

CZEŚĆ I

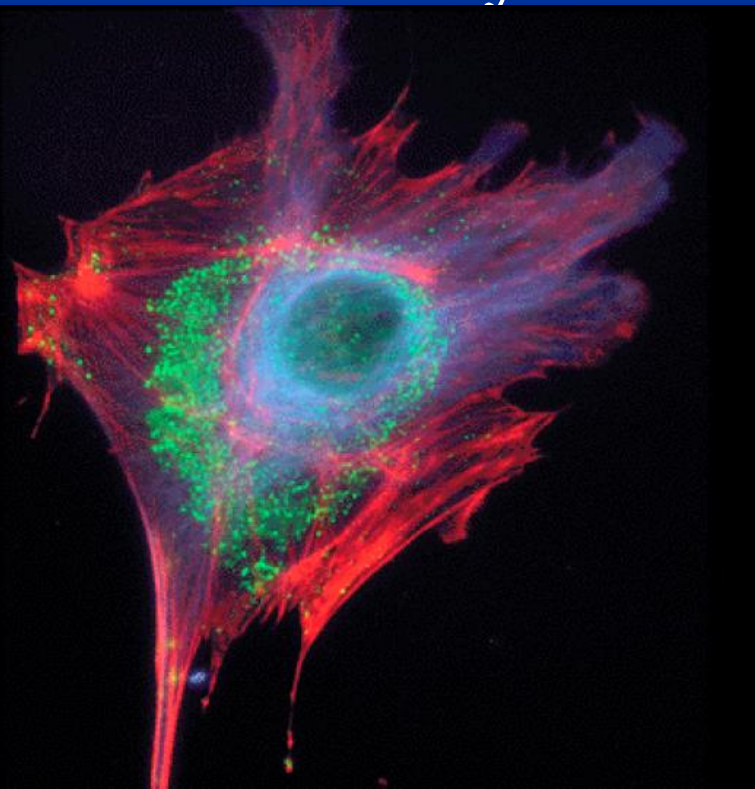
METODY SPEKTROSKOPOWE

Współczesne metody analiza struktury chemicznej

3a. **widma elektronowe**

metody absorpcyjno-emisyjne

SPEKTROFLUORYMETRIA



Terminy podstawowe

Termin luminescencja (wprowadzony w 1899 roku po przez Wiedermana) obejmuje wszystkie emisje światła z wyjątkiem promieniowania cieplnego, a w szczególności:

Promieniowanie samorzutne

elektron będący na wyższym poziomie na skutek wzbudzenia cząsteczki luminoforu samorzutnie wraca do stanu podstawowego emitując $h\nu$. Średni czas między wzbudzeniem a emisją wynosi 10^{-9} - 10^{-8} s. Jest to określane mianem fluorescencji.

Występująca natychmiast po naświetleniu

Tak zachowują się niektóre gazy, pary, związki organiczne w stanie ciekłym i stałym (węglowodory aromatyczne, heterocykliczne polieny, niektóre barwniki), kompleksy metaloorganiczne)

Promieniowanie wymuszone

związane jest z występowaniem w cząsteczce poziomów elektronowych o charakterze metastabilnym pomiędzy stanem podstawowym i wzbudzonym.

Rodzaje luminescencji:

fosfoluminescencja- wywołana działaniem fal elektromagnetycznych, dzieli się na fosfo- i fluorescencję;

elektroluminescencja- spowodowana zderzeniami z luminoforem cząstek naładowanych i promieniowanie katodowe β, α, γ

chemiluminescencja- wywołane kosztem energii niezbędnej do jej przeprowadzenia reakcji chemicznej (np. utlenianie pirogalolu wodą utlenioną);

bioluminescencja- wynik zachodzenia procesów biologicznych owadów, zwierząt morskich

triboluminescencja- wynik rozcierania kryształów (sacharyna, kumaryna)

krystaloluminescencja- wynik krystalizacji (np. z nasyconego roztworu NaCl podczas wlewania etanolu lub HCl krystalizacja As_2O_3).

Rodzaje luminescencji:

fosfoluminescencja- wywołana działaniem fal elektromagnetycznych, dzieli się na fosfo- i fluorescencję;

elektroluminescencja- spowodowana zderzeniami z luminoforem cząstek naładowanych i promieniowanie katodowe β, α, γ

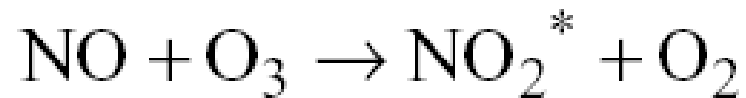
chemiluminescencja- wywołane kosztem energii niezbędnej do jej przeprowadzenia reakcji chemicznej (np. utlenianie pirogalolu wodą utlenioną);

bioluminescencja- wynik zachodzenia procesów biologicznych owadów, zwierząt morskich

triboluminescencja- wynik rozcierania kryształów (sacharyna, kumaryna)

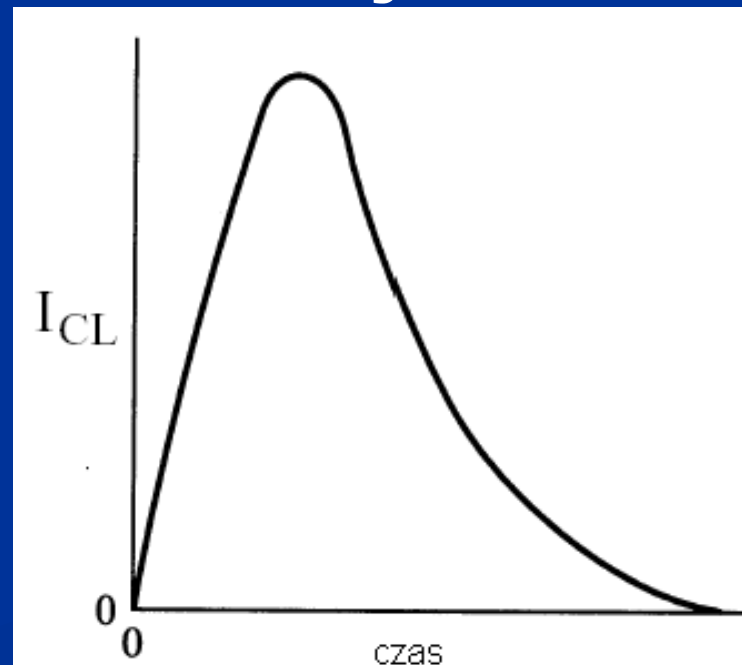
krystaloluminescencja- wynik krystalizacji (np. z nasyconego roztworu NaCl podczas wlewania etanolu lub HCl krystalizacja As_2O_3).

Przykład chemiluminescencji:

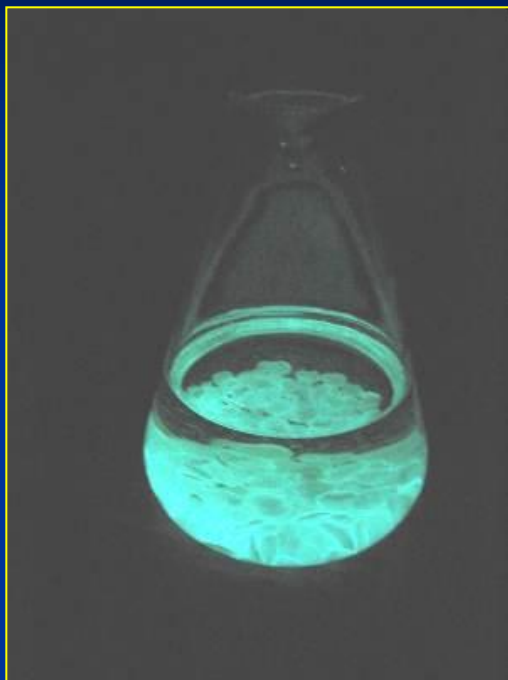


Intensywność chemiluminescencji:

$$I_{\text{CL}} = \phi_{\text{CL}} \frac{d[\text{C}^*]}{dt}$$

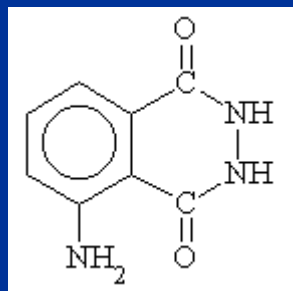


Przykład chemiluminescencji:



Doświadczenie:

Do kolby stożkowej o pojemności 750 ml wsypujemy 50 g stałego KOH i wlewamy 20 ml dwumetylosulfotlenku ($(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ – DMSO), a następnie dodajemy ok. 10 mg stałego luminolu. Zawartość kolby intensywnie wstrząsamy. Po 2 – 3 minutach rozpoczyna się emisja światła. Jasność świecenia jest tak duża, że pozwala na czytanie druku w ciemności. Czas świecenia wynosi ok. 30 minut. Zwiększenie ilości luminolu pogarsza emisję światła, natomiast wstępne napełnienie kolby tlenem podwyższa jaskrawość świecenia. Doświadczenie to można przeprowadzić także stosując zamiast KOH NaOH oraz dwumetyloformamid ($\text{HCON}(\text{CH}_3)_2$ – DMF) zamiast dwumetylosulfotlenku, jednak daje to nieco gorszy wynik.



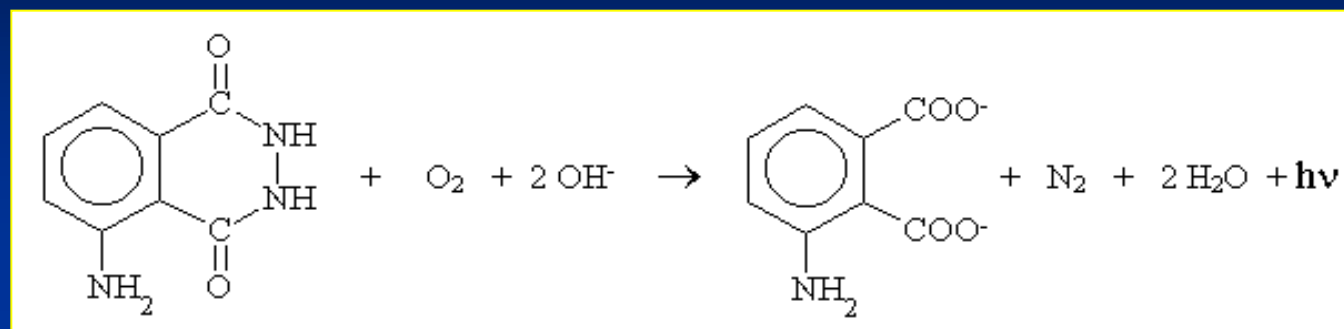
LUMINOL

$\text{pK}_{\text{a}1}=6.00$

$\text{pK}_{\text{a}2}=13.00$

Chemiluminescencja luminolu

związana jest z utlenianiem luminolu z środowiska alkalicznego w obecności aktywatorów



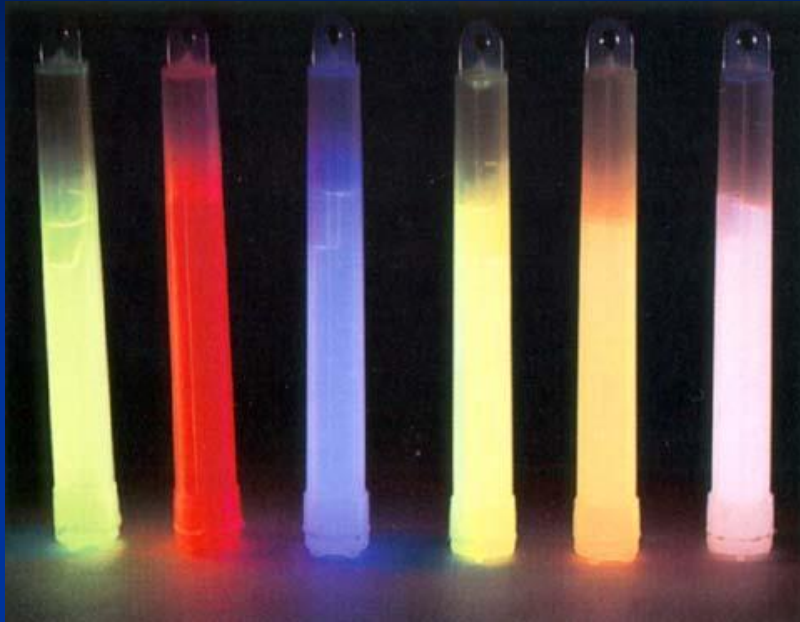
Warunki reakcji:

- środowisko alkaliczne,
- obecność utleniacza (np. woda utleniona, ClO⁻, anoda elektrolizera),
- obecność aktywatora (np. jony Fe(III), Cu(II)), Cr(III)...)

W roztworze wodnym wydajność kwantowa świecenia nie przekracza 0,1%. W niektórych polarnych rozpuszczalnikach organicznych (DMSO, DMF), wydajność kwantowa może być nawet 10 razy większa zwłaszcza w obecności utleniaczy.

Reakcję luminescencji luminolu można wykorzystać do oznaczania bezpośredniego utleniaczy lub pośredniego substancji, które w reakcjach chemicznych jako jeden z produktów dają utleniacz, np. nadtlenek wodoru. Wykorzystuje się to m.in. w oznaczeniach glukozy z wykorzystaniem oksydazy glukozowej .

Przykłady komercyjnych zastosowań chemiluminescencji

**Chemiczne oświetlacze "Cyalume,,**

Zastosowanie: ratownictwo, speleologia, turystyka, policja, wojsko.

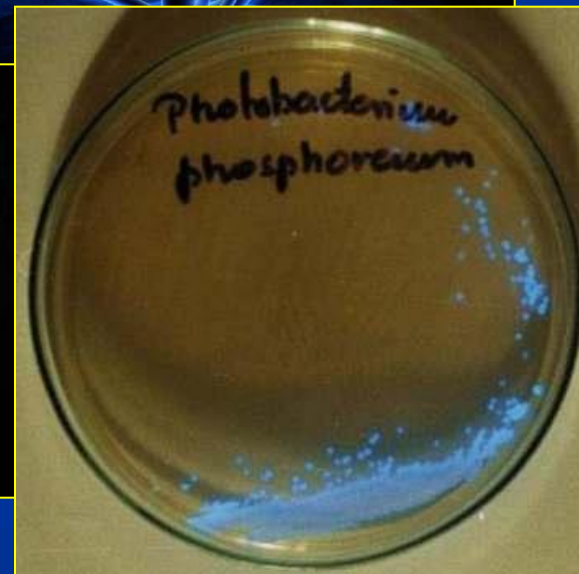
Chemiczna latarka jest odporna na stłuczenie, czy zalanie woda, ale nie da się jej wyłączyć...

Źródło światła:

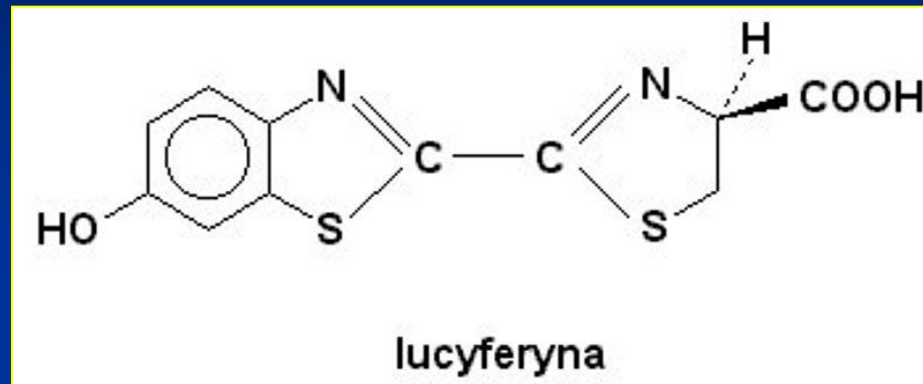
Reakcja utleniania szczawianów organicznych rozcieńczonym roztworem bezwodnego nadtlenu wodoru w mieszaninie ftalanu metylu i alkoholu *tert*-butylowego, katalizowana salicylanem sodu.

Czas świecenia takiej latarki wynosi od 5 min do 12 godzin.

Chemiluminescencja przebiegająca w organizmach żywych jest nazywana **bioluminescencją**



Bioluminescencja



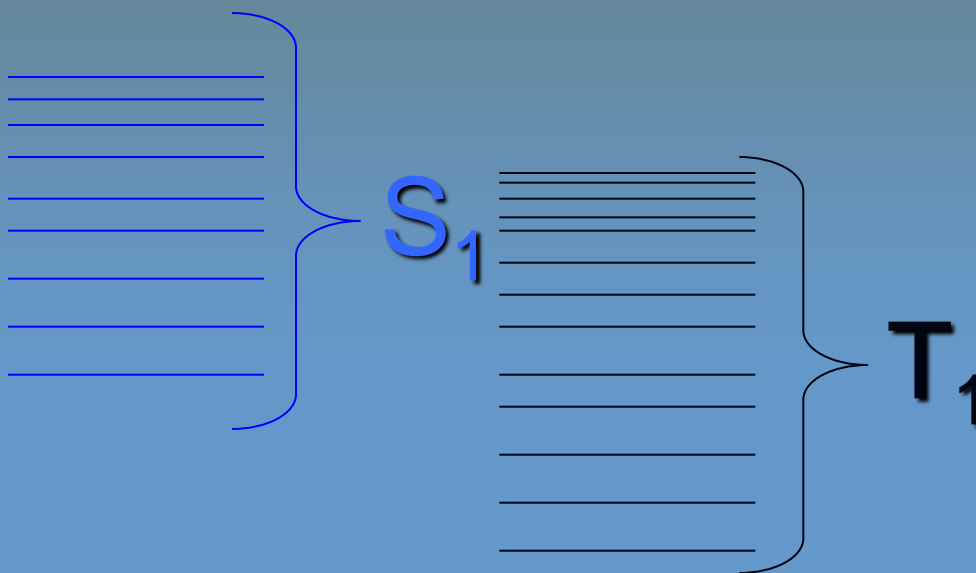
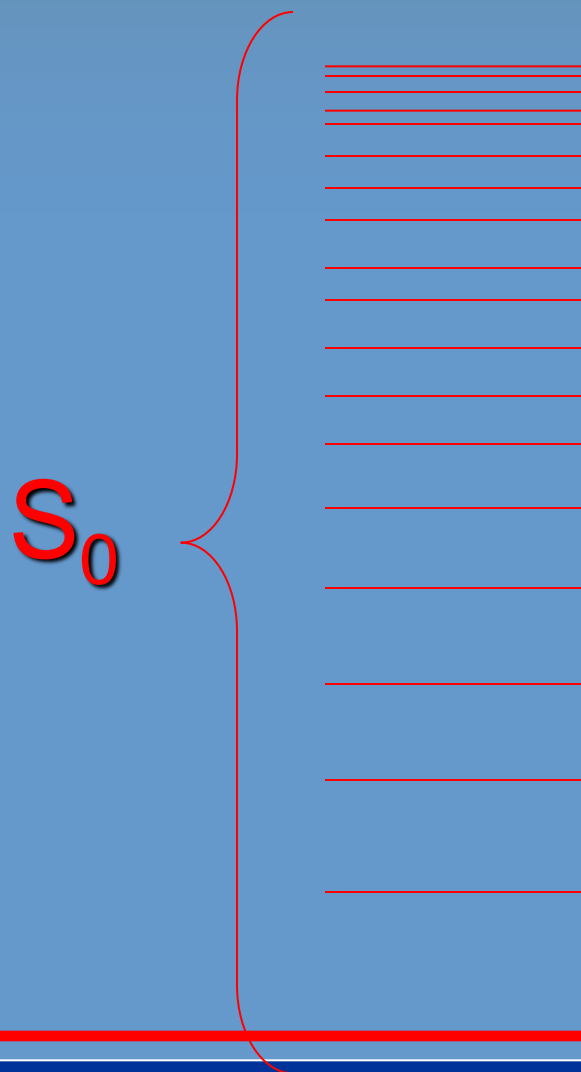
- **Chrząszcze**- enzymatyczne utlenianie lucyferyny katalizowane *lucyferazą*
- **Bakterie**- enzymatyczne utlenianie prostych aldehydów alifatycznych. W reakcji bierze udział flawinomononukleotyd (FMNH₂) oraz ATP.



Wydajność kwantowa bioluminescencji – **kilkadziesiąt % !!!**

Schemat Jabłońskiego

Przejście energetyczne związane z absorpcją promieniowania, fluorescencją i fosforescencją:



S_0 - singletowy stan podstawowy
 S_1 - singletowy stan wzbudzony,
 T_1 - trypletowy stan wzbudzony.

Stan podstawowy

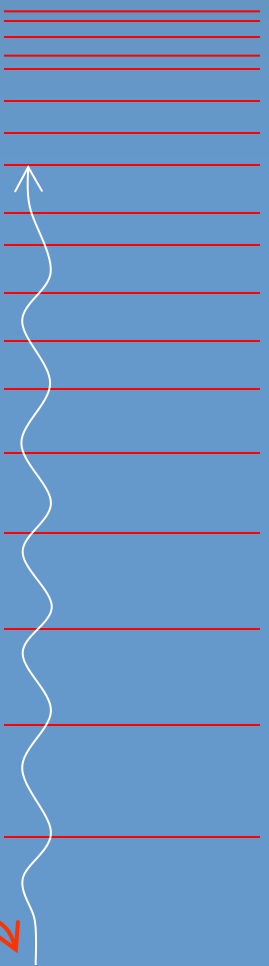
Rodzaje przejść

IR lub
mikrofale

S_0

S_1

T_1



wzbudzenie
oscylacyjne

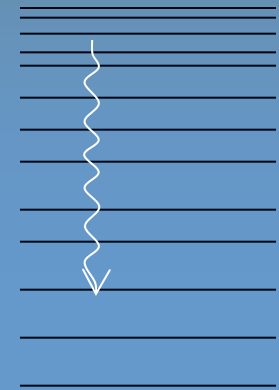
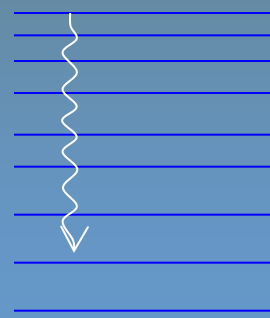
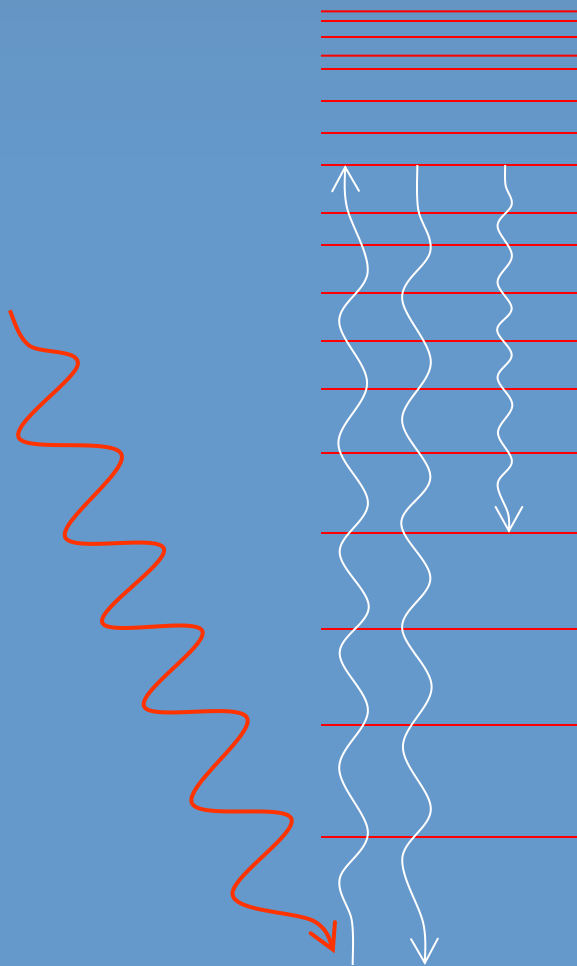
Stan podstawowy

Rodzaje przejść

S_0

S_1

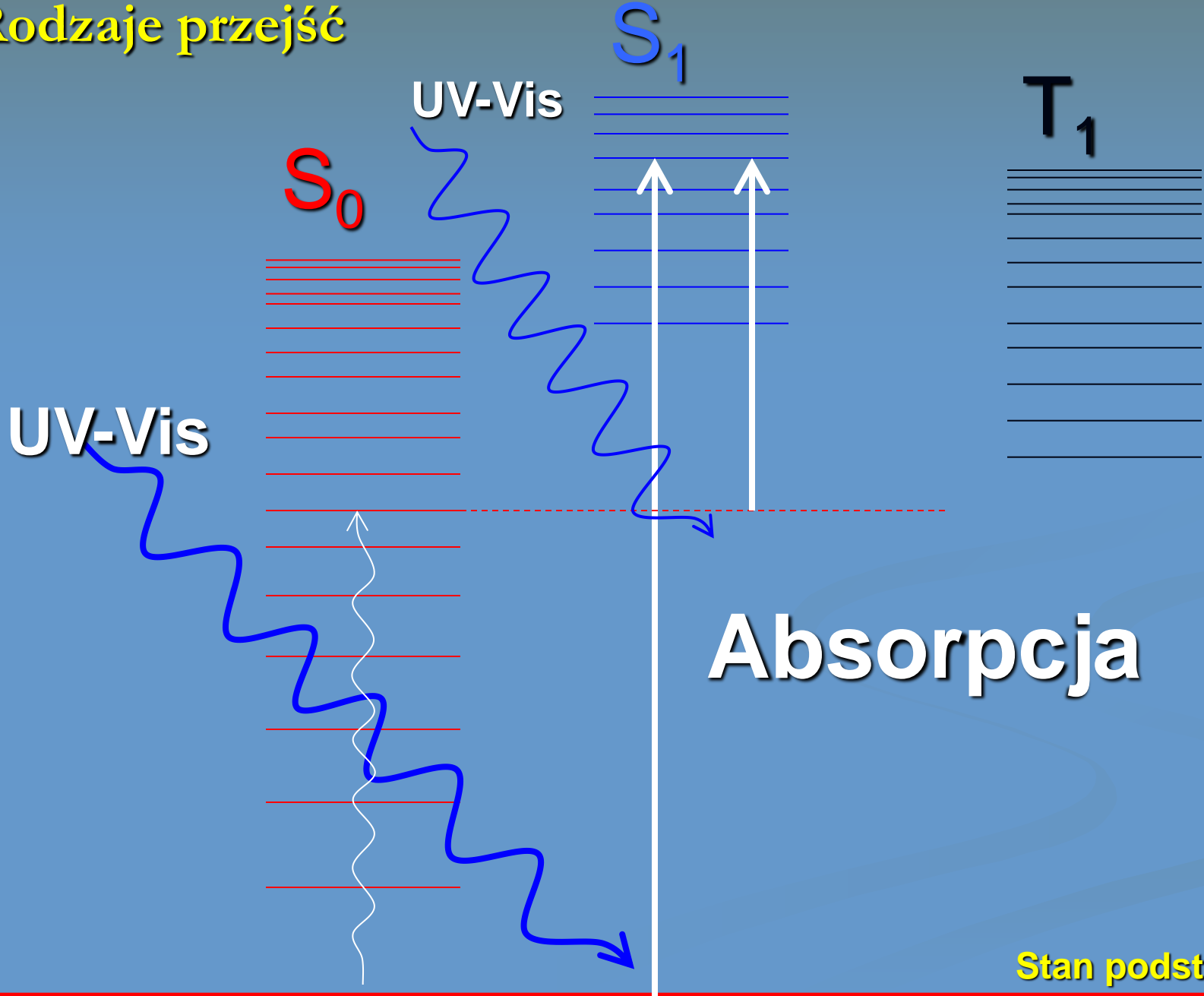
T_1



Relaksacja oscylacyjna
dezaktywacja
promieniowanie → ciepło

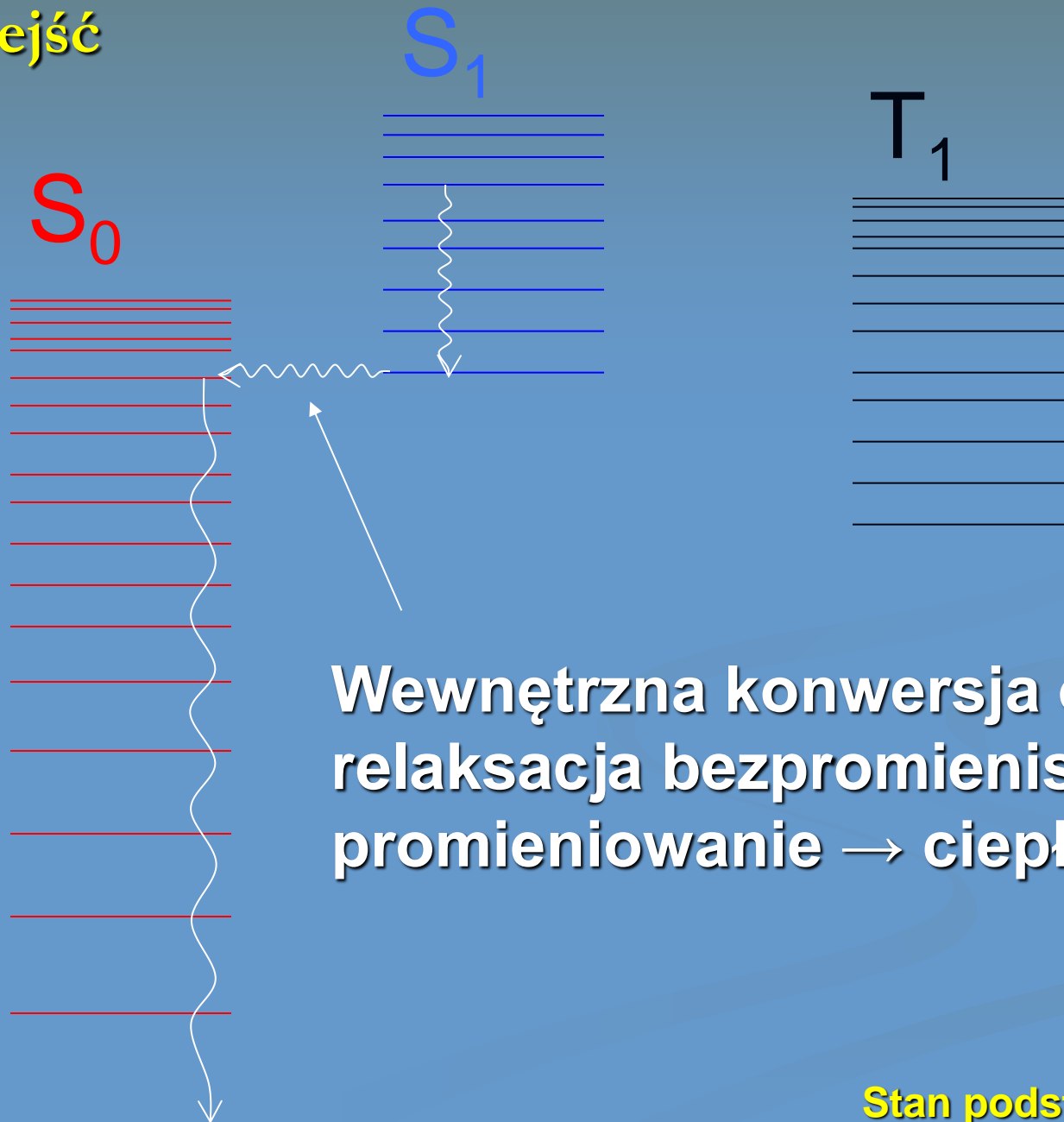
Stan podstawowy

Rodzaje przejść



Stan podstawowy

Rodzaje przejść

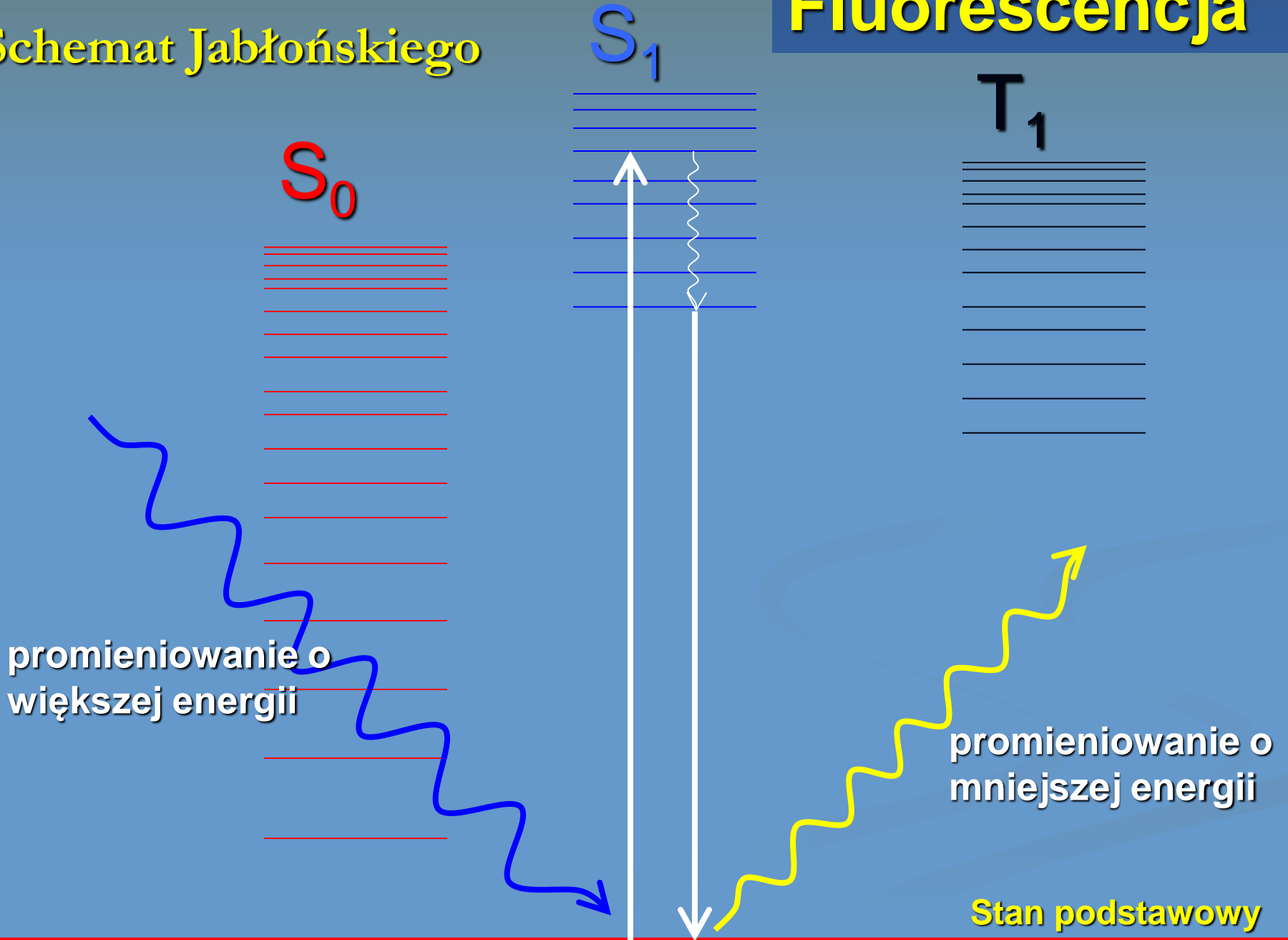


Wewnętrzna konwersja oraz
relaksacja bezpromienista
promieniowanie \rightarrow ciepło

Stan podstawowy

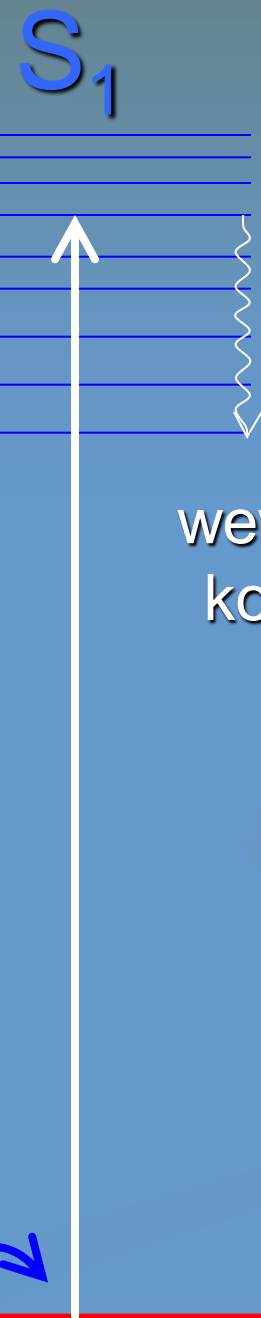
Fluorescencja

Schemat Jabłońskiego



Fosforescencja

Schemat Jabłońskiego

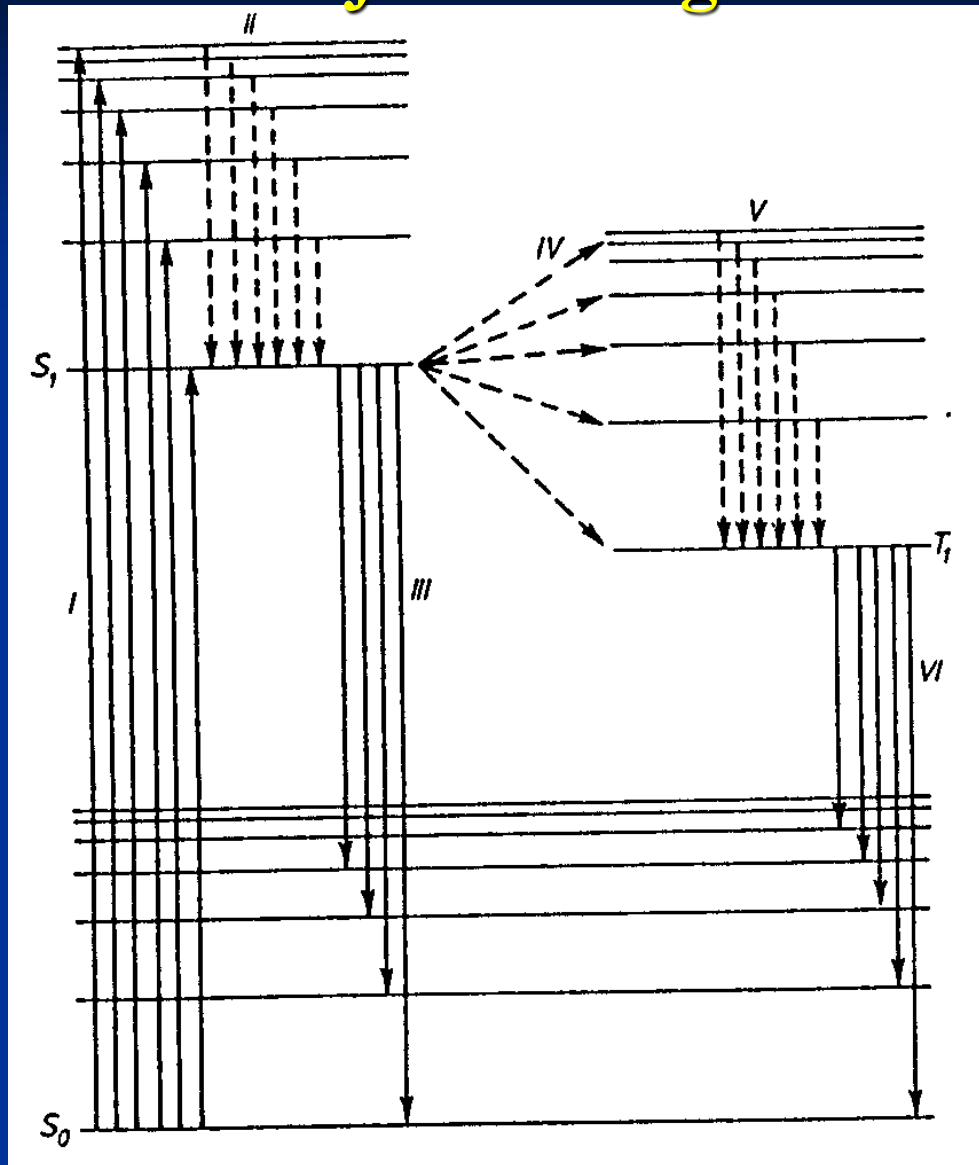


wewnętrzna konwersja



Stan podstawowy

Schemat Jabłońskiego



Podsumowanie:

Wskaż procesy promieniste oraz bezpromieniste

Procesy bezpromieniste:

II - dezaktywacja oscylacyjna

IV - wewnętrzna konwersja

do stanu trypletowego

V - dezaktywacja oscylacyjna

w ramach stanu trypletowego

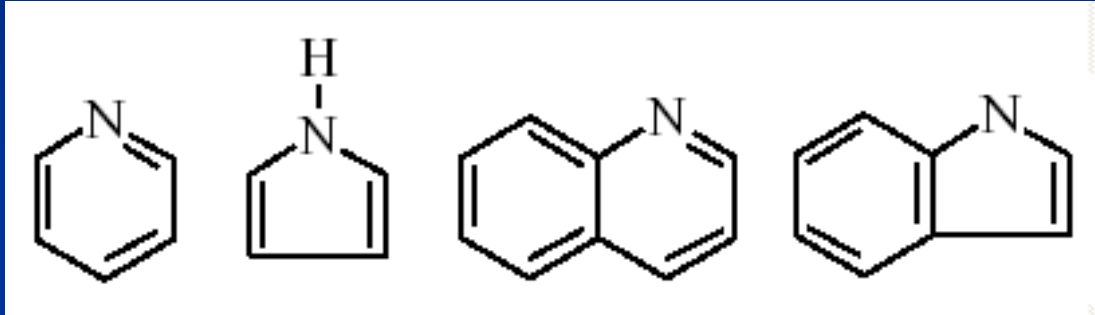
Procesy promieniste

I - absorpcja promieniowania

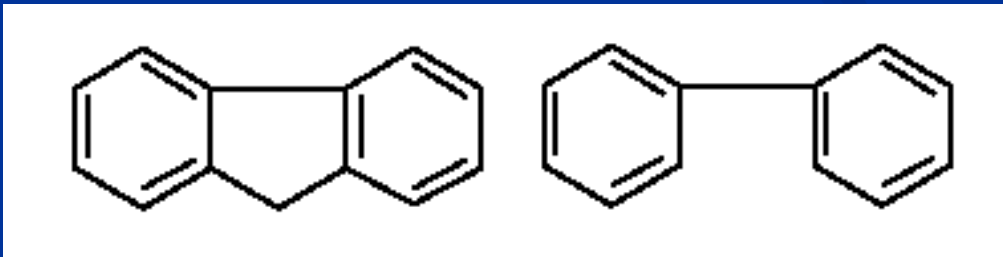
III - fluorescencja

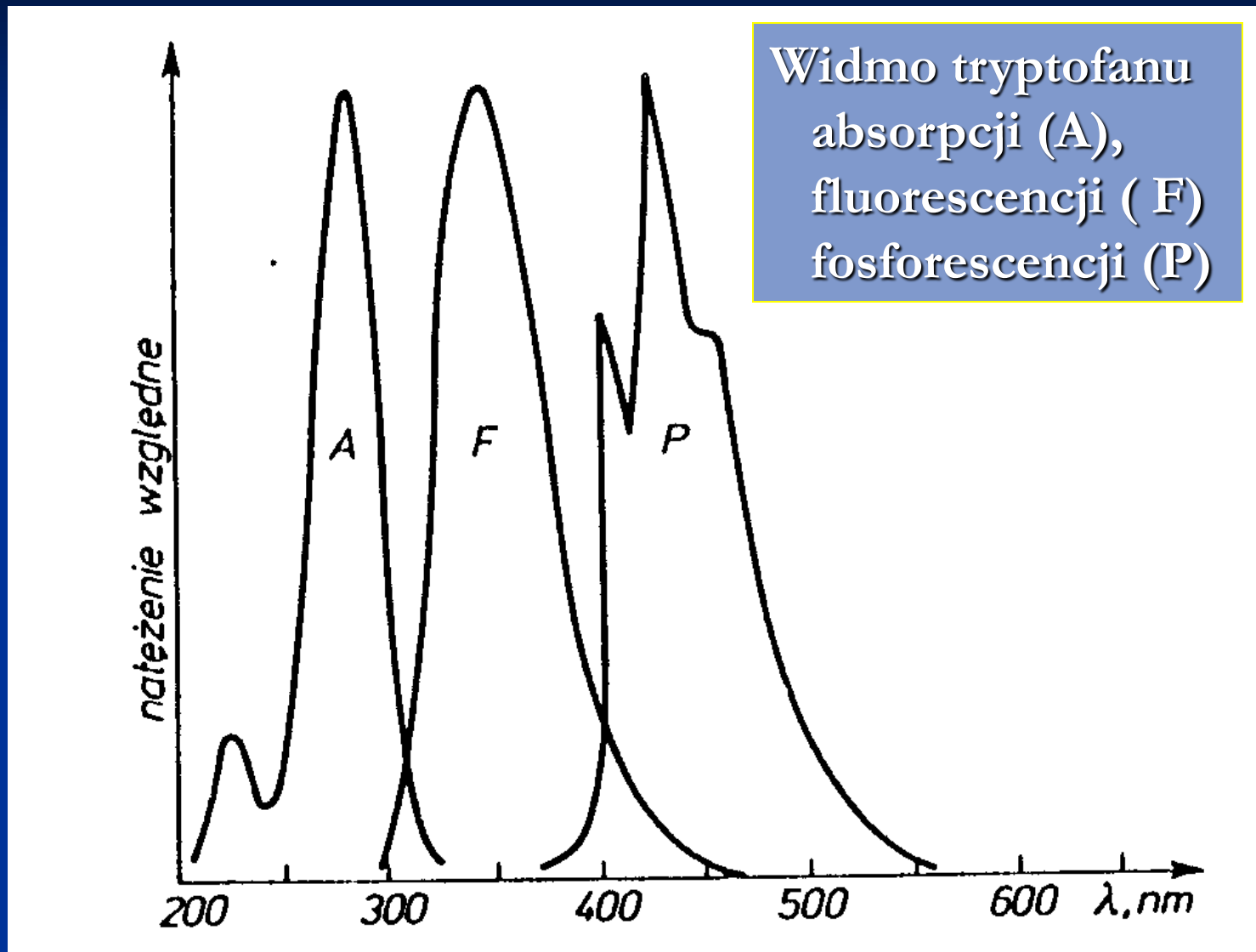
VI - fosforescencja

Związki wykazujące fluorescencję: Pierścienie aromatyczne lub heterocykliczne: pirydyna, pirol, chinolin, indol

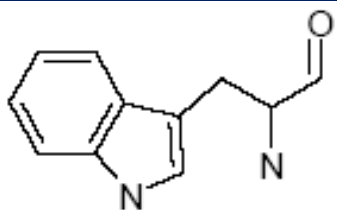


Sztywny fragment cząsteczki Fluoren, bifenyl



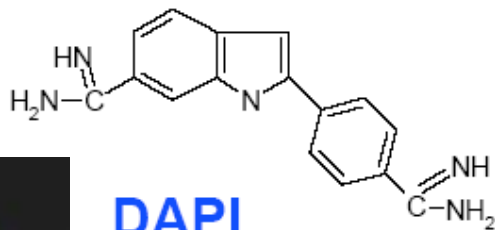


Przykłady fluoroforów



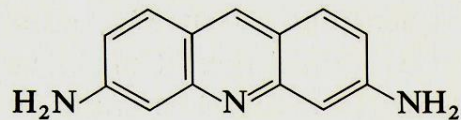
tryptophane

$\lambda = 280 \text{ nm}$

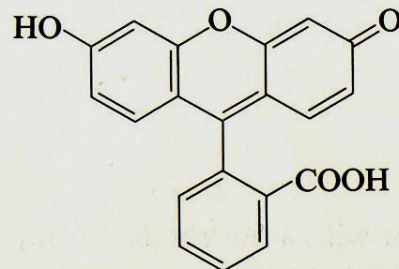


DAPI

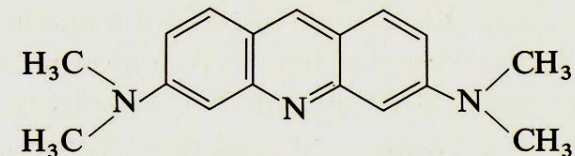
$\lambda = 355 \text{ nm}$



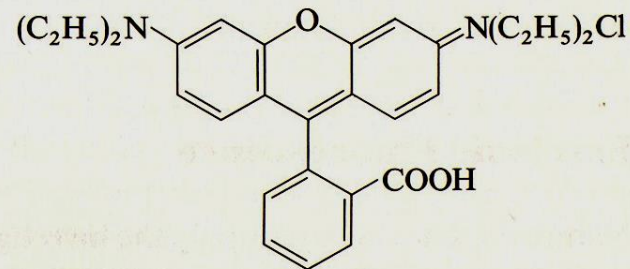
Proflavin



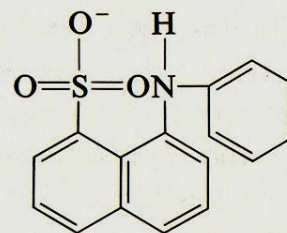
Fluorescein



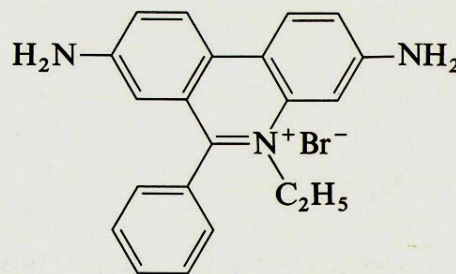
Acridine orange



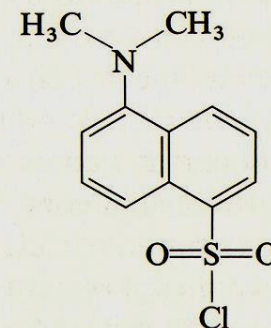
Rhodamine B



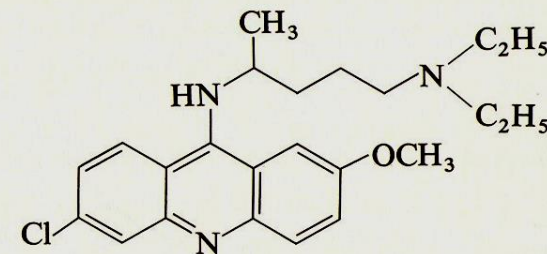
1-Anilino-8-naphthalene sulfonate (ANS)



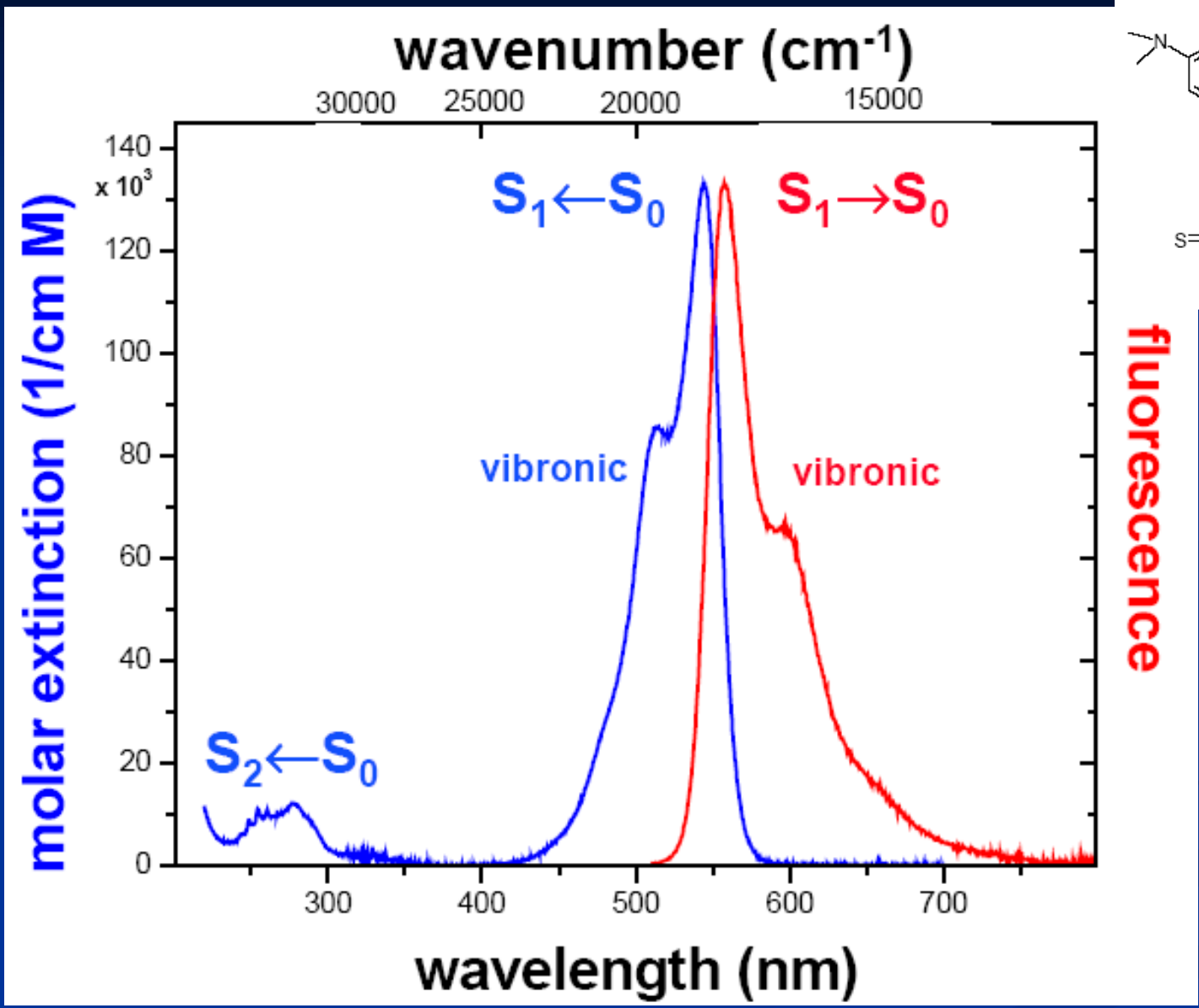
Ethidium bromide



Dansyl chloride

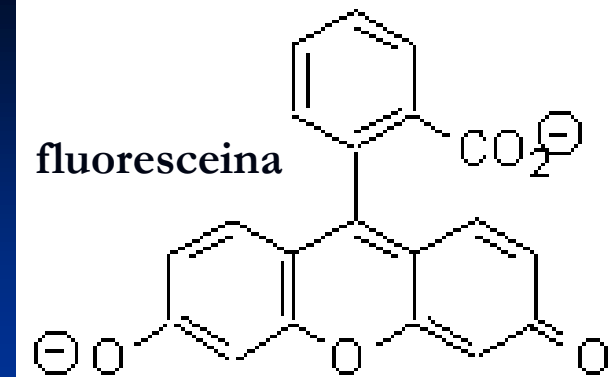


Quinacrine chloride

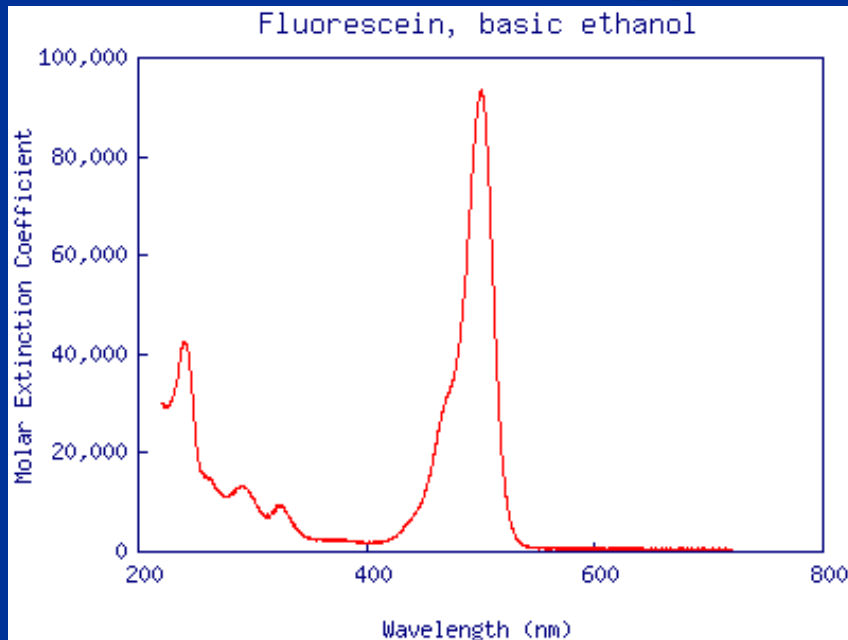


fluorescence

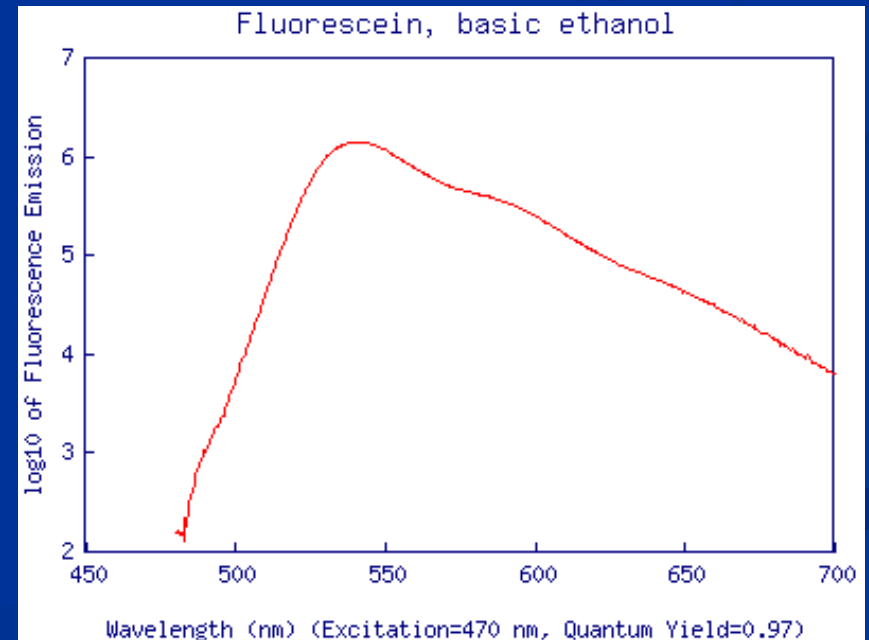
Czy widmo elektronowe absorpcyjne i emisyjne są jednakowe?



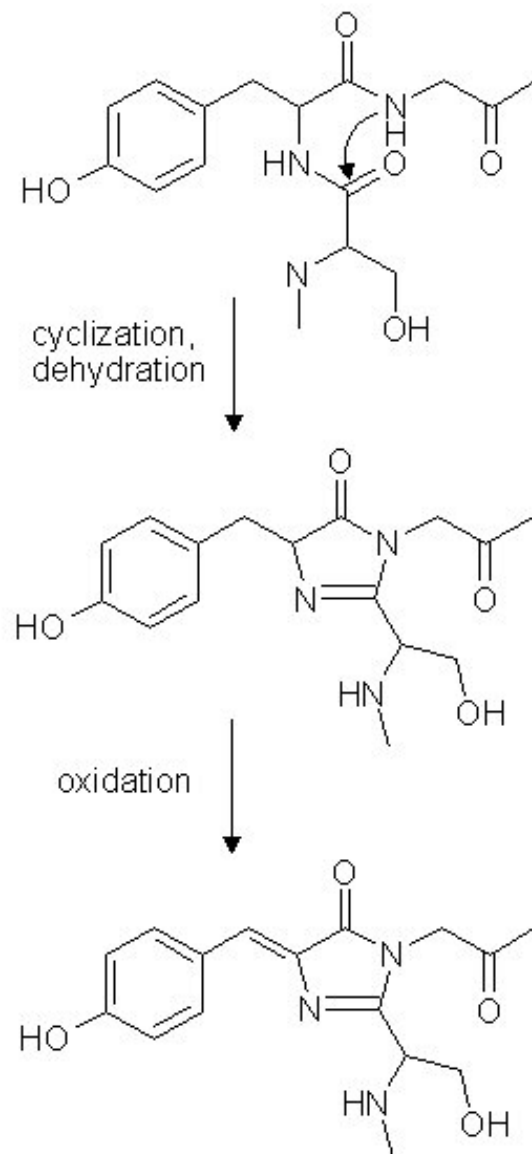
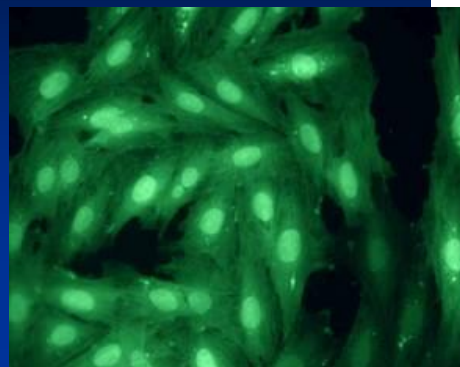
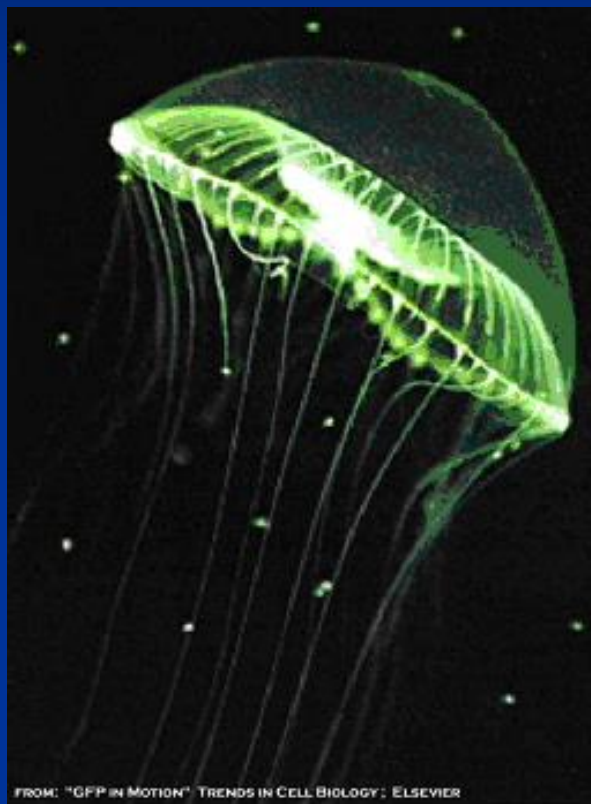
Widmo absorpcyjne



Widmo emisyjne

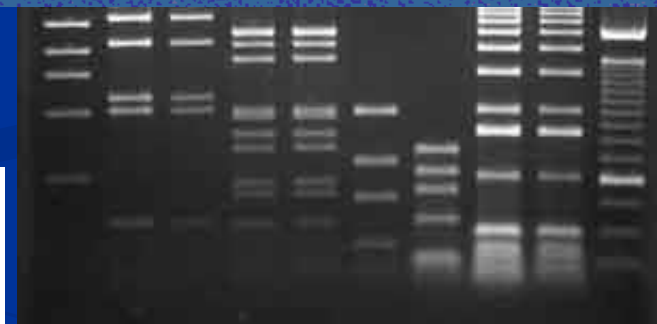
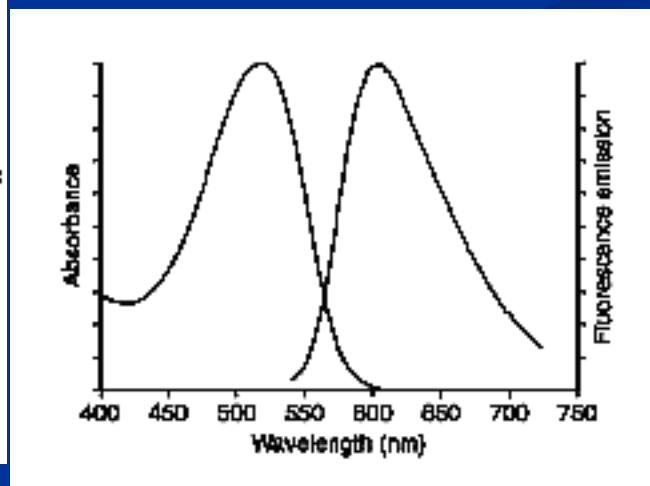
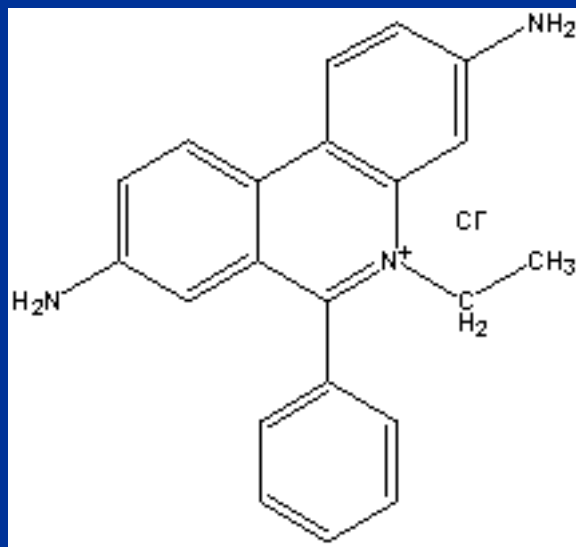
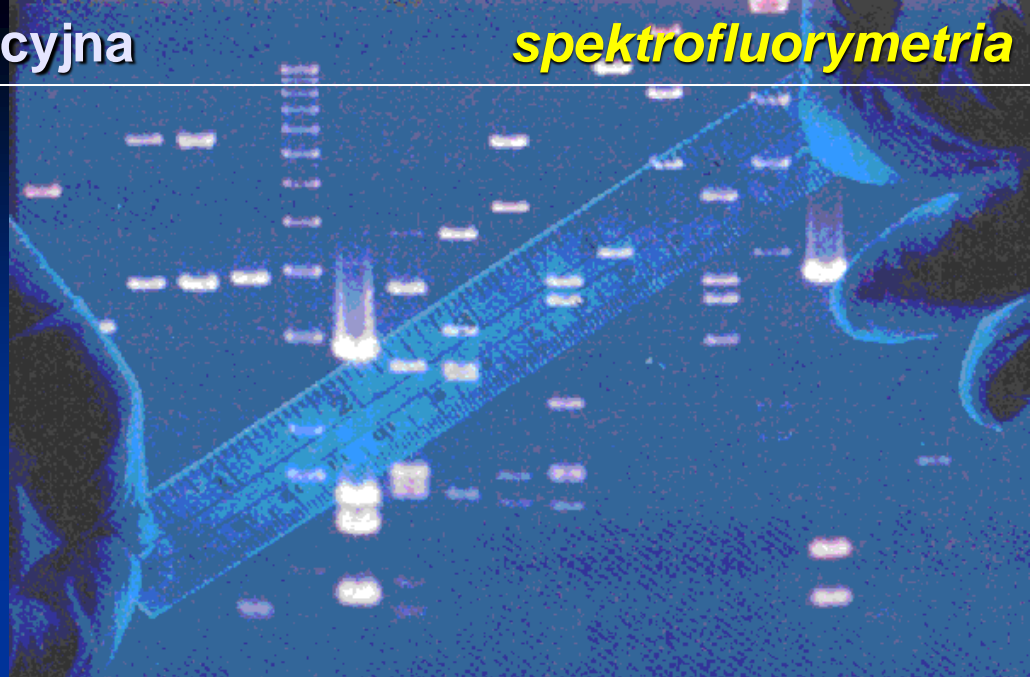


Fluorescencyjne grupy w białkach

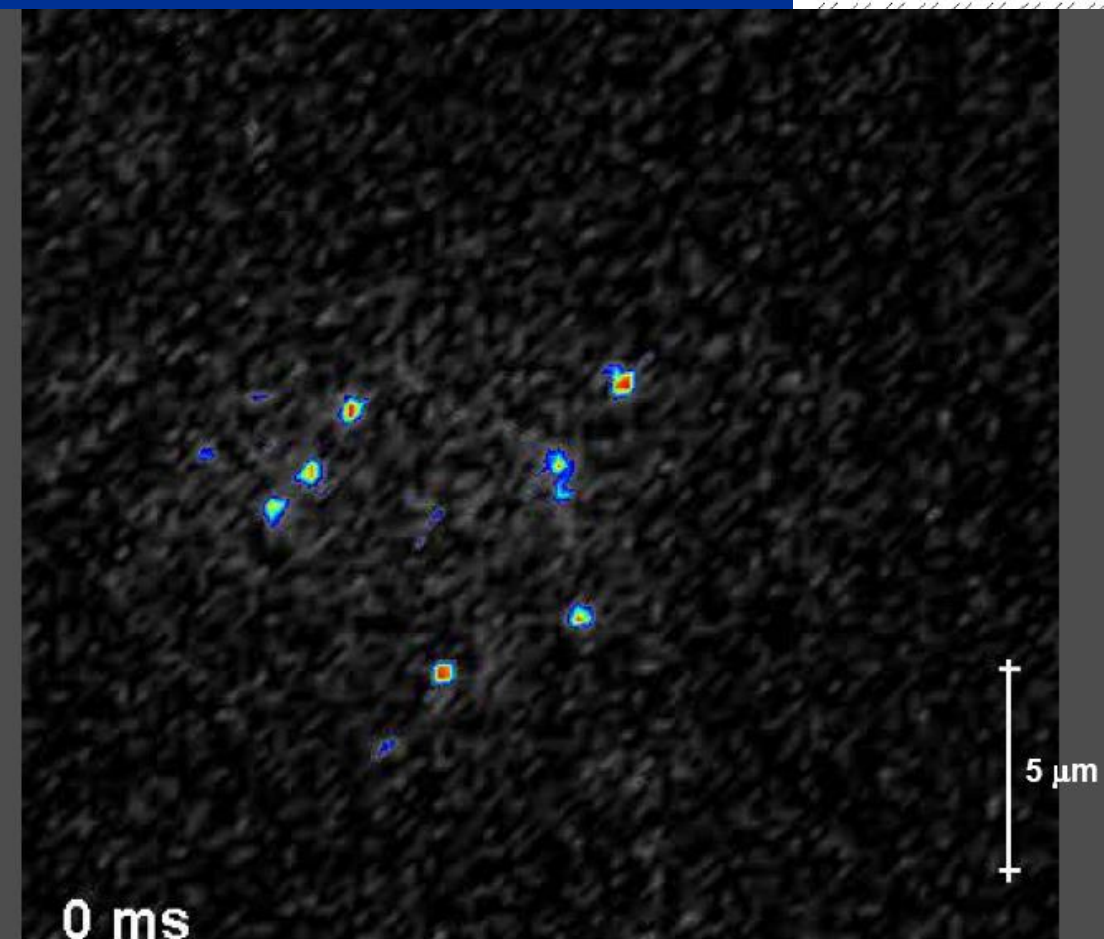
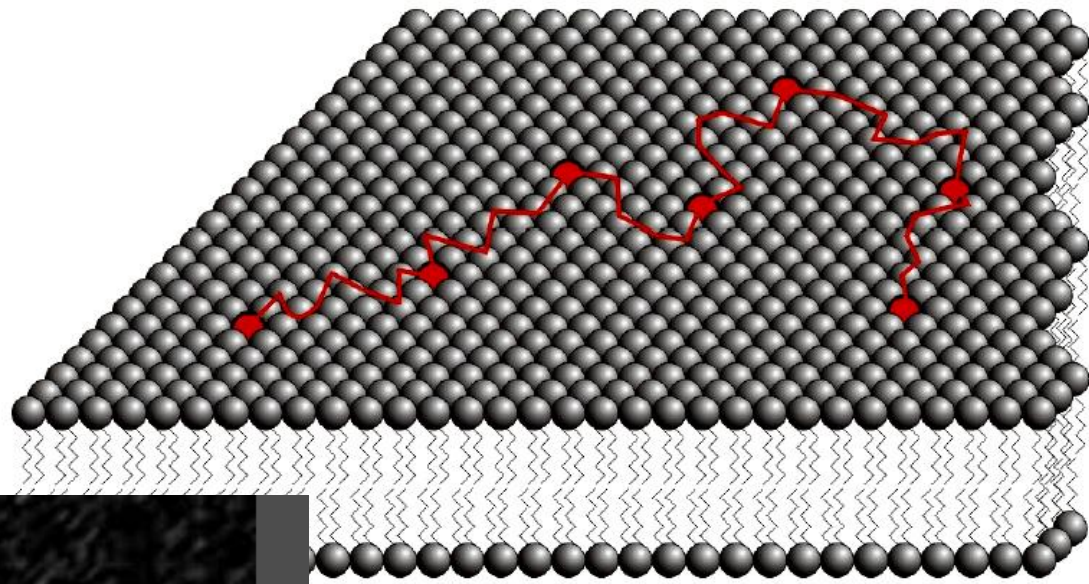


Fluorescencja DNA i RNA

Zasady azotowe są słabymi fluoroforami. Barwnik bromek etydyny jest stosowany do wizualizacji zasad azotowych wykorzystując interkalację

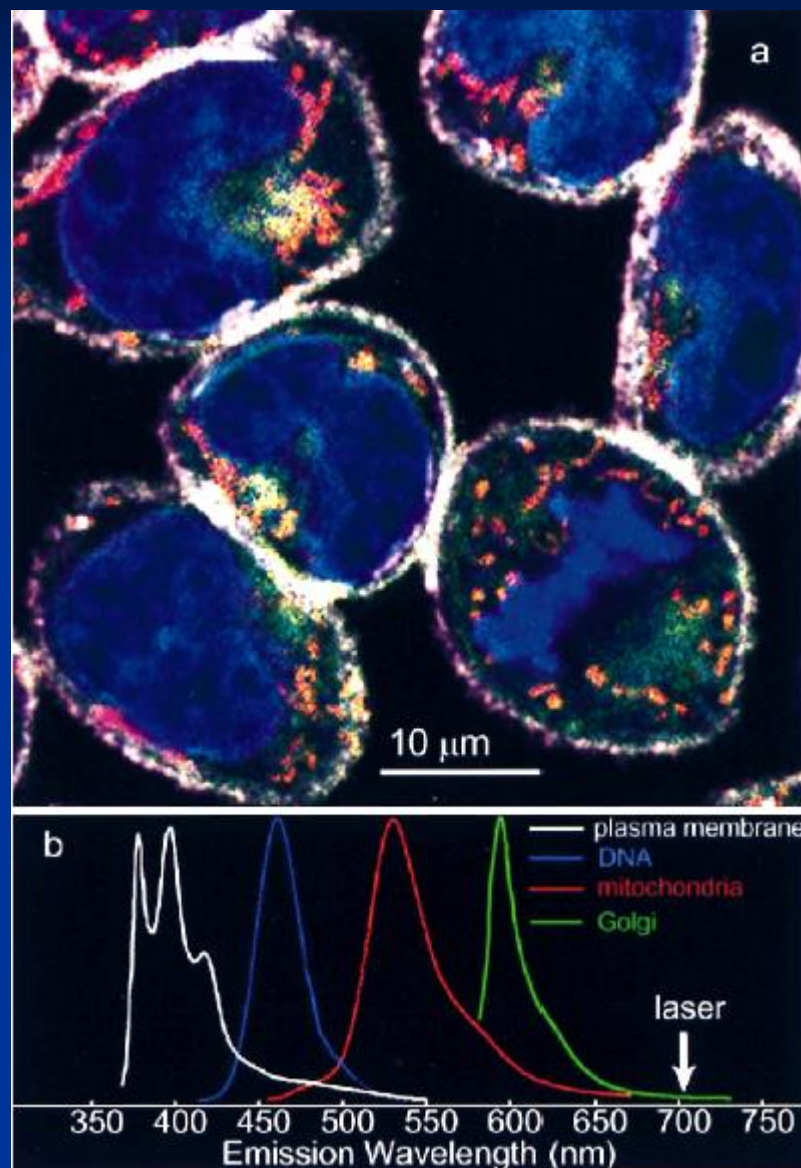


Mikroskopia fluorescencyjna

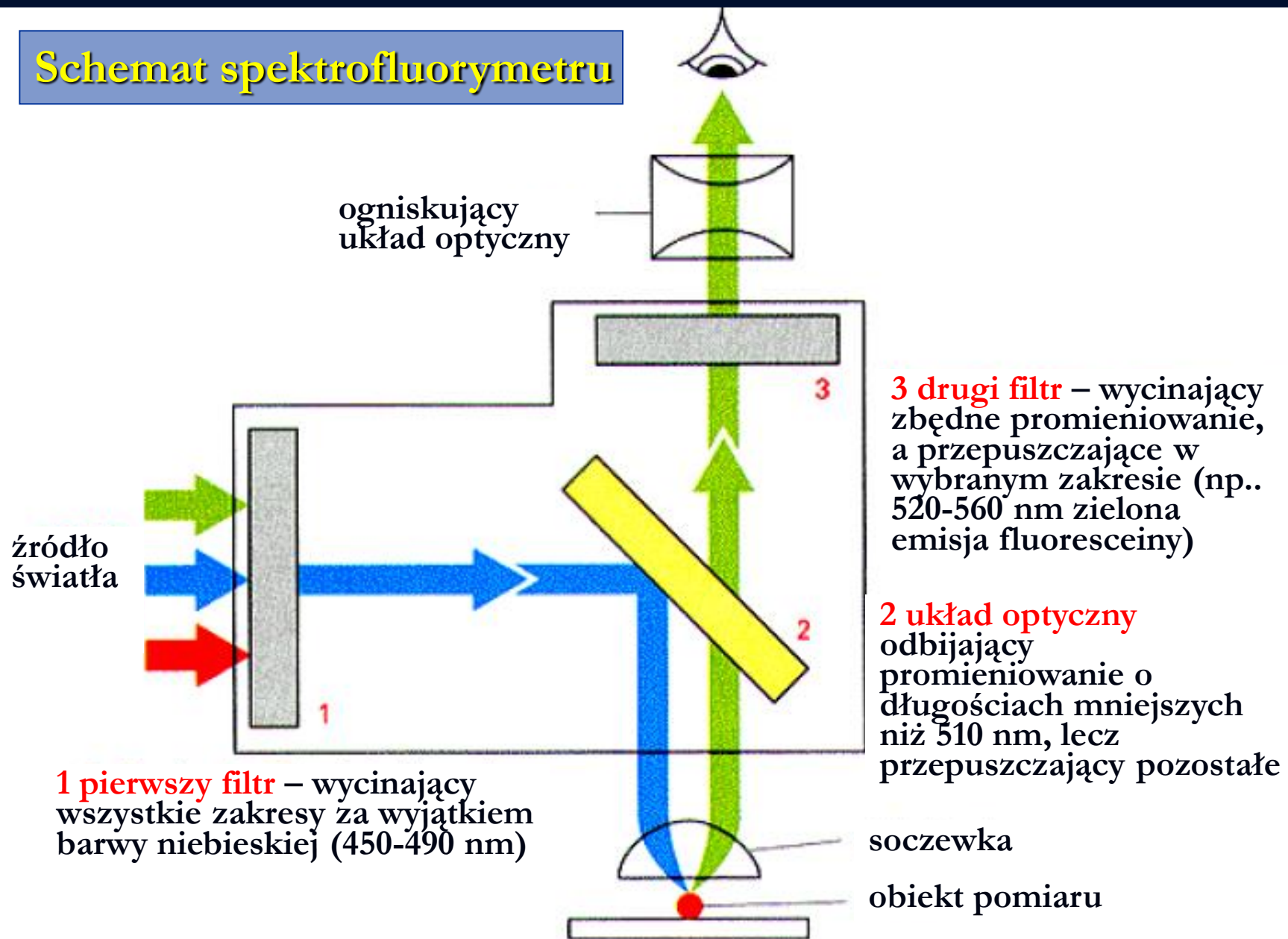


Niezwykłe czuła
umożliwia obrazowanie
pojedynczych molekuł

Przykład obrazu w wielobarwnej mikroskopii fluorescencyjnej



Schemat spektrofluorymetru



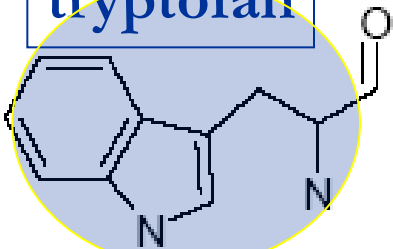


Jak nazwiesz zjawiska
oznaczone strzałkami?

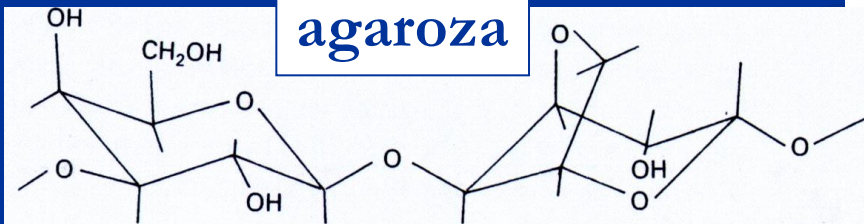


Który związek będzie według Ciebie
aktywny spektrofлуometrycznie?

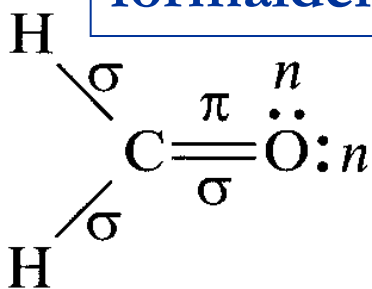
tryptofan



agaroza



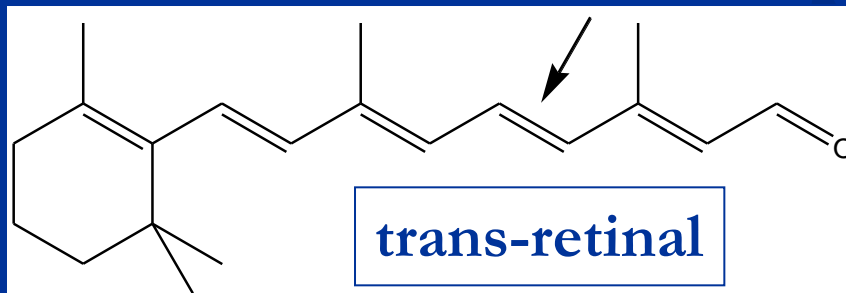
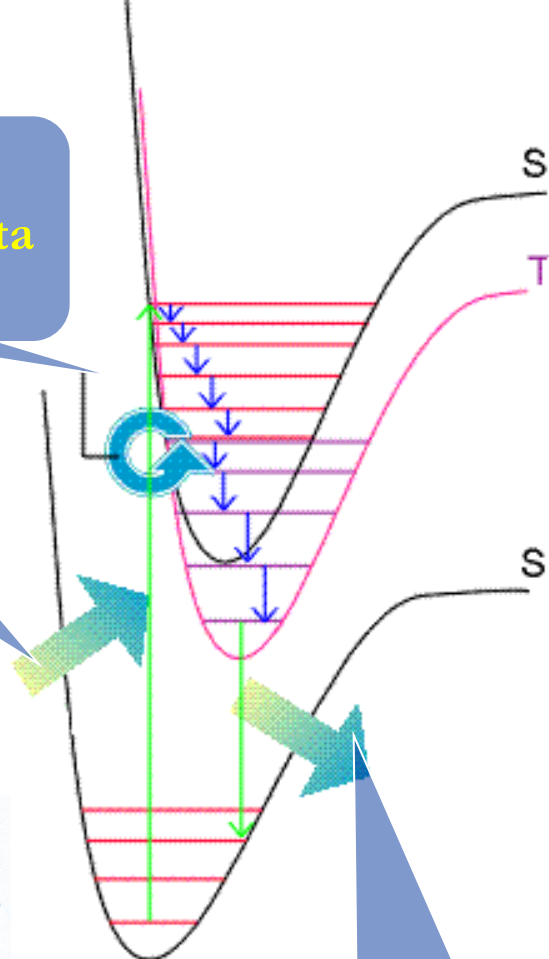
formaldehyd



konwersja
bezpromienista
S→T

absorpcja

fosforescencja



trans-retinal

CZEŚĆ II

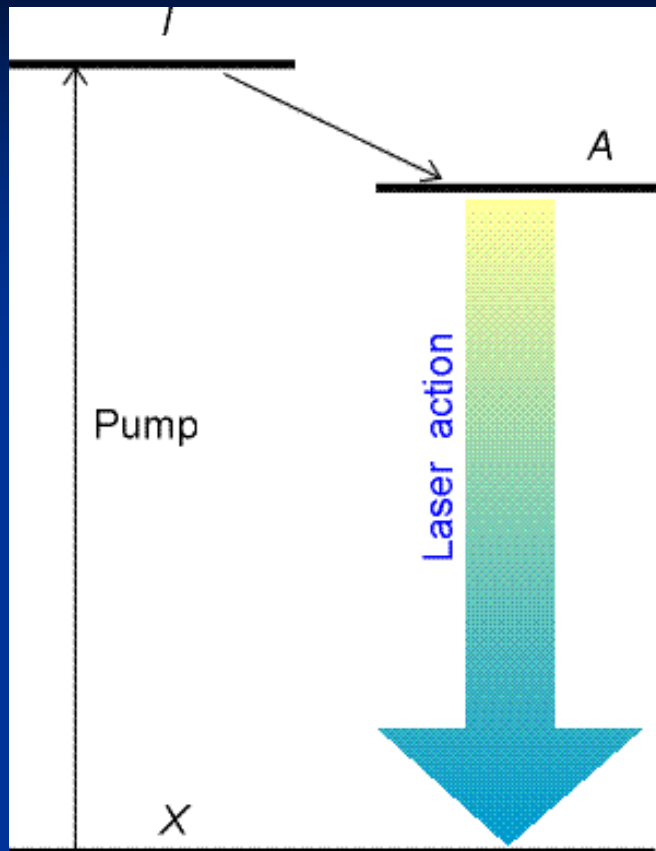
SPEKTROSKOPIA MOLEKULARNA

3b. **widma elektronowe**

wykorzystanie laserów w chemii

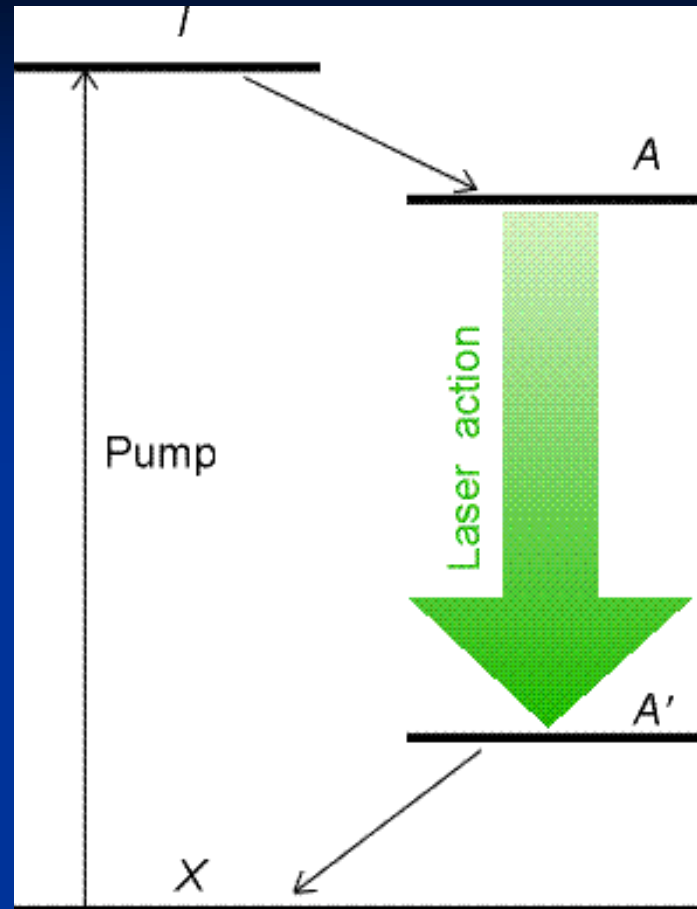
Spektroskopia fotoelektronów

Zasady akcji laserowej



Przejścia w laserze trójstopniowym.

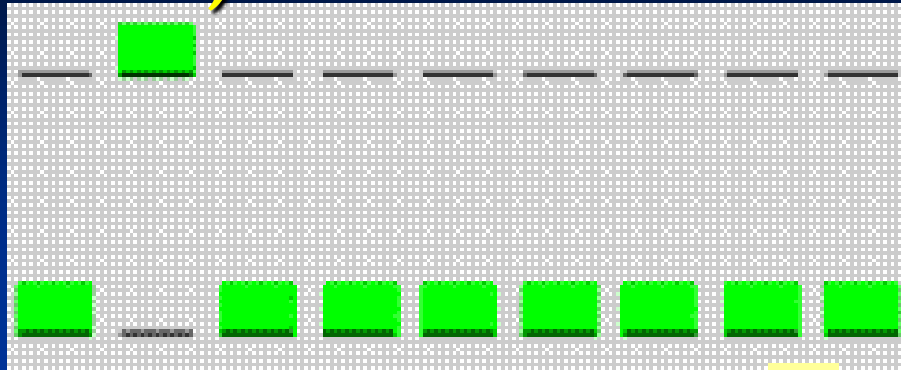
- pompowanie: przejście ze stanu podstawowego X do wzbudzonego I (metastabilnego)
- konwersja ze stanu I do stanu pośredniego A
- emisja laserowa: powrót do stanu X



Przejścia w laserze czterostopniowym.

- pompowanie: przejście ze stanu podstawowego X do wzbudzonego I konwersja ze stanu I do stanu pośredniego A
- emisja laserowa: konwersja stanu A do A'
- powrót do stanu X

Inwersja obsadzeń

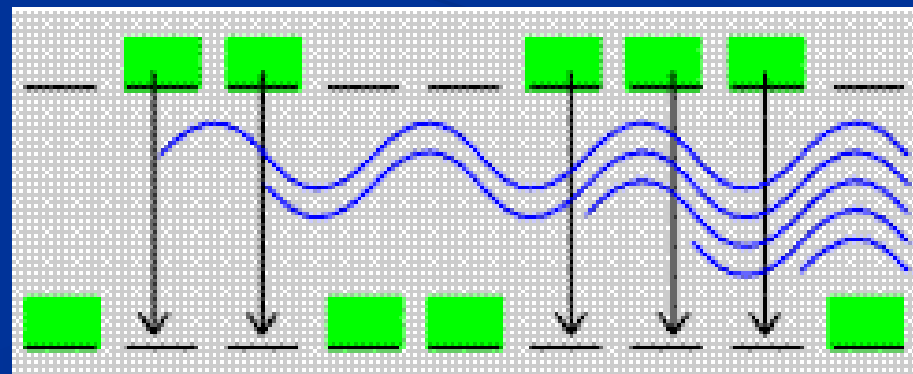


Stan równowagi termicznej:
populacja stanów wzbudzonych mała



Liczba stanów
wzbudzonych wyższa
od stanów
podstawowych

Spontaniczna emisja
promieniowana
elektromagnetycznego





Laser emituje impuls o energii 0.10J o czasie trwania 3.0 ns.
Jaka jest moc wyjściowa impulsu?

Moc wyjściowa jest energia uwalniana w jednostce czasu.:

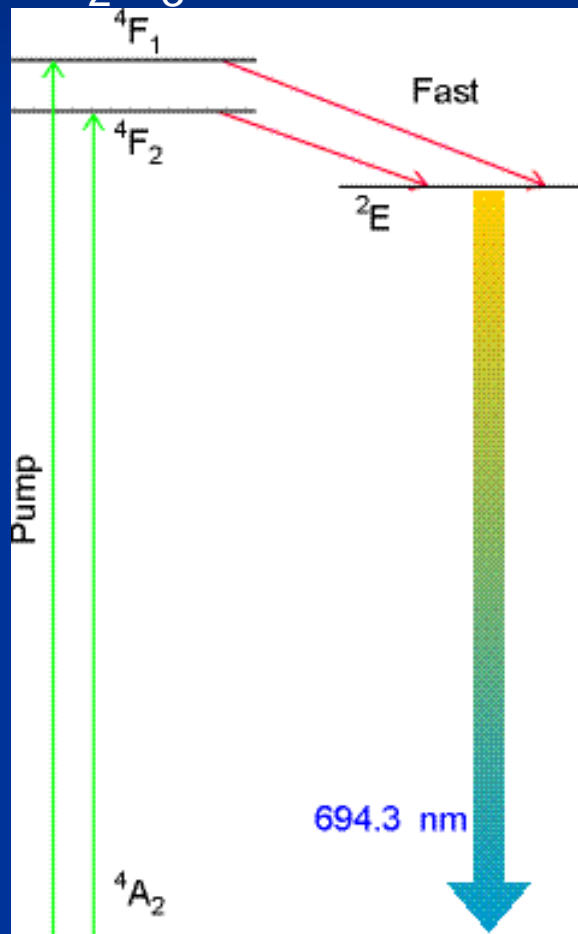
$$P = \frac{0.10J}{3.0 \cdot 10^{-9}s} = 3.3 \cdot 10^7 W$$

Bardzo wysoka wartość. Jest to moc średnia, a ponieważ impuls nie jest kwadratowy szczytowa wartość będzie jeszcze większa.

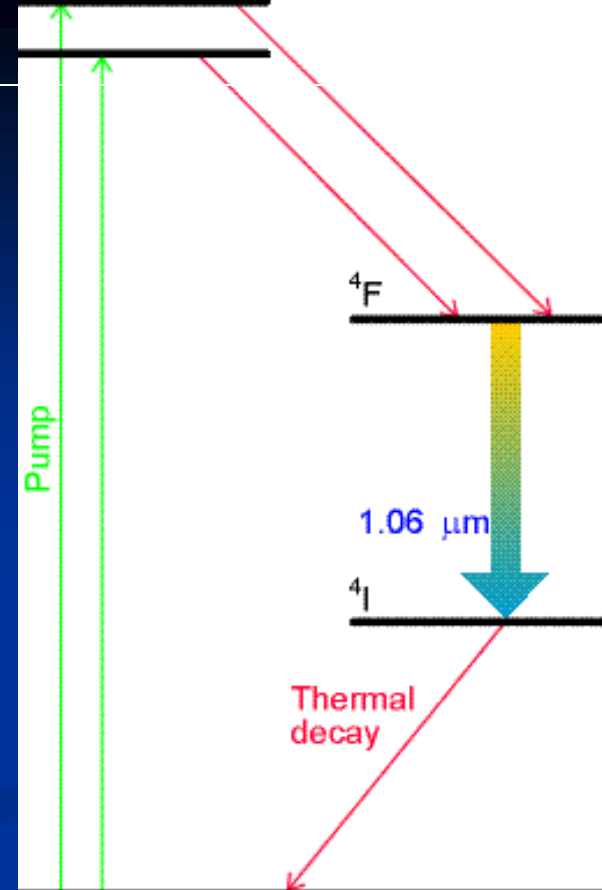
Lasery stałe

Lasery rubinowy:

Al_2O_3 domieszkowany Cr^{3+}



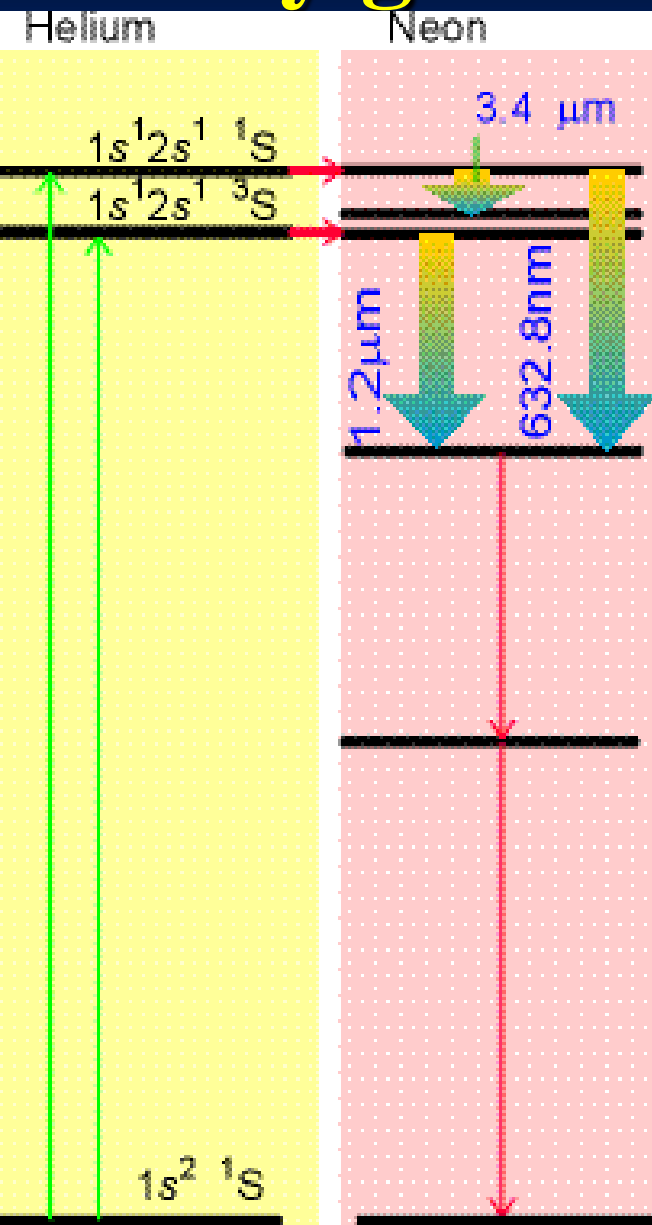
Skonstruowany w 1960r przez Theodora Maimana. Typowe sygnały o energii 2J i czasie trwania 10ns, co oznacza moc średnia 0.2GW



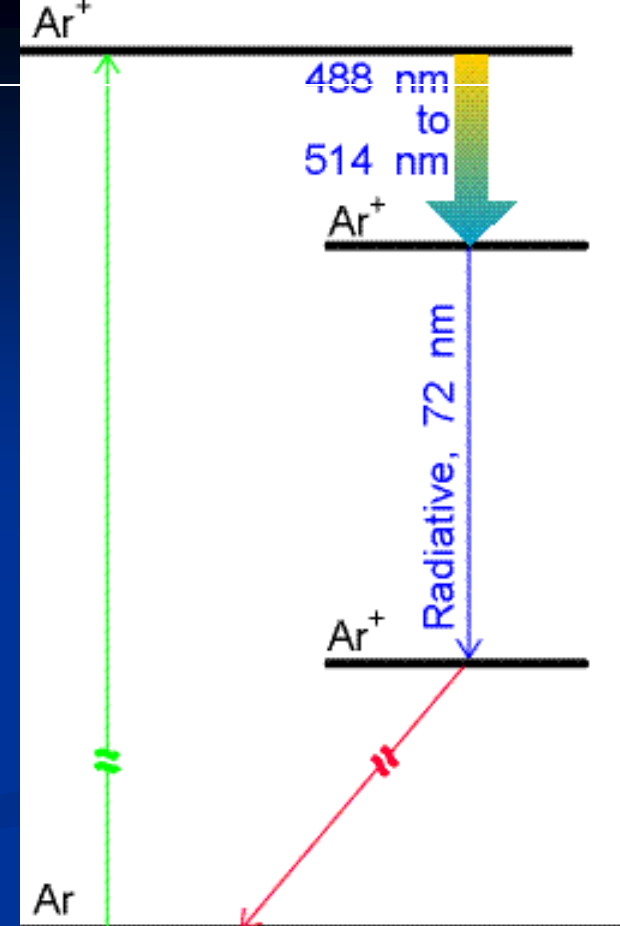
Lasery neodymowy:
domieszkowane Nd^{3+}

Lasery czteropoziomowe. Akcja laserowa pomiędzy dwoma stanami wzbudzonym jest łatwiejsza niż w laserze rubinowym

Lasery gazowe



Przejścia zachodzące w laserze argonowym.



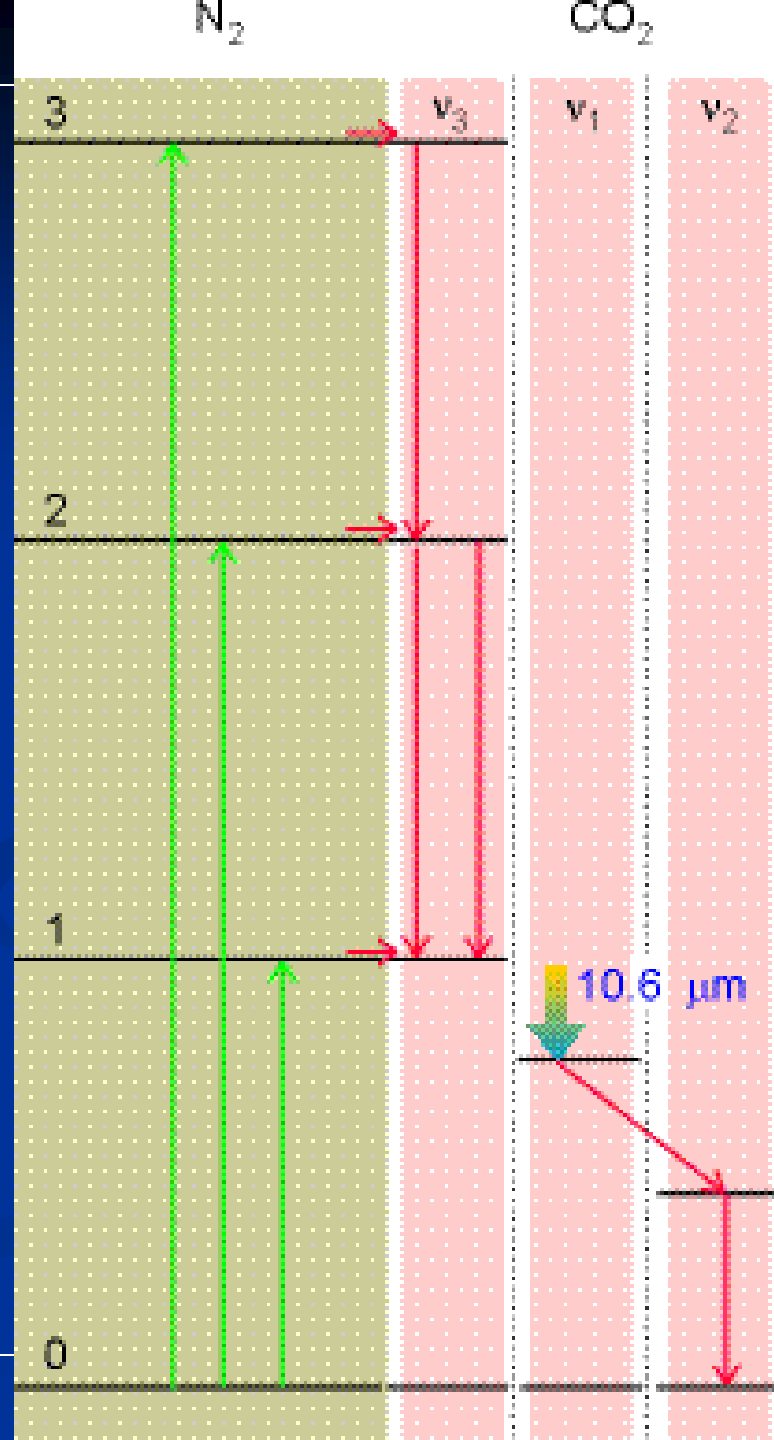
Przejścia zachodzące w laserze helowo-neonowym. Pompowanie neonu wykorzystuje przypadkową zbieżność odstępów pomiędzy poziomami energetycznymi Ne i He. Dlatego wzbudzone atomy He mogą podczas zderzeń przekazywać swoją energię atomom Ne.

Lasery gazowe

Przejścia w laserze CO₂:

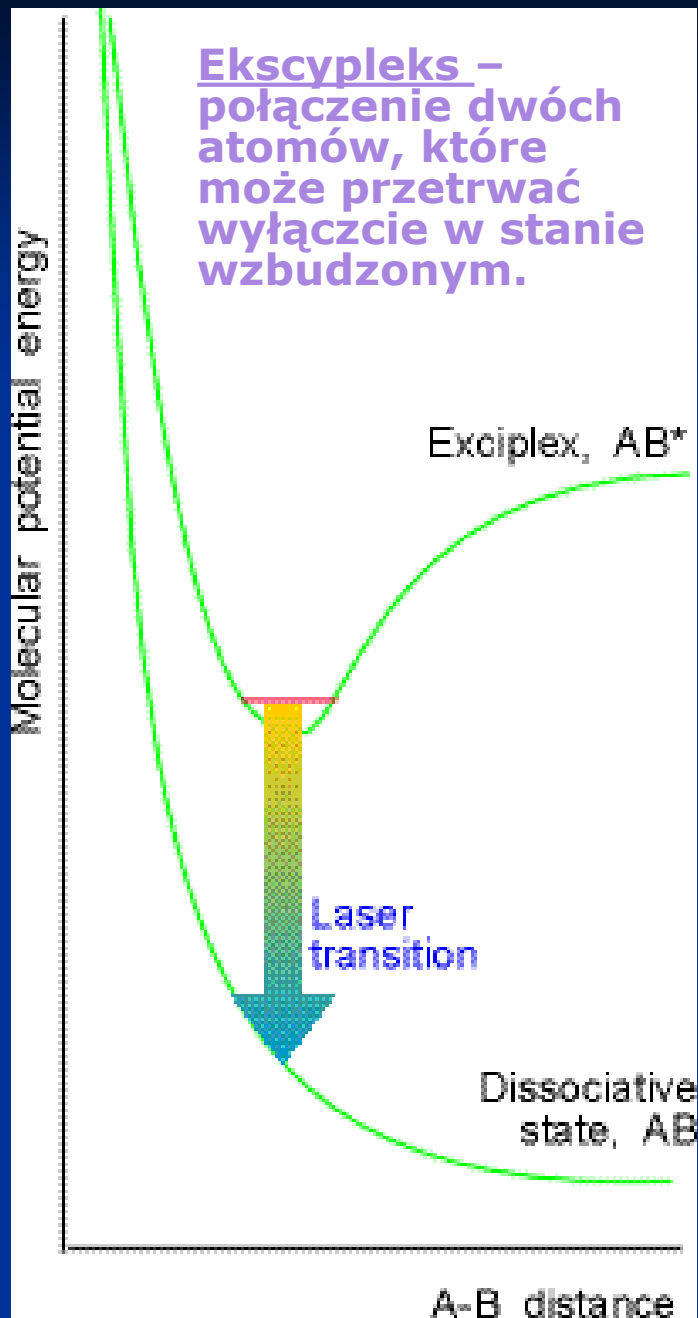
Wykorzystywana jest zbieżność poziomów energetycznych pomiędzy wzbudzonymi poziomami oscylacyjnymi azotu. Wzbudzone cząsteczki N₂ mają energie pokrywające się z drganiami rozciągającymi antysymetrycznymi CO₂. Akcja laserowa następuje dla przejść:

$$v_3 = 3 \rightarrow v_1 = 1$$



Lasery chemiczne i ekscypleksowe

Ekscypleks – połączenie dwóch atomów, które może przetrwać wyłączenie w stanie wzbudzonym.

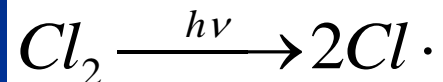


Lasery chemiczne:

Lasery wykorzystujące reakcje chemiczne do tworzenia odwróconego rozkładu obsadzeń

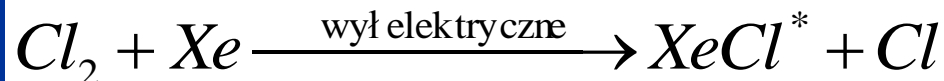
Przykładowo:

fotoliza chloru w mieszaninie z wodorem:



Utworzenie cząsteczek HCl prowadzi do nierównowagowego obsadzenia poziomów oscylacyjnych i podczas przejścia do stanów podstawowych może dojść do akcji laserowej.

Lasery ekscypleksowe – jest odmianą lasera chemicznego, dla którego nie istnieje niższy energetycznie stan, np.:



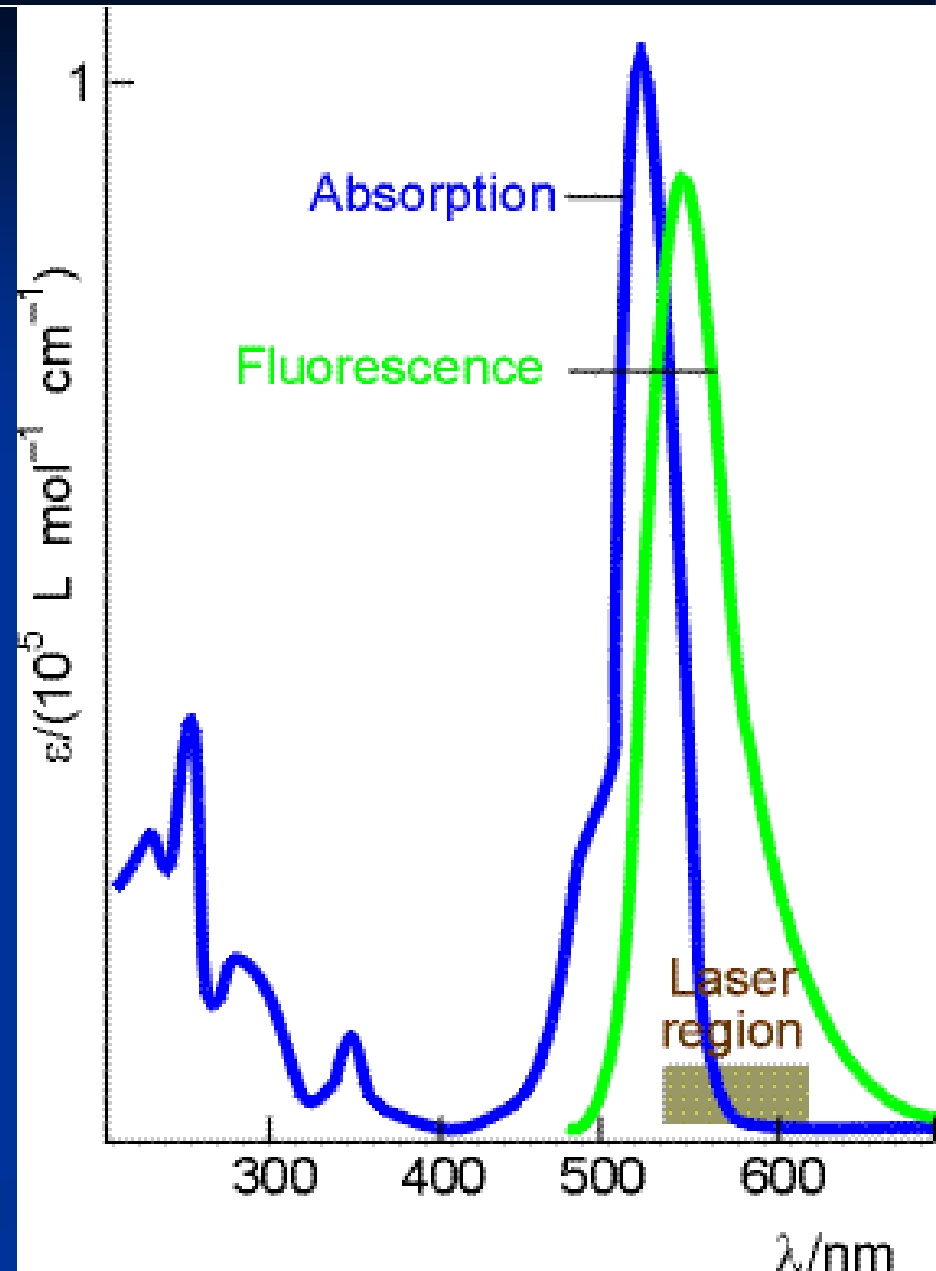
emisja przy 308 nm.

Innym ekscypleksem jest KrF* (249nm)

Lasery barwnikowe

Lasery gazowe oraz stałe emitują dyskretne długości fal (nie można ich dostrajać na żądaną długość fali). Problem ten pokonano stosując lasery barwnikowe.

Lasery barwnikowe emitują szeroką wiązkę laserową, którą można poddać monochromatyzacji jak inne źródła promieniowania (np. siatka dyfrakcyjna).



Właściwości wiązek laserowych

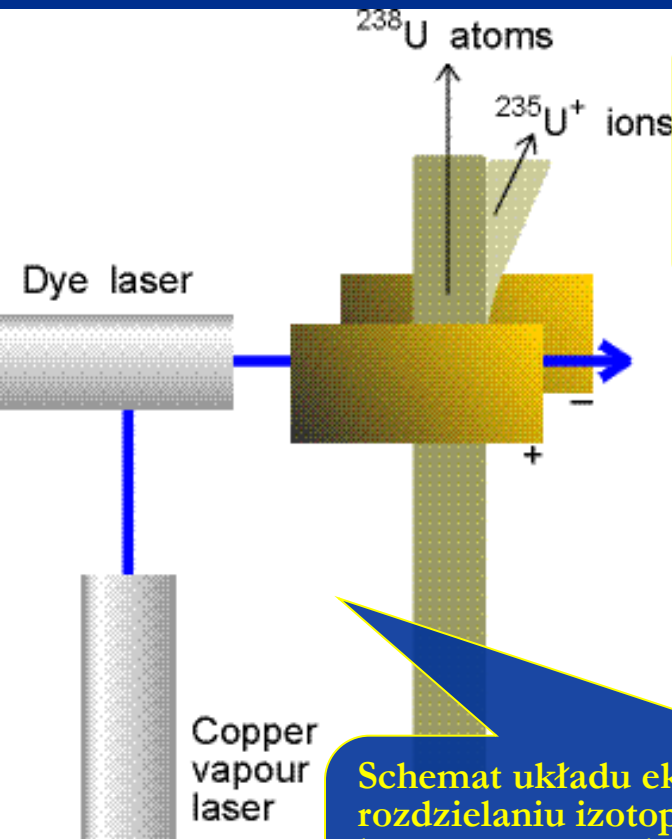
Cechy charakterystyczne promieniowania laserowego – zastosowania w chemii

Cecha	Zalety	Zastosowanie
Duża moc	procesy wielofotonowe	spektroskopia nieliniowa spektroskopia nasyceniowa
	niski poziom szumów detektora wysoka intensywność rozpraszania	wzrost czułości spektroskopia Ramana
Monochromatyczność	wysoka rozdzielczość selekcja stanów	spektroskopia rozdzielanie izotopów precyzja fotochemiczna dynamika reakcji między określonymi stanami
Skolimowanie wiązki	długa droga optyczna obserwowalne rozproszenie do przodu	czułość spektroskopia nieliniowa Ramana
Spójność	interferencja pomiędzy poszczególnymi wiązkami	CARS
Generowanie impulsów	precyzyjnie odmierzony czas wzbudzenia	szybkie reakcje relaksacja przeniesienie energii

Rozdzielanie izotopów - fotojonizacja

Możliwość precyzyjnego wyboru stanu za pomocą lasera jest bardzo ważna dla laserowego rozdzielania izotopów.

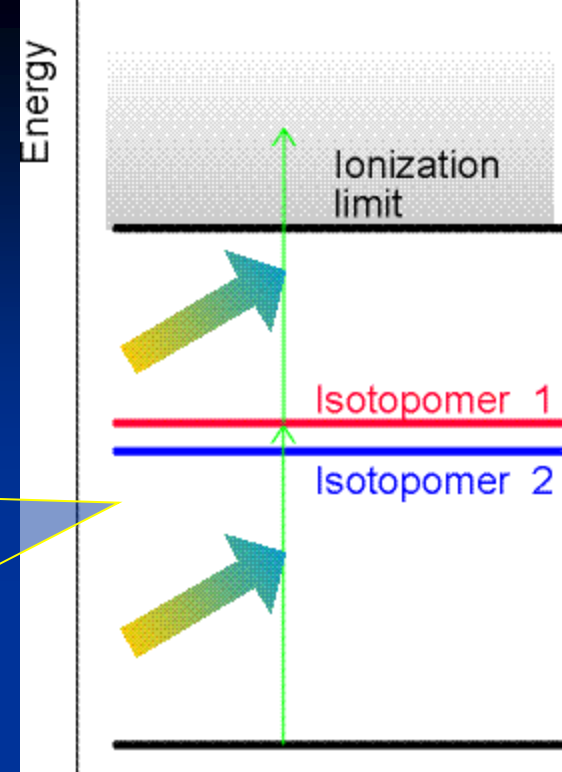
Rozdzielenie izotopów jest możliwe dzięki temu, że poziomy energii dwóch izotopomerów, czyli substancji różniących się od siebie tylko składem izotopowym, są nieco różne, a zatem i częstości ich absorpcji są nieco inne.



W jednej z metod rozdzielania izotopów jeden foton wzbudza izotopomer do stanu wzbudzonego, a drugi foton wywołuje jego fotojonizację. Powodzenie pierwszego etapu tego procesu zależy od masy jądra

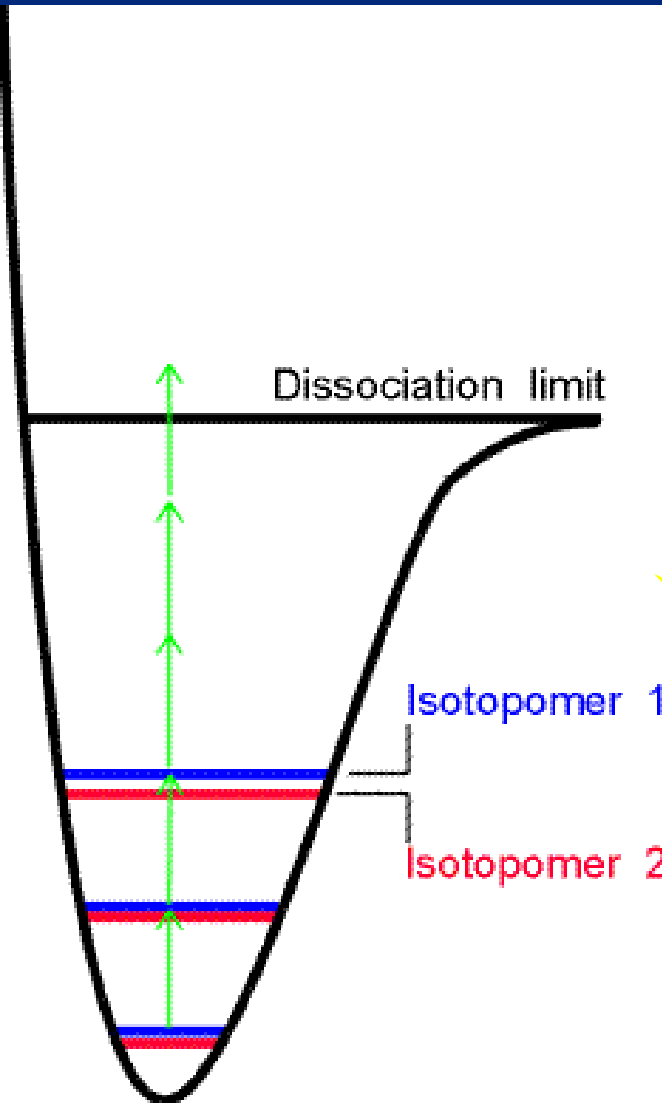
Jednym ze sposobów jest zastosowanie fotojonizacji, czyli wybicia elektronu z cząsteczki w wyniku absorpcji promieniowania elektromagnetycznego. Bezpośrednia fotojonizacja spowodowana absorpcją pojedynczego fotonu nie rozróżnia izotopomerów. Konieczne są przynajmniej dwa procesy absorpcji. W pierwszym z nich foton wzbudza atom do wyższego stanu, w drugim padający foton wywołuje fotojonizację tego stanu

Schemat układu eksperymentalnego stosowanego przy rozdzielaniu izotopów. Laser barwnikowy, pompowany laserem na parach miedzi, fotojonizuje selektywnie atomy U o odpowiedniej masie, a następnie powstałe jony są odchylane w polu elektrycznym przyłożonym pomiędzy płytkami

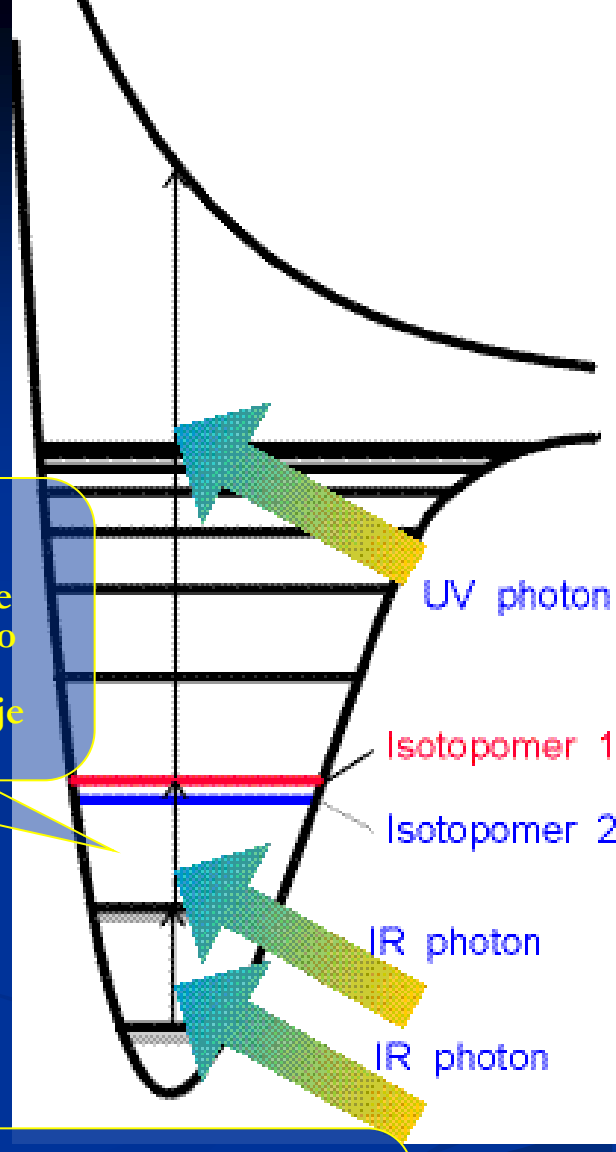


Rozdzielanie izotopów - fotodysocjacja

Izotopomerów cząsteczkowych używa się w technikach opartych na procesie fotodysocjacji, czyli rozbicia cząsteczki na fragmenty w wyniku absorpcji promieniowania elektromagnetycznego.



Jedną z metod polega na użyciu dwóch laserów: foton z zakresu podczerwieni wzbudza selektywnie jeden z izotopomerów do wyższego stanu oscylacyjnego, a następnie foton z zakresu nadfioletu finalizuje proces fotodysocjacji.



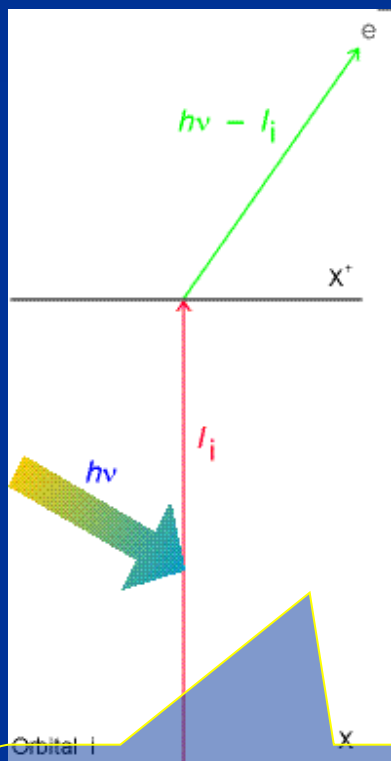
W alternatywnej metodzie wykorzystuje się absorpcję wielofotonową w obrębie podstawowego stanu elektronowego; wydajność absorpcji pierwszych kilku fotonów zależy od tego, czy ich częstotliwości są dopasowane do odległości między poziomami energii, jest więc ona czuła na masę jądra.

PES – spektroskopia fotoelektronów

PES (ang. *photoelectron spectroscopy*), dokonuje pomiaru energii jonizacji cząsteczek przy wybijaniu elektronów z różnych orbitali.

Ponieważ proces jonizacji cząsteczki (atomu) zachodzi z zachowaniem energii, energia fotonu padającego $h\nu$ musi być równa sumie energii jonizacji próbki oraz energii kinetycznej fotoelektronu. Fotoelektrony mogą pochodzić z dowolnego z licznych orbitali, z których każdy ma inną energię jonizacji.

$$h\nu = \frac{1}{2}m_e V^2 + I_i$$



Mierząc energie kinetyczne fotoelektronów oraz znając częstotliwość promieniowania, można określić wartości energii jonizacji. Widma fotoelektronów interpretuje się w kategoriach przybliżenia nazywanego teorematem Koopmansa, stwierdzającego, że energia jonizacji jest równa energii orbitalnej wybitego elektronu. Teoremat ten jest tylko przybliżeniem, gdyż nie uwzględnia faktu, że w trakcie jonizacji rozmieszczenie pozostałych elektronów ulega zmianie.

Energie jonizacji cząsteczek są rzędu kilku elektronowoltów, nawet dla elektronów walencyjnych, konieczna jest zatem praca w zakresie promieniowania co najmniej nadfioletowego, o długości fali krótszej od ok. 200 nm.

W większości doświadczeń używano promieniowania generowanego podczas wyładowań elektrycznych w helu: linia He(I) ($1s^2p^1 \rightarrow 1s^2$) jest położona przy 58,43 nm, co odpowiada energii fotonu 21,22 eV.

Foton padający niesie ze sobą energię $h\nu$; do usunięcia elektronu z orbitalu i potrzebna jest energia I_i , a różnica tych dwóch energii jest energią kinetyczną elektronu

PES – spektroskopia fotoelektronów

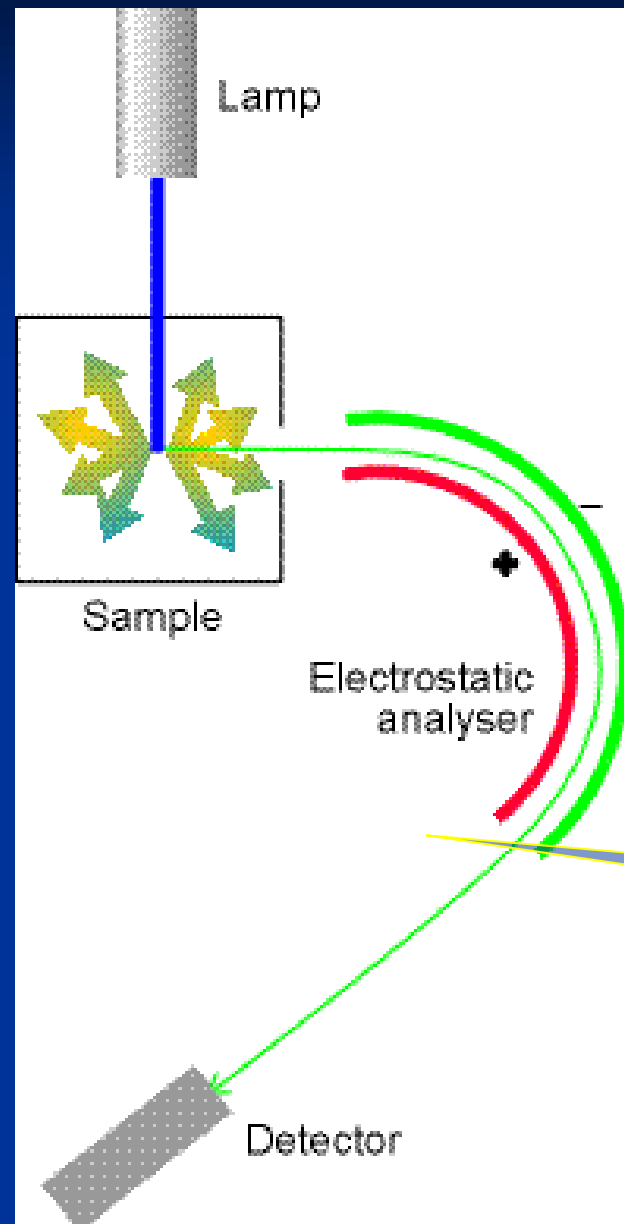
UPS– spektroskopia fotoelektronów wzbudzanych promieniowaniem UV

XES– spektroskopia fotoelektronów wzbudzanych promieniami X

Pomiaru energii kinetycznych fotoelektronów dokonuje się za pomocą analizatora elektrostatycznego, który odchyła w różnym stopniu toru elektronów przechodzących pomiędzy naładowanymi płytkami.

Gdy zwiększa się natężenie pola, wówczas do detektora docierają elektrony o innych szybkościach, a zatem i innych energiach kinetycznych. Strumień elektronów można zarejestrować, a następnie wykreślić jego intensywność jako funkcję energii kinetycznej, czyli otrzymać widmo fotoelektronów.

Spektrometr fotoelektronów składa się ze źródła promieniowania jonizującego (np. lampa helowa w metodzie UPS lub źródło promieni X w metodzie XPR), analizatora elektrostatycznego i detektora elektronów. Odchylenie toru elektronu wywołane przez analizator zależy od prędkości, z jaką elektron jest wyrzucany z próbki

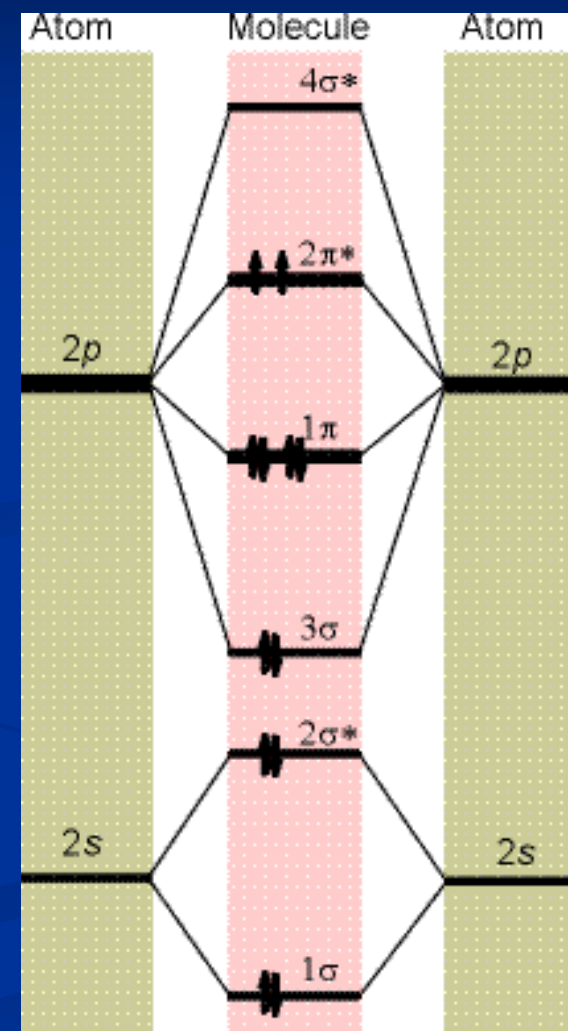


Przykład

Fotoelektrony wybite z N_2 promieniowaniem He(I) miały energię kinetyczną równą 5,63 eV ($1 \text{ eV} = 8065,5 \text{ cm}^{-1}$). Długość fali promieniowania He(I) wynosi 58,43 nm, co odpowiada liczbie falowej $1,711 \cdot 10^5 \text{ cm}^{-1}$ i energii 21,22 eV.

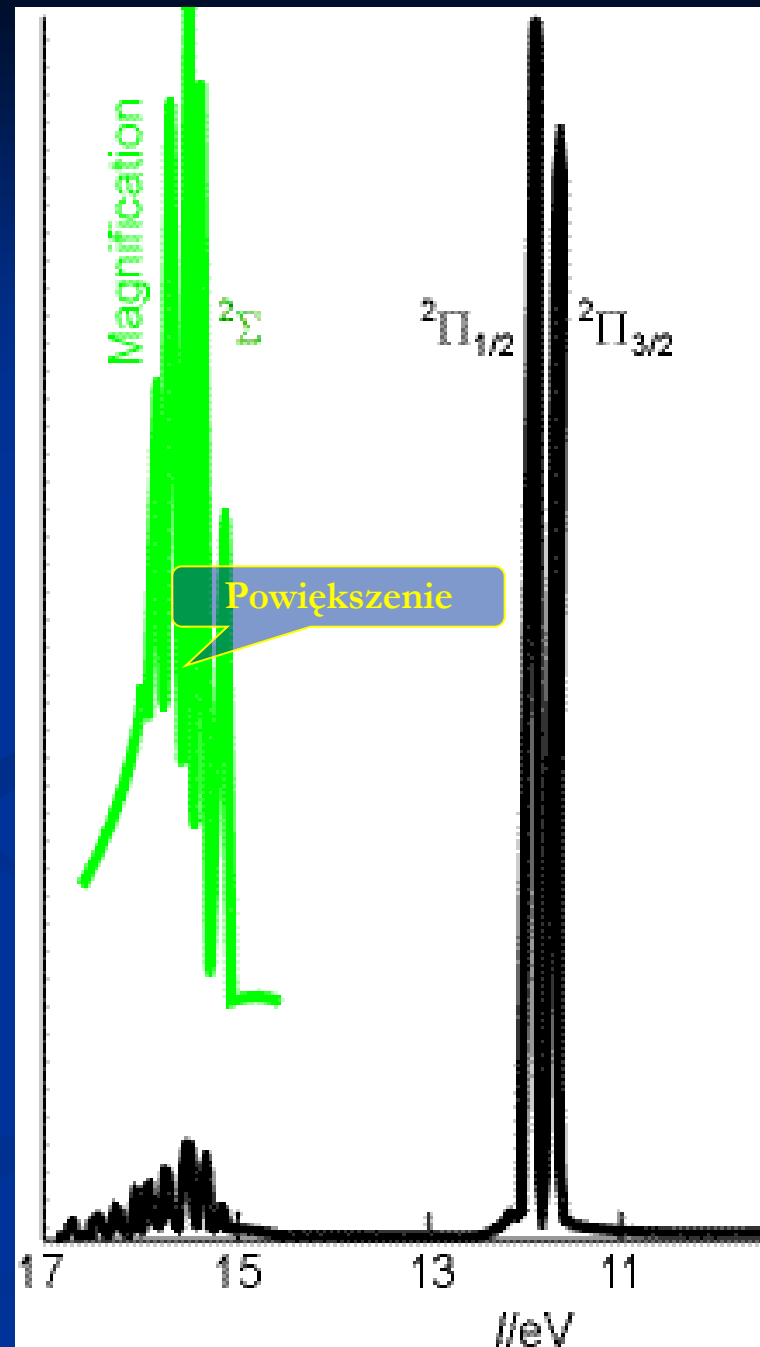
$$h\nu = \frac{1}{2}m_e V^2 + I_i$$

otrzymujemy więc $21,22 \text{ eV} = 5,63 \text{ eV} + I_i$, zatem $I_i = 15,59 \text{ eV}$. Jest to energia jonizacji potrzebna do usunięcia elektronu z orbitalu HOMO cząsteczki N_2 , którym jest orbital wiążący 3σ .



UPS - spektroskopia fotoelektronów wzbudzanych promieniowaniem UV

Typowe widmo fotoelektronów (HBr). Jeśli zaniedbać strukturę subtelną, widzimy, że linie HBr dzielą się na dwie główne grupy. Elektronami najsłabiej związanymi (o najmniejszych energiach jonizacji, a więc największych energiach kinetycznych po wybiciu) są elektrony niewiążącej pary elektronowej atomu Br ($0\ 1 = 11,8\ \text{eV}$). Następna wartość energii jonizacji odpowiada linii przy $15,2\ \text{eV}$ i jest to energia związana z wybiciem elektronu z orbitalu Q wiązania H-Br.



XES– spektroskopia fotoelektronów wzbudzanych promieniami X

W technice XPS energie padających fotonów są tak wielkie, że wybite zostają elektrony powłok wewnętrznych (rdzenia). W pierwszym przybliżeniu energie jonizacji rdzenia nie są czułe na obecność wiązania pomiędzy atomami, ponieważ elektrony rdzenia są zbyt silnie związane, aby odczuć zmianę spowodowaną utworzeniem wiązania.

Energie jonizacji rdzenia stanowią więc raczej cechę charakterystyczną poszczególnych atomów wchodzących w skład cząsteczki niż całej cząsteczki.

W technice XPS otrzymuje się zatem linie, które są charakterystyczne dla pierwiastków obecnych w związku lub stopie.

Na przykład energie jonizacji powłoki K pierwiastków drugiego okresu wynoszą:

Li	Be	B	C	N	O	F
50	110	190	280	400	530	690 eV

Zarejestrowanie jednej z powyższych wartości (oraz wartości odpowiadających –wybiciu elektronu z innych powłok wewnętrznych) wskazuje na obecność odpowiednich pierwiastków w próbce.

ESCA (ang. *electron spectroscopy for chemical analysis*) spektroskopia elektronów do analizy chemicznej,

