SPEKTROSKOPIA MOLEKULARNA I semestr 2. stopień ZFMB/Biofizyka molekularna (30h W + 30h Ćw)

- I. Fizykochemiczne podstawy spektroskopii (rekapitulacja; *1 wykład*)
 - struktura cząsteczki, symetria i tablice charakterów grup, konformacja
 - dynamika ruchów molekularnych, model dyfuzyjny
- II. Oddziaływanie promieniowania elektromagnetycznego z cząsteczkami (3 wykłady)
 - energia cząsteczki i makroskopowego układu cząsteczek, diagram Jabłońskiego
 - prawdopodobieństwo przejścia (złota reguła Fermiego), moment dipolowy, absorpcja, emisja, rozpraszanie Ramana i tensor polaryzacji, reguły wyboru
 - klasyfikacja i ogólna charakterystyka metod spektroskopii, parametry opisu widma
 - techniczne podstawy rejestracji widm, lasery, spektroskopia fourierowska
- III. Spektroskopia absorpcyjna i ramanowska w podczerwieni (IR) (2 wykłady)
 - widma oscylacyjno-rotacyjne cząsteczek dwuatomowych
 - widma oscylacyjne cząsteczek wieloatomowych, drgania normalne, częstość grupowa (charakterystyczna)
 - struktura rotacyjna pasm oscylacyjnych, tensor momentu bezwładności, oddziaływanie Coriolisa
 - widma aktywności optycznej Ramana (ROA) i wibracyjnego dichroizmu kołowego (VCD)
- IV. Spektroskopia w bliskim nadfiolecie i w zakresie widzialnym (UV VIS) (3 wykłady)
 - absorpcyjne widma elektronowe, reguła Francka-Condona
 - chromofor i diagram Kasha, sprzężenie wibronowe
 - fluorescencja i fosforescencja, metody stacjonarne i czasowo-rozdzielcze, FCS
 - wygaszanie stanów wzbudzonych, rezonansowy transfer energii (FRET)
 - dichroizm kołowy (CD), dichroizm liniowy (LD), rezonansowy efekt Ramana (RR)
- V. Magnetyczny rezonans jądrowy (NMR) i elektronowy rezonans paramagnetyczny (EPR) (4 wykłady)
 - rezonans magnetyczny jądra w ujęciu kwantowym i rezonans makroskopowego układu jąder w ujęciu obrazie klasycznym
 - oddziaływania jądro-jądro i jądro-elektron
 - widma w ciele stałym i widma wysokiej zdolności rozdzielczej
 - wymiana chemiczna, relaksacja jądrowa, jądrowy efekt Overhausera (NOE)
 - rezonans magnetyczny elektronu i widma EPR
- VI. Współczesne techniki spektroskopowe i zastosowania spektroskopii w biofizyce, chemii i biologii (2 wykłady)
 - techniki wielowymiarowe
 - spektroskopia pojedynczej cząsteczki (SMS)
 - przykładowe zastosowania spektroskopii molekularnej.

LITERATURA

- 1) P.W. Atkins "Molekularna mechanika kwantowa"
- 2) H. Günther "Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego"
- 3) F.A. Cotton "Teoria grup. Zastosowania w chemii"
- 4) W. Demtröder "Spektroskopia laserowa"

Plansze i tekst:

http://www.biogeo.uw.edu.pl/files/biogeo/users/stolarsk/spektroskopia_molekularna

WYKŁAD 1.

Wykład SPEKTROSKOPIA MOLEKULARNA [PLANSZA 1] obejmuje omówienie zagadnień standardowych metod spektroskopowych w badaniach cząsteczek organicznych, od zakresu fal radiowych (magnetyczny rezonans jądrowy NMR; nuclear magnetic resonance i elektronowy rezonans paramagnetyczny EPR; elektron paramagnetic resonance), poprzez mikrofale MW (microwave), podczerwień IR (infrared) do zakresu widzialnego VIS (visible) i bliskiego ultrafioletu UV (ultraviolet) [PLANSZA 2: plan wykładu, zagadnienia, literatura]. Na wstępie zostaną przypomniane niezbędne, podstawowe pojęcia z zakresu fizykochemii cząsteczki i układu cząsteczkowego z szerszym, chociaż bardzo skrótowym ujęciem zagadnień symetrii cząsteczki, a następnie zostanie przedstawiony zarys zagadnienia oddziaływania promieniowania elektromagnetycznego z układami molekularnymi. Ostatni wykład zawiera omówienie zastosowań spektroskopii do analizy przykładowych zagadnień z zakresu związanego z biofizyką molekularną. Nacisk jest położony na strukturę widm spektroskopowych, a zagadnienia techniczne (optyka) rejestracji widma są ujęte skrótowo, z szerszym omówieniem wykorzystania laserów. Scharakteryzowane będą również współcześnie rozwijane techniki, ze szczególnym uwzględnieniem metod fourierowskich, metod wielowymiarowych i spektroskopii pojedynczej cząsteczki.

Celem wykładu jest przybliżenie spektroskopii jako **narzędzia w rozwiązywaniu zagadnień biofizyki molekularnej** i **chemii strukturalnej**. Wybrany zestaw zadań i problemów do analizy podczas <u>ćwiczeń</u> ma na celu lepsze zrozumienie materiału prezentowanego na wykładzie poprzez samodzielne rozwiązywanie prostych zadań z zakresu interpretacji widm i zastosowań spektroskopii. Z zaproponowanych czterech podręczników dwa pierwsze mają charakter podstawowy i dotyczą:

- teoretycznych podstaw spektroskopii ujętych w wykładzie; pozycje (1) i (2);

- wykorzystania teorii grup i reprezentacji grup w spektroskopii; pozycja (3)

- teoretycznych i eksperymentalnych zagadnień współczesnej spektroskopii ze szczególnym uwzględnieniem wykorzystania laserów; pozycja (4).

PLANSZE do wykładów, tekst wykładu i rozwiązania zadań (po ćwiczeniach) są umieszczane w internecie: *http://www.biogeo.uw.edu.pl/spectroskopia_molekularna*.
Podczas wykładu stosowana jest notacja: operatory i wektory czcionką pogrubioną (bold), skalary czcionką zwykłą, *elementy symetrii (osie, płaszczyzny itd.) kursywą*.

2

<u>Pierwsze wykłady</u> obejmują przypomnienie fizykochemicznej charakterystyki cząsteczki i układu molekularnego: struktura, konformacja, symetria, dynamika ruchów molekularnych oraz energii cząsteczki i makroskopowego układu molekularnego, które są niezbędne do opisu oddziaływań z promieniowaniem elektromagnetycznym i do rejestracji widm spektroskopowych:.

STRUKTURA cząsteczki chemicznej (organicznej), tu <u>na przykładzie cząsteczki</u> <u>BENZENU</u> jest wyznaczona przez następujące pojęcia: [PLANSZA 3: struktura i symetria cząsteczki benzenu C₆H₆].

(A) Struktura chemiczna: rodzaj i wzajemne połączenie wiązaniami kowalencyjnymi zrębów atomowych (jąder z elektronowymi powłokami wewnętrznymi), a mniej ściśle "atomów", zapisane w formie wzoru strukturalnego C_6H_6 .

(B) Struktura przestrzenna: ustawienie zrębów atomowych wynikające ze struktury chemicznej i określone przez podanie wartości trzech współrzędnych kartezjańskich (x_i, y_i, z_i) dla każdego i-tego zrębu atomowego w wybranym układzie współrzędnych;

(C) Konformacja: ze względu na możliwość obrotów wokół wiązań pojedynczych i częściowo podwójnych cząsteczka niesztywna może przyjmować więcej niż jedną strukturę przestrzenną (kilka konformacji) z możliwością dynamicznego przechodzenia między formami, np. w cykloheksanie C_6H_{12} , w przeciwieństwie do sztywnej, płaskiej cząsteczki benzenu.

Przestrzenny układ zrębów atomowych cząsteczki może charakteryzować się określoną **SYMETRIĄ**, tzn. można na cząsteczce przeprowadzić określone operacje przekształcenia w przestrzeni, którym odpowiadają **elementy symetrii**, i które prowadzą do stanu identycznego z początkowym przy zachowaniu odległości międzyatomowych:

- oś właściwa n-krotna C_n operacji obrotu o kąt $2\pi/n$ ("w prawo"), która generuje obroty (właściwe) C_n^k , o kąty (k/n) 2π , dla benzenu n = 6, 3 i 2 (trzy typy osi), osie C_6^5 i C_3^2 oznaczają obroty "w lewo", o kąty odpowiednio $\frac{5}{6}$ x $360 = 300 = -60^\circ$ oraz $\frac{2}{3}$ x $360 = 240 = -120^\circ$;

- plaszczyzna symetrii σ operacji odbicia, dla benzenu płaszczyzny σ_h , σ_d oraz σ_v ;

- oś inwersyjna S_n złożenia osi C_n i płaszczyzny odbicia σ prostopadłej do osi, generuje obroty niewłaściwe S_n^k a oznaczenia "w prawo", "w lewo" tak jak dla osi C_n ; $S_1 \equiv \sigma$,

- **inwersja** $I \equiv S_2$ odbicia względem punktu;

- osie właściwe i niewłaściwe $C^{\varphi_{\infty}}$, $S^{\varphi_{\infty}}$ obrotu o dowolny kat φ w cząsteczkach liniowych {Zadanie 1}. Cząsteczki bez jakiejkolwiek osi niewłaściwej (dyssymetryczne) nie dają się nałożyć na swój obraz zwierciadlany i występują w formie izomerów optycznych, które skręcają płaszczyznę światła spolaryzowanego liniowo. Sztywną cząsteczkę można zaklasyfikować do jednej z punktowych grup (algebraicznych) symetrii $G = \{R\}$ [PLANSZA 4: podstawowe wzory teorii reprezentacji grup symetrii] o liczbie h elementów R (rząd grupy). Cząsteczki liniowe klasyfikuje się do nieskończeniewymiarowych grup ciągłych. Grupy oznacza się symbolami Schoenfliesa lub międzynarodowymi, np. D_{6h} (6/mmm) dla benzenu C₆H₆ [PLANSZA 3].

Do opisu przekształceń <u>funkcji</u> zadanej na układzie o określonej symetrii [PLANSZA 4] rozwinięto teorię reprezentacji grup. Zagadnieniom symetrii cząsteczek i teorii reprezentacji grup symetrii jest poświęcony <u>równoległy wykład</u> na Wydziale Chemii: (*Teoria grup w chemii*). Na wykładzie spektroskopii będą przedstawione jedynie niezbędne kluczowe pojęcia i wyniki. **Reprezentacją n-wymiarową grupy** $G = \{R\}$ jest grupa operatorów liniowych w n-wymiarowej przestrzeni wektorowej $L = \{r\}$, będąca homomorficznym odwzorowaniem $G \rightarrow L$, tak że dla dowolnej funkcji f(**x**):

$$f(\mathbf{R}^{-1}\mathbf{x}) = \mathbf{r}f(\mathbf{x})$$
 lub $f(\mathbf{x}) = \mathbf{r}f(\mathbf{R}\mathbf{x})$ $\mathbf{r}f_k = \sum_{j=1}^{n} f_j D_{jk}(\mathbf{R})$

czyli elementy grupy L reprezentują w układzie $f_{1,..}$, f_n funkcji bazowych n x n wymiarowe **macierze D**(R) = [D_{jk}]. Liczba reprezentacji jest nieskończona ze względu na nieskończenie wiele układów funkcji bazowych. Po zmianie układu funkcji bazowych przez przekształcenie ortogonalne **M** na f '₁,., f '_n macierze uzyskują postać **D**'(R):

$$\mathbf{D}'(\mathbf{R}) = \mathbf{M}^{-1}\mathbf{D}(\mathbf{R})\mathbf{M} \qquad \qquad \mathbf{f'}_k = \sum_{j=1}^n \mathbf{f}_j \mathbf{M}_{jk}$$

Istnieje skończona ilość tzw. reprezentacji nieprzywiedlnych równa liczbie klas K elementów równoważnych w grupie, czyli elementów A, B \in {R} takich, dla których istnieje element X \in {R} że: A = X⁻¹BX {Zadanie 2}. Kluczowym dla teorii reprezentacji jest wielki teoremat ortogonalności, który pozwala rozkładać reprezentacje przywiedlne na nieprzywiedlne. Dowolną reprezentację przywiedlną D można przedstawić jako sumę prostą reprezentacji nieprzywiedlnych o wymiarach 1_j {Zadanie 3}:

$$\mathbf{D} = \mathbf{D}^{(1)} \oplus \mathbf{D}^{(2)} \oplus \ldots \oplus \mathbf{D}^{(K)} \qquad \qquad \sum_{j=1}^{K} l_j^2 = h \qquad h \text{ - rząd grupy}$$

gdzie niektóre reprezentacje $\mathbf{D}^{(j)}$ mogą wystąpić <u>z krotnością</u> $a_j > 1$. Dla większości zastosowań wystarczy znajomość **charakterów** $\chi(\mathbf{R})$ macierzy reprezentantów:

$$\chi(\mathbf{R}) = \sum_{k} D_{kk}(\mathbf{R})$$

i <u>zrozumienie</u> **TABLIC CHARAKTERÓW.** Tablica charakterów zawiera **wartości charakterów reprezentacji nieprzywiedlnych** danej **grupy symetrii**, reprezentacje nieprzywiedlne tej grupy, informacje o **klasach** elementów sprzężonych, <u>ilość klas = ilość</u> <u>reprezentacji</u> i własnościach **transformacji prostych funkcji** oraz wektorów osiowych **R** = $\mathbf{Q} \times \mathbf{P}$, np. prędkość kątowa $\boldsymbol{\omega} = \mathbf{r} \times \mathbf{v}$ [PLANSZA 5 tablice charakterów grup C_{2v}, D_{6h}, C_{∞v} i D_{∞v}]. Znajomość charakterów wystarczy do rozkładu reprezentacji przywiedlnej na sumę reprezentacji nieprzywiedlnych.

$$\chi(\mathbf{R}) = \sum_{j} a_j \chi^j(\mathbf{R})$$

Dowolna funkcja jest <u>albo</u> **funkcją bazową** reprezentacji nieprzywiedlnej danej grupy <u>albo</u> da się przedstawić w postaci **sumy funkcji bazowych**. Dysponując charakterami można wygenerować funkcje bazowe poprzez działanie tzw. **operatorów rzutowych**.

Punktowe grupy symetrii są skończonymi podgrupami ciągłej grupy obrotów i odbić przestrzeni trójwymiarowej K_h o nieskończonej ilości elementów. Analiza *grup ciągłych i ich reprezentacji** jest niezbędne do dyskusji spektroskopii atomowej i <u>cząsteczek liniowych</u> o symetrii osiowej. **Teoremat ortogonalności** można sformułować <u>podobnie</u> definiując miarę na rozmaitości grupowej (całkowanie zamiast sumowania). **Tablice charakterów** grup $C_{\infty v}$ i $D_{\infty v}$ mają podobną formę, z tą różnicą że jest <u>nieskończenie wiele</u> transformacji symetrii (i klas) oraz reprezentacji nieprzywiedlnych.

względu na komutację $[\mathbf{X}_{\rho}, \mathbf{X}_{\sigma}] = c^{k}{}_{\rho\sigma}\mathbf{X}_{l}, c^{k}{}_{\rho\sigma}$ - stałe strukturalne Lie'go. *Reprezentacje* grup Lie'go <u>tworzy</u> się jak dla grup skończonych. R \in G; R \rightarrow **D**(R), gdzie **D** - operator liniowy, a miara na rozmaitości grupowej

 $d\tau = \rho(a)da = \rho(0)/J(a), \ J(a) = \left|\frac{\partial \phi_k(b,a)}{\partial b_1}\right|_{b=0}. Dla \ grupy \ K_h \ (parametryzowanej \ przez \ kąty \ Eulera \ \alpha, \ \beta \ i \ \gamma$

operatorami \mathbf{X}_{l} są momenty pędu $\mathbf{l}_{\mathbf{x}}$, $\mathbf{l}_{\mathbf{y}}$, $\mathbf{l}_{\mathbf{z}}$. Dla grupy $C_{\infty_{V}}$ (parametr: kąt φ obrotu wokół osi z) $\mathbf{l}_{\mathbf{z}} = (\hbar/i)(x\partial/\partial y - y\partial/\partial x) = (\hbar/i)(\partial/\partial \varphi)$. (*M. Hamermesh Teoria grup.w zastosowaniu do zagadnień fizycznych*)

⁻⁻⁻⁻⁻

^{*} *Grupą ciągłą G* jest zbiór elementów R(a₁,a₂,...,a_r) = R(a), r liczba naturalna skończona lub nieskończona; parametry a_k zmieniają się w sposób ciągły; R(a)R(b) = R(c), R(a)(a⁻¹) = R(0), stąd c = $\phi(a,b)$, a⁻¹= $\phi'(a)$. Dla analitycznych funkcji ϕ oraz ϕ' G jest **grupą Lie'ego**, a szczególnie ważną rolę odgrywają grupy Lie'go transformacji x_i' = f_i (x₁,...,x_n; a₁,a₂,...,a_r), np. jednoparametrowa grupa Liego jest równoważna grupie translacji y' = y + t. Transformację infinitezymalną definiuje się jako **r**_{inf}: x'+dx'=f(x';a+ δa)=f(x'; δa); a+da= $\phi(a,\delta a)$. Stąd zachodzi: dx'_i= $\sum_{k,l=1}^{r} u_{ik}$ (x') ψ_{kl} (a)da₁, u_{ik} = $(\partial f_i/\partial a_k)|_{a=0}$. Transformacja infinitezymalna w działaniu na funkcję F: **r**_{inf}F = $(1 + \sum_{l=1}^{r} \delta a_1(x')X_1)F$, gdzie operator **X**_l = $\sum_{i=1}^{r} u_{il}(x)\psi_{kl}(a)\frac{\partial}{\partial x_i}$ jest generatorem grupy. Zbiór **X**_l tworzy **algebrę Lie'go** czyli r-wymiarową przestrzeń wektorową zamkniętą ze

Znajomość symetrii ma głównie zastosowanie w przypadku **spektroskopii małych cząsteczek** i traci je dla dużych, z reguły niesymetrycznych biomolekuł. Niemniej w wielu przypadkach teoria reprezentacji pozwala klasyfikować stany układów symetrycznych oraz określać pewne wielkości związane z interpretacją widm <u>BEZ</u> konieczności wykonywania obliczeń [PLANSZA 6: zastosowanie teorii reprezentacji grup w spektroskopii].

(A) Hamiltonian cząsteczki jest niezmienniczy względem jej grupy symetrii G:

$\mathbf{rHr}^{-1} = \mathbf{H}$

Działając operatorem reprezentującym operacje symetrii na równanie Schrödingera otrzymujemy, że **funkcje własne** danego poziomu energii tworzą **bazę** pewnej, na ogół nieprzywiedlnej reprezentacji symetrii tej cząsteczki, a **wymiar** g tej reprezentacji jest równy **degeneracji** poziomu (reprezentacja przywiedlna przy degeneracji <u>przypadkowej)</u>:

 $\mathbf{H}(\mathbf{r}\Psi_k) = \mathbf{E}_k \sum_{j=1}^{g} \mathbf{D}_{jk} \Psi_j$

Stany energetyczne cząsteczki można klasyfikować według reprezentacji nieprzywiedlnych jej grupy symetrii, <u>podobnie</u> jak według liczb kwantowych.

(B) Przy zaburzeniu układu, hamiltonian będzie niezmienniczy względem grupy symetrii G', która jest podgrupą G. Jeśli zaburzenie ma symetrię wyjściowego hamiltonianu (G' = G) usuwana jest jedynie degeneracja przypadkowa. Przy niższej symetrii (G' \subset G) reprezentacja G' może być przywiedlna i zachodzi usunięcie degeneracji czyli rozszczepienie poziomu. Każdy z poziomów jest sklasyfikowany według reprezentacji nieprzywiedlnych o niższym wymiarze.

(C) Z niezmienniczości iloczynu skalarnego przy transformacjach symetrii i ortogonalności funkcji bazowych reprezentacji nieprzywiedlnych wynika, że warunkiem koniecznym nieznikania elementu macierzowego operatora A {Zadanie 4}, który transformuje się według reprezentacji nieprzywiedlnej $\mathbf{D}^{(k)}$, a funkcje podcałkowe rozpinają reprezentacje $\mathbf{D}^{(i)}$ oraz $\mathbf{D}^{(j)}$ jest, aby reprezentacja (na ogół przywiedlna) i będąca iloczynem Kroneckera $\mathbf{D}^{(i)} \otimes \mathbf{D}^{(k)} \otimes \mathbf{D}^{(j)}$ zawierała w swoim rozkładzie na reprezentacje nieprzywiedlne reprezentację pełnosymetryczną [PLANSZA 4]:

 $\int d\tau \Psi_m^{\ i} \mathbf{A} \Psi_n^{\ j} \neq 0 \qquad \qquad \text{jeśli } \mathbf{E} \in \mathbf{D}^{(i)} \otimes \mathbf{D}^{(k)} \otimes \mathbf{D}^{(j)}$

Warunek <u>nie jest dostateczny</u> ze względu na możliwą degenerację poziomów, czyli większy niż 1 wymiaru reprezentacji nieprzywiedlnej. Dla dwóch reprezentacji $\mathbf{D}^{(i)}$ i $\mathbf{D}^{(k)}$

ich iloczym Kroneckera powstaje przez pomnożenie każdego elementu jednej macierzy przez każdy element drugiej macierzy; przykładowo dla reprezentacji dwuwymiarowych:

$$\mathbf{D}^{(i)} \otimes \mathbf{D}^{(k)} = \begin{bmatrix} D_{11}^{i} D_{11}^{k} & D_{11}^{i} D_{12}^{k} & D_{12}^{i} D_{11}^{k} & D_{12}^{i} D_{12}^{k} \\ D_{11}^{i} D_{21}^{k} & D_{11}^{i} D_{22}^{k} & D_{12}^{i} D_{21}^{k} & D_{12}^{i} D_{22}^{k} \\ D_{21}^{i} D_{11}^{k} & D_{21}^{i} D_{12}^{k} & D_{22}^{i} D_{11}^{k} & D_{22}^{i} D_{12}^{k} \\ D_{21}^{i} D_{21}^{k} & D_{21}^{i} D_{22}^{k} & D_{22}^{i} D_{21}^{k} & D_{22}^{i} D_{22}^{k} \end{bmatrix}$$

a dla charakterów zachodzi:

 $\chi^{(i)\otimes(k)}(R) = \chi^{(i)}(R)\chi^{(k)}(R)$

Struktura przestrzenna cząsteczki nie zawsze jest jednoznacznie określona wskutek wymiany konformacyjnej w gazie i roztworze. Przykłady [PLANSZA 7: tunelowanie i równowaga konformacyjna] to: tunelowanie azotu w piramidalnej cząsteczce amoniaku NH₃ przez płaszczyznę wodorów, obrót wokół wiązań pojedynczych i możliwość przyjmowania różnych konformacji o zbliżonych energiach w cząsteczce etanu H₃C–CH₃ {Zadanie 5}. Procentowe obsadzenia czyli populacje p_j konformacji w równowadze dynamicznej zależą od różnic entalpii swobodnych minimów energetycznych ΔG^0 :

 $p_i/p_j = exp(-\Delta G^0/RT)$

Poszczególne konformacje są oddzielone stosunkowo niewysokimi barierami entalpii swobodnej $\Delta G^{\#}$, warunkujące średni czas przebywania cząsteczki w danej konformacyji τ_i , lub inaczej średnią szybkością przejścia do innej konformacji $k_i = 1/\tau_i$ (wzór Eyringa):

 $1/\tau_i = k_i = (kT/h)exp(-\Delta G^{\#}/RT)$

Trudności z zaklasyfikowaniem <u>niesztywnych</u> cząsteczek do określonych grup punktowych symetrii, np. cząsteczka etanu {Zadanie 6} może przyjąć strukturę o różnej symetrii zależnie od kąta obrotu wokół wiązania węgiel–węgiel oraz inne trudności, spowodowały próby klasyfikacji cząsteczek niesztywnych zgodnie z grupami permutacji-inwersji PI Longueta-Higginsa G⁽ⁿ⁾* (*P. Bunker Molecular Symmetry and Spectroscopy*). Grupy PI [PLANSZA 8: grupy PI oraz MS] zawierają identyczność, permutacje jąder (atomów) tego samego typu, inwersję przez środek układu współrzędnych i złożenia permutacji z inwersją. Są jednak niewygodne ze względu na dopuszczenie także <u>operacji nie-fizycznych</u> (niewykonalnych), np. tunelowania do innych konfiguracji i związaną z tym "przypadkową" (nie wynikającą z symetrii) <u>degenerację</u> poziomów oraz <u>olbrzymią liczbą elementów</u> n, która rośnie jak n! wraz z liczbą atomów (ponad <u>milion</u> elementów dla benzenu). Degeneracja jest znoszona całkowicie lub częściowo przy skończonych barierach między konfiguracjami i realizacją przejść między nimi. Dlatego grupy PI redukuje się do tzw. **grup molekularnej symetrii** MS \subset PI. Konstrukcja grupy MS danej cząsteczki wymaga jednak <u>więcej informacji</u> niż układ przestrzenny jąder i wiązań, tzn. informacji o realnych przejściach między konformerami. Można często wykazać jej **izomorfizm z grupą punktową**. Np. grupa MS dla amoniaku jest izomorficzna z grupą D_{3h} <u>płaskiej cząsteczki</u> (a nie piramidalnej C_{3v}).

Dynamikę ruchów molekularnych, w tym ruchów wewnętrznych, makroskopowego układu cząsteczek można ująć na gruncie **MODELU DYFUZYJNEGO** [PLANSZA 9: model dyfuzyjny]. W tym modelu ruchy translacyjne i rotacyjne całych cząsteczek oraz ruchy wewnętrzne poszczególnych ich fragmentów mają charakter przypadkowy. Można określić prawdopodobieństwo rozkładu p(y) parametrów przestrzennych y układu w danej chwili t (np. rozkład izotropowy), gdzie parametry y = y(t) są przypadkowo zmienne w czasie. Dowolna funkcja f = f(y) zadana na układzie jest także przypadkowo zmienna w czasie i definiuje się dla niej tzw. funkcję autokorelacji:

 $G(t) = \iint p(y_1) P(y_1, y_2, t) f(y_1) f(y_2) dy_1 dy_2$

która charakteryzuje **"pamięć" układu** w chwili t (y_2) o stanach wcześniejszych (y_1). **Prawdopodobieństwo** P(y_1, y_2, t) pod całką ma charakter prawdopodobieństwa warunkowego, wyznaczanego z **równania dyfuzji**: translacyjnej lub rotacyjnej.

Dyfuzja <u>rotacyjna</u> ma kluczowe znaczenie dla szeregu aspektów spektroskopii molekularnej. Dla dyfuzji rotacyjnej **sztywnej sfery** o promieniu a w ośrodku o współczynniku lepkości η i temperaturze T **równanie dyfuzji rotacyjnej** ma postać:

$$\partial \psi / \partial t = (D_R/a^2) \left(\partial^2 \psi / \partial x^2 + \partial^2 \psi / \partial y^2 + \partial^2 \psi / \partial z^2 \right)$$

współczynnik dyfuzji rotacyjnej $D_R = kT/8\pi a\eta$, stała Boltzmanna k = 1,38054 · 10²³J/K.

Z *rozwiązania równania*^{*} otrzymuje sie prawdopodobieństwo $P(y_1, y_2, t)$, a stąd funkcję autokorelacji wektora łączącego dwa punkty na sferze o kierunku przypadkowo zmiennym w czasie, która ma postać **mono**eksponencjalną:

 $P(\theta, \phi, t) = \psi(\theta, \phi, t)$ przy warunku początkowym:

 $\psi(\theta, \phi, 0) = \delta(\theta - \theta_o, \phi - \phi_o, 0) = \sum_{l,m} Y_l^{m*}(\theta_o, \phi_o) Y_l^m(\theta, \phi) \quad \text{gdzie } \delta \text{ jest delt} a \text{ Diraca.}$

Stąd: $P(\theta, \phi, t) = \sum_{l,m} Y_l^{m*}(\theta_o, \phi_o) Y_l^m(\theta, \phi) exp(-t/\tau_l) \quad \text{gdzie } 1/\tau_l = \{D_R/a^2\}_l(l+1)$

^{*} *Rozwiązanie równania* (*A. Abragam The Principles of Nuclear Magnetism*) można przedstawić w postaci szeregu harmonik sferycznych: $\psi(\theta, \phi, t) = \sum_{l,m} c_l^m(t) Y_l^m(\theta, \phi)$. Szukane p**rawdopodobieństwo:**

 $G(t) = Aexp(-t/\tau_c)$ A - stała

Czas korelacji τ_c jest miarą szybkości przypadkowych ruchów molekularnych i podstawowym parametrem w analizie dynamiki tych ruchów. Wiąże się ze współczynnikiem dyfuzji D relacją $\tau_c = 1/6D_R$. W przypadku dyfuzji rotacyjnej można czas korelacji definiować jako średni czas obrotu cząsteczki o jeden radian. Zachodzi relacja:

dla t >> τ_c $G(t) \rightarrow 0$

Drugim podstawowym parametrem charakteryzującym dynamikę układu jest średnia amplituda ruchów molekularnych, liniowa (np. w Å) lub kątowa (w stopniach).

W przypadkach bardziej skomplikowanych, obrót jest opisany przez większą ilość czasów korelacji. Obrót elipsoidy obrotowej opisuje zależność trójeksponencjalna (trzy stałe czasowe τ_k) i w ostateczności **dwa czasy korelacji dyfuzji rotacyjnej** wokół obu osi głównych elipsoidy τ_{cj} , j = 1, 2. Obrót pozbawionej symetrii bryły sztywnej (elipsoida z trzema różnymi osiami) wymaga pięciu eksponensów (pięć stałych czasowych τ_k) które sprowadzają się do **trzech czasów korelacji** τ_{cj} , j = 1, 2, 3. Uwzględnienie ruchów wewnętrznych które są wynikiem braku sztywności cząsteczki, można zrealizować na różne sposoby na gruncie modelu dyfuzyjnego. W popularnym (ale nie jedynym) **modelu Lipari-Szabo** wypadkową funkcję autokorelacji przedstawia się w postaci iloczynu funkcji autokorelacji dla obrotu jako całości G₀ i ruchu wewnętrznego G_i:

 $\mathbf{G}(\tau) = \mathbf{G}_0(\tau) \cdot \mathbf{G}_i(\tau)$

To skutkuje rozkładem odwrotności stałych czasowych $1/\tau_k$ (czasów korelacji τ_{cj}) na sumę odwrotności stałych (czasów) odpowiadających <u>globalnym</u> obrotom cząsteczki jako całości $1/\tau_{0k}$ oraz ich ruchów <u>wewnętrznych</u> $1/\tau_{int}$.

WYKŁAD 2

Cząsteczka jest względnie trwałym **układem kwantowym** N jąder oraz m elektronów i w **warunkach stacjonarnych** jej stan opisuje niezależne od czasu równanie Schrödingera [PLANSZA 10: energia cząsteczki]:

 $H\Psi(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, ..., \mathbf{r}_m, \mathbf{s}_1, \mathbf{s}_2, ..., \mathbf{s}_m, \mathbf{R}_1, \mathbf{R}_2, ..., \mathbf{R}_N, \mathbf{I}_1, \mathbf{I}_2, ..., \mathbf{I}_N) = E\Psi(\mathbf{r}_1, ..., \mathbf{I}_N)$ gdzie **H** jest operatorem Hamiltona (suma operatorów energii kinetycznej i potencjalnej), \mathbf{r}_i , \mathbf{s}_i , \mathbf{R}_j , \mathbf{I}_j oznaczają odpowiednio współrzędne elektronów, spiny elektronów, współrzędne jąder i spiny jąder, a E jest **ENERGIĄ CZĄSTECZKI.** Pełna grupa symetrii hamiltonianu jest iloczynem Kroneckera nieskończenie-elementowej grupy translacji $G_T(\mathbf{R} \rightarrow \mathbf{R} + \mathbf{T})$, zamiany elektronów S^(e)_m (permutacja numerów przy wektorach \mathbf{r}_k , \mathbf{p}_k i \mathbf{s}_k), permutacji-inwersji $G^{(N)*}$ i nieskończenie wymiarowej grupy obrotów w układzie laboratoryjnym, sparametryzowanej przez trzy kąty Eulera K(αβγ). Rozwiązując równanie Schrödingera wprowadza się **założenia upraszczające**, które pozwalają w pierwszym przybliżeniu **przedstawić energię E w postaci sumy niezależnych wkładów od poszczególnych ruchów molekularnych:**

 $E = E^{e} + E^{j} = E^{e} + E^{r} + E^{v} + E^{tr} + (E^{e}_{ex} + E^{j}_{ex})$

Oznaczenie e dotyczy elektronów, oznaczenie j dotyczy jąder, r oznacza rotację cząsteczki, v - oscylacje zrębów atomowych, tr - translacja cząsteczki, ex - oddziaływanie z polami zewnętrznymi np. polem magnetycznym w spektroskopii NMR i EPR.

Pierwsze dwa założenia pozwalają odseparować ruch lekkich elektronów (ok. 1860 razy lżejszych niż jądro wodoru) od ruchu ciężkich jąder:

- w przybliżeniu adiabatycznym pełną funkcję falową cząsteczki przedstawia się w postaci <u>pojedynczego</u> iloczynu funkcji elektronowej i jądrowej: $\Psi = \Phi^{e} f^{j}$

- w **przybliżeniu Borna-Oppenheimera** zaniedbuje się wpływ ruchu jąder na energię elektronową.

Każdą z funkcji, jądrową i elektronową, uzyskuje się z rozwiązania niezależnych równań Schrödingera dla ruchu elektronów i ruchu jąder. **Energia elektronowa jest<u>energia</u> <u>potencjalną dla drgań jader</u>, sparametryzowana ustalonymi położeniami jąder. Elektronowe równanie Schrödingera daje w przybliżeniu jednoelektronowym funkcje w formie jednego lub kombinacji liniowej wyznaczników jednoelektronowych spinorbitali molekularnych:**

 $\varphi_k(\mathbf{r}_i, \mathbf{s}_i) = \phi_k(\mathbf{r}_i)\chi(\mathbf{s}_i).$

Spinorbitale molekularne uzyskuje się z rozwiązania wariacyjnych równań Hartree-Focka jako kombinację liniowej funkcji bazowych, np. funkcji Gaussa (obliczenia kwantowe) lub orbitali atomowych LCAO (*linear combination of atomic orbitals*; zalety <u>poglądowe</u>). Funkcję jądrową można przedstawić w przybliżeniu jako **iloczyn funkcji oscylacyjnej** f^v zależnej od 3N–6(5) współrzędnych normalnych q_k, **rotacyjnej** f^r zależnej od kątów Eulera α , β , γ lub kątów θ , ϕ (cząsteczki liniowe) **i translacyjnej** f^t zależnej od położenia środka masy **R**sm:

 $f^{j}(\mathbf{R}_{1}, \mathbf{R}_{2}, ..., \mathbf{R}_{N}) = f^{v}(q_{1}, q_{2}, ..., q_{3N-6})f^{r}(\alpha, \beta, \gamma)f^{t}(\mathbf{R}^{sm})$ $= f^{v}(q_{1}, q_{2}, ..., q_{3N-5})f^{r}(\theta, \phi)f^{t}(\mathbf{R}^{sm})$

uzyskiwanych z niezależnych równań Schrödingera na każdy z tych typów ruchu. <u>Sztywna</u> cząsteczka N-atomowa ma 3 stopnie swobody **ruchu translacyjnego** środka masy z ciągłym (nieskwantowanym) rozkładem energii, 3 stopnie swobody **ruchu rotacyjnego** lub 2 stopnie swobody dla rotacji w przypadku cząsteczki liniowej i 3N-6 (lub 3N-5) **drgań normalnych** jąder. W przypadku cząsteczek <u>niesztywnych</u> (*J. Konarski Teoretyczne podstawy spektroskopii molekularnej*) można wprowadzić:

- silnie anharmoniczne drgania o dużej amplitudzie LAV (large amplitude vibrations);

ruchy wewnętrzne (przejścia konformacyjne) we współrzędnych wzdłuż których zachodzą, redukując odpowiednią ilość stopni swobody drgań i wydzielając energię tych ruchów, np. zamiana drgania skrętnego cząsteczki etanu na obrót wewnętrzny wokół wiązania C – C [PLANSZA 7].

Rozdzielenie energii ruchu elektronów i jąder oraz ruchu jąder na poszczególne człony jest przybliżeniem i mogą pojawić się **sprzężenia** między nimi:

- sprzężenie rotacji i oscylacji jąder w wyniku oddziaływania Coriolisa;

sprzężenie rotacji jąder z ruchem elektronów; dla cząsteczki dwuatomowej, które można sklasyfikować jako przypadki (a), (b), (c) i (d) Hunda składania momentów pędu;

- sprzężenie wibronowe oscylacji jąder i ruchu elektronów;

- sprzężenie spin-orbita między momentami pędu ruchu elektronów, orbitalnym l_k i spinowym s_k .

Sprzężenia można traktować jako **małe zaburzenia** (hamiltonian zaburzający) w stosunku do hamiltonianu z rozdzielonymi członami dla poszczególnych typów ruchów i wyznaczać z rachunku zaburzeń odpowiednie <u>poprawki</u> do energii cząsteczki, które w różny sposób wpływają na rejestrowane widma molekularne.

Dla cząsteczki dwuatomowej dobrym przybliżeniem energii potencjalnej dla ruchu oscylacyjnego jąder jest krzywa Morse'a [PLANSZA 11: układ poziomów oscylacyjnych cząsteczki dwuatomowej H₂] zależna od odległości między jądrami R Zmiana R czyli wychylenie z położenia równowagi $x = |R - R_e|$ jest współrzędną normalną drgań dla różnych poziomów elektronowych. Dla cząsteczki wieloatomowej energia potencjalna dla drgań jest wielowymiarową hiperpowierzchnią położeń jąder i układ poziomów energetycznych przedstawia się w postaci DIAGRAMU JABŁOŃSKIEGO [PLANSZA 12: diagram Jabłońskiego]. Na osi pionowej jest energia, a "symbolicznie" przedstawione jako kreski poziomy obrazują poszczególne jej rodzaje: elektronowa, oscylacyjną i rotacyjną. Poziomy elektronowe dzieli się na dwa typy zależnie od multipletowości 2S + 1, gdzie S jest wypadkowym spinem elektronów cząsteczki. Z reguły w spektroskopii molekularnej mamy dwa niezależne układy poziomów: singletowe o multipletowości 1 (S = 0) oraz trypletowe o multipletowości 3 (S = 1):

- singletowe oznaczone jako S₀, S₁, S₂, itd., zwykle chociaż nie zawsze (np. cząsteczka O₂) odpowiadające poziomowi podstawowemu i poziomom ze <u>wzbudzeniem jednego</u> <u>elektronu</u> z orbitalu, na którym pozostaje niesparowany elektron o spinie skierowanym przeciwnie do spinu elektronu wzbudzonego;

- **trypletowe oznaczane jako** T₁, T₂, itd, odpowiadające <u>wzbudzeniu jednego elektronu</u> z orbitalu na którym pozostaje niesparowany elektron o spinie skierowanym zgodnie do spinu elektronu wzbudzanego.

Poziomy **dubletowe o multipletowości** 2 (S = $\frac{1}{2}$) występują w cząsteczkach o niesparowanym elektronie, np. wolne rodniki.

Energia makroskopowego układu molekularnego N_o cząsteczek jest określona przez prawa fizyki statystycznej (klasycznej i kwantowej), podobnie jak inne parametry układu, przez zadanie odpowiedniego zespołu statystycznego i odpowiadającą mu klasyczną funkcję rozkładu f opisującą gęstość prawdopodobieństwa mikrostanów w 6N_o wymiarowej przestrzeni fazowej położeń $\mathbf{q} = (q_1, q_2, ..., q_{3No})$ i pędów $\mathbf{p} = (p_1, p_2, ..., p_{3No})$ lub jej kwantowy odpowiednik tzw. macierz gęstości p:

 $\mathbf{E} = \langle \mathbf{E}(\mathbf{p}, \mathbf{q}) \rangle = \int \mathbf{E}(\mathbf{p}, \mathbf{q}) f(\mathbf{p}, \mathbf{q}) d\Theta \qquad \qquad \mathbf{d}\Theta = \{1/(\mathbf{N}_0!\mathbf{h}^3\mathbf{N}_0)\} d\mathbf{p} d\mathbf{q}$

<u>Na użytek rozważań spektroskopowych</u> wystarczy przyjąć, że przy założeniu małych energii oddziaływań międzycząsteczkowych w stosunku do energii wewnętrznej cząsteczki, w danej temperaturze T (zespół kanoniczny; układ zamknięty w równowadze, wymieniający z otoczeniem energię na sposób ciepła) cząsteczki rozkładają się na

poziomach diagramu Jabłońskiego E_i o degeneracji g_i zgodnie z **ROZKŁADEM BOLTZMANNA** [**PLANSZA** 13: rozkład Boltzmanna: poziomy oscylacyjne o degeneracji $g_y = 1$ i rotacyjne o degeneracji $g_J = 2J + 1$]:

 $N_i = N_0 g_i Z^{-1} exp(-E_i/kT)$ $g_v = 1$ (oscylacyjne) $g_J = 2J + 1$ (rotacyjne) $Z = \sum_i exp(-E_i/kT).$

Całkowita energia układu cząsteczek jest w tym przybliżeniu równa $U = \sum_i N_i E_i$.

Rozkład Boltzmanna tylko częściowo (degeneracja g_i) uwzględnia efekty kwantowe i ścisłe statystyki kwantowe: Fermiego-Diraca dla fermionów, czyli cząstek o spinie równym <u>nieparzystej</u> wielokrotności 1/2 i Bosego-Einsteina dla bozonów, czyli cząstek o spinie równym <u>parzystej</u> wielokrotności 1/2. Statystyki kwantowe mogą wpływać na strukturę rotacyjną widm Ramana homojądrowych cząsteczek dwuatomowych (patrz <u>dalej</u>).

Analiza oddziaływań cząsteczki z promieniowaniem elektomagnetycznym pozwala zdefiniować pojęcia i parametry spektroskopowe, prawdopodobieństwa zachodzenia procesów spektroskopowych oraz dokonać podziału technik spektroskopowych. Zagadnienie sprowadza się do rozwiązania metodą <u>rachunku zaburzeń</u> <u>zależnego od czasu równania Schrödingera</u> z okresowo zmiennym zaburzeniem H₁(t) w postaci fali elektromagnetycznej, czyli periodycznie zmienne w czasie z **częstością** ω = $2\pi\nu$ pole elektryczne o natężeniu E(t) i prostopadłe do niego pole magnetyczne o indukcji B(t) (*P.W. Atkins Molekularna mechanika kwantowa*). W wyniku oddziaływania z kwantem o <u>odpowiedniej</u> częstości cząsteczka może [<u>PLANSZA 12</u>]:

(a) pochłonąć kwant promieniowania o częstości dopasowanej do różnicy poziomów energii i przejść na wyższy poziom energetyczny odległy o $\Delta E = \hbar \omega = hv$, w wyniku wzbudzenia jednego lub kilku typów ruchów w procesie **ABSORPCJI**;

(b) wyemitować kwant promieniowania w procesie EMISJI WYMUSZONEJ i przejść na niższy poziom energetyczny odległy o $\Delta E = \hbar \omega = hv$;

(c) rozproszyć promieniowanie, gdy hv $\neq \Delta E^{e}$, gdzie ΔE^{e} jest różnicą energii poziomów elektronowych, z trzema możliwymi typami **ROZPROSZENIA:** elastyczne **rozproszenie Rayleigha** bez zmiany energii cząsteczki i częstości promieniowania rozpraszanego v₀, nieelastyczne **rozproszenie (efekt) RAMANA** ze **zmianą energii rotacyjnej** lub **oscylacyjno-rotacyjnej** cząsteczki i odpowiadającej tej zmianie obniżeniu częstości promieniowania rozproszonego v < v₀ (linie stokesowskie) LUB podwyższeniu częstości promieniowania rozproszonego $v > v_0$ (linie antystokesowskie), jeśli cząsteczka znajdowała się przed rozproszeniem na <u>wyższym</u> niż poziom docelowy, <u>wyjściowym</u> poziomie rotacyjnym lub oscylacyjno-rotacyjnym.

Ponieważ wszystkie stany wzbudzone cząsteczki nie są stanami stacjonarnymi lecz **quasistacjonarnymi** cząsteczka NIE MOŻE przebywać na takim poziomie nieskończenie długo. Poziom wzbudzony ulega **dezaktywacji** z prawdopodobieństwem:

 $\mathbf{P}(\mathbf{t}) = \exp[-(1/\tau_0)\mathbf{t}]$

scharakteryzowanym przez średni czas życia poziomu wzbudzonego τ_0 . Czas τ_0 warunkuje "rozmycie" czyli skończona szerokość (rozmycie) poziomu δE zgodnie z zasadą nieoznaczoności Heisenberga:

 $\tau_0 \delta E \ge \hbar/2.$

Dezaktywacja bezpromienista stanów wzbudzonych zachodzi w wyniku dyssypacji energii wzbudzenia w układzie molekularnym poprzez oddziaływania wewnątrzcząsteczkowe i międzycząsteczkowe: konwersja wewnętrzna IC (*internal conwersion*), relaksacja termiczna (wibracyjna) VR (*vibrational relaxation*) i przejście międzysystemowe ISC (*intersystem crossing*). Cząsteczka przechodzi na niższy poziom energetyczny także w procesie **EMISJI SPONTANICZNEJ** kwantu promieniowania o częstości odpowiadającej różnicy energii poziomu dezaktywowanego i docelowego. Oba typy procesów, emisja spontaniczna i dezaktywacja bezpromienista, są **konkurencyjne**, a relacja wzajemna między prawdopodobieństwami ich zachodzenia zależy od:

- zakresu częstości odpowiadającej energii przejścia,

- struktury chemicznej cząsteczki i jej oddziaływań z otoczeniem.

Prawdopodobieństwo przejścia między dwoma poziomami energetycznymi n oraz m na jednostkę czasu jest wyrażone w postaci tzw. złotej reguły Fermiego [PLANSZA 14: oddziaływanie promieniowania elektromagnetycznego z cząsteczkami]:

 $W_{n \leftarrow m} = 2\pi/\hbar (\langle n | \mathbf{H_1}^0 | m \rangle)^2 \rho(E_{kon})$

gdzie w nawiasie występuje element macierzowy H_1^0 niezależnej od czasu części hamiltonianu zaburzającego $H_1(t)$, a $\rho(E_{kon})$ jest **gęstością stanów końcowych**, czyli ilością stanów energetycznych układu cząsteczkowego i/lub promieniowania na jednostkowy przedział energii (częstości). Długość fali promieniowania nadfioletowego i bardziej długofalowego jest znacznie większa niż rozmiary cząsteczki więc przy obliczaniu elementu macierzowego (całkowaniu) zaburzenia w ścisłej postaci (której nie podaję) można zastosować tzw. **przybliżenie długofalowe**. Daje to możliwość posługiwania się zaburzeniem w postaci iloczynu skalarnego:

 $\mathbf{H}_{1}(t) = -\mathbf{d} \cdot \mathbf{E}(t)$

wektora natężenia pola elektrycznego **E**(t):

 $\mathbf{E}(t) = \mathbf{E}(t)\mathbf{u} = 2\mathbf{u}\mathbf{E}_0\cos(\omega t)$

o **polaryzacj**i wyznaczanej przez wektor jednostkowy **u** w laboratoryjnym układzie współrzędnych oraz **wektora-operatora ELEKTRYCZNEGO MOMENTU DIPOLOWEGO:**

 $\mathbf{d} = \sum_i q_i \mathbf{r}_i$

Wektor-operator **d** elektrycznego momentu dipolowego *definiuje się klasycznie** w dowolnym kartezjańskim układzie współrzędnych jako sumę po wszystkich ładunkach q_i jąder i elektronów mnożonych przez wektory ich położeń, zamienianych następnie na wektory-operatory położenia $\mathbf{r}_i = (\mathbf{x}_i, \mathbf{y}_i, \mathbf{z}_i)$, które działąją na funkcje falowe:

 $\mathbf{x}_i \Psi = x_i \Psi \qquad \mathbf{y}_i \Psi = y_i \Psi \qquad \mathbf{z}_i \Psi = z_i \Psi$

Warto zauważyć, że składowe wektora elektrycznego momentu dipolowego cząsteczki d_x, d_y i d_z **transformują się zgodnie z reprezentacjami nieprzywiedlnymi grupy symetrii tej cząsteczki jak współrzędne x, y, i z**; patrz tablica charakterów [PLANSZA 5]. Prawdopodobieństwo na jednostkę czasu absorpcji i emisji przy dowolnym ustawieniu cząsteczki względem pola E przyjmuje wtedy postać [PLANSZA 14]:

$$\begin{split} W_{n \leftarrow m} &= B_{nm} \rho(\nu_{nm}) = (1/6\epsilon_0 \hbar^2)(\langle n | \mathbf{d} | m \rangle)^2 \rho(\nu_{nm}) \\ &= (1/6\epsilon_0 \hbar^2)\{(\langle n | d_x | m \rangle)^2 + (\langle n | d_y | m \rangle)^2 + (\langle n | d_z | m \rangle)^2\} \rho(\nu_{nm}) \end{split}$$

gdzie ε_0 - stała dielektryczna próżni (układ SI), $\rho(v_{nm})$ - gęstością promieniowania dla częstości przejścia v_{nm} , B_{nm} - **współczynnik Einsteina** absorpcji lub emisji wymuszonej, wyrażony poprzez kwadrat **elektrycznego momentu dipolowy** przejścia n \leftarrow m. Einstein

 $V(\mathbf{x}) = V(r, \theta, \phi) = \int \rho(\mathbf{x'}) / |\mathbf{x} - \mathbf{x'}| d^3 \mathbf{x'} = \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{m=-l}^{l} \frac{4\pi}{2l+1} q_{lm} \frac{\mathbf{Y}_{l}^{m}(\theta, \phi)}{\mathbf{r}^{l+1}};$ współczynniki $q_{lm} = \int \mathbf{Y}_{l}^{m^*}(\theta, \phi) r'^{l} \rho(\mathbf{x'}) d^3 \mathbf{x'}$ są wyrażone przez momenty multipolowe: $q_{00} = (1/\sqrt{4\pi})q$, q - ładunek całkowity; $q_{11} = -(\sqrt{3/8\pi})(d_x - id_y)$, $q_{l-1} = (\sqrt{3/8\pi})(d_x + id_y)$, $q_{10} = (\sqrt{3/4\pi})d_z$, i kolejno składowe tensora momentu kwadrupolowego, itd.

^{*} Dla *zdefiniowania klasycznego* momentu dipolowego $\mathbf{d} = (d_x, d_y, d_z)$ przeprowadza się **rozwinięcie multipolowe** potencjału elektrostatycznego V od rozkładu ładunków $\rho(\mathbf{x'})$ w punkcie \mathbf{x} , $|\mathbf{x}| >> |\mathbf{x'}|$, z wykorzystaniem harmonik sferycznych (*J.D. Jackson Elektrodynamika klasyczna*).

wykazał, że równowaga termodynamiczna układu (molekularnego) z promieniowaniem elektromagnetycznym wymaga obok emisji wymuszonej zachodzenia także emisji spontanicznej. Współczynnik Einsteina dla emisji spontanicznej A_{mn} można wyrazić przez współczynnik B_{nm} {Zadanie 7} i jest on zależny jak trzecia potęga od częstości przejścia v_{nm} :

 $A_{mn} = (8\pi h/c^3)v_{nm}{}^3B_{nm}$

Ze względu na zależność prawdopodobieństwa emisji spontanicznej jak częstość w trzeciej potędze obserwuje się ją dopiero po wzbudzeniach <u>w zakresie widzialnym i nadfioletowym</u>, gdzie nosi nazwę **fotoluminescencji**: fluorescencji i fosforescencji [**PLANSZA 12**]. W zakresie IR i MV zdecydowanie dominują procesy **dezaktywacji bezpromienistej** uniemożliwiające zachodzenie dezaktywacji stanów wzbudzonych na sposób promienisty. <u>Powstaje problem</u> użycia takiego samego hamiltonianu zaburzającego przy wyznaczaniu prawdopodobieństwa emisyjnych przejść spontanicznych i przejść wymuszonych. Emisja spontaniczna zachodzi w wyniku oddziaływania cząsteczek z fluktuacjami próżni (zerowe drgania pola elektomagnetycznego).

Energia zaabsorbowanego lub wyemitowanego promieniowania przez układ cząsteczkowy w jednostce czasu czyli **natężenie** I(v) jest proporcjonalne do **prawdopodobieństwa** $W_{n \leftarrow m}$, do **ilości cząsteczek w stanie wyjściowym** N_m (rozkład Boltzmanna) oraz do **energii niesionej przez pojedynczy kwant** hv [**PLANSZA 14**]:

 $I_{nm} = W_{n \leftarrow m} N_m h \nu$

Momenty (dipole) magnetyczne cząsteczki (spiny i momenty orbitalne elektronów) mogą oddziaływać ze składową magnetyczna promieniowania o indukcji **B**, natomiast z polem **E** mogą także oddziaływać momenty multipolowe wyższych rzędów, np. kwadrupolowe. Jednak prawdopodobieństwa przejść wywołanych tymi oddziaływaniami są znacznie niższe, rzędu odpowiednio 10^{-5} (magnetyczne) i 10^{-8} (kwadrupolowe) prawdopodobieństwa przejść dipolowych elektrycznych i nie są one obserwowalne w widmach spektroskopii przejść dipolowych elektrycznych.

Podsumowując, w wyniku oddziaływania promieniowania elektromagnetycznego, zależnie od długości λ lub częstości v fali, $\lambda \cdot v = c$, z elektrycznym momentem dipolowym cząsteczki możne zajść wzbudzenie ze zmianą różnych rodzajów energii [PLANSZA 12]: - czysto rotacyjnej w zakresie mikrofal MW (*microwave*), $\lambda \sim \text{cm i mm}$, $v \sim 10^9 \div 10^{12}$ Hz (nie zaznaczone na PLANSZY), - oscylacyjnej i rotacyjnej w zakresie podczerwieni IR (*infrared*), $\lambda \sim \mu m$, $\nu \sim 10^{12} \div 10^{14}$ Hz;

- elektronowej, oscylacyjnej i rotacyjnej w zakresie widzialnym VIS (*visible*) i nadfioletowym UV (*ultraviolet*), $\lambda = 100 \text{ nm} \div 800 \text{ nm}$, $\nu \sim 10^{14} \div 10^{15} \text{Hz}$.

W pewnych zakresach długości fal (poza zakresem absorpcji dipolowej elektrycznej) obserwuje się przejścia spektroskopowe wywołane oddziaływaniem momentów magnetycznych z oscylującym polem magnetycznym, w silnym, **statycznym**, zewnętrznym polu magnetycznym o indukcji ok. $2 \div 22T$ (tesli):

- spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR, *nuclear magnetic resonance*): oddziaływanie momentów magnetycznych jąder z polem magnetycznym o częstości megaherzowej MHz (fale długości metrowej),

spektroskopia elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR, elektron paramagnetic resonance): oddziaływania spinowych momentów magnetycznych elektronów z polem magnetycznym o częstości gigaherzowej GHz (fale długości centymetrów).

WYKŁAD 3

Proces rozpraszania w ujęciu kwantowym jest zjawiskiem z udziałem dwu fotonów. Poprzez oddziaływanie z fotonem rozpraszanym o energii $\hbar\omega_0 = hv_0$ następuje przejście cząsteczki na **quasi-stan przejściowy** o czasie życia ok. 10^{-15} s, który <u>nie jest</u> stanem własnym cząsteczki,. W **rozproszenie Rayleigha**, oddziałując z fotonem rozproszonym o tej samej częstości cząsteczka wraca na wyjściowy poziom. W **efekcie Ramana**, w wyniku rozproszenia fotonu o innej częstości, następuje powrót na wyższy poziom rotacyjny lub oscylacyjno-rotacyjny, a jeśli wyjściowy poziom miał wyższą energię niż docelowy, zachodzi powrót na niższy poziom rotacyjny lub oscylacyjnorotacyjny. Do obu etapów stosuje się rachunek zaburzeń zależny od czasu do rozwiązania równania Schrödingera. W ujęciu klasycznym oscylujące pole elektryczne **E** <u>indukuje</u> w cząsteczce zmienny w czasie elektryczny moment dipolowy **d** [**PLANSZA 14**]:

$\mathbf{d} = \mathbf{\alpha} \mathbf{E}$

gdzie α jest symetrycznym TENSOREM POLARYZOWALNOŚCI cząsteczki. Nie tracąc na ogólności można zagadnienie uprościć do rozpraszania elektromagnetycznej fali płaskiej $E_z = E_0 \cos \omega_0 t$ przez cząsteczki dwuatomowe o jednej składowej tensora polaryzowalności $\alpha_{zz} = \alpha$. Polaryzowalność jest okresowo zmienna w czasie wskutek drgań i obrotów cząsteczki, co prowadzi do pojawienia się częstości zmian dipola indukowanego ω_0 , $\omega = \omega_0 \pm \omega_v$ i $\omega = \omega_0 \pm 2\omega_r$, gdzie ω_v jest częstością oscylacji cząsteczki a ω_r jest częstością rotacji wokół osi prostopadłej do osi z {Zadanie 8}. Czynnik 2 przy rotacjach wynika z faktu, że polaryzowalność cząsteczki osiąga ponownie swą wartość po wykonaniu przez cząsteczkę połowy obrotu, a kwantowo jest konsekwencją spełniania reguły wyboru dla rotacyjnej liczby kwantowej.

Prawdopodobieństwo przejścia Ramana na jednostkę czasu między dwoma różnymi stanami rotacyjnymi lub oscylacyjno-rotacyjnymi dla cząsteczki przypadkowo zorientowanej w stosunku do pola elektrycznego wyraża się przez sumę elementów macierzowych składowych tensora polaryzowalności. W konsekwencji, światło rozpraszane o natężeniu I₀ ma po rozproszeniu (światło rozproszone) natężenie I_{nm}:

 $I_{nm} = (\pi^2/\epsilon_o^2)I_0(\nu_0 \pm \nu_{nm})^4 \sum_{\rho\sigma} \langle n | \boldsymbol{\alpha}_{\rho\sigma} | m \rangle \langle \langle n | \boldsymbol{\alpha}_{\rho\sigma} | m \rangle \rangle^* \qquad \rho, \ \sigma = x, \ y, \ z$ gdzie gwiazdka oznacza sprzężenie zespolone. Składowe tensora polaryzowalności transformują się zgodnie z reprezentacjami nieprzywiedlnymi grupy symetrii tej

cząsteczki jak funkcje: x², y², z², xy, xz, yz, co jest uwidocznione na tablicy charakterów [PLANSZA 5].

Przejścia między różnymi poziomami energii związane z procesami absorpcji, emisji (wymuszonej i spontanicznej) i rozproszenia Ramana zachodzą więc i mogą być rejestrowane w postaci odpowiednich **widm spektroskopowych** przy spełnianiu warunków:

(1) dopasowanie różnicy energii E_m i E_n poziomów do częstości promieniowania v:

 $\Delta \mathbf{E} = |\mathbf{E}_{\mathrm{m}} - \mathbf{E}_{\mathrm{n}}| = \hbar \boldsymbol{\omega} = \mathbf{h} \boldsymbol{\nu};$

(2) **różne od zera prawdopodobieństwo przejścia** przynajmniej dla jednej składowej elektrycznego momentu dipolowego przejścia (absorpcja, emisja) lub tensora polaryzowalności przejścia (rozpraszanie):

 $< n|d_i|m > \neq 0$ dla i = x, y, z $< n|\alpha_{\rho\sigma}|m > \neq 0$ dla $\rho, \sigma = x, y, z$

(3) różna od zera składowa wektora d wzdłuż kierunku pola E przy absorpcji i emisji wymuszonej (oddziaływanie ma charakter iloczynu skalarnego), co <u>zawsze</u> jest spełnione dla przypadkowej orientacji cząsteczek w stanie ciekłym i gazowym.

Istnienie różnych od zera elementów macierzowych **d** i α jest uwarunkowane własnościami funkcji falowych poziomów |n> i |m> między którymi zachodzi przejścia, m. in. ich **własnościami symetrii**. Stąd wynikają warunki na różnice liczb kwantowych tych funkcji zwane **REGUŁAMI WYBORU**. Przejścia spektroskopowe zgodne z regułami wyboru są tzw. **przejściami dozwolonymi**. Przykładem reguły wyboru dla przejść ze wzbudzeniem elektronowym jest **zakaz zmiany multipletowości poziomów**:

 $\Delta S = 0$ - dozwolone są tylko przejścia singlet-singlet i triplet-triplet

W języku symetrii cząsteczki iloczyn kroneckerowski reprezentacji nieprzywiedlnych [PLANSZA 6] według których transformują się funkcje |n>, |m> i składowe d lub funkcje |n>, |m> i składowe a muszą zawierać reprezentację pełnosymetryczną w sumie prostej rozkładu na reprezentacje nieprzywiedlne [PLANSZA 4].

Wzbroniony charakter przejścia niekoniecznie oznacza jego brak na widmie. Funkcje falowe cząsteczki mają charakter przybliżony. Są uzyskane przy założeniach upraszczających hamiltonian: np. separowanie poszczególnych typów ruchów lub ich uproszczenie, np. przybliżenie oscylatora harmonicznego, obroty w przybliżeniu bryły sztywnej. Uwzględnienie w hamiltonianie członów mieszających różne typy ruchów i/lub bardziej "realistyczne" modele dynamiki cząsteczki daje w konsekwencji możliwość zachodzenia tzw. **przejść wzbronionych** ze względu na określone reguły wyboru. Zwykle jednak intensywności przejść wzbronionych są (znacznie) <u>niższe</u> w porównaniu z intensywnościami przejść dozwolonych. Przykładami przejść wzbronionych są:

fosforescencja: przejścia emisyjne elektronowo-oscylacyjno-rotacyjne ze zmianą multipletowości (tryplet→singlet), w wyniku oddziaływania spin-orbita [PLANSZA 12];
 nadtony: przejścia absorpcyjne w podczerwieni ze zmianą oscylacyjnej liczby kwantowej Δv > 1, w wyniku anharmoniczności potencjału opisującego drgania jąder.

WIDMO SPEKTROSKOPOWE [PLANSZA 15: parametry widmowe] cząsteczki czyli zależność intensywności promieniowania rejestrowanego w wyniku jego oddziaływania z cząsteczkami w eksperymencie spektroskopowym w funkcji

częstości v, długości fali λ lub liczby falowej (odwrotności długości fali) $v = 1/\lambda$ zależy od szeregu czynników:

 zakresu częstości (długości fali lub jej odwrotności), czyli rodzaju poziomów energetycznych między którymi zachodzi przejście;

- typu przejścia między poziomami: absorpcyjne, emisyjne, ramanowskie, NMR, EPR;

- stanu skupienia układu cząsteczkowego (gazowy, ciekły, stały, pojedyncza cząsteczka)

- struktury cząsteczki.

Można jednak wprowadzić ogólne parametry opisujące wąską linię lub szerokie pasmo określonego przejścia spektroskopowego.

(A) Położenie linii widmowej określone przez częstość v, długości fali λ lub odwrotności długości fali v w maksimum intensywności. Przy szerszych **pasmach** określa się przedział (zakres) częstości [v₁ v₂] długości fali [λ_1 λ_2] lub liczby falowej. Położenie jest uwarunkowane różnicą energii poziomów między którymi zachodzi przejście: $\Delta E = hv$. (B) Intensywność promieniowania rejestrowanego w maksimum linii widmowej I_{max} lub intensywność integralna dla pasma:

$$\int_{V_1}^{V_2} I(v) dv \quad \text{i analogicznie dla } \lambda, \ v, \text{ po uwzględnieniu: } \lambda v = c, \ v = 1/\lambda$$

jest zwykle wyznaczana i określana w jednostkach względnych, zależnie od typu widma. Absorpcja próbki przez którą przechodzi promieniowanie jest opisana **prawem**

Lamberta-Beera, Zmiana natężenia wiązki I po przejściu drogi l w próbce jest

proporcjonalna do l, do ilości cząsteczek absorbujących w jednostce objętości N_i oraz do współczynnika ekstynkcji k(v) charakteryzującego cząsteczki o wymiarze [m²]:

 $-dI/dl = N_i \; I \; k$

Rozwiązanie równania {Zadanie 9} pozwala wyrazić mierzony w spektrometrze stosunek natężenia promieniowania po przejściu przez próbkę I do natężęnia promieniowania padającego na próbkę I₀ czyli **transmisję**:

$$T = I/I_o$$

lub logarytm jej odwrotności czyli absorpcję (ekstynkcję):

 $A = -logT = k(\nu) \ l \ N_i$

od parametrów związanych z układem absorbującym: typ cząsteczki k(v), ilość cząsteczek (N_i) i długość drogi optycznej (l). Dla **roztworów** substancji absorbujących w nieabsorbującym rozpuszczalniku o stężeniu c = $N_i/(10^3N_A)$ [mol/litr] i drodze optycznej l [cm]; N_A = 6,02252·10²³ mol⁻¹ liczba Avogadro:

 $A = -\log T = \varepsilon(v) \iota c$

 $\varepsilon(v) = (10/\ln 10)N_A k(v) - \text{współczynnik ekstynkcji molowej } [\text{cm}^{-1} \cdot \text{litr} \cdot \text{mol}^{-1}]$

Prawo Lamberta-Beera można wyprowadzić* z równań elektrodynamiki Maxwella.

* Szkic wyprowadzenia (J. Ginter Wydział Fizyki UW). Cząstki absorbujące w postaci oscylatorów π elektronowych o ładunku q, częstości własnej ω_0 , masie m i tłumieniu Γ spełniają <u>równanie ruchu</u>: $d^2x/dt^2 + \Gamma dx/dt + \omega_0^2 x = (F/m)exp(-i\omega t)$, gdzie siłą wymuszającą $|\mathbf{F}| = |\mathbf{E}_0|q$ jest oddziaływanie z polem elektrycznym promieniowania $\mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = \mathbf{E}_0(\mathbf{r})exp(-i\omega t)$. <u>Rozwiązanie</u> w rezonansie $\omega = \omega_0$ przy przesunięciu fazowym położenie/siła exp(i ϕ) = i: $\mathbf{x} = (\mathbf{E}_0 q/m\Gamma \omega)iexp(-i\omega t)$, a stąd $\mathbf{v} = d\mathbf{x}/dt = (\mathbf{E}_0 q/m\Gamma)exp(-i\omega t)$ Zachodzi wykładnicze wnikanie promieniowania do ośrodka ładunków o gęstości N i stałej dielektrycznej

ε∞, z wzbudzeniem prądu powierzchniowego kosztem **absorpcji**.

Indukowana gęstość prądu: $\mathbf{J}(\mathbf{r}, t) = qN\mathbf{v} = (q^2N/m\Gamma)\mathbf{E}$ $\mathbf{E} = \mathbf{E}_0 \exp(-i\omega t)$

Z równań Maxwella $\mathbf{J} = \sigma \mathbf{E}$, statyczne **przewodnictwo** przy absorpcji (rezonans) wynosi $\sigma = (q^2 N/m\Gamma)$,

a z kolejnych równań na rot**E** i na rot**B**, przy div $\mathbf{E}_{o}(\mathbf{r}) = 0$ dla <u>fali płaskiej</u> (0, 0, $\mathbf{E}_{o}(z)$), wynika <u>równanie</u>:

 $\Delta E_{o} = -[(\omega^{2} \varepsilon_{\infty}/c^{2} + i\mu_{o}\omega\sigma]E_{o}, \qquad \text{gdzie } \Delta \text{ oznacza laplasjan.}$

Rozwiązanie: $E_0(z) = E_0 \exp(-i\kappa z)$, $\kappa = K + i\alpha$, zawiera rozdzielone człony **wygaszania** (absorpcji) i oscylacji: $E_0(z) = \exp(-\alpha z)\exp(-iKz)$. Współczynnik wygaszania $\alpha = \mu_0 \omega \sigma$ wiąże się z przewodnictwem σ . Dla <u>małych stężeń</u>: $\mu_0 \omega \sigma \ll \omega^2 \varepsilon_\infty / c^2$ zespolony wykładnik κ rozwija się w szereg i zachowuje dwa pierwsze wyrazy uzyskując: $\alpha = (c\mu_0\sigma)/(2\sqrt{\varepsilon_\infty}) = (\mu_0 cq2N)/(2\mu\Gamma\sqrt{\varepsilon_\infty})$

Rachunki są ścisłe dla częstości rezonansowej, czyli absorpcja jest funkcją ω i wprowadzając jej inny zapis otrzymuje się: $\alpha z = \varepsilon(\omega)cl$, gdzie droga optyczna (wnikania) $z \equiv l$, a zamiast N jest stężenie molowe *c*.

Mierzony na widmach absorpcyjnych współczynnik ekstynkcji molowej wiąże się z **teoretycznie określanym** współczynnikiem Einsteina B_{ki} zależnością:

 $\varepsilon(v) = (10N_Ahv/cln10)B_{ki}(v)$

Ponadto, wprowadza się bezwymiarową wielkość charakteryzująca intensywność przejścia, tzw. silę oscylatora (moc oscylatora) f_{ki} :

$$f_{ki} = (4\epsilon_o mh/e^2) \int \nu B_{ki} d\nu = 4,33 \cdot 10^{-9} \int \nu \, \epsilon(\,\nu\,) d\,\nu$$

gdzie całkowanie zachodzi po paśmie absorpcji, o wartości $f_{ki} = 1$ dla elektronu (o masie m i ładunku e) oscylującego harmonicznie w trzech wymiarach:

(C) Szerokość połówkowa linii czyli różnica częstości $\delta v_{1/2}$, długości fali $\delta \lambda_{1/2}$, odwrotności długości fali $\delta v_{1/2}$, odpowiadająca połowie intensywności maksymalnej. Jest ona uwarunkowana przez własności fizyczne układu oddziałującego z promieniowaniem, na co nakłada się rozdzielczość przyrządu rejestrującego (zdefiniowana w dalszej części tego wykładu). Każdy poziom wzbudzony cząsteczki izolowanej ma skończony czas życia τ_0 , który wyznacza **naturalną szerokość połówkową linii** odpowiadającej przejściu z udziałem tego poziomu:

 $\delta v_{1/2} = 1/(2\pi \tau_o)$

Naturalna szerokość połówkowa linii waha się od 10⁻⁵ Hz dla mikrofal do 10⁷ Hz dla zakresu UV-VIS.

Ze względu na chaotyczny ruch translacyjny cząsteczek w stanie gazowym częstość promieniowania jest inna dla cząsteczki o masie M poruszającej się w kierunku źródła i od źródła światła ze względu na efekt Dopplera. Przy maxwellowskim rozkładzie prędkości w temperaturze T daje to tzw. **dopplerowskie poszerzenie linii**:

 $\delta v_{1/2} = (v/c) \sqrt{(8RT \ln 2)/M}$

gdzie R = N_Ak = 8,3143 J/(mol·deg) jest stałą gazową. Jest to często **główny czynnik** warunkujący szerokości linii cząsteczek rozrzedzonych gazów w niskich temperaturach, od 10^4 Hz dla MW do 10^8 Hz dla UV-VIS.

Wszelkie procesy które **skracają naturalny czas życia poziomów** powodują poszerzenie linii widmowych - przede wszystkim **oddziaływania międzycząsteczkowe** oraz **konwersja wewnętrzna IC**. Zderzenia sprężyste i niesprężyste w gazach powodują dalsze **poszerzenie ciśnieniowe linii** przy ciśnieniu p i temperaturze T:

 $\delta v_{1/2} = \sigma_1 \sigma_2 \mu^{-1/2} p T^{1/2} \sigma_k$ - przekroje czynne na zderzenie; μ - masa zredukowana

W próbkach ciekłych i stałych wskutek silnych oddziaływań obserwuje się szerokie pasma widmowe powstające z nałożenia "rozmytych" poziomów energetycznych, z całkowicie lub częściowo zatartą strukturą rotacyjną (absorpcja IR, absorpcja UV-VIS, Raman) i oscylacyjną (absorpcja UV-VIS, fotoluminescencja). Wyjątek stanowi spektroskopia NMR gdzie granica między wysoką zdolnością rozdzielczą a szerokimi liniami przebiega między fazą ciekłą a stałą (szczegóły przy omawianiu spektroskopii NMR).

(**D**) **Polaryzacja** przejścia, czyli w przypadku widma absorpcyjnych i emisyjnych kierunek wektora elektrycznego momentu dipolowego przejścia w układzie współrzędnych związanym z cząsteczką. Wielkości związane z polaryzacją światła emitowanego (widma emisyjne) lub rozpraszanego (widma Ramana) mierzone w układzie laboratoryjnym: stopień polaryzacji, stopień depolaryzacji, anizotropia fluorescencji <u>będą podane</u> przy szczegółowym omawianiu widm.

Ogólny schemat **aparatury do <u>klasycznej</u> rejestracji widm spektroskopowych** [PLANSZA 16: schemat aparatury spektroskopowej] jest podobny dla wszystkich typów spektroskopii i obejmuje:

(a) **źródło promieniowania**: lampa, laser, termoelement, nadajnik mikrofal; światło ze źródła może być rozdzielane w spektrometrach absorpcyjnych na dwie wiązki: przechodzącą przez próbkę i wiązkę odniesienia (aparaty dwuwiązkowe) lub bez rozdzielania (aparaty jednowiązkowe);

(b) **układ rozszczepiający** wiązkę białą na różne długości fali czyli **monochromator**, np. pryzmat lub częściej **siatka dyfrakcyjna** o określonej **rozdzielczości**;

(c) **detektor** pomiaru intensywności promieniowania, charakteryzujący się określoną **czułością,** czyli minimalną intensywnością rejestrowanego sygnału powyżej szumów;

(d) inne elementy specyficzne dla danego typu spektroskopii lub eksperymentu, np.:

- drugi monochromator w fotoluminescencji (fluorescencja i fosforescencja),

- polaryzatory w eksperymentach wykorzystujących efekty polaryzacyjne, np. spektroskopia dichroizmu kołowego CD, VCD, pomiary polaryzacyjne fluorescencji;

- przystawki do pomiarów kinetyki procesów molekularnych metodą zatrzymanego przepływu (*stopped flow*).

Widmową zdolność rozdzielczą (rozdzielczość) monochromatora [PLANSZA 17: monochromator vs. interferometr] można zdefiniować jako minimalną różnicę długości

23

fali $\Delta \lambda = \lambda_1 - \lambda_2$, częstości $\Delta v = v_1 - v_2$, lub odwrotności długości fali Δv , dla środków dwóch linii widmowych które są jeszcze odseparowane, czyli tworzą <u>dwie osobne linie</u>. Realna zdolność rozdzielcza jest wyznaczana przez **dyspersję kątową** d θ /d λ elementu rozszczepiającego światło pod kątem θ oraz **aperturę** a układu optycznego, wyznaczoną przez rozmiary elementów optycznych ograniczających szerokość wiązki, w tym szczeliny (*W. Demtröder Spektroskopia laserowa*):

$\lambda/\Delta\lambda = (a/3)d\theta/d\lambda$

<u>Przykładowo</u>: dla soczewki a = nsin α ; n - współczynnik załamania ośrodka, α - połowa maksymalnego kąta światła skupionego w punkcie (lub padającego z punktu na przyrząd). Zdolność rozdzielcza jest limitowana przez efekty dyfrakcyjne. które wyznaczają tzw. **granicę dyfrakcyjną**. Współczesne techniki specjalne pozwalają na zejście w niektórych przypadkach z rozdzielczością **poniżej szerokości dopplerowskich**, najczęściej jednak szerokości linii widmowych w <u>standardowych</u> eksperymentach są uwarunkowane przez <u>rozdzielczość przyrządu</u> pomiarowego.

WYKŁAD 4

Dwa aspekty techniczne zrewolucjonizowały szereg metod spektroskopowych i pozwoliły na modyfikację lub wręcz <u>samą możliwość</u> wykonania niektórych eksperymentów: LASERY jako źródła spójnego promieniowania i wykorzystanie **TRANSFORMACJI FOURIERA** w spektroskopii fourierowskiej zamiast klasycznej, w której stosuje się monochromatory.

Światło laserowe charakteryzuje się cennymi <u>spektroskopowo</u> zaletami:

- duża gęstość promieniowania $\rho(v) = dE/dv$ (energia na jednostkowy przedział częstości), przewyższająca o kilka rzędów wielkości gęstości źródeł niespójnych, umożliwia podwyższenie czułości detekcji przez redukcję szumów detektora i promieniowania tła oraz wykonywanie nowych eksperymentów, np. absorpcja wielokwantowa;

 mała rozbieżność wiązki daje poprawę biegu wiązki zapewniającą długą drogę absorpcji w pochłaniającej próbce i redukcję tła rozproszeniowego;

- mała szerokość spektralna czyli wysoka monochromatyczność wiązki.

Pełne wykorzystanie tego ostatniego efektu (z wyjątkiem zwykłego widma Ramana) jest możliwe jedynie w przypadku dysponowania laserami strojonymi (przestrajalnymi), czyli emitującymi światło laserowe o zmieniającej się częstości. Ciągłe strojenie można uzyskać dla laserów półprzewodnikowych w spektroskopii absorpcyjnej IR oraz w laserach barwnikowych w spektroskopii w zakresie VIS. W tym ostatnim przypadku **nie można jednak uniknąć stosowania monochromatorów** do wycięcia przedziału częstości z szerokiego zakresu widmowego barwnika. W UV można uzyskiwać wzbudzenia wykorzystując mieszanie częstości w ośrodku nieliniowym. W zwykłych widmach Ramana wystarczy laser monochromatyczny ale do uzyskania rezonansowych widm ramana (RR) trzeba dysponować laserem strojonym. Przykłady nowych typów eksperymentów spektroskopowych możliwych dzięki wykorzystaniu laserów będą omawiane głównie w części VI. "Współczesne techniki spektroskopowe".

Transformatą Fouriera [PLANSZA 18: spektroskopia fourierowska] funkcji f(x) zmiennej rzeczywistej x, najogólniej zespolonej i całkowalnej (w sensie Lebesgue'a) jest funkcja zespolona F(y) zmiennej rzeczywistej y:

$$F(y) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(x) \exp(-2\pi i x y) dx$$

W fourierowskiej spektroskopii absorpcyjnej w **spektrometrach IR** zamiast monochromatora wykorzystuje się **interferometr Michelsona** [PLANSZA 17]. W spektroskopii NMR zasady rejestracji widm metodą fourierowską są nieco inne (szczegóły

<u>przy omawianiu NMR</u>). Wiązka ze źródła o liczbie falowe v [cm⁻¹] jest rozkładana na dwie jednakowe wiązki przez zwierciadło półprzepuszczalne, z których jedna odbija się od nieruchomego zwierciadła a druga od ruchomego. Po przesunięciu zwierciadła o x/2

różnica faz obu wiązek wynosi $2\pi v x$. W wyniku interferencji obu wiązek rejestrowana intensywność $\vartheta(x)$ [PLANSZA 18] w funkcji przesunięcia x czyli interferogram oraz

widmo I(v) związane są przez transformację Fouriera, prostą i odwrotną (wyprowadzenie zależności: *W. Demtröder Spektroskopia laserowa*). Wstawienie absorbującej próbki przed detektorem modyfikuje interferogram, a powstające w rezultacie widmo próbki jest częścią rzeczywistą odwrotnej transformacji Fouriera interferogramu z dokładnością do stałego współczynnika κ :

 $I(\bar{v}) = \kappa \operatorname{Re}_{-\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} \vartheta(x) \exp(-2\pi i \bar{v} x) dx$

Rejestracja widma odbywa się przez wykonanie **kilkucentymetrowego przesunięcia** czyli "**scan'u**" zwierciadła M2 z położenia 0 do X/2 z szybkością V. W trakcie scanu przetwornik analogowo-cyfrowy A/D rejestruje interferogram zgodnie z teorematem próbkowania w kolejnych punktach czasowych t_k odległych o $1/(2v_{max})$, gdzie v_{max} jest zakresem rejestrowanego widma. Interferogram zapisuje się w M komórkach pamięci komputera i dokonuje jego dyskretnej transformacji Fouriera:

 $I(v_j) = \kappa \sum_{k=0}^{N} \vartheta(t_k) \cos(4\pi v_j V t_k)$

Obcięcie (apodyzacja) transformaty do skończonego przesunięcia X/2 skutkuje skończoną rozdzielczością linii widmowych $\delta v_{1/2} = 0.7/X$. Teoretycznie, przy odpowiednio dużym X można by zejść w próbkach gazowych do <u>dopplerowskiej</u> szerokości połówkowej, ale aberracje optyczne i niedokładności mechaniczne praktycznie ograniczają rozdzielczość do ok. 0.1 cm⁻¹. Oprócz **wysokiej rozdzielczości** zalety spektrometrów fourierowskich IR to:

- jednoczesna rejestracja całego zakresu widmowego w krótkim czasie;

 znacznie większa świetlność interferometru Michelsona ze względu na brak szczelin w porównaniu z klasycznym monochromatorem o podobnej rozdzielczości; - wielokrotne powtarzanie rejestracji i dodawanie kolejnych interferogramów daje możliwość **rejestracji bardzo słabych pasm**, które w konwencjonalnym spektrometrze nie wystają ponad szumy; stosunek sygnału do szumu S/N rośnie jak pierwiastek kwadratowy z ilości scan'ów.

Transformacja Fouriera jest <u>kluczową</u> relacją czas/częstość (*time domain/frequency domain*) sygnałów. Przykładowo:

- deltę Diraca można przedstawić jako:

$$\delta(y) = \int_{-\infty}^{+\infty} \exp(-2\pi i x y) dx$$

 dla kwadratowego impulsu o stałej intensywności w skończonym przedziale czasowym jego rozkład widmowy jest funkcją "dzwonową" {Zadanie 10}.

- dla sygnału o eksponencjalnym zaniku czasowym f(t) = exp(-at) jego zależność w domenie częstości jest krzywą Lorentza:

$$F(v) = \frac{2a}{a^2 + 4\pi^2 v^2} \text{ (patrz: } L. \text{ Schwartz Metody matematyczne w fizyce)}.$$

Metody spektroskopowe [PLANSZA 19: zestawienie metod spektroskopowych] można podzielić na absorpcyjne, emisyjne oraz rozproszeniowe. Metody omawiane na wykładzie (na PLANSZY zaznaczone na czerwono) można zestawić od najdłuższych do najkrótszych długości fali λ :

- magnetyczny rezonans jądrowy NMR: rezonansowe przejścia momentów magnetycznych jąder między poziomami skwantowanymi w silnym, statycznym polu magnetycznym o indukcji B ~ 2 ÷ 23 T; różnice energii ok. 10⁻⁶eV, v ~ MHz (λ ~ m);

- elektronowy rezonans paramagnetyczny EPR: rezonansowe przejścia momentów magnetycznych niesparowanych elektronów między poziomami w silnym, statycznym polu magnetycznym o indukcji B ~0.1 ÷ 6 T; różnice energii ok. 10^{-4} eV, v ~ GHz (λ ~ cm);

- absorpcja w zakresie mikrofal MV i rozproszenie Ramana światła widzialnego: przejścia między poziomami rotacyjnymi o różnicach energii ok. 10⁻⁴eV, liczby falowe $\bar{v} \sim 10^{-1}$ - 10^2 cm⁻¹ (v ~ 10^9 - 10^{12} Hz, $\lambda \sim$ mm i cm); <u>nie będą szczegółowo omawiane</u>, a krótkie informacje będą podane przy okazji omawiania widm oscylacyjno-rotacyjnych;

- absorpcja w zakresie podczerwieni IR, przejścia między poziomami oscylacyjnorotacyjnymi o różnicach energii ok. 10⁻¹eV, liczby falowe $v \sim 10^4 - 10^2$ cm⁻¹ ($v \sim 10^{12} - 10^{14}$ Hz, $\lambda \sim \mu$ m);

- wibracyjny dichroizm kołowy VCD (vibrational circular dichroism), przejścia w zakresie IR, mierzona różnica ekstynkcji światła spolaryzowanego kołowo w przeciwnych kierunkach

- rozproszenie Ramana i rezonansowe rozproszenie Ramana RR (*resonance Raman*) światła widzialnego, przejścia między poziomami oscylacyjno-rotacyjnymi **jak w IR**;

- rozproszenie z pomiarem aktywności optycznej Ramana ROA (*Raman optical activity*), przejścia między poziomami oscylacyjno-rotacyjnymi jak w zwykłym rozproszeniu Ramana z pomiarem różnicy intensywności wiązek spolaryzowanych kołowo w przeciwnych kierunkach;

- absorpcja w zakresie widzialnym i bliskiego nadfioletu UV-VIS, przejścia między poziomami elektronowo-oscylacyjno-rotacyjnymi o różnicach energii ok. 10 eV: zakres widzialny $\lambda = 400$ nm $\div 800$ nm i nadfiolet UV $\lambda = 100$ nm $\div 400$ nm ($\nu \sim 10^{14} \div 10^{15}$ Hz,

 $v \sim 10^5 \text{cm}^{-1} \div 10^4 \text{cm}^{-1});$

dichroizm kołowy CD (circular dichroism) w zakresie widzialnym i nadfioletowym;

dichroizm liniowy LD (*linear dichroism*) w zakresie widzialnym i nadfioletowym, z pomiarem różnicy absorpcji dla światła spolaryzowanego liniowo w kierunkach prostopadłym i równoległym do osi zorientowania (uporządkowania) cząsteczek;

- **fotoluminescencja** (**fluorescencja i fosforescencja**): emisja spontaniczna po wzbudzeniu elektronowym w zakresie widzialnym i nadfioletowym z przejściami między poziomami elektronowo-oscylacyjno-rotacyjnymi;

metody spektroskopowe w zakresie promieniowania rentgenowskiego (elektronowa XPS)
 i promieniowania γ (spektroskopia Mössbauera), <u>nie będę omawiane</u>.

SPEKTROSKOPIA ABSORPCYJNA I RAMANOWSKA W ZAKRESIE PODCZERWIENI (IR) CZĄSTECZEK DWUATOMOWYCH, a więc najprostszych, pozwala wprowadzić podstawowe **pojęcia** i **modele**, które mogą być następnie uogólnione na bardziej skomplikowane przypadki cząsteczek wieloatomowych. Po dokonaniu podziału energii na część elektronową i jądrową można z kolei tę ostatnią podzielić na rotacyjną E^r i oscylacyjną E^v [**PLANSZA 10**]. Transformacja do układu współrzędnych w środku masy cząsteczki złożonej z "atomów" o masach M₁ i M₂, położonych w punktach

R₁ i R₂ i odrzucenie jako nieistotnego dla spektroskopii ruch translacyjnego o ciągłej energii (zależny od wektora środka masy) daje dwa oddzielne równania Schrödingera: dla ruchu rotacyjnego i dla ruchu oscylacyjnego (wyprowadzenie: *W. Kolos Chemia kwantowa*). Obroty cząsteczki są opisane przez dwie współrzędne kątowe θ i φ wektora łączącego jądra $\mathbf{R} = |\mathbf{R}_1 - \mathbf{R}_2|$, a oscylacje są opisane przez jedną współrzędną drgań jąder, czyli odchylenia wartości R od położenia równowagi \mathbf{R}_e , $x = |\mathbf{R} - \mathbf{R}_e|$ (dla cząsteczki liniowej 3N - 5 = 6 - 5 = 1).

W pierwszym przybliżeniu **energię rotacyjną** E^r wyznacza się dla kwantowego modelu **rotatora sztywnego**, gdzie funkcjami własnymi są harmoniki sferyczne $Y_{M}^{J}(\theta, \phi)$ scharakteryzowane przez dwie liczby kwantowe [**PLANSZA 20**: widma oscylacyjno-rotacyjne cząsteczek dwuatomowych]:

- rotacyjna liczba kwantowa J = 0, 1, 2, 3,...; określa wartość kwadratu całkowitego momentu pędu cząsteczki $\hbar^2 J(J + 1)$

- liczba kwantowa M = J, J – 1, ..., -J + 1, -J określa wartość rzutu momentu pędu \hbar M na oś, zwykle przyjmowaną jako oś z.

Skwantowane (liczba kwantowa J) poziomy energii rotacyjnej o degeneracji g = 2J + 1:

 $E^{r}_{J} = (\hbar^{2}/2I)J(J+1)$ J = 0, 1, 2,...

 $I = \mu R_e^2$ moment bezwładności względem osi prostopadłej do osi położenia jąder

 $\mu = M_1 M_2/(M_1 + M_2)$ masa zredukowana cząsteczki

Ponieważ położenie linii absorpcyjnych i ramanowskich w zakresie IR wyraża się w liczbach falowych v [cm⁻¹] więc wygodnie jest wprowadzić **stałą rotacyjną** B w tych samych jednostkach:

 $B = h/(8\pi^2 cI)$

i wyrażać energię w [cm⁻¹] jako:

 $\mathbf{F}(\mathbf{J}) = \mathbf{B}\mathbf{J}(\mathbf{J} + 1)$

Warunkiem absorpcji kwantu promieniowania jest posiadanie przez cząsteczkę **trwałego momentu dipolowego**, czyli absorpcja może ona zachodzić jedynie dla cząsteczek **heterojądrowych**, np. HCl, a nie może zachodzić dla cząsteczek homojadrowych, np. N₂. **Regułą wyboru** dla rotacyjnej liczby kwantowej, która wynika z nie-zerowania elektrycznego momentu dipolowego przejścia między dwoma poziomami o różnym J jest:

 $\Delta J = \pm 1$ dla przejść absorpcyjnych

Warunkiem rozproszenia jest posiadanie przez cząsteczkę trwałej polaryzowalności, co jest spełnione dla prawie każdej cząsteczki dwuatomowej, a w szczególności dużymi

wartościami trwałej polaryzowalności charakteryzują się cząsteczki homojadrowe. **Reguły wyboru** dla rotacyjnej liczby kwantowej, która wynika z nie-zerowania polaryzowalności przejścia między dwoma poziomami o różnym J:

 $\Delta J = \pm 2$ dla przejść ramanowskich (linie stokesowskie "+" i antystokesowskie "-"

 $\Delta J = 0$ dla rozproszenia Rayleigha (bez zmiany częstości promieniowania)

Potencjałem dla drgań jest energia elektronowa [PLANSZA 10] (z wkładem rotacyjnym $\hbar^2 J(J+1)/2\mu R^2$) w funkcji R, czyli np. krzywa Morse'a [PLANSZA 11]. W pierwszym przybliżeniu energię oscylacyjna E^v wyznacza się w przybliżeniu oscylatora harmonicznego czyli z potencjałem:

$$V = (1/2)f(R - R_e)^2 = (1/2)fx^2$$

 $f = \partial^2 V / \partial x^2$ stała siłowa

gdzie funkcje własne są wyrażone przez **wielomiany Hermite'a**, a niezdegenerowane poziomy energii oscylacyjnej są opisane oscylacyjną liczbą kwantową v:

$$\begin{split} E^{v} &= h \nu_{osc} (v + \frac{1}{2}) \qquad v = 0, 1, 2, ... \\ \nu_{osc} &= (1/2\pi) \sqrt{f / \mu} \quad \text{częstość drgań} \qquad \{ \textbf{Zadanie 11} \} \end{split}$$

Podobnie jak w przypadku energii rotacyjnej wygodnie jest wyrażać energie oscylacyjną w [cm⁻¹]:

$$G(v) = \varpi_e(v + \frac{1}{2})$$
$$\varpi_e = v_{osc}/c$$

Warunkiem absorpcji promieniowania jest posiadanie przez cząsteczkę trwałego momentu dipolowego (cząsteczki <u>heteroj</u>ądrowe), a rozpraszania Ramana trwałej polaryzowalności (większość cząsteczek, szczególnie o wiązaniach niejonowych). Reguła wyboru w przypadkach obu typów widm jest:

 $\Delta v = \pm 1$

Obserwowane linie absorpcyjne i ramanowskie w zakresie IR wynikają z różnic energii poziomów osylacyjno-rotacyjnych między którymi zachodzi przejście. Liczby kwantowe poziomu wyjściowego oznaczane są zwykle dwoma "primami" a poziomu docelowy jednym "primem". Zgodnie z **regułami wyboru** na zmiany oscylacyjnej liczby kwantowej v i rotacyjnej liczby kwantowej J otrzymuje się jedno przejście oscylacyjne dla widm absorpcji IR i ramanowskich, z towarzyszącą temu przejściu strukturą rotacyjną, różną dla widma absorpcji i widma Ramana, , czyli **układ linii widmowych** v [cm⁻¹]:

$$\bar{v} = [G(v') + F(J')] - [G(v'') + F(J'')]$$

 $\Delta v = v' - v'' = +1$ $\Delta J = J' - J'' = \pm 1$ dla linii absorpcyjnych $\Delta J = J' - J'' = 0, \pm 2$ dla linii ramanowskich

W warunkach standardowych eksperymentów spektroskopowych w temperaturze zbliżonej do pokojowej (i niższych), zgodnie z zasadą Boltzmanna [PLANSZA 13] i przy czynniku kT ~ 200cm⁻¹, cząsteczki znacząco obsadzają poziom v = 0, tzw. oscylacyjny poziom zerowy. Szereg poziomów rotacyjnych o niewielkich wartościach J, związanych z podstawowym poziomem oscylacyjnym, jest obsadzanych boltzmannowsko, a maksimum obsadzenia przypada dla J > 1 ze względu na liniowy czynnik degeneracji 2J + 1, który przeważa nad czynnikiem eksponencjalnym dla małych J. Stąd, w przybliżeniu oscylatora harmonicznego obserwuje się jedno przejście v'=1 \leftarrow v''=0 (1 \leftarrow 0) w widmie absorpcyjnym IR i ramanowskim, związane ze zmianami energii oscylacyjnej, któremu w przybliżeniu rotatora sztywnego i braku sprzężenia ruchu oscylacyjnego i rotacyjnego towarzyszy struktura rotacyjna <u>równoodległych linii</u> (o 2B w absorpcyjnym i o 4B w ramanowskim):

gałęzie R i P ($\Delta J = +1$ i $\Delta J = -1$) [<u>PLANSZA 21</u>: widmo absorpcyjne IR cząsteczki HCl] gałęzie S i O ($\Delta J = +2$ i $\Delta J = -2$) oraz gałąź Q ($\Delta J = 0$) [<u>PLANSZA 22</u>: widmo ramanowskie cząsteczki N₂]

Przejścia $\Delta v = -1$ czyli linie antystokesowskie w widmie Ramana są z reguły bardzo <u>słabe</u>.

Dotychczasowe rozważania były prowadzone przy zaniedbaniu elektronowego momentu pędu, co jest słuszne dla wielu cząsteczek, w których rzut elektronowego momentu pędu ($2\cos\Lambda\phi$) na oś cząsteczki $\Lambda = 0$ (stany singletowe). Dla cząsteczek, w których $\Lambda \neq 0$, np. tlenek azotu NO, **całkowity moment pędu** składa się z momentu pędu jąder oraz elektronów i takie cząsteczki trzeba traktować jak **baki symetryczne**:

 $F(J) = BJ(J+1) + (A-B)\Lambda^2$

 $A = h/(8\pi^2 c I_A)$ I_A - moment bezwładności elektronów wokół osi cząsteczki.

Ponieważ całkowity moment pędu nie może być mniejszy od swojego rzutu, zachodzi relacja: $J = \Lambda$, $\Lambda + 1$, $\Lambda + 2$,..., i struktury rotacyjne widm absorpcji i Ramana ulegają modyfikacji:

- poziomy energetyczne są przesunięte o stałą wartość i brak w widmie linii J < Λ ;

- w widmie absorpcji IR pojawia się dodatkowa gałąź Q, zgodnie z regułą wyboru $\Delta J = 0$;
- w widmie Ramana pojawiają się dodatkowe gałęzie: R ($\Delta J = +1$) oraz P ($\Delta J = -1$).

Stosunki intensywności linii w gałęziach (kształt gałęzi) zależą od temperatury ze względu na zależne od temperatury obsadzenie poszczególnych poziomów rotacyjnych J przez cząsteczki. Jeśli oba jądra cząsteczek homojądrowych są <u>tym samym izotopem</u> o spinie I, różne obsadzenie poziomów rotacyjnych dla J parzystego i J nieparzystego, wynika ze statystyki jądrowej. Całkowita funkcja falowa $\Psi = \Phi^{e} f^{v} f^{r} \psi^{n}$ cząsteczki homojądrowej przy permutacji (zamianie oznaczeń) jąder $\mathbf{P}_{n} = (1, 2)$ spełnia zależność:

 $\mathbf{P}_{\mathbf{n}} \Psi = +1 \Psi$ jeśli jądra są bozonami

 $\mathbf{P}_{\mathbf{n}} \Psi = -1 \Psi$ jeśli jądra są fermionami

Permutacja musi **korelować** z operacjami działającymi na poszczególne funkcje w iloczynie. W rezultacie wagi statystyczne poziomów o parzystym J są różne od wag statystycznych poziomów o nieparzystym J i stosunek wag w obu przypadkach wynosi:

(I + 1)/I.

W konsekwencji, np. dla cząsteczki ¹⁴N₂ ze spinami jąder azotu I = 1 obserwujemy, że <u>co</u> <u>druga linia</u> w widmie ramanowskim jest dwukrotnie mniej intensywna {Zadanie 12}.

WYKŁAD 5

Lepszym modelem odtwarzającym zaobserwowane położenia linii dla przejść oscylacyjno-rotacyjnych jest cząsteczka jako **rotator niesztywny i oscylator anharmoniczny** [PLANSZA 20]. W rotatorze niesztywnym uwzględnia się zmianę momentu bezwładności wraz z energią rotacji w wyniku działania siły odśrodkowej:

 $F_{odsr} = \mu \omega^2 R$

co prowadzi do pojawienia się we wzorze na energię F(J) członów wyższego rzędu od liczby rotacyjnej J ze stałą rotacyjną D. Uwzględnienie anharmoniczności drgań (zaburzenie):

 $V = (1/2)fx^2 + gx^3 - jx^4$

prowadzi do pojawienia się we wzorze na energie G(v) członów wyższego rzędu od liczby oscylacyjnej v. <u>Dodatkowo</u>, należy uwzględnić **wzajemny wpływ oscylacji i rotacji**. **Podczas drgań ulega zmianie moment bezwładności**. Ponieważ okres drgań jest <u>krótki</u> w porównaniu z okresem obrotu można wprowadzić średnie stałe rotacyjne B_v i D_v dla danej liczby oscylacyjne v ($<>_v$ oznacza uśrednienie) i wartości tych stałych zależą od stanu (poziomu) oscylacyjnego cząsteczki:

$$\begin{split} F(J) &= B_v J (J+1) - D_v J^2 (J+1)^2 + \dots \qquad B_v = (h/(8\pi^2 c) < 1/I >_v \qquad D_v < 10^{-4} B_v \\ G(v) &= \varpi_e (v + \frac{1}{2}) - \varpi_e x_e (v + \frac{1}{2})^2 + \varpi_e y_e (v + \frac{1}{2})^3 + \dots \end{split}$$

Współczynniki przy członach G(v) wyższego rzędu przyjęto oznaczać w formie dwuliterowej: $\varpi_e x_e$ i $\varpi_e y_e$. Ze wzrostem energii F(J) i G(v) poziomy ulegają zagęszczeniu i w granicy dysocjacji cząsteczki przechodzą w widmo ciągłe [PLANSZA 11].

Anharmonicznośc oscylatora [PLANSZA 20] powoduje pojawienie się w widmie absorpcyjnym IR obok przejścia podstawowego 1 \leftarrow 0, słabszych nadtonów które odpowiadają zmianie oscylacyjnej liczby kwantowej $\Delta v = +2$, +3 itd. W widmie ramanowskim nadtony są najczęściej zbyt słabe do zaobserwowania w porównaniu z podstawowym (a ten z kolei jest słaby w porównaniu z linią Rayleigh'a). Obserwowane częstości oscylacyjne mają więc postać (z dokładnością do drugiego rzędu):

$$\begin{split} &v_{v'0} = G(v') - G(0) = \varpi_o \ v' \ - \varpi_o x_o(v')^2 + \varpi_o y_o(v')^3 \\ & \varpi_o = \varpi_e - \varpi_e x_e + 3/4 \varpi_e y_e + \\ & \varpi_o x_o = \varpi_e x_e - 3/2 \varpi_e y_e \\ & \varpi_o y_o = \varpi_e y_e \end{split}$$

Obserwowana częstość podstawowa ϖ_0 jest nieco mniejsza od częstości drgań ϖ_e . Obie gałęzie rotacyjne R i P w widmie absorpcyjnym mają postać wynikająca z różnicy F(J') - F(J'') {Zadanie 13}:

$$\Delta J = +1 \quad v_R = v_{v'0} + 2B'_v + (3B'_v - B''_v)J + (B'_v - B''_v)J^2 \quad J = J'' = 0, 1, 2, 3, ...$$

$$\Delta J = -1 \quad v_P = v_{v'0} - (B'_v + B''_v)J + (B'_v - B''_v)J^2 \qquad J = 1, 2, 3, \dots$$

Trzy gałęzie rotacyjne w widmie ramanowskim S, O i Q (nierozdzielona) mają postać:

$$\begin{split} \Delta J &= +2 \quad v_{S} = v_{0} + 6B'_{v} + (5B'_{v} - B''_{v})J + (B'_{v} - B''_{v})J^{2} \qquad J = 0, \, 1, \, 2, \, 3, ... \\ \Delta J &= -2 \quad \bar{v}_{0} = \bar{v}_{0} + 2B'_{v} + (3B'_{v} - B''_{v})J + (B'_{v} - B''_{v})J^{2} \qquad J = 2, \, 3, \, 4, \, ... \\ \Delta J &= 0 \quad \bar{v}_{Q} = \bar{v}_{0} + (B'_{v} - B''_{v})J + (B'_{v} - B''_{v})J^{2} \qquad J = 0, \, 1, \, 2, \, 3, ... \end{split}$$

Odległości między liniami struktury rotacyjnej <u>odbiegają</u> więc od 2B w widmie absorpcji IR i od 4B w widmie Ramana.

Czysto rotacyjne widma absorpcyjne cząsteczek heterojądrowych (trwały moment dipolowy) i ramanowskie większości cząsteczek (trwała polaryzowalność) obserwuje się w zakresie mikrofal MW a położenia linii można łatwo określić z różnicy energii rotacyjnych F(J') - F(J'') przy analogicznych regułach wyboru dla ΔJ .

WIDMA ABSORPCYJNE Ι RAMANOWSKIE W ZAKRESIE PODCZERWIENI (IR) CZĄSTECZEK WIELOATOMOWYCH wynikają z układu poziomów oscylacyjno-rotacyjnych, podobnie jak W przypadku cząsteczek dwuatomowych, ale z możliwością silniejszego sprzężenia oscylacji i rotacji. Ruch drgający dowolnej cząsteczki N-atomowej (N > 2) można rozpatrywać w przybliżeniu małych drgań (harmonicznych) przyjmując 3N bezwymiarowych współrzędnych kartezjańskich qi wychyleń atomów z położenia równowagi (ai bi ci) [PLANSZA 23: ruch drgający cząsteczki wieloatomowej]:

$$\begin{aligned} q_1 &= \sqrt{m_1} (x_1 - a_1), \ q_2 &= \sqrt{m_1} (y_1 - b_1), \ q_3 &= \sqrt{m_1} (z_1 - c_1), \ q_4 &= \sqrt{m_2} (x_2 - a_2), ..., \\ q_{3N} &= \sqrt{m_N} (z_N - c_N) \end{aligned}$$

Rozwiązując układ równań Lagrange'a:

$$\begin{split} d(\partial T/\partial q_i)/dt &+ \partial V/\partial q_i = 0 \qquad \qquad i = 1, \, 2, \, 3, \, ..., \, 3N \\ \bullet \\ q_i &= dq_i/dt \end{split}$$

dla energii kinetycznej: $T = 1/2 \sum_{k=1}^{3N} (\dot{q}_k)^2$

dla energii potencjalnej: $V = V_0 + 1/2 \sum_{i=1}^{3N} (\partial V/\partial q_i)q_i + 1/2 \sum_{i,j=1}^{3N} (\partial^2 V/\partial q_i \partial q_j)q_iq_j = 0$

$$= 1/2\sum_{i,j=1}^{3N} \ f_{ij}q_iq_j$$

 $f_{ij} = f_{ji} = \partial^2 V / \partial q_i \partial q_j \big|_{qi=0,qj \; = 0} \quad \text{stale silowe}$

uzyskuje się układ równań różniczkowych drugiego stopnia:

$$\stackrel{\bullet\bullet}{q}_{i} + \sum_{j=1}^{3N} f_{ij}q_{j} = 0 \qquad i = 1, 2, 3, ..., 3N$$

plus 3 równania (warunki) na zachowanie pędu w kierunku x:

$$\sqrt{m_1}q_1 + \sqrt{m_2}q_4 + \dots + \sqrt{m_N}q_{3N-2} = 0$$

i podobnie dla składowych y oraz dla z,

oraz 3 warunki na **zachowanie momentu pędu** dla cząsteczek <u>nie</u>liniowych lub 2 warunki na zachowanie momentu pędu dla cząsteczek liniowych; w kierunku x:

$$\sqrt{m_1(b_1q_3 - c_1q_2)} + \sqrt{m_2(b_2q_6 - c_2q_5)} + \dots + \sqrt{m_N(b_Nq_{3N} - c_Nq_{3N-1})} = 0$$

i podobnie dla składowych y oraz dla z.

Wstawiając rozwiązanie w postaci periodycznej: $q_i = A_i cos(2\pi vt + \phi)$ otrzymuje się układ równań <u>algebraicznych</u>:

$$\sum_{i=1}^{3N} (f_{ij} - \lambda \delta_{ij}) A_i = 0 \qquad j = 1, 2, ..., 3N$$

czyli zagadnienie własne. Przyrównanie do zera wyznacznika (wiekowego) układu daje 3N wartości własnych λ i 3N wektorów własnych $\mathbf{A} = (A_1, A_2,..., A_{3N})$. Z uzyskanych wartości własnych, 6 w przypadku cząsteczek nieliniowych i 5 w przypadku cząsteczek liniowych jest <u>równe zeru i odpowiadają one ruchom nieperiodycznym</u> (translacyjnemu i rotacyjnemu), a pozostałe 3N – 6(5) stopni swobody przypada na drgania. Wartości własne wyznaczają częstości drgań v_k a wektory własne ustawione w kolumnach wyznaczają macierz przekształcenia liniowego od współrzędnych kartezjańskich q_i do WSPÓŁRZĘDNYCH NORMALNYCH Q_k:

$$Q_k = \sum_{j=1}^{3N} L_{kj} q_j = K_k cos(2\pi \nu_k t + \phi_k)$$

Amplituda drgań K_k i faza φ_k są wyznaczane z warunków początkowych na położenia i prędkości w chwili t = 0. Współrzędna normalna opisuje **drganie normalne** jako **kolektywny ruch atomów drgających z tą samą częstością i w tej samej fazie**.

Analogicznie można rozwiązywać to zagadnienie startując z "naturalnych" dla cząsteczki 3N - 6(5) współrzędnych wewnętrznych s_k zmian długości wiązań i kątów między nimi w stosunku do wartości równowagowych {Zadanie 14}. Jednak wtedy energia kinetyczna ma bardziej skomplikowana postać:

$$T = 1/2 \sum_{i,j=1}^{3N-6(5)} g_{ij} \, \overset{\bullet}{\textbf{s}}_{i} \, \overset{\bullet}{\textbf{s}}_{j}$$

w której **współczynniki** g_{ij} zależne od mas i parametrów strukturalnych cząsteczek są stabelaryzowane. Można je wyznaczyć metodą Wilsona (*E.B. Wilson Jr., J.C. Decius, P.C. Cross Molecular Vibrations*) dla poszczególnych typów fragmentów dwu-, trzy- i czteroatomowych. Energia potencjalna ma postać podobną jak poprzednio (sumowanie do 3N - 6 lub 3N - 5). Maksymalna ilość różnych stałych siłowych $f_{ij} = f_{ji}$ wynosi:

 $\frac{1}{2}(3N-6)(3N-5)$ - cząsteczka nieliniowa

 $\frac{1}{2}(3N-5)(3N-4)$ - cząsteczka liniowa

Jeśli w cząsteczce występują jakieś **elementy symetrii** ilość stałych siłowych ulega redukcji. Drgania normalne są niezależne od siebie i mogą być niezależnie wzbudzane [PLANSZA 24: drgania normalne cząsteczek: dwutlenk węgla CO₂, i amoniak NH₃]. Kilka różnych drgań normalnych może być zdegenerowane czyli mieć tę samą częstość, np. drgania "zginające" cząsteczki CO₂. Degeneracja zwykle wynika z występowania elementów symetrii cząsteczki.

Separacja ruchu drgającego cząsteczki na niezależne drgania normalne pozwala przedstawić kwantową energię ruchu drgającego w przybliżeniu harmonicznym jako sumę energii poszczególnych drgań normalnych:

$$E^{v_1,v_2,...} = \sum_{k=1}^{3N-6(5)} hv_k(v_k + \frac{1}{2})$$

$$G(v_1,v_2,...) = \sum_{k=1}^{3N-6(5)} (\varpi_e)_k(v_k + \frac{1}{2}) [PLANSZA 23]:$$

a **przejścia absorpcyjne i ramanowskie** między poziomami oscylacyjnymi zachodzą dla wzbudzenia jednego typu drgania Q_k przy **regule wyboru** na oscylacyjne liczby kwantowe:

$$\Delta v_k = +1, \ \Delta v_j = 0 \ dla \ j \neq k$$
Anharmoniczność powoduje mieszanie współrzędnych normalnych i pojawienie się nadtonów i tonów złożonych czyli ogólnie przejść kombinacyjnych typu:

 $\nu = k\nu_k + i\nu_i + j\nu_j + ...$ k, i, j = 0, +1, +2,...

Przejścia kombinacyjne są **zwykle słabsze** niż tony podstawowe [PLANSZA 25: widmo absorpcyjne IR cząsteczki amoniaku NH₃]. Przypadkowa degeneracja dwóch poziomów wzbudzonych, np. jednego odpowiadającego wzbudzeniu (tonowi) podstawowemu i jednego kombinacyjnego (przypadków może być więcej) może być zniesiona przez anharmoniczność, jeśli odpowiadające im funkcje falowe mają jednakowe własności symetrii. Prowadzi to do pojawienia się dwóch rozseparownych pasm widmowych w zjawisku **rezonansu Fermiego**. Ton kombinacyjny ma wtedy podobną intensywność jak podstawowy.

Mieszane funkcje falowe zachowują określony typ symetrii. Wszelkie ustalenia wpływu symetrii na widma pozostają w mocy również przy uwzględnieniu anharmoniczności. Każde drganie normalne charakteryzuje się określonym typem symetrii, czyli jego funkcja falowa transformuje się zgodnie z jedną z nieprzywiedlnych reprezentacją grupy symetrii do której należy cząsteczka; naczej mówiąc: jest funkcją bazową, która rozpina tę reprezentację. Pozwala to określić na podstawie analizy tablicy charakterów {Zadanie 15}, które drgania są aktywne w podczerwieni, czyli dają rejestrowane pasma absorpcyjne i ramanowskie IR.

W <u>odróżnieniu</u> od homojądrowych cząsteczek dwuatomowych, wysoce symetryczne cząsteczki jak metan CH₄ (grupa symetrii T_d) sześciofluorek siarki SF₆ (grupa symetrii O_h) czy dwutlenek węgla CO₂ [PLANSZA 24], chociaż nie mają trwałego momentu dipolowego <u>moga</u> absorbować w podczerwieni, gdyż asymetryczne drgania normalne Q_k zmieniają wartość elektrycznego momentu dipolowego:

 $\partial d / \partial Q_k \neq 0$

WYKŁAD 6.

Jednym z kluczowych zagadnień spektroskopii w podczerwieni jest wyznaczenie stałych siłowych z obserwowanych częstości drgań, czyli tzw. **odwrotne zadanie wibracyjne**. W ogólnym przypadku, z wyjątkiem najprostszych cząsteczek (dwuatomowe, trójatomowe typu H₂O), ilość mierzonych doświadczalnie częstości drgań jest niewystarczająca. Przykładowo, dla widma amoniaku (N = 4) z zaobserwowanych 4 częstości własnych [**PLANSZA 24**; **PLANSZA 25**] trzeba wyznaczyć 6 stałych siłowych. Trudności te usuwa się:

- stosując podstawienie jąder w cząsteczce **izotopami** o innej liczbie masowej, co daje zmianę obserwowanych częstości drgań przy niezmienionych stałych siłowych, a stąd dodatkowe równania w zależnościach v \leftrightarrow f_{ij};

- upraszczając formę energii potencjalnej ruchu drgającego cząsteczki, np. w metodzie wiązań walencyjnych VFF zakłada się znaczące siły wzdłuż wiązań i te związane ze zmianami kątów płaskich i torsyjnych a zaniedbuje się człony mieszane; inne uproszczone modele pola siłowego, np. UBFF oraz modyfikacje VFF i UBFF są omówione w podręczniku J. Konarski Teoretyczne podstawy spektroskopii molekularnej.

Ogólnie biorąc, można aktualnie obliczać częstości drgań IR dla niezbyt dużych cząsteczek metodami kwantowymi *ab initio* i przez porównanie z częstościami doświadczalnymi weryfikować teoretyczne wartości stałych siłowych (symulacja widm absorpcyjnych IR i Ramana).

"Racjonalne" wyniki otrzymywane metodą wiązań walencyjnych sugerują, że jednakowe układy jąder atomowych połączone takimi samymi wiązaniami i znajdujące się w różnych "otoczeniach chemicznych", tzn. w różnych miejscach cząsteczki lub na różnych cząsteczkach, będą się charakteryzowały bliskimi wartościami stałych siłowych, a stąd częstości drgań rozciągających wiązania i, w mniejszym stopniu, drgań zmieniających kąty między wiązaniami. Prowadzi to do pojęcia CZĘSTOŚCI GRUPOWEJ lub inaczej CZĘSTOŚCI CHARAKTERYSTYCZNEJ, podobnej dla określonego fragmentu strukturalnego cząsteczki. To założenie prowadzi do możliwości podziału cząsteczki na niezależnie (niesprzężone) drgające fragmenty strukturalne, analogicznie jak podział na drgania normalne, ALE oczywiście bez fizycznej ścisłości podziału na drgania normalne. Taki obraz drgań cząsteczki jest podstawą jakościowej analizy widm IR i wykorzystania spektroskopii IR w chemii, np. do określania struktur cząsteczek oraz w biofizyce molekularnej. Warunki podziału cząsteczki na fragmenty o dobrze określonych częstościach grupowych są następujące {Zadanie 16}.

(A) Drgania mają charakter:

- rozciąganie jednego lub kilku jednakowych wiązań;

 deformacja kątów między wiązaniami typu: zginanie czyli zmiana kata płaskiego między wiązaniami, skręcenie grupy wokół wiązania czyli zmiana kąta dwuściennego, wahanie lub kołysanie czyli wychylenia grupy atomów z płaszczyzny.

W przypadku rozciągania kilku jednakowych wiązań np. w grupie –NH₂ lub –CH₃ występuje kilka częstości grupowych o podobnych wartościach, odpowiadających drganiom o różnej **lokalnej symetrii** (ale <u>nie</u> globalnej symetrii cząsteczki), np. symetryczne i antysymetryczne drganie rozciągające grupy aminowej.

<u>Ścisłe odseparowanie</u> drgań rozciągających i deformujących zachodzi w cząsteczkach liniowych.

(B) Częstości grupowe są dobrze zdefiniowane dla rozciągania i zginania wiązań atomu "ciężkiego" z **wodorem**: -C - H, -N - H, -O - H. Ze względu na małą masę protonu: jądro H drga jak gdyby w połączeniu z nieskończoną masą.

(C) Częstości grupowe są dobrze scharakteryzowane dla grup atomów cięższych niż H, np.
C = O, C = C, C = N, C ≡ C, C – Cl jeśli zachodzą odpowiednio duże różnice mas i/lub stałych silowych dla tych fragmentów w porównaniu z fragmentami otaczającymi.
(D) Częstości grupowe są dobrze scharakteryzowane dla drgań pierścieni np. benzen.

Uzasadnienie koncepcji częstości grupowej w świetle ścisłego obrazu drgań normalnych można przedstawić na przykładzie liniowej cząsteczki acetylenu H – C = C – H [<u>PLANSZA 26</u>: porównanie częstości normalnych i grupowych w acetylenie]. Przy siedmiu drganiach normalnych cząsteczka ma pięć częstości własnych:

- 3374 cm⁻¹ drganie \sum_{g}^{+} : symetryczne rozciągające C – H

- 3287 cm⁻¹ drganie \sum_{u}^{+} : asymetryczne rozciągające C – H

- 1974 cm⁻¹ drganie \sum_{g^+} : rozciągające $C \equiv C$

- $612 \text{ cm}^{-1} \text{ drganie } \Pi_g$: zginające $C \equiv C - H$

- 729 cm⁻¹ drganie Π_u : zginające C = C – H

Wartości częstości grupowych podaje [PLANSZA 27 zestawienie częstości grupowych].

Struktura rotacyjna widm oscylacyjno-rotacyjnych wymaga rozważenia różnych typów rotatorów. **MOMENT BEZWŁADNOŚCI** cząsteczki N-atomowej o masach atomów m_i jest **tensorem symetrycznym** 3x3:

$$\mathbf{I} = [\mathbf{I}_{ij}] = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^{N} m_i (y_i^2 + z_i^2) & -\sum_{i=1}^{N} m_i x_i y_i & -\sum_{i=1}^{N} m_i x_i z_i \\ -\sum_{i=1}^{N} m_i x_i y_i & \sum_{i=1}^{N} m_i (x_i^2 + z_i^2) & -\sum_{i=1}^{N} m_i y_i z_i \\ -\sum_{i=1}^{N} m_i x_i z_i & -\sum_{i=1}^{N} m_i y_i z_i & \sum_{i=1}^{N} m_i (x_i^2 + y_i^2) \end{bmatrix}$$

Macierz reprezentująca ten tensor w dowolnym układzie współrzędnych (xyz) <u>związanym</u> <u>z obracającą się cząsteczką</u> może być **zdiagonalizowana**. W <u>układzie osi głównych</u> <u>tensora</u> (XYZ) wyrazy diagonalne wynoszą: I_{XX}, I_{YY}, I_{ZZ} i dla uproszczenia są oznaczane odpowiednio jako I_X, I_Y, I_Z (pozostałe wyrazy są równe zeru) [PLANSZA 28: moment bezwładności i energia rotacji cząsteczki]. Ze względu na relacje między składowymi tensora cząsteczkę klasyfikuje się jako jeden z możliwych przypadków: bąk liniowy, bąk symetryczny, bąk sferyczny i bąk asymetryczny. Kwantowe równanie Schrödingera obrotu cząsteczki (bryły sztywnej) w laboratoryjnym, nieruchomym układzie współrzędnych ($\xi\eta\zeta$) we współrzędnych kątowych Eulera (α , β , γ) lub kątów (θ , φ) (obrót układu XYZ względem $\xi\eta\zeta$) pozwala wyznaczyć energie i funkcje własne poziomów rotacyjnych (*L.D. Landau, E.M. Lifszyc Mechanika kwantowa*). Uwzględniając niesztywność rotatora i wzajemny wpływ oscylacji i rotacji otrzymuje się, w [cm⁻¹]:

(1) rotator (bąk) liniowy; szczególny przypadek to omówiona już cząsteczka dwuatomowa:

$$\begin{split} I_X &= I_Y = I, \ I_Z = 0 \\ energia: F(J) &= B_v J (J+1) - D_v J^2 (J+1)^2 + ... \\ funkcje własne: harmoniki sferyczne Y^J_M(\theta, \phi) \\ B_v &= h/(8\pi^2 cI) \quad degeneracja poziomu g_J = 2J + 1 \end{split}$$

(2) rotator (bąk) symetryczny {Zadanie 17}:

$$\begin{split} I_X &= I_Y \neq I_Z \\ \text{energia: } F(J,K) &= B_v J(J+1) + (A_v - B_v) K^2 - D_{vJ} J^2 (J+1)^2 - D_{vJK} J(J+1) K^2 - D_{vK} K^4 + ... \\ K &= 0, \pm 1, ..., \pm J \\ \text{funkcje własne: dla } K = 0 \qquad \sqrt{(2J+1)/8\pi^2} \ \mathcal{D}^J{}_{M0}(\alpha, \beta, \gamma) \end{split}$$

$$\begin{split} \text{dla } K \neq 0 \qquad \sqrt{(2J+1)/8\pi^2} ~ \{ \mathcal{D}^J{}_{MK}(\alpha, \beta, \gamma) + \mathcal{D}^J{}_{M-K}(\alpha, \beta, \gamma) \}, \\ \\ \sqrt{(2J+1)/8\pi^2} ~ \{ \mathcal{D}^J{}_{MK}(\alpha, \beta, \gamma) - \mathcal{D}^J{}_{M-K}(\alpha, \beta, \gamma) \} \end{split}$$

 $B = h/(8\pi^2 cI_X)$, $A = h/(8\pi^2 cI_Z)$ degeneracja poziomu $g_J = 2(2J + 1)$

(3) rotator (bąk) **sferyczny**:

 $I_X = I_Y = I_Z = I$ energia: F(J) = BJ(J + 1) - D_vJ²(J + 1)² + ...

funkcje własne: uogólnione funkcje kuliste $\sqrt{(2J+1)/8\pi^2} D^{J}_{MK}(\alpha, \beta, \gamma)$:

$$\mathbf{L}^{2} \mathbf{\mathcal{D}}^{J}_{MK} = \hbar M \mathbf{\mathcal{D}}^{J}_{MK} \qquad \mathbf{L}^{2} \mathbf{\mathcal{D}}^{J}_{MK} = \hbar K \mathbf{\mathcal{D}}^{J}_{MK}$$

 $B = h/(8\pi^2 cI)$ degeneracja poziomu $g_J = (2J + 1)^2$

funkcje falowe, tzw. uogólnione funkcje kuliste, są inne niż dla rotatora liniowego,

(4) rotator (bąk) asymetryczny:

 $I_X \neq I_Y \neq I_Z$

Energie poziomów F(J) o różnych J nie mają jednego wzoru analitycznego i wyznacza się je niezależnie dla każdego J z równań algebraicznych po podstawieniu funkcji falowej w postaci kombinacji liniowej uogólnionych funkcji kulistych do równania Schrödingera.

Energia oscylacyjno-rotacyjna cząsteczki wieloatomowej jest sumą energii drgań anharmonicznych i energii rotacyjnej niesztywnego rotatora, z uwzględnieniem **sprzężenia osylacji i rotacji wynikających z ODDZIAŁYWANIA CORIOLISA** [PLANSZA 29: **sprzężenie osylacji i rotacji; podwojenie l**] opisanego siłą:

 $\mathbf{F}_{cor} = 2m\mathbf{V}\times\mathbf{\omega}$, gdzie V prędkość liniowa masy m w układzie obracającym się z prędkością kątową $\mathbf{\omega}$.

W ścisłym ujęciu ruchu drgającego obracającej się cząsteczki z uwzględnieniem <u>niepotencjalnej</u> siły Coriolisa (*E.C. Kemble The Fundamental Principles of Quantum mechanics*) przechodzi się do *hamiltonianu kwantowego**. Jądra oscylujące w układzie

* $\mathbf{H} = (\mathbf{L}_{\mathbf{X}} - \mathbf{p}_{\mathbf{X}})^2 / 2\mathbf{I}_{\mathbf{X}} + (\mathbf{L}_{\mathbf{Y}} - \mathbf{p}_{\mathbf{Y}})^2 / 2\mathbf{I}_{\mathbf{Y}} + (\mathbf{L}_{\mathbf{Z}} - \mathbf{p}_{\mathbf{Z}})^2 / 2\mathbf{I}_{\mathbf{Z}} + (1/2) \Sigma_k \mathbf{P}_k^2 + \Sigma_k \lambda_k \mathbf{Q}_k^2; \quad \mathbf{P}_k = (\hbar/i)(\partial/\partial \mathbf{Q}_k); \quad \lambda_k = (2\pi v_k)^2.$ Dla $\mathbf{p}_{\mathbf{X}} = \mathbf{p}_{\mathbf{Y}} = \mathbf{p}_{\mathbf{Z}} = 0$ (brak drgań zdegenerowanych) zachodzi podział na energię sztywnego rotatora i nieobracającego się rotatora $\mathbf{H}_{rig} = (\mathbf{L}_{\mathbf{X}})^2 / 2\mathbf{I}_{\mathbf{X}} + (\mathbf{L}_{\mathbf{Y}})^2 / 2\mathbf{I}_{\mathbf{Y}} + (\mathbf{L}_{\mathbf{Z}})^2 / 2\mathbf{I}_{\mathbf{Z}} + (1/2) \Sigma_k \mathbf{P}_k^2 + \Sigma_k \lambda_k \mathbf{Q}_k^2.$ Różnica obu hamiltonianów $\mathbf{H} - \mathbf{H}_{rig}$ daje (prawdopodobnie; podaję za: *J. Konarski Teoretyczne podstawy spektroskopii molekularnej*) hamiltonian Coriolisa jako zaburzenie: $\mathbf{H}_c = -2\Sigma_{kl} \sqrt{\frac{\omega_l}{\omega_k}} \quad Q_l \mathbf{P}_k \sum_{\alpha} (1/2\mathbf{I}_{\alpha\alpha}) \xi^{\alpha}_{kl} \mathbf{L}_{\alpha}$

obracającej się cząsteczki <u>nie poruszają się po liniach prostych</u> i powstaje się **wibracyjny moment pędu p** $_{\alpha}$, który składa się z momentem pędu obrotu całej cząsteczki L $_{\alpha}$. To prowadzi do **mieszania oscylacji (współrzędnych normalnych) przez rotację**:

$$\mathbf{p}_{\alpha} = \sum_{k < l} \xi^{\alpha}{}_{kl} \left(Q_k \mathbf{P}_l - Q_l \mathbf{P}_k \right) \qquad \alpha = X, \, Y, \, Z \text{ układ osi głównych tensora } \mathbf{I}$$

gdzie Q_j- współrzędna normalna, $\mathbf{P}_{j} = (\hbar/i)(\partial/\partial Q_{j})$ odpowiadający jej pęd, ξ^{α}_{kl} tzw. stała Coriolisa zależna od <u>mas</u> jąder, <u>geometrii</u> cząsteczki i <u>stałych siłowych</u>. W szczególności, mieszanie może dotyczyć składowych <u>tego samego drgania</u> zdegenerowanego. Obok niewielkiego wkładu do wartości stałych rotacyjnych B_v i D_v, sprzężenie Coriolisa (jako zaburzenie) może prowadzić do rozszczepienia poziomów (usunięcie degeneracji) drgań zdegenerowanych <u>dwukrotnie</u>, w przypadku cząsteczek liniowych i bąków symetrycznych, oraz zdegenerowanych <u>trzykrotnie</u>, w przypadku bąków sferycznych.

Struktura rotacyjna pasm absorpcyjnych i ramanowskich cząsteczek <u>wielo</u>atomowych będzie omawiana w skrócie z zasygnalizowaniem <u>różnic</u> w stosunku do cząsteczek <u>dwu</u>atomowych.

(1) Cząsteczki liniowe. Wprowadza się liczbę kwantową l wibracyjnego momentu pędu:

l = v, v - 2, ..., 0 lub 1 v - oscylacyjna liczba kwantowa i poziomy oscylacyjne drgań zdegenerowanych klasyfikuje się jako Σ (l = 0), Π (l = 1), Δ (l = 2), itd.

(a) Struktura rotacyjna pasm niezdegerowanych (równoległych) Σ (l = 0), jest taka jak w cząsteczkach dwuatomowych; obserwuje się <u>dwie</u> gałęzie P i R w widmach absorpcyjnych IR i <u>trzy</u> gałęzie S, O i Q w widmach ramanowskich.

(b) Przejścia między poziomami oscylacyjnymi drgań zdegenerowanych $1 \neq 0$ (prostopadłe) w przeciwieństwie do niezdegenerowanych mają zmodyfikowaną regułę wyboru:

- absorpcja IR $\Delta J = 0, \pm 1; \underline{trzy}$ gałęzie: P, R i **dodatkowa Q**

- Raman $\Delta J = 0, \pm 1; \pm 2, \underline{pięć}$ gałęzi: S, Q, O i **dwie dodatkowe P i R**

(c) Podwojenie t na przykładzie cząsteczki CO₂ [PLANSZA 29]. Ruch obrotowy wokół osi cząsteczki wynika ze złożenia dwóch wzajemnie prostopadłych oscylacji Π_u^- przesuniętych w fazie o $\pi/2$. Jedno z drgań leżące w płaszczyźnie rotacji sprzęga się poprzez oddziaływanie Coriolisa z drganiem asymetrycznym Σ_u^- powodując rozszczepienie poziomu Π_u^- na dwie składowe.

(2) Cząsteczki typu **bąka symetrycznego**. Pasma oscylacyjne (podobnie jak w przypadku poprzednim) dzielimy na równoległe || (moment dipolowy przejścia w kierunku osi symetrii o najwyższej krotności) i prostopadłe \perp (moment dipolowy przejścia w kierunku prostopadłym do osi symetrii), różniące się strukturą rotacyjną.

(a) Pasma absorpcyjne IR:

- równoległe, $\Delta K = 0$, $\Delta J = 0$, ± 1 dla K $\neq 0$ oraz $\Delta J = \pm 1$ dla K = 0; trzy gałęzie P, Q i R z rozszczepieniami ze względu na różne K, [PLANSZA 25] i {Zadanie 18}.

- prostopadłe, $\Delta K = \pm 1$, $\Delta J = 0$, ± 1 [PLANSZA 30: pasmo prostopadłe bąka symetrycznego]; na tle nierozdzielonych linii P i R tworzy się seria linii Q oddalonych o (w przybliżeniu):

 $2[A_v(1-\xi) - B_v] \qquad \xi$ - stała Coriolisa

Dla cząsteczki amoniaku obserwuje się dodatkowo tzw. **podwojenie inwersyjne** [PLANSZA 25] (rozszczepienie 36 cm⁻¹) dla pasma absorpcyjnego drgania $v_{2\parallel}$ "sprzyjającego" inwersji czyli tunelowaniu azotu przez płaszczyznę wyznaczoną przez trzy protony [PLANSZA 24].

(b) Pasma ramanowskie w najogólniejszej postaci:

 $\Delta K = 0, \pm 1, \ \Delta J = 0, \pm 1, \pm 2$

struktura rotacyjna uwarunkowana symetrią konkretnej cząsteczki.

(3) Cząsteczki typu bąka sferycznego:

- pasma absorpcyjne $\Delta J = 0, \pm 1$, trzy gałęzie P, Q i R

- pasma ramanowskie $\Delta J = 0, \pm 1, \pm 2$, pięć gałęzi S, P, Q, R i O.

Możliwa modyfikacja odstępów między liniami struktury rotacyjnej przez oddziaływanie Coriolisa, np. przykład CH₄ [PLANSZA 31: struktura rotacyjna pasma v₄ metanu] (grupa symetrii T_d); odległość linii w gałęziach P i R (w przybliżeniu B'_v =B''_v):

 $2B_v(1-\xi)$

(4) Cząsteczki typu bąka asymetrycznego:

- pasma absorpcyjne $\Delta J = 0, \pm 1, \underline{bez}$ przejścia $J = 0 \leftrightarrow J = 0$, trzy gałęzie P, Q i R

- pasma ramanowskie $\Delta J = 0, \pm 1, \pm 2$, pięć gałęzi S, P, Q, R i O.

WIDMA WIBRACYJNEGO DICHROIZMU KOŁOWEGO (VCD). Wiązkę światła spolaryzowanego liniowo można przedstawić [PLANSZA 32: wibracyjny dichroizm kołowy VCD (widma L-Ala-L-Ala i L-Ala-D-Ala, Roberts et al. J. Am. Chem. Soc. 110, 1749, 1988] w postaci superpozycji dwóch wiązek spolaryzowanych kołowo w przeciwnych kierunkach. W ośrodku **optycznie czynnym**, np. roztwór cząsteczek dyssymetrycznych (chiralnych), fala spolaryzowana liniowo porusza się w ten sposób, że jej składowe spolaryzowane kołowo mają różne prędkości (dwójłomność). Wynikająca stąd różnica prędkości kątowych wektorów elektrycznych **E**_R i **E**_L daje skręcenie płaszczyzny polaryzacji o kąt α określony przez iloczyn skręcalności właściwej $[\alpha]_{\lambda}^{T}$ zależnej od długości fali λ i temperatury T, długości drogi optycznej t i stężenia molowego c_i:

$$\alpha = [\alpha]_{\lambda}^{T} l c_{i}$$

W obszarze pasma absorpcyjnego skręcalność właściwa zmienia się w sposób anomalny i zachodzi różnica absorpcji obu składowych spolaryzowanych kołowo:

 $\Delta \epsilon = \epsilon_L - \epsilon_R \thicksim 10^{\text{-5}} \epsilon$

czyli dichroizm kołowy mierzony w funkcji odwrotności długosci fali v jako widmo wibracyjnego dichroizmu kołowego VCD (*vibrational circular dichroism*). Po przejściu przez aktywny ośrodek absorbujący światło uzyskuje polaryzację eliptyczną. Podobnie jak współczynnik ekstynkcji molowej ε jest wyznaczony przez elektryczny moment dipolowy przejścia $\langle n|\mathbf{d}|m \rangle$ między stanami oscylacyjnymi cząsteczki $|m \rangle$ i $|n \rangle$, dichroizm kołowy $\Delta \varepsilon(v)$ jest uwarunkowany przez iloczyn elektrycznego \mathbf{d} i magnetycznego $\boldsymbol{\mu}$ momentu dipolowego <u>przejścia</u>. Odpowiednikiem mocy oscylatora charakteryzującej intensywność pasma (prawdopodobieństwo przejścia absorpcyjnego) jest w spektroskopii VCD siła rotacyjna:

 $R_{mn} = [(3\hbar c \epsilon_0 \ln 10)/10\pi N_A)] \int (\Delta \epsilon/v) dv = Im(\langle n|\mathbf{d}|m \rangle \langle m|\mathbf{m}|n \rangle) \quad Im - część urojona$ Powiązanie struktury cząsteczek z widmami VCD (jakościowe) ujmują teorie FPC (*Fixed Particle Charge*) oraz LMO (*Localized Molecular Orbital*) (*L.A.Nafie Advances in Infrared and Raman Spectroscopy vol. 11, 1984*)

Z porównania widm dipeptydów: L-Ala-<u>L</u>-Ala i L-Ala-<u>D</u>-Ala, w których jeden z aminokwasów <u>różni się stereoizomerią podstawników przy węglu C α </u>, widać odwrotny przebieg sygnałów w zakresie drgań deformacyjnych C – H [PLANSZA 27].

WIDMA AKTYWNOŚCI OPTYCZNEJ RAMAN (ROA). Cząsteczki dyssymetryczne (chiralne) wykazują również efekt aktywności optycznej Ramana ROA (*Raman optical activity*):

(a) różnicę intensywności promieniowania rozproszonego dla wiązki spolaryzowanej kołowo w lewo- i w prawo (ICP, *incident circular polarization*)

(b) pojawienie się spolaryzowanej kołowo składowej w wiązce rozproszonej dla światła niespolaryzowanego (SCP, scattered circular polarization).

Mierzalny efekt (przykładowo) dla ICP [PLANSZA 33: widmo ROA cząsteczki L-Ala–L-Ala (Hecht & Barron Faraday Discuss. 99, 35, 1994)] uzyskuje się przy rejestracji rozproszenia "do tyłu" (backscattering) w stosunku do wiązki padającej a nie pod kątem prostym, i określa jako CID (*cicular intensity difference*)

 $\Delta = (I_R - I_L)/(~I_R + I_L)$

gdzie I_R i I_L są intensywnościami promieniowania rozproszonego dla spolaryzowanej w prawo i w lewo wiązki wzbudzającej – rozpraszanej.

Z widm VCD i ROA można uzyskać informacje strukturalne dla małych cząsteczek, nieosiągalne dla innych metod spektroskopowych; przez porównanie widm mierzonych doświadczalnie i liczonych teoretycznie metodami kwantowymi *ab initio*.

WYKŁAD 7

SPEKTROSKOPIA ABSORPCYJNA I EMISYJNA W ZAKRESIE UV-VIS

CZĄSTECZEK DWUATOMOWYCH będzie potraktowana w sposób skrótowy, jedynie dla ścisłego wyjaśnienia pojęć niezbędnych dla zrozumienia bardziej złożonych układów molekularnych, czyli cząsteczek wieloatomowych. Przejścia absorpcyjne i emisyjne w tzw. bliskim ultrafiolecie UV ($\lambda \sim 150 \div 400$ nm) i w zakresie widzialnym VIS ($\lambda \sim 400 \div 800$ nm) wiążą się ze zmianami wszystkich trzech składowych energii cząsteczki (wyrażonej w cm⁻¹): elektronowej T, oscylacyjnej G i rotacyjnej F:

 $\overline{v} = \{T' - T''\} + \{G'(v') - G''(v'')\} + \{F_v'(J') - F_v''(J'')\}$

W dalekim ultrafiolecie poniżej 100 nm obserwuje się tzw. serie Rydberga o odmiennej strukturze (<u>nie</u> będą omawiane). Wzbudzenie elektronowe jest rządzone **ZASADĄ FRANCKA - CONDONA** [PLANSZA 34: zasada Francka - Condona]. Ze względu na znacznie wolniejsze ruchy jąder w porównaniu z ruchami elektronów przejścia elektronowe zachodzą przy ustalonej konfiguracji jąder, co jest obrazowane na <u>PLANSZY</u> przez strzałki <u>pionowe</u>. Konfiguracja jąder (struktura cząsteczki) może się zmienić dopiero po pewnym czasie przebywania cząsteczki w stanie docelowym. Zasada F.-C. oraz nakrywanie się oscylacyjnych funkcji falowych w różnych stanach elektronowych między którymi zachodzi przejście:

 $\int \phi_{v} * \phi_{v} dx \qquad x = |\mathbf{R} - \mathbf{R}_{e}|, \text{ wychylenie odległości międzyjądrowej z położenia}$ równowagi (współrzędna normalna)

warunkuje intensywność linii w strukturze oscylacyjnej widma. Z kolei nakrywanie to jest uwarunkowane kształtami potencjałów (krzywe Morse'a), a przede wszystkim położeniami minimów energii czyli odległościami międzyjądrowymi w obu stanach. W każdym przypadku zmiana oscylacyjnej liczby kwantowej jest dowolna, z regułą wyboru: $\Delta v = 0, \pm 1, \pm 2, \pm 3, ...$ itd. (a nie $\Delta v = \pm 1$, jak dla przejść w przypadku oscylatora harmonicznego w IR).

Poziomy elektronowe są klasyfikowane według nieprzywiedlnych reprezentacji grup symetrii $C_{\infty v}$ i $D_{\infty h}$ jako Σ , Π , Δ , Φ ,... [PLANSZA 5], których funkcjami bazowymi są wieloelektronowe funkcje falowe cząsteczki. Klasyfikacja ta jest równoważna wartościom rzutu wypadkowego, orbitalnego momentu pędu elektronów L na oś cząsteczki, oznaczany jako $\Lambda = 0, 1, 2, 3,...$ Klasyfikację komplikuje wypadkowy spin S układu elektronowego, który tylko w stanach Σ , czyli $\Lambda = 0$ jest zachowany. Dla $\Lambda > 0$ wewnętrzne pole magnetyczne orbitalnego ruchu elektronów L prowadzi do sprzężenia spin-orbita ze spinem S i <u>zachowany</u> jest tylko rzut S na oś cząsteczki, oznaczany jako Σ (UWAGA !: nie mylić z orbitalnym stanem $\Lambda = 0$ oznaczanym Σ). Wypadkowy rzut elektronowego momentu pędu J_e na oś cząsteczki: Ω jest również zachowany. Sprzężenie spin-orbita warunkuje <u>odmienny</u> sposób klasyfikacji poziomów elektronowych zależnie od typu cząsteczki i powoduje rozszczepienie jej poziomów energetycznych. W cząsteczkach z lekkimi jądrami (odpowiednik sprzężeniu Russela-Sandersa w atomach) spin S sprzęga się z <u>osią a nie z całym</u> elektronowym momentem orbitalnym L i poziomy klasyfikuje się jako $^{2S+1}\Lambda_{\Omega}$, gdzie $\Omega = |\Lambda + \Sigma|$, a 2S+1 jest multipletowością poziomu. Dla $\Omega = 0$ często pomija się Ω w oznaczeniu i dodaje dodatkowe oznaczenia "teoriogrupowe", stosownie do symetrii funkcji falowej, + lub - przy odbiciach w płaszczyźnie zawierającej oś cząsteczki, oraz g lub u przy inwersji dla cząsteczek homojądrowych (${}^{1}\Sigma^{+}$, ${}^{1}\Sigma_{g}$, ${}^{3}\Pi_{u}$). W cząsteczkach z ciężkimi jądrami (odpowiednik sprzężenia ji w atomach) zachodzi sprzężenie między momentami L i S i zachowany jest jedynie rzut Ω całkowitego momentu pędu elektronów J_e na oś cząsteczki. Stany są klasyfikowane z podaniem wartości Ω , z dodatkowymi oznaczeniami symetrii elektronowej funkcji falowej +/- oraz g/u, np. $(\frac{1}{2})^{-}$, 0^{+} g. Przejścia spektroskopowe

[PLANSZA 35: struktura oscylacyjna: AgCl (900°C), CO i rotacyjna: AlH przejścia elektronowego]) można klasyfikować (przykładowo) w sposób następujący:

 $A^{1}\Sigma^{+} \leftarrow X^{1}\Sigma^{+}$ zwykle $\Delta \Lambda = 0, \pm 1$ jeśli $\Omega = 0$ w obu stanach

Dużymi literami (A, X) oznacza się poziomy singletowe S = 0, a małymi (a, b) poziomy trypletowe S = 1. **Przejście singlet** \leftrightarrow **tryplet jest zasadniczo wzbronione**, ale może występować dzięki sprzężeniu spin-orbita, które miesza singletowe i trypletowe, elektronowe funkcje falowe.

Podane klasyfikacje mają jedynie charakter <u>przybliżony</u> gdyż **nie uwzględniają sprzęgania** elektronowego momentu pędu z jądrowym momentem pędu. Złożenie obu momentów, elektronowego J_e i jądrowego N, daje **wypadkowy moment pędu cząsteczki** J, który najczęściej występuje we wzorach na **energię rotacyjną** cząsteczki. Reguły wyboru dla zmian rotacyjnej liczby kwantowej J przy przejściach elektronowooscylacyjno-rotacyjnych są następujące:

 $\Delta J = 0, \pm 1$ przy zakazie przejścia $J = 0 \leftrightarrow J = 0$

 $\Delta J = \pm 1$ jeśli w obu stanach elektronowych $\Omega = 0$

Rozróżnia się cztery podstawowe typy sprzężeń między elektronowym momentem pędu i jądrowym momentem pędu, określane jako *przypadki (a), (b), (c) i (d) Hunda**. Rzeczywiste cząsteczki <u>nie stosują się ściśle</u> do poszczególnych przypadków Hunda. Odstępstwa rosną ze wzrostem energii rotacji i mogą prowadzić do **zaburzeń struktury rotacyjnej widm,** np. *podwojenie* Λ^{**} o wartości rozszczepienia $\Delta v = qJ(J + 1)$, na drodze od przypadku Hundta (a) do przypadku (d). Efekt jest podobny do podwojenia l **[PLANSZA 29]**, a q można wyznaczyć z obliczeń kwantowych.

Linie w widmach absorpcji i emisji wymuszonej [PLANSZA 35] wzbudzonych termicznie cząsteczek dwuatomowych (AgCl) układają się w charakterystyczne progresje pasm struktury oscylacyjnej, które zagęszczają się ku falom długim (rośnie v'') lub krótkim (rośnie v') ze względu na różnice wartości stałych siłowych i anharmoniczności w różnych stanach elektronowych. Pasma absorpcyjne z poziomu v''= 0 (cząsteczka C = O) zagęszczają się przy wysokich v' i przechodzą w widmo ciągłe. Linie rotacyjne w gałęziach P, R i ew. Q (cząsteczka AlH) układają się w tzw. parabole Fortrata ze względu na duże różnice stałych rotacyjnych w obu poziomach elektronowych, co przy dużej wartości członu z J² [PLANSZA 20] daje zagęszczenie linii, powstanie głowicy pasma i zawrócenie następnych linii w przeciwnym kierunku na osi v (gałąź R w widmie AlH).

Przypadek (b) S słabo sprzęga się z osią (najczęściej S \neq 0, Λ = 0), Ω jest niezdefiniowany. Λ i N dają K, K + S = J, J = K + S, K + S - 1, ..., |K - S|, K = Λ , Λ + 1, ...itd. Dla termów rotacyjnych F_v(K) brak jednej formuły dla wszystkich stanów elektronowych. Dla S = 0 przypadek (b) = przypadek (a), K = J.

Przypadek (c) $\mathbf{L} + \mathbf{S} = \mathbf{J}_{\mathbf{e}}$ ($\Lambda \ i \ \Sigma$ niezdefiniowane). Rzut na oś elektronowego momentu $\mathbf{J}_{\mathbf{e}}$ tworzy z \mathbf{N} moment wypadkowy \mathbf{J} (**przypadek** (a)). Termy: $F_{v}(\mathbf{J}) = B_{v}[\mathbf{J}(\mathbf{J}+1) - \Omega^{2}]$; klasyfikacja poziomów $\Omega^{+/-}_{u/g}$.

Przypadek (d) Słabe sprzężenie L z osią, silne z N, K = L + N, K = R + L, R + L - 1,..., |R - L|. N jest skwantowane wzdłuż osi prostopadłej do cząsteczki z liczbą kwantową R. Słabe sprzężenie K i S, J = K + S. Termy rotacyjne $F_v(R) = B_v [R(R + 1)]$, gdzie każdy term jest rozszczepiony na 2L + 1 składowych.

** **Podwojenie** Λ dla poziomu ¹ Π . Tylko jedna ze składowych, ¹ Π ⁺, miesza się ze stanem ¹ Σ ⁺ podczas gdy ¹ Π ⁻ pozostaje niezmienione. Przyczyna to szybki ruch jąder, przy którym ruch elektronów w płaszczyźnie prostopadłej do osi obrotu nie nadąża i funkcja falowa ¹ Π ⁺ nabiera charakteru ¹ Σ ⁺. Natomiast funkcja falowa ¹ Π ⁻ ma płaszczyznę węzłową prostopadle do osi obrotu. Mieszanie ¹ Π ⁺ z ¹ Σ ⁺ daje odpychanie obu poziomów, a w konsekwencji rozszczepienie ¹ Π .

⁻⁻⁻⁻⁻

^{*} *Przypadek (a)* Słabe oddziaływanie jądro-elektron; momenty **L** i **S** sprzęgają się z "osią"; Λ , Σ i Ω są dobrymi liczbami kwantowymi. Klasyfikacja poziomów elektronowych ^{2S+1} Λ_{Ω} przy słabym sprzężeniu spinorbita. Moment pędu cząsteczki (bąk symetryczny) $\mathbf{J} = \mathbf{\Omega} + \mathbf{N}$; termy rotacyjne: $F_v(\mathbf{J}) = B_v[\mathbf{J}(\mathbf{J} + 1) - \Omega^2]$.

Klasyfikację stanów cząsteczek dwuatomowych (AB) można także przeprowadzić w przybliżeniu LCAO MO, w którym jednoelektronowe orbitale molekularne (MO) tworzy się jako kombinacje liniowe dwóch orbitali atomowych (LCAO) s, p, d.,..., o jednakowym typie <u>symetrii</u> względem transformacji grupy C_{∞_V} lub D_{∞_h} oraz o zbliżonych wartościach <u>energii</u> {Zadanie 19}. Uzyskuje się w ten sposób jednoelektronowe orbitale molekularne σ , π , δ , ..., którym odpowiadają rzuty orbitalnych momentów pędu pojedynczych elektronów, $\lambda = 0, 1, 2,...$ Mogą one mieć charakter orbitali <u>wiążących</u> jądra, z różną od zera gęstością elektronową między jądrami A i B wzdłuż osi z, lub oznaczane "gwiazdkami" orbitale <u>antywiążące</u> σ^* , π^* ,... z zerową gęstością elektronową między jądrami A i B wzdłuż osi z:

 $\sigma=1s_A+1s_B \quad \sigma^*=1s_A-1s_B \quad \pi=2p_{Ax}+2p_{Bx} \quad \pi^*=2p_{Ax}-2p_{Bx}$

Po obsadzeniu kolejnych poziomów po 2g elektronów o przeciwnie skierowanych spinach każdy (g jest stopniem degeneracji poziomu), otrzymuje się typ wieloelektronowej funkcji falowej, zgodnie z dodawaniem orbitalnych momentów pędu $\Lambda = \sum_k \lambda_k$, czyli tworzeniem iloczynów prostych reprezentacji rozpinanych przez orbitale jednoelektronowe. Klasyfikację poziomów jednoelektronowych cząsteczek dwuatomowych wykorzystuje się w analizie widm elektronowych cząsteczek wieloatomowych.

PRZEJŚCIA ELKTRONOWE W ZAKRESIE BLISKIEGO NADFIOLETU I WIDZIALNYM (UV-VIS) CZĄSTECZEK WIELOATOMOWYCH analizuje się w przybliżeniu z wykorzystaniem pojęcia CHROMOFORU. Struktura rotacyjna widm UV-VIS nawet w fazie gazowej z reguły nie jest widoczna, z <u>wyjątkiem</u> prostych cząsteczek, np. NH₃. <u>Duże momenty bezwładności</u> dają zazwyczaj mniejsze odstępy linii w strukturze rotacyjnej niż szerokości połówkowe tych linii. Struktura oscylacyjna pasma elektronowego może być widoczna zarówno w fazie gazowej jak i (zwykle częściowo) w roztworze. Jest ona uwarunkowana przez zasadę Francka-Condona [PLANSZA 34], częstości wzbudzanych drgań oraz kształt i wzajemne położenie minimów hiperpowierzchni energii elektronowej w funkcji współrzędnych normalnych (potencjału dla drgań). Zmiana oscylacyjnej liczby kwantowej wzbudzanego drgania jest dowolna: $\Delta v = 0, \pm 1, \pm 2, \pm 3,...$ itd. Analizując widma elektronowe cząsteczek można zaobserwować, że różne cząsteczki zawierające tę samą grupę atomów i wiązań charakteryzują się **podobnymi widmami** absorpcji (fluorescencji) pod względem **ilości**, **położeń** oraz **intensywności pasm**. Inaczej mówiąc, przejście elektronowe w cząsteczce jest w głównym stopniu zlokalizowane w obrębie tej wydzielonej grupy czyli **chromoforu**, w przypadku emisji określanej także jako **fluorofor**. Oznacza to, że udział orbitali atomowych spoza chromoforu w rozwinięciu LCAO jednoelektronowych orbitali molekularnych cząsteczki wyjściowego i docelowego, związanych z przejściem elektronowym, jest w przybliżeniu zaniedbywalny:

 $\varphi_e = \sum_{\alpha} c_{\alpha} \chi_{\alpha} \quad c_{\alpha} \neq 0 \text{ dla } \chi_{\alpha} \text{ zlokalizowanych na atomach chromoforu}$

 $c_{\alpha} \approx 0$ dla χ_{α} zlokalizowanych na atomach poza chromoforem

Atomy i grupy atomów z otoczenia chromoforu, tzw, auksochromy, modyfikuja poprzez różne efekty parametry absorpcyjne chromoforów; w szczególności mogą przesuwać pasmo w kierunku fal dłuższych, czyli powodować efekt batochromowy, lub w kierunku fal krótszych, czyli powodować efekt hypsochromowy. Przykłady chromoforów to grupa aldehydowa C=O, pierścień benzenu, wiązania podwójne C=C, N=N. Jednoelektronowe orbitale molekularne chromoforów można klasyfikować, a odpowiadające im poziomy energii przedstawiać na DIAGRAMIE KASHA [PLANSZA 36: diagram Kasha]. Widać, że chromofory mają najczęściej płaszczyznę symetrii i zawierają jedno wiązanie podwójne lub sprzężony układ wiązań podwójnych. Stąd jednoelektronowe orbitale molekularne o własności antysymetrycznych względem odbicia w tej płaszczyźnie, obsadzone przez zdelokalizowane elektrony, definiuje się jako orbitale (i odpowiadające im **poziomy**): wiążące π i antywiążące π^* . Pozostałe orbitale (nie π) są zlokalizowane albo na wiązaniach pojedynczych i określane jako σ i σ^* , albo są orbitalami wolnych par elektronowych określane jako n. Klasyfikacja ta bierze pod uwagę jedynie lokalną symetrię chromoforu, a <u>nie</u> całej cząsteczki i jest ścisła dla cząsteczek dwuatomowych. W przypadku cząsteczek wieloatomowych ma jedynie charakter przybliżony. **Dozwolonymi** przejściami spektroskopowymi, absorpcyjnymi i emisyjnymi są $\sigma^* \leftarrow \sigma$ i $\pi^* \leftarrow \pi$, a częściowo dozwolonymi $\sigma^* \leftarrow n$ i $\pi^* \leftarrow n$, w których jeden elektron jest wzbudzany do orbitalu antywiążącego z zachowaniem multipletowości. Porównanie ścisłych oznaczeń teoriogrupowych orbitali (grupa symetrii C_{2y}) i przejść z oznaczeniami Kasha dla cząsteczki formaldehydu CH₂=O podaje [PLANSZA 37: przejścia **elektronowe w formaldehydzie**]. Oba przejścia w formaldehydzie, $\pi^* \leftarrow \pi$ z maksimum 185 nm i $\pi^* \leftarrow$ n z maksimum 295 nm, są także obserwowane w innych aldehydach i ketonach.

Cząsteczka może zawierać kilka izolowanych chromoforów i jej widmo jest nałożeniem widm poszczególnych chromoforów. Jeśli ruch elektronowy w sąsiadujących chromoforach jest sprzężony, upada założenie chromoforów niezależnych i powstaje jeden nowy chromofor, np. kilku skondensowanych pierścieni benzenowych w naftalenie, antracenie, fenantrenie. **Benzen** jest chromoforem, ważnym także z punktu widzenia interpretacji widm innych cząsteczek aromatycznych, w którym sześć orbitali $2p_z$ prostopadłych do płaszczyzny xy pierścienia i wyłączonych z hybrydyzacji sp², tworzy w wyniku 6 orbitali molekularnych typu π i π^* , z których 3 są obsadzone sześcioma elektronami (poziom podstawowy ${}^{1}A_{1g}$; [PLANSZA 5]). Trzy przejścia $\pi^* \leftarrow \pi$ [PLANSZA 38 pasma absorpcyjne benzenu w nadfiolecie] można oznaczyć ściśle według teorii reprezentacji grupy D_{6h} lub "zwyczajowo":

 $\begin{array}{ll} \lambda_{max} = 185 \text{ nm}; & \text{pasmo } \beta \text{ lub } ^1\text{B} & ^1\text{E}_{1u} \leftarrow {}^1\text{A}_{1g} \\ \lambda_{max} = 200 \text{ nm} & \text{pasmo } p \text{ lub } {}^1\text{L}_a & ^1\text{B}_{1u} \leftarrow {}^1\text{A}_{1g} \\ \lambda_{max} = 250 \text{ nm} & \text{pasmo } \alpha \text{ lub } {}^1\text{L}_b & ^1\text{B}_{2u} \leftarrow {}^1\text{A}_{1g} \end{array}$

Kondensacja pierścieni benzenowych daje w wyniku przesunięcie batochromowe (niejednakowe) poszczególnych pasm wskutek wzrostu rozmiarów zdelokalizowanego układu π -elektronowego. Układ ten można rozpatrywać jako płaską, kolistą, kwantową studnię potencjału w prostym modelu FEMO (*free electron molecular orbital*), który daje bliskie energie przejść absorpcyjnych {Zadanie 20}.

Rozpatrując absorpcję elektronowo-oscylacyjno-rotacyjną warto pamiętać o szeregu efektów, które mogą rzutować na analizę widm.

(A) Symeria cząsteczki w elektronowym stanie wzbudzonym może być inna niż w stanie podstawowym:

- etan C₂H₄ wzbudzony w zakresie 170 – 250 nm <u>nie j</u>est płaski;

- cjanowodór HCN wzbudzony w zakresie 170 – 200 nm nie jest liniowy;

- amoniak po wzbudzeniu 160 nm tworzy strukturę płaską.

(B) Silne oddziaływania międzycząsteczkowe mogą prowadzić do pojawienia się nowych pasm absorpcji, np. typu przeniesienia ładunku (*charge transfer*, CT). W układzie dwóch składników X i Y, jeśli X ma potencjał jonizacji znacznie niższy niż Y to może utworzyć się kompleks elektronowo-donorowo-akceptorowy (EDA) X^+Y^- . Dodatkowe pasmo CT kompleksu X^+Y^- , nieustrukturowane i przesunięte batochromowo w stosunku do pasm absorpcyjnych składników X i Y, można zaobserwować np. w układzie heksametylobenzen (donor)/jod (akceptor) w CCl₄.

(C) Pojawienie się pasm wzbronionych ze względu na symetrię, dozwolonych poprzez oddziaływanie *wibronowe*^{*}. Przykładem jest pasmo benzenu $\pi^* \leftarrow \pi$ przy $\lambda = 250$ nm, które w ścisłym ujęciu teorii reprezentacji grupy symetrii D_{6h} można sklasyfikować jako ${}^{1}B_{2u} \leftarrow {}^{1}A_{1g}$. Widać [PLANSZA 5], że żadna ze współrzędnych x, y, z, które transformują się jak składowe d_x , d_y i d_z , nie transformuje się zgodnie z reprezentacją B_{2u} . Przejście to jest dozwolone wibronowo, tzn. jeśli jednocześnie ze wzbudzeniem elektronowym nastąpi wzbudzenie drgania o określonej symetrii, czyli zajdzie sprzężenie wibronowe stanów elektronowych przez drganie normalne. W przypadku przejścia $\lambda = 250$ nm w benzenie jest to drganie e2g. Przejście wzbronione, dozwolone wibronowo, odbywa się jak gdyby kosztem innego pasma, całkowicie dozwolonego (${}^{1}E_{1u} \leftarrow {}^{1}A_{1g}$), przy spełnionym warunku, iloczyn kroneckerowski reprezentacji E_{1u}⊗B_{2u}⊗e_{2s} zawiera że reprezentacje pełnosymetryczną A_{1g}. Analiza struktury oscylacyjnej [PLANSZA 39: struktura oscylacyjna pasma α benzenu] przejścia absorpcyjnego $\lambda = 250$ nm w benzenie jest wykonywana na ćwiczeniach {Zadanie 21}.

* Wibronowe stany elektronowo-oscylacyjne $\Phi^{e}(\mathbf{r}; \mathbf{R}_{0})\phi_{v}(\mathbf{Q})$ mają symetrię iloczynu prostego reprezentacji $\Gamma^{e}\otimes\Gamma^{v}$ (\mathbf{r}, \mathbf{Q} - oznaczenie współrzędnych elektronowych i normalnych, $\mathbf{r} = \mathbf{R}_{0}$ dla $\mathbf{Q} = 0$). Hamiltonian elektronowy $\mathbf{H}_{el} = \mathbf{H}^{0}_{el} + \sum_{i}(\partial \mathbf{H}_{el}/\partial \mathbf{Q}_{i})_{0}\mathbf{Q}_{i} + ...$ zawiera zaburzenie, które miesza funkcje elektronowe $|e\rangle i |s.\rangle$ ze stałą sprzężenia wibronowego stanów elektronowych przez i-te drganie normalne $\mathbf{h}^{i}_{es} = \langle e|\partial \mathbf{H}_{el}/\partial \mathbf{Q}_{i}|s\rangle$. Zgodnie z rachunkiem zaburzeń $|e'\rangle = |e'_{0}\rangle + c_{e}\Sigma_{e}|e_{0}\rangle$. Dipolowy moment dla przejścia $e' \leftarrow e''$ wynosi $\langle e'|\mathbf{d}|e''\rangle = \langle e'_{0}|\mathbf{d}|e''_{0}\rangle + \sum_{e}c^{*}e_{e}\langle e_{0}|\mathbf{d}|e''_{0}\rangle$, gdzie $c_{e} = \sum_{i}\mathbf{Q}_{i}(\mathbf{E}^{0}_{e'} - \mathbf{E}^{0}_{e})^{-1}\langle e_{0}|\partial \mathbf{H}_{el}/\partial \mathbf{Q}_{i}|e'_{0}\rangle$. Jeśli istnieje dozwolone przejście $\mathbf{e} \leftarrow \mathbf{e}''$ to wzbronione przejście $\mathbf{e}' \leftarrow \mathbf{e}''$ jest dozwolone wibronowo jeśli $c_{e} \neq 0$, czyli jeśli iloczyn prosty $\Gamma^{e}\otimes\Gamma^{i}\otimes\Gamma^{e'}$ zawiera reprezentację pełnosymetryczną ($\partial \mathbf{H}_{el}/\partial \mathbf{Q}_{i}$, transformuje się jak \mathbf{Q}_{i}).

WYKŁAD 8

Energia uzyskana przez cząsteczki wieloatomowe w procesie absorpcji w zakresie UV-VIS z podstawowego stanu elektronowego, zwykle ale nie zawsze singletowego S_0^0 , do n-tego wzbudzonego stanu elektronowego [PLANSZA 12] ze wzbudzeniem v' kwantów oscylacji S_n^{v'} [PLANSZA 40 dezaktywacja stanów wzbudzonych czasteczki] jest oddawana przez cząsteczkę w procesie dezaktywacji. Najczęściej, bezpromieniste procesy konwersji wewnętrznej (IC, internal conversion) i termicznej relaksacji (TR, termal relaxation) lub tylko termicznej relaksacji (przy wzbudzeniu do pierwszego, najbliżej położonego poziomu elektronowego w stosunku do poziomu podstawowego) przeprowadzają cząsteczki wzbudzone do pierwszego, najniższego elektronowego poziomu wzbudzonego z zerowymi oscylacjami S_1^0 . Konwersja wewnętrzna polega na przejściu cząsteczki ze stanu $S_n^{v_i}$ do niżej położonego stanu elektronowego $S_m^{v_i}$ ($E_n > E_m$; $v'_i < v'_i$) jeśli energia wibronowa (oscylacyjno-rotacyjna) przypada w obszarze przecięcia hiperpowierzchni obu stanów elektronowych S_n i S_m. Termiczna relaksacja jest dyssypacja energii wzbudzenia na oscylacyjne, rotacyjne i translacyjne stopnie swobody układu molekularnego, m. in. w wyniku zderzeń międzycząsteczkowych. Procesy IC i TR zachodzą kaskadowo w czasie $\sim 10^{-14} \div 10^{-11}$ s. Ze stanu S₁⁰ mogą zachodzić trzy konkurujące procesy z szybkościami scharakteryzowanymi przez czasy ~ 10^{-5} - 10^{-9} s:

- (1) $S_1^0 \rightarrow S_0^{v''} + hv$ FLUORESCENCJA; emisja spontaniczna kwantu hv (dezaktywacja promienista) z przejściem cząsteczki na wzbudzone oscylacyjne poziomy elektronowego stanu podstawowego (v'');
- (2) $S_1^0 \rightarrow S_0^0$ bezpromienista dezaktywacja do stanu podstawowego w procesach IC i TR;
- (3) $S_1^0 \rightarrow T_n^{v'}$ przejście interkombinacyjne (ISC, intersystem crossing) do stanów trypletowych; proces analogiczny do IC ale z udziałem stanu singletowego i trypletowego

Po zajściu procesu ISC, konwersja wewnętrzna i termiczna relaksacja przeprowadzają cząsteczkę do najniżej położonego elektronowego stanu trypletowego T_1^0 z zerowym drganiami, skąd mogą zajść dwa konkurujące procesy w skali czasowej ~10⁻³ - 10 s:

(1) $T_1^0 \rightarrow S_0^{v''} + hv$ FOSFORESCENCJA; emisja spontaniczna kwantu hv (dezaktywacja promienista) z przejściem cząsteczki na wzbudzone oscylacyjne poziomy elektronowego stanu podstawowego (v'');

(2) $T_1^0 \rightarrow S_0^0$ bezpromienista dezaktywacja w procesach IC i TR.

Dodatkowo, na każdym etapie wzbudzona cząsteczka (donor D) może przekazać energię wzbudzenia na inną cząsteczkę lub inny fragment tej samej, dużej cząsteczki (akceptor A) poprzez **wygaszanie zderzeniowe**:

 $D^*(S_n^{v'}) + A \rightarrow D(S_0^0) + A^*$

Lub może zajść reakcja fotochemiczna do produktu lub kilku produktów:

 $D(S_n^{v'}) \rightarrow P_1 + P_2 + \dots$

Zależnie od cząsteczki i warunków środowiska dominuje jeden z mechanizmów, tzn. można zaobserwować fluorescencję w roztworze dla wielu związków, np. benzen, fluoresceina, tryptofan i tyrozyna, ale inne związki nie fluoryzują.

W wyjątkowych wypadkach fluorescencja może powstawać w wyniku promienistej dezaktywacji stanu innego niż S_1^0 . Na przykład w cząsteczce azulenu (skondensowane dwa pierścienie aromatyczne: siedmioczłonowy i pięcioczłonowy) fluorescencję obserwuje się w wyniku dezaktywacji stanu S_2^0 . Przejścia fluorescencyjne zachodzą zgodnie z regułą Francka-Condona [PLANSZA 34] na kolejne poziomy oscylacyjne stanu S_0 , a intensywności poszczególnych linii struktury oscylacyjnej są określone przez całki nakrywania oscylacyjnych funkcji falowych $\int \phi_{v} \cdot \ast \phi_{v} \cdot dQ$, gdzie Q jest współrzędna normalną drgania. Stąd wynika reguła Stokesa: pasmo fluorescencji jest przesunięte w kierunku dłuższych fal w porównaniu z pasmem absorpcji dla przejścia między tymi samymi poziomami elektronowymi $S_0 \leftrightarrow S_1$ [PLANSZA 41: porównanie widm absorpcji i fluorescencji]. Układ linii oscylacyjnych fluorescencji odzwierciedla układ poziomów oscylacyjnych elektronowego stanu podstawowego a układ linii oscylacyjnych absorpcji analogiczny układ, <u>ale</u> poziomów oscylacyjnych <u>wzbudzonego</u> stanu elektronowego {Zadanie 22}. Wspólną linią dla absorpcji i fluorescencji jest przejście 0↔0 między zerowymi poziomami oscylacyjnymi obu stanów elektronowych. W niektórych przypadkach udaje się wzbudzić linię absorpcyjną z niskopołożonego wzbudzonego stanu oscylacyjnego v =1 a fluorescencja zachodzi do stanu v = 0. Wtedy linia fluorescencyjna $0 \leftrightarrow 0$ może leżeć przy krótszych długościach niż linia $0 \leftarrow 1$ absorpcji: **fluorescencja antystokesowska**. Wspólna linia $0 \leftrightarrow 0$ nie musi się pokrywać wskutek efektów solwatacyjnych {Zadanie 22}.

Wkład do emisji daje tylko cząsteczka, która zaabsorbowała kwant promieniowania. Konkurencja innych procesów zachodzących w stanie wzbudzonym powoduje, że ilość kwantów emitowanych jest mniejsza od ilości kwantów zaabsorbowanych. Definiuje się wydajność kwantową fluorescencji [PLANSZA 42: parametry widmowe fotoluminescencji] jako ilość kwantów wyemitowanych do ilości kwantów zaabsorbowanych w jednostce czasu:

 $\Phi_{\rm F} = I_{\rm E}/I_{\rm A}$ I_E - natężenie emisji, I_A - natężenie absorpcji w [einstein · s⁻¹]

1 einstein oznacza liczbę Avogadro N_A kwantów. Korzystając z tej definicji można wyprowadzić {**Zadania 23**} **prawo Lamberta-Beera dla emisji** roztworu zawierającego substancję fluoryzującą o stężeniu molowym c_i, która absorbuje na drodze optycznej o długosci l:

 $I_E = 0.1 \ln 10 \Phi_F I_0 \epsilon(v) c_i l$

Błąd wynikający z zachowania jedynie dwu pierwszych wyrazów rozwinięcia funkcji exp przy wyprowadzeniu daje <u>odstępstwa od liniowości</u> natężenia emisji w funkcji stężenia czyli **efekt filtru** (wewnętrznego).

Widmo fluorescencji $I_E(v)$ rejestruje się w takiej geometrii układu optycznego [PLANSZA 16], który zapewnia rozdzielenie wiązki emisji od wiązki wzbudzającej, np. pod kątem prostym (ale są także inne geometrie). Wzbudzenie zachodzi w jednej długości fali z obszaru absorpcji [PLANSZA 41], a intensywność emisji rejestruje się w funkcji częstości v lub długości fali λ promieniowania emitowanego. Rejestrując całkowitą emisję w funkcji częstości promieniowania wzbudzającego przy stałym natężeniu wzbudzenia I₀ otrzymuje się (prawo Lamberta-Beera dla emisji) widmo wzbudzenia I'_E(v):

 $I'_{E}(v) = \varepsilon(v)\Phi_{F}$ v - częstość promieniowania wzbudzającego

Jeśli wydajność kwantowa Φ_F nie zależy od częstości wzbudzenia, widmo wzbudzenia pokrywa się z widmem absorpcji. Jeśli wydajność fluorescencji zmienia się z częstością wzbudzenia pojawiają się różnice między obu rodzajami widm. <u>Przy rejestracji widm</u> <u>fluorescencji w roztworze obserwuje się linie ramanowskie rozpraszających cząsteczek</u> <u>rozpuszczalnika</u> (!).

Dezaktywacja promienista (zanik fluorescencji) stanu wzbudzonego przy przypadku wzbudzeniu impulsem światła W najprostszym postać ma monoeksponencjalną braku konkurencyjnych procesów dezaktywacji przy bezpromienistej, [PLANSZA 42]:

 $d[S_1]/dt = -k_F[S_1]$ $[S_1] = [S_1]^0 exp(-k_F t)$ $[S_1] = [S_1]^0 exp(-k_F t)$

 $I_E \thicksim d[S_1]/dt \quad \ I_E = [I_E]^0 exp(-k_F t)$

$1/k_F = \tau_r$ radiacyjny czas życia stanu wzbudzonego

Otrzymano szereg wzorów wiążących radiacyjny czas życia z widmem absorpcji lub widmem emisji. Bardziej "wyrafinowany" (zgodny z wynikami doświadczalnymi) wzór Birksa-Dysona (*C.A.Parker Photoluminescence of Solutions*) wyraża odwrotność radiacyjnego czasu życia przez całki po paśmie fluorescencji $F(\bar{v})$ oraz absorpcji $\varepsilon(\bar{v})$ w funkcji odwrotności długości fali \bar{v} w μm^{-1} :

$$1/\tau_r = 2880(S_g/S_e)({n_F}^3/n_A) \frac{\int F(\overline{\nu})d\overline{\nu}}{\int F(\overline{\nu})\overline{\nu}^{-3}d\overline{\nu}} \int \frac{\epsilon(\overline{\nu})d\overline{\nu}}{\overline{\nu}}$$

gdzie S oznacza multipletowość poziomu podstawowego (g) i wzbudzonego (e), a n średni współczynnik załamania solwentu w zakresie pasma fluorescencji (F) i absorpcji (A).

W obecności konkurencyjnych procesów dezaktywacji do stanu podstawowego ze stałymi szybkości: konwersji wewnętrznej k_{IC} , przejścia intersystemowego k_{ISC} i wygaszania zderzeniowego k_q w obecności akceptora o stężeniu [A] czas zaniku stanu wzbudzonego wyraża się jako:

 $1/\tau = k_F + k_{IC} + k_{ISC} + k_q[A]$

Przy ciągłym wzbudzaniu IA:

 $d[S_1]/dt = I_A - (k_F + k_{IC} + k_{ISC} + k_q[A])[S_1]$

i przy równowadze absorpcji i emisji $d[S_1]/dt = 0$, korzystając z definicji wydajności kwantowej, otrzymujemy:

$$\Phi_{\rm F} = k_{\rm F}/(k_{\rm F} + k_{\rm IC} + k_{\rm ISC} + k_{\rm q}[{\rm A}])$$

$$\tau = \tau_r \Phi_F$$

W warunkach braku akceptora [A] = 0 można wprowadzić wydajność kwantowa Φ_F^0 oraz czas życia τ_0 i uzyskać liniową zależność Sterna-Volmera na dynamiczne wygaszanie fluorescencji w funkcji stężenia wygaszacza A:

 $\Phi_F^{0/}\Phi_F = I_E^{0/}I_E = 1 + K_{SV}[A]$ stała Sterna-Volmera $K_{SV} = k_q \tau_0$

 k_q - dwucząsteczkowa stała wygaszania określająca wydajność wygaszania, inaczej wzajemną "dostępność" fluoroforu i wygaszacza lub częstość "zderzeń" (~10^{10} M^{-1} s^{-1}).

Przy wygaszaniu dynamicznym, stan wzbudzony ulega dezaktywacji i jego czas życia ulega skróceniu. W przypadku tworzenia się niefluoryzujących (ciemnych) kompleksów fluorofor S - wygaszacz A w stanie podstawowym zachodzi **wygaszanie statyczne**. Część cząsteczek substancji fluoryzującej jest usuwana z procesu wzbudzenia i otrzymuje się zależność podobną do Sterna-Volmera, ale bez skrócenia czasu życia stanu wzbudzonego:

 $S + A \Leftrightarrow AS$ stała asocjacji $K_{as} = [AS]/([A][S])$ $I_E^0/I_E = 1 + K_{as}[A]$

Gdy zachodzą oba procesy zależność Sterna-Volmera odbiega od liniowości.

Oddziaływanie spin - orbita* (so) umożliwia zachodzenie wzbronionych przejść singlet \leftrightarrow tryplet, zarówno promienistych jak i bezpromienistych. Sprzeżenie spin-orbita rośnie ze wzrostem liczby masowej jąder cząsteczki i powoduje mieszanie funkcji własnych stanów singletowych i trypletowych. Z analizy przejścia singlet \leftrightarrow tryplet przy użyciu rachunku zaburzeń (oddziaływanie so jako zaburzenie) można wykazać, że intensywność do tego przejścia jest jakby "zapożyczana" z dozwolonych przejść singlet \leftrightarrow singlet, podobnie jak w przypadku wzbronionych przejść absorpcyjnych, dozwolonych wibronowo. **Fosforescencja** zachodzi z poziomu T_1^0 na kolejne poziomy oscylacyjne elektronowego stanu podstawowego S₀ zgodnie z reguła Francka-Condona. Pasmo fosforescencji jest więc jeszcze bardziej przesunięte w stronę fal długich w stosunku do pasma absorpcji niż pasmo fluorescencji. Trypletowy charakter stanu cząsteczki fosforyzującej udowodniono na podstawie jej paramagnetyczności w zamrożonym szkliwie np. metoda EPR oraz przez wykazanie możliwości znaczącego, 30% obsadzania stanów T₁ w antracenie po inwersji obsadzeń do poziomu S₁ błyskiem laserowym i po procesie ISC. W konsekwencji, możliwe było zarejestrowanie przejścia absorpcyjnych T_n \leftarrow T₁ przy jednoczesnym spadku absorpcji singlet - singlet. Długo żyjące cząsteczki w stanie trypletowym mogą łatwo utracić energię w wyniku przejść bezpromienistych, np. wskutek zderzeń z cząsteczkami o niesparowanych elektronach (cząsteczki tlenu) i dlatego

* Hamiltonian *oddziaływania spin-orbita* $\mathbf{H}_{so} = \sum_{j=1}^{n} \sum_{\alpha=1}^{N} Cr_{j\alpha}^{-1} \frac{dV}{dr_{j\alpha}} \mathbf{l}_{js}$ (założenie sferycznej symetrii potencjału jądrowego V); C - stała.; $r_{j\alpha}$ - odległość elektronu j od jądra α ; \mathbf{l}_{j} , \mathbf{s}_{j} - momenty spinowy i orbitalny elektronu. Funkcja falowa stanu T₁ w pierwszym rzędzie rachunku zaburzeń: ${}^{3}\Psi_{1} = {}^{3}\Theta_{1}^{0} + \sum_{i} [\frac{\langle {}^{1}\Theta_{i}^{0} | \mathbf{H}_{so} | {}^{3}\Theta_{1}^{0} \rangle}{|{}^{3}E_{1}^{0} - {}^{1}E_{i}^{0} |}]^{1}\Theta_{i}^{0}$ Funkcja falowa stanu S₀ w pierwszym rzędzie rachunku zaburzeń ${}^{1}\Psi_{0} = {}^{1}\Theta_{0}^{0} + \sum_{i} [\frac{\langle {}^{1}\Theta_{0}^{0} | \mathbf{H}_{so} | {}^{3}\Theta_{i}^{0} \rangle}{|{}^{1}E_{1}^{0} - {}^{3}E_{i}^{0} |}]^{3}\Theta_{i}^{0}$ gdzie Θ_{i}° , E_{i}° funkcje i energie niezaburzone. Przy założeniu braku zaburzenia stanu S₀ i silnego mieszania tylko jednego stanu singletowego S_p ze stanem T₁ elektryczny moment dipolowy przejścia singlet-tryplet:

$$<^{1}\Psi_{0}|\boldsymbol{d}|^{3}\Psi_{1}>\approx [\frac{<^{1}\Theta_{p}^{0}\mid\boldsymbol{H}_{so}\mid^{3}\Theta_{1}^{0}>}{\mid^{3}E_{1}^{0}-^{1}E_{p}^{0}\mid}]<^{1}\Theta_{p}^{0}\mid\boldsymbol{d}|^{1}\Theta_{0}^{0}>$$

fosforescencja w układach ciekłych w temperaturze pokojowej jest rzadko obserwowana (np. biacetyl CH₃–C(=O)–C(=O)–CH₃). W ośrodkach <u>sztywnych</u> o <u>obniżonej temperaturze</u> dezaktywacja bezpromienista zachodzi znacznie wolnej i w tych warunkach liczne substancje wykazują fosforescencję. Prawdopodobieństwo zachodzenia przejścia intersystemowego określa się przez wydajność procesu Φ_{ISC} , równą stosunkowi ilości cząsteczek, które przeszły w stan T₁ do ilości cząsteczek które zaabsorbowały promieniowanie w przejściu S₁ \leftarrow S₀:

 $\Phi_{\rm ISC} = k_{\rm ISC} / (k_{\rm F} + k_{\rm IC} + k_{\rm ISC} + k_{\rm q}[{\rm A}])$

Kinetyka fosforescencji jest opisana analogicznymi równaniami jak dla fluorescencji. Wydajność kwantowa fosforescencji Φ_P to stosunek ilości kwantów wyemitowanych do ilości kwantów zaabsorbowanych w przejściu singlet \leftrightarrow singlet i z równań kinetycznych można otrzymać:

 $\Phi_P = k_P \Phi_{ISC} / (k_P + k'_{IC} + k_a + k_q [A])$

k_P - szybkość dezaktywacji stanu T₁; k_P = $1/\tau$ 'r, τ 'r - radiacyjny czas życia T₁

 k_a - szybkość termicznej aktywacji stanu T_1 do stanu singletowego S_1 (proces odwrotny do ISC)

k'_{IC} szybkość bezpromienistej dezaktywacji stanu T₁

Czas życia stanu trypletowego:

 $1/\tau \textbf{'} = k_p + k \textbf{'}_{IC} + k_a + k_q[A]$

$$\Phi_{\rm P}/\Phi_{\rm ISC} = \tau'/\tau_r'$$

Oddziaływania cząsteczek wzbudzonych $D^*(S_1)$ i $D^*(T_1)$ z innymi cząsteczkami mogą prowadzić do wzbudzeń **fotoluminescencji sensybilizowanej** (*sensitised*):

$$D^*(S_n) + A(S_0) \rightarrow D(S_0) + A^*(S_1) \rightarrow A(S_0) + h\nu_F$$

$$D^*(T_n) + A(S_0) \rightarrow D(S_0) + A^*(T_1) \rightarrow A(S_o) + h\nu_P$$

Proces termicznej (wtórnej) aktywacji ze stanu T_1 do S_1 może wywołać z kolei wtórną fluorescencję $S_1 \rightarrow S_0$ tzw. **fluorescencja opóźniona typu E** (*delayed fluorescence type E*). Fluorescencja wtórna innego **typu P** może być generowana w wyniku anihilacji stanu trypletowego:

 $T_1+T_1 \rightarrow S_1+S_0$

Widma fluorescencji opóźnionej są takie same jak zwykłej, ale czas zaniku jest tak długi jak dla fosforescencji, a wydajność kwantowa Φ_F silnie zależy od temperatury.

W wyniku zderzeń molekuły w stanie elektronowym podstawowym i w stanie elektronowym wzbudzonym mogą utworzyć się stabilne asocjaty wzbudzone, **ekscypleksy**; przy stechiometrii 1:1 noszą również nazwę **ekscymery** (wzbudzone dimery). Ekscypleksy mogą fluoryzować dając szerokie, nieustrukturowane pasmo przesunięte batochromowo w stosunku do pasm monomeruów, ale **nie mają pasma absorpcji**. Przykładami może być zmiana barwy fluorescencji pirenu (cztery skondensowane pierścienie benzenowe Φ w układzie "dwoch naftalenów") w alkoholu z niebiesko-fioletowej na niebiesko-zieloną przy wzroście stężenia lub fluorescencja heteroekscymeru w mieszaninie perylenu (5 symetrycznie skondensowanych pierścieni benzenowych Φ) z N,N-dimetyloanilina (CH₃)₂–N– Φ .

Widma CT są przykładem tzw. fluorescencji dualnej (*dual fluorescence*), gdy emisja zachodzi z dwóch różnych poziomów wzbudzonych jednej cząsteczki

WYKŁAD 9

Procesy **transferu energii wzbudzenia elektronowego** i "towarzyszącej" energii oscylacyjnej:

(a) wygaszanie dynamiczne,

(b) fotoluminescencja sensybilizowana,

(c) fluorescencja opóźniona typu P,

mają charakter **bezpromienisty**, tzn. <u>nie</u> polegają na emisji i reabsorpcji kwantu promieniowania, i **rezonansowy**, polegający na dopasowaniu energii wibronowej wzbudzenia obu cząsteczek. Klasyczny mechanizm procesu **FRET** (*fluorescence resonance energy transfer*) jako rezonansowego sprzężenia dwóch dipoli elektrycznych podał Förster, a jej kwantowe rozszerzenie Dexter; **teoria Förstera – Dextera** [PLANSZA 43: rezonansowy transfer energii wzbudzenia FRET]. Ze złotej reguły Fermiego prawdopodobieństwo na jednostkę czasu dla transferu D* + A \rightarrow D + A*:

 $W_{D^* \to A} = (2\pi/h) |(\Psi_{D^*A} | \mathbf{H}_1 | \Psi_{DA^*})|^2 \rho = (2\pi/h) \beta^2 \rho$

 $H_1 = 1/r_{12}$ - oddziaływanie Coulomba elektronów donora D i akceptora A odległych o r_{12} w stanach opisanych przez funkcje falowe:

$$\Psi_{D^*A} = (1/\sqrt{2}) \{ \Psi_{D^*}(1)\Psi_A(2) - \Psi_{D^*}(2)\Psi_A(1) \}$$
$$\Psi_{DA^*} = (1/\sqrt{2}) \{ \Psi_D(1)\Psi_{A^*}(2) - \Psi_D(2)\Psi_{A^*}(1) \}$$

Całka rezonansowa β jest sumą dwóch członów: kulombowskiego β_{C} i wymiennego β_{EX} :

$$\begin{aligned} \beta_{\rm C} &= (\Psi_{\rm D*}(1)\Psi_{\rm A}(2)|1/r_{12}|\Psi_{\rm D}(1)\Psi_{\rm A*}(2))\\ \\ \beta_{\rm EX} &= -(\Psi_{\rm D*}(1)\Psi_{\rm A}(2)|1/r_{12}|\Psi_{\rm D}(2)\Psi_{\rm A*}(1)) \end{aligned}$$

Po rozwinięciu potencjał $1/r_{12}$ w szereg i wyliczeniu całek otrzymuje się szybkość (prawdopodobieństwo) transferu $k^{C}_{D^*\to A}$ dla mechanizmu kulombowskiego (C), który działa dla większych odległości r między donorem i akceptorem; s = 6 dla oddziaływania dipol-dipol. Kwantowy mechanizm wymienny (EX) działa dla krótszych odległości r ze stała szybkości transferu $k^{EX}_{D^*\to A}$.

$$k^{C}_{D^* \to A} = \frac{1}{\tau} (R_0/r)^6$$
$$k^{EX}_{D^* \to A} = \frac{1}{\tau} \exp[-\gamma(r - R_0)]$$

gdzie τ jest czasem życia poziomu wzbudzonego donora w nieobecności transferu;

R₀ jest tzw. odległością (krytyczną) Förstera, dla której prawdopodobieństwo transferu FRET jest równe prawdopodobieństwu spontanicznego zaniku wzbudzenia donora (wydajność transferu 0,5):

 $R_0{}^6 = (9000 ln 10 \kappa^2 \Phi_D) / (128 \pi^5 N_A n^4) \int F'_D(\lambda) \epsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda$

- współczynnik orientacji obu dipoli $\kappa^2 = (\sin\theta_D \sin\theta_A \cos\phi - 2\cos\theta_D \cos\theta_A)^2$, gdzie θ_D , θ_A to kąty między dipolami i wektorem łączącym donor z akceptorem, a ϕ jest kątem między płaszczyznami wyznaczanymi przez dipole i wektor łączący donor z akceptorem;

- Φ_D oznacza wydajność kwantową donora w nieobecności akceptora

- n jest współczynnikiem załamania roztworu

- λ jest długością fali w nm;

- NA jest liczbą Avogadro [mol⁻¹]

- $F'_D(\lambda)$ to <u>unormowana</u> intensywność fluorescencji donora (bez akceptora) $F_D(\lambda)$

- $\varepsilon_A(\lambda)$ to współczynnik ekstynkcji molowej akceptora [litr mol⁻¹ cm⁻¹]

Oznaczając J(λ)= ($\int F_D(\lambda) \varepsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda$)/($\int F_D(\lambda) d\lambda$) [litr mol⁻¹cm⁻¹nm⁴], po skróceniu [mol⁻¹] i po wyrażeniu wszystkich długości w [Å] otrzymuje się:

 $R_0 = 0.211 [\kappa^2 \ n^{-4} \Phi_D J(\lambda)]^{1/6} \ [\text{\AA}]$

Dla roztworów przyjmuje się $\kappa^2 \approx 2/3$ oraz n $\approx 1,4$. a wydajny przekaz zachodzi dla odległości r <u>nie przekraczających</u> ok. 10 nm. **Wydajność** E **transferu energii FRET** z donora D* na akceptor A definiuje się jako stosunek szybkości tego procesu $k_{D^*\to A}$ do całkowitej szybkości dezaktywacji $\tau^{-1} + k_{D^*\to A}$ stanu wzbudzonego donora:

$$E = \frac{k_{D^* \to A}}{\tau^{-1} + k_{D^* \to A}} = 1 - F_{DA}/F_D = 1 - \tau'/\tau$$

gdzie F_D i F_{DA} są intensywnościami fluorescencji donora, odpowiednio przy braku i w obecności akceptora. Analogicznie τ i τ ' są czasami życia (czasami zaniku fluorescencji) donora, odpowiednio przy braku i w obecności akceptora. FRET umożliwia **wyznaczenie** odległości między donorem i akceptorem ze stacjonarnych lub czasowo-rozdzielczych pomiarów fluorescencji, z reguły zakładając tylko mechanizm Förstera {Zadanie 24}.

W przypadkach udziału mechanizmu wymiennego: $\gamma \sim \int F_D(\nu) \varepsilon_A(\nu) d\nu$

Polaryzacja emisji. Światło fotoluminescencji cząsteczek w roztworze czyli przypadkowo zorientowanych w przestrzeni, niezależnie czy wzbudzane wiązką niespolaryzowana czy wiązka spolaryzowaną liniowo (wektor **E** wzdłuż osi z układu

laboratoryjnego), jest częściowo spolaryzowane, tzn. obok składowej I_E^{\parallel} równoległej do osi z uzyskuje składową prostopadłą I_E^{\perp} [PLANSZA 44: polaryzacja emisji]. Definiuje się stopień polaryzacji p uwarunkowany przez wzajemną <u>orientację dipoli elektrycznych</u> przejścia absorpcyjnego i emisyjnego cząsteczek i <u>polaryzację światła wzbudzającego</u>:

$$\mathbf{p} = (\mathbf{I}_{\mathrm{E}}^{\parallel} - \mathbf{I}_{\mathrm{E}}^{\perp}) / (\mathbf{I}_{\mathrm{E}}^{\parallel} + \mathbf{I}_{\mathrm{E}}^{\perp})$$

Dla **nierotujących cząsteczek**, <u>maksymalne</u> wartości stopnia polaryzacji wynoszą odpowiednio: p = 1/2, przy wzbudzeniu światłem spolaryzowanym liniowo, oraz p = 1/3, dla wzbudzenia światłem niespolaryzowanym. Jeśli w wyniku **rotacji cząsteczki** kierunki wektorów elektrycznych momentów dipolowych absorpcji i emisji nie pokrywają się, to p ulega zmianie, maksymalnie dla kąta 90 deg między obu momentami dipolowymi:

p = -1/3 dla wzbudzenia światłem spolaryzowanym liniowo

p = -1/7 dla wzbudzenia światłem niespolaryzowanym

W rozważaniach dynamiki molekuł częściej używa się parametru anizotropia emisji:

 $\mathbf{r} = (\mathbf{I}_{\mathbf{E}}^{\parallel} - \mathbf{I}_{\mathbf{E}}^{\perp}) / (\mathbf{I}_{\mathbf{E}}^{\parallel} + 2\mathbf{I}_{\mathbf{E}}^{\perp})$

Standardowe metody spektroskopii emisyjnej są oparte na dwóch rodzajach eksperymentów.

(A) EKSPERYMENTY STACJONARNE przeprowadzane są w warunkach równowagi wzbudzenia i emisji. Rejestrowane są położenia linii lub pasm emisyjnych i ich intensywności (widma fluorescencji i fosforescencji) oraz wydajności kwantowe, a przy zastosowaniu polaryzatorów wyznacza się stopień polaryzacji/anizotropię emisji. Stosując detekcję fluorescencji w eksperymentach zatrzymanego przepływu (*stopped- flow*) można śledzić kinetykę procesów (stałe szybkości) zachodzących w skali czasowej milisekund i dłuższej, takich jak reakcje chemiczne, enzymatyczne, tworzenie i rozpad kompleksów molekularnych, zmiany konformacyjne.

(B) EKSPERYMENTY CZASOWO-ROZDZIELCZE [PLANSZA 45: fotoluminescencja niestacjonarna] umożliwiają pomiar czasów życia stanów wzbudzonych 10^{-11} do 10^{-7} s (pikosekundowe i nanosekundowe). Wykorzystując pewne efekty kwantowe przy wytwarzaniu laserowych impulsów femtosekundowych (10^{-15} s) można próbkować procesy nawet w skali <u>atto</u>sekundowej (10^{-18} s) (*H. Niikura et al. Nature 421, 826, 2003*). W czasowo-rozdzielczych **technikach impulsowych** wzbudza się układ molekularny krótkim błyskiem światła lampy lub impulsem laserowym i rejestruje czasowy zanik świecenia g(t), który jest splotem impulsu h(t) i zaniku fluorescencji I_E(t):

62

$$g(t) = \int_{0}^{t} h(t') I_{E}(t-t') dt'$$

Znając czasową zależność impulsu można rozwikłać splot i wyznaczyć funkcję I_E , zwykle w postaci wieloeksponencjalnej:

$$I_{\rm E}(t) = \sum_{i} \alpha_i \exp(-t \, / \, \tau_i)$$

poprzez fitowanie do punktów doświadczalnych, a stąd określić wartości amplitud α_i i czasów życia τ_i . Czasowa zależność **anizotropii emisji** r wynika z braku pokrywania się elektrycznych momentów dipolowych absorpcji i emisji. Dla różnicy orientacji obu wektorów o kąt β wartość r określa **wzór Perrina** (<u>kilka</u> różnych wzorów funkcjonuje pod tą nazwą):

$$r = (2/5)(3/2\cos^2\beta - 1/2) \subseteq [0.4, -0.2]$$

Depolaryzację wywołuje obrót cząsteczki w stanie wzbudzonym. W ogólnym przypadku cząsteczki jako (sztywnej) elipsoidy z trzema osiami głównymi obrót prowadzi do eksponencjalnej zależności r(t) z pięcioma stałymi czasowymi ξ_i

$$r = \sum_{i=1}^{5} r_{oi} \exp(t / \xi_i)$$

które wyrażają się przez 3 czasy korelacji τ_{ci} rzędu nano- i pikosekund.

Innym sposobem wyznaczania czasowych przebiegów zaniku fluorescencji $I_E(t)$ i anizotropii r(t) <u>bez</u> stosowania impulsów wzbudzających jest wykorzystanie **wzbudzenia o modulowanej intensywności z częstością modulacji**:

 $\omega = 1/\tau$ τ - czas życia stanu wzbudzonego

Z powodu opóźnienia w czasie emisji względem absorpcji, emisja jest przesunięta fazowo o kąt ϕ_{ω} i ma modulowaną amplitudę m_{\u03c0}. Obie mierzone wielkości ϕ_{ω} i m_{\u03c0} zależą od czasu życia stanu wzbudzonego. Dla zaniku monoeksponencjalnego:

$$tg\phi_{\omega} = \omega\tau$$
$$m_{\omega} = (1 + \omega^{2}\tau^{2})^{1/2}$$

Dla zaniku wieloeksponencjalnego czasy życia otrzymuje się z fitowania ϕ_{ω} i m_{ω} w całym zakresie wartości ω . Podobnie, **anizotropię** r(ω) można wyznaczyć z ϕ_{ω} i m_{ω} w ustawieniu równoległym i prostopadłym w stosunku do kierunku polaryzacji liniowo spolaryzowanej, modulowanej wiązki wzbudzającej:

$$r(\omega) = (\Lambda_{\omega} - 1)/(\Lambda_{\omega} + 2)$$
 $\Lambda_{\omega} = m_{\omega}^{\parallel}/m_{\omega}^{\perp}$

(C) FLUORESCENCJA KORELACYJNA FCS (*Fluorescence Correlation* Spectroscopy) jest techniką badania dynamiki i asocjacji/dysocjacji molekuł poprzez rejestrację fluktuacji intensywności fluorescencji $I_E(t)$, które wynikają z dyfuzyjnych ruchów Browna fluoroforu w bardzo małej, mikrometrowej (~µm) objętości ogniskowania wiązki laserowej L. Poprzez wyznaczenie funkcji autokorelacji (ACF) sygnału $I_E(t)$ można, z jej zaniku ze stałą czasową 1/ τ , wyliczyć współczynnik dyfuzji translacyjnej:

 $D \thicksim L^2 / \tau$

który jest miarą dynamiki (i wielkości) fluktuujących cząsteczek i kompleksów molekularnych.

DICHROIZM KOŁOWY CD w zakresie UV-VIS można ująć w analogiczny sposób jak wibracyjny dichroizm kołowy VCD [PLANSZA 32]. Przypominam: w ośrodku dwójłomnym, optycznie czynnym (roztwór cząsteczek dyssymetrycznych), zachodzi skręcenie płaszczyzny polaryzacji światła spolaryzowanego liniowo. Składowe spolaryzowane kołowo w przeciwnych kierunkach poruszają się z różnymi prędkościami, a wynikająca stąd różnica predkości kątowych wektorów elektrycznych ER i EL daje skręcenie płaszczyzny polaryzacji o kąt $\alpha = [\alpha]_{\lambda}^{T} \iota c_{i}$. Skręcalność właściwa $[\alpha]_{\lambda}^{T}$ zależy od długości fali λ (dyspersja rotacyjna ORD, *optical rotatory dispersion*) i temperatury T; L jest długością drogi optycznej, a c_i stężeniem molowym. W obszarze pasm absorpcji $[\alpha]_{\lambda}^{T}$ zmienia się w sposób anomalny i występuje różnica absorpcji obu składowych spolaryzowanych kołowo: $\Delta \varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_R \sim 10^{-5} \varepsilon$ czyli dichroizm kołowy, mierzony w funkcji częstości v (lub długości fali λ) jako widmo dichroizmu kołowego CD (circular dichroism). Wielkością częściej mierzoną bezpośrednio niż różnica ekstynkcji AE jest eliptyczność molekularna [Θ]. Dla małych wartości eliptyczności φ i dla roztworów o stężeniu molowym ci spełniających prawo Lamberta-Beera zachodzi:

 $[\Theta] = \varphi/(100 \text{ c}_i \mathfrak{l}) = 3298\Delta\epsilon$

gdzie **kąt** φ jest bezpośrednią miarą **polaryzacji eliptycznej światła** po przejściu przez absorbujący ośrodek dwójłomny; tg φ jest równy stosunkowi osi elipsy polaryzacji. Zazwyczaj, ze względu na nakrywanie się kilku pasm absorpcji chromoforu (kilku chromoforów) cząsteczki, widmo CD ma dość skomplikowany przebieg, który charakteryzuje się określeniami dodatni ($\Delta \varepsilon > 0$) i ujemny ($\Delta \varepsilon < 0$) **efekt Cottona**, np. dla pochodnych uracylu [**PLANSZA 46**: widmo dichroizmu kolowego CD]. Wyznaczenie siły rotacyjnej R_{mn} pasma CD [PLANSZA 32] można wykonać w oparciu o dwie teorie na gruncie mechaniki kwantowej.

(A) Teoria Kuhna-Kirkwooda jest kwantowym rozszerzeniem klasycznej teorii, w której cząsteczkę opisuje się jako **układ sprzężonych oscylatorów**. Wkład do aktywności optycznej dają sprzężenia elektrycznych momentów przejść sąsiednich grup atomów (oscylatorów).

(b) W ujęciu **teorii jednoelektronowej** (Condon, Altor, Eyring) aktywność optyczna wynika z zaburzenia przejścia jednoelektronowego w **nieaktywnym optycznie** chromoforze przez asymetryczne pola atomów otaczających.

Szczególnie wiele wysiłków włożono w badanie CD i interpretację na gruncie teorii jednoelektronowej widm sztywnych, wielopierścieniowych sterydów z chromoforem C=O, co pozwoliło sformułować tzw. regułę oktantów. Reguła daje możliwość przewidzenia znaku efektu Cottona w zależności od struktury (konfiguracji) atomów otaczających chromofor. Sytuacja komplikuje się W przypadku zachodzenia równowag konformacyjnych, niemniej CD jest nieocenioną metoda analizv różnic konformacyjnych podobnych związków, a także przy śledzeniu zmian konformacji pod wpływem zmiany warunków (np. temperatura).

DICHROIZM LINIOWY LD (*Linear Dichroism*) polega na rejestracji różnicy współczynników absorpcji $\Delta \varepsilon = \varepsilon_{\parallel} - \varepsilon_{\perp}$ dla światła spolaryzowanego liniowo, odpowiednio równolegle i prostopadle, do osi przestrzennego ukierunkowania molekuł. Ukierunkowanie to uzyskuje się albo przez adsorpcję w warstwach błony (filmu) polimerowego albo przez przyłożenie silnego impulsu pola elektrycznego porządkującego ustawienie cząsteczek. Spektroskopia LD daje możliwość wyznaczenia m. in. polaryzacji pasm dla przejść elektronowych i szybkości reorientacji molekuł w roztworze.

We podanym poprzedni wzorze [<u>PLANSZA 14</u>] na prawdopodobieństwo zachodzenia rozpraszania Ramana [<u>PLANSZA 47</u>: rezonansowy efekt Ramana RR]:

 $I_{nm} = (\pi^2 / \epsilon_o^2) I_o(\nu_o \pm \nu_{nm})^4 \sum_{\rho\sigma} \langle n | \boldsymbol{\alpha}_{\rho\sigma} | m \rangle \langle \langle n | \boldsymbol{\alpha}_{\rho\sigma} | m \rangle \rangle^* \qquad \rho, \ \sigma = x, \ y, \ z$ można wyznaczyć elementy macierzowe tensora polaryzowalności przejścia w drugim rzędzie rachunku zaburzeń:

$$<\!\!n|\boldsymbol{\alpha}_{\rho\sigma}|m\!\!> = (1/\hbar)\sum_{k} \{\frac{ < k \mid d_{\rho} \mid m >}{\omega_{km} - \omega_{0} + \frac{1}{2}\Gamma_{k}} + \frac{ < k \mid d_{\sigma} \mid m >}{\omega_{km} + \omega_{0} + \frac{1}{2}\Gamma_{k}}\}$$

gdzie $\Gamma_k = 1/\tau_k$, a sumowanie odbywa się po wszystkich poziomach ponad podstawowych (elektronowo-oscylacyjno-rotacyjnych) o czasach życia τ_k . W zwykłym zjawisku Ramana ω_0 różni się zasadniczo od ω_{kn} i ω_{km} . Przy zastosowaniu <u>laserów strojonych</u> można osiągnąć warunek rezonansu $\omega_0 \approx \omega_{\rm km}$. czyli dopasowania częstości promieniowania rozpraszanego i absorpcji [PLANSZA 12]. Przy zbliżaniu się wartości obu częstości najpierw obserwuje się selektywny wzrost intensywności promieniowania rozproszonego wkm (preresonans Raman scattering), który w warunkach rezonansu (resonans Raman scattering) może osiągnąć czynnik kilka tysięcy (niewielka wartość mianownika w pierwszym ułamku we wzorze na $\langle n | \alpha_{\rho\sigma} | m \rangle$. **REZONANSOWY EFEKT RAMANA** (**RR**) jest niekiedy nazywany fluorescencją rezonansową i z fizycznego punktu widzenia jest <u>rozproszeniem</u> z czasem życia stanu pośredniego $\sim 10^{-15}$ s bez zachodzenia absorpcji. Wzrost intensywności dotyczy tylko drgań, które obejmują chromofor, szczególnie tych, które sprzyjają zmianom geometrii towarzyszącym wzbudzeniu elektronowemu. Na przykładowych widmach UMP (D.L Ziegler et al. Biopolymers 23, 2067, 1984), w zależności od długości fali wzbudzenia: 266 nm (pierwsze pasmo absorpcyjne UV) i 212.8 nm (drugie pasmo absorpcyjne UV) [PLANSZA 47], silnemu wzmocnieniu ulegają pasma C=O (1630 cm⁻¹ i 1680 cm⁻¹) oraz drgania pierścieniowe $(1232 \text{ cm}^{-1}).$

*Intensywność rozpraszania RR** można uzyskać zaniedbując poziomy rotacyjne (małe różnice energii) i drugi człon we wzorze na polaryzowalność przejścia ($\omega_{km} \approx \omega_0$) oraz rozwijając części elektronowe momentów dipolowych **d**_i^{el} (i = x, y, z) w szereg Tylora

* Rozwinięcie \mathbf{d}_{i}^{el} w szereg Tylora. $\langle g|\mathbf{d}_{i}^{el}|\mathbf{e}\rangle \equiv [\mathbf{d}_{i}^{el}]_{ge} = [\mathbf{d}_{i}^{el}]_{ge}^{\circ} + \sum_{s} \sum_{l} [\mathbf{d}_{i}^{el}]_{gs}^{\circ} (\mathbf{h}_{es}^{l}/\Delta \omega_{es}) \mathbf{Q}_{l} + ..., gdzie \mathbf{h}_{es}^{l} = \langle e|\partial \mathbf{H}/\partial \mathbf{Q}_{l}|s\rangle|_{\mathbf{Q}_{l}=0}; \quad \Delta \omega_{s} = \omega_{es} - \omega_{e}; \quad |g\rangle$ elektronowy stan podstawowy; $|e\rangle$ elektronowy stan wzbudzony dla rezonansu; $|s\rangle$ pozostałe elektronowe stany wzbudzone. *Intensywność rozpraszania rezonansowego Ramana*: I^{RR} = const x (A + B + C + D). Oznaczamy stany oscylacyjne subskryptami stanów elektronowych.

$$\label{eq:czion Francka-Condona} \begin{split} A = (1/\hbar) \sum_{\rho\sigma} [\mathbf{d}_{\boldsymbol{\rho}}^{\mathbf{el}}]^{\mathrm{o}}_{ge} \ [\mathbf{d}_{\boldsymbol{\sigma}}^{\mathbf{el}}]^{\mathrm{o}}_{eg} \ \sum_{k} \frac{< n_{g} \mid k_{e} > < k_{e} \mid m_{g} > }{\omega_{ek,gm} - \omega_{0} + \frac{1}{2}\Gamma_{ek}} \end{split}$$

$$\begin{aligned} \text{Człon Herzberga-Tellera:} \quad & \text{B}=(1/\hbar)\sum_{\rho\sigma}\{\sum_{s\neq e}[\mathbf{d}_{\rho}^{\mathbf{el}}]^{\circ}{}_{gs}[\mathbf{d}_{\sigma}^{\mathbf{el}}]^{\circ}{}_{eg}(h^{l}{}_{se}/\Delta\omega_{se})\sum_{k}\frac{<\text{n}{_{g}}\mid Q_{1}\mid k_{e}>< k_{e}\mid m_{g}>}{\omega_{ek,gm}-\omega_{0}+\frac{1}{2}\Gamma_{ek}} + \\ & +\sum_{s\neq e}[\mathbf{d}_{\rho}^{\mathbf{el}}]^{\circ}{}_{ge}[\mathbf{d}_{\sigma}^{\mathbf{el}}]^{\circ}{}_{sg}(h^{l}{}_{es}/\Delta\omega_{es})\sum_{k}\frac{<\text{n}{_{g}}\mid k_{e}>< k_{e}\mid Q_{1}\mid m_{g}>}{\omega_{ek,gm}-\omega_{0}+\frac{1}{2}\Gamma_{ek}} \end{aligned}$$

z ograniczeniem do pierwszego wyrazu rozwinięcia. Wzór przekształca się do sumy czterech składników, z których dwa najistotniejsze to człon Francka-Condona i człon Herzberga-Tellera. W zależności od:

 prawdopodobieństwa absorpcji elektronowej z poziomu podstawowego |g> na wzbudzony |e> odpowiadający rezonansowi;

- sprzężenia wibronowego stanów elektronowych przez oscylację ze stałą sprzężenia $h_{es}^{l} = \langle e|\partial \mathbf{H}/\partial Q_{l}|s \rangle|_{Ql=0}$ wzbudzonych stanów elektronowych |e> (rezonans) i |s> (inne stany wzbudzone) przez drganie normalne Q_{l} ;

- nakrywania oscylacyjnych funkcji falowych różnych stanów elektronowych;

<u>dominuje</u> bądź **człon Francka-Condona** i obserwuje się porównywalną intensywność tonu podstawowego i nadtonów (Δv dowolne) lub **człon Herzberga-Tellera** i obserwuje się dużą intensywność tonu podstawowego ($\Delta v = +1$). Ponadto, czynnik Boltzmanna **nie** decyduje już o intensywnościach i linie antystokesowskie mogą być <u>silniejsze</u> od stokesowskich.

Dla cząsteczek w fazie gazowej pasma oscylacyjne wzbudzane wąską częstością pokazują niewielką ilość linii struktury rotacyjnej (<u>nie omawiam szczegółów</u>) a mała zmiana częstości wzbudzającej (rezonans z innym poziomem rotacyjnym) może silnie zmienić tę strukturę.

WYKŁAD 10

Zjawisko MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO NMR (nuclear magnetic resonance), odkryte w materii skondensowanej w r. 1945 (nagroda Nobla z fizyki w 1952 r. dla F. Blocha Univ. Stanford USA i E.M. Purcella MIT) wykorzystuje magnetyczne własności jader atomowych o **niezerowym spinie I** \neq 0 i jest niezwykle szeroko stosowane [PLANSZA 48: zastosowania NMR] nie tylko jako technika spektroskopowa w fizyce, chemii, biofizyce molekularnej i biochemii, ale także w obrazowaniu klinicznym (MRI, magnetic resonance imaging) a nawet "egzotycznych" próbach konstrukcji komputerów kwantowych. Trzy dalsze nagrody Nobla: w 1991 r. z chemii za zastosowanie transformacji Fouriera w spektroskopii NMR i opracowanie podstaw teoretycznych technik dwuwymiarowych (R. Ernst z ETH, Zurich), w 2002 r. z chemii za opracowanie wielowymiarowych metod NMR do wyznaczania struktur przestrzennych białek (K. Wüthrich z ETH, Zurich), z fizjologii i medycyny za MRI (2003, P. Lauterbur z Univ. NY USA, i P. Mansfield z Univ. Nottingham UK). Zjawisko rezonansu jądrowgo wiąże się bezpośrednio z eksperymentem Sterna-Gerlacha [PLANSZA 49: eksperyment Sterna - Gerlacha (1921)], w którym wykazano przestrzenną kwantyzację momentów magnetycznych a następnie samo istnienie jądrowych momentów magnetycznych. Wartości momentów wyznaczano techniką rezonansową w wiązkach atomowych od 1938 r.

Zjawisko NMR w UJĘCIU KWANTOWYM [<u>PLANSZA 50</u>: teoretyczne podstawy NMR (ujęcie kwantowe)] izolowanego jądra o niezerowym spinie I i współczynniku żyromagnetycznym γ jest oparte na oddziaływaniu jego momentu magnetycznego $\mu = \gamma \hbar I$ (liczba spinowa I \neq 0) z dwoma polami magnetycznymi:

(1) Silnym, statycznym polem magnetycznym o indukcji $B_0 \sim 2 \div 22$ T [tesli] wzdłuż osi z, które różnicuje energie skwantowanych poziomów jąder [PLANSZA 51: rezonans magnetyczny jądra o spinie I = 1/2]. Wartości energii poziomów wynikają z rozwiązania części stacjonarnej równania Schrödingera z hamiltonianem $\mathbf{H} = -\mu \cdot \mathbf{B}_0 = -\gamma \hbar B_0 \mathbf{I}_z$.

 $E_m = -|\gamma|\hbar B_o m$ m = -I, -I + 1, ..., +I

a moduł we wzorze wynika z możliwych dodatnich i ujemnych wartości współczynnika γ.

(2) Wzbudzającym polem magnetycznym o indukcji $B_1 \sim mT$ [militesla], wirującym prostopadle do B_0 z częstością ω i dostarczanym (w jedynej już w chwili wersji NMR z

wykorzystaniem <u>transformacji Fouriera</u>) w postaci krótkiego (rzędu mikrosekund) impulsu prostokątnego {Zadanie 10}. Jeśli częstość pola B_1 jest dopasowana do różnicy energii dwóch sąsiadujących poziomów zachodzi zjawisko rezonansowego pochłonięcia energii pola B_1 z przejściem na wyższy poziom {Zadanie 25} i regułą wyboru $\Delta m = +1$:

 $E_{m-1} - E_m = \hbar \omega_0$ częstość rezonansowa $\omega_0 = |\gamma| B_0$ Zależne od czasu równania Schrödingera:

hamiltonian $\mathbf{H} = -\mathbf{\mu} \cdot \mathbf{B} = -\mathbf{\mu} \cdot (\mathbf{B}_0 + \mathbf{B}_1)$:

$$i\frac{\partial \Psi}{\partial t} = \{\omega_0 \mathbf{I}_{\mathbf{z}} + \omega_1 (\mathbf{I}_{\mathbf{x}} \cos \omega t + \mathbf{I}_{\mathbf{y}} \sin \omega t)\}\Psi \qquad \qquad \omega_1 = |\gamma| \mathbf{B}_1$$

rozwiązuje się dla ruchu momentu magnetycznego $\mu(t)$ w obecności pola statycznego B₀ oraz pola B₁ wirującego z częstością ω wokół osi z, czyli kierunku pola **B**₀, poprzez transformację do układu (x'y'z) wirującego z częstością ω . Uzyskuje się w ten sposób **funkcję falową**:

$$\Psi(t) = \exp(i\omega t \mathbf{I}_{z}) \exp(i\Omega t \mathbf{n} \cdot \mathbf{I}) \Psi(0)$$

$$\Omega = -\left(\frac{\gamma}{|\gamma|}\right) [(\omega_{0} - \omega)^{2} + \omega_{1}^{2}]^{1/2}$$

$$\mathbf{n} = (\sin\Theta, 0, \cos\Theta) \qquad tg\Theta = \omega_{1}/(\omega_{0} - \omega)$$

gdzie Ω jest częstością precesji momentu μ wokół pola efektywnego **B**_{ef} <u>w wirującym</u> <u>układzie współrzędnych</u>:

 $\mathbf{B}_{ef} = (\mathbf{B}_0 + \boldsymbol{\omega}/\boldsymbol{\gamma}) + \mathbf{B}_1$

Rozwiązanie umożliwia obliczenie **prawdopodobieństwa przejścia** między poziomami w postaci tzw. *formuły Majorana**. Dla spinów $I = \frac{1}{2}$:

 $P_{\frac{1}{2}-\frac{1}{2}} = \sin^2 \Theta \sin^2(\frac{1}{2}\Omega t) = \{\omega_1^2 / [(\omega_0 - \omega)^2 + \omega_1^2]\} \sin^2(\frac{1}{2}\Omega t)$

Moment μ <u>w nieobecności pola B₁</u> podlega precesji z częstością Larmora wokół pola statycznego **B**₀. [**PLANSZA 51**]. <u>Włączenie pola B₁</u> wirującego z częstością $\omega = -\omega i_z$ (<u>wektor</u> częstości w kierunku osi z; i_z - wektor jednostkowy) zmienia kierunek precesji, tak że zachodzi wokół pola **B**_{ef} z częstością Ω [**PLANSZA 50**]. Ruch μ nie ulega zmianie jak

^{*} Formulę Majorana uzyskuje się rozwijając $\Psi(t) = \sum_{m} a_m(t) |I, m\rangle$ oraz wyrażając prawdopodobieństwo przejścia $P_{n\leftarrow m} = |a_n(t)|^2 = |\langle I, n|\Psi(t)\rangle|^2 = |\langle I, n|\exp(i\Omega t \alpha \cdot I)|I, m\rangle|^2$, $\Psi(0) = a_m(0)|I, m\rangle$, przy warunku $|a_m(0)|^2 = 1$, $|a_n(0)^2| = 1$ n \neq m, a następnie przeprowadzając dekompozycję na kąty Eulera (α , β , γ): $\exp(i\Omega t \alpha \cdot I) = \exp(i\alpha I_z)\exp(i\beta I_y)\exp(i\gamma I_x)$ (*P.L. Corio Structure of High-Resolution NMR Spectra*)

długo częstość ω jest daleko od **warunku rezonansu**: $\omega \neq \omega_0 = |\gamma|B_0$ (B₁ << B₀). Przy częstości $\omega = \omega_0$ pole efektywne B_{ef} pokrywa się z polem B₁, tzn. w układzie wirującym <u>"znika" pole B₀ i µ precesuje wokół B₁ pod kątem prostym do B₀. Powrót na niższy(e) poziom(y) energetyczne zachodzi w procesach **RELAKSACJI**, w których jądro (już <u>nie</u> izolowane !) przekazuje energię <u>pozostałym jądrom</u> oraz otoczeniu molekularnemu układu jądrowego, tzw. **sieci**. <u>PLANSZA 51</u> prezentuje schematyczne podsumowanie prostego eksperymentu NMR dla jądra I = 1/2. Przy polach o stosowanych obecnie indukcjach B₀ od ok. 2 do 22 T częstości rezonansowe odpowiadają falom radiowym $\omega_0 \sim 10 \div 900$ MHz dla najczęściej wykorzystywanych typów jąder [PLANSZA 52: parametry jąder w spektroskopii NMR].</u>

Formalną odpowiedniość kwantowego opisu precesji momentu magnetycznego $\mu(t)$ i *rozwiązanie klasycznego równania ruchu** dla μ umożliwia zastosowanie prostszego, klasycznego opisu rezonansu <u>makroskopowego</u> układu jąder w próbce. Próbka wewnątrz nadprzewodzącego magnesu spektrometru NMR [PLANSZA 53: aparatura NMR] zawiera **makroskopową** ilość n jąder, które oddziałują z zewnętrznymi polami magnetycznymi, oraz ze sobą i z otaczającą jądra siecią molekularną w procesach relaksacji. W polu o indukcji B₀ (natężeniu H₀ = [1/(µµ₀)]B₀, µ₀ - przenikalność próżni, µ - przenikalność ośrodka) w próbce pojawia się **makroskopowa magnetyzacja** M = $\sum_{i} \mu_{j}$

czyli paramagnetyzm jądrowy [<u>PLANSZA 54</u>: makroskopowy układ jąder (ujęcie klasyczne)]. M jest generowana przez niewielkie różnice obsadzeń przez jądra skwantowanych poziomów m o różnych energiach, zgodnie z rozkładem Boltzmanna:

$$\frac{d\boldsymbol{\mu}}{dt} = \gamma \boldsymbol{\mu} \times \boldsymbol{B} = \gamma \boldsymbol{\mu} \times (\boldsymbol{B}_0 + \boldsymbol{B}_1)$$
$$\boldsymbol{\mu}(t) = \exp(-\frac{\gamma}{|\gamma|}\omega t\boldsymbol{\kappa})\exp(-\frac{\gamma}{|\gamma|}\Omega t\boldsymbol{n}')\boldsymbol{\mu}(0) \qquad \boldsymbol{\kappa} = \begin{bmatrix} 0 & -1 & 0\\ 1 & 0 & 0\\ 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \qquad \boldsymbol{n'} = \begin{bmatrix} 0 & -\cos\Theta & 0\\ \cos\Theta & 0 & -\sin\Theta\\ 0 & \sin\Theta & 0 \end{bmatrix}$$

jest równoważne rozwiązaniu kwantowemu. Wynika to z postaci równania operatorowego Heisenberga:

 $\frac{1}{i} \frac{d\mu}{dt} = [\mathbf{H}, \mu] = -\gamma [\mathbf{B} \cdot \mu, \mu]$ Po rozpisaniu równania dla składowej z-towej: $\frac{1}{i} \frac{d\mu_z}{dt} = -\gamma [\mathbf{B} \cdot \mu, \mu_z] = -\gamma \{ \mathbf{B}_x[\mu_x, \mu_z] + \mathbf{B}_y[\mu_y, \mu_z] \} = \frac{\gamma}{i} (\mu \ge \mathbf{B})_z, \text{ i podobnie dla składowych x i y uzyskuje}$ się: $\frac{d\mu}{dt} = \gamma \mu \ge \mathbf{B}$ a stąd wartość oczekiwana < $\mu(t)$ > spełnia równanie klasyczne.

^{*} Rozwiązanie klasycznego równania ruchu* na ruch momentu magnetycznego µ:

$$M = n\gamma\hbar \frac{\sum_{m=-I}^{I} mexp(\gamma m\hbar H_o/kT)}{\sum_{m=-I}^{I} exp(\gamma\hbar mH_o/kT)} = \chi H_0$$
$$\chi = \frac{n\gamma^2\hbar^2 I(I+1)}{3kT} \quad \text{podatność magnetyczna próbki}$$

Równania Blocha opisują ruch magnetyzacji **M** w zewnętrznym polem magnetycznym **B** oraz relaksację, czyli dyssypację energii wzbudzonego rezonansowo układu jąder, scharakteryzowaną przez dwa tzw. **czasy relaksacji:** czas relaksacji **podłużnej (spinowo-sieciowej)** T₁ i czas relaksacji **poprzecznej (spinowo-spinowej)** T₂:

$$\frac{d\mathbf{M}}{dt} = \gamma \mathbf{M} \times \mathbf{B} - \frac{\mathbf{M}_{x}\mathbf{i}_{x} + \mathbf{M}_{y}\mathbf{i}_{y}}{T_{2}} - \frac{(\mathbf{M}_{z} - \mathbf{M}_{0})\mathbf{i}_{z}}{T_{1}}$$

 $M_0 = \chi H_0$ równowagowa wartość M w polu statycznym

<u>Rozwiązanie równań Blocha</u> uzyskuje się przechodząc do układu współrzędnych wirującego z częstością ω , w którym spoczywa pole B₁. Dla **M**' = (M_x', M_y' M_z) zachodzi:

$$\begin{split} M_x' &= \frac{(\omega - \omega_0)\gamma B_1 T_2^2 M_0}{1 + [T_2(\omega - \omega_0)]^2} & \text{krzywa dyspersji} \\ M_y' &= -\frac{\gamma}{|\gamma|} \frac{\gamma B_1 T_2 M_0}{1 + [T_2(\omega - \omega_0)]^2} & \text{krzywa absorpcji Lorentza;} \\ \text{szerokość połówkowa sygnału:} & \Delta v_{1/2} = 1/(\pi T_2) \text{ [Hz]} \\ \text{po uwzględnieniu niejednorodności } \Delta B_0 \text{ pola } B_0 & \Delta v_{1/2}^* = 1/(\pi T_2^*) \end{split}$$

$$1/T_2^* = 1/T_2 + (1/2)\gamma\Delta B_0$$

$$M_{z} = \frac{1 + [(\omega - \omega_{0})T_{2}]^{2}M_{0}}{1 + [T_{2}(\omega - \omega_{0})]^{2}}$$

a w układzie laboratoryjnym:

$$M_{x} = M_{x}'\cos(\omega t) + -\frac{\gamma}{|\gamma|} M_{y}'\sin(\omega t)$$
$$M_{y} = -\frac{\gamma}{|\gamma|} M_{x}'\sin(\omega t) + M_{y}'\sin(\omega t)$$

Po przyłożeniu <u>mikro</u>sekundowego impulsu pola B₁ (rf; *radio* frequency) z częstością rezonansową ω_0 magnetyzacja obraca się o pewien kąt θ wokół B₁, np. dla czasu impulsu t_p = $\pi/(2\gamma B_1)$ kąt $\theta = \pi/2$ ($\gamma B_1 \sim 10^5$ Hz). Powstająca w ten sposób wirująca, prostopadła do **B**₀ składowa magnetyzacji M_{xy}=M_x**i**_x + M_y**i**_y [PLANSZA 55:

eksperyment 1D NMR] zanika wskutek procesów relaksacyjnych generując w cewce odbiorczej *sygnał rezonansowy FID** (*free induction decay*). Sygnał jest próbkowany cyfrowo co 1/(2SW) sekundy przez przetwornik ADC (*analog-to-digital converter*) i zapisywany w pamięci komputera. SW jest zakresem wzbudzanych częstości ~kiloherzów. **Dyskretna transformacja Fouriera sygnału FID** [PLANSZA 18] daje widmo NMR: intensywności sygnałów jąder danego typu w funkcji częstości. Przy <u>najprostszym</u>, monoeksponencjalnym sygnale FID transformata Fouriera jest krzywą Lorentza (<u>str. 27</u>)

W eksperymencie z **jednym impulsem** o określonej częstości rejestruje się widmo jąder jednego typu, np. ¹H NMR, ¹³C NMR, gdyż różnice częstości rezonansowych między jądrami są ~MHz i impuls wzbudza tylko **jeden typ jąder**. Częstości rezonansowe jąder <u>tego samego typu</u> w zakresie SW (kHz) wynikają z różnic **lokalnych pól** magnetycznych wokół jąder (**przesunięcie chemiczne**; definicja w dalszej części wykładu). Eksperymenty z **wieloma impulsami (wieloimpulsowe) o różnych częstościach rezonansowych, w tym widma wielowymiarowe** (<u>patrz</u> dalsza część wykładu), dostarczają zróżnicowane informacje o układach jądrowym cząsteczek oraz sprzężeniu jąder z siecią molekularną.

Warto zaznaczyć, że możliwy jest także <u>kwantowy opis makroskopowego</u> <u>układu N jąder</u> w cząsteczce o stężeniu *N* poprzez rozwiązanie równania Liouville'a–von Neumanna na macierz gęstości ρ układu jądrowego, który ulega ewolucji w czasie pod wpływem oddziaływań z impulsami wzbudzającymi pola B₁, polami zewnętrznymi (przesunięcie chemiczne), innymi jądrami (sprzężenia skalarne) i relaksacji (superoperator **R**) [PLANSZA 56: makroskopowy układ jąder (ujęcie kwantowe)]. Transformacja Fouriera tzw. obserwabli M_x(t) i M_y(t) (zbiorczo oznaczana M_{xy}(t)) daje widmo dla dowolnego eksperymentu NMR. Rozwiązanie równania Liouville'a–von Neumanna pozwala symulować widma dowolnego eksperymentu NMR i porównywać z widmami doświadczalnymi, np. program komputerowy SPHINX dla szerokiej klasy eksperymentów

Daje to rozróżnienie częstości "na prawo" (+ Ω) od częstości "na lewo" (- Ω) od częstości odniesienia ω_{rf} . Bez uwzględnienia relaksacji (dla uproszczenia) sygnał rezonansowy po transformacji Fouriera:

 $I(\omega) = \int Mexp(i\Omega t)exp(-\omega it)dt = M \int exp[i(\Omega - \omega)t]dt = \delta(\Omega - \omega), \text{ gdzie } \delta \text{ oznacza delte Diraca.}$

Czyli sygnał jest położony przy $\omega = +\Omega = dla + |\omega - \omega_{rf}|$ (brak sygnału $-\Omega$).

Przy detekcji <u>mono</u>fazowej nie ma rozróżnienia między $\pm \Omega$ ze względu na parzystość funkcji cosinus.

^{*} *Sygnal rezonansowy FID* podlega detekcji fazowej za pomocą dwóch detektorów przesuniętych w fazie o $\pi/2$, względem sygnału odniesienia o częstości ω_{rf} : ustawionej <u>w środku zakresu widma SW</u>. Czyli rejestruje się $M_x(t)$ oraz $M_y(t)$: $M_x + iM_y = M[\cos(\omega - \omega_{rf})t + i\sin(\omega - \omega_{rf})t] = Mexp(i\Omega t), \quad \pm\Omega = \pm |\omega - \omega_{rf}|.$
dwuwymiarowych (wraz z programem LINSHA nakładania na sygnały odpowiednich kształtów linii widmowych; *H. Widmer, K. Wüthrich Journal of Magnetic Resonance*). Chociaż odpowiedniość opisu klasycznego i oraz kwantowego pozwala analizować eksperymenty NMR w poglądowym ujęciu klasycznym, to klasyczne podejście okazuje się w niektórych przypadkach <u>niewystarczające</u>.

Częstości rezonansowe jąder jednego typu, np. ¹H NMR [PLANSZA 52] pokrywają pewien zakres SW rzędu kiloherzów (kHz), gdzie różne protony mają nieco inne częstości rezonansowe, ale kwadratowy impuls B1 o krótkim czasie trwania wzbudza jednolicie wszystkie jądra (protony) w tym zakresie {Zadanie 10}. Efekt zróżnicowania częstości powstaje wskutek ODDZIAŁYWAŃ JĄDRO-ELEKTRON i JĄDRO-JADRO [PLANSZA 57: oddziaływania jądro-jądro i jądro-elektron; widma w ciele stałym]. W spektroskopii NMR zachodzi zasadnicze rozróżnienie pomiędzy widmem w formie "SZEROKIEJ LINII" (broad line) rejestrowanej dla próbki w ciele stałym (monokryształ, polikryształ, forma amorficzna) i widmem tzw. WYSOKIEJ **ZDOLNOŚCI ROZDZIELCZEJ** (high resolution) w roztworze (cieczy) i gazie. W pierwszym przypadku obserwuje się jedną, szeroką ($10^3 \div 10^6$ Hz), słabo ustrukturowana linie, która pokrywa cały zakres widmowy danego typu jąder. Dla próbek płynnych widmo NMR składa się z szeregu wąskich linii, z których każda reprezentuje zasadniczo jedno jądro lub grupę jąder równoważnych [PLANSZA 55] (przykłady widm pokażę w dalszej części wykładu). Każda z takich linii ma określoną, nieco inną częstość rezonansową i szerokość połówkową, od dziesiątych części Hz do kilkudziesięciu Hz, zależnie od trzech czynników:

(a) masa cząsteczkowa: wzrost powoduje poszerzenie sygnału;

(b) lepkość roztworu (w mniejszym stopniu): wzrost powoduje poszerzenie sygnału,

w obu przypadkach wskutek mniejszej ruchliwości cząsteczek, a w konsekwencji **spadku** wartości czasu relaksacji T₂ [PLANSZA 54];

(c) niehomogeniczność (niejednorodność) pola B₀ w obszarze próbki o objętości ok. 1 ml. Stwarza to unikalną możliwość (w stosunku do innych technik spektroskopowych) patrzenia na każdy "atom" w strukturze chemicznej cząsteczki poprzez sygnał na widmie po dokonaniu <u>przyporządkowania</u> sygnałów na widmie jądrom w cząsteczce (podobnie jak w obrazie dyfrakcyjnym promieniowania rentgenowskiego przepuszczanego przez monokryształ molekularny). Postawowym problemem w spektroskopii NMR jest mała czułość (w stosunku do innych technik spektroskopowych). Intensywność sygnału rezonansowego:

(a) jest proporcjonalna do ilości jąder czyli stężenia molarnego cząsteczek w próbce;

(b) jest proporcjonalna wartości µ momentu magnetycznego jąder,

(c) jest proporcjonalna do różnicy obsadzeń poziomów między którymi zachodzi przejście rezonansowe (czynnik Boltzmanna $exp(-\gamma\hbar B_0m/kT)$), a w konsekwencji do **wartości indukcji pola B**₀.

(d) zależy od **czasu T**₂ warunkującego szerokość połówkową sygnału; szersze linie szybciej "znikają" w szumach detektora.

Pomimo stałego postępu w podnoszeniu czułości detekcji poprzez **usprawnienia aparaturowe:** stosowanie coraz silniejszych pól B₀ i kriosond z detektorem chłodzonym do temperatury ciekłego helu (redukcja szumów), eksperymenty NMR wymagają w przypadku najlepszych spektrometrów **stężeń** ~**10 mikromoli** (standardowo ok. 1 mM). W pozostałych technikach spektroskopowych takich jak **absorpcja IR**, **UV-VIS i fluorescencja wymagane stężenia próbek są co najmniej o rząd do kilku rzędów wielkości niższe** (zależnie od współczynników ekstynkcji, wydajności kwantowych itp.) Dodatkową trudność stwarza rejestracja widm jąder o niskim poziomie zawartości izotopowej (abundancji), takich jak ¹³C czy ¹⁵N [PLANSZA 52]. NMR stosuje technikę fourierowska, co pozwala **dodawać rejestrowane sygnały**, jednak przy rejestracji widm bardzo dużych cząsteczek lub słabej rozpuszczalności związków trzeba stosować **wzbogacenie izotopowe**, związki znakowane, np. ¹³C i/lub ¹⁵N.

WYKŁAD 11

Każde jądro atomowe w cząsteczce znajduje się w otoczeniu <u>innych jąder</u> (tego samego typu i innych typów) obdarzonych momentami magnetycznymi oraz w otoczeniu elektronów posiadających momenty magnetyczne związane ze spinami i orbitalnymi momentami pędu. **Oddziaływania magnetyczne jądro-jądro i** *oddziaływania magnetyczne jądro-elektron**** decydują o postaci rejestrowanych widm NMR. Sąsiadujące z danym jądrem momenty magnetyczne generują lokalne pola magnetyczne B_{lok} \sim 10^{-4}B_0. W ich wyniku powstają szerokie i słabo ustrukturowane linie (***broad line***) w ciele stałym o szerokościach kiloherzowych [PLANSZA 57].**

(1) **Bezpośrednie oddziaływania magnetyczne dipol-dipol** (dipolarne) między jądrami odległych o r jest opisane przez hamiltonian:

$$\mathbf{H}_{DD} = \frac{\mu_0 \hbar^2}{4\pi} \sum_{q < p} \left\{ \frac{\mu_q \mu_p}{r_{qp}^3} - \frac{3(\mu_q \mathbf{r}_{qp})(\mu_p \mathbf{r}_{qp})}{r_{qp}^5} \right\} \quad \mu_0 \text{ - przenikalność magnetyczna próżni}$$

Oddziaływanie powoduje powstawanie linii o szerokości ~ $10^4 \div 10^5$ Hz uwarunkowanej wartością sprzężenia dipolowego Δ_{DD} . Nie tracąc na ogólności, dla prostego przypadku dwu jąder odległych o r₁₂, rozwiązanie równia Schrödingera z hamiltonianem **H**_{DD} we współrzędnych sferycznych (r, θ , ϕ) daje (po zaniedbaniu części członów) dwie nakładające się linie rezonansowe:

 $\upsilon = \upsilon_0 \pm \frac{1}{2} \Delta_{DD} (3\cos^2 \theta - 1) \qquad \theta - \text{kat między wektorem } \mathbf{r}_{12} \text{ a kierunkiem pola } \mathbf{B}_0$ $\Delta_{DD} = \frac{\mu_0 \hbar^2}{4\pi} \gamma_1 \gamma_2 \mathbf{r}_{12}^{-3} \qquad \text{stała sprzężenia dipolowego}$

^{*} Oddziaływania magnetyczne jądro-elektron momentów jąder μ_q z momentami spinów s_k i momentami orbitalnymi l_k elektronów może być wyznaczone z rachunku zaburzeń (*A. Abragam The Principles of Nuclear Magnetism*). Po rozwinięciu i zaniedbaniu szeregu (dużych) członów otrzymuje się 7 członów małego zaburzenia: orbitalny i spinowy Zeemana elektronów w polu B₀, orbitalny, spinowy i Fermiego sprzężenia jądra-elektrony, jądro-B₀ oraz jądro-jądro za pośrednictwem elektronów. W pierwszym i drugim rzędzie rachunku zaburzeń człony dwuliniowe w B₀ i μ_q warunkują przesłanianie jader przez elektrony, opisane przez tensor ekranowania σ . Człony dwuliniowe w $\mu_{q i}$ μ_p warunkują sprzężenie skalarne między jądrami q i p przez elektrony wiązań, opisane tensorem J. Dla jądra I ≥ 1 (położonego w r = 0) zachodzi oddziaływanie elektrostatyczne jego momentu kwadrupolowego Q z gradientami pól elektrycznych V_{ab} = $(\partial^2 V/\partial a \partial b)_{r=0}$ potencjału elektronowego V(xyz) a, b = x, y, z.

(2) Przesłanianie (ekranowanie) jąder przez elektrony jest opisane przez hamiltonian "<u>chemical shift</u>"

$H_{CS} = \mu_q \sigma B_0$

Tensor ekranowania $\sigma = \sigma \mathbf{E} + \sigma_{CSA}$ jest sumą niezależnej od orientacji cząsteczki części skalarnej (\mathbf{E} - macierz jednostkowa) i części bezśladowej σ_{CSA} (*chemical shift anisotropy*: wzoru nie przytaczam):

 $\sigma = \text{Tr}(\sigma) = 1/3(\sigma_{11} + \sigma_{22} + \sigma_{33})$ σ_{jj} - składowe tensora w układzie osi głównych Tensor σ warunkuje powstawanie w ciele stałym szerokich linii rezonansowych ~5·10³ ÷ 10⁴Hz, a elementy macierzowe części bezśladowej są proporcjonalne do wyrażenia $(3\cos^2\theta_j - 1)$, gdzie θ_j są kątami między osiami głównymi tensora σ i wektorem **B**₀. Tensor σ_{CSA} może wykazywać asymetryczność $0 \le \eta \le 1$.

(3) Jądra o spinie I \geq 1 mają niezerowy moment kwadrupolowy Q, który oddziałuje z gradientami pól elektrycznych otaczających elektronów d²V/dz². Oś z jest osią główną symetrycznego tensora Q skierowaną pod kątem θ do B₀. To oddziaływanie dominuje jako czynnik warunkujący szerokości linii, o kształcie analogicznym jak dla dwujądrowego przypadku oddziaływania dipol-dipol, ale ze stałą sprzężenia kwadrupolowego Δ_0 :

$$\Delta_{\rm Q} = \frac{3}{4} \frac{\rm eQ}{\rm h} \frac{\rm d^2 V}{{\rm dz}^2} \sim 10^5 \div 10^6 \, \rm Hz$$

W przypadku odstępstwa od symetrii osiowej tensora $0 \le \eta \le 1$ pojawia się dodatkowy wkład $\eta \sin^2\theta \cos 2\varphi$ do częstości u, w którym kąty θ i φ opisują orientację wektora **B**₀ w układzie osi głównych tensora **Q**.

W roztworach, cieczach i gazach zachodzą szybkie ruchy molekularne: dyfuzja rotacyjna (i translacyjna, mniej istotna z punktu widzenia NMR) [PLANSZA 58: widma w gazach, cieczach i roztworach]. Zakładając model izotropowej reorientacji cząsteczek w przestrzeni, opisanej przez kąty polarne θ i φ można wykazać, że {Zadanie 26}:

$$<3\cos^2\theta - 1>_{\theta\phi} = 0$$

gdzie $\langle \rangle_{\theta\phi}$ oznacza uśrednienie po wszystkich orientacjach cząsteczki (wektora związanego z cząsteczką). W konsekwencji [PLANSZA 57], oddziaływanie dipol - dipol uśrednia się do zera, podobnie jak anizotropowa część tensora ekranowania CSA oraz <u>izotropowe</u> oddziaływanie kwadrupolowe. Rejestruje się wąskie linie rezonansowe (*high resolution*), które pokrywają cały rejestrowany zakres widmowy. "Szeroka linia" jak gdyby "rozpada się" na układ wąskich sygnałów [PLANSZA 59: widmo ¹H NMR kwasu bromopropionowego]. Dla jąder I \geq 1, ze względu na możliwość wystąpienia <u>anizotropii</u>

oddziaływania kwadrupolowego $\eta \neq 0$, uśrednienie może nie zachodzić do zera i w wielu przypadkach linie rezonansowe tych jąder są silnie poszerzone NAWET w warunkach wysokiej zdolności rozdzielczej. Stąd rezonans np. ¹⁴N NMR (I = 1) raczej <u>rzadko</u> jest wykorzystywany w badaniach w roztworze, a stosuje się ¹⁵N NMR (I = ¹/₂) mimo, że naturalna zawartość izotopu ¹⁵N wynosi tylko 0.3%. W badaniach w ciele stałym szerokość linii nie ma znaczenia i wykorzystuje się ¹⁴N NMR.

Istnieją techniki NMR, które umożliwiają rejestrację wąskich linii NMR w ciele stałym, m. in. technika CP MAS (<u>cross-polarization magic angle spinning</u>). Widma "*high resolution*" w ciele stałym uzyskuje się przy szybkim wirowaniu próbki (kilka do kilkadziesięciu tysięcy obrotów na sekundę) ustawionej pod tzw. kątem magicznym $\beta = 54.7$ deg w stosunku do pola **B**₀ (cos² $\beta = 1/3$) {**Zadanie 27**}.

Izotropowa część tensora ekranowania uśrednia się do stałej ekranowania [PLANSZA 57], będącej śladem macierzy: $\sigma = 1/3(\sigma_{11} + \sigma_{22} + \sigma_{33})$. Poszczególne jądra w cząsteczce znajdują się w zmodyfikowanym polu magnetycznym [PLANSZA 58]:

$$\mathbf{B} = \mathbf{B}_0 + (-\sigma \mathbf{B}_0)$$

i sygnały NMR poszczególnych jąder j w różnych otoczeniach chemicznych są w różny sposób ekranowane, a więc mają **nieco inne częstości rezonansowe** [PLANSZE 59, 58]:

$$\omega_{j} = |\gamma|\mathbf{B} = |\gamma|(1 - \sigma_{j})\mathbf{B}_{0}$$

Ten efekt nosi nazwę **przesunięcia chemicznego.** Położenia poszczególnych sygnałów czyli ich przesunięcia chemiczne δ_j w widmie NMR wysokiej zdolności rozdzielczej nie są z reguły mierzone w bezwzględnych wartościach częstości w Hz, ale w jednostkach względnych ppm (*parts per million*) w odniesieniu do jądra wzorca chemicznego, $\delta(\text{wzorzec}) = 0$:

$$\delta = \frac{\omega(jadro) - \omega(wzorzec)}{\omega(wzorzec)} \times 10^6 \text{ [ppm]}$$

Jako wzorce stosuje się standardowo różne związki, zwykle o pojedynczym, silnym sygnale rezonansowym, np. tetrametylosilan Si(CH₃)₄ (TMS), jako odniesienie dla sygnałów ¹H i ¹³C. Teoretyczna analiza odziaływań jądro-elektron w drugim rzędzie rachunku zaburzeń pozwala uzyskać wzory na przesunięcia chemiczne i szacować (<u>tylko!</u>) ich wartości dla konkretnych jąder i cząsteczek. Można pokazać, że na przesunięcie chemiczne (stałą ekranowania) składa się **szereg wkładów**:

- lokalnych, diamagnetycznego (d) i paramagnetycznego (p), pochodzących od bezpośredniego otoczenia danego jądra, czyli elektronów obsadzających orbitale molekularne LCAO atomu zawierającego rozpatrywane jadro i jego najbliższych sąsiadów;

- dalej położonych **grup anizotropowych** atomów i prądów pierścieni π - elektronowych; - **oddziaływań międzycząsteczkowych** z rozpuszczalnikiem, wiązań wodorowych , itp:

 $\delta = \delta_d(lok) + \delta_p(lok) + \delta_{anizotropia} + \delta_{oddziaływania}$

Atomy polarne, wiązania wielokrotne i układy π -elektronowe ściągają elektrony, odsłaniają jądra i dają większe wartości przesunięć chemicznych (w stosunku do niepolarnych wzorców), czyli mniejsze przesłanianie. Wartości przesunięć mogą być też bardzo silnie modyfikowane przez **reagenty przesunięcia chemicznego**, czyli paramagnetyki, np. jony lantanowców (Eu⁺³) lub jony lantanowców koordynowane chemicznie przez związki organiczne.

Oprócz oddziaływań bezpośrednich dipol-dipol "przez przestrzeń", jądra oddziałują również ze sobą **poprzez elektrony wiązań chemicznych**. Moment magnetyczny jednego jądra μ_q polaryzuje chmurę elektronową, która z kolei indukuje pole magnetyczne w miejscu położenia drugiego jadra μ_p . Hamiltonian oddziaływania, tzw. **skalarnego sprzężenia** między jądrami **H**_{SC} (*scalar coupling*) ma postać:

$H_{SC}=\mu_q\;J\;\mu_p$

Tensor sprzężenia skalarnego **J** można rozłożyć na część skalarną i bezśladową (podobnie jak tensor ekranowania σ). W warunkach szybkich ruchów molekularnych w roztworze część bezśladowa uśrednia się do zera i hamiltonian oddziaływania przybiera postać:

$\mathbf{H}_{SC} = J_{qp} \ \boldsymbol{\mu}_{q} \boldsymbol{\cdot} \boldsymbol{\mu}_{p}$

gdzie J_{qp} jest **stałą sprzężenia skalarnego** wyrażaną w Hz. Sprzężenia skalarne wywołują **rozszczepienia (subtelne) linii rezonansowych jąder w widmach wysokiej zdolności rozdzielczej**, jeśli jądra te sąsiadują z innymi jądrami (aktywnymi magnetycznie) poprzez niewielką ilość wiązań chemicznych [PLANSZA 59]. Typowe wartości stałych sprzężenia jąder oddzielonych jednym wiązaniem chemicznym ¹J są rzędu od kilkadziesięciu do ok. 200 Hz, chociaż obserwuje się sprzężenia ¹⁹F–³¹P rzędu 1 000 Hz. Stałe ²J przez dwa wiązania (geminalne) i ³J przez trzy wiązania (wicynalne) mieszczą się w granicach od 0 do ok. 20 Hz zależnie od typu sprzężonych jąder, od struktury chemicznej i geometrii (konformacji) fragmentu cząsteczki, który zawiera sprzęgające się jądra. Stałe dla jąder oddzielonych przez więcej niż 3 wiązania są zwykle bliskie zeru, tzn.

mają wartości poniżej szerokości połówkowych linii widmowych. Ciekawym faktem, zaobserwowanym stosunkowo niedawno, jest zaobserwowanie sprzęgań skalarnych między jądrami przez **wiązania wodorowe**, oznaczane jako ^{nh}J, gdzie n jest ilością wiązań dzielących jądra, w tym jedno wodorowe. Świadczy to o niewielkim, **kowalencyjnym** charakterze wiązania wodorowego.

W przeciwieństwie do przesunięć chemicznych wartości stałych sprzężenia można stosunkowo <u>dokładnie wyliczać</u> metodami kwantowymi. Zwykle decydujący wkład do stałej sprzężenia daje kontaktowy człon Fermiego w drugim rzędzie rachunku zaburzeń (prawie wyłącznie dla sprzężeń ¹H–¹H), ale w przypadku sprzężeń z udziałem ¹⁹F pozostałe człony mogą przewyższać kontaktowy. Do obliczeń stosuje się najczęściej metodę zaburzenia skończonego FPP (*finite perturbation method*) lub nowszą metodę CP-DFT (*coupled perturbation density functional theory*), gdzie unika się problemu wyznaczania energii stanów wzbudzonych.

Położenia poszczególnych linii rezonansowych uzyskuje się z rozwiązania równania Schrödingera dla układu N jąder w cząsteczce w polu $\mathbf{B}_0 = \mathbf{B}_0 \mathbf{i}_z$ z niezależnym od czasu hamiltonianem (wyrażonym w Hz) [PLANSZA 60: podstawy teoretyczne widm "high resolution"]:

$$\begin{split} h^{-1}\mathbf{H} &= -(1/2\pi)\sum_{j=1}^{N}\gamma_{j}B_{0}(1-\sigma_{j})\mathbf{I}_{zj} + \sum_{k$$

gdzie v_j jest przesunięciem chemicznym j- tego jądra wyrażonym w Hz, a funkcje własne **hamiltonianu** są **kombinacjami liniowymi** iloczynowych funkcji bazowych:

$$|I_1, m_1\rangle|I_2, m_2\rangle...\rangle|I_N, m_N\rangle$$
 $I_j^2|I_j, m_j\rangle = I_j(I_j + 1)|I_j, m_j\rangle$

I_j jest spinową liczbą kwantowa pojedynczego jądra a m_j wartością rzutu **I**_j na oś z. Każda funkcja składowa (iloczynowa) jest funkcją własną rzutu całkowitego spinu **F** układu na oś z:

$$\mathbf{F}_{\mathbf{z}} = \sum_{j=1}^{N} \mathbf{I}_{zj}$$
 komutator $[\mathbf{H}, \mathbf{F}_{\mathbf{z}}] = 0$

 $\textbf{F}_{\textbf{z}}|I_1,\,m_1\!\!>\!\!|I_2,\,m_2\!\!>\!\ldots\!\!>\!\!|I_N,\,m_N\!\!>\!=M|I_1,\,m_1\!\!>\!\!|I_2,\,m_2\!\!>\!\ldots\!\!>\!\!|I_N,\,m_N\!\!>$

$$M = \sum_{j}^{N} m_{j}$$

Prawdopodobieństwo (na jednostkę czasu) przejścia $W_{M'n' \leftarrow M''n''}$ między **poziomami** energii E_{Mn} , czyli wartościami własnymi hamiltonianu h⁻¹**H** uzyskuje się traktując hamiltonian **H'** związany z polem wirującym B₁ jako małe zaburzenie w stosunku do **H**:

$$\mathbf{H'} = \sum_{j=1}^{N} \gamma_{j} \mathbf{B}_{1} (1 - \sigma_{j}) (\mathbf{I}_{xj} \cos \omega t - \mathbf{I}_{yj} \sin \omega t)$$

Stosując złotą regułę Fermiego lub postępując jak przy obliczaniu prawdopodobieństwa przejścia dla pojedynczego jądra (w pierwszym rzędzie) otrzymuje się:

$$W_{M'n' \leftarrow M''n''} \sim |\leq M', n'|F'|M'', n''>|^2 \qquad F' = \sum_{j=1}^{N} I_j^{-1}$$

Zgodnie z regułą wyboru $\Delta M = M' - M'' = -1$ położenia linii rezonansowych v dla przejść M'n' \leftarrow M''n'' o intensywnościach proporcjonalnych do $W_{M'n'} \leftarrow M''n''$ wynoszą:

 $\nu = (1/h)(E_{M'n'} - E_{M''n''})$

i uzyskuje się je z diagonalizacji hamiltonianu $h^{-1}H$. Widmo wyliczone (komputerowo) przy wstępnie **zadanych parametrach**: przesunięciach chemicznych, stałych sprzężenia skalarnego i szerokościach połówkowych linii, porównuje się z widmem rejestrowanym doświadczalnie. Procedury iteracyjne pozwalają uzyskać dokładne wartości parametrów widmowych po osiągnięciu nakrywania się linii wyznaczanych z widma i liczonych teoretycznie. Przejścia mają charakter **jednokwantowy**. Przejścia <u>wielo</u>kwantowe uzyskuje się poprzez wzbudzenie układu jądrowego odpowiednimi sekwencjami impulsów rf (eksperyment wieloimpulsowy, dwuwymiarowy) i pośrednią detekcję, np. eksperyment (DQC) *double-quantum correlation spectroscopy*.

W ogólnym przypadku widma składają się z linii odpowiadających [PLANSZA 59]:

 rezonansowi pojedynczych jąder; jedna linia lub rozszczepiony przez oddziaływania skalarne multiplet o względnej intensywności równej 1;

- rezonansowi grup jąder równoważnych <u>magnetycznie</u> ze względu na symetrię i/lub odpowiednio szybkie obroty wokół wiązań pojedynczych (przejścia konformacyjne); jedna linia lub rozszczepiony przez oddziaływania skalarne multiplet o względnej intensywności równej ilości jąder w grupie, a w sygnałach <u>nie</u> ujawniają się sprzężenia między jądrami należącymi do grupy;

przejściom "kombinacyjnym" kilku jąder: jedna lub kilka linii w strukturze multipletowej o względnej intensywności sygnału poniżej 1.

W ogólnym przypadku rzut spinu m_j pojedynczego jądra na oś z <u>nie</u> jest "dobrą" liczbą kwantową, ale staje się taką w przypadku gdy **stosunki stałych sprzężenia do różnic przesunięć chemicznych między nimi** (wyrażonych w Hz) **stają się dostatecznie małe (tzw. "przybliżenie X").** Tak jest zawsze gdy sprzęgają się jądra różnych typów, protony z węglami, węgle z azotami itp.:

$$J_{kl}/(\nu_k - \nu_l) \rightarrow 0$$

W hamiltonianie układu jąder można wtedy zaniedbać $\frac{1}{2} J_{kl} (\mathbf{I}_k^+ \mathbf{I}_l^- + \mathbf{I}_k^- \mathbf{I}_l^+)$ i energie poziomów oraz reguła wyboru przyjmują formę [**PLANSZA 60**]:

$$h^{-1}E = \sum_{j=1}^{N} v_j m_j + \sum_{k < l} \sum J_{kl} m_k m_l$$

 $\Delta m_i = \pm 1$ $\Delta m_k = 0$ dla wszystkich k $\neq i$

Obserwuje się przejścia odpowiadające TYLKO pojedynczym jądrom lub grupom jąder równoważnych oraz **brak** jest linii kombinacyjnych. **Przesunięcia chemiczne przypadają w środkach pasm, a stałe sprzężenia odpowiadają <u>różnicom położeń</u> linii w multipletach [PLANSZA 59]**. Brak stosowalności "przybliżenia X" jest problemem w przypadku rezonansu ¹H NMR, ³¹P NMR i ¹³C NMR cząsteczek o 100% zawartości jąder ¹³C, rzadziej w przypadku ¹⁹F NMR i ¹⁵N NMR cząsteczek wzbogaconych ¹⁵N.

Wprowadza się oznaczenia układów jądrowych {Zadanie 28}, które decydują o postaci widma, ze względu na zależność widm od typu układu spinowego oraz na możliwe dwa rodzaje równoważności jąder w grupie.

Równoważność magnetyczna: wszystkie jądra w grupie mają te same przesunięcia chemiczne i każde z nich sprzęga się identycznie z jądrami spoza grupy, jeśli jednoznacznie oznaczymy cały układ jądrowy. Przykład: układ A_3X_2 protonów CH₃ i CH₂ (tryplet - kwartet) alkoholu etylowego lub A_2X_2 protonów CH₂–CH₂ (dwa tryplety) kwasu bromopropionowego, ze względu na **szybki obrót** wokół C – C (uśrednienie sprzężeń).

Równoważność chemiczna: wszystkie jądra w grupie mają jednakowe przesunięcia chemiczne ze względu na symetrię, ale <u>inaczej</u> sprzęgają się z jądrami spoza grupy. Przykład: **układ AA'XX'** protonów w orto-dibromobenzenie [**PLANSZA 61**: widmo ¹H **NMR o-dibromobenzenu; Castellano & Kostelnik Tetrahedron Letters (1967) 5211**]. W układzie równoważnym magnetycznie A_2X_2 [**PLANSZA 59**] widmo miałoby postać **dwóch trypletów**.

WYKŁAD 12

Analiza widm NMR wysokiej zdolności rozdzielczej prowadząca do przyporządkowania (*assignment*) sygnałów na widmie poszczególnym jądrom w cząsteczce oparta jest na podstawach teoretycznych [PLANSZA 60], które pozwalają wyliczyć teoretyczne widma dla dowolnego układu jądrowego, oraz poprzez stosowanie pewnych "automatycznych" (dla spektroskopisty NMR) reguł postępowania. W wyniku przyporządkowania uzyskuje się zestaw wartości przesunięć chemicznych δ_k jąder analizowanego układu i stałych sprzężenia między jądrami J_{kl}. Przyporządkowanie widm(a) jądrom cząsteczki jest <u>warunkiem koniecznym</u> zastosowania spektroskopii NMR w analizie molekularnej w tym identyfikacji struktur chemicznych {Zadanie 29} związków organicznych, określaniu struktur przestrzennych cząsteczek {Zadanie 30} i wyznaczaniu wartości parametrów opisujących oddziaływania molekularne.

Skoncentrujemy się na rozwiązywaniu widm jąder o spinie I = $\frac{1}{2}$. Jądra o spinach I $\geq 1 \mod d$ awać poszerzone linie w warunkach *"high resolution*" i są relatywnie rzadziej wykorzystywane.

(A) **Jądra o spinie** $I \ge 1$ w cząsteczce podlegają z reguły silnej relaksacji kwadrupolowej (<u>o mechanizmach relaksacyjnych w dalszej części wykładu</u>) i nie ujawniają sprzężeń (np. Br) na widmach jąder o spinie $I = \frac{1}{2}$ [PLANSZA 59].

(B) Ze względu na niskie prawdopodobieństwo pojawienia się w cząsteczce **jądra o niskiej zawartości (abundancji) izotopów** I = $\frac{1}{2}$ (13 C, 15 N) nie wykazują sprzężeń na widmach jąder o wysokiej abundancji izotopów I = $\frac{1}{2}$ (1 H, 31 P, 19 F), ani sprzężeń na widmach innych rzadkich jąder (czyli sprzężeń 13 C– 15 N, 13 C– 13 C, 15 N– 15 N). Natomiast na widmach 13 C i 15 N NMR pojawiają się sprzężenia od jąder o wysokiej zawartości (1 H, 31 P, 19 F). <u>Wszystkie</u> sprzężenia z jądrami o niskiej zawartości widać w widmach związków **wzbogaconych izotopowo**.

(C) Przy rejestracji widm ¹H NMR stosuje się **standardowo rozpuszczalniki deuterowane** w celu wyeliminowania silnego sygnału protonów rozpuszczalnika. W roztworze ciężkiej wody ²H₂O na miejsce protonów przyłączonych do tlenów i azotów (grupy –OH, –NH₂, =N–H), czyli tzw. **protonów wymienialnych**, wchodzą deutery i odpowiadające protonom tych grup sygnały znikają z widma (stężenie molowe wody wynosi 55 M, a związku rozpuszczonego ~10⁻³ M). Przy badaniu cząsteczek, w których istotna jest informacja o położeniu sygnałów protonów wymienialnych, np. N–H białek, rejestruje się widma ¹H NMR w zwykłej wodzie i tłumi silny sygnał wody.

(D) Widma obrazują strukturę chemiczną albo **cząsteczek "sztywnych"**, albo cząsteczek w **formie "uśrednionej"** z konformerów w równowadze dynamicznej [**PLANSZA 7**]. <u>Warunkiem</u> powstania widma uśrednionego jest **szybka wymiana** między konformerami w skali NMR, gdy cząsteczki przechodzą z konformacji i-tej do konformacji j-tej ze stałą szybkości $k_{i\rightarrow j}$ spełniającą warunki:

 $k_{i \rightarrow j} >> |\nu_i - \nu_j |, \qquad k_{i \rightarrow j} >> J_{ij} \qquad k_{i \rightarrow j} = 1/\tau_{ij}$

gdzie τ_{ij} jest średnim czasem życia stanu i-tego ze względu na przejście do stanu j-tego. Obserwowane (obs) na widmie przesunięcia chemiczne i stałe sprzężenia są średnimi ważonymi z wartości dla poszczególnych konformerów α , δ_{α} i J^{α}_{kl}, z wagami równymi populacjom p_{α} tych konformerów.

$$\delta_{\alpha}^{obs} = \sum_{\alpha} p_{\alpha} \delta_{\alpha} \qquad \qquad J_{kl}^{obs} = \sum_{\alpha} p_{\alpha} J^{\alpha}_{kl}$$

Przykładem jest rotacja grupy metylowej –CH₃. Przy **powolnych w skali NMR** przejściach między konformerami:

 $k_{i \rightarrow j} << |\nu_i - \nu_j|, \qquad \quad k_{i \rightarrow j} << J_{ij}$

obserwuje się sygnały niezależnie od każdego konformeru.

(E) Obok mierzenia odległości między liniami istnieją bezpośrednie metody określania, które jądra są ze sobą sprzężone. Jedną z nich jest odsprzęganie jednych jąder od innych. Obok impulsu wzbudzającego B₁ można przyłożyć do układu słaby, tzw. selektywny impuls B₂ o częstości rezonansowej (przesunięciu chemicznym) określonego jądra. Moc sygnału należy tak dobrać aby zlikwidować sprzężenia tego jądra w multipletach innych jąder ALE jednocześnie nie zaburzyć sąsiednich sygnałów. Przykładowo, przy selektywnym naświetleniu jąder CH₂ tryplet CH₃ zamieni się w singlet. W podobny sposób, ale stosując odsprzęganie szerokopasmowe (odsprzęganie całego zakresu widmowego jąder) można odsprzęgać jądra jednego typu od jader innego typu, np. wszystkie węgle ¹³C od wszystkich protonów {Zadanie 31}. Odsprzęganie szerokopasmowe likwiduje zarówno sprzężenia skalarne jak i sprzężenia dipol - dipol w ciele stałym. Bezpośrednią metodą określania jąder sprzężonych jest również rejestracja wielowymiarowych widm korelacyjnych (dalsza część wykładu).

Zmiana otoczenia magnetycznego jąder w trakcie rezonansu czyli **WYMIANA** CHEMICZNA <u>wewątrz</u>- lub <u>między</u>cząsteczkowa wskutek zmian struktur molekularnych między $N \ge 2$ stanami może zachodzić z różnymi szybkościami w skali NMR. Przypadki szybkiej i powolnej wymiany w skali NMR zostały omówione. W przypadku szybkości **pośrednich w skali NMR**:

 $k_{i \rightarrow j} \sim |\nu_i - \nu_j|, \qquad k_{i \rightarrow j} \sim J_{ij}$

pojawiają się <u>dodatkowe efekty</u> na widmach [<u>PLANSZA 62</u>: NMR przy wymianie chemicznej między dwoma stanami (bez i ze sprzężeniem); Vasavada et al. J. Inorg. Biochem. 21, 323, 1984]. Analiza na gruncie rozszerzonych równań Blocha, tzw. równań McConnell'a pozwala wysymulować kształty linii i wyznaczyć wartości szybkości (czasów) wymiany $k_{i\rightarrow j}$ (τ_{ij}).

Standardowe widma wysokiej zdolności rozdzielczej rejestruje się dla cząsteczek małej i średniej wielkości, nie przekraczającej masy cząsteczkowej ok. 40 kDa. W miarę wzrostu masy cząsteczkowej spowolnienie ruchów molekularnych powoduje poszerzanie linii rezonansowych prowadzi do zatarcia struktury subtelnej (zanik sprzężeń skalarnych) a następnie do całkowitego rozmycia sygnału w szumach. Specjalne techniki typu TROSY i CRINEPT (*wykład "Biofizyka doświadczalna"*), skuteczne w bardzo wysokich polach magnetycznych B₀ (aparaty \geq 900 MHz), pozwalają na zahamowanie tej tendencji i teoretycznie nie ma ograniczenia na maksymalną masę cząsteczek, dla których można rejestrować widma wysokiej zdolności rozdzielczej (kompleksy molekularna o masie cząsteczkowej ~1 mln Da).

RELAKSACJA JĄDROWA jest procesem **dyssypacji energii** w ramach wzbudzonego układu jądrowego. Prowadzi do zaniku prostopadłej do pola **B**₀ składowej magnetyzacji M_{xy} z czasem T₂ wskutek **dekoherencja spinów**, czyli do wymiany energii wewnątrz wzbudzonego układu jąder oraz <u>niezależnie</u> do powrotu składowej magnetyzacji M_z równoległej do **B**₀ do wartości równowagowej M_0 z czasem T₁, czyli do przywrócenia **boltzmannowskiego rozkładu** obsadzeń poziomów [**PLANSZA 54**]. W tym drugim procesie energia jest przekazywana do sieciowych stopni swobody: translacje, rotacje, drgania molekuł. Prawdopodobieństwo zajścia emisji spontanicznej czy wymuszonej z poziomu wzbudzonego rezonansowo jest znikomo małe (odpowiednio 10^{-25} s⁻¹ i 10^{-10} s⁻¹). **Mechanizm relaksacyjny** polega na oddziaływaniu układu wzbudzonych jąder z lokalnymi, <u>przypadkowo zmiennymi</u> w czasie (fluktuującymi) polami magnetycznymi h(t), wywoływanymi przez otaczające momenty magnetyczne i ładunki elektryczne. Uśrednienie h(t) daje lokalne pola statyczne, warunkujące pojawianie się **przesunięć chemicznych**:

 $\langle h(t) \rangle_{av} = B_{lok} \qquad \Rightarrow \quad \delta(\sigma)$

a pośrednio także sprzężeń skalarnych. W przypadku jąder I \geq 1 pojawia się mechanizm relaksacyjny wywoływany oddziaływaniem momentów kwadrupolowych jader z fluktuującymi polami elektrycznymi. W modelu dyfuzyjnym [**PLANSZA 9**] szybkości ruchów molekularnych można scharakteryzować przez podanie wartości czasów korelacji τ_c . Fluktuacje charakteryzują się ciągłym rozkładem częstości v od zera do τ_c^{-1} . co generuje przypadkowe, **niekoherentne** (w przeciwieństwie do rezonansu) **przejścia jąder** między zeemanowskimi poziomami tych jąder w polu B₀.

Kluczowym zagadnieniem w analizie procesów relaksacyjnych jest <u>powiązanie</u> mierzonych doświadczalnie czasów relaksacji T₁ i T₂ z parametrami dynamicznymi układu molekularnego (sieci) i uzyskanie w ten sposób **wglądu w dynamikę procesów molekularnych.** Dla cieczy i roztworów brak odpowiednich modeli kwantowych spowodował rozwinięcie **półklasycznej teorii relaksacji**, omówionej m. in. w książce: *J.I. Kaplan, G. Fraenkel NMR of Chemically Exchanging Systems*) [PLANSZA 63: **podstawy relaksacji jądrowej**]. <u>W skrócie</u>, na hamiltonian zaburzający, który sprzęga układ jądrowy z siecią molekularną składa się szereg typów oddziaływań, tzw. **mechanizmów relaksacyjnych**. Uwarunkowany przez pojedynczy mechanizm hamiltonian **H**1 opisuje się za pomocą **kwantowych operatorów** A^q oraz klasycznych, przypadkowo zmiennych w czasie funkcji F^q(t), uzyskiwanych na gruncie modelu dyfuzyji rotacyjnej:

$\mathbf{H}_{1}(\mathbf{t}) = \sum_{q} \mathbf{A}^{q} \mathbf{F}^{q}(\mathbf{t})$

Prawdopodobieństwa na jednostkę czasu przejść relaksacyjnych między stanami własnymi układu jądrowego opisanymi przez funkcje $|\alpha\rangle$ i $|\beta\rangle$ uzyskuje się w postaci sumy wyrazów typu:

$$W_{\alpha\beta} = |\langle \alpha | \mathbf{A} | \beta \rangle|^2 \mathbf{J}(\omega_{\alpha\beta})$$
$$\mathbf{J}(\omega_{\alpha\beta}) = \int_{-\infty}^{+\infty} \langle F(t)F(t+\tau) \rangle \exp(\omega_{\alpha\beta}\tau)d\tau$$

Odwrotności mierzonych czasów relaksacji $1/T_1$ i $1/T_2$ są uwarunkowane przez prawdopodobieństwa $W_{\alpha\beta}$, co pozwala wyrazić je poprzez czasy korelacji τ_c , których znajomość jest z kolei **celem analizy dynamicznej cząsteczek**.

Można wymienić szereg mechanizmów relaksacyjnych, które <u>dominują</u> zależnie od typu jąder, typu układów jądrowych w cząsteczce i typu cząsteczki, i opartych na już poznanych oddziaływaniach jądro-jądro i jądro-elektron [PLANSZA 57]:

- dipolowo - dipolowy (DD), dla jąder ¹H i innych jąder blisko położonych w stosunku do protonów;

- anizotropia przesunięcia chemicznego (CSA) jako znaczący wkład do relaksacji jąder różnych od protonów, a dominujący w przypadku odsprzęgnięcia protonów;

- kwadrupolowy (Q), absolutnie dominujący w relaksacji jąder $I \ge 1$;

- skalarny pierwszego rodzaju (SC1) w przypadku wymiany chemicznej

- skalarny drugiego rodzaju (SC2) w paramagnetykach, wskutek szybkiej relaksacji elektronu położonego blisko jądra.

Warunkujące wartości czasu relaksacji T₂ mechanizmy relaksacyjne decydują w znacznym stopniu (poza niejednorodnością pola B₀) o szerokościach linii widmowych NMR w warunkach wysokiej zdolności rozdzielczej.

Pomiary czasów relaksacji wykonuje się za pomocą eksperymentów NMR, w których układ jądrowy poddaje się nie jednemu (jak w przypadku najprostszego eksperymentu rejestracji widma) ale sekwencji impulsów oddzielonych ściśle określonymi odstępami czasowymi (eksperymenty wieloimpulsowe) [PLANSZA 64: pomiar czasów relaksacji]:

- pomiar T1 metodą "inversion recovery"

- pomiar T₂ metodą echa spinowego "*spin echo*", zmodyfikowaną do sekwencji CPMG; *Carr-Purcell-Meiboom-Gill*.

Pomiary i analiza wyników na gruncie prostego modelu dyfuzji rotacyjnej Debye'a obrotu cząsteczki jako sztywnej sfery z jednym czasem korelacji pokazują charakterystyczne przebiegi T_1 i T_2 w funkcji τ_c na wykresie log-log, w zależności od stanu skupienia próbki [PLANSZA 63].

JĄDROWY EFEKT OVERHAUSERA NOE [<u>PLANSZA 65</u>: NOE w układzie dwuspinowym] jest uwarunkowany oddziaływaniem dipol - dipol (DD) między jądrami i zależy jak r_{ij}^{-6} od odległości między jądrami. Rozpatrując równania na z-owe składowe magnetyzacji I_z i S_z układu dwu jąder I = ½ o różnych przesunięciach chemicznych:

$$d\begin{bmatrix} I_z \\ S_z \end{bmatrix}/dt = \begin{bmatrix} -\rho_I & -\sigma_{IS} \\ -\sigma_{IS} & -\rho_S \end{bmatrix} \begin{bmatrix} I_z - I_0 \\ S_z - S_0 \end{bmatrix} = \mathbf{R}(\mathbf{M}_z - \mathbf{M}_0)$$

można z równań kinetycznych na zmiany obsadzeń poziomów wyznaczyć wyrazy **macierzy relaksacji R** przez prawdopodobieństwa przejść relaksacyjnych W między czterema poziomami układu dwuspinowego (dwujądrowego):

$$\begin{split} \rho_I &= 1/T_{1I} = 2W_1{}^I + W_0 + W_2; \quad T_{1I} - czas \text{ relaksacji podłużnej jądra I} \\ \rho_S &= 1/T_{1S} = 2W_1{}^S + W_0 + W_2; \quad T_{1S} - czas \text{ relaksacji podłużnej jądra S} \\ \sigma_{IS} &= W_2 - W_0 \end{split}$$

Dla dyfuzji rotacyjnej cząsteczki w postaci sztywnej sfery z jednym czasem korelacji τ_c :

$$W_{1}^{I} = (3/20)(\mu_{0}/4\pi)2\gamma_{I}^{2}\gamma_{S}^{2}\hbar^{2}r_{ij}^{-6}\frac{\tau_{c}}{1+\omega_{1}^{2}\tau_{c}^{2}} \text{ i analogicznie } W_{1}^{S} \text{ (zamiana I} \rightarrow S)$$
$$W_{0} = (1/10)(\mu_{0}/4\pi)2\gamma_{I}^{2}\gamma_{S}^{2}\hbar^{2}r_{ij}^{-6}\frac{\tau_{c}}{1+(\omega_{I}-\omega_{S})^{2}\tau_{c}^{2}}$$
$$W_{2} = (3/5)(\mu_{0}/4\pi)2\gamma_{I}^{2}\gamma_{S}^{2}\hbar^{2}r_{ij}^{-6}\frac{\tau_{c}}{1+(\omega_{I}+\omega_{S})^{2}\tau_{c}^{2}}$$

Efekt Overhausera na jądrze I powstaje wskutek wyrównania boltzmannowskich obsadzeń poziomów jądra S: $S_z = 0$, i można go mierzyć w eksperymencie jednowymiarowym poprzez zmianę intensywności sygnału jądra I selektywnie wysycając impulsem o częstości v_S przejścia rezonansowe jądra S (<u>UWAGA</u>: impuls jest na tyle słaby, że <u>nie</u> powoduje odsprzęgania). W warunkach <u>stacjonarnych</u> dI_z/dt = 0

$$f_{I}(S) = \frac{(W_{2} - W_{0})S_{0}}{(2W_{1}^{T} + W_{2} + W_{0})I_{0}}$$

W warunkach <u>niestacjonarnych</u> "budowanie" efektu NOE między jądrami I i S, jest proporcjonalne do czasu t_m trwania selektywnego impulsu wysycąjącego o częstości v_s , bezpośrednio przed impulsem rejestrującym:

;

$$f_{I}(S) = \frac{\sigma_{IS}}{\rho_{I}} [1 - exp(\rho_{I}t_{m})] (S_{0}/I_{0})$$

Efekt jest dodatni dla małych cząsteczek, bliski zeru dla zakresu mas cząsteczkowych ~ $800 \div 2000$ Da oraz ujemny dla makromolekuł. Równanie na czasową zależność M można uogólnić do układu dowolnej ilości N jąder, z macierzą relaksacji R o wymiarze N × N. Można również zastosować bardziej ogólny model dyfuzji rotacyjnej, z trzema czasami korelacji na obrót dowolnej bryły wokół trzech osi układu diagonalizującego moment bezwładności plus ruchy wewnętrzne.

W analizie makromolekuł stosuje się eksperyment dwuwymiarowy **NOESY** (*Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY*), który składa się z trzech impulsów; pierwszy i drugi impuls oddzielone inkrementowanym czasem wzrastającym o stały okres, a drugi i trzeci są oddzielone stałym czasem t_m mieszania (*"mixing" time*) "budowania efektu NOE - (spektroskopia wielowymiarowa NMR będzie omówiona na <u>następnym wykładzie</u>). Miarą

efektu NOE są intensywności a_{ij} tzw. sygnałów pozadiagonalnych (*cross-peaks*) na widmach NOESY:

$$a_{ij}(t_m) = \frac{n_j}{N} [exp(-\mathbf{R}t_m)]_{ij} \mathbf{M}_0$$

n_i - ilość jąder w j - tej grupie jąder równoważnych magnetycznie $\Sigma_i n_i = N$ Intensywności a_{ij} rosną początkowo w funkcji wzrastającego czasu t_m, w którym powstaje efekt NOE w wyniku oddziaływań DD, a następnie maleją w wyniku procesu dyfuzji spinowej, czyli "odpływu" magnetyzacji od pary oddziałujących w NOE jąder do pozostałych jąder (protonów) cząsteczki. Dla izolowanych par jąder i/lub bardzo krótkich czasów t_m (a_{ij} ekstrapolowane do wartości dla $t_m = 0$) wyskalowana intensywność a_{ij}, poprzez wyrazy R_{ii} macierzy relaksacji daje <u>bezpośrednio</u> odległości jądro - jądro. Możliwe do wyznaczenia z NOE odległości proton-proton zawierają się w zakresie od 2 Å (suma promieni van der Waalsa protonów) do 6 Å. Ostatnio zaczęto również wyznaczać odległości między innymi jądrami w makromolekułach znakowanych ¹³C i ¹⁵N. Dla dłuższych czasów t_m,, które zapewniają wysoką intensywność sygnałów NOE, dokładne wyznaczanie odległości wymaga uwzględnienia dyfuzji spinowej. Pakiety komercyjne do wyznaczania struktur cząsteczek zawierają zwykle programy ortogonalizujące macierz R (np. program MARDIGRAS Borgias & James J. Magn. Reson. 87, 475, 1990), co pozwala wyznaczyć wartości elementów R_{ij}, a z nich intensywności a_{ij} dla całego układu spinowego cząsteczki.

W zakresie średniej wielkości cząsteczek, dla których efekt NOE jest bliski zeru w laboratoryjnym układzie odniesienia opracowano eksperyment ROESY (*rotating-frame Overhauser effect spectroscopy*) pomiaru NOE w układzie wirującym z zastosowaniem pola *spin-lock* "zamykającego" spiny jąder. Piki pozadiagonalne ROESY są dodatnie w całym zakresie mas cząsteczkowych, a metoda pozwala odróżnić bezpośredni efekt NOE od dyfuzji spinowej.

WYKŁAD 13

ELEKTRONOWY REZONANS PARAMAGNETYCZNEY (EPR, electron paramagnetic resonance) jest techniką spektroskopową "bliźniaczą" w stosunku do NMR. W spektroskopii EPR rejestruje się rezonans magnetyczny elektronów o niezerowym spinie wypadkowym S w silnym, statycznym polu magnetycznym B_0 (0.1 ÷ 6 T). Efekt rezonansu można zarejestrować dla następujących układów molekularnych:

- wolne rodniki: cząsteczki z jednym niesparowanym elektronem na orbitalu σ lub na orbitalu π ;

- cząsteczki w stanie trypletowym T czyli z <u>dwoma</u> niesparowanymi elektronami o zgodnych spinach;

- pierwiastki **ziem rzadkich** układu okresowego o niekompletnie zapełnionych powłokach wewnętrznych i ich kompleksy;

 niektóre izolatory i półprzewodniki, najczęściej z nieregularnościami zawierającymi schwytane elektrony lub dziury.

Ze spinem elektronowym S związany jest moment magnetyczny elektronu [PLANSZA 66: spektroskopia EPR]:

$$\boldsymbol{\mu}_{\rm e} = -\gamma_{\rm e} \hbar \mathbf{S}$$

 $\gamma_e = -g_e \beta / \hbar$ współczynnik żyromagnetyczny elektronu; β - magneton Bohra,

czynnik Landego ge = 2.003 dla swobodnego elektronu

Hamiltonian swobodnego elektronu w polu o indukcji B_0 ma dwie funkcje własne i dwie odpowiadające im energie własne:

$$\begin{aligned} |\alpha\rangle &= |\frac{1}{2}, \frac{1}{2}\rangle & E_{\alpha} &= +\frac{1}{2}\gamma_{e}\hbar B_{0} \\ |\beta\rangle &= |\frac{1}{2}, -\frac{1}{2}\rangle & E_{\beta} &= -\frac{1}{2}\gamma_{e}\hbar B_{0} \end{aligned}$$

Zjawisko rezonansu elektronowego polega na wzbudzeniu elektronu na wyższy poziom kwantem energii pola B_1 wirującego w płaszczyźnie prostopadłej do B_0 z częstością rezonansową w zakresie mikrofal (GHz):

 $\omega_0 = (g_e \beta/\hbar) B_0 = \gamma_e B_0$ 9.5 GHz w polu $B_0 = 0.34 \text{ T}$

i z **prawdopodobieństwem przejścia** analogicznym jak dla jądra o spinie I = $\frac{1}{2}$. (<u>podana</u> <u>poprzednio</u> formuła Majorana). Podobnie jak w NMR, różnice obsadzeń poziomów E_{α} i E_{β} generują makroskopową magnetyzację elektronową, której ruch opisują **równania Blocha** z członem oddziaływania magnetyzacji z polami zewnętrznymi i członami relaksacyjnymi (relaksacja podłużna i poprzeczna) [**PLANSZA 54**].

Struktura widma EPR [<u>PLANSZA 67</u>: widmo EPR wolnego rodnika] zależy od szeregu czynników:

(a) typu układu paramagnetycznego,

(b) stanu skupienia próbki,

(c) otoczenia chemicznego (elektronowego) elektronu ulegającego rezonansowi,

(d) jądrowego otoczenia elektronu.

W ogólnym przypadku układu molekularnego **warunek rezonansu** [PLANSZA 66] zachodzi dla pola B_{rez}, które "przemiata" cały zakres widmowy EPR przy stałej częstości:

$$B_{rez} = \frac{h\nu}{g\beta} \qquad g \neq g_e$$

Technika przemiatania polem (odpowiednik zarzuconej w NMR techniki cw, *continous wave* przemiatania częstością) jest ciągle stosowana w spektroskopii EPR na równi z techniką wzbudzania impulsami i transformacją Fouriera sygnału. Czynnik Landego g spełnia rolę analogiczna jak stała ekranowania (przesunięcie chemiczne) w spektroskopii NMR. Zakres zmienności czynnika g (Δ g) wynosi od 0,001ge w wolnych rodnikach do 0,3ge, np. dla jonów żelaza w hemoglobinie. Widma EPR [PLANSZA 67] zapisuje się inaczej niż widma NMR: pozioma oś natężenia pola magnetycznego [Gs] i rejestracja sygnału dyspersji (a nie absorpcji), tak że położenie linii wyznacza przejście przez oś poziomą (zero sygnału). W przypadku rodnika na PLANSZY mamy do czynienia z dwiema formami związku, które dają dwa układy linii rezonansowych.

W ogólnym ujęciu [PLANSZA 66] zjawiska rezonansu elektronowego w materii skondensowanej czynnik g jest tensorem opisującym oddziaływanie z polem B₀:

 $\mathbf{H} = \mathbf{B}_0 \mathbf{g} \mathbf{S}$

 $\mathbf{g} = g_e \mathbf{E} + \Delta \mathbf{g}$ \mathbf{E} - macierz jednostkowa

Sygnały EPR ulegaja dwu rodzajom rozszczepień.

(A) Rozszczepienia subtelne są wynikiem bezpośredniego oddzialywania dipol-dipol (DD) między momentami magnetycznymi elektronów μ_e w układach pozbawionych szybkich ruchów molekularnych.

(B) Rozszczepienia nadsubtelne są wynikiem oddziaływania DD momentów magnetycznych niesparowanych elektronów z momentami magnetycznymi otaczających jąder $\mu_{\mathbf{k}} = \gamma \hbar \mathbf{I}_{\mathbf{k}}$; hamiltonian oddziaływania:

 $\mathbf{H}_{\mathbf{D}\mathbf{D}} = \mathbf{S} \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{I}$

W gazach, cieczach i roztworach, ze względu na zachodzenie szybkich ruchów molekularnych, następuje uśrednienie Δg (i całego g) do skalara:

$$\Delta g = (1/3) Tr \Delta g$$

Jednak "wąskie linie" EPR ~0.1 Gs, czyli **0.1 MHz** (*vs.* Hz jak w NMR), są znacznie szersze niż linie NMR w warunkach "high resolution" z powodu krótkich czasów relaksacji elektronu T₂. W **ciałach stałych** linie EPR są ok. 20 razy szersze, czyli ~2 Gs. Podobnie, w gazach, cieczach i roztworach "znika" oddziaływanie DD elektron-elektron a tensor rozszczepienia nadsubtelnego **A** ulega redukcji do skalara a:

$H_{DD} = aSI$

Hamiltonian elektronu paramagnetycznego dla cząsteczek w roztworze w obecności jąder (część jądrowa pominięta):

 $\mathbf{H} = g\beta B_0 \mathbf{S}_{\mathbf{z}} + \sum_k a_k \mathbf{I}^k \cdot \mathbf{S}$ sumowanie po otaczających jądrach z niezerowymi spinami ($\mathbf{I}^k \neq 0$)

Ze względu na to, że drugi człon w H jest małym zburzeniem w stosunku do pierwszego człony można przyjąć:

 $\sum_{k} a_k \mathbf{I}^k \cdot \mathbf{S} \approx \sum_{k} a_k \mathbf{I}_z^k \mathbf{S}_z$

Energie rozszczepionych poziomów elektronu i reguły wyboru dla przejść między poziomami:

$$\begin{split} E &= g\beta B_0M_S + \sum_k a_kM_I{}^kM_S \quad M_s = -S, \ -S + 1, \dots, \ S - 1, \ S \\ M_I{}^k &= -I^k, -I^k + 1, \dots, \ I^k - 1, \ I^k \ dla \ każdego \ k \end{split}$$

 $\Delta M_s = +1$ $\Delta M_I^k = 0$

dają położenia n linii w multiplecie [**PLANSZA 67**], duże rozszczepienie od ¹⁴N (I = 1), małe od najbliżej położonych ¹H:

$$n = \prod_{j} (2I^{j} + 1)$$

Spektroskopia EPR uzyskuje coraz większe zainteresowanie w **biofizycznych zastosowaniach** z wykorzystaniem znakowania spinowego sondami paramagnetycznymi, np. MTSL (tiosulfonian metanu) lub tlenek azotu (N–O):

(a) analiza **dynamiki cząsteczek** w szerokim zakresie czasów korelacji $\underline{\tau_c} \sim 10^{-3}$ s ÷ 10^{-11} s; (b) **wyznaczanie odległości do** <u>20Å</u> w bardzo dużych układach, np. białka zakotwiczone w błonach.

WSPÓŁCZESNE **TECHNIKI SPEKTROSKOPOWE** wykorzystują niekonwencjonalne podejścia analizie oddziaływania promieniowania W elektromagnetycznego z cząsteczkami, z wykorzystaniem osiągnięć w zakresie optyki i elektroniki. Charakterystycznymi przykładami mogą być laserowe wzbudzenia dwu- i wielokwantowe, z jednoczesną absorpcją większej ilości kwantów oraz up-conversion (J. Zhou et al. Chemical Reviews 115, 395, 2014) z sekwencyjną absorpcją dwu- lub większej ilości kwantów i emisją fotonu o częstości większej niż częstość wzbudzająca (np. konwersja światła IR do VIS). Skoncentruję się na dwóch zagadnieniach o charakterze "uniwersalnym", tzn. dotyczącym szerszej klasy metod spektroskopowych.

(A) SPEKTROSKOPIA WIELOWYMIAROWA bazuje na tzw. efektach nieliniowych w optyce, W konwencjonalnych widmach jednowymiarowych 1D (intensywność sygnału I(v) w funkcji częstości promieniowania) rejestruje się liniową polaryzację elektryczną lub magnetyczną w rozwinięciu w szereg potęgowy względem natężenia pola elektrycznego E (tzn. moment dipolowy) lub indukcji B, jako odpowiedź układu molekularnego na promieniowanie elektromagnetyczne w formie ciągłego wzbudzenia lub wzbudzenia jednym impulsem. W technikach wielowymiarowych nD (n = 2, 3,...) rejestrowana jest koherentna polaryzacja wyższego rzędu indukowana przez sekwencje impulsów, która po transformacji Fouriera jest obrazowana w przestrzeni n + 1 wymiarowej (n osi częstości plus oś intensywności sygnału).

(B) SPEKTROSKOPIA POJEDYNCZEJ CZĄSTECZKI (SMS; *single molecule spectroscopy*) polega na rejestracji widm pojedynczych makromolekuł, w przeciwieństwie do dotychczas omawianych spektroskopowych metod rejestracji stanów "średnich" (po zespole statystycznym) makroskopowego układu molekularnego.

Początek **METODOM WIELOWYMIAROWYM** dała wielowymiarowa spektroskopia nD NMR (n = 2, 3, 4, ...) na przełomie lat 70-tych i 80-tych XX w. Próby wykorzystania NMR-u do badań złożonych białek i kwasów nukleinowych, natrafiły na zasadnicze trudności związane z nakrywaniem się sygnałów pochodzących od dużej liczby jąder (najczęściej protonów), co uniemożliwiało wykonanie przyporządkowania sygnałów na widmach nawet dla stosunkowo małych biomolekuł, jak białko BPTI (*basic pancreatic trypsin inhibitor*), 58 aminokwasów i ok. 230 protonów [**PLANSZA 55**].

Pomiary czasów relaksacji [PLANSZA 64] były przykładami zastosowania nie jednego, ale sekwencji impulsów przykładanych do układu jądrowego w celu wyznaczenia parametrów <u>nieosiągalnych</u> w prostym, jednoimpulsowym eksperymencie

NMR. **Projektowanie eksperymentów NMR** wymaga analizy ewolucji układu jąder w statycznym polu B₀, oddziałujących ze sobą i z otoczeniem sieciowym, pod wpływem zadanej sekwencji impulsów. Analizę przeprowadza się na gruncie trzech modeli:

(1) **Jakościowy model wektorowy (Blocha)**, w którym układ jądrowy jest opisywany klasycznie [PLANSZA 54], ale który zawodzi w przypadku niektórych eksperymentów.

(2) Rozwiązanie równania ruchu na macierz gęstości [PLANSZA 56]. W tym modelu układ jądrowy jest opisywany <u>kwantowo</u> na gruncie fizyki statystycznej, a rozwiązanie równania dla konkretnego eksperymentu pozwala wyznaczyć teoretycznie dowolne widmo NMR. Jednak model kwantowy jest pozbawiony poglądowości modelu klasycznego.

(3) **Formalizm operatorów iloczynowych**, który zachowuje <u>ścisłość</u> analizy kwantowostatystycznej przy zachowaniu <u>poglądowości</u> modelu wektorowego.

Zasadnicze punkty modelu wektorowego [PLANSZA 68 i 69: model wektorowy analizy eksperymentów NMR] będą szczegółowo omawiane na ćwiczeniach. Na wektor całkowitej magnetyzacji układu N jąder cząsteczki (w naszym przypadku N = 2) składają się wektory o różnych częstościach rezonansowych (częstotliwościach precesji) ω_k , które wynikają z różnic przesunięć chemicznych i sprzężeń skalarnych. Taki wektor magnetyzacji cząstkowej $M^{K\lambda}$ K-tego jądra odpowiada dwóm jego poziomom rezonansowym, dla ustawień spinu jądra sprzężonego z jądrem K-tym: $\lambda = \alpha$ (funkcja falowa $|\frac{1}{2}, \frac{1}{2}>$) lub β (funkcja falowa $|\frac{1}{2}, -\frac{1}{2}>$) (dla większej ilości jąder wprowadza się więcej wskaźników, $\lambda_1, \lambda_2,...$ itd.):

$$\begin{split} \mathbf{M}^{K\lambda} \sim \mathcal{N} \gamma_K \Delta p(K,\lambda) \mathbf{i}_s \quad s = x, \, y, \, \text{lub } z; \quad \mathbf{i}_s \text{ - wektor jednostkowy}, \quad \mathcal{N}\text{- stężenie} \\ & (\text{ilość jąder; cząsteczek}) \text{ w próbce} \end{split}$$

 $\Delta p(K, \lambda)$ - różnica obsadzeń poziomów rezonansowych jądra K

<u>Nieselektywny</u> impuls obraca całą magnetyzację o określony kąt wokół osi przyłożenia B₁, np. x' w układzie (x',y', z), wirującym (wokół z) z częstością ω_0 odpowiadającą środkowi całego zakresu widmowego SW przesunięć chemicznych (*spectral width*). Generuje się magnetyzacja prostopadła do B₀, M_⊥^{Kλ} = M_{xy}^{Kλ}, równa sumie magnetyzacji cząstkowych. Każda z nich ulega w układzie wirującym precesji z częstością $\omega_0 + \omega_k$ lub $\omega_0 - \omega_k$, zgodnie z przesunięciem chemicznym, sprzężeniami skalarnymi i relaksacją, dając po jednej linii na widmie NMR. Położenie magnetyzacji w układzie wirującym z częstością ω_0 w momencie rozpoczęcia detekcji (tzw. kwadraturowej) na początku precesji, np. kąt φ względem osi y', **wyznacza fazę sygnału**: "czysta" absorpcja $\varphi = 0$, "czysta" dyspersja $\varphi = 90$ deg, ujemna absorpcja (emisja) $\varphi = 180$ deg, i ujemna dyspersja $\varphi = 270$ deg. Na gruncie modelu wektorowego można w prosty sposób wyjaśnić np. eksperyment INEPT (*Insensitive Nuclei Enhancement by Polarization Transfer*), który pozwala rejestrować ze <u>zwiększoną czułością</u> widma jąder o niskiej zawartości izotopowej (A = ¹⁵N, ¹³C) jeśli sprzęgają się skalarnie z jądrami o wysokiej abundancji (X = ¹H) {**Zadanie 32**}. Wzrost intensywności sygnałów jądra X w eksperymencie INEPT określa głównie stosunek współczynników żyromagnetycznych obu typów jąder γ_A/γ_X i wzmocnienie sygnału wynosi ponad 4 razy dla jąder A = ¹³C i ponad 10 razy dla jąder A = ¹⁵N (uwzględniając różnice w czasach relaksacji jąder A oraz X).

Rozwinięciem idei eksperymentów wieloimpulsowych było rozciągnięcie widma ¹H NMR w dwóch wymiarach przesunięć chemicznych z trzecią osią intensywności sygnałów [PLANSZA 70: eksperyment dwuwymiarowy NMR: ¹H, ¹H NOESY]. Zwykle widmo 2D przedstawia się w postaci dwuwymiarowych przekrojów "poziomicowych" przez trzecią oś intensywności sygnału. Uzyskano w ten sposób:

- rozładowanie informacji przez rozciągnięcie "zatłoczonych" obszarów widma w dwóch kierunkach;

- edytowanie informacji: zależnie od typu eksperymentu (sekwencji impulsów) uzyskuje się sygnały pozadiagonalne (*cross-peaks*), które niosą informację o oddziaływaniach międzyjądrowych i są znacznie lepiej rozdzielone niż sygnały na widmie 1D.

Widmo 2D uzyskuje się rejestrując n eksperymentów 1D, zwykle od n = 64 do n = 1024, w których czas t₁ między określonymi dwoma impulsami rezonansowymi jest <u>inkrementowany</u> o stałą wartość (t₁ + n Δ t₁) od t₁ = 0 do t₁ o długości porównywalnej z czasem t₂ rejestracji sygnału FID. Dwukrotna transformacja Fouriera sygnału M_{xy}(t₁, t₂) daje sygnał zależny od dwóch częstości ω_1 i ω_2 :

 $\mathbf{S}(\omega_1, \omega_2) = \iint \mathbf{M}_{xy}(t_1, t_2) \exp(-i\omega_1 t_1) \exp(-i\omega_2 t_2) dt_1 dt_2$

W najprostszym homojądrowym eksperymencie dwuwymiarowym **COSY** (<u>CO</u>rrelated <u>SpectroscopY</u>) złożonym z dwu impulsów o częstości rezonansowej ¹H oddzielonych inkrementowanym czasem t₁, pozadiagonalne sygnały opisane przez dwa przesunięcia chemiczne δ_k i δ_l odpowiadają dwóm protonom k oraz l sprzężonym skalarnie $J_{kl} \neq 0$ {Zadanie 33}. W trójimpulsowym eksperymencie homojądrowym NOESY (<u>Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY</u>) z czasem inkrementowanym t₁ między pierwszym i drugim impulsem i stałym czasem "mixing" t_m między drugim i trzecim obserwuje się cross-peaks odpowiadające parom protonów sprzężonych dipolowo (efekt Overhausera) [PLANSZA 65]. Nie wszystkie protony są ujawnione na sygnałach pozadiagonalnych,

a jedynie te sprzęgające się, w COSY skalarne, a w NOESY dipolarnie. Na diagonali jest widmo jednowymiarowe. Straty informacji wynikające z edytowania są rekompensowane przez rozdzielenie sygnałów, tak że dla małych biomolekuł o masach cząsteczkowych do ok. 10 ÷ 12 kDa uzyskuje się przyporządkowania widm ¹H NMR zwykle powyżej 80%, na podstawie eksperymentu COSY i jego modyfikacji (np. DQF-COSY, double-quantum filtring COSY, TOCSY, <u>TO</u>tal <u>Correlated SpectroscopY</u>) oraz eksperymentu NOESY. Niestety, homojądrowe eksperymenty 2D typu COSY i NOESY nie dają się analizować na gruncie modelu wektorowego i wymagane jest zastosowanie (przynajmniej) *formalizmu operatów iloczynowych**.

* *Formalizmu operatów iloczynowych* w zastosowaniu do dwu-impulsowego (impulsy 90° wzdłuż osi X układu wirującego) **eksperymentu COSY** $(\pi/2)_X-t_1-(\pi/2)_X-t_2$ (FID), dla dwu jąder k oraz l (*O.W. Sørensen et al. Progress in NMR Spectroscopy 16, 163, 1983*). Operator macierzy gęstości ρ po ewolucji w okresach czasu τ pod wpływem propagatorów exp($-H\tau$) wyznaczonych przez hamiltoniany **H**, przyjmuje wartości: <u>przed</u> pierwszym impulsem (równowaga boltzmannowska): ρ_0 , = $I_{kz} + I_{lz}$

<u>po</u> pierwszym impulsie, propagator $\exp\{-i(\pi/2)(\mathbf{I}_{\mathbf{kx}} + \mathbf{I}_{\mathbf{lx}})\}$: $\rho_1 = -\mathbf{I}_{\mathbf{ky}} - \mathbf{I}_{\mathbf{ly}}$

<u>przed</u> drugim impulsem, po ewolucji t_1 z propagatorem exp{ $-it_1(\Omega_k \mathbf{I}_{kz} + \Omega_l \mathbf{I}_{lz} + \pi \mathbf{J}_{kl} 2 \mathbf{I}_{kz} \mathbf{I}_{lz})$ }:

 $\boldsymbol{\rho}_{2} = [-I_{ky} cos \Omega_{k} t_{1} + I_{kx} sin \Omega_{k} t_{1} - I_{ly} cos \Omega_{l} t_{1} + I_{lx} sin \Omega_{l} t_{1}] cos \pi J_{kl} t_{1} + [2I_{kx} I_{lz} cos \Omega_{k} t_{1} + 2I_{ky} I_{lz} sin \Omega_{k} t_{1} + I_{ly} sin \Omega_{l} t_{1}] cos \pi J_{kl} t_{1} + [2I_{kx} I_{lz} cos \Omega_{k} t_{1} + 2I_{ky} I_{lz} sin \Omega_{k} t_{1} + I_{kx} sin \Omega_{k} t_{1} + I_{kx} sin \Omega_{k} t_{1}] cos \pi J_{kl} t_{1} + [2I_{kx} I_{lz} cos \Omega_{k} t_{1} + 2I_{ky} I_{lz} sin \Omega_{k} t_{1} + I_{kx} sin \Omega_{k} t_{1} + I_{kx} sin \Omega_{k} t_{1}] cos \pi J_{kl} t_{1} + I_{kx} sin \Omega_{k} sin \Omega_{k} t_{1} + I_{kx} sin \Omega_{k$

 $2\mathbf{I}_{\mathbf{k}\mathbf{z}}\mathbf{I}_{\mathbf{k}\mathbf{x}}\cos\Omega_{\mathbf{l}}\mathbf{t}_{1} + 2\mathbf{I}_{\mathbf{k}\mathbf{z}}\mathbf{I}_{\mathbf{l}\mathbf{y}}\sin\Omega_{\mathbf{l}}\mathbf{t}_{1}]\sin\pi J_{\mathbf{k}\mathbf{l}}\mathbf{t}_{1}$

gdzie Ω_k , Ω_l przesunięcia chemiczne, a J_{kl} stała sprzężenia jąder k i l.

<u>po</u> drugim impulsie, propagator exp $\{-i(\pi/2)(\mathbf{I}_{\mathbf{kx}} + \mathbf{I}_{\mathbf{lx}})\}$, i przy zachowaniu <u>tylko</u> obserwabli:

 $\boldsymbol{\rho}_{3}^{obs} = [\mathbf{I}_{kx} \sin \Omega_k t_1 + \mathbf{I}_{ly} \sin \Omega_l t_1] \cos \pi J_k t_1 - [2\mathbf{I}_{ky} \mathbf{I}_{lz} \cos \Omega_l t_1 + 2\mathbf{I}_{kz} \mathbf{I}_{ly} \sin \Omega_l t_1] \sin \pi J_k t_1$

Transformacje pod wpływem kolejnych propagatorów (wyprowadzenie: *C.P. Slichter Principles of Magnetic resonance, 1963*); przykładowo dla impulsu obracającego magnetyzację jądra k o kąt β , $\beta = \pi/2$:

 $exp(-i\beta I_{kx})I_{kz}exp(i\beta I_{kx}) = I_{kz}\cos\beta - I_{ky}\sin\beta = -I_{ky}$

i podobnie dla jądra l oraz analogiczne dla pozostałych propagatorów

Interpretacja obserwabli (cztery człony p3ºbs) prowadzących do widma w okresie detekcji t2:

- pierwszy człon daje dublety w obu kierunkach na diagonali ($\omega_1 = \omega_2 = \Omega_k$), gdzie obie linie każdego dubletu są w fazie (zależność cosinus od J_{kl}).

- drugi człon daje dublety w fazie na diagonali ($\omega_1 = \omega_2 = \Omega_1$)

- trzeci człon daje *cross-peak* dla $\omega_1 = \Omega_1$, $\omega_2 = \Omega_k$ z liniami w antyfazie (zależność sinus od J_{kl}).

- czwarty człon daje *cross-peak* dla $\omega_1 = \Omega_k$, $\omega_2 = \Omega_l$ z liniami w antyfazie.

WYKŁAD 14 & WYKŁAD 15

Analogicznie do dwuwymiarowych eksperymentów homojądrowych 2D ¹H NMR opracowano heterojądrowe eksperymenty dwuwymiarowe, w których można rejestrować korelacje par jąder sprzężonych skalarnie: jedno jądro to najczęściej proton, a drugie to węgiel ¹³C, azot ¹⁵N lub fosfor ³¹P [PLANSZA 71: eksperyment 2D heterojądrowy]. Opracowano różne wersje eksperymentów hetero-COSY, np. HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Correlation*) {Zadanie 34} lub HMBC (*Heteronuclear Multiple-Bond Correlation*). Na jednej osi widma dwuwymiarowego są przesunięcia chemiczne protonów a na drugiej innego z wymienionych heterojąder. Trzecia oś określa intensywności. Widmo nie ma diagonali; a rzutowanie na każdą z osi daje <u>część</u> (edytowanie !) widma jednowymiarowego każdego z jąder.

Spektroskopię dwuwymiarową można rozszerzać na dalsze wymiary. Eksperyment trójwymiarowy 3D NMR [PLANSZA 72: heterojądrowy eksperyment trójwymiarowy] jest złożeniem dwóch eksperymentów dwuwymiarowych o dowolnej kombinacji. Po trójwymiarowej transformacji Fouriera sygnału FID, na każdej z trzech osi jest przesunięcie chemiczne dowolnego jądra sprzegającego się (skalarnie i/lub dipolarnie) z dwoma pozostałymi. Efektywne wykorzystanie metod 3D dają eksperymenty, w których przynajmniej jedna oś jest osią przesunięć chemicznych heterojądra (nieprotonu). Jednak związki muszą być wzbogacane do dużej zawartości rzadkiego izotopu (¹⁵N i/lub ¹³C). Na takich widmach informacja zawarta w pikach pozadiagonalnych widm dwuwymiarowych zostaje "rozciagnięta" na trzeci wymiar i nakrywające się sygnały dwuwymiarowe ulegają rozseparowaniu w trzecim wymiarze, a jeśli to nie wystarcza także w czwartym: 4D NMR. Techniki 3D i 4D pozwalają na wykonanie przyporządkowania w podwójnie znakowanych ¹³C i ¹⁵N biomolekułach o masie cząsteczkowej do ok. 30 kDa. Implementacja do eksperymentów nD wspomnianych już (Wykład 11) technik TROSY i CRINEPT pozwala "teoretycznie" rozszerzyć stosowalność NMR "high resolution" na dowolnie duże układy molekularne. W literaturze opisanych jest ponad 500 eksperymentów wieloimpulsowych, które dają szeroki zakres informacji o cząsteczkach i umożliwiają zastosowanie rezonansu NMR w innych celach niż spektroskopia molekularna.

Wielowymiarowa spektroskopia oscylacyjna (IR i Ramana) i elektronowa (ES, electronic spectroscopy), określane wspólnym terminem wielowymiarowa koherentna

spektroskopia CMDS (*Coherent <u>MultiDimensional Spectroscopy</u>), datuje się od eksperymentów w 1999 roku, ale jeśli chodzi o wielowymiarowe metody IR i Ramana to są one bezpośrednio związane z techniką CARS (<i>Coherent <u>Anti-Stokes Raman Spectroscopy</u>*) z lat 70-tych XX wieku. Niewątpliwy impuls dla rozwoju tych technik dały eksperymenty wielowymiarowe NMR. Różnica polega przede wszystkim na zdecydowanie lepszej rozdzielczości czasowej technik optycznych w analizie dynamiki i przekształceń strukturalnych cząsteczek, które osiagają 100 fs dla spektroskopii oscylacyjnej CMDVS (*Coherent <u>MultiDimensional Vibrational Spectroscopy</u>) i 20 fs dla elektronowej CMDES (<i>Coherent <u>MultiDimensional Electronic Spectroscopy</u>).*

W przykładowym eksperymencie 2D IR echa wibracyjnego 2D IR VE (2D Infra Red Vibration Echo; podobnie jak w NMR jest wiele rodzajów takich eksperymentów) roztworu wodnego NaBr jak na planszy [PLANSZA 73: wielowymiarowa spektroskopia **IR**], zaobserwowano drgania rozciągające $O - {}^{2}H$ w cząsteczkach HO²H. Eksperyment składa się z trzech impulsów IR dostrojonych do pożądanej częstości drgań O - ²H. Pierwsze dwa impulsy w zmiennym (inkrementowanym) odstępie czasu τ "znakują" wyjściowy stan molekularny. Układ ewoluuje w stałym czasie T_w między drugim a trzecim impulsem (odpowiednik czasu mixing w NMR). Podczas detekcji po trzecim impulsie w czasie m, $0 \le m \le \tau$, powstaje sygnał echa dla którego rejestruje się amplitudę i fazę (heterodyne detection) przez złożenie z dodatkowym, słabym impulsem LO (local oscilator). Po dwuwymiarowej transformacji Fouriera powstaje widmo we współrzędnych ω_{τ}/ω_m , które zawiera sygnały diagonalne i pozadiagonalne. Diagonalne odpowiadaja drganiom rozciągającym O – ²H cząsteczek wody związanych z anionami Br⁻ (wyższa częstość) i w wiązaniach wodorowych z tlenami innych cząsteczek wody (niższa częstość). Sygnały **pozadiagonalne odpowiadają wymianie chemicznej** deuteru między obu typami cząsteczek wody. Zależność czasowa wzrostu pików pozadiagonalnych i zaniku diagonalnych w funkcji T_w dostarcza wartości stałych szybkości wymiany. Techniki 2D IR umożliwiają pomiar wzajemnych korelacji różnych modów drgań cząsteczki, co w powiązaniu z odpowiednią analizą teoretyczną pozwala np. wyznaczyć odległości między tymi drgającymi fragmentami. Jeszcze większe możliwości wglądu w dynamikę molekuł dają aktualnie rozwijane techniki 3D IR.

Podobnie jak spektroskopia 2D IR, **spektroskopia elektronowa 2D** wykorzystuje trzy superkrótkie impulsy laserowe, oddzielone zmiennym czasem τ (koherencji) i stałym T. Wzbudzenie tzw. **odpowiedzi optycznej** <u>trzeciego</u> rzędu polaryzacji układu molekularnego daje sygnał koherentnej emisji, którego detekcja (*heterodyne* - LO) w czasie t, tzw. refazowania (*rephasing*), a następnie fourierowska transformacja daje widmo elektronowe 2D ω_τ/ω_t [PLANSZA 74: wielowymiarowa spektroskopia elektronowa]. Sygnały pozadiagonalne przy wzbudzeniu i emisji o różnych częstościach pozwalają:

(a) identyfikować korelacje (sprzężenia) między stanami elektronowymi;

(b) określać **drogi przepływu energii wzbudzenia**, a stąd wyznaczać konfiguracje przestrzenne przez próbkowanie przejść elektronowych (znaczące osiągnięcia w badaniach fotosyntezy).

Badanie dużych polimerów biologicznych i ich kompleksów można prowadzić w sposób niestandardowy dla pojedynczej cząsteczki. Opracowanie różnych technik obserwacji pojedynczych, dużych biomolekuł przy użyciu różnego typu mikroskopów (mikroskopia sił atomowych AFM, mikroskopia elektronowa cryo-EM) oraz manipulacji pojedynczymi molekułami (szczypce optyczne, szczypce magnetyczne, mikroskopia sił atomowych AFM) zwróciło uwagę na możliwość analogicznego podejścia w spektroskopii. Aktualne metody SPEKTROSKOPII POJEDYNCZEJ CZĄSTECZKI (SMS, *single molecule spectroscopy*) dotyczą emisji fluorescencyjnych sond przyczepionych do makrocząsteczek. Technika SMS wymaga wyrafinowanych metod:

- wzbudzania małych obszarów (redukcja tła),

- wydajnej optyki zbierania światła fluorescencyjnego,

- punktowych detektorów o dużej czułości typu CCD (charge coupled device).

Szereg przykładowych zastosowań fluorescencji w wersji SMS [PLANSZA 75: spektroskopia SMS] obejmuje określenie następujących parametrów.

(A) Lokalizacja pojedynczego fluoroforu z dużą dokładnością. Punktowe w stosunku do długości fali źródło emisji (fluorofor) daje plamkę PSF (*point-spread-function*), której położenie można zlokalizować z dokładnością do ok. nanometra.

(B) Wzajemna lokalizacja makromolekuł znakowanych sondami (odejmowanie PSFs)

(C) Śledzenie w czasie zmian konformacyjnych w pojedynczej cząsteczce z dwoma fluoroforami

oraz

(D) zmian w czasie wzajemnego położenia dwóch makrocząsteczek z różnymi sondami fluorescencyjnymi (procesy asocjacji i dysocjacji). W obu przypadkach wykorzystuje się efekt <u>rezonansowego transferu energii</u> wzbudzenia FRET dla fluoroforów odległych o ok. 2 ÷ 8 nm.

(E) Orientacja momentu dipolowego przejścia cząsteczki przyczepionej do podłoża oraz

(F) stopień ruchliwości momentu (*orientational freedom*). Informację uzyskuje się poprzez modulację <u>polaryzacji</u> światła wzbudzającego.

(G) Wpływ parametrów otoczenia na makrocząsteczki poprzez rejestracje zmian świecenia i czasów życia fluorescencji. Przykładowo, fluktuacje intensywności świecenia fluoroforu przyczepionego do kanału błonowego oddaje lokalne zmiany stężenia przepływających jonów.

(H) Łączenie kilku technik SMS, np. (C) i (G) daje informacje o zmianach konformacyjnych <u>kanałów jonowych</u> pod wpływem zmian przepływu jonów.

Problem szeroko rozumianego wykorzystania metod spektroskopowych był już poruszany wielokrotnie w trakcie całego wykładu. Zakres zagadnień z fizyki (biofizyki), chemii i biologii molekularnej, które można badać metodami spektroskopowymi jest bardzo szeroki [PLANSZA 76: zastosowania spektroskopii] i wykracza poza zagadnienia czysto molekularne.

- (A) Oznaczanie zawartości związków chemicznych w roztworach oraz wyznaczanie ich stężeń: absorpcja UV-VIS
- (B) Wyznaczanie struktury chemicznej cząsteczek organicznych (wzór strukturalny): NMR, IR i Raman;
- (C) Wyznaczanie parametrów struktury elektronowej
 - klasyfikacja stanów elektronowych cząsteczek: absorpcja UV-VIS, emisja wymuszona, fluorescencja;
 - drogi transferu energii wzbudzenia elektronowego: CMDES
- (D) Wyznaczanie (ilościowe lub jakościowe) struktury przestrzennej cząsteczek:
 - długości wiązań i kąty płaskie: IR, Raman, NMR
 - stereoizomeria: ROA, VCD, CD
 - konformacje: NMR, EPR, fluorescencja (FRET), CMDS, CD, VCD, RR
- (E) Wyznaczanie parametrów dynamicznych ruchów molekularnych:
 - dyfuzji rotacyjnej: fluorescencja, NMR
 - dyfuzji translacyjnej: EPR, fluorescencja FCS
 - wymiany chemicznej, w tym przekształceń konformacyjnych: CMDS, NMR
- (F) Śledzenie przekształceń konformacyjnych: absorpcja UV-VIS, CD, NMR

- (G) Wyznaczanie populacji konformerów i wysokości barier energetycznych dla przejść konformacyjnych: NMR
- (H) Analiza oddziaływań międzycząsteczkowych:
 - asocjacje w kompleksy stabilizowane przez wiązania wodorowe, stacking: IR, Raman, NMR, CMDVS
 - agregacje: ES, NMR
- (I) Weryfikacja obliczeń kwantowych: IR, Raman, NMR
- (J) Wspomaganie technik mikroskopowych: fluorescencja, RR
- (K) Śledzenie manipulacji pojedynczymi molekułami: SMS
- (L) Nieinwazyjne obrazowanie w diagnostyce medycznej: NMR
- (M) Komputery kwantowe: NMR

Już w latach 60-tych XX wieku pokazano duże możliwości spektroskopii w badaniach ODDZIAŁYWAŃ MIEDZYCZĄSTECZKOWYCH (punkt H), np. detekcja IR powstawania stabilizowanych wiązania wodorowe kompleksów przez komplementarnych zasad kwasów nukleinowych w roztworze niepolarnym [PLANSZA 77: komplementarne parowanie zasad AT; absorpcja IR]. W klasycznej pracy Hamlin et al. Science 148, 1734, 1965 zarejestrowano charakterystyczne pasma drgań rozciągających –NH₂ dla 9-etylo-adeniny: 3416 cm⁻¹ i 3527 cm⁻¹[PLANSZA 27]. Wzrost stężenia prowadzi do powstania dodatkowych pasm od drgań rozciągających N-H w wiazaniach wodorowych N-H...N autoasocjatów: 3482 cm⁻¹, 3312 cm⁻¹ i 3255 cm⁻¹. Podobnie w 1-cykloheksylo-uracylu występuje drganie rozciągające N-H przy 3392 cm⁻¹ a wzrost stężenia prowadzi do pojawienia się dodatkowych pasm dla tej grupy w wiązanich wodorowych autoasocjatów N–H...O: 3210 cm⁻¹, 3110 cm⁻¹, 3050 cm⁻¹. W mieszaninie obu związków obserwuje się nowe silne pasma przy 3490 cm⁻¹ i 3330 cm⁻¹ (słabsze przy 3260 cm⁻¹ i 3200 cm⁻¹), odpowiadające wiązaniom wodorowym N-H...N i N-H...O między adeniną i uracylem; zależność stężeniowa pokazuje maksimum ich intensywności dla stosunku 1:1 adeniny do uracylu, czyli dla dimeru.

Warto zwrócić uwagę na wszechstronne wykorzystania spektroskopii NMR, m. in. do określania struktury przestrzennej cząsteczek organicznych o bardzo szerokim zakresie mas cząsteczkowych (D) [PLANSZA 78: wyznaczanie parametrów strukturalnych]. Mierzone parametry NMR: stałe sprzężenia skalarnego i intensywności efektu Overhausera dają bezpośrednio lokalne parametry przestrzenne, odpowiednio kąty dwuścienne w fragmentach czteroatomowych i odległości jądro - jądro, a także informacje o globalnych orientacjach fragmentów biomolekuł, na podstawie rejestracji i analizy tzw. resztkowych sprzężeń dipolarnych RDC dla cząsteczek częściowo zorientowanych wzdłuż określonej osi w przestrzeni (<u>omawiane</u> na *wykładzie "Biofizyka doświadczalna"*).

Zjawisko magnetycznego rezonansu jądrowego znalazło bardzo interesujące zastosowanie w **DIAGNOSTYCE MEDYCZNEJ** do **nieinwazyjnego obrazowania narządów i tkanek MRI** (*magnetic resonance imaging*) [PLANSZA 79: nieinwazyjne obrazowanie MRI (*magnetic resonance imaging*)]. Zamiast magnesów z małą komorą dla próbek spektroskopowych i polach magnetycznych B_0 o dużych indukcjach ~20 T stosuje się magnesy o dużych komorach dla pomieszczenia całego pacjenta i stosunkowo niewielkich indukcjach ~2 T. W technice obrazowania MRI wykorzystuje się różnice intensywności sygnałów rezonansowych ¹H w zależności od:

- ilości wody w tkance (czynnik dominujący),

- ilości tłuszczu,

- czasów relaksacji protonów T1 i T2.

Silny, ale zróżnicowany sygnał NMR obserwuje sią od różnych tkanek miękkich a słaby od kości i płuc ("pusta" przestrzeń). **Zasada obrazowania** polega na uzyskaniu zjawiska rezonansu od niewielkich, ściśle zlokalizowanych przestrzennie fragmentów na jakie można podzielić duży obiekt; można uzyskać **liniową zdolność rozdzielczą rzędu mm** w każdym z trzech wymiarów. Zastosowanie **liniowych gradientów pola**:

 $g_x = \partial B_0 / \partial x$ x – oś przyłożenia gradientu

powoduje zróżnicowanie częstości rezonansowych ω w zależności od położenia fragmentu x zgodnie z warunkiem rezonansu:

 $\omega = \gamma_{^{1}\mathrm{H}}(\mathbf{B}_0 + \mathbf{x}\mathbf{g}_{\mathbf{x}})$

i daje możliwość wyznaczenia położenia tego fragmentu z częstości sygnału:

 $x = \omega/(\gamma_{1H}g_x)$

Przykładowo: dwa próbniki z wodą dają jeden wspólny sygnał rezonansowy w jednorodnym, stałym polu B₀ a zastosowanie liniowego gradientu wzdłuż osi ustawienia próbników daje dwa sygnały rezonansowe o intensywnościach proporcjonalnych do ilości wody w próbnikach i różnych częstościach rezonansowych, które można przeliczyć na położenie próbników (szczegółowy opis technik obrazowania, sekwencji impulsów i gradientów itp. można znaleźć <u>w specjalistycznych opracowaniach</u>). MRI umożliwia (wymieniam tylko część możliwości):

- diagnozowanie nowotworów;

- analizę czynności mózgu w wersji fMTI (functional magnetic resonance imaging);
- śledzenie metabolizmu w połączeniu ze spektroskopią in vivo NMR;

- rejestrację obrazów mikroskopowych.

Na zjawisku NMR może opierać się budowa KOMPUTERÓW KWANTOWYCH [PLANSZA 80: komputery kwantowe]. Jednostka informacji w komputerze klasycznym czyli bit może przyjąć wartość 0 lub 1. Bit kwantowy czyli **qbit** odpowiada np. kwantowemu układowi dwóch poziomów energetycznych magnetycznego momentu jadra I = $\frac{1}{2}$ w polu B₀. Ustawieniu spinu α można przypisać wartość 0 a ustawieniu β wartość 1. Ale **qbit może istnieć także jako kwantowa superpozycja** ϕ **stanów** 0 **i** 1:

 $|\phi\rangle = c_1|\alpha\rangle + c_2|\beta\rangle$

scharakteryzowana przez wartości zespolonych współczynników c₁ i c₂ rozwinięcia funkcji falowej $|\phi\rangle$. Ta sytuacja odpowiada pojawieniu się magnetyzacji układu jądrowego prostopadłej do pola B₀. Klasyczny rejestr N bitów jest scharakteryzowany przez N liczb 0 i 1, natomiast rejestr kwantowy przez 2^N liczb zespolonych. Wynika stąd możliwość jednoczesnego prowadzenia obliczeń równoległych czyli **paralelizacji**. Przykładowo, kwantowy **algorytm Shora** faktoryzacji na czynniki pierwsze dużych liczb nie wymaga eksponencjalnego wzrostu czasu operacyjnego wraz ze wzrostem ilości znaków liczby, co ma istotne znaczenie związane z łamaniem kodów kryptograficznych.

Realizacja **bramki logicznej "warunkowego NOT"** na dwubitowym komputerze NMR opartym na układzie dwu jąder ¹³C – ¹H w cząsteczce chloroformu CHCl₃ wynika z zastosowania sekwencji dwu impulsów obracających magnetyzację ¹³C o kąt $\pi/2$ i oddzielonych czasem $\tau = 1/\{2^{1}J(^{13}C, ^{1}H)\}$. Zgodnie z modelem wektorowym magnetyzacja ¹³C ulega rozłożeniu na dwie składowe, zależnie od kierunku spinu protonu. **Postać** widma ¹³C : sygnał dodatni czy ujemny stanowi realizację bramki:

 $\underline{00} \rightarrow \underline{10}$ zero przechodzi w jeden jeśli drugie jest zero

 $\underline{01} \rightarrow \underline{01}$ zero przechodzi w zero jeśli druga jest jedynka.

Warunkiem działania komputera jest możliwość manipulowania pojedynczymi jądrami (qbit-ami) a nie makroskopową magnetyzacja, tak aby jednoznacznemu stanowi na wejściu odpowiadał jednoznaczny stan na wyjściu. Wymagany efekt uzyskuje się przez polaryzacje spinów w niskich temperaturach. Czas pracy bramki jest uwarunkowany

czasem relaksacji. Komputery wielobitowe wymagają cząsteczek z układami jąder sprzężonymi sekwencyjnie (a nie każdy z każdym).

KOMPLETNE MONOGAFIE POSZCZEGÓLNYCH DZIAŁÓW SPEKTROSKOPII MOLEKULARNEJ W JĘZYKU ANGIELSKIM (do zaawansowanych studiów i zastosowań)

- 1. G. Herzberg "Molecular Spectra and Molecular Structure" "I Spectra of Diatomic Molecules"
 - "II Infrared and Raman Spectra of Polyatomic Molecules"

"III Electronic Spectra and Electronic Structure of Polyatomic Molecules"

- 2. C.A. Parker "Photoluminescence of Solutions"
- 3. J.R. Lakowicz "Principles of Fluorescence Spectroscopy"
- 4. R.K. Harris "Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. A Physicochemical View"
- 5. A. Abragam "The Principles of Nuclear Magnetism"
- 6. R.R. Ernst, G. Bodenhausen, A. Wokaun "Principles of Muclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions"
- 7. F.J.M. van de Ven "Multidimensional NMR in Liquids. Basic Principles and Experimental Methods".