

---

# Testi del Syllabus

---

Resp. Did.	<b>BONIFACIO ALOIS</b>	<b>Matricola: 011773</b>
Docente	<b>BONIFACIO ALOIS, 3 CFU</b>	
Anno offerta:	<b>2021/2022</b>	
Insegnamento:	<b>622SM - SPETTROSCOPIA OTTICA BIOMEDICA</b>	
Corso di studio:	<b>ME02 - BIOTECNOLOGIE MEDICHE</b>	
Anno regolamento:	<b>2021</b>	
CFU:	<b>3</b>	
Settore:	<b>CHIM/07</b>	
Tipo Attività:	<b>D - A scelta dello studente</b>	
Anno corso:	<b>1</b>	
Periodo:	<b>Secondo Semestre</b>	
Sede:	<b>TRIESTE</b>	

---

## Testi in italiano

<b>Lingua insegnamento</b>	Italiano o Inglese (su richiesta degli studenti)
<b>Contenuti (Dipl.Sup.)</b>	<p>Parte 1. Introduzione generale alla spettroscopia ottica: richiami alle proprietà della radiazione elettromagnetica, richiami alle proprietà della materia, quantizzazione dell'energia, stati elettronici e vibrazionali, transizioni tra stati elettronici e vibrazionali, diagramma di Jablonski, cenni alle componenti della strumentazione, strumenti a trasformata di Fourier.</p> <p>Parte 2. Spettroscopie UV-visibile e di fluorescenza: stati elettronici di singoletto e tripletto, transizioni elettroniche, regole di selezione, legge di Lambert-Beer, introduzione alla fluorescenza, Stokes shift, spettri di eccitazione ed emissione, resa quantica e tempo di vita, rilassamento del solvente, quenching, equazione di Stern-Volmer, anisotropia di fluorescenza, tecnica FRET, microscopie di fluorescenza, FLIM, 2PEF, STED.</p> <p>Parte 3. Spettroscopie vibrazionali. Stati vibrazionali, transizioni vibrazionali, assorbimento nell'IR, vibrazioni molecolari e modi normali di vibrazione, regole di selezione nell'IR, caratteristiche spettrali IR, metodi di campionamento, microscopia e nanoscopia IR, spettroscopia Raman, polarizzabilità molecolare e regole di selezione, Raman risonante, competizione con la fluorescenza, Raman mapping, SERS, substrati nanostrutturati, esempi applicazioni biomediche.</p>
<b>Testi di riferimento</b>	<p>Pavia, Lampman, Kriz, Vyvyan "Introduction to Spectroscopy", Brooks/Cole, 2009</p> <p>Parson "Modern Optical Spectroscopy", Springer, 2009</p> <p>Valeur and Beberan-Santos "Molecular Fluorescence", Wiley-VCH, 2012</p> <p>Lakowicz "Principles of Fluorescence Spectroscopy", Springer, 2006</p> <p>Hammes "Spectroscopy for the Biological Sciences", Wiley, 2005</p> <p>Prasad "Introduction to Biophotonics", Wiley, 2003</p>

## Obiettivi formativi

### CONOSCENZA E COMPrensIONE:

Acquisire i concetti teorici e pratici fondamentali delle spettroscopie ottiche e delle rispettive tecniche di imaging basate su fluorescenza (e.g. FLI, FRET, STED, fluorescenza a due fotoni), infrarosso (FT-IR, ATR) e Raman (e.g. SERS, CARS), nonché delle loro applicazioni in ambito biomedico e di scienze della vita.

### CAPACITA' DI APPLICARE CONOSCENZA E COMPrensIONE:

Sapere quali tecniche spettroscopiche utilizzare in base alle esigenze sperimentali. Sapere leggere ed interpretare dati spettroscopici. Sapere leggere ed interpretare lavori dalla letteratura scientifica facenti uso di tecniche di spettroscopia ottica. Saper riconoscere le diverse componenti di uno strumento di spettroscopia ottica.

**AUTONOMIA DI GIUDIZIO:** Saper giudicare se una tecnica di spettroscopia ottica sia adatta a risolvere un dato problema.

**ABILITA' COMUNICATIVE:** Attraverso la discussione di gruppo e la presentazione finale, l'insegnamento favorisce la capacità di presentare e discutere, sia in forma scritta che in quella orale, dati spettroscopici.

**CAPACITA' DI APPRENDIMENTO:** Le attività individuali quali la ricerca bibliografica, la lettura critica di letteratura scientifica e l'approfondimento individuale favoriscono e stimolano la capacità di apprendimento.

## Prerequisiti

Nozioni di base di chimica e fisica generale, quali quelle acquisite nei corsi di base del triennio. Non sono richieste conoscenze specifiche di spettroscopia.

## Metodi didattici

Lezioni frontali con supporti multimediali (filmati ed animazioni) ed esperimenti virtuali con l'utilizzo di applicazioni Java; esercitazioni pratiche che prevedono la costruzione di un mini-spettrografo per smartphone.

Eventuali cambiamenti alle modalità qui descritte, che si rendessero necessari per garantire l'applicazione dei protocolli di sicurezza legati all'emergenza COVID19, saranno comunicati nel sito web di Dipartimento, del Corso di Studio e dell'insegnamento.

## Altre informazioni

Altre informazioni sul sito esterno del corso:  
<https://sites.google.com/site/corsobiofotonica/home>

## Modalità di verifica dell'apprendimento

Modalità di verifica:

Presentazione di una breve relazione (2-5 pagine) sulle esercitazioni svolte con il mini-spettrografo costruito durante il corso, più una presentazione orale di 10 minuti su un articolo scientifico concordato col docente, su argomenti inerenti al programma del corso.

Criteri di valutazione:

La valutazione verrà espressa in trentesimi. La relazione sperimentale varrà da 10 a 14 punti (a seconda della qualità, varietà, esattezza e coerenza dei contenuti), da 8 a 16 punti verranno invece assegnati per la presentazione (a seconda dell'impegno profuso, della qualità ed esattezza dei contenuti, della comprensione dimostrata, dell'adeguatezza delle risposte date alle domande).

Eventuali cambiamenti alle modalità qui descritte, che si rendessero necessari per garantire l'applicazione dei protocolli di sicurezza legati all'emergenza COVID19, saranno comunicati nel sito web di Dipartimento, del Corso di Studio e dell'insegnamento.

## Programma esteso

Parte 1. Introduzione generale alla spettroscopia ottica: richiami alle proprietà della radiazione elettromagnetica, richiami alle proprietà della materia, quantizzazione dell'energia, stati elettronici e vibrazionali, transizioni tra stati elettronici e vibrazionali, diagramma di Jablonski, cenni alle componenti della strumentazione, strumenti a trasformata di Fourier.

Parte 2. Spettroscopie UV-visibile e di fluorescenza: stati elettronici di singoletto e tripletto, transizioni elettroniche, regole di selezione, legge di Lambert-Beer, introduzione alla fluorescenza, Stokes shift, spettri di eccitazione ed emissione, resa quantica e tempo di vita, rilassamento del solvente, quenching, equazione di Stern-Volmer, anisotropia di fluorescenza, tecnica FRET, microscopie di fluorescenza, FLIM, 2PEF, STED.

Parte 3. Spettroscopie vibrazionali. Stati vibrazionali, transizioni vibrazionali, assorbimento nell'IR, vibrazioni molecolari e modi normali di vibrazione, regole di selezione nell'IR, caratteristiche spettrali IR, metodi di campionamento, microscopia e nanoscopia IR, spettroscopia Raman, polarizzabilità molecolare e regole di selezione, Raman risonante, competizione con la fluorescenza, Raman mapping, SERS, substrati nanostrutturati, esempi applicazioni biomediche.



## Testi in inglese

Italian or English (if requested by students)

The course is divided in 3 parts, of about 8 hours each (for a total of 24 hours):

1. General introduction to optical spectroscopy and biophotonics, including basic qualitative elements of radiation-matter interaction, in particular concerning biological systems; basic elements of instrumentation in biofotonics, including a brief practical exercise during which students will built a mini-spectrograph for the observation of spectra with a smartphone camera.

2. Introduction to fluorescence, including elements of theory and applications examples (e.g. STED, FRET, FLIM techniques) from recent scientific literature.

3. Introduction to vibrational spectroscopy, including basic elements of theory and experimental spectroscopic and imaging techniques such as IR, Raman, SERS, CARS and SRS.

Pavia, Lampman, Kriz, Vyvyan "Introduction to Spectroscopy", Brooks/Cole, 2009

Parson "Modern Optical Spectroscopy", Springer, 2009

Valeur and Beberan-Santos "Molecular Fluorescence", Wiley-VCH, 2012

Lakowicz "Principles of Fluorescence Spectroscopy", Springer, 2006

Hammes "Spectroscopy for the Biological Sciences", Wiley, 2005

Prasad "Introduction to Biophotonics", Wiley, 2003

Andrews "Biomedical Photonics, Spectroscopy and Microscopy", Wiley, 2015

### KNOWLEDGE AND UNDERSTANDING:

Acquire fundamental theoretical and practical concepts of optical spectroscopies, and of their corresponding imaging techniques, based on fluorescence (e.g. FLI, FRET, STED, 2PEF), infrared (FT-IR, ATR) and Raman (e.g. SERS, CARS), together with their application in biomedicine and life sciences.

### APPLYING KNOWLEDGE AND UNDERSTANDING:

To know which spectroscopic technique to use according to specific needs. To read and interpret spectroscopic data. To read and interpret scientific papers making use of optical spectroscopy techniques. To recognize different components of an optical spectroscopy instrument.

**MAKING JUDGEMENTS:** To judge if a given spectroscopic technique is adequate to solve a specific problem.

**COMMUNICATION:** The group discussion and the final presentation favor the capability to present and discuss, in both written and oral forms, spectroscopic data.

**LIFELONG LEARNING SKILLS:** Individual activities such as bibliographic

research, critical reading of scientific literature and individual elaboration favor and stimulate the learning skills.

Basic notions of general chemistry and physics (as from first year courses). No specific knowledge in spectroscopy is required.

Lectures with slides and multimedia supports (movies and animations), virtual experiments with Java applications; practical exercise involving the building of a mini-spectrograph to be used with a smartphone.

Any changes to the formats described here, should they become necessary to ensure the application of the safety protocols related to the COVID19 emergency, will be communicated on the websites of the Department, of the Course of Study Program and of the individual course.

More information on the following website:  
<https://sites.google.com/site/corsobiofotonica/home>

Evaluation methods:  
Preparation of a brief written report (2-5 pages) on the experiments done with the mini-spectrograph built during the course, plus a 10-minutes oral presentation on a scientific paper, chosen together with the teacher, on topics adherent to the course.

Evaluation criteria:

Marks will be in /30. The experimental report will grant from 10 to 14 points (depending on the quality, variety and correctness of contents), and from 8 to 16 points for the oral presentation (depending on the effort made in its preparation, quality and correctness of contents, of correctness of answers given, and of the candidate understanding of the concepts explained).

Any changes to the formats described here, should they become necessary to ensure the application of the safety protocols related to the COVID19 emergency, will be communicated on the websites of the Department, of the Course of Study Program and of the individual course.

Part 1. General introduction to optical spectroscopy: properties of electromagnetic radiation, energy quantization, electronic and vibrational states, transitions between electronic and vibrational states, Jablonski diagram, instrumentation, instruments based on Fourier Transform.

Part 2. UV-vis spectroscopy and fluorescence: singlet and triplet electronic states, electronic transitions, selection rules, Lambert-Beer law, introduction to fluorescence, Stokes shift, excitation and emission spectra, quantum yield and fluorescence lifetime, solvent relaxation, quenching, Stern Volmer equation, fluorescence anisotropy, FRET, fluorescence microscopies, FLIM, 2PEF, STED.

Part 3. Vibrational spectroscopies: Vibrational states, vibrational transitions, IR absorption, molecular vibrations and normal modes of vibration, IR selection rules, characteristics of IR spectra, sampling methods, IR microscopy and nanoscopy, Raman spectroscopy, molecular polarizability and Raman selection rules, resonance Raman, competition with fluorescence, Raman mapping, SERS, nanostructured substrates, examples of biomedical applications.