1} . Substancje stałe (zarówno organiczne jak i nieorganiczne) były badane w postaci pastylek w bromku potasu, natomiast ciecze — w postaci filmów kapilarnych między płytkami z KBr lub ewentualnie w kuwetach z przekładkami o odpowiedniej grubości. W opisie widm podano stan skupienia substancji (C — ciecze, K — kryształy), jej barwę, rodzaj linii wzбудzającej (He-Ne lub Ar) oraz przypisanie ważniejszych pasm drganiom charakterystycznym pozwalające zidentyfikować istotne elementy struktury badanego związku. Na rysunkach górna krzywa przedstawia widmo IR (w % transmisji), natomiast dolna krzywa — widmo ramanowskie.



Ryc. 1.10. Schemat budowy mikroskopu konfokalnego: A – przebieg promieni oświetlających preparat; B – przebieg promieni tworzących obraz; C – promienie spoza płaszczyzny obrazu są w większości zatrzymywane przez przesłone

nazwa „konfokalny”, czyli „współogniskowy”. Światło emitowane z preparatu jest rejestrowane przez fotodetektor, który dzięki elementom fotonielicza pozwala na znaczne wzmocnienie sygnału. Zsynchronizowana zmiana położenia obu ognisk pozwala na oglądanie kolejnych (co 1–2 μm) warstw preparatu.

Powstający obraz wyświetlany jest na monitorze, a obrazy z poszczególnych głębokości preparatu (tzw. skrawki optyczne) są zapisywane w pamięci komputera, będącego stałym wyposażeniem mikroskopu. Komputerowy program przetwarzania i analizy obrazu (zob. rozdz. 12.4) pozwala na dodatkowe polepszenie jakości obrazu, np. przez złożenie ostrych składowych z różnych wysokości (ang. *extended focus interpolation*) na jednym obrazie, a także na odtworzenie trójwymiarowej struktury preparatu na podstawie zestawienia obrazów z jego poszczególnych warstw.

W większości przypadków mikroskopy konfokalne wykorzystują fluorescencję emitowaną pod wpływem laserowego światła UV. Jednak wyposażenie mikroskopu może obejmować kilka laserów emitujących światło o różnych długościach fali, dzięki czemu możliwe jest jednoczesne rejestrowanie fluorescencji różnych

rat ulega rozproszeniu i poza nielicznymi promieniami odbitymi nie wpada do obiektywu, a obraz tworzony jest wyłącznie przez promienie widzialnego (lub rejestrowalnego) zakresu widma wyemitowane z preparatu w wyniku fluorescencji. Takie rozwiązanie polepsza jakość obrazu i zmniejsza narażenie obserwatora na kontakt z uszkadzającym żywe komórki ultrafioletem.

System epiluminacji wymaga skomplikowanej konstrukcji tubusa mikroskopu oraz obiektywów. Umożliwia jednakże połączenie w jednym przyrządzie klasycznego mikroskopu świetlnego (ze źródłem światła w podstawie i z możliwością zastosowania różnego typu przystawek optycznych) z mikroskopem fluorescencyjnym (odrębne źródło promieniowania UV połączone z tubusem). Tak wyposażony uniwersalny mikroskop badawczy pozwala na wykorzystanie wszystkich podstawowych odmian mikroskopii przy użyciu jednego przyrządu.

1.3.7. Mikroskop konfokalny

W mikroskopach świetlnych ostry obraz można uzyskać jedynie z określonej głębokości (warstwy) preparatu, warunkowanej odległością od obiektywu i jego głębią ostrości. Obraz ten jest jednak zaburzony przez promienie dochodzące do obiektywu z warstw położonych powyżej i poniżej płaszczyzny ogniskowej. Ma to szczególne znaczenie przy dużych powiększeniach, gdyż głębia ostrości obiektywów jest znacznie mniejsza niż grubość typowych preparatów. Dodatkowe promienie pogarszają jakość obrazu i zdolność rozdzielczą.

Mikroskop konfokalny (współogniskowy, czyli konfokalny skaningowy mikroskop świetlny, ryc. 1.10) jest rodzajem mikroskopu epifluorescencyjnego, który rejestruje promienie świetlne wyłącznie z płaszczyzny formowania obrazu, eliminując światło pochodzące z leżących poza nią warstw preparatu. Umożliwia zatem obserwację „optycznych przekrojów” preparatu w ściśle określonej płaszczyźnie.

Konstrukcja mikroskopu konfokalnego wyraźnie odbiega od konstrukcji innych mikroskopów świetlnych. Źródłem światła jest laser, a emitowany przez niego wąski promień jest dodatkowo skupiany tak, iż w płaszczyźnie formowania obrazu tworzy plamkę o średnicy 0,1 μm , co stanowi teoretyczną zdolność rozdzielczą tego mikroskopu, a także wyznacza grubość najintensywniej oświetlonej warstwy preparatu (grubość typowego preparatu wynosi kilka μm). Aby oświetlić cały preparat, plamka ta przesuwa się ze znaczną szybkością, kreśląc równoległe linie pokrywające preparat. Ten sposób zbierania informacji z określonej powierzchni nosi nazwę skanowania (próbkowania).

Układ optyczny tworzący obraz zbiera również promienie świetlne dochodzące tylko z płaszczyzny, która skanowana jest przez promień laserowy, a promienie świetlne emitowane z warstw preparatu położonych powyżej i poniżej skanowanej płaszczyzny są zatrzymywane przez specjalną, wąską przesłonę. Zarówno układ oświetlenia preparatu, jak i układ tworzący obraz mają wspólne ognisko – stąd

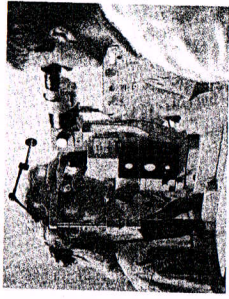
41.11. Lasery i światło laserowe

W późnych latach czterdziestych, a potem znowu we wczesnych latach sześćdziesiątych dwudziestego wieku fizyka kwantowa umożliwiła konstrukcję dwóch niezmiernie ważnych urządzeń: **transystora**, który otworzył drogę rewolucji informatycznej, i **lasera**. Światło laserowe, tak jak światło ze zwykłej żarówki, jest emitowane wtedy, gdy atomy dokonują przejść z jednego stanu kwantowego do stanu kwantowego o niższej energii. W laserze jednak, inaczej niż w innych źródłach światła, atomy działają wspólnie, żeby wytworzyć światło o pewnych charakterystycznych cechach:

1. **Światło lasera jest wysoce monochromatyczne.** Światło ze zwykłej żarówki tworzy widmo ciągłe, na które składa się wiele długości fali i z pewnością nie jest monochromatyczne. Promieniowanie emitowane przez lampy jarzeniowe (neony reklamowe) jest monochromatyczne, tak że długości fali tego promieniowania różnią się od siebie nie więcej niż o 10^{-6} średniej długości fali tego promieniowania. Dla światła laserowego może być ono znacznie bardziej monochromatyczne: 10^{-15} średniej długości fali.
2. **Światło laserowe jest bardzo spójne.** Pojedyncze ciągi faliowe światła laserowego mogą mieć setki kilometrów długości. Gdy dwie części wiązki przebywające takie odległości po różnych drogach, nakładają się znów na siebie, „pamiętają” swój wspólny początek i są w stanie wytworzyć prądków interferencyjne. Odpowiednia *długość spójności (koherencji)* ciągów faliowych emitowanych przez żarówkę jest zwykle mniejsza niż metr.
3. **Światło lasera jest bardzo dobrze ukierunkowane.** Wiązka lasera rozszerza się w bardzo małym stopniu. Jej odstępstwo od dokładnej równoległości wynika wyłącznie z efektów dyfrakcyjnych okienka wyjściowego lasera. Na przykład impuls laserowy wykorzystywany do pomiaru odległości do powierzchni Księżycy wytwarza na jego powierzchni plamkę o średnicy zaledwie kilku metrów. Światło ze zwykłej żarówki można za pomocą soczewek uformować w wiązkę w przybliżeniu równoległą. Jednak rozbieżność takiej wiązki jest znacznie większa niż rozbieżność wiązki lasera. Każdy fragment włókna żarówki wytwarza osobną wiązkę, a rozbieżność kątowna wiązki wypadkowej jest określona przez rozmiar tego włókna.
4. **Światło lasera można dokładnie skupić.** Jeśli dwie wiązki światła przenoszą taką samą ilość energii, to wiązka, którą można skupić w mniejszą plamkę, będzie miała tam większe natężenie. Ognisko światła laserowego może być tak małe, że łatwo osiągnąć w nim gęstość mocy równą 10^{17} W/cm². Natężenie światła w plomieniu palnika tlenowo-acetylenowego jest zaledwie rzędu 10^3 W/cm².

Liczne zastosowania lasera

Aktywnym ośrodkiem najmniejszych laserów, używanych do transmisji dźwięku i danych przez światłowody, są kryształy półprzewodnikowe o rozmiarach główek od szpilki. Jakkolwiek małe, lasery takie potrafią wytworzyć około 200 mW



Rys. 41.18. Przyklejanie siatekówki za pomocą lasera skierowanego do wnętrza oka pacjenta

mocy. Największe lasery używane do badań nad syntezą jądrową, a także stosowane w astronomii i do celów wojskowych wypełniają duży budynek. Największy taki laser potrafi generować krótkie impulsy światła o mocy w impulsie sięgającej około 10^{14} W. Jest to moc kilkaset razy większa od całkowitej mocy wytwarzanej przez elektrownie w Stanach Zjednoczonych. Aby podczas takiego impulsu nie doprowadzić do krótkiego zalamania krajowego systemu energetycznego, energia potrzebna w każdym impulsie gromadzona jest ze stałą szybkością podczas stosunkowo długich przerw pomiędzy impulsami.

Sposród wielu innych zastosowań laserów można wymienić: skanowanie kodu paskowego, produkcję i odwarzanie płyt kompaktowych, chirurgię różnego rodzaju (patrz fotografia otwierająca ten rozdział i rysunek 41.18), geodezję, cięcie materiałów w przemyśle odzieżowym (kilkaset warstw naraz), spawanie karoserii samochodowych i tworzenie hologramów.

41.12. Jak działa laser

Słowo *laser* jest skrótem angielskiej nazwy *light amplification by the stimulated emission of radiation* (wzmocnienie światła przez wymuszoną emisję promieniowania), a więc nie powinno być zaskoczoną, że kluczem do działania lasera jest **emisja wymuszona**. Pojęcie to wprowadził w 1917 r. Einstein. Mimo że świat zobaczył działający laser dopiero w latach sześćdziesiątych ubiegłego wieku, to podstawy jego konstrukcji istniały już dziesiątki lat wcześniej.

Rozważmy izolowany atom, który może istnieć zarówno w stanie o najniższej energii równej E_0 (w stanie podstawowym), jak i w stanie o wyższej energii E_x (w stanie wzbudzonym). Poniżej wymienimy trzy procesy, dzięki którym atom może przejść z jednego stanu do drugiego:

1. **Absorpcja.** Na rysunku 41.19a pokazano atom znajdujący się początkowo w stanie podstawowym. Jeśli taki atom umieścimy w zmiennym polu elektromagnetycznym o częstotliwości ν , to będzie on mógł pochłonąć z tego pola energię $h\nu$ i przejść do stanu o wyższej energii. Z zasady zachowania energii wynika, że

$$h\nu = E_x - E_0. \quad (41.28)$$

Proces taki nazywamy **absorpcją**.

2. **Emisja spontaniczna.** Atom na rysunku 41.19b znajduje się w stanie wzbudzone i nie istnieje żadne promieniowanie zewnętrzne. Po pewnym czasie atom ten *sam z siebie* przejdzie do stanu podstawowego, emitując w tym procesie foton o energii $h\nu$. Proces taki nazywamy **emisją spontaniczną**, ponieważ akt ten nie jest wywołany żadnym czynnikiem zewnętrznym. W taki sposób powstaje światło we włóknie zwykłej żarówki.

Normalnie średni czas życia wzbudzonych atomów, czyli średni czas, jaki upływie, zanim nastąpi emisja spontaniczna, wynosi około 10^{-8} s. Jednak w przypadku niektórych stanów wzbudzonych ten średni czas może być nawet 10^5 razy dłuższy. Takie stany o długim czasie życia, nazywane stanami **metastabilnymi**, odgrywają w działaniu lasera ważną rolę.

Ta inwersja obsadzeń jest stosunkowo prosta do osiągnięcia, ponieważ: 1) początkowo w zasadzie nie ma atomów neonu znajdujących się w stanie E_1 , 2) metatność poziomu helu E_3 zapewnia stały dopływ atomów neonu w stanie E_2 i 3) atomy neonu w stanie o energii E_1 przechodzą szybko (przez poziomy poziom średnie nie pokazane na rysunku) do stanu podstawowego o energii E_0 .

Zatóżmy teraz, że w pewnej chwili następuje spontaniczna emisja fotonu przy przejściu atomu neonu ze stanu E_2 do stanu E_1 . Ten foton może wywołać emisję wymuszoną drugiego fotonu, a następnie oba mogą wywołać dalsze akty emisji wymuszonej. W wyniku takiej reakcji łańcuchowej tworzy się błyskawicznie spójna wiązka czerwonego światła laserowego poruszająca się równoległe do osi rury. Światło to, o długości fali 632,8 nm przechodzi wielokrotnie przez rurę do wyładowań, odbijając się kolejno od zwierciadeł Z_1 i Z_2 (rys. 41.21). Przy każdym przejściu gromadzi ona dodatkowe fotony powstałe w wyniku emisji wymuszonej. Zwierciadło Z_1 całkowicie odbija światło, zwierciadło Z_2 zaś jest częściowo „przepuszczalne”, tak że mała część światła laserowego zdoła przez nie przejść, tworząc użyteczną wiązkę zewnętrzną.

SPRAWDZIAN 4: Długość fali światła z lasera A (lasera gazowego helowo-neonowego) wynosi 632,8 nm, z lasera B (lasera gazowego CO_2) — 10,6 μm , a z lasera C (lasera półprzewodnikowego z arsenku galu) — 840 nm. Uszereguj te lasery zgodnie z malejącą różnicą energii pomiędzy dwoma stanami odpowiedzianymi za akcję laserową.

Przykład 41.6

Akcja laserowa w laserze helowo-neonowym z rysunku 41.21 zachodzi pomiędzy dwoma stanami wzbudzonymi atomu neonu. Jednak w wielu laserach akcja laserowa zachodzi pomiędzy stanem podstawowym i stanem wzbudzonym, tak jak to pokazano na rysunku 41.20.

a) Rozważ laser, który emituje światło o długości fali $\lambda = 550 \text{ nm}$. Ile wynosi stosunek liczby atomów w stanie E_1 do liczby atomów w stanie E_0 , jeśli atomy znajdują się w temperaturze pokojowej i nie jest wytworzana inwersja obsadzeń?

ROZWIĄZANIE:

1. Stosunek obsadzeń N_1/N_0 tych dwóch stanów w równowadze termodynamicznej, to znaczy pochodzących od zderzeń termicznych atomów gazu, wynika z równania (41.29), które możemy przekształcić do postaci

$$N_1/N_0 = e^{-\epsilon_1 - E_1 - E_0/kT} \quad (41.30)$$

Aby z równania (41.30) obliczyć stosunek N_1/N_0 , musimy wyznaczyć różnicę energii $E_1 - E_0$ pomiędzy tymi stanami.

2. Różnicę energii: $E_1 - E_0$ można obliczyć z danej długości fali światła laserowego $\lambda = 550 \text{ nm}$, emitowanego przy przejściu pomiędzy tymi stanami:

$$E_1 - E_0 = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

N_1/N_0 byłoby równy $\frac{1}{2}$. Podstawiając ten stosunek do równania (41.30), a następnie obliczając logarytm naturalny z obu stron równania i rozwiązując je względem T , otrzymujemy

$$T = \frac{E_1 - E_0}{k \ln 2} = \frac{2,26 \text{ eV}}{(8,62 \cdot 10^{-5} \text{ eV/K}) \ln 2} = 38\,000 \text{ K.} \quad (\text{odpowiedź})$$

Podsumowanie

Niektóre właściwości atomów Energie atomów są skwantowane, a więc atomy mogą przyjmować tylko pewne szczególne wartości energii związane z ich różnymi stanami kwantowymi. Atomy mogą przechodzić z jednego stanu do drugiego, emitując lub pochłaniając fotony. Częstość ν światła związanego z takim fotonem wynosi

$$h\nu = E_w - E_n \quad (41.1)$$

gdzie E_w jest energią wyższą, a E_n jest energią niższą pary stanów kwantowych biorących udział w tym przejściu. Atomy mają także skwantowane momenty pędu i magnetyczne momenty dipolowe.

Moment pędu i magnetyczne momenty dipolowe Elektron uwięziony w atomie ma orbitalny moment pędu L o wartości równej

$$L = \sqrt{l(l+1)}\hbar \quad (41.2)$$

gdzie l jest orbitalną liczbą kwantową (mogącą przyjmować wartości przedstawione w tabeli 41.1), stała „ \hbar kresłone” zaś jest równa $\hbar = h/2\pi$. Rzut L_z momentu pędu L na dowolną oś z jest skwantowany i mierzalny. Jego wartość zaś wynosi

$$L_z = m_l\hbar \quad (41.7)$$

gdzie m_l jest magnetyczną orbitalną liczbą kwantową (mogącą przyjmować wartości przedstawione w tabeli 41.1).

Z momentem pędu elektronu L związany jest orbitalny magnetyczny moment dipolowy μ_{orb} , który jest skierowany przeciwnie do wektora L :

$$\mu_{\text{orb}} = -\frac{e}{2m}L \quad (41.3)$$

Rzut μ_{orb} orbitalnego momentu magnetycznego μ_{orb} na dowolną oś z jest skwantowany i mierzalny. Jego wartość zaś wynosi

$$\mu_{\text{orb},z} = -m_l\mu_B \quad (41.5)$$

gdzie μ_B jest magnetonem Bohra:

$$\mu_B = \frac{eh}{4\pi m} = 9,274 \cdot 10^{-24} \text{ J/T.} \quad (41.6)$$

Elektron zarówno uwięziony, jak i swobodny ma wewnętrzny spinowy moment pędu (lub po prostu spin) S , którego wartość wynosi

$$S = \sqrt{s(s+1)}\hbar \quad (41.9)$$

Orzeczona temperatura jest znacznie wyższa niż temperatura powierzchni Słońca. Jasne jest, że jeśli chcemy odwrócić obsadzenie tych dwóch poziomów, to potrzebny jest jakiś szczególny mechanizm, który do tego doprowadzi. Innymi słowy, musimy „pomocować atomy”. W żadnej, dowolnie wysokiej temperaturze nie osiągniemy odwrócenia obsadzeń na skutek samych tylko zderzeń termicznych.

gdzie s jest spinową liczbą kwantową elektronu, która zawsze jest równa $\frac{1}{2}$. Rzut S_z spinu S na dowolną oś z jest skwantowany i mierzalny, jego wartość zaś wynosi

$$S_z = m_s\hbar \quad (41.12)$$

gdzie m_s jest magnetyczną spinową liczbą kwantową elektronu, która może być równa $+\frac{1}{2}$ lub $-\frac{1}{2}$.

Elektron — zarówno swobodny, jak i uwięziony w atomie — ma wewnętrzny magnetyczny moment dipolowy, który jest związany z jego spinowym momentem pędu S . Ten spinowy magnetyczny moment dipolowy μ_s jest antyrównoległy do wektora S :

$$\mu_s = -\frac{e}{m}\hbar S \quad (41.10)$$

Rzut μ_s spinowego momentu magnetycznego μ_s jest także skwantowany i mierzalny. Jego wartość zaś wynosi

$$\mu_{s,z} = -2m_s\mu_B \quad (41.13)$$

Spin i rezonans magnetyczny Proton ma wewnętrzny spinowy moment pędu \tilde{S} i związany z nim spinowy moment magnetyczny $\tilde{\mu}$, który jest zawsze skierowany równoległe do \tilde{S} . Jeśli proton umieszczony zostanie w zewnętrznym polu magnetycznym \tilde{B} , to rzut $\tilde{\mu}_z$ tego momentu magnetycznego na oś z (równoległą do kierunku \tilde{B}) może przybierać tylko dwie orientacje: równoległą do \tilde{B} i antyrównoległą do \tilde{B} . Różnica energii odpowiadających tym stanom wynosi $2\tilde{\mu}_z\tilde{B}$. Energia fotonu potrzebna do odwrócenia spinu protonu i przejścia pomiędzy tymi dwoma stanami wynosi

$$h\nu = 2\tilde{\mu}_z(\tilde{B}_{\text{zew}} + B_{\text{orb}}) \quad (41.22)$$

gdzie B_{zew} odpowiada indukcji pola zewnętrznego, B_{orb} zaś jest indukcją lokalnego pola magnetycznego pochodzącego od atomów i jąder otaczających ten proton. Wykrywając takie procesy odwracania spinu, otrzymujemy widma jądrowego rezonansu magnetycznego, które umożliwiają identyfikację różnych substancji.

Zakaz Pauliego Elektrony w atomie i innych pułapkach podlegają zakazowi Pauliego, który wymaga, aby dowolne dwa elektrony w tym samym atomie lub innego typu pułapce różniły się co najmniej jedną liczbą kwantową.

na zakres liczb falowych 3650–1300 cm^{-1} . W obszarze niższych częstości (do ok. 400 cm^{-1}) znajdują się liczne drgania, które są bardziej charakterystyczne dla całości danej cząsteczki, niż jej grup funkcyjnych. Ponadto w badaniach widm oscylacyjnych w podczerwieni wykorzystuje się zarówno zakres tzw. bliskiej podczerwieni ($\lambda \approx 1\text{--}2,5 \mu\text{m}$, tj. $\tilde{\nu} \approx 10\,000\text{--}4000 \text{ cm}^{-1}$), na który przypadają np. nadtony drgań rozciągających wiązań O—H, N—H i in., jak i dalszą podczerwień.

W ostatnim dziesięcioleciu rozwinięto badania w tzw. dalekiej podczerwieni (200–10 cm^{-1}), do czego przyczynił się rozwój techniki spektrometrii fourierowskiej (p. 10.2.3). Absorpcję w dalekiej podczerwieni powodują m. in. niektóre drgania rozciągające wiązań słabych, bądź łączących ugrupowania o dużej masie; należą tu np. drgania słabych wiązań łączących atom metalu z ligandami w wielu związkach kompleksowych i wiązań pomiędzy cząsteczkami tworzącymi kompleksy elektrono-donoro-akceptorowe. Poniżej 200 cm^{-1} znajdują się też z reguły pasma drgań skręcających (czyli torsyjnych), jakie wykonują w obrębie niektórych cząsteczek grupy ulegające hamowanej rotacji (p. 10.3.7). Interesującą dziedziną zastosowań spektroskopii w dalekiej podczerwieni są badania drgań jonów i cząsteczek w sieciach krystalicznych.

Typowych przykładów zastosowań spektroskopii oscylacyjnej do śledzenia oddziaływań międzycząsteczkowych dostarczają badania wiązań wodorowych. Tak na przykład tylko w widmach bardzo rozcieńczonych roztworów alkoholi w niepolarnych rozpuszczalnikach dominuje wspomniane już silne pasmo drgań rozciągających swobodnej grupy —OH. Ze wzrostem stężenia pasmo monomeru maleje, a pojawia się nowe pasmo absorpcyjne, którego wierzchołek przesuwa się stopniowo do ok. 3300 cm^{-1} (osłabienie wiązania O—H), przy jednoczesnym wzroście szerokości i integralnego natężenia pasma. Przyczyną tego jest powstawanie dimerów i wyższych asocjatów połączonych wiązaniami wodorowymi. Równocześnie przejawia się w dalekiej podczerwieni drganie mostka wodorowego.

Badania widm w podczerwieni cieczy (m.in. stopionych soli) przyczyniają się do wyjaśnienia ich stanu cząsteczkowego i struktury, a badania kryształów — do ustalenia uporządkowania tworzących je elementów i symetrii pola krystalicznego. Ważną rolę odgrywają badania widm w podczerwieni stałych polimerów (identyfikacja końcowych grup łańcuchów, badania uporządkowania makrocząsteczek i in.). Uporządkowanie cząsteczek w ciele stałym wywołuje zjawisko dichroizmu; dlatego w badaniach kryształów i polimerów stosuje się często pomiary absorpcji przy użyciu spolaryzowanego promieniowania podczerwonego.

Drgania cząsteczek przejawiają się nie tylko w absorpcyjnych widmach w podczerwieni, ale też w tzw. widmach ramanowskich.

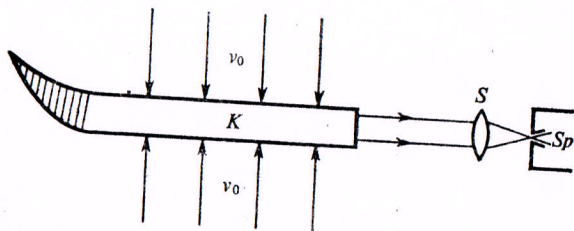
10.5. Efekt Ramana i widma ramanowskie

W punkcie 9.3.2 zostało omówione zjawisko klasycznego rozpraszania promieniowania (rozpraszania Rayleigha). Jeśli rozpraszaniu takiemu ulega monochromatyczne promieniowanie o częstości ν_0 , to spójne promieniowanie rozproszone ma tę samą częstość. Jednakże w 1928 r. C. V. Raman i K. S. Krishnan, którzy badali rozpraszanie w gazach i cie-

czach (m.in. w benzenie) oraz G. S. Landsberg i L. I. Mandelsztam, badający to zjawisko w krystalicznym kwarcu, wykryli w widmie rozproszonego promieniowania dodatkowe słabe pasma o innych częstościach. Odkryte przez wymienionych autorów zjawisko jest krótko nazywane *zjawiskiem Ramana*, a widma nieklasycznego, niespójnie rozproszonego promieniowania — *widmami ramanowskimi*.

10.5.1. Powstawanie i pochodzenie widm ramanowskich

Uproszczony schemat aparatury do wzbudzenia i rejestracji widm ramanowskich jest przedstawiony na rys. 10.16. Monochromatyczne promieniowanie o częstości ν_0 , zazwyczaj z obszaru światła widzialnego, jest skierowane na kuetę z badaną próbką, prostopadle do jej osi. Źródłem światła bywa, w starszych przyrządach, niskociśnieniowa lampa rtęciowa zaopatrzona w filtr przepuszczający jedną z widzialnych linii emisyjnych rtęci. We współczesnej aparaturze stosuje się jako źródło światła wyłącznie lasery gazowe zapewniające



Rys. 10.16. Schemat aparatury do badania widma ramanowskiego: K — kuetę z badaną substancją, S — układ soczewek, Sp — spektrometr; ν_0 — częstość rozpraszanego promieniowania. Lewy koniec kuetę K jest zagięty i poczerniony, aby zmniejszyć natężenie promieniowania ν_0 docierającego po odbiciu do spektrometru

idealną niemal monochromatyczność i równoległość wiązki pierwotnej przy bardzo dużej jej mocy. Promieniowanie rozproszone wychodzi z kuetę przez płasko-równoległe okienko boczne i kierowane jest układem soczewek do spektrografu umożliwiającego zarejestrowanie jego widma.

Ramanowskie widmo gazowej substancji złożonej z dwutomowych cząsteczek (np. HCl) jest schematycznie pokazane na rys. 10.17. Jeśli warunki eksperymentalne pozwalają na optymalne rozdzielenie widma, to po obu stronach bardzo silnej, szerokiej linii o częstości ν_0 , pochodzącej z rozproszenia Rayleigha, układa się symetrycznie szereg bliskich, słabych linii. Są one przesunięte względem linii ν_0 o odstępów $\Delta\nu'$, $\Delta\nu''$, ..., które odpowiadają częstościom przejść rotacyjnych cząsteczki, znanym w przypadku HCl z badań widm w dalekiej podczerwieni. Jednocześnie znacznie dalej od linii ν_0 pojawiają się, po obu jej stronach, wąskie pasma, których odstępów $\Delta\nu$ od centralnej linii ν_0 są równe częstości podstawowego przejścia oscylacyjnego ($\nu' = 1 \leftarrow \nu'' = 0$) w cząsteczce badanej substancji. Uderzająca jest różnica natężeń obu pasm przesuniętych względem ν_0 o $\Delta\nu$; pasmo przesunięte długo-

falowo, ze
szym pasm
się dostrze
oscylacyjn
W ram
lacyjnych

Rys. 10.17. S
linii wskazu

pozostaje
ramanows
NH₃ i in.

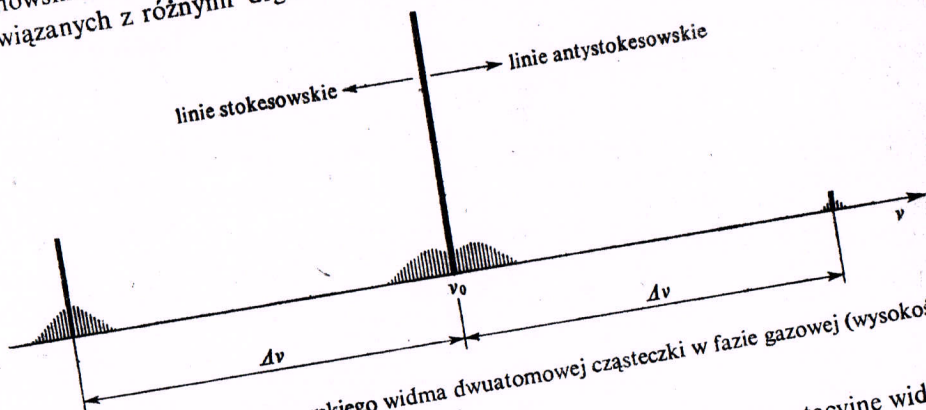
Opisan
tarna teori
zderzenia
elastycznej
zmienione.
podczas kol
cząsteczki.
energii dw
dwie możl

a) częst
promienio
niowania p
linii Rayle
b) częst
energii pov
czyli pojav
 $\nu_0 + \nu$.

* Termin
i ustalonej p
elektronowej

falowo, zwane stokesowskim, jest wielokrotnie silniejsze od przesuniętego ku falom krótszym pasma antystokesowskiego*. Dlatego tylko w obrębie pierwszego z tych pasm udaje się dostrzec wyraźnie słabe linie struktury rotacyjnej świadczące, że powstało tu całe pasmo oscylacyjno-rotacyjne związane z podstawowym przejściem oscylacyjnym.

W ramanowskich widmach wieloatomowych cząsteczek występują pasma przejść oscylacyjnych związanych z różnymi drganiem normalnymi: struktura rotacyjna tych pasm



Rys. 10.17. Schemat struktury ramanowskiego widma dwuatomowej cząsteczki w fazie gazowej (wysokości linii wskazują tylko jakościowo różnice ich natężeń)

pozostaje z reguły nierozdzielona. Natomiast otrzymano i zbadano czysto rotacyjne widma ramanowskie niewielkich, wieloatomowych cząsteczek w stanie gazowym, jak np. N_2O , NH_3 i in.

Opisany tu efekt widmowy został przewidziany już przez F. Smekala (1923). Elementarna teoria kwantowa powstawania widm ramanowskich wynika z rozważań Smekala nad zderzeniami pomiędzy fotonem i cząsteczką. Rozpraszanie Rayleigha odpowiada zderzeniu elastycznemu, w wyniku którego energia fotonu $h\nu_0$, a więc i wartość ν_0 , pozostają niezmienione. Jednakże rozproszenie może zachodzić i w wyniku zderzenia nieelastycznego, podczas którego foton oddaje część swojej energii, bądź zwiększa ją kosztem energii cząsteczki. Cząsteczka może pobrać albo oddać fotonowi jedynie energię równą różnicy energii dwu stacjonarnych stanów energetycznych, E' i E'' . Jeśli $E' - E'' = h\nu$, to istnieją dwie możliwości:

- cząsteczka przechodzi ze stanu E'' o niższej energii do stanu E' , w rozproszonym zaś promieniowaniu pojawia się foton o energii $h(\nu_0 - \nu)$, wobec czego w widmie tego promieniowania powstaje linia stokesowska przesunięta ku niższym częstościom w stosunku do linii Rayleigha;
- cząsteczka w stanie wzbudzonym E' przechodzi do niższego stanu E'' , a różnica tych energii powoduje wystąpienie w rozproszonym promieniowaniu fotonu o energii $h(\nu_0 + \nu)$, czyli pojawienie się w widmie tego promieniowania linii antystokesowskiej o częstości $\nu_0 + \nu$.

* Terminy „pasma antystokesowskie” i „pasma stokesowskie” pochodzą od nazwiska G. G. Stokesa i ustalonej przezeń w XIX w. reguły dotyczącej położenia pasm fluorescencji względem pasm absorpcji elektronowej cząsteczek (patrz rozdz. 11).

Z rozważań teoretycznych wynika, że rozproszenie zachodzi w opisany sposób, jeśli $h\nu \ll h\nu_0$. Dlatego wzbudzenie efektu Ramana światłem widzialnym indukuje przejścia pomiędzy poziomami oscylacyjnymi i rotacyjnymi cząsteczek. Jednocześnie jednak energia fotonu $h\nu_0$ nie jest na ogół tak duża, by wywoływała wzbudzenie elektronowe cząsteczki. Wysyłanie przez naświetloną substancję linii ramanowskich jest więc zjawiskiem zupełnie różnym od fotoluminescencji, tj. emisji spowodowanej uprzednim wzbudzeniem cząsteczki do wyższego stanu elektronowego przez absorpcję kwantu o odpowiedniej energii (patrz rozdz. 11).

W punkcie 10.3.4 zostało pokazane, że ułamek cząsteczek wzbudzonych oscylacyjnie na drodze termicznej jest w normalnej temperaturze bardzo mały. Zaniedbując zupełnie znikome obsadzenie termiczne poziomów oscylacyjnych o $v > 1$ możemy twierdzić, że ułamek cząsteczek wzbudzonych oscylacyjnie w temperaturze T wynosi $\exp(-h\nu/kT)$, gdzie $h\nu$ przedstawia różnicę energii poziomów o $v = 1$ i $v = 0$. Prawdopodobieństwo natrafienia fotonu pierwotnego promieniowania ($h\nu_0$) na cząsteczkę w stanie $v = 1$ jest równe temu ułmkowi. Stąd też stosunek natężenia antystokesowskiego pasma danego drgania w widmie ramanowskim do natężenia odpowiadającego mu pasma stokesowskiego jest (z dobrym przybliżeniem) także równy temu ułmkowi. Tak więc znacznie mniejsze natężenie pasm antystokesowskich jest zupełnie zrozumiałe, a w przypadku drgań o większych częstościach (dużej wartości $h\nu$) nie należy w ogóle oczekiwać ich wystąpienia w temperaturze pokojowej.

Zasadnicze znaczenie badań widm ramanowskich polega na tym, że w widmach tych przejawiają się często takie drgania cząsteczkowe, które w widmach w podczerwieni są nieaktywne, oraz że uzyskujemy ramanowskie widma rotacyjne cząsteczek niepolarnych, które — jak pokazano w p. 10.3.4 — nie dają w ogóle absorpcyjnych widm rotacyjnych. Przyczyną tego jest zupełnie inny mechanizm powstawania odpowiednich widm przez rozpraszanie niż przez absorpcję promieniowania i stosownie do tego inne reguły wyboru obowiązujące w obu przypadkach.

10.5.2. Reguły wyboru dla przejść oscylacyjnych i drgania aktywne w widmie Ramana

Rozpraszanie światła przez cząsteczki jest związane z momentami dipolowymi, jakie indukuje w nich pole elektryczne fali świetlnej (por. p. 9.3.2). Wektor pola elektrycznego fali świetlnej o częstości ν_0 zmienia się w czasie zgodnie z równaniem:

$$E = E_0 \cos 2\pi\nu_0 t \quad (10.57)$$

w którym E_0 oznacza amplitudę natężenia E . Pole E indukuje w cząsteczce zmienny w czasie moment dipolowy, zależny od jej polaryzowalności elektronowej α_e . Ponieważ w tym przypadku [por. wzór (9.8)]:

$$\mu_{ind} = \alpha_e E = \alpha_e E_0 \cos 2\pi\nu_0 t \quad (10.58)$$

więc amplituda indukowanego momentu dipolowego wynosi:

$$\mu_{\text{ind}}^0 = \alpha_e E_0 \quad (10.59)$$

Przyjmijmy, że rozproszenie światła zachodzi na cząsteczkach dwuatomowych, mających tylko jedną współrzędną normalną Q zmieniającą się w czasie drgania. Prawdopodobieństwo, że w procesie zderzenia z kwantem $h\nu_0$ zajdzie przejście cząsteczki ze stanu oscylacyjnego ψ''_{osc} o kwantowej liczbie oscylacyjnej v'' do stanu ψ'_{osc} scharakteryzowanego liczbą kwantową v' , a tym samym natężenie emitowanego pasma ramanowskiego, jest proporcjonalne do kwadratu momentu przejścia. Jest on dany znów podstawowym wzorem (7.114) z tym, że rolę $\hat{\mu}$ w tym wzorze przejmuje obecnie niezależna od czasu amplituda indukowanego momentu dipolowego wyrażona wzorem (10.59). Wobec tego:

$$M_{v'',v'} = E_0 \int \psi''_{\text{osc}} \alpha_e \psi'_{\text{osc}} dQ \quad (10.60)$$

Polaryzowalność α_e jest na ogół funkcją Q ; można ją rozwinąć w szereg Maclaurina:

$$\alpha_e = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_{Q=0} Q + \dots \quad (10.61)$$

W przybliżeniu harmonicznym ograniczamy rozwinięcie do dwu składników. Wprowadzając rozwinięcie (10.61) do wzoru (10.60) otrzymujemy:

$$M_{v'',v'} = E_0 \alpha_0 \int \psi''_{\text{osc}} \psi'_{\text{osc}} dQ + E_0 \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_{Q=0} \int \psi''_{\text{osc}} Q \psi'_{\text{osc}} dQ \quad (10.62)$$

Dla $v'' \neq v'$ pierwsza całka równa się zero, wobec ortogonalności funkcji falowych oscylatora. Moment ramanowskiego przejścia oscylacyjnego jest więc dany drugim składnikiem sumy. Aby składnik ten był różny od zera, muszą być spełnione dwa warunki:

1. Pochodna $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_{Q=0} \neq 0$. Oznacza to, że w trakcie drgania musi się zmieniać polaryzowalność cząsteczki i to tak, by w położeniu równowagowym ($Q = 0$) nie przybierała ona wartości ekstremalnej. Natężenie oscylacyjnego pasma ramanowskiego jest proporcjonalne do kwadratu tej pochodnej.

2. Całka w drugim składniku nie może być równa zero. Całka ta jest identyczna z ostatnią całką we wzorze (10.41). Jak wiemy już, jest ona różna od zera tylko wtedy, gdy $v'' - v' = \pm 1$ [por. dyskusję wzoru (10.41)]. Wynika stąd, że w przybliżeniu harmonicznym może pojawić się w widmie ramanowskim tylko drganie podstawowe.

Najważniejszy jest dla nas pierwszy z otrzymanych warunków. Można go przenieść, za pomocą podobnego wyprowadzenia, na każde drganie normalne dowolnej wieloatomowej cząsteczki. Ponieważ polaryzowalność α_e jest tensorem symetrycznym mającym sześć, na ogół różnych, składowych (por. p. 2.3.2 i 9.3.2), więc otrzymany wynik można uogólnić następująco:

(10.57)

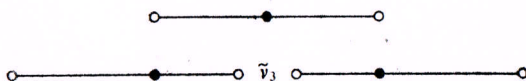
(10.58)

Drganie normalne związane ze zmianą współrzędnej normalnej Q_i jest aktywne w oscylacyjnym widmie ramanowskim tylko wtedy, gdy choćby dla jednej składowej α_{kl} tensora polaryzowalności elektronowej cząsteczki jest spełniony warunek:

$$\left(\frac{\partial \alpha_{kl}}{\partial Q_i} \right)_{Q_i=0} \neq 0$$

Konsekwencje tej reguły wyboru są natychmiast widoczne w przypadku dwuatomowych cząsteczek homojądrowych, których jedyne możliwe drganie nie przejawia się, jak wiemy, w podczerwieni. Ponieważ w jednej skrajnej fazie tego drgania wiązanie jest maksymalnie rozciągnięte, a w drugiej maksymalnie skomprimowane, więc polaryzowalność elektronowa cząsteczki przybiera w tych obu fazach wartości ekstremalne, a w konfiguracji równowagowej — wartość pośrednią. Wobec tego drganie każdej homojądrowej cząsteczki dwuatomowej (N_2 , O_2 itp.) jest aktywne w widmie ramanowskim. Badanie ramanowskich widm homojądrowych cząsteczek dwuatomowych dostarcza o nich takich samych informacji, jakie uzyskujemy badając widma w podczerwieni w przypadku heterojądrowych cząsteczek. Natomiast drganie dwuatomowej cząsteczki o wiązaniu niemal czysto jonowym (jak $NaCl$ w fazie gazowej) nie wpływa praktycznie na rozkład gęstości ładunku elektronowego i polaryzowalności powłok elektronowych jonów, i w widmie Ramana nie przejawia się (ale jest za to aktywne w podczerwieni).

Z tej samej przyczyny, dla której aktywne są w widmach ramanowskich drgania homojądrowych cząsteczek dwuatomowych, aktywne jest w takich widmach np. pełnosymetryczne drganie cząsteczki CO_2 ($\tilde{\nu}_1$ na rys. 10.15). Drgania $\tilde{\nu}_2$ i $\tilde{\nu}_3$ tej cząsteczki, aktywne w podczerwieni, nie pojawiają się w widmie Ramana. Rozpatrzenie formy tych drgań pozwala stwierdzić od razu, że w obu skrajnych fazach każdego z nich deformacja „chmur elektrono-



Rys. 10.18. Schemat położenia atomów cząsteczki CO_2 w konfiguracji równowagowej i obu skrajnych fazach drgania $\tilde{\nu}_3$ (2349 cm^{-1})

wych” cząsteczki i jej polaryzowalność elektronowa muszą być jednakowe; w położeniu równowagowym musi wystąpić wobec tego minimum albo maksimum polaryzowalności (patrz rys. 10.18).

Ogólniejsze rozpatrzenie symetrii cząsteczek i jej zmian w trakcie drgań prowadzą do ważnych wniosków, które ilustruje m.in. przykład cząsteczki CO_2 :

a) jeśli cząsteczka ma środek symetrii, to każde jej drganie, które występuje w widmie w podczerwieni, jest zabronione w widmie ramanowskim i na odwrót — drgania dozwolone w widmie Ramana są zabronione w widmie w podczerwieni (tzw. zakaz alternatywny);

b) każde drganie pełnosymetryczne dowolnej cząsteczki jest aktywne w jej widmie ramanowskim. Odnosi się to także do nadtonów i drgań złożonych, które mogą pojawić się w widmach Ramana na skutek anharmoniczności drgań, ale dają na ogół pasmo o bardzo małym natężeniu. Wniosek ten nie wyklucza oczywiście występowania w widmach rama-

nowskich drgań niepełnosymetrycznych, zmieniających w odpowiedni sposób polaryzowalność cząsteczki. Na przykład wszystkie drgania normalne cząsteczki SO_2 , pokazane na rys. 10.15, przejawiają się w ramanowskim widmie tego związku.

W punkcie 9.3.2 zdefiniowaliśmy stopień depolaryzacji Δ światła rozproszonego [wzór (9.37)]. Jeśli światło padające (rozpraszane) jest niespolaryzowane, to pasma ramanowskie niepełnosymetrycznych drgań wykazują $\Delta = 6/7$, a pasma drgań pełnosymetrycznych $\Delta < 6/7$; w przypadku liniowo spolaryzowanego światła padającego należy zastąpić podaną liczbą przez $3/4$. Silnie spolaryzowane, a przy tym zwykle silne pasma ramanowskie charakteryzują więc drgania pełnosymetryczne.

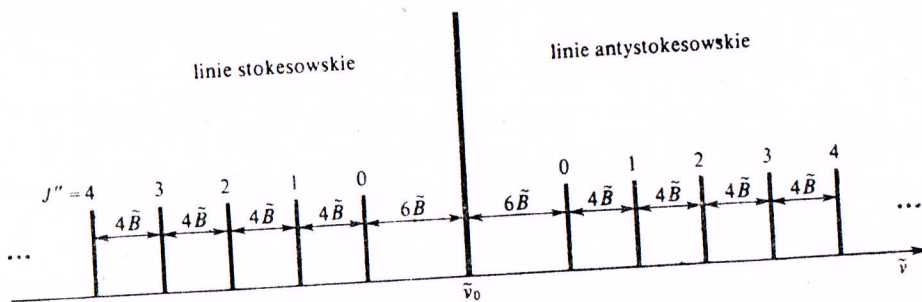
10.5.3. Rotacyjne widma ramanowskie

Rotacyjne widma ramanowskie powstają dzięki anizotropii polaryzowalności elektrodynamowej cząsteczek (patrz p. 9.3). Jeśli rotuje np. cząsteczka liniowa, to jej polaryzowalność w kierunku działania pola indukującego moment dipolowy zmienia się periodycznie, z częstością dwukrotnie większą od częstości rotacji. Z analizy wyrażenia podającego moment przejścia rotacyjnego wynika, że w takim przypadku natężenie linii w rotacyjnym widmie ramanowskim jest proporcjonalne do kwadratu różnicy polaryzowalności w kierunku osi cząsteczki i w kierunku prostopadłym do niej. Można dalej wykazać, że dla ogromnej większości liniowych cząsteczek obowiązuje reguła wyboru:

$$\Delta J = 0, \pm 2$$

W czysto rotacyjnym widmie przejściu o $\Delta J = 0$ odpowiada po prostu linia Rayleigha ($\tilde{\nu}_0$). Zakładając sztywność rotatora i wykorzystując schemat poziomów rotacyjnych podany na rys. 10.7, dochodzimy, na podstawie podanej reguły wyboru, do schematu widma przedstawionego na rys. 10.19.

W odległości $6\tilde{B}$ (w skali liczb falowych) od linii Rayleigha rozpoczyna się po obu jej stronach ciąg linii rotacyjnych, których wzajemne odległości wynoszą $4\tilde{B}$. Stokesowską gałąź widma tworzą przejścia $J' = 2 \leftarrow J'' = 0, J' = 3 \leftarrow J'' = 1, J' = 4 \leftarrow J'' = 2$ itd.,



Rys. 10.19. Układ linii w ramanowskim widmie rotacyjnym liniowej cząsteczki. J'' oznacza rotacyjną liczbę kwantową niższego ze stanów rotacyjnych, między którymi zachodzi przejście. W widmach niektórych niepolarnych cząsteczek liniowych brak części zaznaczonych linii

a antystokesowską — przejścia $J' = 2 \rightarrow J'' = 0$, $J' = 3 \rightarrow J'' = 1$, ... W odróżnieniu od oscylacyjnego widma ramanowskiego, natężenia linii są w obu gałęziach w przybliżeniu jednakowe, co wynika ze znacznego obsadzenia termicznego wzbudzonych stanów rotacyjnych (p. 10.3.4).

Oczywiste jest, że opisane widmo pozwala wyznaczyć stałą rotacyjną \tilde{B} , a więc uzyskać te same informacje o cząsteczce, jakie daje analiza rotacyjnego widma absorpcyjnego. Zasadnicze znaczenie ma fakt, iż rotacyjne widma ramanowskie umożliwiają uzyskanie tych informacji także w przypadku cząsteczek niepolarnych, jak dwuatomowe cząsteczki homojądrowe, CO_2 , acetylen i in. Jedynie nieliniowe cząsteczki typu bąka sferycznego, odznaczające się izotropową polaryzowalnością, nie mogą dawać czysto rotacyjnych widm Ramana.

Do wyznaczania stałych rotacyjnych \tilde{B} w różnych stanach oscylacyjnych, także w przypadku cząsteczek typu bąka sferycznego (np. CH_4), można wykorzystać oscylacyjno-rotacyjne widma ramanowskie.

10.5.4. Zastosowania spektroskopii ramanowskiej

Spektroskopia ramanowska stanowi niezbędne uzupełnienie absorpcyjnej spektroskopii rotacyjnej i oscylacyjnej. Po pierwsze, niekiedy tylko metoda ramanowska pozwala — obok badań widm elektronowych — wyznaczyć podstawowe parametry cząsteczki, jak w przypadku dwuatomowych cząsteczek homojądrowych. Po drugie, dopiero zestawienie danych otrzymanych z badań widm w podczerwieni i widm ramanowskich pozwala wyciągnąć uzasadnione wnioski dotyczące np. geometrii cząsteczki. Zakładając określoną konfigurację równowagową atomów można przewidzieć, metodami teorii grup*, liczbę i symetrię drgań aktywnych w podczerwieni i widmie ramanowskim, a następnie porównać wnioski z danymi doświadczalnymi. Tą drogą uzyskano m.in. jeden z ważkich dowodów, że pierścień cząsteczki benzenu w elektronowym stanie podstawowym jest regularnym, płaskim sześciobokiem (C. K. Ingold i współprac., 1936).

Prócz tego spektroskopia ramanowska bywa z korzyścią stosowana w tych samych celach, w jakich stosuje się spektroskopię w podczerwieni — a więc np. do identyfikacji cząsteczek poprzez ich częstości charakterystyczne; w wielu przypadkach są one łatwiejsze od odnalezienia w widmach Ramana, niż w widmach w podczerwieni. Uzyskanie widm Ramana w zakresie niskich częstości ($\tilde{\nu} < 200 \text{ cm}^{-1}$) nie wymaga specjalnej aparatury potrzebnej do pomiarów w dalekiej podczerwieni. Dlatego metodę ramanowską stosowano od dawna do badań drgań torsyjnych cząsteczek, drgań sieci krystalicznych itp. Badania oscylacyjnych widm substancji w roztworach wodnych prowadzi się wyłącznie tą metodą, gdyż silna absorpcja wody uniemożliwia pomiary w podczerwieni. Wspomnimy wreszcie o wykorzystaniu spektroskopii ramanowskiej w analizie ilościowej, np. do oznaczania zawartości rozmaitych węglowodorów w produktach naftowych. Natężenie linii ramanowskich

* Prosty wykład zastosowania tych metod do zagadnień struktury cząsteczek znajdzie Czytelnik np. w podręczniku: F. A. Cotton, „Teoria grup”, PWN, Warszawa 1973 (tłum. z ang.).

jest wprost proporcjonalne do liczby cząsteczek rozpraszającej substancji w jednostce objętości próbki, co umożliwia wykonywanie takich oznaczeń.

Dzięki rozpowszechnieniu, w ostatnim piętnastoleciu, fotoelektrycznej aparatury rejestrującej widma ramanowskie wzbudzone laserami, spektroskopia ramanowska stała się metodą eksperymentalnie prostą i bardzo efektywną, a krąg jej zastosowań rośnie. Rozwijają się też nowe modyfikacje tej metody, jak np. badanie wymuszonej emisji ramanowskiej.

10.6. Elektronowe widma cząsteczek dwuatomowych

Elektronowe widma dwuatomowych cząsteczek są stosunkowo dobrze poznane, przede wszystkim dlatego, że eksperymentalne rozdzielanie ich struktury oscylacyjno-rotacyjnej jest łatwiejsze niż w przypadku bardziej złożonych cząsteczek. Teoretyczne podstawy interpretacji takich widm też są dokładnie opracowane. Mimo to, widma elektronowe tylko niektórych cząsteczek dwuatomowych zostały dotąd zbadane i zinterpretowane w sposób dość wyczerpujący i to nie w tym stopniu, co np. liczne widma atomowe. Przyczyną tego jest bardzo bogata i zawiła struktura widma (por. rys. 10.2), rozmaita w dodatku dla różnych przejść elektronowych w obrębie cząsteczki.

10.6.1. Sprzężenie ruchów elektronów z rotacją cząsteczek i reguły wyboru przejść elektronowych

W punkcie 8.3.3 poznaliśmy dwie liczby kwantowe charakteryzujące (w większości przypadków) stany elektronowe dwuatomowych cząsteczek. Jedna z nich, oznaczana symbolem A , jest związana z oddziaływaniem wypadkowego orbitalnego momentu pędu elektronów cząsteczki z jej wewnętrznym polem elektrycznym, skierowanym wzdłuż osi cząsteczki (z). Liczba A określa zetową składową tego momentu pędu. Liczba kwantowa S charakteryzuje wypadkowy spin elektronów cząsteczki, którego wartość wynosi $\sqrt{S(S+1)}\hbar$. Od liczby S zależy multipletowość stanu elektronowego.

Dla pełnej charakterystyki stanów elektronowych cząsteczki i opisu struktury widm należy jeszcze rozważyć rozmaite możliwości sprzężenia orbitalnego momentu pędu elektronów z ich spinem (por. podobne sprzężenia w przypadku atomów — p. 7.5.3) oraz sprzężenie tych momentów pędu z momentem pędu ruchu rotacyjnego cząsteczki. Wymienione sprzężenia zachodzą za pośrednictwem wzajemnych oddziaływań magnetycznych, powodują powstawanie linii — tylko jako przy-

Rozmaite typy skłasyfikował F. niektóre, najważ