

00378

UNAM
POSGRADO

Ciencia • Ingeniería
de Materiales



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES

**“Análisis cuantitativo en mezclas de dos componentes y
semicuantitativo en mezclas de tres componentes por
medio de espectroscopía Raman”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
**MAESTRO EN CIENCIA
E INGENIERÍA DE MATERIALES**

P R E S E N T A:

FÍS. JOSÉ LUIS PÉREZ MAZARIEGO

Tutor: M. En C. Raúl W. Gómez González



MÉXICO, D. F.

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

ING. LEOPOLDO SILVA GUTIÉRREZ
DIRECTOR GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
P R E S E N T E

Con fecha agosto 17 de 2004, le informo que después de haber
revisado el trabajo presentado por el alumno (a) del Posgrado en Ciencia e
Ingeniería de Materiales PEREZ MAZARIEGO JOSE LUIS
con número de cuenta 92517659 titulado: "Análisis cuantitativo en mezclas de
dos componentes y semicuantitativo en mezclas de tres componentes por medio
de espectroscopia Raman"
considero que Si reúne los méritos necesarios para obtener el
(SI/NO)
grado de Maestro en Ciencia e Ingeniería de Materiales.

ATENTAMENTE


(Grado, Nombre Completo y Firma)
M. C. Raúl Gómez González

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo recepcional.
NOMBRE: José Luis Pérez
Mazariego
FECHA: 18 / Noviembre / 2004
FIRMA: Jose Luis Perez Mazariego

F-Voto Aprobatorio

ING. LEOPOLDO SILVA GUTIÉRREZ
DIRECTOR GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
P R E S E N T E

Con fecha 21 de octubre de 2004, le informo que después de haber revisado el trabajo presentado por el alumno (a) del Posgrado en Ciencia e Ingeniería de Materiales PEREZ MAZARIEGO JOSE LUIS con número de cuenta 92517659 titulado: "Análisis cuantitativo en mezclas de dos componentes y semicuantitativo en mezclas de tres componentes por medio de espectroscopia Raman" considero que Si reúne los méritos necesarios para obtener el (SI/NO) grado de Maestro en Ciencia e Ingeniería de Materiales.

ATENTAMENTE


Dr. Tatsuo Akachi Miyazaki
(Grado, Nombre Completo y Firma)

F-Voto Aprobatorio

ING. LEOPOLDO SILVA GUTIÉRREZ
DIRECTOR GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
P R E S E N T E

Con fecha 13 DE AGOSTO de 2004, le informo que después de haber revisado el trabajo presentado por el alumno (a) del Posgrado en Ciencia e Ingeniería de Materiales PEREZ MAZARIEGO JOSE LUIS con número de cuenta 92517659 titulado: "Análisis cuantitativo en mezclas de dos componentes y semicuantitativo en mezclas de tres componentes por medio de espectroscopia Raman" considero que SI reúne los méritos necesarios para obtener el (SI/NO) grado de MAESTRO en Ciencia e Ingeniería de Materiales.

ATENTAMENTE

DRA. PATRICIA GOLDSTEIN MENACHE
(Grado, Nombre Completo y Firma)

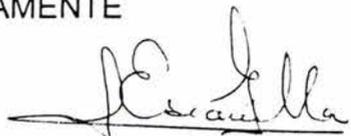


F-Voto Aprobatorio

ING. LEOPOLDO SILVA GUTIÉRREZ
DIRECTOR GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
P R E S E N T E

Con fecha 9/08/04 de 2004, le informo que después de haber revisado el trabajo presentado por el alumno (a) del Posgrado en Ciencia e Ingeniería de Materiales PEREZ MAZARIEGO JOSE LUIS con número de cuenta 92517659 titulado: "Análisis cuantitativo en mezclas de dos componentes y semicuantitativo en mezclas de tres componentes por medio de espectroscopia Raman" considero que SI reúne los méritos necesarios para obtener el (SI/NO) grado de Maestro en Ciencia e Ingeniería de Materiales.

ATENTAMENTE


D. Raúl Escamilla Cuervo
(Grado, Nombre Completo y Firma)

ING. LEOPOLDO SILVA GUTIÉRREZ
DIRECTOR GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
P R E S E N T E

Con fecha 11-11-2004 de 2004, le informo que después de haber revisado el trabajo presentado por el alumno (a) del Posgrado en Ciencia e Ingeniería de Materiales PEREZ MAZARIEGO JOSE LUIS con número de cuenta 92517659 titulado: "Análisis cuantitativo en mezclas de dos componentes y semicuantitativo en mezclas de tres componentes por medio de espectroscopia Raman" considero que SI reúne los méritos necesarios para obtener el (SI/NO) grado de MAESTRO en Ciencia e Ingeniería de Materiales.

ATENTAMENTE



(Grado, Nombre Completo y Firma)

DR. DWIGHT ROBERTO ACOSTA NAJAREDO

F-Voto Aprobatorio

A mis padres

A mis hermanos

Agradecimientos

A Raúl, Rosalía, Vivi, Mari, Pepe, Manolo y Carlos, por todo su apoyo, pero sobre todo por su amistad.

A los miembros del jurado, por su interés y por sus atinadas sugerencias que permitieron enriquecer este trabajo.

Al CONACYT y a la Dirección General de Estudios de Posgrado, por la beca brindada para la realización de mis estudios de maestría.

A Roberto Sato, Cirilo Medina y Claudio Frausto del Centro de Investigaciones en Óptica (Unidad Aguascalientes), por su valiosa ayuda en la obtención de los espectros Raman.

Índice

Introducción

Capítulo 1. Interacción de la radiación con la materia

- 1.0 Introducción
- 1.1 Dispersión
- 1.2 Dispersión Raman
 - 1.2.1 Líneas Stokes y anti-Stokes
 - 1.2.2 Independencia de la luz incidente
 - 1.2.3 Intensidad de las líneas Stokes y anti-Stokes
- 1.3 Teoría clásica del efecto Raman
- 1.4 Teoría de perturbaciones dependiente del tiempo

Capítulo 2. Dos técnicas de obtención de espectros Raman

- 2.0 Introducción
- 2.1 Componentes de los espectrómetros ópticos y sus propiedades
 - 2.1.1 El instrumento espectral
 - 2.1.2 Fuentes de radiación
 - 2.1.3 Elementos ópticos que producen imágenes
 - 2.1.4 Elementos que encauzan la radiación
 - 2.1.5 Técnicas de colocación de las muestras
 - 2.1.6 Detectores de radiación
- 2.2 Espectrómetros por transformada de Fourier comparados con los espectrómetros dispersivos

Capítulo 3. La espectroscopía Raman en el análisis cuantitativo

- 3.0 Introducción
- 3.1 Características del espectrómetro usado
- 3.2 Mezclas de dos componentes
- 3.3 Construcción de la curva de calibración para mezclas de dos componentes
- 3.4 Mezclas de tres componentes

Conclusiones

Referencias

Introducción

La espectroscopía Raman fue descubierta en 1928 por el físico hindú Sir Chandrasekhara Venkata Raman. Han pasado casi 80 años y la mayor parte de ese tiempo la espectroscopía Raman ha sido considerada como una técnica espectroscópica puramente académica. Fue hasta principio de la década de 1990 que la espectroscopía Raman dejó de serlo para convertirse en una poderosa herramienta analítica.

El campo de aplicación de la espectroscopía Raman es verdaderamente amplio, se ha usado con éxito en la caracterización de materiales diversos como por ejemplo polímeros, materiales dentales, textiles, gemas, minerales, semiconductores, hormonas, proteínas, narcóticos, etc. Al igual que la espectroscopía infrarroja, la espectroscopía Raman proporciona información acerca de las vibraciones fundamentales de una molécula, dando con esto la oportunidad de identificar, de manera rápida e inequívoca, un compuesto a partir de su espectro Raman sin tener que hacer ninguna preparación de la muestra. Esta propiedad es la que ha llevado a que la aplicación de la espectroscopía Raman en la industria farmacéutica haya ido creciendo en los últimos años, ya que permite obtener información no sólo de la estructura y propiedades de una molécula sino también la rápida identificación de sustancias activas o excipientes o contaminantes en algún medicamento.

Con la espectroscopía Raman también se puede hacer análisis cuantitativo. Existen estudios en los cuales se han desarrollado métodos para la determinación de las proporciones molares presentes en una mezcla de dos ingredientes usando el área integrada de los picos, así como también mínimos cuadrados parciales. En mezclas de tres componentes la cuantificación se complica y actualmente no existe todavía un método desarrollado para tal fin.

En este trabajo se presenta un método para determinar las proporciones en peso de las componentes en una mezcla de dos ingredientes, usando las intensidades relativas de los picos característicos de cada sustancia. También se hace el análisis con picos que están presentes en las dos sustancias.

Haciendo uso del procedimiento para mezclas de dos ingredientes se procede a averiguar si la proporción relativa entre dos componentes se conserva al momento de agregar un tercer elemento. Esto sería un primer paso en el desarrollo de un procedimiento con el cual se pudiera cuantificar la presencia de un ingrediente en una mezcla multicomponente.

Capítulo 1. Interacción de la radiación con la materia

1.0. Introducción

La esencia de toda espectroscopía óptica consiste en hacer interactuar un haz de radiación electromagnética con un sistema cuyas características se quieren determinar. En términos generales, el haz saliente difiere del entrante por efecto de esta interacción. A partir de las modificaciones sufridas por el haz entrante se puede, en principio, obtener información sobre la estructura del sistema bajo estudio. En algunos casos, la interpretación de tales cambios puede generar un modelo del sistema, como ocurrió en el experimento de Rutherford (aunque, en ese caso, el haz entrante era de partículas). Por otra parte, si ya se cuenta con un modelo general del sistema, el estudio de las modificaciones en el haz entrante permite obtener información cuantitativa asociada con los procesos internos del sistema, así como detalles no contemplados en el modelo general. Consecuentemente, primero se describirá el mecanismo de interacción de la radiación con la materia.

1.1. Dispersión

La dispersión es una modificación de la luz debida a la interacción del vector de campo eléctrico de una onda electromagnética con los electrones del sistema con el que interactúa. Tales interacciones inducen oscilaciones periódicas en los electrones del compuesto; por lo tanto, produce momentos eléctricos oscilantes. Esto lleva a tener nuevas fuentes emisoras de radiación, es decir, fuentes que reemiten radiación en todas las direcciones (la luz dispersada).

Existen dos tipos básicos de dispersión:

1. Elástica. Tiene la misma frecuencia (longitud de onda) que la luz incidente.
2. Inelástica. Dentro de la inelástica existen dos tipos, una que tiene menor frecuencia (longitud de onda más larga) y otra que tiene mayor frecuencia (longitud de onda más corta) que la luz incidente.

Es a la luz dispersada inelásticamente a la que se le llama dispersión Raman (en honor al físico hindú Chandrasekhara Venkata Raman quien la descubrió en 1928 junto con K. S. Krishnan [1]) y, por lo tanto, existen dos tipos de ella: en uno de ellos la luz dispersada tiene menor energía que la luz incidente (la que tiene menor frecuencia) y el efecto se llama dispersión Raman Stokes [2]. En el otro, la luz dispersada tiene mayor energía que la luz incidente; es decir, tiene mayor frecuencia, y se le llama dispersión Raman anti-Stokes [2]. En la dispersión elástica también llamada Rayleigh (misma frecuencia) no hay cambio en la energía de la luz incidente (Figura 1.1).

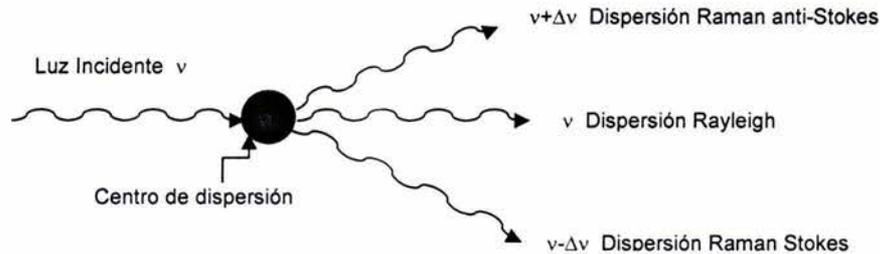


Figura 1.1. Representación esquemática de los tres tipos de luz dispersada.

La dispersión Rayleigh es la más común y los objetos se pueden ver debido a este efecto. Se ha demostrado que la eficiencia de dispersión es inversamente proporcional a la cuarta potencia de la longitud de onda. La luz del sol está compuesta por diferentes longitudes de onda y como la luz azul tiene una longitud de onda más corta que la luz roja, se dispersa más que esta última. Cuando vemos el cielo azul se debe a que una porción de la luz del sol se dispersó. Al mirar directamente hacia un amanecer o un atardecer, la luz que recibimos es la que ha sufrido menor dispersión, lo cual percibimos de coloración rojiza. La intensidad depende de la posición desde la cual se observe este fenómeno.

Comparada con la dispersión Rayleigh, la dispersión Raman es menos común en la vida diaria; sin embargo es importante para quien esté interesado en los estados vibracionales y rotacionales de las moléculas, así como también en la caracterización de materiales.

La diferencia de energía de los fotones involucrados en el efecto Raman es debida a un cambio de estado, rotacional o vibracional de la molécula, causado por la interacción con los mismos fotones, o por el cambio de estado fonónico en un cristal. Por esta razón, el análisis de los espectros Raman provee de información acerca de las propiedades moleculares, tales como los modos y tipos de vibraciones, y cristalinas (espectro fonónico). En lo que sigue, restringiré la exposición del efecto al caso molecular.

La intensidad de la luz dispersada depende de los siguientes factores:

1. El tamaño de la partícula o molécula iluminada.
2. La posición de observación. La intensidad dispersada es una función del ángulo con respecto al haz incidente.
3. La frecuencia de la luz incidente.
4. La intensidad de la luz incidente.

1.2. Dispersión Raman.

El efecto de dispersión Raman surge a partir de la interacción de la luz incidente con los electrones de la molécula iluminada. La energía de dicha luz no es suficiente para excitar la molécula a un nivel electrónico de mayor energía, pero sí lo es para cambiar el estado vibracional de la molécula (Figura 1.2) [3].

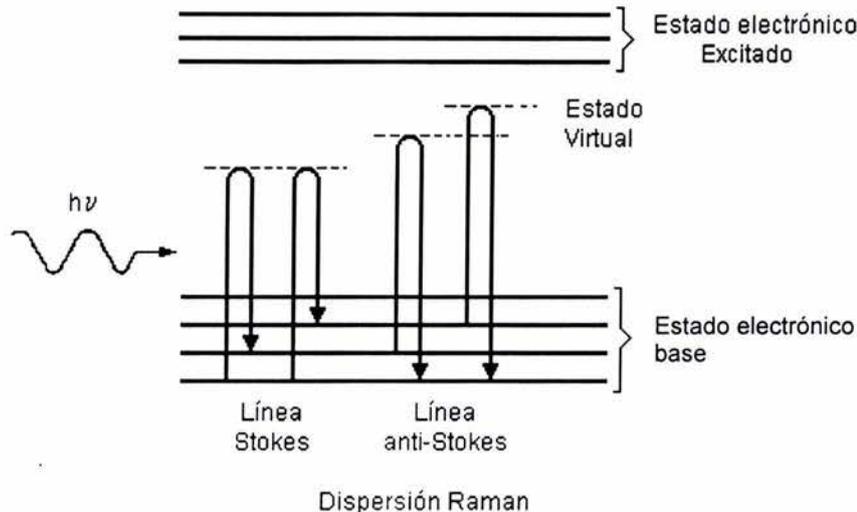


Figura 1.2. Diagrama energético de una molécula mostrando el origen de la dispersión Raman. Nótese los diferentes mecanismos de los efectos Stokes y anti-Stokes. La molécula alcanza, momentáneamente, un nivel de energía más alto (estado virtual), pero nunca llega a un estado electrónico excitado.

1.2.1. Líneas Stokes y anti-Stokes.

Para que una molécula exhiba el efecto Raman, la luz incidente debe inducir un cambio en el momento dipolar o un cambio en la polarizabilidad molecular. Por ejemplo, en el caso del dióxido de carbono, el cambio en la polarizabilidad se puede visualizar cualitativamente como un cambio en la forma de la nube electrónica, como se muestra en la figura 1.3. La nube electrónica alrededor de la molécula de CO_2 se alarga o encoge, alternativamente, en fase con la variación oscilante de la componente eléctrica de la onda electromagnética. La luz dispersada contiene una pequeña porción de la luz debida a la dispersión Raman además de la debida a la dispersión Rayleigh normal. La dispersión Raman contiene líneas Stokes y anti-Stokes; sus frecuencias corresponden a la suma y diferencia de las frecuencias de la luz incidente y las frecuencias vibracionales moleculares permitidas. Cuando los fotones interactúan con una molécula, una parte de su energía puede excitar varios modos de vibración de la molécula. Como vimos en la figura 1.2, la luz dispersada pierde energía equivalente a la energía dada a las vibraciones moleculares (efecto Raman Stokes). Si la molécula se encontraba inicialmente en un estado rotacional o vibracional excitado, es posible que la luz dispersada tenga mayor energía que la

incidente (efecto Raman anti-Stokes), siempre y cuando el sistema decaiga a un estado de menor energía que la del estado inicial. Como normalmente la población de los estados excitados es mucho menor que la del estado básico, la dispersión Raman Stokes es mucho más intensa que la dispersión anti-Stokes.

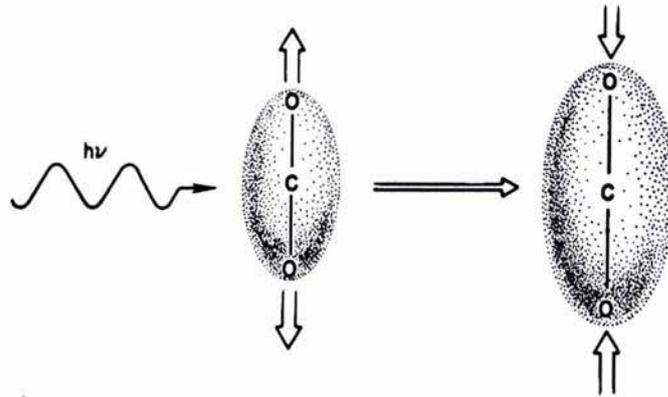


Figura 1.3. Ejemplo de cambio de polarizabilidad. Cualitativamente se puede visualizar como un cambio en la forma de la nube electrónica.

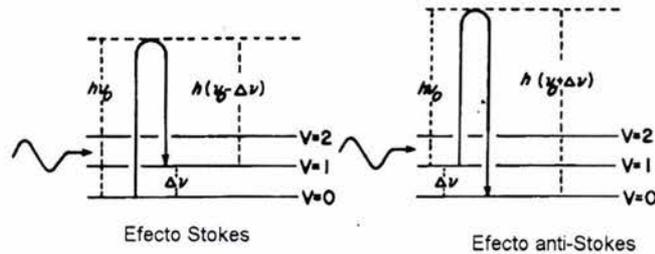
Sólo una pequeña fracción de los fotones incidentes es dispersada inelásticamente, así que, por lo general, las líneas Raman son muy débiles [3] (solamente 10^{-6} de la intensidad de la línea Rayleigh). La mayor parte de la luz dispersada tiene la misma frecuencia (energía) que la de la luz incidente original, lo cual hace que la observación del efecto sea relativamente difícil. Sin embargo, el advenimiento de los láseres permite iluminar con un haz monocromático de muy alta densidad de energía, facilitando con ello su observación.

1.2.2. Independencia de la luz incidente.

La diferencia de frecuencia entre la luz dispersada y la incidente es independiente de la longitud de onda de la luz incidente. No se debe confundir esto con el hecho que la intensidad de la dispersión Raman depende de la longitud de onda de la luz incidente y, de hecho, es inversamente proporcional a λ^4 [2,4]. Así, si se excita una molécula con luz verde (514.5 nm o 19436 cm^{-1}) o luz azul (488.0 nm o 20492 cm^{-1}), se obtendrá una línea Raman exactamente a la misma diferencia de números de onda ($\Delta\bar{\nu}$). Es decir, si se toma como origen para medir las longitudes de onda a la longitud de onda de la línea Rayleigh (que tiene la misma longitud de onda de la luz incidente), las líneas Stokes y anti-Stokes tienen los mismos valores de longitud de onda (o frecuencias).

1.2.3. Intensidad de las líneas Stokes y anti-Stokes.

Ya vimos que las líneas Stokes y anti-Stokes tienen valores de frecuencia idénticos. Sin embargo, la línea Stokes tiene una intensidad mayor que la línea anti-Stokes a temperatura ambiente. La línea Stokes se origina cuando la interacción con la luz, de energía $h\nu_0$, hace que una molécula que se encuentra en su estado vibracional básico (que tomaremos como origen), sea elevada a uno de mayor energía $h\nu_1$ ($\Delta\nu$ en la Figura 1.4) por intermediación de un estado virtual no estacionario (línea punteada); consecuentemente la luz dispersada disminuye su energía en $h\nu_1$.



A baja temperatura la población de moléculas en el nivel de energía $V=0$ es mayor que las que están en $V=1$,



A temperatura alta la población de moléculas en el nivel de energía $V=1$ se incrementa.



Figura 1.4. Origen de los efectos Stokes y anti-Stokes y sus diferencias en intensidades. La intensidad relativa para cada línea varía con la temperatura. A mayor temperatura existen más moléculas en el nivel de energía $V=1$, donde V es el número cuántico vibracional.

Por otro lado, si la molécula que está en un estado vibracional de energía $h\nu_1$ decae a su estado básico, también por intermediación del estado virtual, la luz dispersada incrementa su energía en $h\nu_1$. A bajas temperaturas (o a temperatura ambiente), existen más moléculas con niveles energéticos vibracionales bajos que moléculas con niveles altos. Así que habrá moléculas que tendrán más transiciones tipo Stokes que transiciones anti-Stokes, y la línea Stokes, en consecuencia, tendrá una intensidad mayor. Cuantitativamente, la población

relativa de moléculas queda determinada por la distribución de Boltzmann

$$\frac{N_i}{N_0} = e^{-\frac{\Delta E}{kT}} \quad (1.2)$$

donde N_i es el número de moléculas en el estado de energía E_i y N_0 es el número de moléculas en el estado de energía E_0 ; la fracción de moléculas que se

encuentran en el estado E_i es $\frac{N_i}{N_0}$; k es la constante de Boltzmann, T es la temperatura en grados Kelvin y ΔE es la diferencia de energía entre los estados E_i y E_0 .

Por lo antes mencionado la intensidad de la línea anti-Stokes se incrementa (o la intensidad de la línea Stokes disminuye) cuando la temperatura se eleva. La razón de la línea anti-Stokes a la línea Stokes está directamente relacionada a la fracción de moléculas en un nivel de energía vibracional alto.

1.3. Teoría clásica del efecto Raman

Con el objeto de ilustrar la interpretación clásica del efecto Raman, se tratará el caso simple de una molécula diatómica. Para moléculas más complejas el tratamiento matemático se complica, pero no cambian los aspectos físicos esenciales.

El campo eléctrico de una onda electromagnética (un haz de un láser por ejemplo) es una función del tiempo y se puede representar por

$$E = E_0 \cos 2\pi\nu_0 t, \quad (1.3)$$

donde E_0 es la amplitud vibracional y ν_0 es la frecuencia de la onda electromagnética. Cuando se ilumina a una molécula diatómica con esta radiación, se induce un momento dipolar eléctrico P dado por

$$P = \alpha E = \alpha E_0 \cos 2\pi\nu_0 t, \quad (1.4)$$

en donde α es la polarizabilidad de la molécula. Para una amplitud de vibración pequeña, descrita en términos de la separación de los núcleos Q , la polarizabilidad α se puede escribir como

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_0 Q + \dots \quad (1.5)$$

donde α_0 es la polarizabilidad para la posición de equilibrio Q_0 , y $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_0$ es el cambio de α con respecto al cambio en Q , evaluado en la posición de equilibrio. El desplazamiento nuclear Q de una molécula que vibra con una frecuencia ν_m , está dado por

$$Q = Q_0 \cos 2\pi\nu_m t. \quad (1.6)$$

Con esto podemos obtener

$$P = \alpha E_0 \cos 2\pi\nu_0 t = \alpha_0 E_0 \cos 2\pi\nu_0 t + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_0 Q E_0 \cos 2\pi\nu_0 t \quad (1.7)$$

$$P = \alpha_0 E_0 \cos 2\pi\nu_0 t + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_0 Q_0 E_0 \cos 2\pi\nu_0 t \cos 2\pi\nu_m t \quad (1.8)$$

$$P = \alpha_0 E_0 \cos 2\pi\nu_0 t + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_0 Q_0 E_0 [\cos(2\pi(\nu_0 + \nu_m)t) + \cos(2\pi(\nu_0 - \nu_m)t)]. \quad (1.9)$$

El primer término representa un dipolo oscilante que emite luz de frecuencia ν_0 (dispersión Rayleigh), el segundo corresponde a la dispersión Raman de frecuencia $\nu_0 + \nu_m$ (anti-Stokes) y $\nu_0 - \nu_m$ (Stokes). Si $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_0$ es cero, entonces la vibración no es visible en el espectro Raman.

Para moléculas complejas, en vez de una polarizabilidad escalar, hay que introducir un tensor de polarizabilidad y hacer el desarrollo correspondiente en términos de las coordenadas normales de la molécula.

1.4. Teoría de perturbaciones dependiente del tiempo

En el estudio de las transiciones entre niveles atómicos o moleculares acompañados por la emisión o absorción de radiación, uno está interesado en la interacción del sistema con el campo electromagnético. Como el campo de la radiación oscila, es dependiente del tiempo. Es por eso que para describir dicha

interacción usaremos teoría de perturbaciones dependiente del tiempo. El problema es entonces resolver la ecuación de Schrödinger dependiente del tiempo

$$H(t)|\Psi\rangle = -\frac{\hbar}{i} \frac{\partial}{\partial t} |\Psi\rangle \quad (1.10)$$

en donde $H(t)$ es el hamiltoniano completo del sistema. En algunas ocasiones este hamiltoniano se puede escribir de la siguiente manera

$$H(t) = H_0 + V(t) \quad (1.11)$$

en donde H_0 es el hamiltoniano del sistema no perturbado, es decir, en ausencia de influencias externas y $V(t)$ el potencial de interacción. Supondremos que conocemos la descripción del sistema cuántico no perturbado; es decir, que conocemos las soluciones estacionarias $|n, t\rangle$ del problema no perturbado

$$H_0 |n, t\rangle = -\frac{\hbar}{i} \frac{\partial}{\partial t} |n, t\rangle \quad (1.12)$$

que son de la forma:

$$|n, t\rangle = e^{-\frac{iE_n t}{\hbar}} |n\rangle = e^{-i\omega_n t} |n\rangle \quad (1.13)$$

y que forman un conjunto ortogonal.

La idea principal en la teoría de perturbaciones es considerar que la magnitud del potencial de interacción (la perturbación) sea pequeña comparada con las energías asociadas a H_0 (problema no perturbado). De esta manera, se estará considerando al potencial como una perturbación al problema estacionario. Así podemos visualizar la solución general $|\Psi\rangle$ del problema original como una combinación lineal de los estados estacionarios

$$|\Psi\rangle = \sum_n C_n(t) e^{-i\omega_n t} |n\rangle. \quad (1.14)$$

en donde, naturalmente, la dependencia temporal de los coeficientes $C_n(t)$ estará asociada con la evolución del sistema.

Resolvamos ahora la ecuación (1.10) utilizando (1.11) y (1.14)

$$[H_0 + V(t)] \sum_n C_n(t) e^{-i\omega_n t} |n\rangle = -\frac{\hbar}{i} \frac{\partial}{\partial t} \left[\sum_n C_n(t) e^{-i\omega_n t} |n\rangle \right] \quad (1.15)$$

o bien

$$\sum_n C_n(t) H_0 |n, t\rangle + \sum_n C_n(t) V(t) e^{-i\omega_n t} |n\rangle = -\frac{\hbar}{i} \sum_n \frac{dC_n(t)}{dt} e^{-i\omega_n t} |n\rangle - \frac{\hbar}{i} \sum_n C_n(t) \frac{\partial}{\partial t} |n, t\rangle \quad (1.16)$$

Multiplicando esta expresión por

$$\langle m, t | = \langle m | e^{i\omega_m t} \quad (1.17)$$

se obtiene

$$\sum_n C_n(t) \langle m, t | H_0 |n, t\rangle + \sum_n C_n(t) \langle m, t | V(t) |n, t\rangle = -\frac{\hbar}{i} \sum_n \frac{dC_n(t)}{dt} \langle m, t |n, t\rangle - \frac{\hbar}{i} \sum_n C_n(t) \langle m, t | \frac{\partial}{\partial t} |n, t\rangle \quad (1.18)$$

o bien utilizando (1.13)

$$\sum_n C_n(t) E_n e^{i(\omega_m - \omega_n)t} \langle m |n\rangle + \sum_n C_n(t) \langle m | e^{i\omega_m t} V(t) e^{-i\omega_n t} |n\rangle = -\frac{\hbar}{i} \sum_n \frac{dC_n(t)}{dt} e^{i(\omega_m - \omega_n)t} \langle m |n\rangle + \sum_n C_n(t) \hbar \omega_n e^{i(\omega_m - \omega_n)t} \langle m |n\rangle \quad (1.19)$$

Como el conjunto de funciones $|n\rangle$ es ortogonal, entonces

$$\sum_n C_n(t) e^{i(\omega_m - \omega_n)t} \langle m | V(t) |n\rangle = -\frac{\hbar}{i} \sum_n \frac{dC_n(t)}{dt} e^{i(\omega_m - \omega_n)t} \langle m |n\rangle \quad (1.20)$$

de donde se obtiene la siguiente ecuación diferencial para los coeficientes C_m

$$\sum_n C_n(t) e^{i(\omega_m - \omega_n)t} \langle m | V(t) |n\rangle = -\frac{\hbar}{i} \frac{dC_m(t)}{dt} \quad (1.21)$$

Usando la siguiente notación

$$\omega_{mn} = \omega_m - \omega_n = \frac{E_m - E_n}{\hbar} \quad \text{y} \quad V_{nm} = \langle m | V(t) |n\rangle, \quad (1.22)$$

la ecuación (1.21) queda de la siguiente manera

$$-\frac{\hbar}{i} \frac{dC_m(t)}{dt} = \sum_n C_n(t) e^{i\omega_{mn}t} V_{mn}. \quad (1.23)$$

Para resolver esta ecuación supondremos que la perturbación se inicia en el instante $t = 0$ y que justo en ese momento el sistema se encontraba en un estado estacionario $|j\rangle$. Entonces

$$C_n(t = 0) = \delta_{nj}. \quad (1.24)$$

Si se cumple que $|V(t)| \ll |H_0|$ los coeficientes C_n se pueden tomar como constantes, en primera aproximación, dado que la perturbación afectará muy poco al estado estacionario original $|j\rangle$. Si esto pasa, la ecuación (1.23) se puede escribir como

$$\frac{dC_j^{(1)}(t)}{dt} = -\frac{i}{\hbar} V_{jn}(t) e^{i\omega_{jn}t}. \quad (1.25)$$

Tomando en cuenta que la perturbación dura un tiempo $t = T$ e integrando la ecuación anterior tenemos que

$$C_j^{(1)}(t) = \frac{1}{i\hbar} \int_0^T V_{jn}(t') e^{i\omega_{jn}t'} dt' = \frac{1}{i\hbar} \int_{-\infty}^{\infty} V_{jn}(t) e^{i\omega_{jn}t} dt \quad (1.26)$$

dado que, cuando cesa la perturbación ($t > T$), el coeficiente C_j es independiente del tiempo.

Por otro lado, si hacemos un desarrollo de Fourier de $V(r, t)$ obtenemos:

$$V(r, t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} V(r, \omega) e^{-i\omega t} d\omega, \quad (1.27)$$

en donde

$$V(r, \omega) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} V(r, t) e^{i\omega t} dt. \quad (1.28)$$

y podemos escribir

$$V_{jn}(t) = \langle j|V(r, t)|n\rangle = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-i\omega t} d\omega \langle j|V(r, \omega)|n\rangle = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-i\omega t} V_{jn}(\omega) d\omega. \quad (1.29)$$

Calculando la transformada inversa se obtiene

$$V_{jn}(\omega) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} V_{jn}(t) e^{i\omega t} dt. \quad (1.30)$$

Al comparar esto último con la ecuación (1.26) se tiene que

$$C_j^{(1)} = \frac{1}{i\hbar} \sqrt{2\pi} V_{jn}(\omega_{jn}), \quad (1.31)$$

que es válida si $|V(r,t)|$ es pequeño.

La probabilidad de transición de un estado $|j\rangle$ a un estado $|n\rangle$, debido a la perturbación, está dada por

$$P_{jn} = \frac{2\pi}{\hbar^2} |V_{jn}(\omega_{jn})|^2, \quad (1.32)$$

la cual es diferente de cero si $V_{jn}(\omega_{jn})$ lo es. Esto quiere decir que si el espectro energético de la perturbación contiene a la energía $E_j - E_n$, entonces la probabilidad P_{jn} es distinta de cero.

En el caso en el cual se conozca el potencial, podemos conocer específicamente la probabilidad de transición de un estado a otro. Tal es el caso en el que el potencial es de la forma

$$V_{jn}(t) = V_0 \cos \omega t = \frac{V_0}{2} [e^{i\omega t} + e^{-i\omega t}], \quad (1.33)$$

el cual corresponde a una perturbación que es una función oscilante, tal como una onda electromagnética.

Sustituyendo (1.33) en (1.31) tenemos lo siguiente

$$C_j^{(1)} = \frac{1}{i\hbar} \sqrt{2\pi} V_{jn}(\omega) = \frac{1}{i\hbar} \sqrt{2\pi} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} V_{jn}(t) e^{i\omega_{jn}t} dt \quad (1.34)$$

o bien

$$C_j^{(1)} = \frac{1}{i\hbar} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{V_0}{2} [e^{i\omega t} + e^{-i\omega t}] e^{i\omega_{jn}t} dt \quad (1.35)$$

e integrando tenemos,

$$C_j^{(1)} = -\frac{V_0}{2\hbar} \left[\frac{e^{i(\omega+\omega_{jn})t} - 1}{\omega + \omega_{jn}} - \frac{e^{-i(\omega-\omega_{jn})t} - 1}{\omega - \omega_{jn}} \right]. \quad (1.36)$$

De los dos términos que aparecen en la ecuación (1.36), sólo uno de ellos es dominante (resonante), dependiendo de si $\hbar\omega_{jn} = E_j - E_n$ es mayor o menor que cero. Si $\hbar\omega_{jn} = E_j - E_n > 0$ entonces se elimina $\omega + \omega_{jn}$ y la expresión para $C_j^{(1)}$ queda de la forma

$$C_j^{(1)} = \frac{1}{2\hbar} V_0 \frac{e^{-i(\omega-\omega_{jn})t} - 1}{\omega - \omega_{jn}}, \quad (1.37)$$

el cual es el término correspondiente a una emisión. Cuando $\hbar\omega_{jn} = E_j - E_n < 0$ se tiene entonces una absorción y $C_j^{(1)}$ puede escribirse como

$$C_j^{(1)} = -\frac{V_0}{2\hbar} \frac{e^{i(\omega+\omega_{jn})t} - 1}{\omega + \omega_{jn}}. \quad (1.38)$$

La probabilidad de una transición del estado $|j\rangle$ al estado $|n\rangle$ estará dada por el cuadrado de esta amplitud, emisión o absorción, la cual es

$$P_{jn}(t) = \left| \frac{V_0}{\hbar} \right|^2 \frac{\text{sen}^2 \frac{1}{2}(\omega - \omega_{jn})t}{(\omega - \omega_{jn})^2}. \quad (1.39)$$

Con estas expresiones podemos describir el proceso usual de la dispersión Rayleigh, en el cual interviene primero una absorción seguida, después de aproximadamente 10^{-8} s, por una reemisión. Sin embargo, en la dispersión Raman intervienen un estado virtual y dos fotones, así que para su descripción cuántica se requiere de la teoría de perturbaciones a segundo orden. Para ello, partimos de la ecuación 1.23, pero ahora consideramos que los coeficientes del miembro derecho son los recién calculados y con ellos determinamos su valor correspondiente a segundo orden; es decir,

$$-\frac{\hbar}{i} \frac{dC_i^{(2)}(t)}{dt} = \sum_j C_j^{(1)}(t) e^{i\omega_j t} V_{ij}. \quad (1.40)$$

Pero $C_j^{(1)}(t) = -\frac{2V_{jn} e^{i\omega t}}{2\hbar} \left[\frac{e^{i(\omega+\omega_{jn})t} - 1}{\omega + \omega_{jn}} \right]$ debido a que de la ecuación (1.33) se puede obtener una expresión para V_0 considerando una sola de las exponenciales.

Sustituyendo el valor de $C_j^{(1)}(t)$ en (1.40) y desarrollando el álgebra se llega a que la probabilidad de ocurrencia del efecto Raman tiene la forma siguiente

$$P_{n \rightarrow l} \propto \sum_j \frac{V_{jn} V_{lj}}{(\omega + \omega_{jn})(\omega_{lj} - \omega')}, \quad (1.41)$$

en donde $\omega' = \omega - \omega_{nl}$. Sustituyendo ω' por su valor, se llega finalmente a:

$$P_{n \rightarrow l} \propto \sum_j \frac{V_{jn} V_{lj}}{(\omega_{jn}^2 - \omega^2)}. \quad (1.42)$$

Si V_{ik} son elementos de matriz del operador dipolar es decir, si $V_{jk} = \langle j | E \mu | k \rangle$, en donde E es el campo eléctrico y μ el momento dipolar, esta probabilidad de transición es proporcional al cuadrado de la magnitud del campo eléctrico; la sumatoria corresponde a la polarizabilidad, tal como se obtuvo en el tratamiento clásico.

Capítulo 2. Dos técnicas de obtención de espectros Raman

2.0 Introducción

Los primeros espectrómetros Raman fueron instrumentos de prisma. Alrededor de 1960 éstos fueron reemplazados por los espectrómetros de rejilla de difracción, debido a que estos últimos presentaban una conductancia óptica¹ mayor que los primeros (cerca de un orden de magnitud). La popularidad de los espectrómetros de rejilla alcanzó su máximo entre los años 1970 y 1980. En los setentas aparecieron los espectrómetros de tipo interferométrico (poseen un interferómetro de Michelson) y desde entonces han ido reemplazando a los de rejilla, principalmente porque los del tipo interferométrico presentan una conductancia óptica mayor (alrededor de dos ordenes de magnitud) que los de rejilla. Además también presentan la ventaja de Jacquiot (abertura circular en lugar de rendija) y la multiplex o de Fellgett que no tienen los espectrómetros de rejilla. Se describirán a continuación las dos técnicas que se han mencionado arriba, es decir la dispersiva y la interferométrica.

2.1 Componentes de los espectrómetros ópticos y sus propiedades

Aquí se describirá de manera general cada una de las partes de que consta un espectrómetro, así como sus propiedades. Estos componentes son los siguientes:

- El instrumento espectral y filtros.
- Fuentes de radiación.
- Elementos ópticos que producen imágenes.
- Elementos que encauzan la radiación: guías de ondas, fibras ópticas.
- Técnicas de colocación de la muestra.
- Detectores de radiación.

2.1.1 El instrumento espectral

El instrumento espectral es el elemento principal de un espectrómetro y es necesario para la selección o la discriminación de radiación de diferentes longitudes de onda. Existen dos tipos de instrumentos los llamados dispersivos y los interferométricos.

¹ El concepto de conductancia óptica fue introducido por Hansen (1949) basado en trabajos de Abbe (1871) y Helmholtz (1874). Es definida por una recomendación de la IUPAC (Fassel 1972) y es similar a cantidades conocidas en inglés como "throughput" o en francés "étendue".

Principio de funcionamiento de los instrumentos dispersivos

Dos rayos de luz monocromática, de longitudes de onda λ_1 y λ_2 , que pasan por una lente con ángulos ligeramente diferentes pueden ser distinguidos si el máximo del patrón de difracción de λ_1 está en la posición del primer mínimo del patrón de difracción de λ_2 . A esto se le conoce como el criterio de Rayleigh. Los ángulos son diferentes como una consecuencia de la dispersión angular $d\phi/d\lambda$ de los elementos dispersivos tales como rejillas y prismas.

Una rejilla de difracción contiene muchas líneas paralelas ("surcos") sobre un soporte plano o cóncavo. Esos "surcos" pueden grabarse mecánicamente en cuyo caso se les conoce como rayas. Si son producidos por medio de una impresión fotográfica de un patrón de interferencia esos surcos se llaman líneas. La palabra rejilla holográfica es incorrecta y no es recomendable usarla [5]. Las rejillas son usadas por transmisión o por reflexión. Si se usan de esta última manera generalmente se recubren con una capa altamente reflejante.

Los parámetros importantes en un rejilla son: el número total de "surcos", la distancia entre "surcos" vecinos (llamada constante de rejilla), la longitud de los "surcos" o (en caso de una rejilla circular) su diámetro y para una rejilla cóncava su distancia focal o su radio de curvatura.

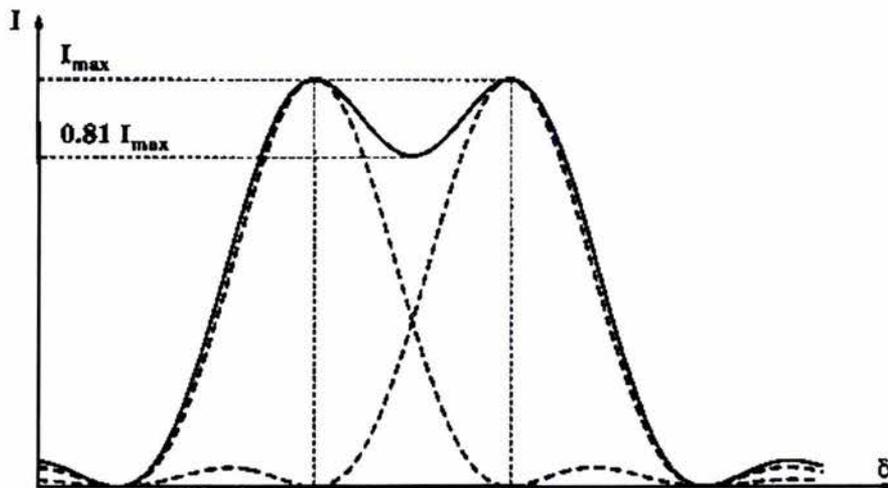


Figura 2.1. Dos rayos de luz monocromática serán resueltos cuando el primer mínimo del patrón de difracción de uno de los rayos coincida con el máximo del otro rayo.

Una rejilla que va a ser usada para dispersar radiación con una longitud de onda λ , debe tener una constante de rejilla cuyo valor esté comprendido entre $\lambda/2$ y un múltiplo de λ . El número total de rayas N proporciona el número de rayos que formarán el patrón de difracción; estos rayos estarán separados una distancia

dada por $m\lambda$ para el m-ésimo orden de difracción. El poder de resolución teórico de una rejilla de difracción está dado por

$$R_0 = mN \quad (2.1)$$

El interferómetro de Michelson

El interferómetro de Michelson es un aparato óptico que emplea el principio de la interferencia de dos haces luminosos. Las partes esenciales del interferómetro son dos espejos planos uno móvil M y el otro fijo M' y un divisor de haz A dispuestos como muestra la figura 2.2.

El poder de resolución teórico de un interferómetro de Michelson está dado por:

$$R_0 = \frac{2\Delta l}{\lambda} = 2\Delta l \bar{\nu} \quad (2.2)$$

donde Δl es el desplazamiento del espejo móvil, λ la longitud de onda de la luz incidente y $\bar{\nu}$ es el número de onda (ondas por unidad de longitud).

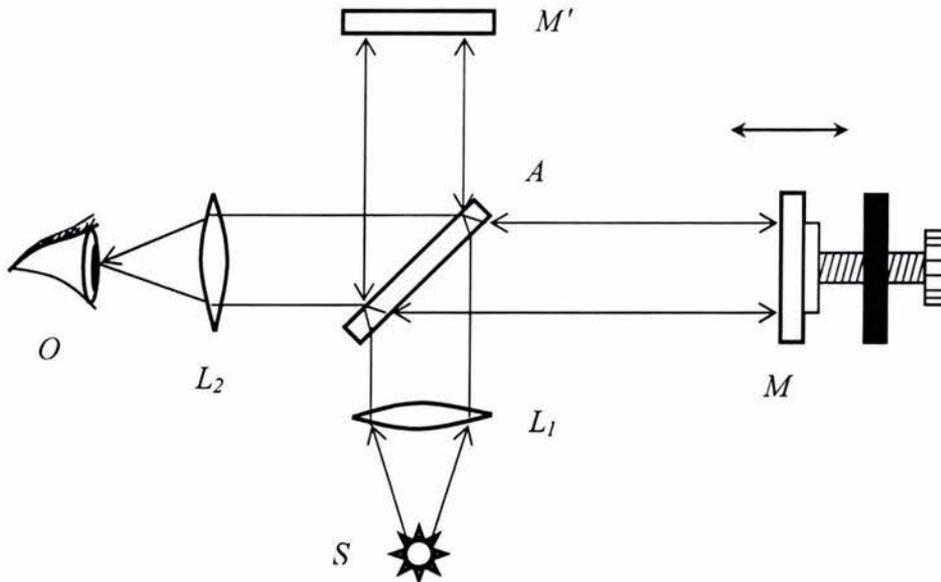


Fig. 2.2. Interferómetro de Michelson. S es la fuente de radiación, L_1 y L_2 son lentes convergentes, A es un divisor de haz, M' es el espejo fijo, M el espejo móvil y O el observador o detector.

Así como los espectrómetros de prisma o de rejilla tienen una rendija de entrada, los del tipo interferométrico tienen la suya, conocida como abertura de Jacquinot. Los rayos que emergen de la orilla de esta abertura y que llegan a los espejos son un poco más largos que los que emergen de su centro. La diferencia de longitud entre estos rayos se incrementa con el desplazamiento del espejo móvil. Griffiths y de Haseth [6] obtuvieron una relación entre el radio permitido para

la abertura de Jacquinot r , la distancia focal de la óptica de entrada f y el poder de resolución teórico R_0 . Esta relación es

$$r = f \sqrt{\frac{2}{R_0}} \quad (2.3)$$

A principios de 1954 Jacquinot señaló que los espectrómetros interferométricos tenían una conductancia óptica considerablemente mayor que los de prisma y de rejilla de difracción. Para poder cuantificar esto consideremos la conductancia óptica por número de onda para espectrómetros de rejilla o prisma

$$G_{\bar{\nu}}^G = \frac{hH}{f\bar{\nu}^2} R_0 \quad (2.4)$$

h es el largo de la rendija de entrada, H es la altura de la imagen de la rendija de entrada formada en la rejilla o prisma, f la distancia focal del colimador y R_0 el poder de resolución. De acuerdo con esta ecuación el cociente h/f es importante para la conductancia óptica de un espectrómetro de rejilla y generalmente su valor típico es de 0.01. R_0 está determinado por el ancho de la rejilla, el cual para rejillas cuadradas se puede aproximar por la longitud de los "surcos" que debe ser igual a H , dividido por la constante de la rejilla a . Como se mencionó antes, la constante de la rejilla tiene un valor entre $\lambda/2$ y un múltiplo de λ . Una buena aproximación es $a \approx \lambda = 1/\bar{\nu}$, de tal manera que R_0 estaría determinado por $H\bar{\nu}$ y la ecuación (2.4) se puede escribir como

$$G_{\bar{\nu}}^G \approx \frac{hH^2}{f\bar{\nu}} \quad (2.5)$$

Por otro lado la conductancia óptica por número de onda de un interferómetro está dada por

$$G_{\bar{\nu}}^I = \frac{2\pi F_1}{\bar{\nu}}, \quad (2.6)$$

F_1 representa el área del haz en el divisor de haz. Para comparar esta última ecuación con (2.5) consideremos el área del haz del interferómetro F_1 igual al área del haz en la rejilla H^2 . Así, el cociente de la conductancia óptica de un interferómetro entre la conductancia óptica de un espectrómetro de rejilla está dado por

$$\frac{G_{\bar{\nu}}^I}{G_{\bar{\nu}}^G} \approx \frac{2\pi f}{h} \quad (2.7)$$

Este es un factor que no depende del intervalo de longitudes de onda y cuyo valor es del orden de 600. Sin embargo, en los espectrómetros interferométricos comunes el área del haz es, por lo general, más pequeña que en los de rejilla; tomando en cuenta esto para instrumentos reales el factor anterior es del orden de 100.

Podemos concluir que la conductancia óptica espectral para un espectrómetro de prisma, un espectrómetro de rejilla de difracción y un interferómetro de Michelson es aproximadamente 1:10:1000.

Un espectrómetro Raman debe ser capaz de analizar la señal Raman (la cual es muy débil) a diferentes longitudes de onda y la radiación Rayleigh (es tan intensa que excede a las líneas Raman en un factor de 10^6 y hasta 10^{15}).

Tanto en los espectrómetros dispersivos como en los interferométricos la radiación Rayleigh produce radiación espuria distribuida en todo el espectro que en algunos casos puede llegar a ser más intensa que las líneas Raman. Así que, no importa el tipo de espectrómetro de que se trate, todos deben poseer una forma o medio de reducir considerablemente la intensidad de la radiación Rayleigh que acompaña a la señal Raman.

Para lograr este fin se usan monocromadores dobles o triples² o bien “filtros Rayleigh”. Tradicionalmente los fabricantes han ofrecido espectrómetros dispersivos con monocromadores dobles o triples e interferométricos con “filtros Rayleigh”, sin embargo también se puede tener un espectrómetro dispersivo con un filtro Rayleigh, o bien un interferómetro con un monocromador doble o triple.

Existen diferentes tipos de filtros Rayleigh, como los del tipo interferométrico de banda y de línea (conocido como filtro notch) [8,9], los de semiconductores que hacen uso de la brecha de energía [10], y los filtros Christiansen [11] que usan la dependencia del índice de refracción con la longitud de onda.

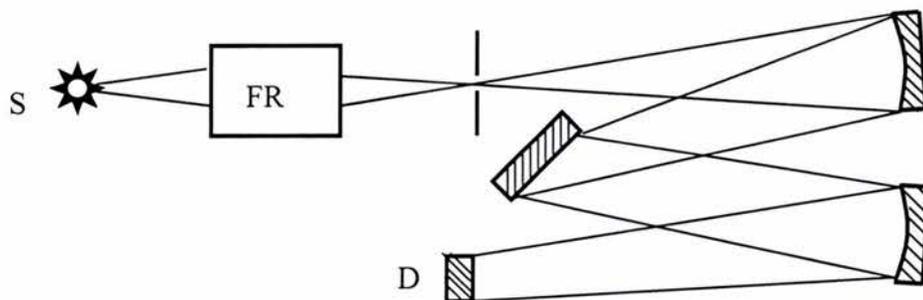


Figura 2.3. Ejemplo de un monocromador con un filtro Rayleigh (FR). S representa la fuente de radiación y D el detector.

² En 1940 Reitz fue el primero en usar un “espectrógrafo doble” [7].

2.1.2. Fuentes de radiación

En general las fuentes de radiación en el intervalo visible del espectro electromagnético son las más convenientes, ya que se tienen muy buenos detectores para esta región. Sin embargo, una fracción significativa de las muestras (particularmente las de origen industrial) presenta una fuerte señal de fluorescencia cuando se usa este tipo de radiación, dificultando la obtención del espectro Raman. En cambio, empleando radiación en la región del infrarrojo cercano (750-1064 *nm*) se obtiene una mejor razón señal-ruido.

El láser es la fuente ideal de radiación para la espectroscopía Raman; sin embargo antes de su invención la fuente que se usaba era la lámpara de mercurio, especialmente las líneas en 435.8 y 404.7 *nm*. Actualmente se usan la mayoría de los láseres (de onda continua (cw), pulsados, de gas, de estado sólido, de semiconductores, etc.) cuyas líneas de emisión van desde el ultravioleta (UV) hasta el infrarrojo cercano (NIR).

A pesar de su ineficiencia y requerimientos de potencia y enfriamiento, el láser de argón continúa siendo el más usado en la espectroscopía Raman dispersiva. Sin embargo, una alternativa reciente es el láser de diodo de granate de itrio y aluminio con impurezas de neodimio (Nd:YAG) usado en el segundo armónico (es decir a 532 *nm*) el cual es más compacto y eficiente y no requiere enfriamiento. En este momento tales láseres no son tan potentes como los de argón y el costo por watt es más alto, pero se cree que disminuya con el tiempo. Otra opción son los láseres de argón enfriados por aire aunque nada más se pueden usar donde se requiere baja potencia pues sólo dan de 10 a 20 *mW*.

Por mucho tiempo se han buscado fuentes de radiación UV para ser usadas en la espectroscopía Raman. Inicialmente se pensó que los láseres pulsados serían una buena opción, pero como la señal Raman depende del promedio de la potencia de los pulsos, no existe ventaja alguna de pulsar los láseres de onda continua si es que se dispone de uno en el UV. Además, la alta potencia de los pulsos a menudo provoca daños severos a las muestras. Los láseres que sí se pueden usar son los de Nd:YAG de onda cuasi continua usados en alguno de sus armónicos. Estos pueden sintonizarse en el UV (200-400 *nm*) y generar un tren rápido de pequeños pulsos (\approx MHz) [12]. La energía del pulso es suficientemente baja como para reducir, considerablemente, los daños provocados a las muestras.

Un desarrollo más reciente comprende a los láseres de argón de onda continua usados en su segundo armónico, el cual genera verdadera radiación UV a 244 y 257 *nm*. Aunque se han obtenido resultados importantes con los láseres UV en el laboratorio, su alto precio (más de USD 100,000) y complejidad los han excluido de su uso en la espectroscopía Raman rutinaria.

Se usan también los láseres de kriptón, los cuales son muy similares a los de argón en cuanto a costo y complejidad, pero proveen nada más tres líneas, dos en el infrarrojo cercano a 647 nm y 752 nm y una línea en el violeta a 406 nm .

Los láseres de Titanio:zafiro son fuentes de radiación robustas y sintonizables en el rango del infrarrojo cercano ($690\text{-}1000\text{ nm}$). La emisión espontánea del cristal Ti:zafiro genera un fondo cuasi continuo que debe ser bloqueado con filtros de interferencia convencionales o bien con filtros holográficos. Sintonizar el láser se considera una ventaja ya que permite ajustar la longitud de onda a la de un filtro en la óptica de entrada del espectrómetro. La potencia en los láseres de Ti:zafiro es mucho mayor que la que entregan, actualmente, los láseres de diodo y la calidad del haz es tan buena como la de los láseres de argón o kriptón.

Los láseres de diodo son una opción más para la espectroscopía Raman, las motivaciones para implementarlos son su simplicidad, bajo costo y baja potencia [13,14,15]. Desde muchos puntos de vista, los láseres de diodo parecen ideales para la espectroscopía Raman rutinaria en el intervalo de $650\text{-}800\text{ nm}$, dado que son compactos, sólidos, fuertes y no necesitan enfriamiento sofisticado, además de poseer una vida útil larga.

Los láseres de diodo comerciales disponibles por menos de USD 3000 se han usado exitosamente en espectroscopía Raman, y no sólo eso; en la actualidad existen disponibles comercialmente sistemas Raman completos basados en láseres de diodo. Estos son los láseres que se usan en los sistemas Raman dispersivos.

En los espectrómetros Raman por transformada de Fourier se usan exclusivamente los láseres que emiten en 1064 nm (como los de Nd:YAG) con una potencia de salida del haz que puede llegar hasta 6 watts, aunque en la muestra la potencia más alta es cercana a 1 watt. Existen dos tipos de estos láseres: los que usan potentes lámparas de luz blanca (generalmente de más de 1000 W) y los que usan láseres de GaAs para producir el efecto láser en el cristal.

2.1.3. Elementos ópticos que producen imágenes

Los elementos más importantes que producen imágenes son las lentes, la mayoría de ellas tienen superficies esféricas o planas. Aquellas que hacen que los rayos incidentes converjan se llaman positivas (éstas pueden ser biconvexas, plano-convexas o menisco-convergente) y están caracterizadas por una distancia focal positiva. Las lentes que hacen que el haz incidente diverja se llaman negativas (pueden ser bicóncavas, plano-cóncavas o menisco-divergente) y están caracterizadas por una distancia focal negativa.

Las lentes presentan varios tipos de aberraciones, la más importante de ellas en espectroscopía es la aberración cromática. Para corregirla se usan

combinaciones de lentes de diferentes materiales, obteniendo así arreglos acromatizados para poder usarlos en un intervalo espectral más amplio.

Además de lentes también se usan espejos que pueden ser planos, esféricos (cóncavos o convexos), elipsoidales y algunas veces toroidales. Los espejos tienen la ventaja de no presentar aberraciones cromáticas, de tal manera que es posible primero ajustar o alinear el arreglo con luz visible y luego usar radiación UV o IR.

2.1.4. Elementos que encauzan la radiación

Guía de ondas

Una guía de ondas puede ser definida como una estructura destinada a la propagación dirigida y acotada de radiación electromagnética. El medio dieléctrico en el que esta propagación se produce está limitado, ya sea por un material conductor (para microondas y radio frecuencias), o por otro dieléctrico (para frecuencias ópticas). Desde el punto de vista geométrico las formas más comunes, aunque no únicas, de guías de ondas tienen secciones rectangulares o cilíndricas.

Existen en la práctica numerosos tipos de estructuras que, con toda propiedad, pueden ser catalogadas como guías de ondas. Tal y como se ha mencionado, se emplean para transmitir ondas electromagnéticas punto a punto de una forma eficiente. Por lo general se trata de señales de información de elevada frecuencia y que no podrían ser transmitidas por otros métodos, debido a que la transmisión no sería eficiente, como es el caso de las señales ópticas (que se transmiten a grandes distancias preferentemente por fibras y no a través de la atmósfera), o bien porque producirían interferencia en otros equipos, como las microondas entre 0.3 y 10 GHz.

Si la frecuencia es suficientemente alta, en una misma guía se pueden propagar simultáneamente diversas configuraciones (modos) de campos eléctrico y magnético, aunque con diferentes velocidades. La estructura de estos modos es a menudo bastante complicada y difícil de visualizar.

Las guías de ondas tienen una frecuencia de corte por debajo de la cual es imposible la transmisión. Dicha frecuencia es inversamente proporcional a la sección transversal de la guía. Esto produce que para la transmisión sean factibles las señales de frecuencias a partir de 1 GHz (microondas) ya que a frecuencias menores requerirían unas dimensiones demasiado grandes.

Fibras ópticas.

En tiempos recientes se han desarrollado técnicas para conducir la luz, de manera eficaz, de un punto en el espacio a otro a través de fibras dieléctricas transparentes. En un principio fueron desarrolladas para aplicarse en

telecomunicaciones, actualmente su importancia se incrementa cada día en muchas otras aplicaciones técnicas. En espectroscopía las fibras ópticas son usadas, especialmente, para investigación de muestras remotas que no pueden ser colocadas dentro de un aparato espectral. Las fibras ópticas hechas de silicio tienen un buen factor de transmisión para conexiones de corta distancia en la región comprendida entre el ultravioleta y el visible. Para conexiones de larga distancia, es en el intervalo del infrarrojo cercano (NIR) donde presentan la máxima transmisión y las conexiones se pueden hacer a lo largo de varios kilómetros.

Normalmente la conductancia de una fibra óptica es mucho menor que la de un espectrómetro, por esta razón si se requiere utilizarla es necesario adaptarla a la del resto de los elementos del instrumento. Esto se logra con un manajo de fibras, cuyo arreglo dependerá de ciertas características del sistema. Si se trata de un espectrómetro de rejilla entonces la rendija de entrada es la que proporciona el arreglo de este manajo, pero si se trata de uno interferométrico entonces hay que tomar en cuenta la abertura de Jaquinot.

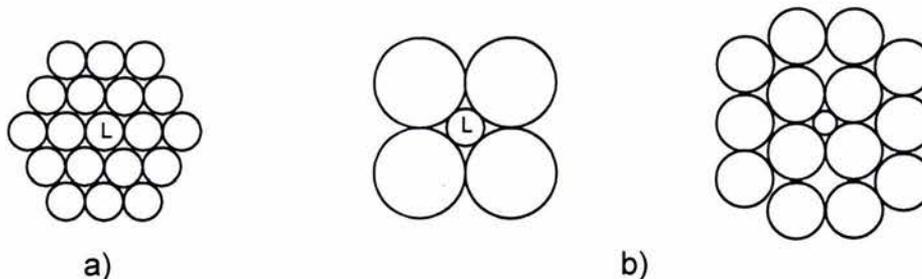


Figura 2.4. Arreglos de fibras ópticas usadas en espectroscopía Raman. Manajo con fibra central a) del mismo diámetro, b) de diámetro menor que el resto de las fibras.

En la espectroscopía Raman se requiere transportar al mismo tiempo la radiación incidente (producida por el láser) y la radiación dispersada por la muestra que se pretende analizar. Para hacerlo se usan arreglos de 7, 19 o 37 fibras del mismo diámetro en los cuales la fibra central es la encargada de transportar la radiación del láser (figura 2.4a) y el resto para la radiación Raman. Aunque estos arreglos funcionan bastante bien es más aconsejable usar una fibra central, para transportar la radiación del láser a la muestra, de un diámetro relativamente menor que el resto (figura 2.4b).

2.1.5. Técnicas de colocación de la muestra

En la obtención de espectros Raman se usan diferentes tipos de arreglos para la colocación de la muestra a analizar, y dos tipos de geometría; la de 90° y la de 180° . La primera es la más adecuada cuando se utiliza un espectrómetro de rejilla de difracción, ya que es la que permite la más fácil alineación del haz con la

rendija de entrada y en la que el cono que emerge de la muestra se adapta de mejor manera a la forma rectangular de la mencionada rendija, y la segunda cuando se usa un interferómetro pues el cono que emerge de la muestra se acomoda mejor a la abertura circular [16] (figura 2.5).

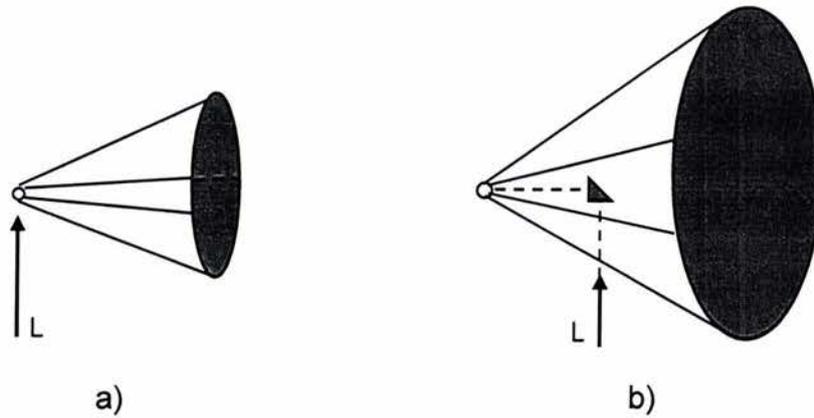


Figura 2.5. Los dos tipos de geometrías usadas en la espectroscopia Raman, a) de 90° y b) de 180° . L indica el haz del láser incidente en la muestra.

La figura 2.6 muestra varios arreglos para la colocación de la muestra a analizar en la espectroscopia Raman. El primer arreglo es el contenedor transparente tradicionalmente usado para obtener espectros de líquidos, el cual no es considerado como el óptimo. El segundo muestra la celda esférica para líquidos y polvos. Una pequeña cantidad de muestra puede ser colocada en un tubo capilar y éste a su vez introducido en la esfera, usando glicerina para llenar el espacio entre el tubo y el material de la esfera; o también, la sustancia puede colocarse directamente en el centro de la esfera y posteriormente cerrarse con tapones de teflón. El volumen central de la esfera también es esférico, esto se puede lograr uniendo dos mitades de esfera. No se recomienda el uso de grandes diámetros, ya que se usaría más cantidad de muestra. Normalmente se usan esferas de zafiro de 10 mm de diámetro exterior con un volumen central de 1 mm^3 . Ya que el zafiro tiene un espectro Raman, que consta de líneas que se encuentran en 752 , 646 , 578 , 419 y 382 cm^{-1} , es necesario restarlo del espectro obtenido de la muestra.

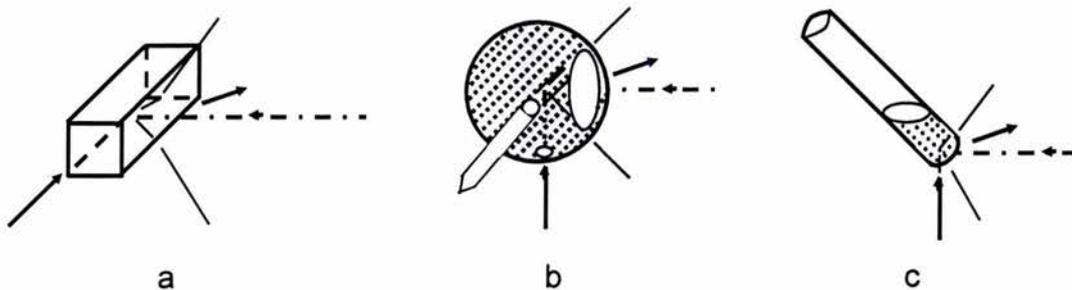


Figura 2.6. Tres tipos de arreglos para la colocación de muestras en la obtención de espectros Raman. Las flechas entrantes hacia la muestra indican la dirección del haz incidente (en los dos tipos de geometría, de 90° y de 180°) y la saliente la de la radiación dispersada.

La figura 2.6c muestra un tubo portamuestras para resonancia magnética nuclear (NMR). Por lo general se recomienda que exista un ángulo de 45° entre el eje del tubo y el de observación, esto es con el fin de aprovechar la ventaja que representa el fondo del tubo, ya que es como si se tuviera una celda esférica de la que ya se ha hablado anteriormente.

Todos los arreglos mostrados en las figuras 2.6 a-c, pueden utilizarse con geometrías de 180° (retrodispersión) y de 90° , como se indican con las flechas entrantes.

En la figura 2.7 a se muestra un tubo dentro del cual se coloca la muestra y se ilumina de manera axial. Esto permite aprovechar su comportamiento parecido a una guía de luz y obtener un espectro Raman bastante intenso; esta intensidad depende del índice de refracción de la muestra, del material con que esté hecho el tubo y de su longitud. Este tipo de contenedor es el más adecuado para muestras en solución. En la región del cercano infrarrojo es conveniente usar solventes que no contengan enlaces X-H (donde X es cualquier átomo o conjuntos de átomos), como el tetracloruro de carbono, bisulfuro de carbono, ya que tienen un coeficiente de absorción pequeño.

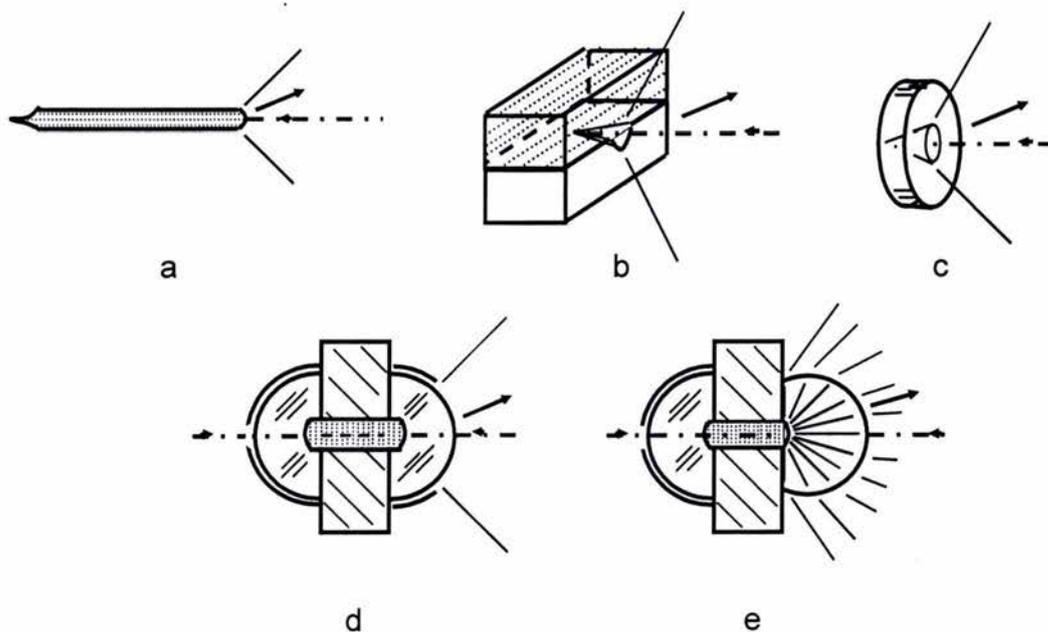


Figura 2.7. Arreglos para la obtención de espectros Raman.

Los siguientes cuatro arreglos de la figura 2.7 son usados para la obtención de espectros Raman de muestras sólidas o que pueden estar pulverizadas. Arreglos como los mostrados en las figuras 2.7 b y 2.7 c se usaron hace mucho tiempo en la obtención de espectros Raman (Brandmüller y Moser los utilizaron por primera vez en 1962), éstos tenían una muesca pulida en forma cilíndrica o

cónica para aprovechar las reflexiones múltiples que se producían en la superficie de los granos de las muestras.

La figura 2.7 d muestra una celda que puede usarse tanto en arreglos con geometría de 0° como de 180° . La muestra se coloca en el centro y las medias esferas que la rodean se usan para obtener reflexiones múltiples e incrementar la cantidad de radiación Raman producida. En la figura 2.7 e se muestra una esfera de Weierstrass, la cual hace posible que la óptica de entrada del espectrómetro perciba toda la radiación que es emitida por la muestra en un ángulo sólido cercano a 2π .

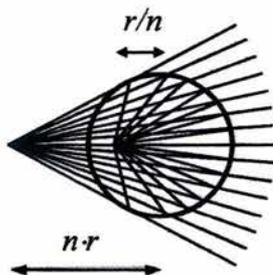


Figura 2.8. Principio de la lente de Weierstrass: Si una esfera con un índice de refracción n y de radio r se coloca en un haz que debiera enfocarse a una distancia $n \cdot r$ del centro de la esfera, entonces el haz se enfocará dentro de la esfera a una distancia de r/n de su centro.

El arreglo confocal

El arreglo confocal no es propiamente un arreglo de colocación de la muestra, pero es importante describirlo ya que actualmente es muy utilizado en los microespectrómetros Raman. Este arreglo consiste en lo siguiente: En el plano posterior del objetivo del microscopio se coloca una pequeña abertura variable (50-3000 μm de diámetro) que impide el paso de luz fuera de foco hacia el espectrógrafo. Es decir, sólo aquellos rayos de luz que provienen de un punto bien definido en la muestra son analizados. De esta manera los rayos de luz que provienen de un punto ligeramente más abajo o más arriba del punto enfocado serán bloqueados por la pequeña abertura.

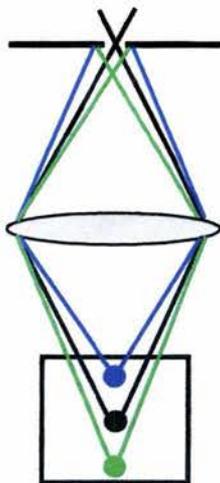


Figura 2.9. En este diagrama se ilustra el principio del arreglo óptico confocal. La radiación cuyo origen es la región de color negro está correctamente enfocada por la lente objetivo, mientras que las regiones azul y verde, que están fuera de foco, son bloqueadas por el diafragma de abertura variable y de esta manera no contribuyen en el espectro.

Una de las ventajas del arreglo confocal es que permite obtener un espectro Raman de una porción muy pequeña de muestra (del orden de nanogramos), esto es muy útil cuando se tiene una micromuestra heterogénea ya que se puede obtener información de su distribución espacial con una resolución muy alta. Este arreglo óptico también reduce considerablemente la fluorescencia. El tamaño de la abertura es variable para permitir desarrollar diferentes clases de experimentos; por ejemplo, muestras en estado líquido requieren de un volumen mayor que aquellas que están en estado sólido.

2.1.6. Detectores de radiación

Existen dos categorías de detectores, los de tipo monocanal y los de tipo multicanal. Los detectores monocanal, como su nombre lo indica, tienen solamente un elemento que detecta luz que pasa a través de la rendija de salida de un monocromador. Un instrumento que posee un detector de este tipo produce un espectro girando la rejilla del monocromador y almacenando un dato por cada posición de la rejilla de difracción. En contraste, los detectores multicanal captan muchos datos simultáneamente sin mover una rejilla o alguna otra parte del espectrómetro, permitiendo almacenar los datos de manera más eficiente.

Dentro de los detectores monocanal existen dos tipos: tubos fotomultiplicadores y detectores de estado sólido. Por lo general los tubos fotomultiplicadores son mucho más sensibles que los detectores de estado sólido y son capaces de operar desde el ultravioleta hasta el infrarrojo cercano, pero no más allá de 950 nm . Sin embargo, necesitan fuentes de alto voltaje y algunos requieren además ser enfriados (por agua o termoeléctricamente) para su funcionamiento.

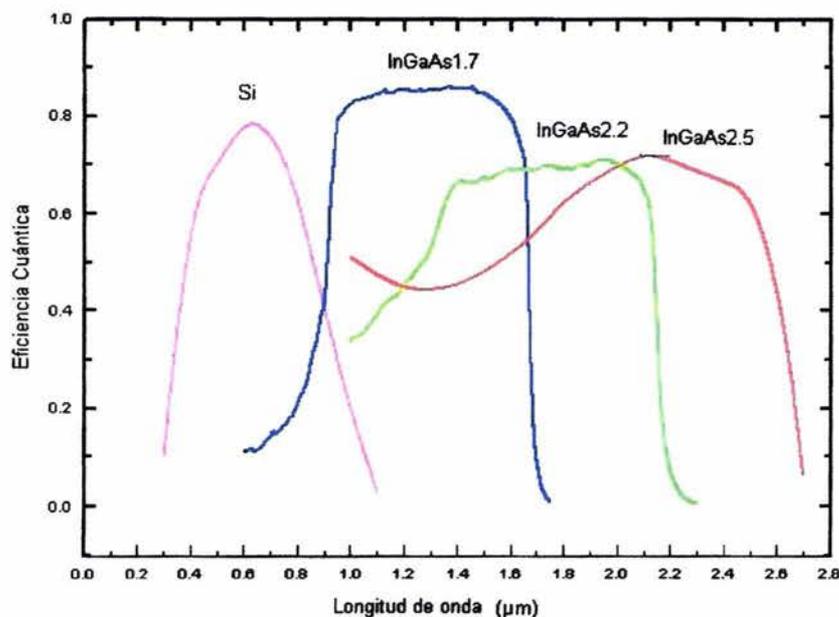


Figura 2.10. Eficiencia cuántica de diferentes detectores CCD.

Los detectores de estado sólido son dispositivos optoelectrónicos usados para convertir fotones incidentes en señales electrónicas. Disponibles en un intervalo que va de 200 *nm* hasta 20 μm en longitud de onda, los detectores de estado sólido ofrecen sensibilidad, fiabilidad y eficiencia a un costo razonable. Dependiendo de su sensibilidad se pueden usar a temperatura ambiente o bien enfriados termoeléctricamente o con nitrógeno líquido.

El detector multicanal más popular es el CCD (Charge Coupled Devices) hecho de silicio con varios miles de elementos llamados píxeles, distribuidos en un rectángulo. Los detectores CCD exhiben una respuesta alta desde el UV hasta el IR (200-1100 *nm*) como se puede ver en la figura 2.10. A longitudes de onda más largas (menor energía), la energía del fotón es menor que la brecha del silicio y éste ya no es capaz de detectarlo. Sin embargo, materiales semiconductores de tipo III-V como el arseniuro de indio y galio (InGaAs) tienen una brecha menor y pueden absorber fotones con energías en el infrarrojo cercano. Debido a esto, los arreglos de diodos hechos de InGaAs son la mejor elección para detectar radiación entre 0.9 y 1.7 μm , incluso existen arreglos de diodos de InGaAs modificados que son capaces de detectar fotones hasta 2.6 μm .

2.2. Espectrómetros por transformada de Fourier comparados con los espectrómetros dispersivos.

Con la popularidad de los espectrómetros por transformada de Fourier y el más reciente desarrollo de los sistemas dispersivos basados en detectores de CCD, el usuario está inevitablemente en la disyuntiva de elegir entre una técnica u otra para una aplicación determinada. Las dos técnicas difieren significativamente en diversos criterios de funcionamiento y ninguna es mejor para todas las aplicaciones. Como se pondrá de manifiesto, la elección es dictada por los requisitos de muestras particulares o bien por el experimento que se pretenda realizar.

La espectroscopía Raman por transformada de Fourier tiene varias ventajas importantes derivadas de la larga longitud de onda del láser y del uso de un interferómetro [17,18,19,20]. El láser, cuya longitud de onda es de 1064 *nm*, excita muy pocas transiciones electrónicas y reduce enormemente la fluorescencia, también disminuye el calentamiento de la muestra pudiéndose así usar mayor potencia sin dañarla.

El interferómetro usado en la espectroscopía FT-Raman tiene una muy buena precisión en la longitud de onda (o frecuencia) debido al láser interno de He-Ne que usa como referencia. Como las posiciones de los picos son, de esta manera, reproducibles, la sustracción espectral se realiza obteniendo un buen resultado al momento de remover el fondo o bien las características de algún solvente que se haya usado. Aunque un instrumento dispersivo es totalmente

estable si nada se mueve de lugar, debe ser calibrado con algún estándar. Cualquier movimiento de la rejilla de difracción (o fluctuación térmica) puede disminuir la precisión y frustrar la sustracción espectral. Además de lo antes mencionado, el interferómetro también permite de manera fácil la variación de resolución y cobertura espectral. Por ejemplo, en un instrumento dispersivo un cambio de alta resolución y baja cobertura espectral a baja resolución y amplia cobertura requiere cambiar la rejilla de difracción (y muy probablemente recalibrar), mientras que en un sistema FT-Raman basta con oprimir un par de teclas. Esto no quiere decir que en un sistema dispersivo no se puede hacer la sustracción espectral, sino que es más difícil hacerla que en un FT-Raman.

Los espectrómetros dispersivos presentan la ventaja de poder usar diferentes longitudes de onda de excitación y potencias muy bajas. Esto es muy útil cuando se trabaja con muestras biológicas o con muestras cuyo coeficiente de absorción es muy grande (muestras de color oscuro); existen reportes de espectros Raman de ciertas sustancias obtenidos con potencias del orden de microwatts (μW).

Capítulo 3. La espectroscopía Raman en el análisis cuantitativo

3.0 Introducción

La utilización de la espectroscopía de absorción IR en la caracterización de medicamentos es ampliamente conocida, no así la espectroscopía Raman, que hasta hace poco tiempo no era usada para este fin. Menos aún se pensaba en usarla en análisis cuantitativos de mezclas. En fechas recientes, debido al desarrollo de la técnica de espectroscopía Raman por transformada de Fourier (FT-R) y la disponibilidad de espectrómetros a un precio razonable, se ha empezado a utilizar para la identificación de medicamentos [21,22,23,24].

Actualmente existe una creciente necesidad de tener un método que sea rápido y confiable para determinar, tanto los componentes como sus proporciones en un medicamento comercial. En este trabajo se pretende hacer un análisis cuantitativo en mezclas de dos componentes y semicuantitativo en mezclas de tres por medio de espectroscopía Raman. Los componentes que se usaron son el ácido acetilsalicílico (AAS), ácido cítrico (AC) y bicarbonato de sodio (BS). Las cantidades de cada uno de estos componentes se determinan usando el cociente de las intensidades de picos fácilmente identificables correspondientes a cada uno de los ingredientes. Para este propósito se obtiene una curva de calibración mezclando cantidades conocidas de dos especies y se propone una relación lineal para calcular la cantidad de cada componente.

3.1 Características del espectrómetro usado

Los espectros Raman se obtuvieron con un espectrómetro Renishaw Micro-Raman modelo 1000B, equipado con un láser Renishaw HPNIR a 830 nm. Se usó un filtro Notch de tipo holográfico como divisor de haz para permitir que el haz láser llegara al microscopio y también para rechazar la línea Rayleigh. La rejilla de difracción (600 líneas/mm) proporciona una resolución de 4 cm^{-1} . El detector que se usó es un CCD RemCam enfriado termoeléctricamente a $-70\text{ }^{\circ}C$. El sistema posee un microscopio Leica DMLM y el programa GRAMS/32 para controlar todas las funciones del espectrómetro. En la figura 3.1 se muestra un diagrama del equipo usado en el desarrollo de este trabajo. Cabe mencionar que en un principio los primeros espectros fueron obtenidos con un espectrómetro FT-Raman 800 de la marca Nicolet. Sin embargo, una avería, primero en el láser y luego en el detector de germanio hiperpuro impidió continuar con este trabajo. Por esta razón se decidió obtener todos los espectros con el de la marca Renishaw.

Todos los espectros Raman se obtuvieron bajo las mismas condiciones experimentales. Se usó una potencia del láser en la muestra de 67.5 mW; un tiempo de acumulación de 10 s y un objetivo de 5X.

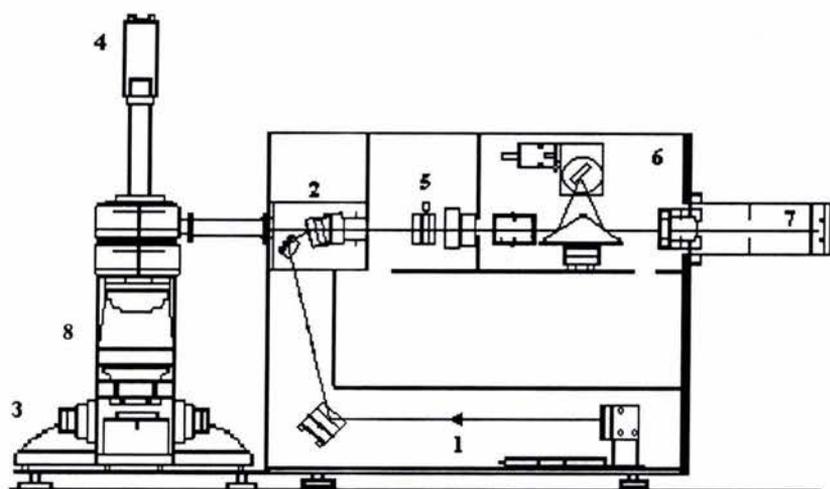


Figura 3.1. Diagrama del espectrómetro Renishaw 1000B. 1. Haz láser, 2. Filtro Notch, 3. Microscopio, 4. Cámara de video, 5. Rendija, 6. Monocromador, 7. Detector CCD, 8. Porta muestra.

3.2 Mezclas de dos componentes

En primer lugar se prepararon muestras usando dos componentes, el ácido acetilsalicílico (Central de Drogas S. A.) y el ácido cítrico (J. T. Baker México). Las muestras se prepararon tomando en cuenta las proporciones en peso y no las concentraciones molares, ya que la información que está impresa en la mayoría de los medicamentos está expresada en la primera forma.

Muestra	% en peso de AC	% en peso de AAS
M1	100	0
M2	85	15
M3	70	30
M4	60	40
M5	50	50
M6	40	60
M7	30	70
M8	15	85
M9	0	100

Tabla 3.1. Muestras de dos componentes usadas para la obtención de la curva de calibración.

La preparación de las mezclas se hizo moliendo las componentes, en un mortero de ágata, en la proporción en peso indicada en la tabla 3.1. Posteriormente se elaboraron tabletas de 7 mm de diámetro con cada una de ellas aplicando una presión aproximada de 1.27 GPa. La homogeneidad de las mezclas fue verificada obteniendo varios espectros de cada tableta en diferentes puntos de su superficie.

3.3 Construcción de la curva de calibración para mezclas de dos componentes

El objetivo era encontrar un método sencillo y confiable para calcular los porcentajes de cada ingrediente en una mezcla de dos componentes. Para conseguirlo, se usó la intensidad de los picos y no el área integrada de los mismos. Al medir las intensidades absolutas de un mismo pico en varios espectros obtenidos de la misma muestra, se notó una diferencia significativa entre ellas, por esta razón se tomaron las intensidades relativas de los picos en cuestión.

En la figura 3.2 se presentan los espectros obtenidos de las diferentes mezclas que se prepararon. Como se puede ver en la tabla 3.1, M1 corresponde al ácido cítrico puro, y en él se puede identificar el pico en 941 cm^{-1} correspondiente a la vibración de estiramiento de la cadena alifática $\nu(\text{CC})$. M9 corresponde al ácido acetilsalicílico puro, y se puede apreciar el intenso pico correspondiente a la vibración de fuelle del anillo bencénico en 1607 cm^{-1} . Estos dos picos son los que se usarán en la construcción de la curva de calibración.

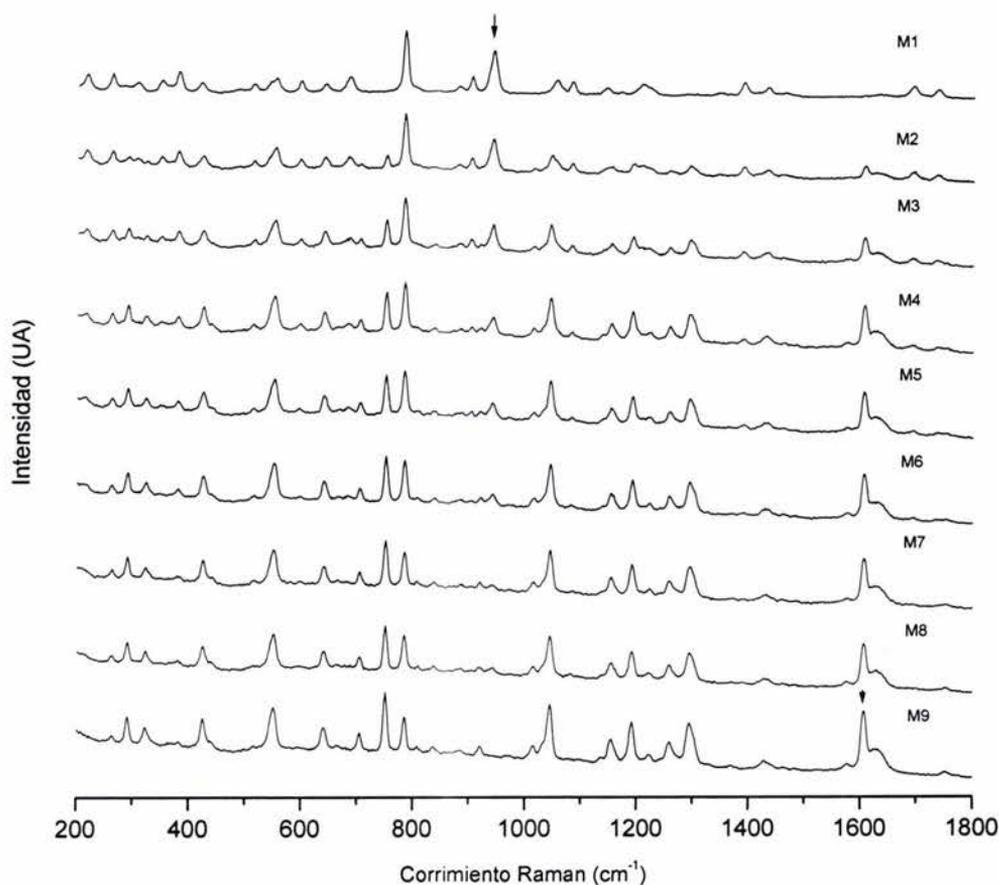


Figura 3.2. Espectros Raman, obtenidos bajo las mismas condiciones experimentales, de las mezclas listadas en la tabla 3.1. Con una flecha se señala el pico en 941 cm^{-1} del ácido cítrico (M1) y con otra el del ácido acetilsalicílico (M9) en 1607 cm^{-1} .

La intensidad de una línea Raman depende de una serie de factores que incluyen la intensidad del láser, la frecuencia de la radiación dispersada, el coeficiente de absorción de los materiales involucrados y la respuesta del sistema de detección. Una aproximación a la intensidad Raman medida I^ν se puede escribir como [3]

$$I^\nu = I_0 K^\nu C \quad (3.1)$$

en donde I_0 es la intensidad del láser, ν es la frecuencia del corrimiento Raman (en cm^{-1}), C es la concentración de los componentes y, finalmente K^ν es un factor que incluye los términos dependientes de la frecuencia: la respuesta completa del espectrómetro, la absorción del medio y las propiedades moleculares de dispersión.

Partiendo de la intensidad dada por (3.1) para los dos picos mencionados anteriormente y considerando que

$$C_{AAS} + C_{AC} = 1, \quad (3.2)$$

el cociente de la intensidad del pico del ácido cítrico en 941 cm^{-1} entre la intensidad del pico de ácido acetilsalicílico en 1607 cm^{-1} puede escribirse como

$$\frac{I_{AC}^{941}}{I_{AAS}^{1607}} = \frac{K_{AC}^{941}}{K_{AAS}^{1607}} \frac{1}{C_{AAS}} - \frac{K_{AC}^{941}}{K_{AAS}^{1607}} \cdot \quad (3.3)$$

La gráfica del cociente $I_{AC}^{941}/I_{AAS}^{1607}$ contra $1/C_{AAS}$ se muestra en la figura 3.3. En la tabla 3.2 se listan las intensidades de los picos en las diferentes muestras que se prepararon, así como también sus cocientes. Los valores de ambas intensidades se obtuvieron después de sustraer la contribución del fondo; es decir, se hizo una corrección de la línea base en todos los espectros obtenidos. En la figura 3.2 se muestran los espectros de las tabletas de ácido cítrico y acetilsalicílico en diferentes porcentajes.

	I_{AC}^{941}	I_{AAS}^{1607}	$I_{AC}^{941}/I_{AAS}^{1607}$
M1	1635	-	-
M2	1247	540	2.30926
M3	953	945	1.00847
M4	657	1594	0.41217
M5	552	1517	0.36388
M6	401	1700	0.23588
M7	158	1703	0.09278
M8	214	1713	0.12493
M9	-	2291	0.00000

Tabla 3.2. Valores de las intensidades de los picos en 941 cm^{-1} y 1607 cm^{-1} correspondientes a ácido cítrico y acetilsalicílico respectivamente.

Ajustando los datos a una línea recta se obtiene la siguiente relación:

$$\frac{I_{AC}^{941}}{I_{AAS}^{1607}} = 0.41 \frac{1}{C_{AAS}} - 0.45. \quad (3.4)$$

El coeficiente de correlación fue de 0.994, la incertidumbre de la pendiente de 0.02 y la incertidumbre de la ordenada al origen de 0.06.

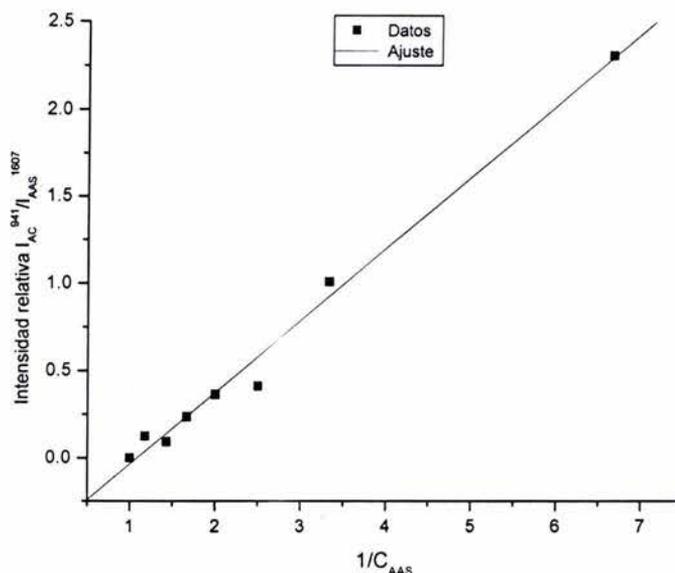


Figura 3.3. Ajuste de los datos mostrados en la tabla 3.2

Consideremos ahora un pico que esté en los dos componentes, por ejemplo el que se encuentra en 783 cm^{-1} , que corresponde a la vibración de estiramiento de la cadena alifática $\nu(\text{CC})$. Cada componente contribuye con una parte proporcional a su concentración a la intensidad del pico. De esta manera, usando la ecuación (3.1), se tiene que la intensidad del pico en 783 cm^{-1} dividida por la intensidad del pico en 1607 cm^{-1} está dada por

$$\frac{I_{AAS+AC}^{783}}{I_{AAS}^{1607}} = \frac{I_{AAS}^{783} + I_{AC}^{783}}{I_{AAS}^{1607}} = \frac{K_{AAS}^{783} C_{AAS} + K_{AC}^{783} C_{AC}}{K_{AAS}^{1607} C_{AAS}} \quad (3.5)$$

y usando la ecuación (3.2) se obtiene

$$\frac{I_{AAS+AC}^{783}}{I_{AAS}^{1607}} = \frac{K_{AC}^{783}}{K_{AAS}^{1607}} \frac{1}{C_{AAS}} + \frac{K_{AAS}^{783} - K_{AC}^{783}}{K_{AAS}^{1607}}. \quad (3.6)$$

	I_{AAS+AC}^{783}	I_{AAS}^{1607}	$I_{AAS+AC}^{783} / I_{AAS}^{1607}$
M2	2249	540	4.16481
M3	1931	945	2.04339
M4	1875	1594	1.17629
M5	1659	1517	1.09361
M6	1597	1700	0.93941
M7	1297	1703	0.76160
M8	1359	1713	0.79335
M9	1254	2291	0.54736

Tabla 3.3. Valores de las intensidades de los picos en 783 cm^{-1} y 1607 cm^{-1} y sus cocientes para cada una de las muestras.

La gráfica del cociente $I_{AAS+AC}^{783} / I_{AAS}^{1607}$ contra $1/C_{AAS}$ se muestra en la figura 3.4. En la tabla 3.3 se listan las intensidades de los picos en las diferentes muestras que se prepararon, así como también sus cocientes.

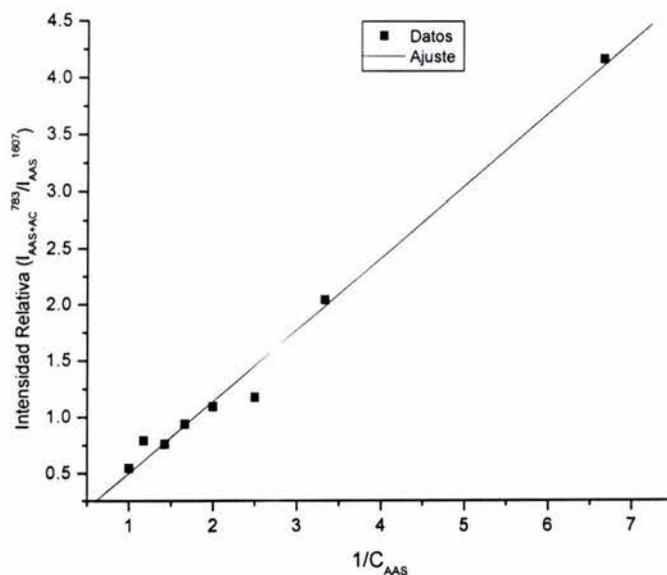


Figura 3.4. Ajuste de los datos mostrados en la tabla 3.3.

Ajustando los datos a una línea recta se obtiene la siguiente relación:

$$\frac{I_{AAS+AC}^{783}}{I_{AAS}^{1607}} = 0.64 \frac{1}{C_{AAS}} - 0.13. \quad (3.7)$$

El coeficiente de correlación fue de 0.994, la incertidumbre de la pendiente de 0.03 y la incertidumbre de la ordenada al origen de 0.09.

	I_{AAS+AC}^{783}	$C_{AAS} I_{AAS}^{783}$	I_{AC}^{783}	I_{AAS}^{1607}	$I_{AC}^{783} / I_{AAS}^{1607}$
M2	2249	188	2061	540	4.16481
M3	1931	376	1555	945	2.04339
M4	1875	502	1373	1594	1.17629
M5	1659	627	1032	1517	1.09361
M6	1597	752	845	1700	0.93941
M7	1297	878	419	1703	0.76160
M8	1359	1066	293	1713	0.79335
M9	1254	1254	0	2291	0.54736

Tabla 3.4. Valores de las intensidades de los picos en 783 cm^{-1} , sin la contribución de ácido acetilsalicílico, y 1607 cm^{-1} y sus cocientes para cada una de las muestras.

Tomemos en cuenta ahora solamente la contribución del ácido cítrico al pico en 783 cm^{-1} (I_{AC}^{783}). Al valor mostrado en la tabla 3.3 de la intensidad del pico en 783 cm^{-1} (I_{AAS+AC}^{783}) se le resta la contribución del ácido acetilsalicílico $C_{AAS} I_{AAS}^{783}$. Dado que M9 es únicamente ácido acetilsalicílico podemos usar la intensidad del pico en 783 cm^{-1} para calcular su contribución a cada una de las mezclas. La tabla 3.4 muestra lo antes dicho y en la figura 3.5 se muestra la gráfica de $I_{AC}^{783} / I_{AAS}^{1607}$ vs $1/C_{AAS}$.

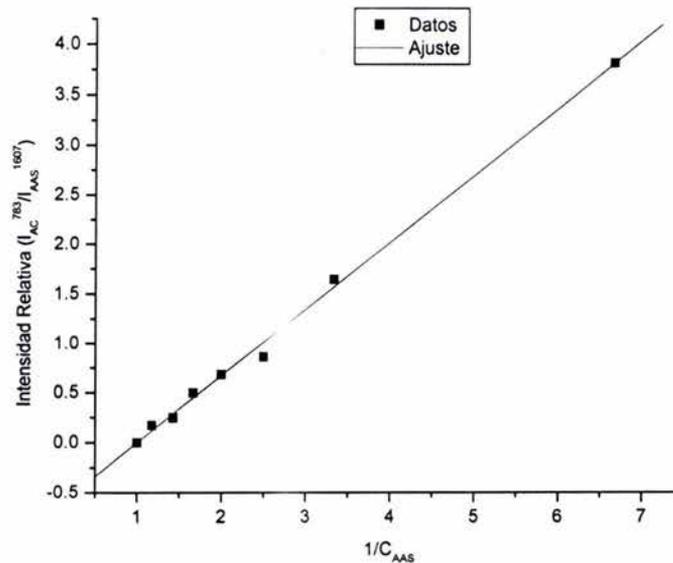


Figura 3.5. Ajuste de los datos mostrados en la tabla 3.4

Ajustando los datos a una línea recta se obtiene la siguiente relación:

$$\frac{I_{AC}^{783}}{I_{AAS}^{1607}} = 0.67 \frac{1}{C_{AAS}} - 0.67. \quad (3.8)$$

El coeficiente de correlación fue de 0.998, la incertidumbre de la pendiente de 0.02 y la incertidumbre de la ordenada al origen de 0.05.

Hemos visto que, en mezclas sólidas de dos componentes, se obtiene una relación lineal entre el cociente de picos independientes y el recíproco de la concentración de uno de los ingredientes. También se obtiene un comportamiento lineal cuando se usa un pico que se encuentra presente en los dos componentes. Además la ecuación (3.6) se verifica con el ajuste presentado en la figura 3.5 y la ecuación (3.8), ya que el valor de las pendientes en (3.7) y (3.8) coinciden tomando en cuenta sus respectivas incertidumbres.

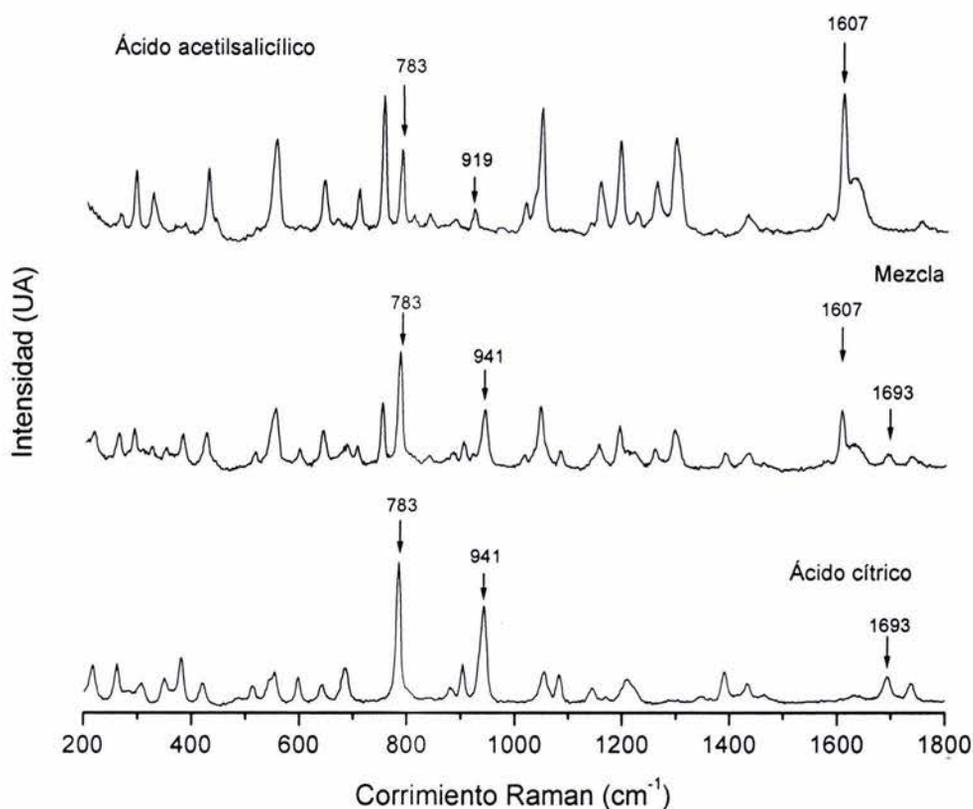


Figura 3.6. Espectros Raman de los ácidos acetilsalicílico y cítrico, y una mezcla de ambos. Se muestran los picos Raman característicos de cada uno de los ácidos.

Para ver la utilidad de lo antes expuesto hagamos un ejemplo del análisis cuantitativo de una mezcla de dos ingredientes. En la figura 3.6 se muestra el espectro de una mezcla cuyas proporciones supuestamente se desconocen y que fue obtenido en las mismas condiciones que los que se usaron para construir la curva de calibración. Primero se identifican los picos característicos de cada sustancia, para lo cual se compara el espectro a analizar con los de los ingredientes de la mezcla. En este caso los espectros con los cuales se hace la comparación son el del ácido acetilsalicílico y el del ácido cítrico. En dichos espectros se pueden ver los picos característicos de cada uno de ellos que

también están presentes en la mezcla; estos son los que se encuentran en 1607 cm^{-1} y 941 cm^{-1} correspondientes al ácido acetilsalicílico y al ácido cítrico respectivamente. Además de estos picos se señala también el que se encuentra en 783 cm^{-1} que está presente tanto en los componentes como en la mezcla.

Después de hacer una corrección de la línea base en el espectro de la mezcla se obtiene la intensidad de cada uno de los picos involucrados en la construcción de la curva de calibración, y se calculan los cocientes indicados a continuación:

I^{941}	I^{783}	I^{1607}	I^{941} / I^{1607}	I^{783} / I^{1607}
954	1932	947	1.007	2.040

El cociente I^{941} / I^{1607} y la ecuación (3.4), se usan para calcular la concentración en peso de ácido acetilsalicílico en la mezcla. Es decir,

$$1.007 = 0.41 \frac{1}{C_{AAS}} - 0.45$$

y se obtiene que $C_{AAS} = 0.2808 \pm 0.0252$.

El otro cociente I^{783} / I^{1607} se usa para obtener la concentración en peso del ácido acetilsalicílico en la misma muestra, pero ahora utilizando un pico que se encuentra en los dos ingredientes; para hacerlo se toma en cuenta la ecuación (3.7). De esta manera tenemos que

$$2.04 = 0.64 \frac{1}{C_{AAS}} - 0.13,$$

y de ahí que $C_{AAS} = 0.2949 \pm 0.0261$.

Las incertidumbres asociadas a cada una de las dos concentraciones se calcularon tomando en cuenta la propagación de las incertidumbres asociadas a cada valor involucrado en el cálculo.

La mezcla que se usó fue preparada por uno de los miembros del laboratorio sin que me fueran reveladas las proporciones empleadas. Después supe que tales proporciones fueron de 30% de ácido acetilsalicílico y 70% de ácido cítrico en peso. Con los cálculos hechos, es decir la determinación de la proporción en peso de AAS presente en la mezcla, es claro que se pueden usar picos independientes o bien un pico que se encuentre en los dos ingredientes.

El método que presento se desarrolló a lo largo del año 2003. En fecha reciente se publicó un artículo en el cual se usa un método muy parecido al que aquí se presenta para la caracterización de nanotubos de carbono de una sola pared mezclados con nanotubos multipared [25].

El método presentado podría ser aplicado en el control de calidad de productos farmacéuticos que contengan dos ingredientes activos, o bien un fármaco que presente polimorfismo. De hecho podría pensarse en implementarlo en la línea de producción de una planta farmacéutica.

Este método puede usarse también, en la caracterización de materiales en los que se presenten, como ya se mencionó antes, dos formas cristalinas. Tal es el caso del azufre, que para ciertas aplicaciones se requiere que esté polimerizado, pero generalmente cuando se polimeriza se obtiene una mezcla de azufre polimerizado y azufre rómbico. Las posibles aplicaciones que se pueden encontrar a este método son muy variadas y además son muy prometedoras.

3.4 Mezclas de tres componentes

Ahora veamos qué ocurre cuando se tiene una mezcla de tres elementos. Además de los dos ingredientes antes usados se agregó un tercero, el bicarbonato de sodio (J. T. Baker México) en las proporciones en peso mostradas en la tabla 3.5. Como se ve en la Tabla, la proporción del tercer elemento se mantuvo constante para saber si las relaciones lineales obtenidas para mezclas de dos componentes se conservaban aún con la presencia de un tercer elemento. Si ocurriera que dichas relaciones se conservaran sería de gran utilidad ya que, al menos se podrían saber las proporciones relativas de dos de los tres ingredientes de la mezcla.

La preparación de las muestras se hizo de manera análoga a las de dos componentes. Los espectros se muestran en las figuras 3.7 y 3.8.

Muestra	% en peso de AC	% en peso de AAS	% en peso de BS
M10	0	0	100
M11	50	0	50
M12	42.5	7.5	50
M13	35	15	50
M14	30	20	50
M15	25	25	50
M16	20	30	50
M17	15	35	50
M18	7.5	42.5	50
M19	0	50	50

Tabla 3.5. Proporciones en peso de las muestras de tres componentes.

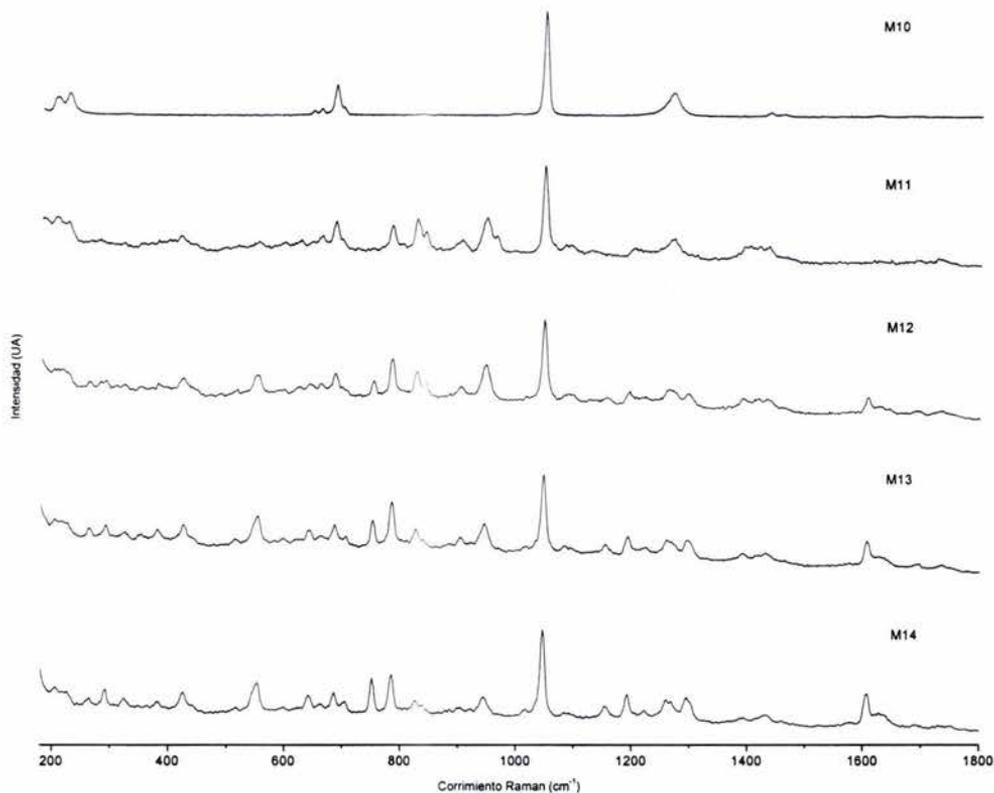


Figura 3.7. Espectros de las cinco primeras muestras de la tabla 3.5.

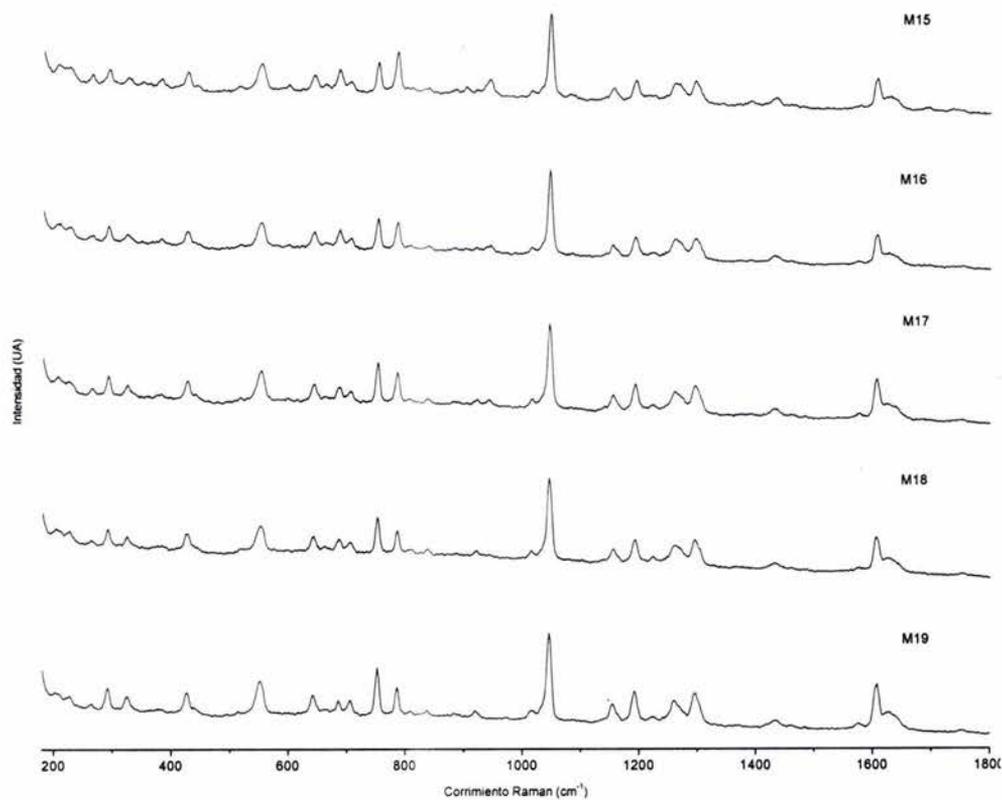


Figura 3.8. Espectros de las últimas cinco muestras de la tabla 3.5.

En la tabla 3.6 se muestran las intensidades de los picos en 941 cm^{-1} y en 1607 cm^{-1} , así como sus cocientes, de las mezclas de tres componentes preparadas en las proporciones indicadas en la tabla 3.5. Antes de obtener dichas intensidades se hizo una corrección de la línea base de manera análoga a las muestras de dos ingredientes.

En la figura 3.9 se muestra la gráfica de $I_{AC}^{941}/I_{AAS}^{1607}$ vs $1/C_{AAS}$ cuando se tiene también bicarbonato de sodio. Se intenta averiguar si se conserva el comportamiento lineal encontrado en (3.4) aún ante la presencia del tercer elemento.

	I_{AC}^{941}	I_{AAS}^{1607}	$I_{AC}^{941}/I_{AAS}^{1607}$
M11	464	-	-
M12	709	325	2.18154
M13	802	793	1.01135
M14	511	927	0.55124
M15	431	799	0.53942
M16	212	947	0.22386
M17	185	1289	0.14352
M18	72	1136	0.06338
M19	0	1470	0.00000

Tabla 3.6. Intensidades de los picos en 941 cm^{-1} y 1607 cm^{-1} de las muestras con bicarbonato de sodio en las proporciones mostradas en la tabla 3.5.

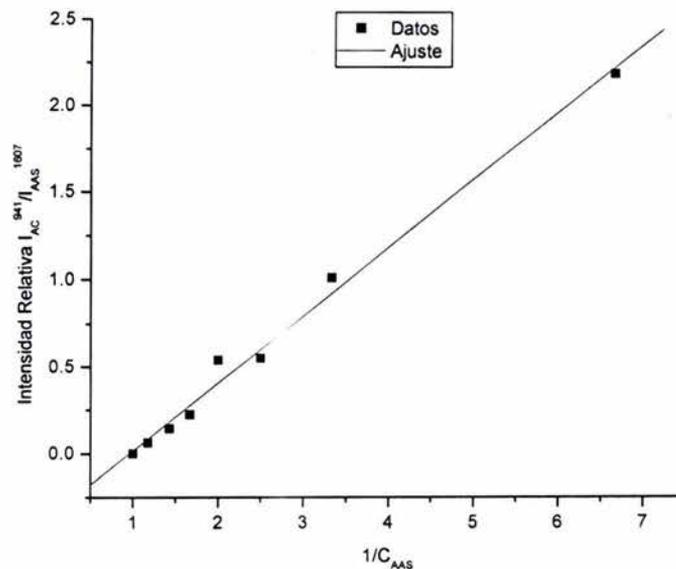


Figura 3.9. Ajuste de los datos mostrados en la tabla 3.6.

Ajustando los datos a una línea recta se obtiene la siguiente relación:

$$\frac{I_{AC}^{941}}{I_{AAS}^{1607}} = 0.39 \frac{1}{C_{AAS}} - 0.37. \quad (3.9)$$

El coeficiente de correlación fue de 0.995, la incertidumbre de la pendiente de 0.02 y la incertidumbre de la ordenada al origen de 0.05.

Finalmente en la tabla 3.7 se presentan las intensidades de los picos en 783 cm^{-1} y 1607 cm^{-1} así como sus cocientes de las mismas mezclas de tres elementos ya mostradas anteriormente. En la figura 3.10 se muestra la gráfica de $I_{AAS+AC}^{783} / I_{AAS}^{1607}$ vs $1/C_{AAS}$.

	I_{AAS+AC}^{783}	I_{AAS}^{1607}	$I_{AAS+AC}^{783} / I_{AAS}^{1607}$
M12	761	325	2.342
M13	1390	793	1.753
M14	1086	927	1.172
M15	1067	799	1.335
M16	861	947	0.909
M17	1001	1289	0.777
M18	764	1136	0.673
M19	902	1470	0.614

Tabla 3.7. Intensidades de los picos en 783 cm^{-1} (común en AC y AAS) y 1607 cm^{-1} en las mezclas de tres componentes. El cociente de estas intensidades se usa en la gráfica mostrada en la figura 3.9.

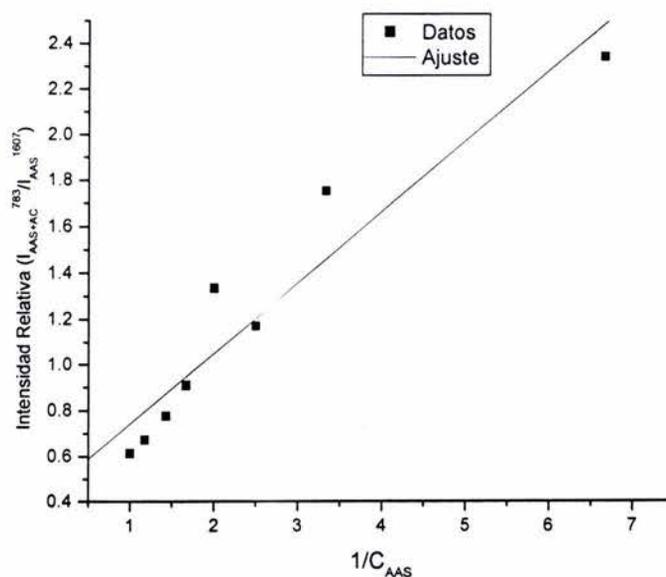


Figura 3.10. Gráfica de $I_{AAS+AC}^{783} / I_{AAS}^{1607}$ vs $1/C_{AAS}$.

Haciendo el ajuste obtenemos la siguiente relación

$$\frac{I_{AAS+AC}^{783}}{I_{AAS}^{1607}} = 0.31 \frac{1}{C_{AAS}} + 0.44. \quad (3.10)$$

El coeficiente de correlación fue de 0.953, la incertidumbre de la pendiente de 0.04 y la incertidumbre de la ordenada al origen de 0.12.

Las relaciones (3.9) y (3.10) muestran que el comportamiento lineal obtenido en las muestras de dos componentes se conserva en las de tres. Sin embargo, los valores de la pendiente y de la ordenada al origen de la relación (3.10) no son los mismos que los que se obtuvieron en la ecuación (3.7). Esto podría deberse a la presencia del tercer elemento que es quien modifica los espectros involucrados en la obtención de tales relaciones. A pesar de esto, usaremos las dos relaciones obtenidas, es decir (3.9) y (3.10) para obtener la proporción de ácido acetilsalicílico con respecto a la de ácido cítrico en una mezcla de tres ingredientes.

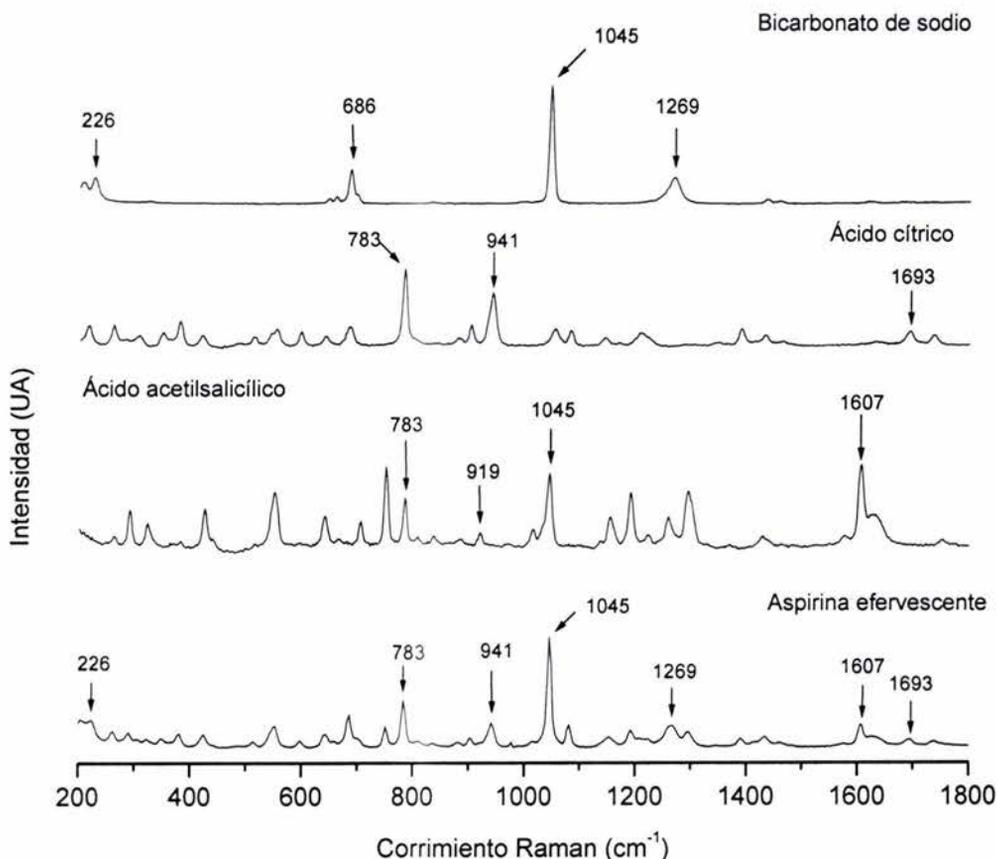


Figura 3.11. Espectro de la aspirina efervescente comparada con los del ácido acetilsalicílico, ácido cítrico y bicarbonato de sodio. Con flechas y números se señalan los picos característicos de cada espectro.

En la figura 3.11 se muestra el espectro de la aspirina efervescente de la marca alemana Bayer, así como también los del bicarbonato de sodio, ácido cítrico y ácido acetilsalicílico con sus respectivos picos característicos. Aunque el fabricante no menciona que dicho medicamento contiene bicarbonato de sodio y ácido cítrico, la presencia de ambos componentes en su espectro es evidente.

Después de hacer la corrección de la línea base, se obtuvieron las siguientes intensidades:

I^{941}	I^{783}	I^{1607}	I^{941} / I^{1607}	I^{783} / I^{1607}
3032	5897	2837	1.07	2.08

El cociente I^{941} / I^{1607} y la ecuación (3.9), se usan para calcular la concentración en peso de ácido acetilsalicílico en la mezcla, tomando en cuenta solo dos componentes. Es decir,

$$1.07 = 0.39 \frac{1}{C_{AAS}} - 0.37$$

y se obtiene que $C_{AAS} = 0.2708 \pm 0.0233$.

El otro cociente I^{783} / I^{1607} se usa para obtener la concentración en peso del ácido acetilsalicílico en la misma muestra, pero ahora utilizando un pico que se encuentra en los dos ingredientes; para hacerlo se toma en cuenta la ecuación (3.10). De esta manera tenemos que

$$2.08 = 0.31 \frac{1}{C_{AAS}} + 0.44,$$

y de ahí que $C_{AAS} = 0.1890 \pm 0.0382$.

Las incertidumbres asociadas a cada una de las dos concentraciones se calcularon tomando en cuenta la propagación de las incertidumbres asociadas a cada valor involucrado en el cálculo.

Ahora calculemos el valor de la proporción del ácido acetilsalicílico usando la ecuación (3.4) y el valor de I^{941} / I^{1607} .

$$1.07 = 0.41 \frac{1}{C_{AAS}} - 0.45,$$

y entonces $C_{AAS} = 0.2699 \pm 0.0238$.

Finalmente, calculemos C_{AAS} con la ecuación (3.7) y el cociente I^{783} / I^{1607} .

$$2.08 = 0.64 \frac{1}{C_{AAS}} - 0.13,$$

o bien, $C_{AAS} = 0.2894 \pm 0.0253$.

Los cálculos hechos anteriormente muestran, de manera clara, que se puede tener una muy buena aproximación al calcular la proporción relativa de dos ingredientes en una mezcla de tres, usando la curva de calibración construida para mezclas de dos ingredientes, siempre y cuando se tomen en cuenta picos independientes.

Para hacer la determinación de las proporciones en una mezcla de tres ingredientes se deberá hacer una gran serie de curvas de calibración en donde se deben variar las proporciones de los tres ingredientes de manera "discreta", es decir construir diferentes curvas con valores fijos en cada una de ellas de la proporción del tercer elemento.

Conclusiones

Aunque la espectroscopía Raman es una poderosa herramienta que, como la espectroscopía infrarroja, es muy útil en la identificación de componentes en una mezcla, por mucho tiempo su utilización estuvo limitada debido a que las fuentes para producir la excitación no eran adecuadas. Con el advenimiento de los láseres se contó, finalmente, con fuentes luminosas de alta potencia local que permitieron realizar esta espectroscopía de manera rutinaria. Si el propósito tan sólo es determinar la presencia de ciertas sustancias y tener una idea cualitativa de la proporción en la que interviene, esta espectroscopía es tal vez la más expedita, como se puede apreciar en los espectros de las figuras 3.6, 3.7 y 3.8.

Sin embargo, debido a que las intensidades de las bandas dependen de muchos factores, la determinación cuantitativa de tales proporciones se vuelve muy complicada. En efecto, la intensidad de los picos depende, entre otras cosas, de la homogeneidad de la muestra, el tamaño de la partícula o molécula iluminada, la posición de observación respecto al haz incidente, la frecuencia de la luz incidente y dispersada, la intensidad del láser, el coeficiente de absorción de los materiales involucrados y la respuesta del sistema de detección.

A pesar de esto, en este trabajo demostramos que, elaborando curvas de calibración adecuadas, también se puede hacer una determinación cuantitativa en mezclas con dos ingredientes, lo cual resulta de gran utilidad en la industria farmacéutica. Con este método se podrían comparar los medicamentos llamados "similares" con los de patente.

El problema de la determinación cuantitativa de las concentraciones en mezclas de tres o más componentes resulta una empresa demasiado ardua para los propósitos de este trabajo, pues requeriría la elaboración de un gran conjunto de curvas de calibración que contemplaran prácticamente todas las combinaciones posibles.

Sin embargo la metodología desarrollada en este trabajo para el caso de dos componentes sería igualmente aplicable a los casos de multicomponentes.

Cabe resaltar que para hacer la cuantificación correspondiente en el caso de dos componentes, la comparación de las intensidades puede hacerse con picos comunes a ambas, o bien con picos característicos de cada una de ellas. Hasta donde sabemos esta es la primera vez que este tipo de cuantificación se hace utilizando las proporciones en peso (y no las molares) y picos comunes a ambos ingredientes.

Referencias

1. Raman C. V., Krishnan K. S., Nature **501** (1928) 3048.
2. Nakamoto K. Infrared and Raman Spectra of Inorganic and coordination compounds. Third edition. John Wiley and Sons. 1978.
3. Ferraro J. R., Nakamoto K. Introductory Raman Spectroscopy. Academic Press. 1994.
4. Barriol J., Rivail Jean-Louis. Spectroscopies de la Molecule. Presses Universitaires de France. 1970.
5. Butler L. R. P., Laqua K. Pure Appl. Chem. **67** 1725 (1995).
6. Griffiths P. R., de Haseth J. A. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. John Wiley & Sons, New York. 1986.
7. Reitz A. W. Z Physik Chem B **46** 181 (1940).
8. Hirschfeld T., Chase B. Appl. Spectrosc. **40** 133 (1986).
9. Pelletier M. J., Reeder R. C. Appl. Spectrosc. **45** 765 (1991).
10. Schulte A., Lenk T. J., Hallmark V. M., Rabolt J. F. Appl. Spectrosc. **45** 325 (1991).
11. Gobrecht H., Seek S. Klose T. CR Acad. Sci. Paris **261** 373 (1965).
12. Leonard J. Katagiri G., Gustafson T. L. Appl. Spectrosc. **48** 489 (1994).
13. Wang Y., McCreery R. Anal. Chem. **62** 2647 (1989).
14. Williamson J. M., Bowling R. J., McCreery R. L. Appl. Spectrosc. **43** 372 (1989).
15. Allred C. D., McCreery R. L. Appl. Spectrosc. **44** 1229 (1990).
16. Hirschfeld T. Appl. Spectrosc. **31** 289 (1997).
17. Chase D. B., Parkinson B. A. Appl. Spectrosc. **42** 1186 (1988).
18. Lewis N., Kalasinsky V. F., Levin I. W. Anal. Chem. **60** 2658 (1988).
19. Schrader B., Hoffman A., Simon A. Sawatzki J. Vibr. Spectrosc. **1** 239 (1991).
20. Schrader B., Hoffman A., Keller S. Spectrochim. Acta A **47A** 1135 (1991).
21. Wang C., Vickers T. J., Mann C. K. J. Pharm. Biomed. Anal. **16** 87 (1997).

22. Findlay W. P., Bugay D. E. J. Pharm. Biomed. Anal. **16** 921 (1998).
23. Hendra P. J., Internet J. Vib. Spect. 3 1 section 5 (1991).
24. Pérez Mazariego J. L. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. (2000).
25. Qian W, Liu T, Wei F, Yuan H. Carbon **41** 1851 (2003).