

UMA DEMONSTRAÇÃO SOBRE O ESPALHAMENTO INELÁSTICO DE LUZ: REPETINDO O EXPERIMENTO DE RAMAN

D. L. A. de Faria* e L. G. C. Santos

Instituto de Química da Universidade de São Paulo - CP 26077 - 05599-970 - São Paulo - SP

N. S. Gonçalves

Depto. de Química - Universidade Federal de Santa Catarina - Campus Universitário - 88040-900 - Trindade - Florianópolis - SC

Recebido em 11/3/96; aceito em 21/11/96

A DEMONSTRATION ON INELASTIC LIGHT SCATTERING: THE RAMAN EXPERIMENT REVISITED. An adaptation of the Raman experiment is presented as a very convenient, simple and easily made demonstration about inelastic light scattering. The procedure involves an overhead projector, a rectangular and transparent cell, complementary filters and solvent. Alternatively a spectrofluorimeter can be used to evaluate how weak Raman scattering is.

Keywords: Raman; light scattering; spectroscopy.

INTRODUÇÃO

A espectroscopia Raman ocupa hoje uma posição destacada dentre as técnicas usadas na investigação da estrutura microscópica da matéria.

É sabido que as técnicas espectroscópicas de uma maneira geral, fornecem informações detalhadas sobre os níveis de energia das espécies em estudo; particularmente no caso da espectroscopia vibracional, a grande vantagem reside na maior riqueza de detalhes proporcionada pelos níveis de energia vibracionais, frente aos níveis de energia eletrônicos: enquanto os espectros eletrônicos são constituídos por bandas largas e usualmente sem estrutura, os vibracionais representam a "impressão digital" das moléculas.

Sem dúvida alguma, a espectroscopia Raman detém uma série de vantagens sobre a espectroscopia de absorção no infravermelho (IV) sendo que as principais são a possibilidade de obtenção do espectro de substâncias em meio aquoso e a perspectiva de se lançar mão de recursos especiais, como o efeito Raman ressonante¹ e o efeito SERS² que aumentam sua sensibilidade. Mais ainda, trata-se de uma técnica de investigação não destrutiva, que combinada com o uso de fibras óticas, permite a monitoração remota de amostras; essa possibilidade vem sendo explorada por exemplo, no estudo de obras de arte³ e em pesquisa biomédica, por permitir o estudo de tecidos "in vivo"⁴.

Apesar disso, são poucos os grupos de pesquisa no Brasil que se utilizam dessa técnica espectroscópica. Frequentemente, o custo de um equipamento Raman é lembrado como uma restrição séria à sua utilização, principalmente considerando a necessidade de aquisição de lasers para a excitação das amostras. Hoje em dia, porém, o desenvolvimento tanto de lasers quanto de detectores, levou ao barateamento dos instrumentos disponíveis e um equipamento básico pode ser adquirido por um custo comparável ao de um bom espectrofotômetro de absorção no IV. Como exemplo, foi recentemente publicado um artigo sobre a construção de um equipamento completo para fins didáticos, com laser e detector, de custo estimado em menos de US\$ 20.000⁵.

Parece então, que um diagnóstico mais correto é aquele que leva em conta a pouca familiaridade da comunidade científica com a técnica e com o tipo de informação que ela proporciona.

Mesmo livros textos de físico-química consagrados⁶ dedicam muito pouco espaço ao espalhamento Raman e há uma deficiência mais séria ainda, quando se trata de textos em língua portuguesa, sendo poucas as opções disponíveis aos interessados⁷.

Dentro desse contexto, é importante que se faça uma breve introdução histórica sobre a descoberta do efeito Raman, a qual pode ser encontrada de forma menos concisa em alguns textos recentes^{8,9}.

Chandrasekhara Venkata Raman nasceu no sul da Índia há pouco mais de cem anos e descobriu o efeito que hoje leva seu nome em 1928. A descoberta do efeito Compton¹⁰ por A. H. Compton em 1923, levou Raman a considerar a possibilidade de existência de um fenômeno similar, ou seja, espalhamento inelástico de radiação, também para a região visível do espectro.

Surpreendentemente, o equipamento empregado para a observação do efeito não poderia ser mais simples: a luz do sol, um espectroscópio de bolso e, como detector, o olho humano (uma descrição detalhada do arranjo empregado será apresentada no próximo item).

Essencialmente, Raman imaginou que seria possível também à radiação visível interagir com a matéria de modo tal que houvesse variação na energia do fóton incidente. No caso do efeito Compton, o caráter inelástico da interação dos raios-X com a matéria se deve à transferência de uma certa quantidade de *momentum* para os elétrons do material espalhador, enquanto que no efeito Raman a transferência de energia depende da existência de níveis vibracionais (ou vibrônicos¹¹ melhor expressando) adequados.

Em uma descrição abreviada, pode-se dizer que no espalhamento inelástico de luz, a radiação eletromagnética interage com a matéria através de seu campo elétrico, levando-a até um estado virtual, assim chamado por não corresponder a um autoestado¹² da molécula. Esse estado virtual pode ter sua energia relaxada de dois modos: a molécula pode retornar ao estado vibrônico original ou pode retornar a um outro estado de diferente energia. No primeiro caso, tem-se o espalhamento elástico de luz, ou espalhamento Rayleigh¹³, responsável pela coloração azul do céu, enquanto que no segundo caso tem-se o espalhamento inelástico, ou espalhamento Raman.

O espalhamento inelástico de luz pode resultar tanto em um fóton de menor energia, quanto em um fóton de maior energia. No primeiro caso, o fóton incidente encontra a molécula em um estado vibracional fundamental e o fóton espalhado a deixa em um estado vibracionalmente excitado (fig.1a); a diferença

* E-mail: dlafaria@quim.iq.usp.br

de energia entre o fóton incidente e o espalhado corresponde, portanto, à energia necessária para excitar esse nível vibracional. O mesmo acontece caso o fóton espalhado tenha maior energia que o fóton incidente: devido à distribuição de Boltzman¹⁴, existe um número finito de moléculas que, nas condições ambientes, já estão vibracionalmente excitadas (fig.1c) e quando a molécula retorna ao estado fundamental a partir de um estado virtual, um fóton com maior energia do que o fóton incidente é criado.

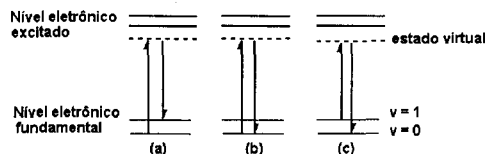


Figura 1. Espalhamento de luz: (a) espalhamento inelástico (região Stokes); (b) espalhamento elástico (Rayleigh); (c) espalhamento inelástico (região anti-Stokes).

No primeiro caso mencionado, tem-se o espectro Raman na chamada região Stokes (fóton espalhado com energia menor que a do incidente), enquanto que no segundo, na região anti-Stokes (fóton espalhado com energia maior que a do incidente). Além da diferença de energia em valores absolutos¹⁵, o espectro registrado nessas duas regiões apresenta significativas diferenças de intensidade, já que na região anti-Stokes a intensidade de uma banda é diretamente proporcional à população do nível vibracional correspondente, que por sua vez é inversamente proporcional à energia necessária para populá-lo esse nível.

Apesar do efeito Raman envolver também dois fótons, ele não deve ser confundido com fluorescência¹⁶, uma vez que ambos os fenômenos têm naturezas diferentes. Esse aspecto não será aqui abordado por fugir ao escopo deste texto porém maiores detalhes a esse respeito podem ser encontrados na literatura^{17,18}.

A primeira publicação de Raman a respeito desse efeito, apareceu na revista Nature em 31 de março de 1928¹⁹. Nesse artigo, encontra-se descrito o arranjo experimental por ele utilizado e que efetivamente era de extrema simplicidade: a luz solar era focalizada através de uma série de lentes em um recipiente contendo um líquido transparente cuidadosamente purificado; antes da amostra porém, era colocado um filtro que deixava passar somente radiação na região de maior energia do espectro (filtro azul). Observando a amostra em uma direção perpendicular à direção de iluminação, era possível observar o traço luminoso devido ao espalhamento da radiação.

Se um filtro complementar, no caso um filtro amarelo, fosse colocado em série com o filtro azul, antes da cubeta, evidentemente toda a radiação era bloqueada, não atingia a amostra e não se observava traço algum. Essa também deveria ser a situação quando se colocasse o filtro amarelo após a amostra, caso não houvesse espalhamento inelástico de luz (fig. 2).

Raman testou nesse arranjo cerca de 80 líquidos diferentes e em todos os casos, era observado um traço azulado ou esverdeado remanescente. Duas explicações poderiam ser dadas para esse fato: ou se tratava de emissão fluorescente de impurezas contidas nos líquidos, ou então uma parcela da luz ao atravessar a amostra, tinha sua frequência deslocada para comprimentos de onda maiores e não era, desse modo, totalmente bloqueada pelo filtro amarelo.

Raman purificou exaustivamente os compostos estudados e independentemente desse procedimento, continuava a observar o traço de luz na amostra através do filtro amarelo, eliminando dessa forma a primeira hipótese. Estava assim descoberto um novo tipo de fenômeno, batizado de *efeito Raman* por um dos estudantes do pesquisador indiano.

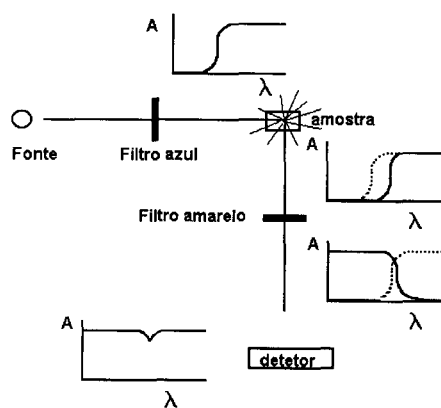


Figura 2. Diagrama representando o arranjo proposto empregando projetor de transparências como fonte de radiação policromática (A é absorbância).

ADAPTANDO O EXPERIMENTO À DEMONSTRAÇÃO

A extrema simplicidade da aparelhagem com que o efeito Raman foi descoberto sugere que se pense em empregá-lo como demonstração de bancada em cursos de físico-química onde a interação da radiação eletromagnética com a matéria seja abordada, ou mesmo em cursos introdutórios de espectroscopia.

O arranjo reportado neste trabalho preserva a simplicidade do experimento original, com a substituição da fonte de radiação: ao invés da luz solar, emprega-se um projetor de transparências que tem sua luz focalizada na amostra, contida em uma cubeta de vidro com pelo menos 2 faces transparentes.

Como o espalhamento inelástico de luz é um efeito fraco (também chamado de efeito de segunda ordem), a pouca intensidade da radiação espalhada faz com que seja necessário que o experimento seja realizado com a mínima quantidade possível de luz presente, como uma sala totalmente escura. Além disso, para minimizar o efeito de iluminação residual proveniente da fonte de luz que se está empregando, uma proteção do tipo "câmara escura" foi montada e consiste em uma caixa de papelão, escurecida em seu interior e com dois orifícios: um por onde entra a luz que atinge a amostra e outro onde se situa o observador; outros arranjos podem ser empregados em função das condições inerentes ao local onde a demonstração será feita e dos recursos disponíveis.

Como sistema espalhador pode-se empregar um solvente, como o acetonitrila por exemplo, desde que esteja extremamente pura para evitar a observação de emissão devida a impurezas. Outros solventes podem ser utilizados também, mas devem ser evitados tanto aqueles que ofereçam risco à saúde do observador, como benzeno por exemplo, quanto aqueles que são fracos espalhadores, como a água. Também é aconselhável que a substância possua grupos $-CH_3$ ou $-NH_2$, isso porque a diferença de energia entre o fóton incidente e o fóton espalhado depende do modo vibracional responsável pelo espalhamento da radiação, como já foi anteriormente mencionado (veja fig. 1). Os grupos $-CH_3$ e $-NH_2$ têm vibrações características acima de 3000 cm^{-1} e esse será conseqüentemente o deslocamento Raman causado por esses grupos, assim os fótons espalhados não serão bloqueados pelo filtro amarelo. Substâncias como o CCl_4 , por exemplo, apesar de serem bons espalhadores não devem ser empregadas nesta demonstração, porque provocam pequeno deslocamento na energia do fóton, dificultando sua observação.

A superfície de vidro do retroprojetor deve ser coberta integralmente por um cartão escuro com um pequeno orifício central (cerca de 3 mm de diâmetro). Sobre esse orifício deve ser colocado o filtro azul e, sobre ele, a cubeta contendo o solvente

(espalhador). Esse conjunto é então coberto com a caixa de papelão, que terá um orifício à mesma altura da cubeta para permitir a observação da luz espalhada; deve-se fixar o filtro amarelo ao orifício com fita adesiva, para facilitar a observação (fig. 3). Os espectros de absorção na região do visível dos filtros utilizados estão mostrados abaixo (fig. 4); filtros de outros fornecedores podem ser empregados desde que tenham comportamento similar.

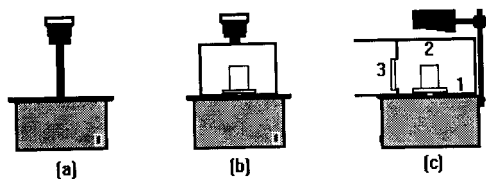


Figura 3. Descrição do arranjo para observação do efeito Raman usando retroprojektor. Na figura c, 1 corresponde ao filtro azul, 2 é a cubeta com o solvente escolhido e 3 corresponde ao filtro amarelo.

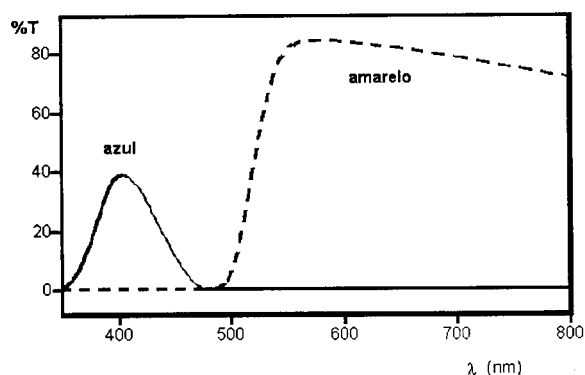


Figura 4. Espectros de absorção no visível dos filtros empregados ambos da Corning: 511 STD (azul) e 352 (amarelo).

A luz que atravessa o filtro azul, incide sobre a amostra e é inelasticamente espalhada, o que gera uma certa quantidade de fótons com energia menor (maior comprimento de onda) do que a dos que incidiram sobre o solvente. Como o filtro amarelo é incapaz de reter esses componentes de menor energia, é possível observá-los como um traço de luz azulado atravessando a amostra.

Considerando que o número de fótons espalhados inelasticamente é pequeno (veja abaixo), é necessário acostumar os olhos à escuridão por alguns momentos. Caso ainda seja difícil ver o traço azulado, sugere-se que não se olhe diretamente para a amostra mas ligeiramente para o lado, uma vez que as regiões periféricas da retina são mais sensíveis.

No parágrafo acima foi dito que o espalhamento Raman é um efeito fraco, entretanto, seria interessante que se pudesse fazer alguma estimativa acerca de sua intensidade relativa, ou seja, definir uma eficiência para o espalhamento inelástico de luz. Isso pode ser feito empregando-se um espectrofluorímetro.

Em experimentos de fluorimetria com amostras que emitem fracamente, o aparecimento de bandas referentes ao espalhamento Raman de solventes é uma constante. No caso particular da água, essa banda é corriqueiramente empregada na calibração de espectrofluorímetros e sua posição no espectro evidentemente depende do comprimento de onda usado na excitação do mesmo. Para se entender melhor esse ponto, é necessário lembrar que a molécula de água é angulada e a ela correspondem 3 modos normais de vibração⁷: o estiramento simétrico, o assimétrico e a deformação angular; as vibrações de estiramento aparecem ao redor de 3500 cm^{-1} e esse valor no espectro Raman corresponde, em termos absolutos de energia (em cm^{-1}), a

$[(1/\lambda_{\text{exc}}) \times 10^7 - 3500]$, onde λ_{exc} é o comprimento de onda em nanômetros da radiação usada na excitação do espectro (para obter o valor em nanômetros basta tomar o recíproco desse valor e multiplicá-lo por 10^7). Por exemplo: fixando-se o comprimento de onda de excitação do espectro em 500 nm (20.000 cm^{-1}) observar-se-á a banda Raman referente ao estiramento da ligação O-H da água em cerca de 16.500 cm^{-1} ($20.000\text{ cm}^{-1} - 3500\text{ cm}^{-1}$) ou $606,1\text{ nm}$.

É possível então, empregar uma substância de rendimento quântico e concentração conhecidos para avaliar a eficiência do espalhamento Raman, desde que sejam também conhecidas tanto a concentração do espalhador (no caso o solvente) quanto as intensidades (áreas) da banda Raman e da banda de emissão.

Para tanto, tomou-se uma solução de padrão de quinino e através de diluições sucessivas, fez-se com que a intensidade de sua banda de emissão fosse comparável à da banda Raman da água, como mostrado na figura 5a (detalhes do procedimento estão descritos no item Procedimento Experimental); registrou-se também nas mesmas condições o espectro apenas do solvente, onde observou-se, evidentemente, apenas a banda Raman da água (fig. 5b). Calculou-se a área sob a banda Raman no espectro do solvente puro e, feita a subtração dos espectros, determinou-se a área sob a banda de emissão do quinino (fig. 6). As áreas foram calculadas empregando-se o software Grams 386 (Galactica Co.), porém podem ser obtidas através de vários outros métodos alternativos, como uso de planímetro, por exemplo. Como concentração para a água tomou-se o valor 55 mol.dm^{-3} e a concentração de quinino na solução foi determinada espectrofotometricamente ($\epsilon = 5,5 \times 10^3$)²⁰ e correspondeu a $4,4 \cdot 10^{-6}\text{ mol.dm}^{-3}$.

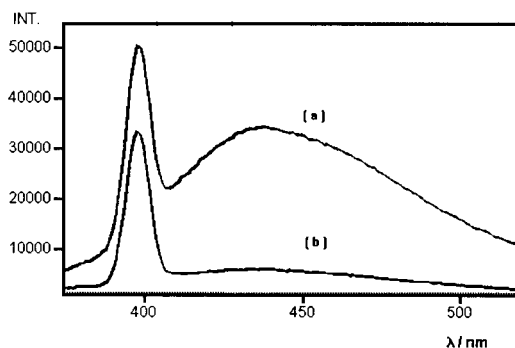


Figura 5. Espectro de emissão. (a) Sulfato de quinino em ácido perclórico $0,1\text{ mol.dm}^{-3}$; (b) ácido perclórico $0,1\text{ mol.dm}^{-3}$.

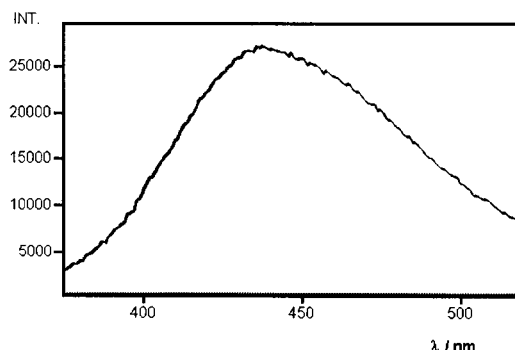


Figura 6. Espectro de emissão de quinino menos a contribuição do solvente.

A intensidade de uma banda Raman depende de características do equipamento usado (ótica de coleção de luz, resposta do aparelho, fenda, etc), da quarta frequência da radiação espalhada, da intensidade da radiação de excitação (I_0), do número de

espalhadores (N) e de sua polarizabilidade (S)²¹, conforme mostra a equação abaixo:

$$I_R = \text{const.} (\nu_0 - \nu_i)^4 \cdot N \cdot I_0 \cdot B^{-1} \cdot S \cdot \nu_i^{-1}$$

O termo B leva em conta o efeito da temperatura sobre a população dos estados vibracionais e tem importância quando se discute a relação de intensidades nas regiões Stokes e anti-Stokes de espectros Raman.

A relação entre o número de fótons espalhados e o número de fótons que interagirão com a amostra é proporcional à seção de choque para espalhamento inelástico de luz, ao passo que a relação entre os fótons emitidos pelo quinino e os fótons por ele absorvidos fornece o rendimento quântico de fluorescência dessa substância.

Dessa forma:

$$I_R = k \cdot \eta \cdot C \cdot V \quad \text{e} \quad I_F = k \cdot \phi \cdot c \cdot V$$

onde I_R é intensidade da banda Raman, dada por sua área, k é uma constante (que depende das condições experimentais, como intensidade da radiação de excitação, resposta do equipamento, fendas empregadas, etc), η é a relação entre o número de fótons espalhados e o número de fótons que incidiram no sistema e C é a concentração de moléculas espalhadoras; $C \cdot V$ corresponde ao número de espécies espalhadoras presentes, lembrando que o número de espalhadores pode ser expresso como o produto de sua concentração pelo volume. No que diz respeito a I_F , ϕ é o rendimento quântico de fluorescência do quinino que corresponde a 0,546²² e c é sua concentração. Como todas as variáveis são conhecidas ou se cancelam, exceto η , essa grandeza pode ser facilmente avaliada:

$$I_R = 2,64 \cdot 10^5; \quad C = 55 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3};$$

$$I_F = 1,64 \cdot 10^6; \quad c = 4,4 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}; \quad \phi = 0,546$$

$$\frac{I_R}{I_F} = \frac{k \cdot \eta \cdot C \cdot V}{k \cdot \phi \cdot c \cdot V}, \text{ ou seja, } \eta = 6 \cdot 10^{-9}$$

É interessante notar a extrema concordância entre o valor obtido e o esperado, uma vez que correntemente estima-se que de cada 10⁸ fótons que incidem sobre uma substância, somente 1 seja espalhado inelasticamente²³. Quando se considera que a água é um fraco espalhador, o valor encontrado é ainda mais adequado.

Como a excitação do espectro foi feita em 350 nm, pode-se determinar a posição da banda Raman da água, empregando-se a fórmula apresentada anteriormente, $[(1/\lambda_{\text{exc}}) \times 10^7 - 3500]$, e que fornece 25071,4 cm^{-1} ou 398,9 nm que corresponde exatamente ao valor observado experimentalmente (fig. 5).

Um fato que pode chamar a atenção, é a observação da banda Raman da água em um espectrofluorímetro, quando foi dito na introdução deste texto que essa substância era fraca espalhadora de luz o que tornava possível obter espectros Raman de soluções aquosas sem a interferência do solvente. Essa aparente contradição é eliminada, quando se considera que em espectroscopia Raman a fenda espectral é usualmente da ordem de 5 cm^{-1} enquanto que a fenda empregada em fluorimetria é substancialmente maior: nesta demonstração por exemplo, a banda passante usada foi de 3,77 nm ou cerca de 200 cm^{-1} em 400 nm.

Deve também ser ressaltado o fato de que a banda Rayleigh da água, que corresponde ao espalhamento elástico de luz, tem a mesma frequência da radiação excitante e por esse motivo não está mostrada na figura 5, uma vez que espectrofluorímetros são dotados de dispositivos de segurança, que impedem que se registrem dados próximos à linha de excitação para evitar danos à fotomultiplicadora.

Finalmente vale mencionar que é possível ainda com esse arranjo observar a polarização da radiação espalhada, bastando para isso colocar um filme polaróide antes e outro após a amostra. Ao se girar os planos de polarização da luz um em relação ao outro, pode-se notar uma significativa variação na intensidade da radiação espalhada.

Este experimento (inclusive a verificação da polarização da luz espalhada) foi testado com projetor de transparências pelo fato de ser um equipamento facilmente disponível, entretanto, é evidente que resultados muito melhores são conseguidos caso se trabalhe com uma lâmpada potente (de projetor de "slides" por exemplo), montada em uma bancada ótica com lentes apropriadas; mesmo nesse caso, esta demonstração tem um custo extremamente baixo e proporciona ao aluno uma interessante introdução ao tema.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Na avaliação da intensidade relativa para espalhamento Raman, foi empregado um espectrofluorímetro Spex Fluorolog2, equipado com fotomultiplicadora Hamamatsu mod. R928 com sensibilidade no vermelho, tendo como fonte de excitação uma lâmpada de Xe de 450W. A fenda mecânica empregada foi de 1 mm que corresponde a uma banda passante de 3,77 nm e os espectros foram registrados em configuração de 90°, com excitação em 350 nm.

Utilizou-se um espectrofômetro Beckman DU-70 para a determinação da concentração de quinino e os filtros empregados eram Corning 511 STD (filtro azul) e 352 (filtro amarelo).

É preciso um cuidado especial com impurezas fluorescentes que possam estar presentes no solvente; neste texto foi empregada a acetonitrila, cujo espectro de emissão não acusou a presença de tais contaminantes. A sugestão do uso de acetonitrila nesta demonstração decorre do fato dessa molécula ser boa espalhadora de luz, mas vários outros solventes foram também testados inclusive água a qual, como foi dito no texto, possui baixa polarizabilidade e produz espalhamento menos perceptível.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Márcia L. A. Temperini pela leitura cuidadosa do texto e ao Prof. Mário Politi pelo uso do espectrofluorímetro. NSG agradece à CAPES/PICD e à UFSC.

REFERÊNCIAS

- Clark, R. J. H.; Dines, T. J.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 131.
- Cotton, T. M.; Kim, J.-H.; Chumanov, G. D.; *J. Raman Spectrosc.* **1991**, 22, 729.
- Davey, R.; Gardiner, D. J.; Singer, B. W.; Spokes, M.; *J. Raman Spectrosc.* **1994**, 25, 53.
- Schrader, B.; Keller, S.; Löchte, T.; Fendel, S.; Moore, D. S.; Simon, A.; Sawatzki, J.; *J. Mol. Struct.* **1995**, 348, 293.
- Fitzwater, D. A.; Thomasson, K. A.; Glinski, R. J.; *J. Chem. Ed.* **1995**, 72, 187.
- Atkins, P. W.; *Physical Chemistry*, 5a. ed., Oxford Univ. Press: Oxford, 1994.
- Sala, O.; *Fundamentos de espectroscopia Raman e no infravermelho*, Ed. UNESP: São Paulo, 1995.
- Miller, F. A.; Kauffman, G. B.; *J. Chem. Ed.* **1989**, 66, 795.
- Jayaraman, A.; *In Vibrational Spectra and Structure*; Bist, H. D.; Durig, J. R.; Sullivan, J. F.; Eds.; Elsevier: Amsterdam, 1989; Vol. 17A, p. xix.
- Compton fez incidir raios-X sobre um bloco de carbono e observou que uma fração dos fótons espalhados possuía

energia diferente dos fótons incidentes, ou seja, sofriam espalhamento inelástico.

11. Uma transição vibrônica é aquela que envolve simultaneamente níveis eletrônicos e vibracionais da molécula. Para maiores detalhes veja, por exemplo, a referência 24.
12. Um auto-estado é aquele que corresponde a uma das soluções da equação de Schrödinger na formulação independente de tempo.
13. O espalhamento Rayleigh não deve ser confundido com o espalhamento de Mie. É correto afirmar-se que espalhamentos de quaisquer natureza acontecem em função de descontinuidades ou de alguma heterogeneidade no meio em que uma radiação se propaga. No caso do espalhamento de Mie, essa condição é causada pela presença de partículas de tamanho comparável ao comprimento de onda da radiação, enquanto que no espalhamento Rayleigh a descontinuidade é causada por flutuações na polarizabilidade molecular à medida em que a molécula espalhadora vibra; um meio fisicamente homogêneo como um líquido puro não produz espalhamento de Mie, mas sim Rayleigh.
14. $N/N_0 = \exp(-\Delta E/kT)$, onde ΔE é a diferença de energia entre dois estados considerados.
15. De ser ressaltado que a diferença de energia corresponde a um *quantum* vibracional independentemente de se tratar da região Stokes ou anti-Stokes.
16. Fluorescência, assim como fosforescência, são fenômenos de relaxação radiativa de energia, ou seja, após a absorção de energia a molécula emite luz (veja ref. 24).
17. Ziegler, L. D.; *Acc. Chem. Res.* **1994**, *27*, 1.
18. Frank Shaw III, C.; *J. Chem. Ed.* **1981**, *58*, 343.
19. Raman, C. V.; Krishnan, K. S.; *Nature* **1928**, *121*, 501.
20. Weast, R. C.; Ed. *Handbook of Chem. and Phys.*, The Chem. Rubber Co., Florida, 52nd ed., p. C475, 1971.
21. Long, D. A.; *Raman Spectroscopy*, McGraw-Hill, New York, 1977.
22. Miller, J. N.; Ed. *Standards in fluorescence Spectrometry*, Ultraviolet Spectrometry Group, Chapman e Hall, N. York, v. 2, 1987.
23. Chase, B.; *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 881A.
24. Atkins, P. W.; *Quanta, a Handbook of Concepts*, Oxford Univ. Press, Oxford, 1991.