

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ

ESCUELA DE POSGRADO



Desarrollo y optimización de un equipo de espectroscopía Raman convencional para el análisis cualitativo de muestras sólidas (polvo) y líquidas.

TESIS

Para optar el grado de Magíster en Física Aplicada, presentado por

Aransselly Jesus Quiroz Chang

Asesor:

Mg. Eder Rubén Sánchez Alcántara

Jurado:

Mg. Franco Alejandro Gonzáles Niño

Mg. Jorge Andrés Guerra Torres

Lima – Perú

2016

A mis padres, Edy y Carlos,

*a mi abuelita Jesús y a mis hermanos
Carlos, Victorino y Vicente*



Agradecimientos

El éxito de este trabajo no hubiera sido posible sin la colaboración de mis maestros fundamentalmente del programa de maestría en Física Aplicada, así como de los programas de Química y Ciencias de los Materiales de la PUCP y el Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico de la UNAM.

Quiero decir: ¡Gracias! a mis maestros: Rubén Sánchez y Guillermo Baldwin por todo el apoyo brindado desde el inicio del programa de maestría en Física Aplicada, a la Dra. Maribel Guzmán y Mg. Jhonatan Nué por sus enseñanzas y por la acogida brindada en las instalaciones de la facultad de Ingeniería de Minas, al Dr. Roberto Sato y Dr. José Saninger por la confianza y el apoyo permanente durante mi estancia en las instalaciones del CCADET-UNAM y al Sr. Francisco Huamán por su pronta disposición para atender los requerimientos que este trabajo demandaba.

A la Escuela de Posgrado de la Pontificia Universidad Católica del Perú por haberme otorgado el Fondo Concursable Marco Polo que me permitió desarrollar una estancia de investigación en la ciudad de México durante el periodo del 08 de agosto al 03 de octubre de 2015.

Gracias a mi familia, a cada uno de mis compañeros y amigos que me alentaron y creyeron en mí para culminar con éxito este proyecto.

Resumen

En este proyecto se ha desarrollado un equipo de espectroscopía Raman, implementado completamente en el Laboratorio de Óptica de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Aunque sus características de operación aún no son comparables con los equipos comerciales de alta precisión, considero que se han obtenido resultados importantes.

Se ha detectado la señal Raman de muestras de referencia en los estados sólido (polvo) y líquido; este es el resultado de un minucioso trabajo en la etapa de optimización del equipo, para la cual se ha establecido un protocolo de acciones que facilitará la réplica de equipos de espectroscopia Raman cuyo rango espectral de trabajo depende de la densidad de la rejilla de difracción y la frecuencia del láser empleado.

El equipo de espectroscopía Raman implementado en este proyecto opera en el visible y emplea como fuente de excitación un láser doblado de estado sólido de Nd: YVO₄ que emite en 532 nm con una potencia de 25 mw. Como sistema de detección y procesamiento de la señal Raman se empleó el espectrómetro Ocean Optics USB 4000-UV-VIS-ES y su software Spectra Suite. El equipo Raman tiene una resolución óptica (FWHM) de 1.41 nm (38 cm⁻¹) y un rango espectral de 220 a 4000 cm⁻¹.

La validación del equipo Raman se desarrolló por contrastación de resultados, comparando los espectros Raman de muestras de laboratorio con la información disponible en la literatura existente. Se evaluaron las muestras líquidas: alcohol etílico, alcohol metílico, alcohol butanol, alcohol propanol, alcohol 2-propanol y las muestras sólidas: óxido de titanio, óxido de zinc y azufre.

Abstract

In this project has developed an equipment of Raman spectroscopy, and it has been implemented in the Optics Laboratory at the Pontificia Universidad Católica del Perú.

With this equipment implemented, it has been detected Raman signal of reference samples in the solid and liquid states (powder). At the optimization of Raman equipment it has implemented a protocol optical alignment, facilitating its replica of equipment Raman spectroscopy in other laboratories.

The Raman spectroscopy equipment implemented in this project operates in the visible spectral range, and it is used as excitation source, a solid state laser of Nd: YVO₄ that emitting in 532 nm with a power of 25 mW. As detection system and signal processing Raman, it has been used a USB4000-UV-VIS-ES spectrometer and its Spectra Suite software. The Raman equipment has an optical resolution (FWHM) of 1.41 nm (38 cm⁻¹) and a spectral range of 220-4000 cm⁻¹.

The validation of Raman equipment has been established by comparison of the Raman spectra of laboratory samples and information of these spectra in the literature. The reference compounds used for this validation were: ethyl alcohol, methyl alcohol, butanol alcohol, propanol alcohol, 2-propanol and solid samples: titanium oxide, zinc oxide and sulfur liquid samples were evaluated.

Introducción

La iniciativa de investigar en espectroscopía Raman se presenta con la finalidad de desarrollar equipos que permitan detectar contaminantes orgánicos en aguas crudas en tiempo real y que no requiera casi ninguna preparación de la muestra (análisis in situ).

Sin embargo, en el camino se presentaron dificultades asociadas a la instrumentación que modificaron mis expectativas iniciales en ésta investigación.

Así, se ha desarrollado un equipo prototipo de espectroscopía Raman convencional para análisis cualitativo de muestras en polvo y líquidas.

La investigación se ha abordado en cuatro capítulos:

Capítulo 1: Proporciona la base teórica del efecto Raman, tanto desde el punto de vista clásico para describir el comportamiento de la radiación electromagnética, como desde el punto de vista de la mecánica cuántica para explicar los saltos cuánticos que ocurren en la molécula durante las vibraciones moleculares.

Capítulo 2: Se detalla el proceso de alineamiento óptico del equipo Raman. Este proceso se desarrolló en forma sistemática, optimizando el equipo con cada etapa é intentando superar las dificultades propias de la instrumentación disponible en el laboratorio de óptica de la PUCP.

Las etapas desarrolladas en el montaje fueron:

- Estabilidad del equipo
- Iluminación
- Alineamiento óptico en configuración 180°
- Óptica de dirección y alineación del haz láser en el plano horizontal.
- Óptica de dirección y alineación del haz láser en el plano vertical.
- Óptica de focalización y colección a muestras
- Colección Raman a espectrómetro y filtrado de la señal Rayleigh
- Alineación del espectrómetro en el equipo Raman

Capítulo 3: Se desarrolló la calibración en desplazamiento Raman con las muestras de óxido de titanio siguiendo la metodología propuesta en “Introductory Raman Spectroscopy”. Los resultados obtenidos muestran una desviación estándar menor a $\pm 4 \text{ cm}^{-1}$ en cada modo vibracional.

Así mismo, se desarrolló la validación del equipo por comparación de algunas muestras de referencia (alcoholes) con información presentada en la literatura existente. Los resultados obtenidos permiten detectar grupos funcionales incluso en la región denominada huella dactilar.

Capítulo 4: Se definen los logros obtenidos en el desarrollo del equipo Raman convencional así como sus características de operación. Además, se aportan sugerencias para optimizar el equipo con la finalidad de aumentar su resolución y su límite de detección.

Este trabajo también presenta una contribución a la aplicación de la espectroscopía Raman desarrollada en los anexos A, B y C.

En el Anexo A y B, se desarrolla una introducción al estudio de la espectroscopía Raman de superficie aumentada (SERS) así como, algunos resultados de pruebas iniciales en el uso de ésta técnica.

Específicamente se trabajó con superficies nanoestructuradas de plata elaboradas por la reacción de Tollens para identificación de aminoácidos. Este trabajo se desarrolló en las instalaciones del CCADET de la UNAM y fue replicado en el laboratorio de Química Analítica - Ciencias de los Materiales y el Laboratorio de Óptica de la PUCP.

En el Anexo C, se presenta una propuesta de negocio para detección y monitoreo del recurso hídrico en nuestro país, concretamente, la detección de sulfatos, fosfatos, fluoruros y bicarbonatos, cuyos niveles de concentración generan daños a la salud si superan las 300 partes por millón (ppm). El equipo de espectroscopía Raman desarrollado tiene la capacidad de resolver concentraciones del orden de los ppm.

En nuestro país hace falta producir este tipo de tecnología, y esta fue la razón para desarrollar un equipo de espectroscopía Raman, con materiales, equipo e instrumentación disponible en el Laboratorio de Óptica de la PUCP. Así, se dispuso de elementos ópticos, mecánicos, fuentes láser y elementos de detección con los cuales se construyó el Equipo de Espectroscopía Raman Convencional con capacidades de operación para desarrollar análisis cualitativo de muestras en estado sólido y líquido.

La capacidad de operación del equipo Raman se ve limitada para análisis cuantitativos, ya que, el equipo no garantiza la reproducibilidad de los espectros Raman. Para revertir esta condición es necesario disponer de soportes que le den estabilidad al equipo, desplazadores portamuestras con ajuste micrométrico, fuentes de emisión láseres estables y elementos difractivos de mayor densidad.

Sin embargo, aun con todas estas limitantes, considero que este equipo es una gran herramienta de entrenamiento para una siguiente etapa: la construcción de un equipo de microscopía Raman comercial y la elaboración de películas de nanopartículas de plata que permitirán trabajar con límites de detección de hasta partes por billón.

Tabla de contenidos

Contenido

Agradecimientos	3
Resumen.....	4
Abstract.....	5
Introducción	6
Tabla de contenidos	9
Capítulo 1. Espectroscopía Raman	10
1.1 Introducción.....	12
1.2 Dispersión Raman	12
1.3 Desplazamiento Raman	22
1.4 Intensidad Raman	23
1.5 Cuantificación.....	27
Capítulo 2. Montaje y alineamiento óptico del equipo de espectroscopía Raman.....	29
2.1 Estabilidad en la base del equipo Raman	29
2.2 Iluminación.....	30
2.3 Alineamiento óptico en configuración 180°	33
2.4 Óptica de dirección y alineación del haz láser en el plano horizontal.....	34
2.5 Óptica de dirección y alineación del haz láser en el plano vertical.....	37
2.6 Óptica de focalización y colección a muestras	39
2.7 Colección Raman a espectrómetro y filtrado de la señal Rayleigh	43
2.8 Alineación del espectrómetro en el equipo Raman	49
Capítulo 3. Calibración y validación del equipo Raman.....	54
Capítulo 4. Conclusiones y recomendaciones.....	61
4.1 Conclusiones.....	61
4.2 Recomendaciones	62
Bibliografía	64
Anexos.....	67
A. Introducción a la espectroscopia de superficie aumentada (SERS)	68
B. Estudio de aminoácidos mediante las técnicas Raman y SERS desarrollado en CCADET-UNAM.....	77
C. Plan de Negocios.....	83

Tabla de figuras

Figura 1.1: Formación de un enlace químico de la molécula H_2	16
Figura 1.2: Esquema de emisión de fotones Raman de frecuencias \square' , \square'' y \square'''	20
Figura 1.3: Esquema de los niveles de energía para la dispersión Raman. A la izquierda: dispersión Stokes; a la derecha: dispersión Anti-Stokes. (Adaptado de (Sato Berrú, 2003)).....	21
Figura 1.4: Registro espectral de dispersión del azufre en polvo. Se observan los procesos Rayleigh, Raman Stokes y Raman anti-Stokes. (Registrado con el equipo Raman desarrollado en el laboratorio de óptica-PUCP).....	22
Figura 1.5: Espectro Raman en el que se observan las bandas Stokes y anti – Stokes del azufre. (Registrado con el equipo Raman desarrollado en el laboratorio de óptica - PUCP).....	23
Figura 2.1: (a) Tablero óptico (Tomado de http://search.newport.com/), (b) Soporte para poste: CF175 - M6, (c) Poste con pedestal: PH4E - $\varnothing 1/2''$, L=4.19'', (d) Vástago ó poste óptico: TR6 - $\varnothing 1/2''$, L=6'' (Thorlabs).....	30
Figura 2.2: Potencia promedio del haz láser evaluado durante tres horas continuas de operación por tres días.	30
Figura 2.3: Variación de la potencia del láser con la temperatura del medio.....	32
Figura 2.4: Espectro de emisión del láser de 532 nm. Se utilizó un espejo plano como superficie reflejante.....	32
Figura 2.5: Esquema de la geometría del equipo Raman en configuración 180°	33
Figura 2.6: Disposición de elementos ópticos para alineación del láser en el plano horizontal.....	34
Figura 2.7: Curvas de reflectancia a 45° AIN (ángulo de incidencia normal) del espejo dicróico. A la izquierda: reflexión a 532 nm. A la derecha: reflexión a 1064 nm. (Thorlabs).....	35
Figura 2.8: (a) Disposición de los espejos dicróicos. P1, P2, P3 y P4 son las perillas 1, 2, 3 y 4. (b) Desplazamientos del haz láser en dos grados de libertad: “z”, “x”. E1 y E2 son los espejos 1 y 2 respectivamente, PH1 es el pinhole 1.	36
Figura 2.9: Dirección y alineación del haz láser en el eje horizontal. Los elementos “PH 1” hasta “PH 5” son los pin hole de 2 mm de diámetro.....	36
Figura 2.10: Disposición de las plataformas portamuestras.	37
Figura 2.11: Esquema de disposición de plataformas portamuestras para observar el retorno del haz láser sobre el eje “z”.	38
Figura 2.12: A la izquierda: dispersión Raman del óxido de titanio en polvo con el objetivo L_1 (f: 8 mm). A la derecha: dispersión Raman del ácido sulfúrico con el objetivo L_2 (f: 9 mm).	39
Figura 2.13: Disposición de los objetivos instalados en el separador de haz. Se observa los espejos planos a la distancia focal de cada objetivo.	41
Figura 2.14: Disposición de las lentes objetivo a ambas salidas del separador de haz y una vista del spot generado (el spot es un indicador de la optimización en la alineación del equipo).....	42

Figura 2.15: Acoplamiento del láser de 633 nm y verificación de superposición de los spots de los 2 láseres sobre los espejos.....	43
Figura 2.16: Esquema de acoplamiento overfilled del sistema lente - espectrómetro del equipo Raman.	44
Figura 2.17: Esquema de la lente objetivo cuyos parámetros han sido determinadas experimentalmente. β es la apertura numérica de la lente, D es el diámetro de la lente, f_1 y f_2 son las longitudes focales en cada extremo de la lente objetivo (se determinaron experimentalmente usando una fuente láser de $\lambda = 633 \text{ nm}$).	44
Figura 2.18: A la izquierda se muestra el objetivo acoplado al espectrómetro. A la derecha, vista desde arriba de una sección del objetivo.	45
Figura 2.19: Disposición del filtro notch en el equipo.	46
Figura 2.20: Curva de transmisión y densidad óptica del filtro notch: NF533-17 (Thorlabs).....	47
Figura 2.21: Espectrómetro soportado en monturas mecánicas y cinemáticas en el equipo Raman.	47
Figura 2.22: Esquema de componentes del espectrómetro USB-4000-UV-VIS (OceanOptics).	48
Figura 2.23: Equipo Raman instalado en el laboratorio de física de la Pontificia Universidad Católica del Perú.	49
Figura 2.24: Espectro de la radiación Rayleigh en 532nm, reflejada por el espejo plano.	51
Figura 2.25: Espectro de la radiación Raman del óxido de titanio, registrado con tiempo de integración de 50 ms.	51
Figura 2.26: Espectro de la radiación Raman del azufre, registrado con tiempo de integración de 100 ms. Se observan las bandas Stokes y anti-Stokes.	52
Figura 2.27: Espectro de la radiación Raman del óxido de zinc, registrado con tiempos de integración de 100 ms y 500 ms. Las bandas Raman se observan con elevados tiempos de integración: 500 ms.	52
Figura 2.28: Espectro de la radiación Raman del agua desionizada, registrado con tiempos de integración de 100 ms y 500 ms. Las bandas Raman se observan con elevados tiempos de integración: 500 ms.	53
Figura 3.1: Espectro Raman de Oxido de Titanio colectado con tiempo de integración de 50 ms.	55
Figura 3.2: Espectro Raman del alcohol etílico para tiempos de integración de 1s y 100 ms.	58
Figura 3.3: Espectro Raman del alcohol metílico para tiempos de integración de 1s y 100 ms.	58
Figura 3.4: Espectro Raman del alcohol 1-butanol para tiempos de integración de 1s y 100 ms.	59
Figura 3.5: Espectro Raman del alcohol 1-propanol para tiempos de integración de 1s y 100 ms.	59
Figura 3.6: Espectro Raman del alcohol 2-propanol para tiempos de integración de 1s y 100 ms.	60

Capítulo 1. Espectroscopía Raman

1.1 Introducción

Como resultado de exponer una sustancia a la radiación electromagnética, sus moléculas¹ pueden absorber, emitir o dispersar energía; cada uno de estos procesos lleva consigo transferencia de energía que resulta de la interacción de la nube de electrones de dicha molécula con la fuente de radiación. Así, mientras en los procesos de absorción y emisión están asociados saltos cuánticos entre niveles electrónicos, vibracionales ó rotacionales cuyos tiempos de vida son de: 10^{-8} s, 10^{-15} s y 10^{-11} s respectivamente (Skoog, Holler, & Crouch, 2008); en el proceso de dispersión no existen tales saltos, lo que ocurre es que la molécula se polariza (polarización inducida) y alcanza temporalmente (10^{-14} s) un nivel de energía superior denominado estado virtual, cuya energía es menor al primer estado electrónico (Skoog, Holler, & Crouch, 2008), (Smith & Dent, 2005).

Los procesos de dispersión que son de interés en este trabajo ocurren con partículas mucho más pequeñas que la longitud de onda de la fuente de excitación: $d < 0.05 \lambda$ (Skoog, Holler, & Crouch, 2008), bajo estas características se denominan dispersión Rayleigh y dispersión Raman.

1.2 Dispersión Raman

Los espectros moleculares debidos al fenómeno de dispersión ocurren en la región entre el infrarrojo y el ultravioleta. Hacia 1914, se descubrió la dispersión Rayleigh que hace uso de la naturaleza ondulatoria de la luz y por lo tanto, de las ecuaciones de Maxwell para explicar su comportamiento. Esta radiación es de la misma frecuencia que la radiación incidente, su potencia es proporcional al inverso de λ^4 (Lewin, 2012). Posteriormente desde 1922, Raman desarrolla estudios para explicar no solo el color azul del cielo ya desarrollado por

¹ “Una molécula es un agregado de, por lo menos, dos átomos en una colocación definida que se mantienen unidos a través de fuerzas químicas (también llamados enlaces químicos). Las moléculas son eléctricamente neutras (Chang, 2007).”

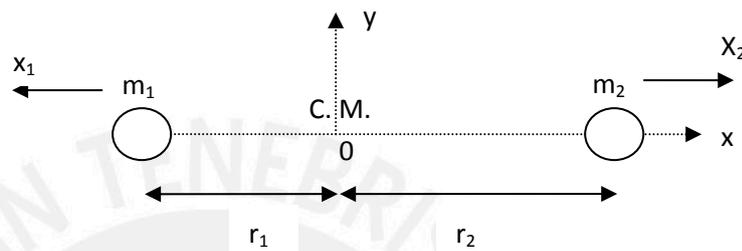
Rayleigh, sino otros fenómenos naturales como el color del mar o el color del hielo en los glaciares. Su investigación da un salto intentando además explicar la estructura molecular de la materia en sus estados sólido, líquido y gaseoso. En su búsqueda, Raman detectó la presencia de otro tipo de radiación desplazada en frecuencia (respecto de la fuente) que aparece como resultado de la interacción de una luz monocromática (empleó luz solar con un filtro en el verde) con muestras de agua, éter, alcoholes, etc. Los resultados de su investigación se publicaron en 1928 en el *Indian Journal of Physics* con el título: “The Raman effect . Investigation of molecular structure by light scattering (Raman, 1929)”.

La propagación de esta nueva forma de radiación denominada dispersión Raman se explica con la teoría clásica maxweliana² que trata la luz como onda, pero así tratada, no explica cómo se relaciona dicha radiación con las propiedades moleculares de la materia y además, tampoco proporciona información acerca de la naturaleza cuantizada de las vibraciones, esto requiere ser abordado con la teoría cuántica (Smith & Dent, 2005), (Raman, 1929).

De acuerdo a la mecánica clásica, tanto la dispersión Rayleigh como la dispersión Raman se originan a consecuencia de la polarizabilidad de la nube de electrones (electrones de valencia) al someterse a un campo eléctrico externo (generado por la luz solar ó la luz láser), como resultado se suceden dos eventos: 1) los electrones vibran a la misma frecuencia de la radiación electromagnética externa (se producen estiramientos y flexiones en los enlaces sin desplazamiento del núcleo) y regresan a su estado inicial o basal emitiendo energía con la misma frecuencia de la radiación incidente y 2) los electrones vibran a distintas frecuencias de la radiación electromagnética externa (los estiramientos y flexiones en los enlaces ocurren con desplazamientos del núcleo) y regresan a su estado inicial o basal emitiendo energía con mayor o menor frecuencia respecto de la radiación incidente (Smith & Dent, 2005), (Raman, 1929).

² “La doble naturaleza de la luz se pone de manifiesto por el hecho de que se propaga en el espacio como lo hace una onda, demostrando, sin embargo, un comportamiento de partícula durante los procesos de emisión y absorción. La energía radiante electromagnética es creada y destruida en cuantos ó fotones y no continuamente como una onda clásica. No obstante, su movimiento a través de una lente, un agujero o un conjunto de rendijas, está supeditado a sus características ondulatorias (Hecht, 2000).”

El caso de una molécula diatómica es el más simple para comprender las variables que intervienen en la dispersión Raman. Este modelo desarrollado en (Ferraro, Nakamoto, & Brown, 2003) es abordado aquí para establecer el desplazamiento “ q ” de los átomos respecto de su posición de equilibrio y considera la vibración de una molécula diatómica cuyos átomos son conectados por un enlace químico:



m_1 y m_2 son las masas de los átomos 1 y 2 respectivamente, r_1 y r_2 son las distancias del centro de masa (C.M.) a las masas m_1 y m_2 respectivamente y x_1 y x_2 son los desplazamientos de los átomos 1 y 2 desde sus posiciones de equilibrio. Luego, la conservación del centro de masas requiere las relaciones:

$$m_1 r_1 = m_2 r_2, \quad (1)$$

$$m_1 (r_1 + x_1) = m_2 (r_2 + x_2) \quad (2)$$

Combinando estas ecuaciones, tenemos:

$$m_2 r_2 + m_1 r_1 = m_2 r_2 + m_2 r_2,$$

$$x_1 = \frac{m_2}{m_1} x_2 \quad \text{ó} \quad x_2 = \frac{m_1}{m_2} x_1 \quad (3)$$

Además, la fuerza del enlace químico puede modelarse de acuerdo a la ley de Hooke, donde la fuerza restauradora f es expresada como:

$$f = -K(x_1 + x_2) \quad (4)$$

De (3) y (4) obtenemos:

$$f = -K \left(\frac{m_2}{m_1} x_2 + x_2 \right) = -K \left(\frac{m_2 x_2 + m_1 x_2}{m_1} \right),$$

$$f = -K \left(\frac{m_2 + m_1}{m_1} \right) x_2 \quad \text{ó} \quad f = -K \left(\frac{m_1 + m_2}{m_2} \right) x_1, \quad (5)$$

La ecuación de movimiento de Newton $f = m \frac{d^2x}{dt^2}$ para cada átomo se expresa como:

Para el átomo 1:

$$m_1 \frac{d^2 x_1}{dt^2} = -K \left(\frac{m_1 + m_2}{m_2} \right) x_1 \quad \text{ó} \quad \left(\frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \right) \frac{d^2 x_1}{dt^2} = -K x_1 \quad (6)$$

Para el átomo 2:

$$m_2 \frac{d^2 x_2}{dt^2} = -K \left(\frac{m_1 + m_2}{m_1} \right) x_2, \quad \text{ó} \quad \left(\frac{m_2 m_1}{m_1 + m_2} \right) \frac{d^2 x_2}{dt^2} = -K x_2 \quad (7)$$

Sumando (6) y (7), tenemos:

$$\frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \left(\frac{d^2 (x_1 + x_2)}{dt^2} \right) = -K (x_1 + x_2) \quad (8)$$

Introduciendo la masa reducida $\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}$ y el desplazamiento $q = x_1 + x_2$, la ecuación (8) se expresa:

$$\frac{d^2 q}{dt^2} + \frac{K}{\mu} q = 0 \quad (9)$$

La solución de esta ecuación diferencial proporciona el desplazamiento de los átomos respecto de sus posiciones de equilibrio:

$$q = q_0 \text{sen}(2\pi \nu_0 t + \varphi) \quad \text{ó} \\ q = q_0 \text{cos}(2\pi \nu_0 t) \quad \text{si } \varphi = 90^\circ \quad (10)$$

Donde: q_0 es el desplazamiento máximo (respecto de la posición de equilibrio, es decir, respecto de la separación internuclear cuando la molécula es estable), φ es la constante de fase y ν_0 es la frecuencia de vibración de la molécula y está dado por $\nu_0 = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{K}{\mu}}$.

En un enlace químico, el desplazamiento obtenido en (10) corresponde al desplazamiento nuclear que se produce como resultado de la vibración a lo largo del enlace que conecta los núcleos.

La figura 1.1 es un esquema que muestra como se aproximan dos átomos entre sí para formar un enlace químico (Chang, 2007).

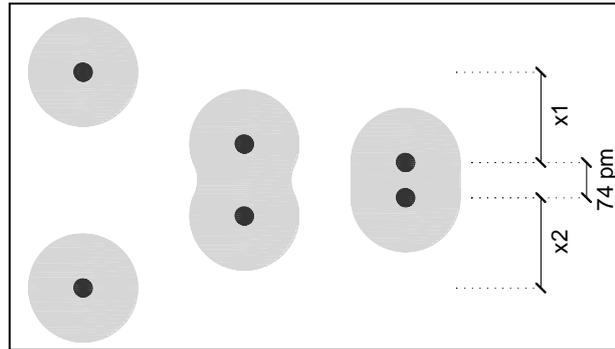


Figura 1.1: Formación de un enlace químico de la molécula H_2 .

En la figura 1.1, a medida que dos átomos de H se acercan uno al otro, comienza la interacción de sus orbitales 1s y cada electrón empieza a sentir atracción por el otro protón. De forma gradual se acumula la densidad electrónica en la región que se localiza entre los dos núcleos. Finalmente la molécula de H_2 , que es estable, se forma cuando la distancia internuclear es de 74 pm (Chang, 2007).

En el caso de moléculas poliatómicas, cada enlace se tratará como un oscilador, cada uno vibrando a una frecuencia ν_0 determinada; cualquiera de estas vibraciones moleculares puede ser expresada como un conjunto de vibraciones normales (modos de vibración: estiramiento, flexión, tensión, etc.) que son completamente independientes unos de otros (Ferraro, Nakamoto, & Brown, 2003).

Hasta aquí hemos encontrado una expresión para el desplazamiento nuclear y la frecuencia de vibración de una molécula, el siguiente paso es expresar matemáticamente cuando estos desplazamientos son del tipo Raman o Rayleigh. Continuando con el modelo desarrollado en (Ferraro, Nakamoto, & Brown, 2003), partiremos de la definición de campo eléctrico E de una onda electromagnética monocromática oscilando en el tiempo:

$$E = E_0 \cos(2\pi \nu_0 t), \quad (11)$$

Donde: E_0 es la amplitud vibracional y ν_0 es la frecuencia de la radiación incidente monocromática.

Si una molécula diatómica es irradiada por esta radiación monocromática, se induce un momento dipolar eléctrico P en la molécula³, que se define por:

$$P = \alpha E = \alpha E_0 \cos(2\pi \nu_0 t), \quad (12)$$

En esta ecuación, α es la constante de proporcionalidad llamada polarizabilidad y determina la magnitud del momento dipolar inducido. La polarizabilidad describe el comportamiento de la nube de electrones en presencia de un campo eléctrico (Hecht, 2000), (Browne & Mc. Garvey, 2007).

Si la molécula está vibrando con una frecuencia ν_m , el desplazamiento q hallado en (10) puede ser escrito por:

$$q = q_0 \sin(2\pi \nu_m t + \varphi) = q_0 \cos(2\pi \nu_m t), \quad \text{con } \varphi = 90^\circ \quad (13)$$

Para una pequeña amplitud de la vibración, la polarizabilidad α es una función lineal de q y puede expresarse así:

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q}\right)_0 q \quad (14)$$

Aquí, α_0 es la polarizabilidad en la posición de equilibrio, y $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial q}\right)_0$ es la razón de cambio de α con respecto al cambio en q , evaluado respecto de la posición de equilibrio.

Combinando (12), (13) y (14), obtenemos:

³ "A las altas intensidades de radiación que se encuentran en los rayos láser (10 – 100MW potencia pico), esta relación deja de funcionar. En estas circunstancias, se observan los efectos ópticos no lineales (se desarrolla espectroscopía de tipo: hyper-Raman, Raman estimulado, Raman inverso, Dispersión Raman anti-Stokes Coherente (CARS) y Raman fotoacústica (PARS)), y la relación entre la polarización y el campo eléctrico es: $P = \alpha E + \frac{1}{2}\beta E^2 + \frac{1}{6}\gamma E^3 + \dots$, donde las magnitudes de las tres constantes están en el orden $\alpha \gg \beta \gg \gamma$. A intensidades de radiación ordinaria, del orden de los mW, W, sólo el primer término de la derecha es significativo, por lo que la relación entre la polarización y la intensidad del campo es lineal (Skoog, Holler, & Crouch, 2008)".

$$P = \alpha E = \left(\alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)_0 q \right) E_0 \cos(2\pi \nu_0 t) ,$$

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

$$P = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi \nu_0 t) + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)_0 (q_0 \cos(2\pi \nu_m t)) E_0 \cos(2\pi \nu_0 t)$$

Aplicando la identidad trigonométrica:

$$\cos x \cos y = [\cos(x + y) + \cos(x - y)]/2$$

Obtenemos:

$$P = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi \nu_0 t) + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)_0 q_0 E_0 \left[\begin{matrix} \cos(2\pi(\nu_0 + \nu_m)t) + \\ \cos(2\pi(\nu_0 - \nu_m)t) \end{matrix} \right] \dots\dots\dots (15)$$

En esta ecuación, el primer término representa un dipolo oscilante que radia luz de frecuencia ν_0 (dispersión Rayleigh), mientras el segundo término 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, la vibración no es activa en Raman (Ferraro, Nakamoto, & Brown, 2003).

Para que los términos de la derivada $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)_0$ no sean cero, al menos uno de los componentes de la polarizabilidad: $\alpha_{xx}, \alpha_{xy}, \dots$ debe de cambiar durante la vibración descrita por “q” (Sato Berrú, 2003).

Pero ¿qué cambios ocurren en la molécula?, básicamente se refiere a cambios en su energía vibracional. Desde el punto de vista de la mecánica clásica la energía está dada por:

$$E = E_{cinética} + E_{potencial} = \left(\frac{1}{2}\mu \left(\frac{dq}{dt}\right)^2\right) + \left(\frac{1}{2}Kq^2\right) = constante,$$

Es decir, que E tiene una dependencia cuadrática con q , lo cual nos indica que la energía de un estado vibracional puede variar continuamente. Sin embargo, a escala atómica, esta relación deja de ser válida y se cumple los principios de la mecánica cuántica.

Según la mecánica cuántica: “Si una molécula interactúa con un campo eléctrico, una transferencia de energía del campo a la molécula puede ocurrir únicamente cuando la condición de Bohr es satisfecha. Esto es:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h\nu = h\frac{c}{\lambda} = hc\bar{\nu} \quad (16)$$

Donde, ΔE es la diferencia de energía entre 2 estados cuantizados, h es la constante de Planck ($6.62 \times 10^{-34} J.s$), c es la velocidad de la luz y $\bar{\nu}$ es el número de onda que es directamente proporcional a la energía de transición (Ferraro, Nakamoto, & Brown, 2003).”

En los fenómenos de dispersión Raman, “lo que ocurre es un cambio de energía en la molécula cuando interacciona con un fotón de la fuente. El aumento de energía es igual a la energía del fotón $h\nu$ de la fuente de excitación (láser), por lo tanto, dependiendo de la frecuencia de la radiación de la fuente, la energía de la molécula puede tomar cualquiera de los infinitos valores (algunos autores lo llaman “estado virtual”) entre el estado fundamental y el primer estado electrónico excitado (Skoog, Holler, & Crouch, 2008).” La desexcitación de la molécula se puede dar a cualquiera de los niveles vibracionales del estado fundamental y va acompañada de la emisión de un fotón cuya energía dependerá del nivel vibracional al que decae la molécula. La figura 1.2 muestra un esquema de este proceso.

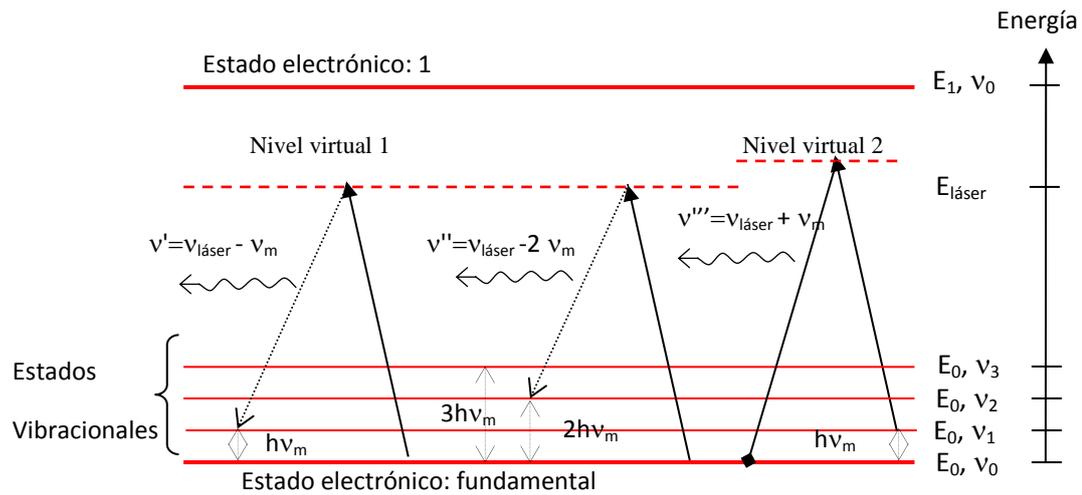


Figura 1.2: Esquema de emisión de fotones Raman de frecuencias ν' , ν'' y ν''' .

La figura 1.2 es una representación gráfica de las diferentes transiciones que ocurren durante la dispersión Raman. Estas transiciones son el resultado de procesos de absorción de fotones de luz que ocurren a cualquiera de los niveles de energía entre el estado electrónico fundamental (E_0) y el primer nivel electrónico (E_1). Estos niveles se encuentran representados por una línea punteada denominado por algunos autores como estados virtuales debido a que su decaimiento ocurre en un tiempo de 10^{-14} s (es un tiempo muy pequeño comparado con los procesos de absorción molecular que ocurren en un tiempo de 10^{-8} s).

En la figura, se representan además dos procesos de dispersión; uno de ellos ocurre cuando la molécula se encuentra en estado base (la población molecular se encuentra mayoritariamente en estado base) y es excitada por un fotón, es decir, la molécula ha absorbido energía (nivel virtual 1) y luego decae a alguno de los niveles vibracionales del estado fundamental ($E_0, \nu_1; E_0, \nu_2; E_0, \nu_3; \dots$) de menor energía respecto del nivel virtual 1. En este proceso se libera un fotón con energía menor a la del fotón incidente ($E'_\nu = E_{láser} - E_\nu$), a este tipo de emisión se le denomina dispersión Raman Stokes.

El otro proceso ocurre cuando la molécula se encuentra en estado excitado (en alguno de los niveles vibracionales: ν_1, ν_2, ν_3 del estado fundamental), semejante

al proceso anterior, la molécula absorbe energía y alcanza un nivel de energía superior (nivel virtual 2), luego decae al nivel vibracional fundamental ν_0 . En este proceso libera un fotón con energía mayor a la del fotón incidente ($E'_\nu = E_{\text{láser}} + E_\nu$); a este tipo de emisión se le denomina dispersión Raman anti-Stokes.

El esquema en la figura 1.3 muestra ambos procesos.

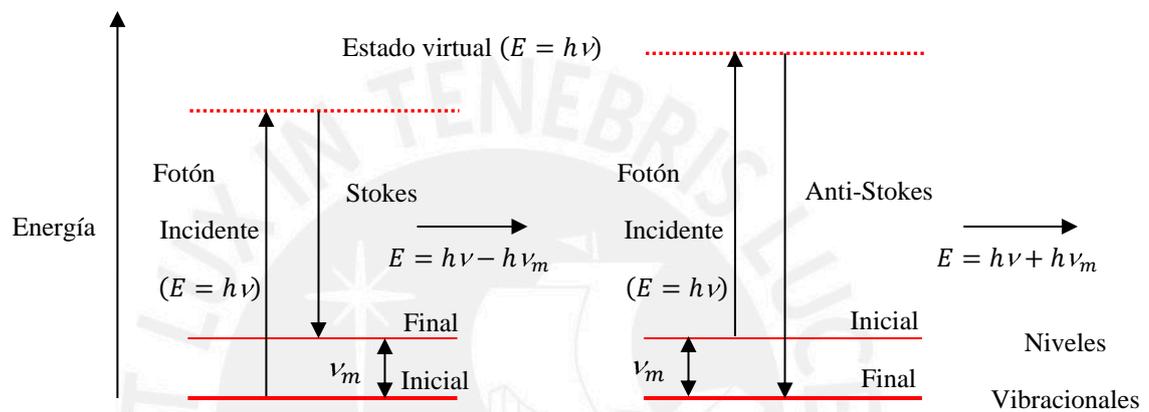


Figura 1.3. Esquema de los niveles de energía para la dispersión Raman. A la izquierda: dispersión Stokes; a la derecha: dispersión Anti-Stokes. (Adaptado de (Sato Berrú, 2003)).

La energía del fotón toma valores discretos dados por $h\nu \pm h\nu_m$, donde ν_m es la frecuencia de alguno de los modos de vibración (estiramiento, flexión, etc.) de la molécula y es distinto para cada modo de vibración de los enlaces de la molécula. Por ejemplo: el enlace C-O en el modo estiramiento simétrico tiene una frecuencia de vibración de 1340 cm^{-1} (Ferraro, Nakamoto, & Brown, 2003). Además, cada molécula puede experimentar una cantidad de vibraciones que en su conjunto definirán a una molécula en particular (por ejemplo, la molécula de agua: H_2O), así, es posible distinguir unas moléculas de otras.

El conjunto de todos los fotones dispersados por la molécula son representados en una gráfica de intensidad versus longitud de onda ($\lambda = c/\nu$), en la que se

distingue la dispersión Rayleigh y la dispersión Raman Stokes y anti-Stokes. La figura 1.4 muestra la firma espectral de la molécula del azufre en polvo.

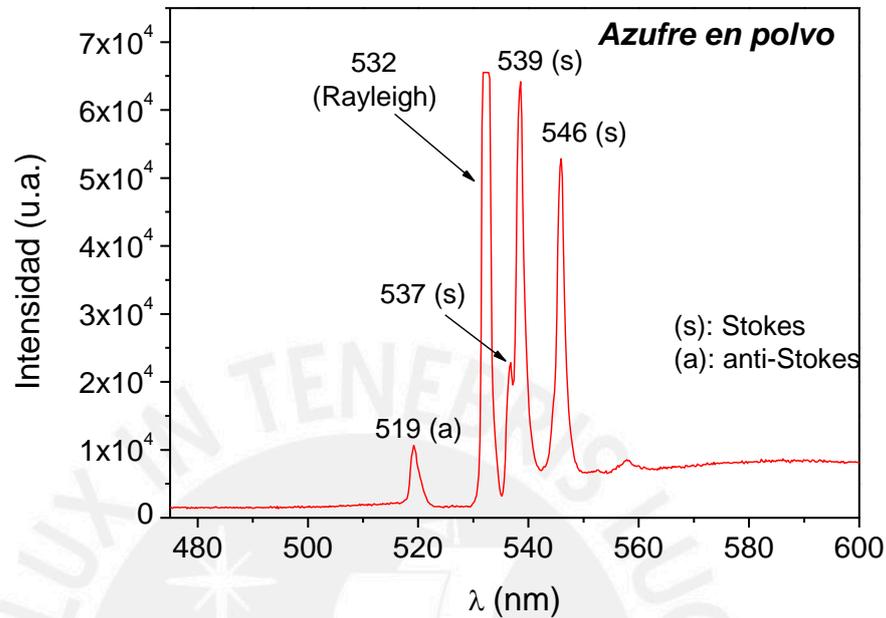


Figura 1.4: Registro espectral de dispersión del azufre en polvo. Se observan los procesos Rayleigh, Raman Stokes y Raman anti-Stokes. (Registrado con el equipo Raman desarrollado en el laboratorio de óptica-PUCP).

Se observa que las bandas Stokes son de mayor intensidad respecto de las anti-Stokes, “de acuerdo con la teoría cuántica, a temperatura ambiente la probabilidad de que las moléculas se encuentren en el estado base (E_0, ν_0) es mucho mayor y sólo una pequeña parte estará en un estado de mayor energía ($E_0, \nu_1; E_0, \nu_2, \dots$), lo cual da lugar a la diferencia de intensidad en las bandas. De hecho, al aumentar la temperatura del material el esparcimiento anti-Stokes aumenta en relación con el esparcimiento Stokes (Rosas Román, 2012).”

1.3 Desplazamiento Raman

Normalmente los espectros Raman son presentados en términos del desplazamiento del número de onda $\Delta\nu$, que se define como la diferencia de las

inversas de las longitudes de onda de excitación y dispersada (Rosas Román, 2012):

$$\Delta \bar{\nu} = \left(\frac{1}{\lambda_{laser}} - \frac{1}{\lambda_m} \right) \times 10^7 \text{ cm}^{-1}$$

Por recomendación de la IUPAC⁴, los espectros Raman se grafican en un sistema cartesiano, en el cual, el desplazamiento del número de onda $\Delta \bar{\nu}$ (en cm^{-1}) se presenta en el eje de las abscisas en unidades de cm^{-1} y la intensidad de la luz en el eje de las ordenadas (IUPAC, 1981), (Rosas Román, 2012). En la Figura 1.5 se observan las bandas Stokes en el lado positivo de las abscisas, las bandas anti-Stokes en el lado negativo de las abscisas y la intensidad Raman en el eje de las ordenadas.

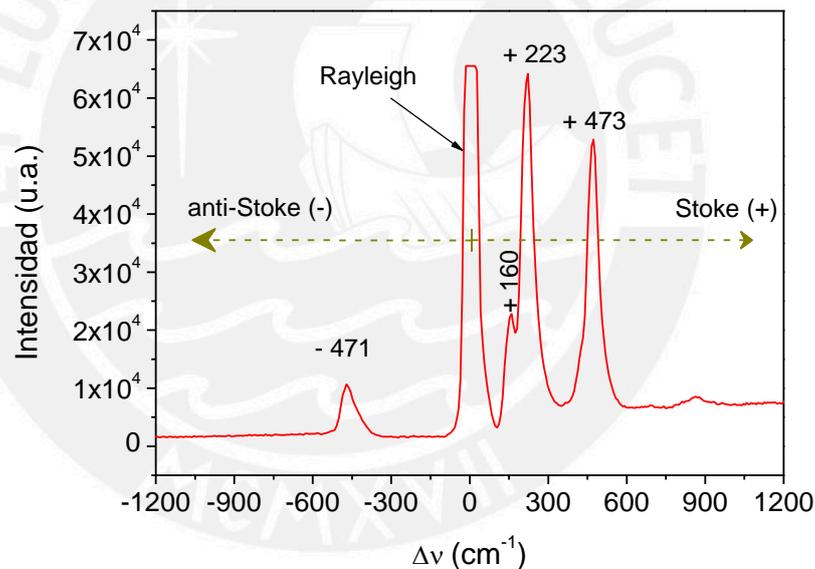


Figura 1.5: Espectro Raman en el que se observan las bandas Stokes y anti – Stokes del azufre. (Registrado con el equipo Raman desarrollado en el laboratorio de óptica -PUCP).

=

1.4 Intensidad Raman

⁴ IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

En la ecuación (15) aparecen tres factores que corresponden a la dispersión Rayleigh, dispersión Raman anti-Stokes y dispersión Raman Stokes.

Según Mc. Creery (2000), la intensidad de la dispersión Raman anti-Stokes depende de la población del primer estado vibracional excitado y está relacionada con la temperatura de acuerdo a la distribución de Boltzman:

$$\frac{I_R(\nu_0 + \nu_j)}{I_R(\nu_0 - \nu_j)} = \frac{(\nu_0 + \nu_j)^4}{(\nu_0 - \nu_j)^4} e^{\left(\frac{-h\nu_j}{kT}\right)}$$

además, la intensidad Raman Stokes y anti-Stokes (I_R) tiene una dependencia cuadrática con la polarizabilidad de la molécula (α_j) y el desplazamiento (q_j) según la siguiente expresión:

$$I_R = \mu(\nu_0 \pm \nu_j)^4 \alpha_j^2 q_j^2$$

con I_R expresada en watts, ν_0 y ν_j expresada en hertz y μ es la constante de proporcionalidad.

Según Mc. Creery (2000), hay otros factores que determinan la cantidad de fotones emitidos con dispersión Raman, los cuales están relacionados con la intensidad específica en la interacción muestra-láser (factor L), las características del detector (factor C) y la medida de tiempo para el valor particular del desplazamiento Raman que está siendo observado (factor t).

Analizando el factor L:

En Mc. Creery (2000), de acuerdo al tratamiento clásico, I_R es proporcional a la sección transversal (σ_j) que genera la dispersión Raman:

$$I_R \propto \sigma_j$$

$$I_R = I_0 \sigma_j D dz \quad (\text{watts}) \quad (17)$$

siendo D , la densidad de la dispersión Raman (en moléculas/cm³), dz es la profundidad de campo del láser en la muestra⁵ y σ_j (en cm²/molécula) varía con ν_j^4 y está relacionada con $\partial\alpha/\partial Q$.

Si el sistema detector es un contador de fotones, como lo son los espectrómetros modernos, entonces, I_R de la ecuación (17) puede expresarse así:

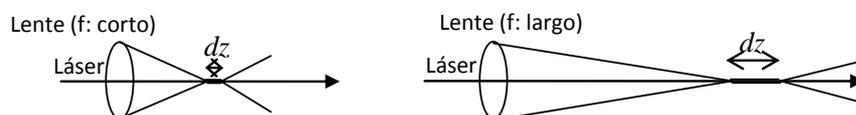
$$P_R = P_0 \sigma'_j D dz \dots\dots\dots (18)$$

Con: $\sigma'_j = \sigma_j^0 \bar{\nu}_0 (\bar{\nu}_0 - \bar{\nu}_j)^3$ y $\sigma_j^0 = \sigma_j / (\bar{\nu}_0 - \bar{\nu}_j)^4$

donde: P_R y P_0 tienen unidades de fotones/s y representan la potencia Raman (en todo el ángulo sólido de 4π estereorradianes) y la potencia del láser respectivamente; σ'_j está expresado en cm⁶/molécula cuando $\bar{\nu}_0$ y $\bar{\nu}_j$ se expresan en cm⁻¹ (Mc. Creery, 2000).

En la práctica, solo un pequeño rango del ángulo sólido es observado en una de las varias direcciones dispersadas de la muestra. Por ello, es más útil definir la sección transversal diferencial Raman: $d\sigma_j/d\Omega$, factor que será denominado β , con Ω que representa el ángulo sólido de colección. Con estas acotaciones, la ecuación (18) puede expresarse así:

⁵ Esquema de la profundidad del láser sobre una muestra para lentes de corta y larga longitud focal (Mc. Creery, 2000).



$$P_R = P_D \beta D k \quad (19)$$

ahora, P_R y P_D tienen unidades de *fotones/cm².sr.s* (P_R es la dispersión Raman en un estereorradián del ángulo sólido de colección y P_D es la densidad de potencia del láser) y k es la profundidad de la muestra observada por el espectrómetro, está dada en cm (es la integral de dz). (Mc. Creery, 2000).

La ecuación (19) también puede expresarse así:

$$L = P_D \beta D k \quad (20)$$

donde: L es la intensidad específica cuando el área total de la dispersión Raman no puede ser observada.

Como puede verse en la ecuación (20), la intensidad específica L depende principalmente de las variables: β y D de la muestra y la variable P_D del láser; es decir, L no depende de los parámetros del espectrómetro (ángulo de colección, eficiencia, otros) (Mc. Creery, 2000).

Analizando el factor C:

Según (Mc. Creery, 2000), C depende de las características de detección y colección y se define como:

$$C = A_D \Omega_D T Q$$

siendo: A_D el área de la muestra monitoreada (usualmente está limitada a la apertura del espectrómetro), Ω_D es el ángulo sólido en estereorradianes colectado por el espectrómetro, T es la fracción de luz monitoreada que alcanza al detector y que se monitorea en la región entre A_D y Ω_D , Q es la eficiencia cuántica del detector y se expresa en (e^- / foton).

La señal Raman total de la muestra de interés, puede expresarse con la relación:

$$S = L.C.t_s \quad \dots \quad (21)$$

siendo: t_s el tiempo en que el valor del desplazamiento Raman de un modo de vibración particular está siendo observado. (Mc. Creery, 2000).

1.5 Cuantificación

Es un proceso a través del cual, es posible determinar la cantidad de sustancias contenidas en una muestra en particular. El proceso requiere establecer una curva de calibración para cada sustancia de interés. Un método muy empleado se basa en la medición de la altura pico de una banda espectral de una sustancia de interés (sustancia patrón) a una concentración determinada, esto sucede porque “en espectroscopía Raman, las intensidades suelen ser directamente proporcionales a la concentración (Skoog, Holler, & Crouch, 2008)”. Según esta información, se espera que la curva de calibración corresponda a una recta del tipo:

$$I_R = m * C + I_0 \quad (22)$$

en la cual, I_R es la intensidad de una banda Raman y C es la concentración de la muestra.

Con esta información se genera una curva de calibración que contiene información de las constantes “b” (punto de corte con el eje I_R), “m” (pendiente) y límite cuantificable de la sustancia, (corresponde al pico de intensidad para el cual la concentración es la más baja. Este factor no puede ser menor del límite de detección del equipo: del orden de los ppm para equipos de espectroscopía Raman).

Los resultados obtenidos a partir de la ecuación (22) permiten obtener una expresión para el cálculo de la concentración en función de la intensidad Raman para una sustancia en particular.

$$C(I_R) = \frac{I_R - b}{m} \quad (ppm)$$

Hay que tener en cuenta que la fiabilidad de esta técnica de cuantificación depende de las condiciones de reproducibilidad del espectro Raman de una sustancia y en este punto, es conveniente disponer de soportes portamuestras estables y que la muestra mantenga la misma homogeneidad con cada registro.



Capítulo 2. Montaje y alineamiento óptico del equipo de espectroscopía Raman

2.1 Estabilidad en la base del equipo Raman

Siendo la señal Raman muy débil, es necesario garantizar que el equipo se encuentre libre de vibraciones mecánicas que puedan generar desviaciones en el recorrido óptico de la luz, que parte desde la fuente láser hasta la colección de la radiación emitida por la muestra en el detector CCD del espectrómetro.

El primer paso consistió en definir una base plana apoyada sobre una mesa sólida. Los puntos de apoyo lo constituyen unos soportes adheridos en la parte inferior del tablero. Estos soportes forman una matriz de 6 x 6 elementos y se instalaron para reducir las deformaciones por flexión⁶ que se generan al instalar los elementos ópticos del equipo. La base empleada es un tablero óptico de dimensiones 50cm. x 50 cm. x 0,5 cm. y grilla M6. (Ver figura 2.1)

Un segundo paso fue disponer de soportes y vástagos con base Ø1/2" para posicionar los elementos ópticos. Se emplearon los de la marca Thorlabs y otros elaborados en el taller del laboratorio de física, estos último presentan ajuste con juego con tolerancias aun no determinadas, pudiendo variar las dimensiones entre uno y otro soporte tanto en la sección interior como exterior. (Ver figura 2.1).

⁶ Flexión: Cuando una barra ó viga delgada se curva se dice que experimenta una deformación por flexión. Para que se produzca flexión las fuerzas externas que producen la deformación deben ser normales al eje longitudinal de la viga (Galvez, López, Llopis, & Rubio, 1998).

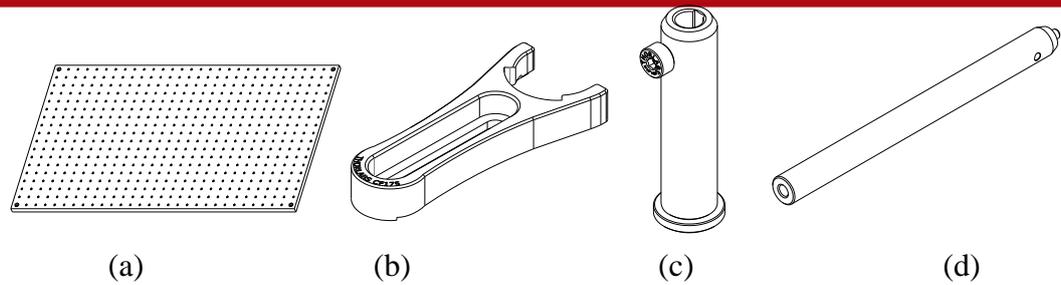


Figura 2.1: (a) Tablero óptico (Tomado de <http://search.newport.com/>), (b) Soporte para poste: CF175 - M6, (c) Poste con pedestal: PH4E - $\text{Ø}1/2''$, $L=4.19''$, (d) Vástago óptico: TR6 - $\text{Ø}1/2''$, $L=6''$ (Thorlabs)

2.2 Iluminación

Se utilizó una fuente láser modelo: SDL-532-150T, de potencia nominal: 150mW, con enfriamiento eléctrico y longitud de onda de 532 nm. Este láser tiene una potencia real de 20 mw medido con radiómetro.

Los resultados mostrados en la figura 2.2 corresponden a la emisión láser en una de las salidas del divisor de haz (BS-40:60) y corresponde al 60 % de la radiación total.

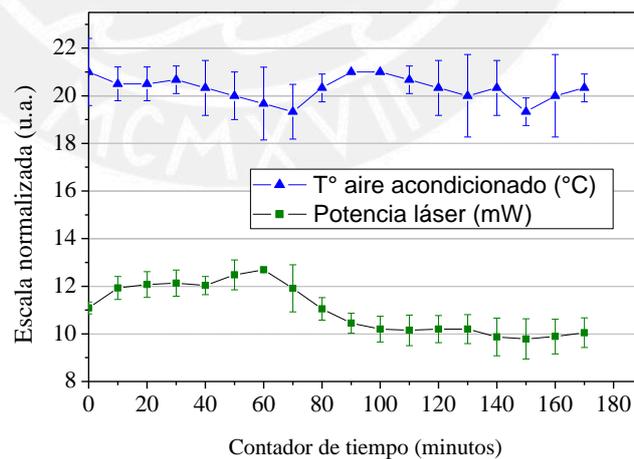


Figura 2.2: Potencia promedio del haz láser evaluado durante tres horas continuas de operación por tres días.

La figura 2.2 muestra la variabilidad de la potencia del láser evaluada durante tres horas de operación continua por tres días a una temperatura promedio de $20^{\circ}\text{C} \pm 1.5^{\circ}\text{C}$. Se observa que hay cierta estacionalidad del láser luego de 10 minutos de encendido y por los primeros 30 minutos de operación en los cuales se registra una potencia promedio de 12 mw, posteriormente, al cabo de 100 minutos se registra una potencia de emisión láser que se estabiliza sobre los 10 mw, estos resultados concuerdan con las especificaciones técnicas del fabricante mostrados en el cuadro 2.1.

Cuadro 2.1:
Especificaciones del láser SDL-532-150T *

Longitud de onda	CW 532 nm
Tiempo de calentamiento	< 15 min
Diámetro del haz en la apertura	< 2mm
Divergencia del haz	< 1.5 mrad
Estabilidad de potencia	< 1%, <3%, <5% (a las 2/4/8 horas de encendido)
Temperatura de operación	$10^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$

* Información tomada del fabricante (Shangai Dream Lasers Technology Co.)

En la figura 2.3 se compara la potencia del láser a temperatura ambiente: $\sim 25^{\circ}\text{C}$ y a temperatura controlada: $\sim 20^{\circ}\text{C}$ (con aire acondicionado). Se observa que se ha duplicado la eficiencia del láser cuando se disminuye la temperatura del medio. En razón de esta evaluación, los espectros de las muestras de referencia se tomaron a temperatura controlada de $20^{\circ}\text{C} \pm 1.5^{\circ}\text{C}$.

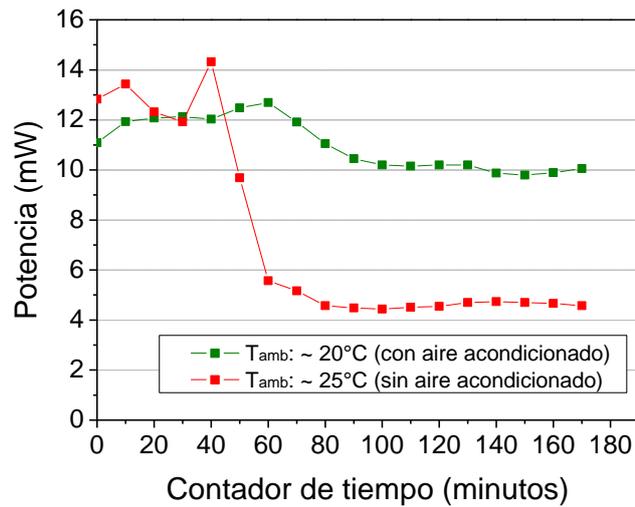


Figura 2.3: Variación de la potencia del láser con la temperatura del medio.

El láser tiene una fuente de bombeo de diodos que emite a los 810 nm, por lo que parte de esta radiación es emitida al medio y es registrada por el espectrómetro (ver figura 2.4). Sin embargo, ya que los modos vibracionales de interés de la muestras en evaluación están en el rango de 532 -750 nm, la radiación debida al bombeo no afectará la evaluación espectral de las muestras de referencia.

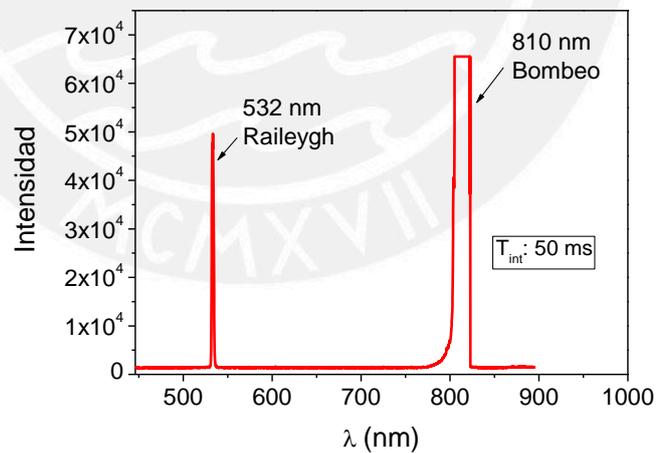


Figura 2.4: Espectro de emisión del láser de 532 nm. Se utilizó un espejo plano como superficie reflejante.

2.3 Alineamiento óptico en configuración 180°

La literatura reporta diferentes geometrías para equipo Raman, una de ellas establece que el eje del láser y el eje de colección sean coincidentes para facilitar su reproducibilidad, es la denominada geometría 180°⁷ y es la que se propone en este proyecto.

La figura 2.5 muestra un esquema de esta geometría, en la cual el haz láser es coaxial con el eje de colección:

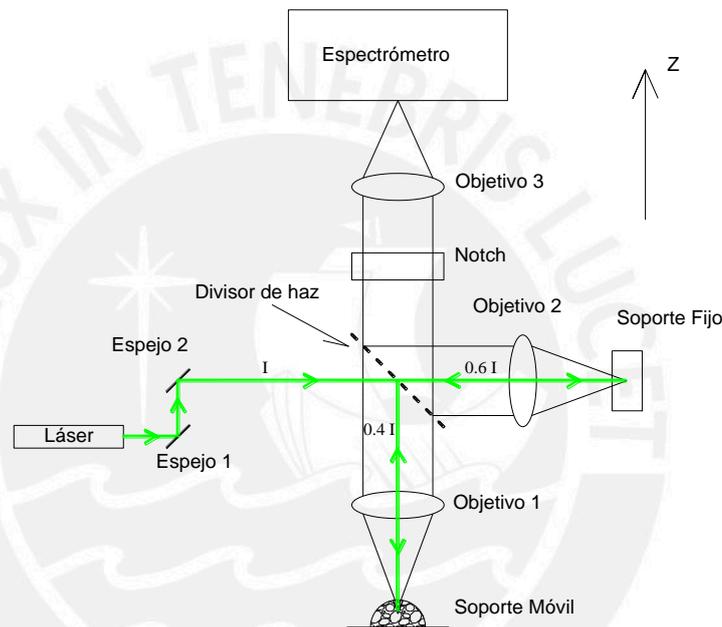
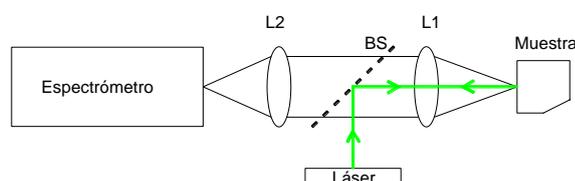


Figura 2.5: Esquema de la geometría del equipo Raman en configuración 180°

Esta geometría tiene un divisor de haz 40:60 y le ofrece al equipo Raman la capacidad de analizar muestras en ambas salidas del divisor.

Ya que solo 1 de cada 10^6 fotones son emitidos con radiación Raman, es preciso optimizar la colección de la radiación emitida optimizando la alineación del haz

⁷ Geometría a 180°: Con un separador de haz para combinar el eje del láser y el de colección (Mc. Creery, 2000)



láser para reducir las pérdidas de radiación por desviaciones del haz durante todo su recorrido óptico.

La alineación del equipo se inicia poniendo a nivel cada una de las monturas que soportan a los elementos ópticos, para ello, se tomó como referencia el tablero óptico que soporta el equipo.

2.4 Óptica de dirección y alineación del haz láser en el plano horizontal.

La figura 2.6 muestra la disposición de los elementos ópticos empleados en la alineación del haz láser en el plano horizontal. De izquierda a derecha, se tiene: un láser doblado en frecuencia de 532 nm, dos espejos dicróicos (reflexión a 532nm) y un divisor de haz 40:60 con cubo. Cada elemento óptico se encuentra soportado en monturas mecánicas y cinemáticas que permiten movimientos de traslación y rotación hasta en 3 grados de libertad.

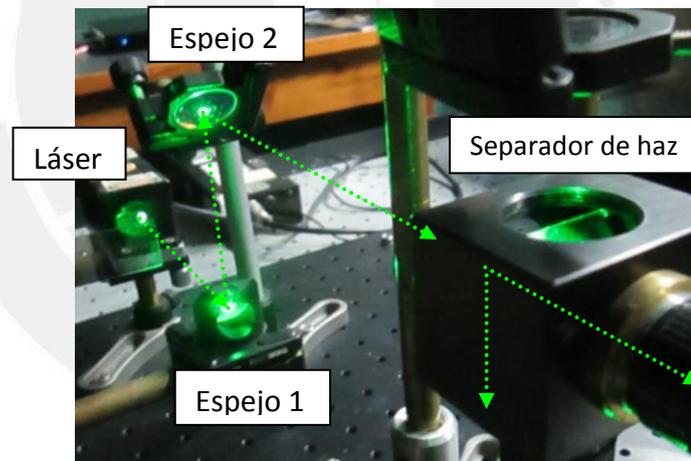


Figura 2.6: Disposición de elementos ópticos para alineación del láser en el plano horizontal

La disposición de los espejos es de reflexión a 90° . Estos espejos son dicróicos o también denominados separadores armónicos, permiten separar la radiación láser (láser doblado de Nd: YVO₄) en sus componentes armónicas: 1064 nm y 532 nm. En la figura 2.7 se muestran las curvas características de estos espejos,

se observa que la radiación a 532 nm se refleja en 99%, mientras que la radiación a 1064 nm se refleja en 4%.

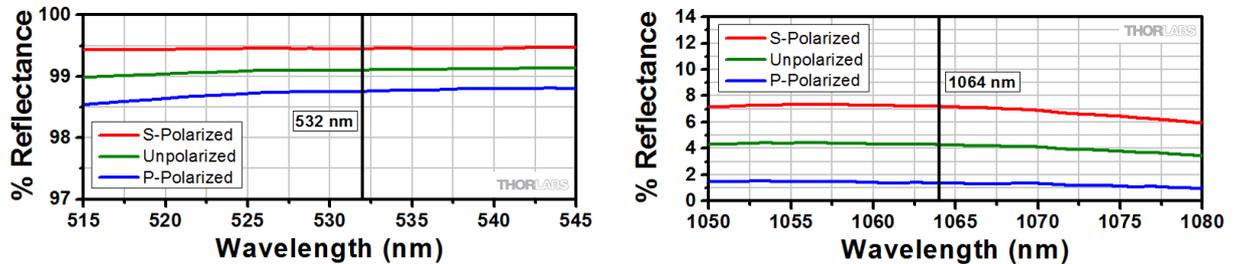


Figura 2.7: Curvas de reflectancia a 45°AIN (ángulo de incidencia normal) del espejo dicróico. A la izquierda: reflexión a 532 nm. A la derecha: reflexión a 1064 nm. (Thorlabs).

El siguiente paso fue direccionar el haz láser paralelamente en el eje “y”. Las desviaciones del haz que se generan alrededor de los ejes “x”, “z” se corrigen ajustando la orientación del par de espejos dicróicos, los cuales se encuentran soportados en monturas que le permiten desplazar el haz láser sobre el pinhole 1 en dos grados de libertad⁸: T_x , T_z . La figura 2.8 (b) muestra un esquema de estos desplazamientos.

Los soportes de los espejos cuentan con perillas giratorias para orientar el haz: las perillas P2 y P3 orientan el haz sobre el eje “x” y las perillas P1 y P4 orientan el haz sobre el eje “z”. Véase la figura 2.8. (a).

⁸ Grados de libertad: T_z : traslación en el eje z, T_x : traslación en el eje x

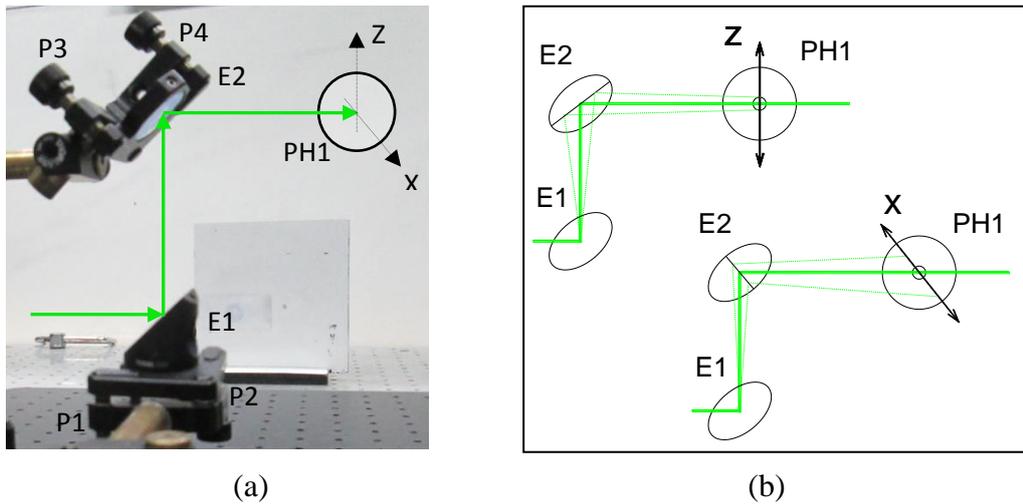


Figura 2.8: (a) Disposición de los espejos dicróicos. P1, P2, P3 y P4 son las perillas 1, 2, 3 y 4. (b) Desplazamientos del haz láser en dos grados de libertad: “z”, “x”. E1 y E2 son los espejos 1 y 2 respectivamente, PH1 es el pinhole 1.

La posición de los espejos queda definida cuando el haz láser pasa a través de los pinhole 1 al 4 sin sufrir desviaciones en todo su recorrido. Entre el pinhole 2 y 3 se encuentra el separador de haz que divide el haz en dos partes: una parte en la dirección horizontal pasa por el pinhole 4 y la otra parte, en dirección perpendicular, pasará por el pinhole 5, esto es, en la dirección vertical del equipo Raman. La figura 2.9 muestra la disposición de los pinhole en el equipo.

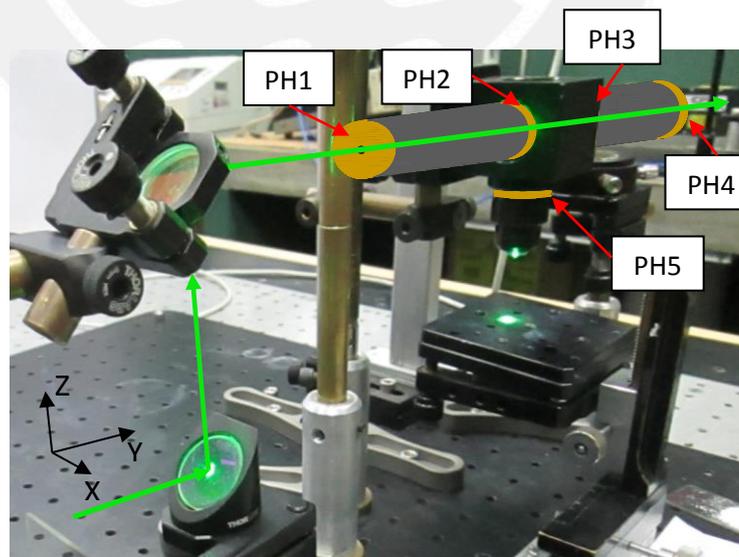


Figura 2.9: Dirección y alineación del haz láser en el eje horizontal. Los elementos “PH 1” hasta “PH 5” son los pin hole de 2 mm de diámetro.

2.5 Óptica de dirección y alineación del haz láser en el plano vertical.

El equipo dispone de dos soportes portamuestras a ambas salidas del haz láser, una para muestras sólidas ó en portaobjetos y otra para muestras líquidas, la misma que podría ser removida en caso que se requiera analizar objetos de gran tamaño, superior a los 10 cm de altura. La figura 2.10 muestra la disposición de las plataformas portamuestras.

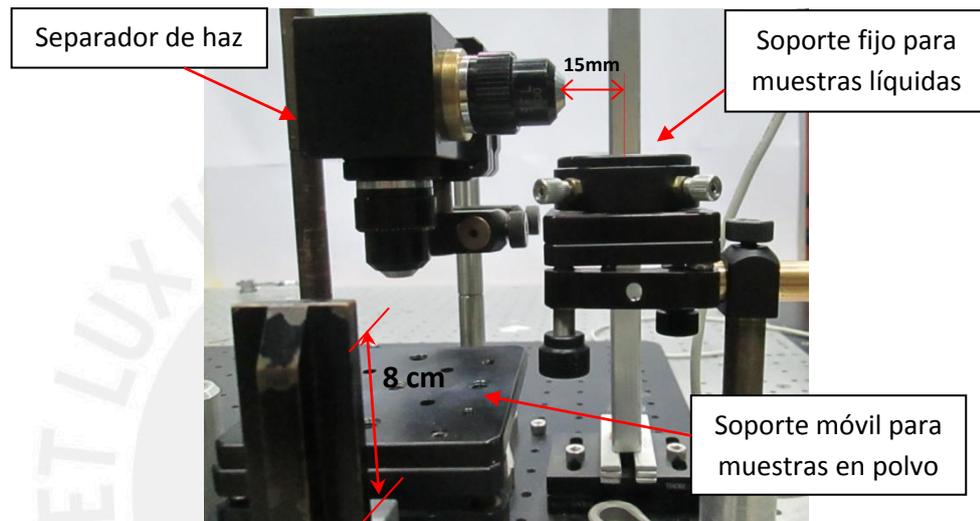


Figura 2.10: Disposición de las plataformas portamuestras.

La plataforma para muestras líquidas es fija y su posición central está a 15 mm de la lente objetivo. En esta posición, el foco de la lente se encontrará al interior de la muestra en estudio, a 5 mm de la superficie del cristal portamuestra.

La plataforma para muestras en polvo o de sólidos pequeños (hasta 8 cm de altura) u otras depositadas sobre portaobjetos, es móvil y se desplaza sobre el eje “z”. El desplazador en “z” le permite un corrimiento de 8 cm hasta posicionar la muestra a la distancia focal de la lente objetivo.

El primer paso en la alineación del eje vertical (eje z), consistió en nivelar los dos portamuestras tomando como referencia el cubo que soporta el separador de haz. Luego, se instalaron dos pinhole (PH6 y PH7) en la parte superior del cubo y se dispuso un espejo auxiliar plano sobre cada portamuestras para verificar por reflexión el retorno del haz láser hacia el pinhole 5 y que continúe su recorrido pasando por los pinhole 6 y 7. La figura 2.11 muestra esta disposición.

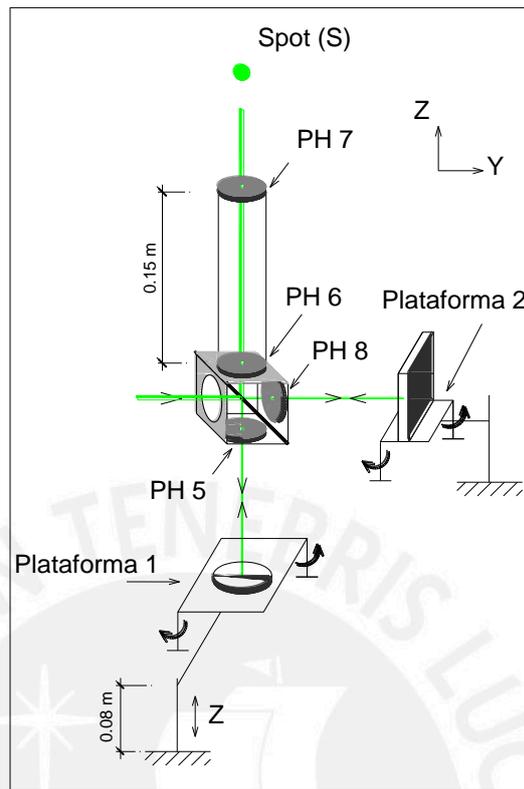


Figura 2.11: Esquema de disposición de plataformas portamuestras para observar el retorno del haz láser sobre el eje “z”.

El siguiente paso fue alinear el retorno del láser desde la plataforma 1, la cual se encuentra sobre una montura cinemática que permite el desplazamiento del láser en 2 direcciones: T_x , T_y . Se retiró el espejo de la plataforma 2 para eliminar interferencias por reflexión y con las perillas de la montura de la plataforma 1 se desplazó el haz reflejado sobre el pinhole 5. El haz láser se ha alineado cuando por reflexión recorre el eje z pasando por los pinhole 5, 6 y 7.

La alineación de la plataforma 2 se realiza con el mismo procedimiento de la anterior, con un espejo plano se refleja el haz láser hacia el separador de haz y con la montura cinemática se ajusta la alineación del haz sobre el pin hole 8 instalado en el cubo. El haz láser reflejado se ha alineado cuando su posición coincide con el haz reflejado de la plataforma 1 en la posición del spot (S) mostrado en la figura 2.11.

2.6 Óptica de focalización y colección a muestras

La intensidad de la señal detectada en el espectrómetro depende de 2 parámetros: L (es una función de la muestra, la potencia del láser y la geometría de colección) y C (depende de las características de colección y detección en el espectrómetro) (Mc. Creery, 2000).

En esta parte del alineamiento óptico, interesa determinar la longitud focal de las lentes para optimizar la detección de la señal Raman que está dada por la expresión:

$$S = P_0 \beta DK \frac{A_D}{A_L} \Omega_D T Q t_s$$

El producto de todas las variables de esta ecuación que son afectadas por la longitud focal “ f ” es: $K \frac{A_D}{A_L} \Omega_D$. Para una muestra compacta, este producto varía con $\frac{1}{f}$ y para una muestra delgada el producto varía con $\frac{1}{f^2}$ (Mc. Creery, 2000).

Según este análisis se optó por instalar lentes objetivo de corta longitud focal. La figura 2.12 muestra la disposición de las lentes empleadas, se instaló un objetivo en cada salida del separador de haz para focalizar el haz sobre la muestra y coleccionar la radiación dispersada.

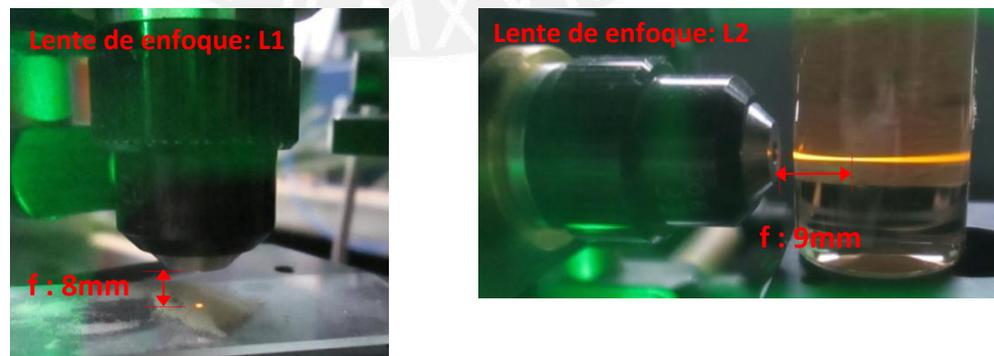


Figura 2.12: A la izquierda: dispersión Raman del óxido de titanio en polvo con el objetivo L_1 (f : 8 mm). A la derecha: dispersión Raman del ácido sulfúrico con el objetivo L_2 (f : 9 mm).

El diámetro mínimo del spot del láser sobre la muestra tiene una dependencia lineal con la longitud focal de la lente y la divergencia del haz de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\varnothing_{min} = f\theta_d$$

Siendo: f la longitud focal de la lente de enfoque y θ_d el ángulo de divergencia del láser en radianes (Mc. Creery, 2000).

Según esta expresión y con los elementos dispuestos en el equipo, el área mínima de sección transversal del láser sobre la muestra $(A_L)_{min}$ será del orden de las micras.

El cuadro 2.2 muestra el diámetro del spot mínimo del láser y área del láser sobre la muestra para los dos objetivos de focalización L_1 y L_2 que se indican en la figura 2.8.

Cuadro 2.2:
Diámetro y área del láser sobre la muestra

Lentes	f (mm)	θ_d (mrad)	\varnothing_{min} (μm)	$(A_L)_{min}$ (μm^2)
L_1	8	1.5	12	113
L_2	9	1.5	13.5	143

Después de seleccionar los objetivos, se continuó con la alineación del equipo. En esta etapa, se retiraron los pinhole de cada cara del cubo que soporta el separador de haz (véase figura 2.11) y se instalaron objetivos en cada salida del separador de haz para focalizar el haz y coleccionar la radiación dispersada por la muestra. Nuevamente, se posicionaron los espejos planos sobre las plataformas 1 y 2 a la distancia focal de cada lente como se observa en la figura 2.13.

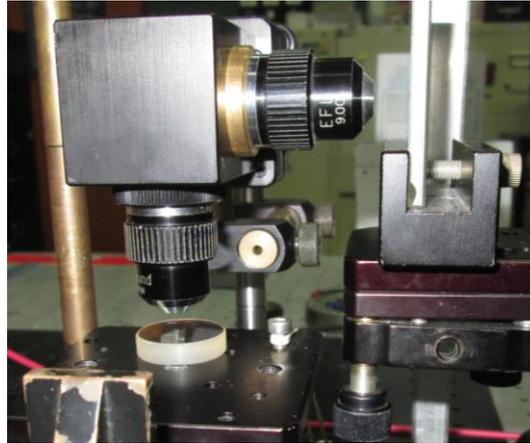


Figura 2.13: Disposición de los objetivos instalados en el separador de haz. Se observa los espejos planos a la distancia focal de cada objetivo.

El haz láser es focalizado sobre el espejo y este lo refleja en la misma dirección hacia el separador de haz, los dos haces (colimados) se unen en el separador de haz y se produce la interferencia. El patrón de interferencia se observa en la posición S de la figura 2.11. y tiene la forma de círculos concéntricos con un mínimo en la zona central (anillos de Newton)⁹. Esto sucede si las plataformas que soportan los espejos se encuentren alineadas con el equipo.

La figura 2.14 muestra los lentes objetivos instalados y el patrón de interferencia generado en esta etapa de la alineación. Se muestra además la disposición de la montura que soportará el objetivo de colección a espectrómetro.

⁹Los anillos de Newton se forman por la interferencia de 2 ondas electromagnéticas generadas en un arreglo óptico del tipo de interferómetro de Michelson (Hecht, 2000).

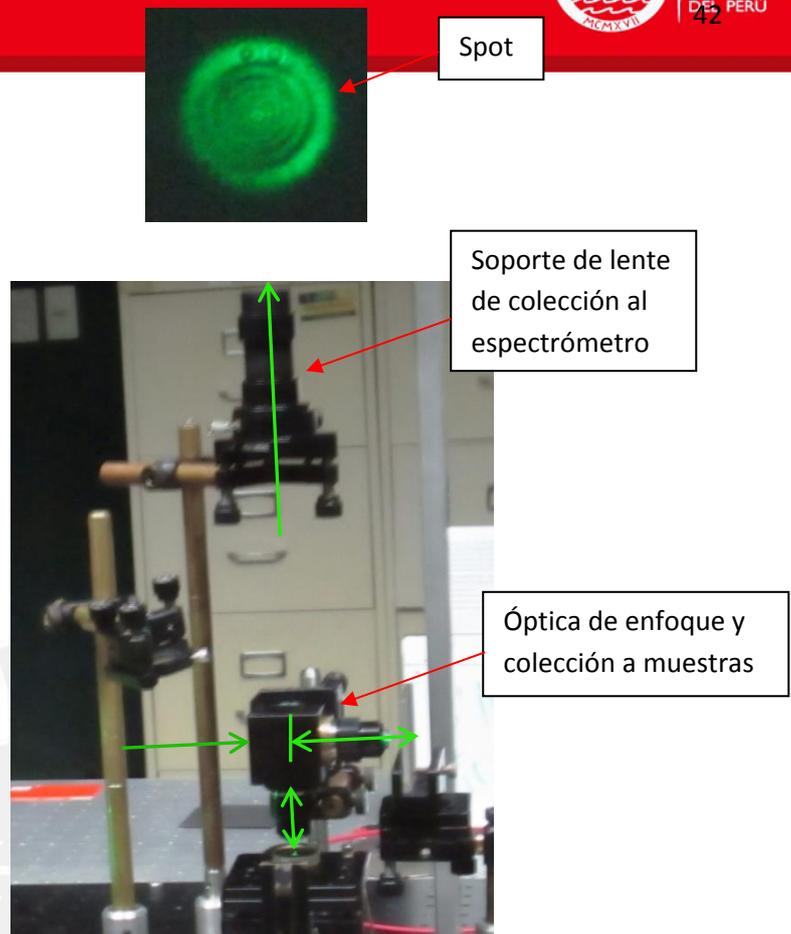


Figura 2.14: Disposición de las lentes objetivo a ambas salidas del separador de haz y una vista del spot generado (el spot es un indicador de la optimización en la alineación del equipo)

Un paso más que permite verificar el alineamiento del equipo consistió en instalar un láser de 633 nm en la posición del soporte de la lente de colección al espectrómetro (ver figura 2.14). Se verificó que el recorrido de este haz coincidiera con el haz de 532 nm en la posición de los espejos instalados a la longitud focal de los objetivos. La figura 2.15 muestra el acoplamiento del láser de 633 nm.

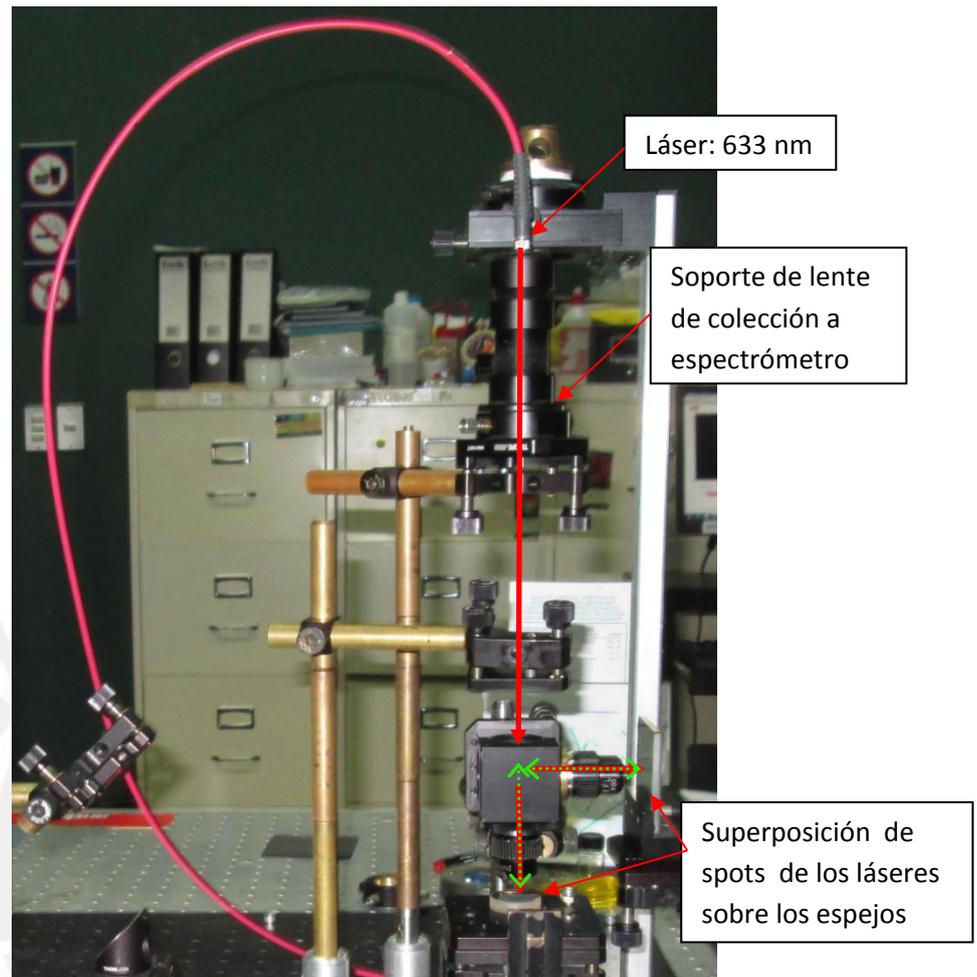


Figura 2.15: Acoplamiento del láser de 633 nm y verificación de superposición de los spots de los 2 láseres sobre los espejos.

2.7 Colección Raman a espectrómetro y filtrado de la señal Rayleigh

Después de verificar el alineamiento óptico del equipo con el láser de 633 nm, se instaló una lente de enfoque en el soporte de acople al espectrómetro. (Ver figura 2.18). El acople lente - espectrómetro está optimizado si es del tipo underfilled¹⁰, en este caso, la apertura numérica del espectrómetro será igual o mayor que la lente de enfoque y la distancia de trabajo de la lente será tal que permita el acoplamiento.

¹⁰ El acople lente-espectrómetro puede ser de 2 tipos: overfilled, si la radiación dispersa emana de una región más grande para ser colectada por el espectrómetro, y underfilled si la región iluminada por el láser puede ingresar por la rendija de entrada del espectrómetro (Mc. Creery, 2000)

La lente instalada en el equipo Raman tiene una distancia de trabajo de 9 mm que permite el acoplamiento al espectrómetro, sin embargo tiene una apertura numérica de 0.29 (34°) mayor a la del espectrómetro de 0.22 (24°), lo que genera un acoplamiento del tipo overfilled. En la figura 2.16, la región de color rojo representa las pérdidas de radiación por acoplamiento overfilled.

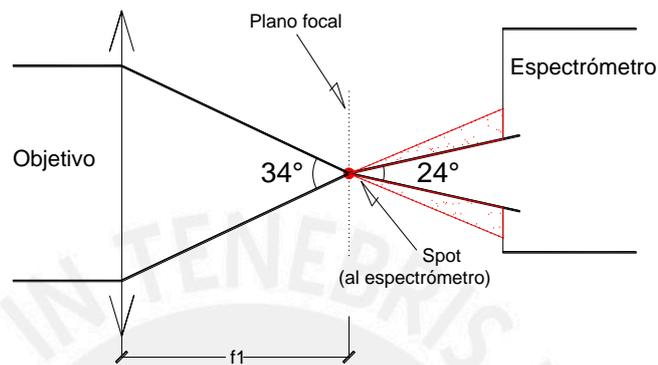


Figura 2.16: Esquema de acoplamiento overfilled del sistema lente - espectrómetro del equipo Raman.

La selección de la lente de acoplamiento se desarrolló luego evaluar tres objetivos, determinándose experimentalmente la apertura numérica y distancia de trabajo de cada uno de ellos. La figura 2.17 es un esquema de la lente objetivo seleccionada en el que se indican los parámetros medidos experimentalmente y el cuadro 2.3 muestra los resultados obtenidos para los tres objetivos evaluados.

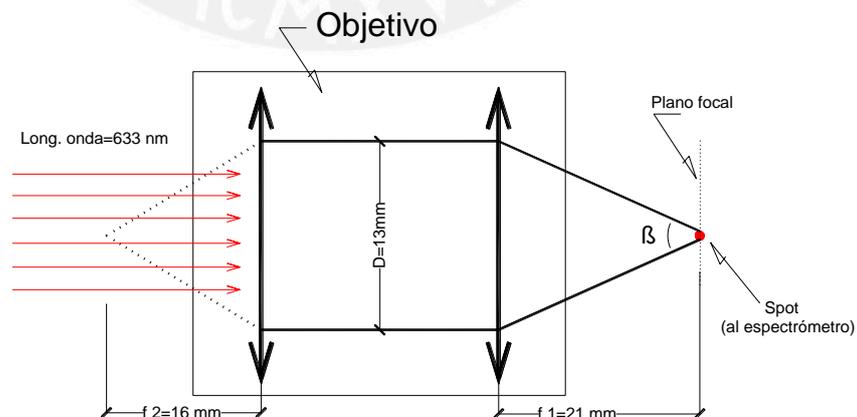


Figura 2.17: Esquema de la lente objetivo cuyos parámetros han sido determinadas experimentalmente. β es la apertura numérica de la lente, D es el

diámetro de la lente, f_1 y f_2 son las longitudes focales en cada extremo de la lente objetivo (se determinaron experimentalmente usando una fuente láser de $\lambda = 633 \text{ nm}$).

Cuadro 2.3:

Parámetros de operación de lentes objetivo para acoplamiento al espectrómetro.

Lentes Objetivo	D (mm)	f1 (mm)	A.N.	Observaciones
Objetivo de cámara	13	21	0.29	Seleccionado
	11	16	0.32	La apertura numérica es grande
Objetivo de microscopio 1	6	8	0.35	Longitud focal corta y apertura numérica grande
Objetivo de microscopio 2	6	9	0.31	Longitud focal corta y apertura numérica grande

Finalmente, se seleccionó el objetivo de A.N: 0.29 y se instaló en el equipo Raman. Se verificó la salida del haz láser por observación del spot generado a la distancia focal f_1 ; ésta posición es el punto de acople del espectrómetro a la lente. La figura 2.18 muestra el objetivo en la posición de acople al espectrómetro.

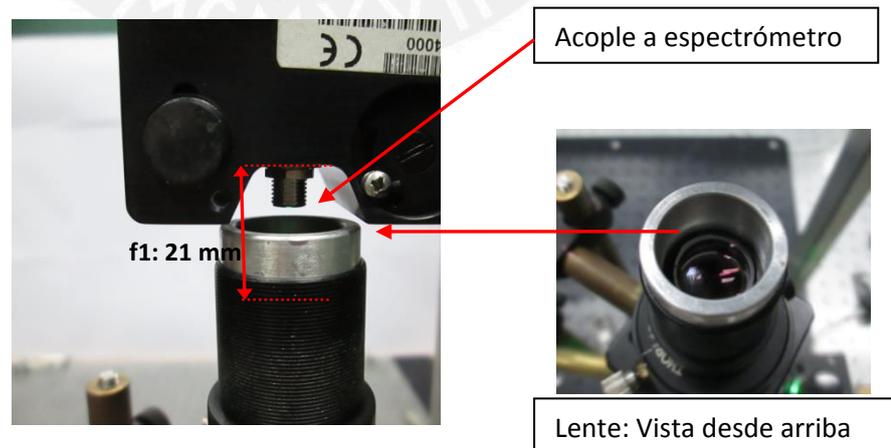


Figura 2.18: A la izquierda se muestra el objetivo acoplado al espectrómetro. A la derecha, vista desde arriba de una sección del objetivo.

El siguiente paso, previo a la instalación del espectrómetro, consiste en filtrar la radiación Rayleigh que debido a su elevada intensidad: 10^6 veces más que la señal Raman, puede provocar dos efectos: saturación del espectrómetro y, superposición del espectro Rayleigh sobre el espectro Raman. Para eliminar esta radiación, se instaló un filtro notch de $533nm \pm 2nm$ entre el separador de haz y el objetivo de acoplamiento a espectrómetro. La figura 2.19 muestra su posición.

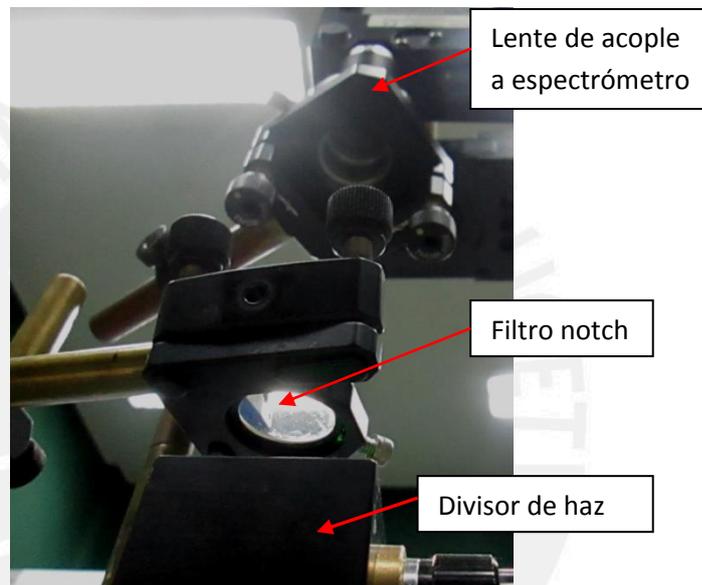


Figura 2.19: Disposición del filtro notch en el equipo.

El filtro notch se encuentra soportado en una montura cinemática que permite inclinarlo a un ángulo de incidencia de $0 \pm 3^\circ$ (es el rango de aceptación de radiación incidente), tiene una capacidad de transmitancia mayor a 90% y densidad óptica mayor a 6.0 (que corresponde a una transmisión menor al 0.0001%). La figura 2.20 muestra las curvas características de este filtro.

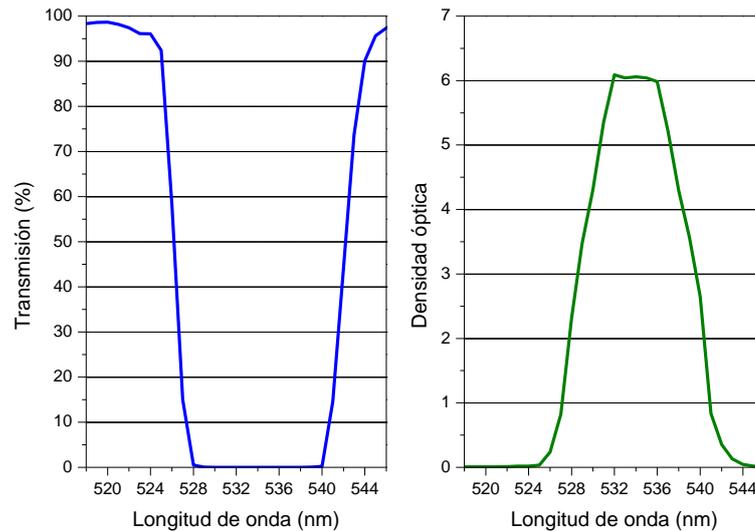


Figura 2.20: Curva de transmisión y densidad óptica del filtro notch: NF533-17 (Thorlabs)

La orientación del filtro notch se acomoda por observación del espectro de la radiación reflejada desde un espejo plano en el equipo Raman. Es muy pequeña la fracción de radiación que transmite el filtro y no puede ser distinguida por un observador, sin embargo si puede ser detectada por el espectrómetro.

El siguiente paso es la instalación del espectrómetro con la rendija de entrada en el plano focal del objetivo de acoplamiento como se muestra en la figura 2.18 - izquierda. Como todos los elementos ópticos, el espectrómetro se apoya en monturas mecánicas y cinemáticas que permiten alinearlos en el equipo con movimientos de traslación y rotación. La figura 2.21 muestra esta disposición.

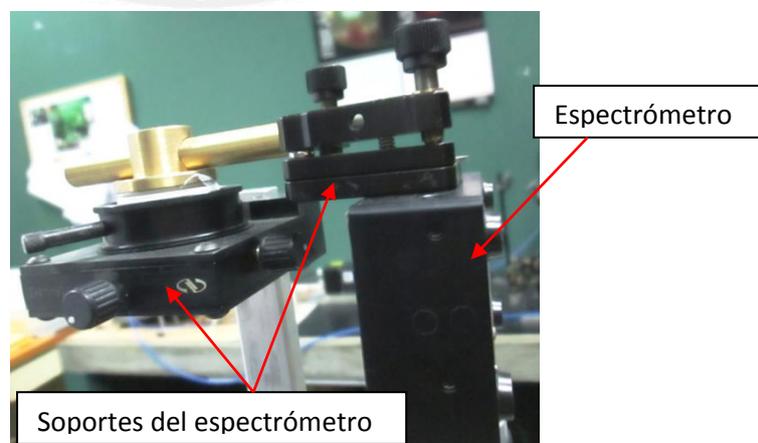


Figura 2.21: Espectrómetro soportado en monturas mecánicas y cinemáticas en el equipo Raman.

Un esquema de la configuración óptica del espectrómetro y su acoplamiento con la lente objetivo se muestra en la figura 2.22. Se observa el recorrido del haz láser desde la rendija de entrada hasta el detector CCD.

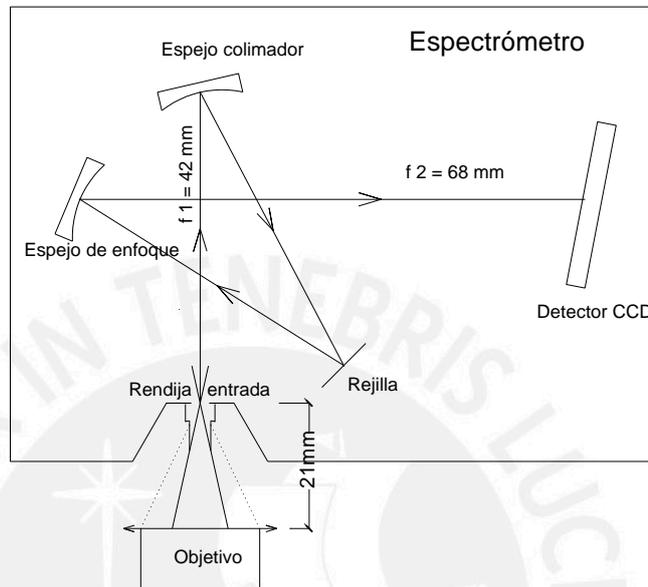


Figura 2.22: Esquema de componentes del espectrómetro USB-4000-UV-VIS (OceanOptics).

Con la instalación del espectrómetro se han dispuesto todos los elementos del equipo Raman desde la instalación del láser, pasando por la óptica de focalización y colección a muestras y finalmente el filtrado Rayleigh y detección de radiación Raman en el detector del espectrómetro. La figura 2.23 muestra el equipo Raman instalado.

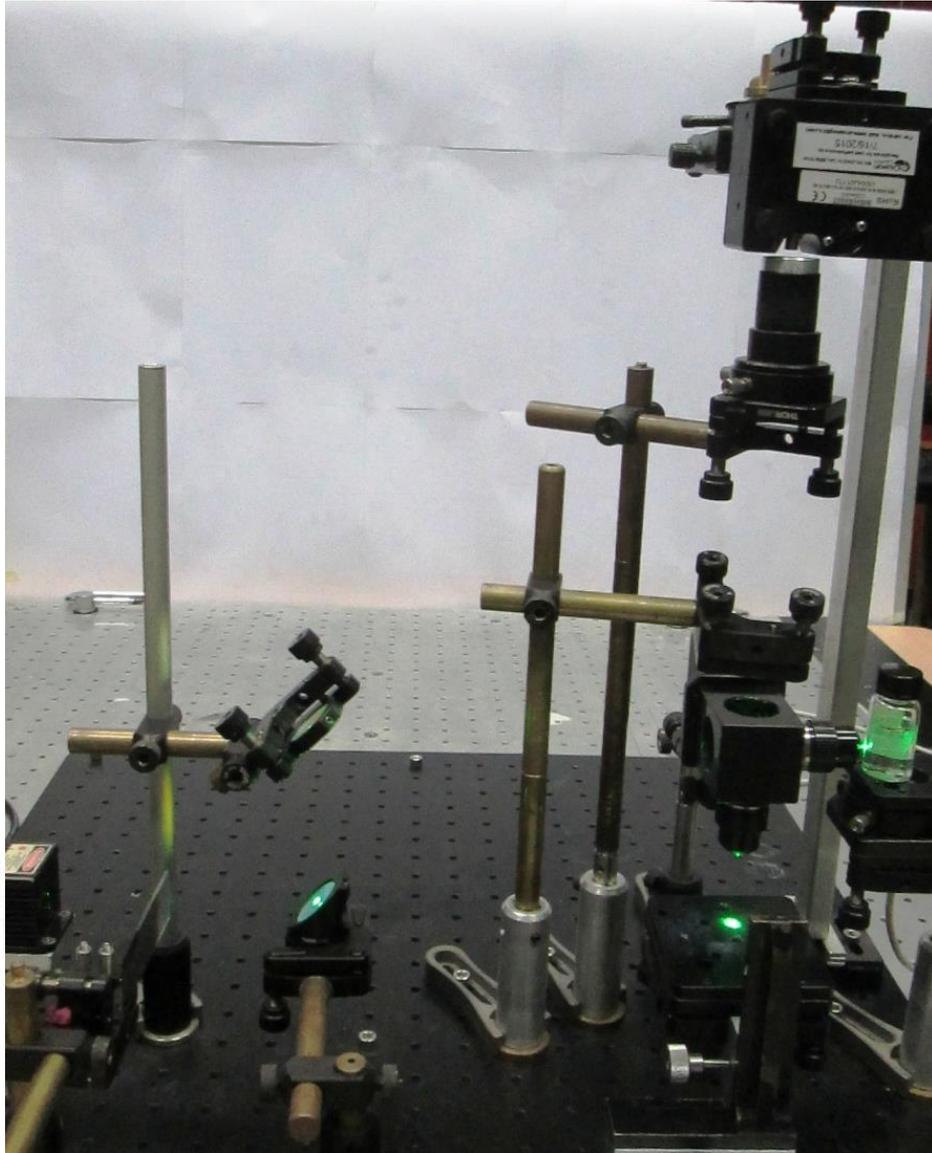


Figura 2.23: Equipo Raman instalado en el laboratorio de física de la Pontificia Universidad Católica del Perú.

2.8 Alineación del espectrómetro en el equipo Raman

En esta etapa se optimiza la alineación del espectrómetro por observación de la firma espectral de sustancias en polvo y sustancias líquidas depositadas en las plataformas 1 y 2 respectivamente. El parámetro de observación es la intensidad espectral debido a la dispersión Rayleigh y Raman.

El primer paso en esta etapa consiste en detectar la radiación emitida por una muestra altamente fluorescente posicionada en la plataforma 1 del equipo. Se empleó papel de colores autoadhesivo (post-it) que emite en 630 nm y se alineó el espectrómetro como se indica a continuación:

1. Por tratarse de una muestra fluorescente y para evitar la saturación del espectrómetro, se redujo la intensidad del láser instalando un polarizador a la salida de la cavidad.
2. El material fluorescente se depositó en el portamuestras 1 a la distancia focal del objetivo.
3. Se establecieron las condiciones iniciales de operación del espectrómetro:
 - Tiempo de integración: 800 ms
 - Anchura del pico: 1 (por defecto)
 - Acumulaciones: 1 (por defecto)
4. Se inicia la alineación del haz en el espectrómetro posicionándolo a la distancia focal del objetivo de acoplamiento. El computador mostrará un registro espectral del haz si el acoplamiento es positivo.
5. Con ayuda de las perillas de ajuste fino se optimiza este acoplamiento hasta obtener una firma espectral con intensidades pico máxima.
6. Este proceso se replicó para tiempos de integración cortos de 100 ms y 50 ms respectivamente.

El segundo paso en esta etapa consiste en optimizar la detección de la dispersión Rayleigh, por ser esta señal de mayor intensidad respecto de la señal Raman, pero de menor intensidad respecto de la fluorescencia del papel de colores.

En este caso, se trabaja con toda la potencia del láser y se dispone un espejo plano en la plataforma 1 a la distancia focal del objetivo. La luz que refleja el espejo simula la radiación Rayleigh en una muestra, por ser ambas de la misma intensidad de la fuente de iluminación.

Similar al procedimiento desarrollado con el papel de colores, se optimiza la alineación del espectrómetro desarrollando los pasos 3, 4, 5 y 6. Como resultado se obtuvo el espectro mostrado en la figura 2.24.

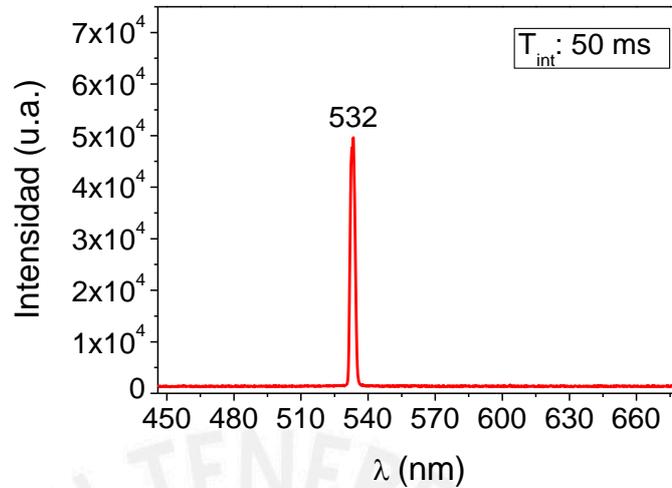


Figura 2.24: Espectro de la radiación Rayleigh en 532nm, reflejada por el espejo plano.

El tercer paso consiste en detectar la dispersión Raman de muestras de laboratorio (muestras puras). Se replicó el procedimiento abordado con la dispersión Rayleigh en muestras de óxido de titanio¹¹, azufre¹² y óxido de zinc¹³ cuyos espectros se muestran en las figuras 2.25, 2.26 y 2.27 respectivamente.

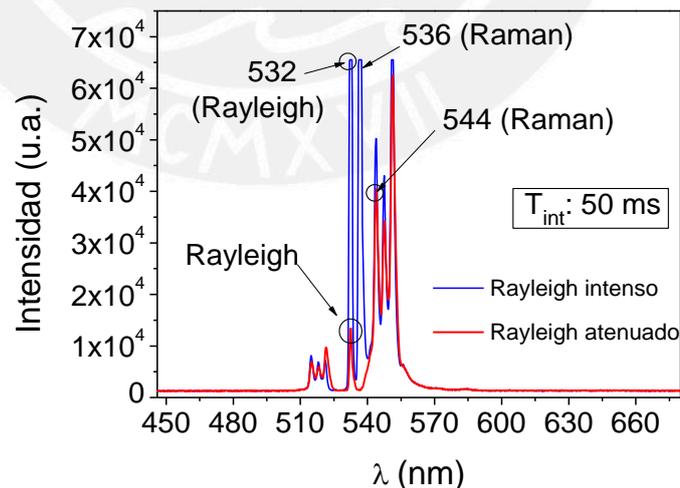


Figura 2.25: Espectro de la radiación Raman del óxido de titanio, registrado con tiempo de integración de 50 ms.

¹¹ Referencia: (Clemens, Wei, Wilson, & Thomas, 2013)

¹² Referencia: (McCreery)

¹³ Referencia: (Guao, Du, & Dai, 2009)

En la figura 2.25, la línea roja muestra la radiación Rayleigh muy atenuada respecto del Rayleigh de la línea azul. Este es el resultado de posicionar el filtro notch con una inclinación superior a los 3° que especifica el fabricante. Se observa que se ha comprometido una banda en 536 nm (línea azul) estableciendo el rango espectral de interés a partir de los 544 nm. La atenuación de la banda Rayleigh permite trabajar con mayores tiempos de integración.

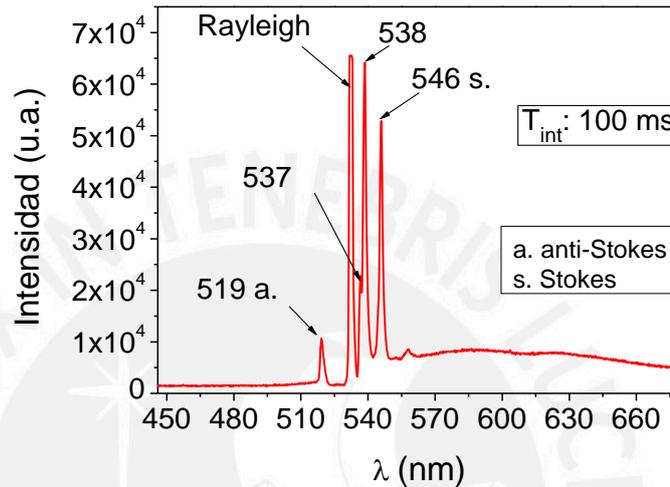


Figura 2.26: Espectro de la radiación Raman del azufre, registrado con tiempo de integración de 100 ms. Se observan las bandas Stokes y anti-Stokes.

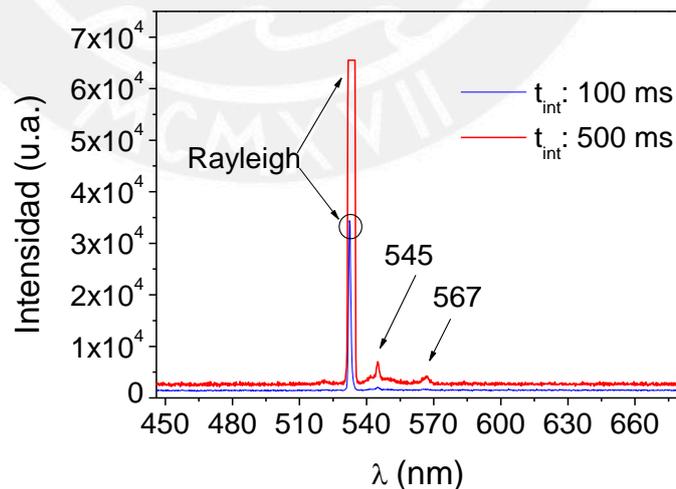


Figura 2.27: Espectro de la radiación Raman del óxido de zinc, registrado con tiempos de integración de 100 ms y 500 ms. Las bandas Raman se observan con elevados tiempos de integración: 500 ms.

El último paso en la alineación del espectrómetro consiste en detectar la dispersión Raman de muestras líquidas como el agua desionizada¹⁴. La muestra se instala en la plataforma 2 y se replica el procedimiento abordado con la dispersión Rayleigh. El espectro obtenido se muestra en la figura 2.28.

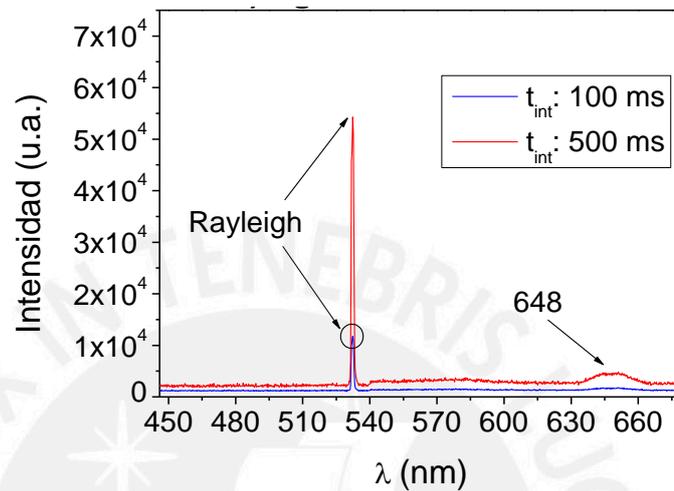


Figura 2.28: Espectro de la radiación Raman del agua desionizada, registrado con tiempos de integración de 100 ms y 500 ms. Las bandas Raman se observan con elevados tiempos de integración: 500 ms.

¹⁴ Referencia: (Zehentbauer, Bain, & Kiefer, 2012)

Capítulo 3. Calibración y validación del equipo Raman

Una técnica útil para reducir el error instrumental es la calibración en frecuencia con el desplazamiento Raman de muestras patrón y tiene la ventaja que no requiere un conocimiento preciso de la frecuencia del láser siempre que su emisión sea constante (Mc. Creery, 2000).

El primer paso abordado para la calibración de este instrumento consistió en determinar la longitud de onda de la radiación Rayleigh, para ello se capturó el espectro de cinco muestras de referencia y se compararon las bandas Rayleigh. Se encontró que el pico central fluctúa entre 531.79nm y 532.78 nm, el pico central promedio fue de $532.3 \pm 0.4 \text{ nm}$. Los resultados se muestran en la tabla 3.1.

Tabla 3.1: Evaluación de la Radiación Rayleigh.

Muestra	$\lambda_{\text{Rayleigh}}$ (nm)
Espejo plano	531.79
Acido tartárico	531.99
Acido salicílico	532.19
Oxido de zinc	532.39
Oxido de titanio	532.59
Oxido de titanio	532.78
Promedio \pm Desviación estándar *	532.3

El siguiente paso en la calibración del instrumento, consistió en identificar los desplazamientos Raman de cada modo vibracional de algunas muestras de referencia, tomándose como $\lambda_{\text{Rayleigh}}$ el valor de 532.3 nm (ver tabla 3.1). Se calculó el promedio de 4 eventos de cada modo vibracional y se estimó su desviación estándar. Los resultados obtenidos se constituyen en una guía de calibración del prototipo Raman. La tabla 3.2 muestra los desplazamientos

Raman y su intensidad de la muestra de óxido de titanio. Se observa que en promedio, estas bandas tienen una desviación estándar menor a 4 cm^{-1} .

Tabla 3.2: Desplazamiento Raman del óxido de titanio¹⁵

<i>Muestra</i>	<i>Literatura</i>	<i>Promedio (cm^{-1}) \pm desviación estándar</i>	<i>Número de puntos</i>	<i>Intensidad (u.a.)</i>
Oxido de titanio ¹⁶	398	398.6 ± 3.9	4	41590
	516	523.5 ± 3.4	4	35307
	639	642.0 ± 3.1	4	63745

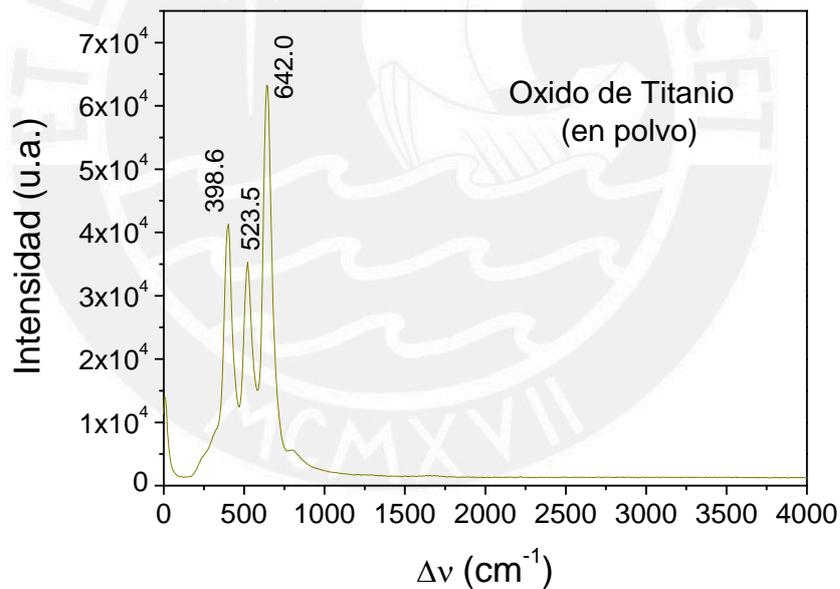


Figura 3.1: Espectro Raman de Oxido de Titanio colectado con tiempo de integración de 50 ms.

¹⁵ Referencia: (Mc. Creery, 2000).

¹⁶ Referencia: (Mc. Creery, 2000), (Clemens, Wei, Wilson, & Thomas, 2013)

La validación del equipo de espectroscopía Raman Convencional se desarrolló por comparación de los desplazamientos Raman de muestras de alcoholes con la información existente en la literatura.

La tabla 3.2 muestra los desplazamientos Raman y su intensidad de cinco clases de alcohol: etanol¹⁷, metanol¹⁸, butanol¹⁹, propanol²⁰ y 2-propanol²¹; así mismo, se muestra el resultado reportado en la literatura.

Tabla 3.2: Desplazamiento Raman de muestras de referencia de alcoholes

<i>Muestra</i> ²²	<i>Literatura:</i> $\Delta \bar{\nu}(\text{cm}^{-1})$	<i>Desplazamiento</i> <i>Raman:</i> $\Delta \bar{\nu}(\text{cm}^{-1})$	<i>Intensidad (u.a.)</i> <i>(con $T_{\text{integración}}$: 1s)</i>
Alcohol etílico: CH ₃ CH ₂ OH	430	435.4	5986
	-	884.8	12329
	-	1085.4	10119
	1270	1274.8	8659
	1455	1459.8	11989
	-	2728.6	6773
	-	2887.6	24172
	2927	2931.5	31833
	-	3341.2	6128
Alcohol metílico: CH ₃ OH	-	1041.7	10043
	1456	1471.6	7092
	-	2843.5	16935
	2951	2950.8	17391
	-	3341.2	5851
Alcohol 1-butanol	-	388.5	6291
	834	834.0	8735

¹⁷ Referencia: (ChemicalBooks),

¹⁸ Referencia: (Zehentbauer, Bain, & Kiefer, 2012)

¹⁹ Referencia: (Cacela, Duarte, & Fausto, 2000)

²⁰ Referencia: (Cacela, Duarte, & Fausto, 2000)

²¹ Referencia: (Cacela, Duarte, & Fausto, 2000)

²² Referencia: (PubChem)

<i>Muestra</i> ²²	<i>Literatura:</i> $\Delta \bar{\nu}(\text{cm}^{-1})$	<i>Desplazamiento</i> <i>Raman:</i> $\Delta \bar{\nu}(\text{cm}^{-1})$	<i>Intensidad (u.a.)</i> <i>(con $T_{\text{integración}}$: 1s)</i>
CH ₃ (CH ₂) ₃ OH	-	1079.1	8143
	1313	1298.9	7862
	1456	1454.2	10783
	-	2744.6	6445
	2915	2916.9	36666
	-	3341.2	5067
Alcohol 1- propanol CH ₃ (CH ₂) ₂ OH	-	468.7	7598
	-	872.3	11436
	1060	1085.4	9507
	-	1280.9	8526
	-	1459.9	12437
	-	2744.6	7543
	2962	2921.7	34813
	-	3341.2	5874
Alcohol 2-propanol (CH ₃) ₂ CHOH	477	462.3	6140
	821	827.6	16646
	921	954.4	8438
	-	1134.8	8388
	-	1346.9	6803
	1466	1459.9	11055
	-	2729.6	6100
	2935	2931.5	34014
	-	3341.2	5867

Las figuras 3.2 hasta 3.6 muestran los espectros capturados con el equipo Raman, se verifica que todas las muestras de alcohol contienen los grupos funcionales: C-C y C-O en la región 600-1500 cm⁻¹, denominada región de la huella dactilar, el grupo C-H en la región entre 2800-3200 cm⁻¹ y el grupo O-H en la región 3200-3400 cm⁻¹.

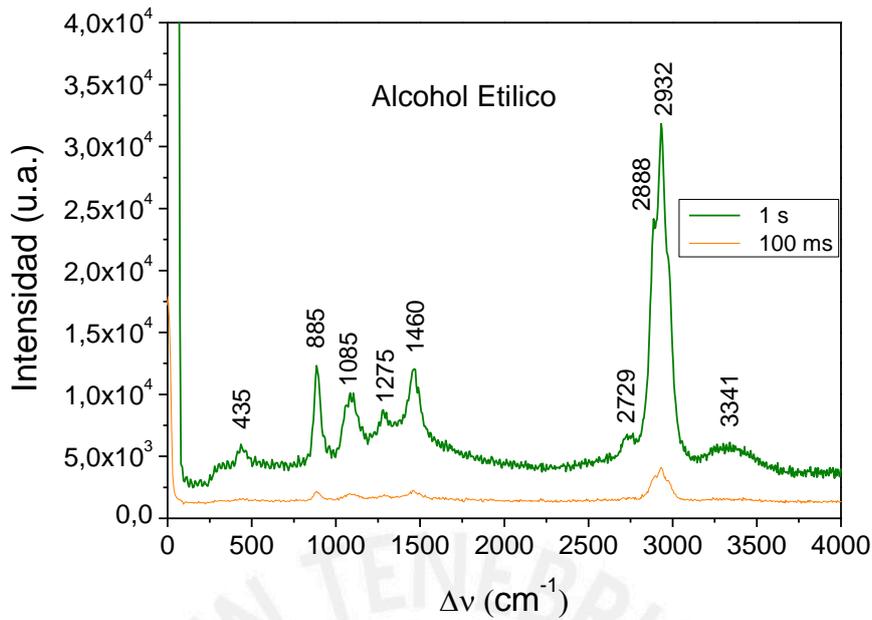


Figura 3.2: Espectro Raman del alcohol etílico para tiempos de integración de 1s y 100 ms.

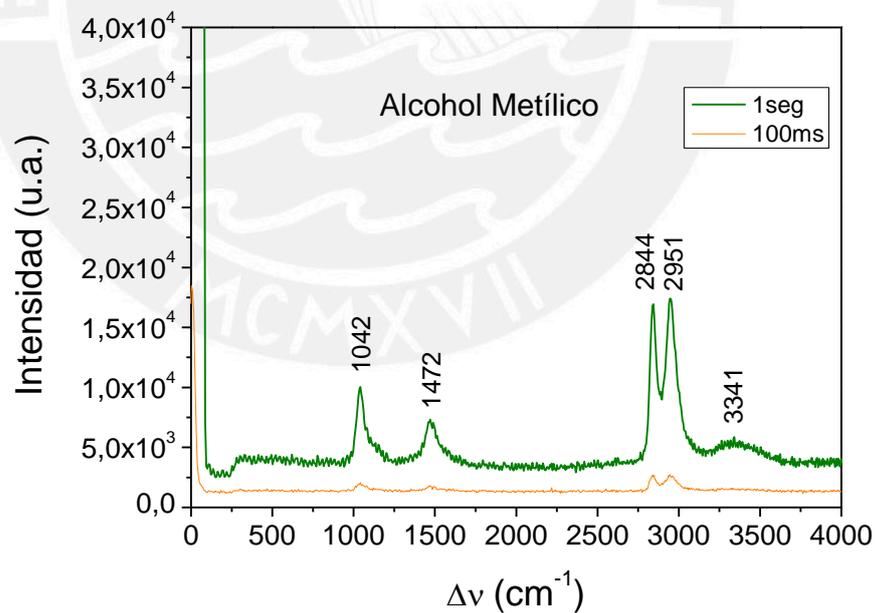


Figura 3.3: Espectro Raman del alcohol metílico para tiempos de integración de 1s y 100 ms.

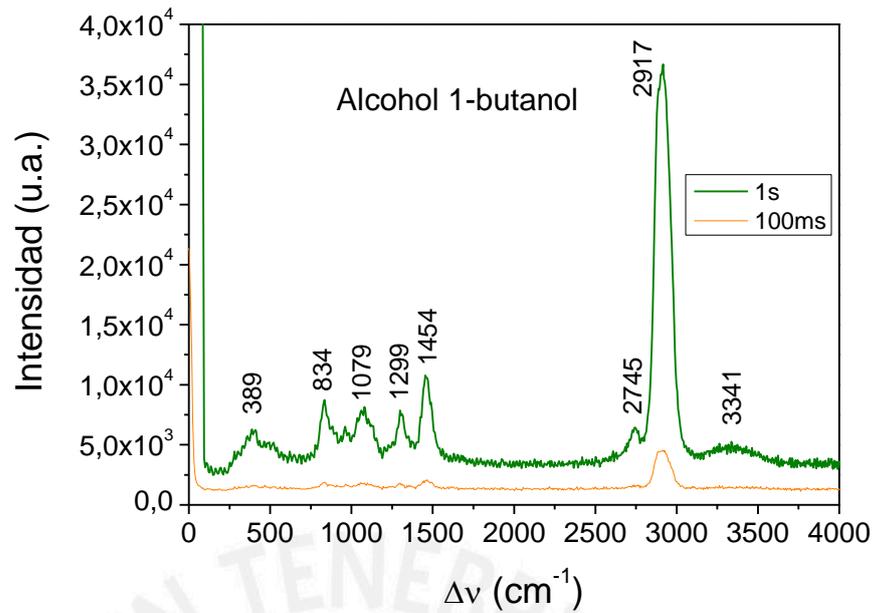


Figura 3.4: Espectro Raman del alcohol 1-butanol para tiempos de integración de 1s y 100 ms.

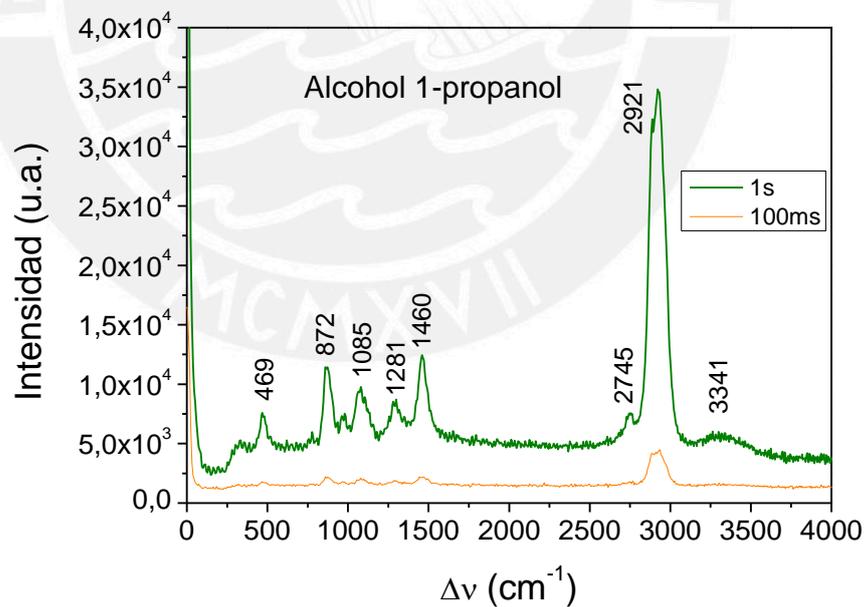


Figura 3.5: Espectro Raman del alcohol 1-propanol para tiempos de integración de 1s y 100 ms.

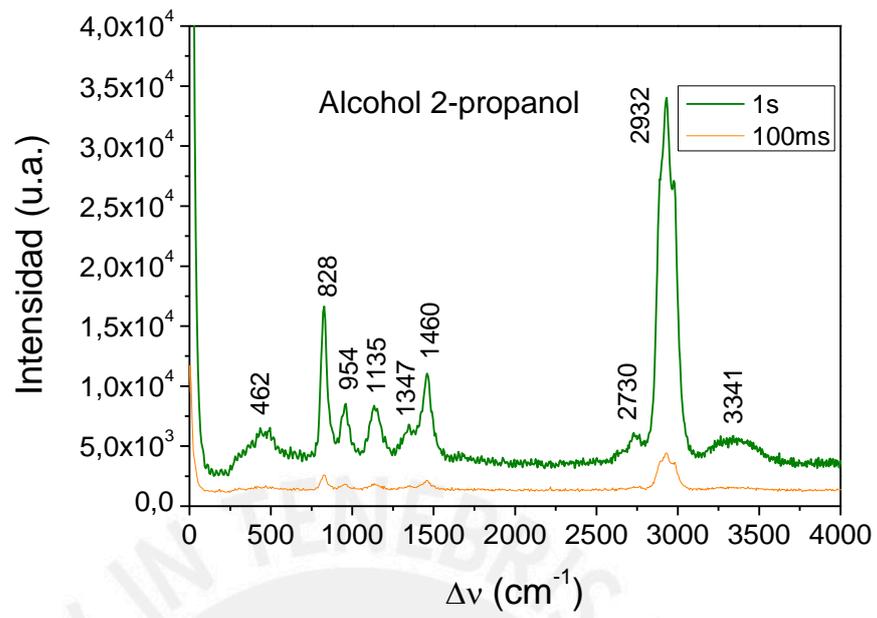


Figura 3.6: Espectro Raman del alcohol 2-propanol para tiempos de integración de 1s y 100 ms.

Capítulo 4. Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

1. Se ha desarrollado un prototipo de equipo de espectroscopía Raman para análisis cualitativo de muestras en polvo y en solución. El equipo tiene una resolución óptica de 1.4 nm (35 cm^{-1} en unidades empleadas en espectroscopía molecular) y un rango espectral de 200 a 4000 cm^{-1} . Estos parámetros dependen del sistema de detección instalado que en este trabajo es el espectrómetro ocean optics USB4000UV-VIS-ES, el cual tiene una rejilla de difracción de 600 líneas por mm, un rango espectral de 0-850 nm y apertura numérica de 0.22.
2. Se ha conseguido filtrar la señal Rayleigh hasta una intensidad menor a 10000 u.a. con un tiempo de integración de 50 ms (véase figura 2.25) posicionando el filtro con una inclinación mayor a los 3° . Así se ha evitado la saturación del espectrómetro pero se ha comprometido la señal Raman en el rango espectral de 532 nm a 540 nm, generando pérdida de información en dicha región. Sin embargo, se ha favorecido la colección de la señal Raman en la región 544 a 700 nm ($\Delta\nu$: $220\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$) permitiendo elevar la intensidad de la señal Raman con tiempos de integración de hasta 8 segundos sin riesgo de superposición de la banda Rayleigh.
3. La calibración del equipo se ha desarrollado con la técnica de desplazamiento en frecuencia Raman y se han empleado las muestras en polvo de óxido de titanio. Se han evaluado los modos vibracionales: 398.6 cm^{-1} , 523.5 cm^{-1} y 642.0 cm^{-1} para el óxido de titanio. En todos los casos, los resultados obtenidos tienen una desviación estándar menor a 4 cm^{-1} . Estos resultados se han contrastado con la información presentada en “Raman Spectroscopy for Chemical Analysis (Mc. Creery, 2000).” En cada caso,

las diferencias entre el valor pico experimental y el valor pico reportado (en la literatura) fue menor a 4 cm^{-1} .

4. Se ha establecido un protocolo de alineación para un equipo Raman con geometría 180° y con colección a muestras en dos ejes. Se ha definido como primer resultado válido de la alineación, la formación de un spot de anillos circulares igualmente espaciados y con un mínimo en la zona central. Esta forma del spot obedece a la geometría del equipo que tiene la estructura del experimento de Michelson.

Así mismo, se ha definido como prueba concluyente de la validez de la alineación, la detección de muestras con débil emisión Raman, éste fue el caso del óxido de zinc con bandas en 545 nm y 567 nm y del agua desionizada con una banda centrada en 648 nm .

5. Dada la resolución óptica de este equipo de 38 cm^{-1} , su utilidad se debilita al evaluar muestras de campo de sólidos, líquidos y material biológico cuyos modos de vibración tiene un ancho de banda de 10 cm^{-1} para sólidos y líquidos y entre 10 cm^{-1} a 20 cm^{-1} para material biológico (Chiwo Gonzáles, 2015).

4.2 Recomendaciones

1. Con la finalidad de aumentar la resolución óptica del equipo Raman hasta los 10 cm^{-1} (0.3 nm), se sugiere disponer de rejilla de difracción de mayor densidad. La aplicación de este nuevo elemento dispersor no afectará el rango espectral de interés, ya que en espectroscopía molecular, las bandas de los enlaces C-X, C-C, C-O, C-N, C=O, C=N, C=C, O-H, C-H se encuentran en la región visible, entre 0 a 4000 cm^{-1} .
2. En la etapa de filtrado de la señal, se recomienda instalar un filtro de densidad óptica mayor a 7 y con corte menor a 0.5 nm . Ello con la finalidad de eliminar la señal Rayleigh sin comprometer la señal Raman

en la región $0-250\text{ cm}^{-1}$, ya que en esta región denominada huella digital, es posible distinguir a cada molécula presente en una muestra.

Si bien la instalación de un filtro de corte elimina la señal Raman anti-Stokes, esta información no es trascendente en este equipo debido a la débil intensidad de estas bandas respecto de la señal Stokes.

3. Con la finalidad de reducir la fluorescencia en muestras como la Rodamina 6G, se recomienda incorporar el uso de sensores nanoestructurados de plata que contribuyan a incrementar la señal Raman en 10^6 veces. Así mismo, la aplicación de estos sensores favorece la aniquilación de la fluorescencia que en algunos casos se superpone a la señal Raman.
4. Una aplicación que podría implementarse en este equipo consiste en la detección Raman de piezas de regular tamaño (superior a los 10 cm de espesor) como es el caso de material arqueológico y rocas y minerales de origen natural. En este caso, se recomienda disponer de una plataforma portamuestras con desplazamientos en los ejes x-y-z.

Bibliografía

1. Browne, W. R., & Mc. Garvey, J. J. (2007). The Raman effect and its application electronic spectroscopies in metal - centered species: Techniques and investigations in ground and excited states. *Coordination Chemistry Reviews* (251), 454-473.
2. Cacela, C., Duarte, M., & Fausto, R. (2000). Structural and vibrational characterisation of 3-amino-1-propanol a concerted SCF-MO ab initio, Raman and infrared (matrix isolation and liquid phase) spectroscopy study. *Spectrochimica Acta Part A* (56), 1051-1064.
3. Chang, R. (2007). *Química* (novena ed.). (P. E. Vásquez, Ed.) México, D.F., México: Mc Graw-Hill Interamericana.
4. ChemicalBooks. (s.f.). Recuperado el 2015, de Chemical Books: http://www.chemicalbook.com/ProductIndex_EN.aspx
5. Chiwo Gonzáles, F. S. (2015). *Diseño y construcción de un sistema portátil de espectroscopía Raman para diagnóstico médico no-invasivo*. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de San Luis de Potosí , San Luis de Potosí.
6. Clemens, P., Wei, X., Wilson, B. L., & Thomas, R. L. (2013). Anatase titanium dioxide coated single wall carbon nanotubes manufactured by sonochemical-hydrothermal technique. *Open Journal of Composite materials* (3), 21-32.
7. Ferraro, J., Nakamoto, K., & Brown, C. w. (2003). *Introductory Raman Spectroscopy* (Segunda ed.). California, Estados unidos de America: Academic Press.
8. Galvez, F., López, R., Llopis, A., & Rubio, C. (1998). *Física - Curso teórico práctico de fundamentos físicos de la ingeniería* (Primera ed.). Valencia, España: Tébar Flores S.L.
9. Guao, S., Du, Z., & Dai, S. (2009). Analysis of Raman modes in Mn-doped ZnO nanocrystals. *Physica status solidi* , 246 (10), 2329-2332.

10. Hecht, E. (2000). *Óptica* (Tercera ed.). Madrid: Addison Wesley Iberoamericana, S.A.
11. IUPAC, I. U. (1981). Presentation of Raman spectra data collections. *Pure & Appl. Chem.* (53), 1879-1885.
12. Lewin, W. (febrero de 2012). Recuperado el 4 de Abril de 2016, de www.youtube.com/poramoralafisica:
<https://www.youtube.com/watch?v=ZD1roP5wISU>
13. Mc. Creery, R. (2000). *Raman spectroscopy for chemical analysis* (Primera ed.). Canadá: Wiley Interscience.
14. McCreery. (s.f.). Recuperado el 2016, de Mc Creery Research Group - National Institute for nanotechnology:
<http://www.chem.ualberta.ca/~mccreery/ramanmaterials.html>
15. OceanOptics. (s.f.). Recuperado el 2015, de OceanOptics:
www.oceanoptics.com
16. PubChem. (s.f.). Recuperado el 2016, de PubChem-Open Chemistry Database:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1031#section=Top>
17. Raman, C. V. (1929). The Raman effect - Investigation of molecular structure by light scattering. *Trans. Faraday Soc.* (25), 781-792.
18. Rosas Román, I. R. (2012). *Desarrollo de un sistema Raman para el control de materias primas*. Tesis de maestría, Centro de Investigaciones en Óptica, s/l.
19. Sato Berrú, R. Y. (2003). *Detección de contaminantes en la agricultura mediante espectroscopía Raman*. Tesis de doctorado en ciencias (óptica), Centro de Investigaciones en Óptica, Guanajuato.
20. Shangai Dream Lasers Technology Co., L. (s.f.). Recuperado el 2015, de Shangai Dream Lasers Technology Co., Ltd: www.dreamlasers.com
21. Skoog, D., Holler, J., & Crouch, S. (2008). *Principios de Análisis Instrumental* (sexta ed.). (S. Cervantes Gonzales, Ed.) México D.F., México: Cengage.

22. Smith, E., & Dent, G. (2005). *Modern Raman Spectroscopy - A Practical Approach* (Primera ed.). (A. Rowe, & C. Wiltshire, Edits.) Chichester, England: John Wiley & Sons, Ltd.
23. Thorlabs. (s.f.). Recuperado el 2015, de Thorlabs: www.thorlabs.com
24. Zehentbauer, F. M., Bain, E. J., & Kiefer, J. (2012). Multiple parameter monitoring in a direct methanol fuel cell. *Measurement Science and Technology*.



Anexos



A. Introducción a la espectroscopia de superficie aumentada (SERS)

La espectroscopía vibracional (a través de medidas de absorción infrarroja y/o dispersión Raman) es una técnica de elección si se trata de discriminar la existencia de una molécula puesto que es capaz de proporcionar la “huella dactilar” de cada molécula. Sin embargo, su baja sensibilidad, especialmente en el caso de la espectroscopía Raman, supone una grave limitación para su utilización en soluciones a bajas concentraciones. Para aumentar la sensibilidad de esta técnica, se puede recurrir a obtener los espectros vibracionales de la molécula en presencia de superficies metálicas nanoestructuradas [1].

La razón es la siguiente: las nanoestructuras metálicas presentan polarizabilidades grandes debido a las oscilaciones colectivas de su nube de electrones que reciben el nombre de “plasmones superficiales localizados” (en inglés *Localized Surface Plasmons*, LSP) (Willets, 2007). La excitación resonante de dichos plasmones, por ejemplo mediante el láser utilizado para obtener los espectros Raman, produce enormes intensificaciones del campo electromagnético local en las proximidades de las nanoestructuras metálicas. Tal efecto ha sido ampliamente utilizado para incrementar la señal Raman (y por tanto la sensibilidad de la técnica) en varios órdenes de magnitud, en lo que se conoce como espectroscopía SERS (en inglés *Surface-Enhanced Raman Scattering*).

Actualmente se acepta que la intensificación SERS se debe a dos mecanismos fundamentales: el mecanismo de intensificación electromagnético (EM) y el mecanismo químico o de transferencia de carga (CT). El mecanismo EM es considerado excluyente; en ausencia de él, el efecto SERS no tiene lugar. Sin embargo el mecanismo de transferencia de carga puede participar o no, dependiendo de la naturaleza de la molécula, de las condiciones experimentales y requiere un enlace químico entre la molécula y el sustrato [2].

Mecanismo electromagnético (EM)

En el caso de emplear nanopartículas como soportes SERS, cuando se hace incidir sobre los mismos una onda monocromática plana cuya frecuencia sea cercana a la resonancia del plasmón localizado del metal, se produce una notable intensificación del campo cercano a la superficie metálica. Dicha intensificación, que es el origen del efecto SERS, depende de la naturaleza del metal, así como de la morfología de la nanopartícula [2].

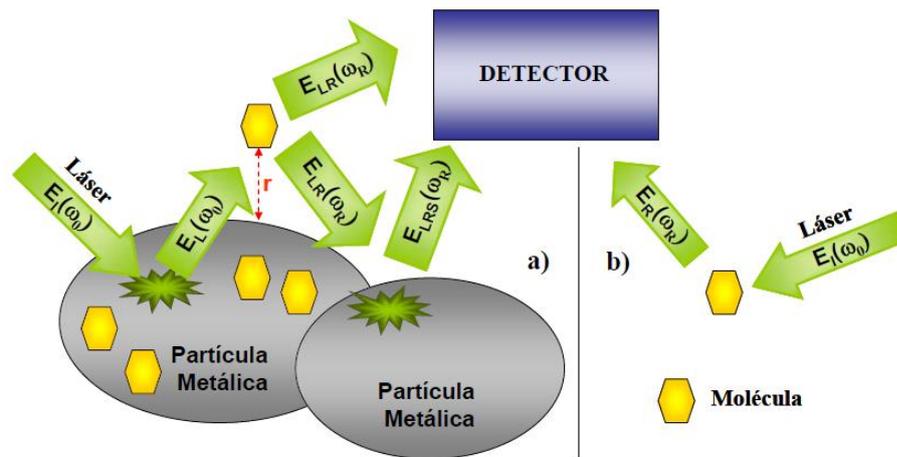


Figura 1: Esquema de los procesos de dispersión Raman y dispersión Raman de superficie aumentada. Tomado de [2]

La figura 1 muestra de manera esquemática el fenómeno que tiene lugar en presencia y ausencia de metal.

La enorme intensificación que experimenta la radiación Raman se debe al efecto multiplicativo producido por dos procesos; la intensificación del campo EM incidente sobre la molécula y propia radiación Raman emitida por la molécula en presencia de la nanopartícula (NP).

En dicho caso, el campo EM que incide sobre la molécula, situada en una posición r es la suma del campo incidente (E_I) más el campo emitido por el propio metal (E_L), siendo este último predominante sobre el inicial cuando la frecuencia se hace coincidir con la frecuencia de los plasmones superficiales localizados del metal. En un segundo proceso, la radiación Raman emitida por la molécula (E_{LR}), sufre a su vez una intensificación

sobre las nanopartículas metálicas, ya que excita los plasmones superficiales de la misma. En definitiva, se produce una emisión Raman global (E_{LRS}) enormemente intensificada en relación a la emisión Raman que se tiene en ausencia de NP (E_R).

Según el mecanismo EM, existen varios parámetros que influyen en la intensificación SERS, como son la morfología de las NPs metálicas, la distancia de la molécula a la superficie metálica y la orientación del adsorbato (molécula objeto de estudio adsorbida sobre el metal) sobre la superficie.

Además, se ha demostrado que las NPs agregadas generan una mayor intensificación SERS. Asimismo, en los intersticios entre dos NPs (a una distancia menor de 2-3 nm) el campo EM aumenta notablemente hasta alcanzar valores de intensificación SERS del orden de 10^{11} . A estos intersticios se les denominan “hot spots”. Actualmente se considera que la mayor parte de la intensificación SERS debe a ellos.

La distancia del adsorbato respecto de la superficie metálica es otro de los factores claves implicados en la intensificación SERS [2].

Una condición para que la molécula “a detectar” pueda beneficiarse de esos enormes campos electromagnéticos locales y que, por lo tanto, se produzca el aumento de sensibilidad de las técnicas espectroscópicas, es que la molécula se encuentre a menos de 5 nm de la superficie metálica nanoestructurada. Y aquí entra en juego la afinidad de las moléculas por los metales [1]. Al respecto pueden definirse tres grupos de moléculas:

- a) Moléculas con grupos funcionales que interaccionan con el metal (por ejemplo, el grupo tiol tiene una gran afinidad por el oro y el grupo nitro por la plata). Este tipo de moléculas son las ideales para ser detectadas mediante SERS puesto que se aproximan suficientemente a la superficie metálica manteniendo su integridad [1].
- b) Moléculas en las que la interacción con el metal es tan fuerte, que sufren un proceso de degradación al estar en contacto con el metal, como les ocurre a

algunos polifenoles, detectándose entonces los productos de degradación (Sánchez-Cortés, 2000).

- c) Moléculas que no muestran afinidad alguna por los metales y que, por lo tanto, no se aproximan a las superficies metálicas nanoestructuradas que nos ocupan.

Cuando las moléculas a detectar no presentan afinidad por los sustratos metálicos, se hace necesario funcionalizarlos adecuadamente para conseguir que esas moléculas se aproximen lo suficiente a las nanoestructuras metálicas como para que se beneficien de los enormes campos electromagnéticos locales y, por lo tanto, puedan ser detectadas mediante las técnicas de espectroscopía vibracional intensificadas SERS (*Surface-enhanced Raman Scattering*) [1].

Sustratos nanoestructurados

Con la finalidad de lograr la adherencia de las nanopartículas metálicas sobre sustratos de vidrio, es necesario modificar la superficie del sustrato con aminopropyltrimethosixilane (APTMS) o mercaptopropytrimethoxysiane (MPTMS) [3].

Un primer paso, consiste en limpiar los sustratos de vidrio usando la solución piraña o agua regia y enjuagar con abundante agua, luego se secan los sustratos usando un flujo de nitrógeno y se enjuagan con metanol y se sumergen en 10 mM MPTMS de solución metanólica por 24 horas para modificar la superficie del sustrato. Finalmente, los sustratos son enjuagados con metanol, secados con nitrógeno y enjuagados otra vez con agua y de esta forma quedan listos para sumergirlos en la síntesis de NPs de Ag y favorecer la adherencia de moléculas del grupo nitro [4].

Síntesis de las Nanopartículas de plata por la reacción de Tollens

Una solución (solución A) se prepara mediante la adición de varias gotas de hidróxido de amonio concentrado sobre 150 ml de 0.1 M de nitrato de plata (AgNO_3) y revolviendo hasta formar inicialmente un precipitado marrón, luego se agrega 75 ml 0.8

M de KOH a la solución y se agregan gotas de hidróxido de amonio para disolver cualquier precipitado resultante de la adición de KOH.

Otra solución (solución B) consiste de 100 ml 0.05 M de solución de dextrosa en agua desionizada.

Finalmente, se tomó 0.1 ml de cada solución A y B, se mezclaron y el producto obtenido se depositó sobre la cubierta limpia de los sustratos de vidrio.

De esta forma se obtienen varias coberturas de plata, cada una con diferentes tiempos de reacción antes de enjuagar la solución reactante con agua [5].

Caracterización del sustrato de plata nanoestructurado

La morfología del sustrato SERS desarrollado por Z. Wang y L. J. Rothberg [5], se evalúa a partir de las técnicas de AFM y SEM para diferentes tiempos de deposición y los resultados se muestran en la figura 2.

El recubrimiento de plata alcanzó un espesor de 0 a 80 nm de acuerdo a las imágenes mostradas por TEM en los 3 tiempos de exposición. La fotografía SEM determinó la forma y el diámetro de las NPs para los tiempos de exposición de 45 s, 100 s y 180 s, siendo de 40 nm, 100 nm y > 200 nm respectivamente. En el primer y segundo caso, se observa que las NPs tienen una forma esférica, mientras que en el tercer caso, se observa aglomeración de las NPs de plata.

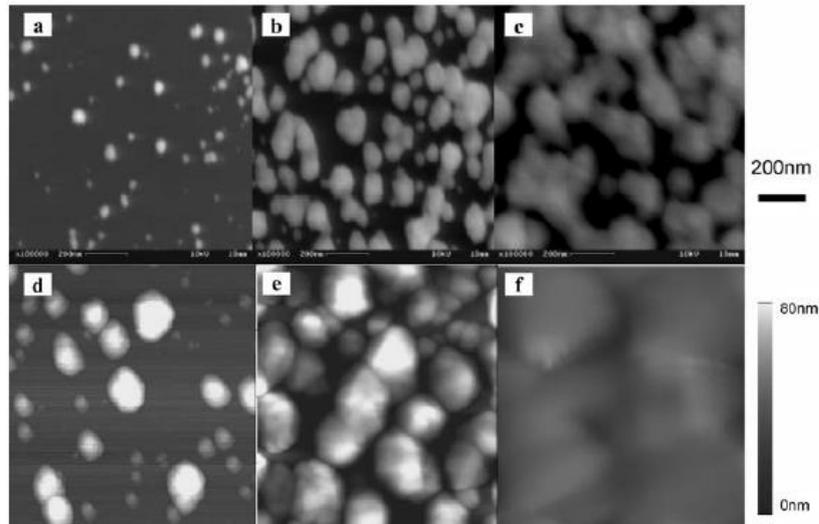


Figura 2. Imágenes SEM de sustratos de plata para tiempos de exposición de a) 45 s, b) 100 s y c) 180 s. Las zonas oscuras son del sustrato y las áreas blancas corresponden a las NPs de plata. Las imágenes d), e) y f) son películas AFM correspondientes a los mismos tiempos de exposición de a – c. El tamaño de la imagen es de 1 x 1 μm . (Tomado de [5])

Propiedades ópticas del sustrato

Las propiedades ópticas de NPs metálicas están determinadas por la interacción de la luz incidente con la conducción de electrones libres. Cuando hay un acoplamiento entre la frecuencia del campo eléctrico alternativo de la radiación electromagnética y la oscilación de los electrones conductores, la condición de la resonancia del plasmón se cumple y entonces se produce la absorción. Para las NPs esféricas de plata, tal resonancia suele tener lugar en el rango visible. [6]

La Figura 3, muestra como las propiedades ópticas de los sustratos varían a medida que el espesor de la película de plata y el diámetro de las NPs cambian. En particular se midió la reflexión, transmisión y espectro de extinción (este último está asociado a la concentración de las NPs de plata sobre el sustrato) considerando los diferentes tiempos de deposición [5].

El espectro de transmisión de la de la figura 3a (45 s deposición) muestra un pico de extinción de 440 nm correspondiente a la única resonancia de plasmones de las partículas de plata de aproximadamente 30-50 nm de tamaño, así mismo, hay poca reflexión. A medida que aumenta el espesor de la película de plata (Fig. 3b, 55 s), el espectro de extinción amplía notablemente al rojo, así como, las nanopartículas crecen y se agregan de manera que múltiples resonancias de plasmones de partículas localizadas se vuelven importante. Con más deposición de NPs de plata (Fig. 3c, 100 s), el espectro de reflexión indica que la película se vuelve semitransparente. Por último (Fig. 3d, 180 s), la película se vuelve opaca y altamente reflectante, aunque la cobertura es aún incompleta y la reflectividad es menor que la característica de plata a granel. Se observa que el aumento de la cobertura de plata entre Fig. 3c y 3d ha resultado en una disminución de la extinción [5].

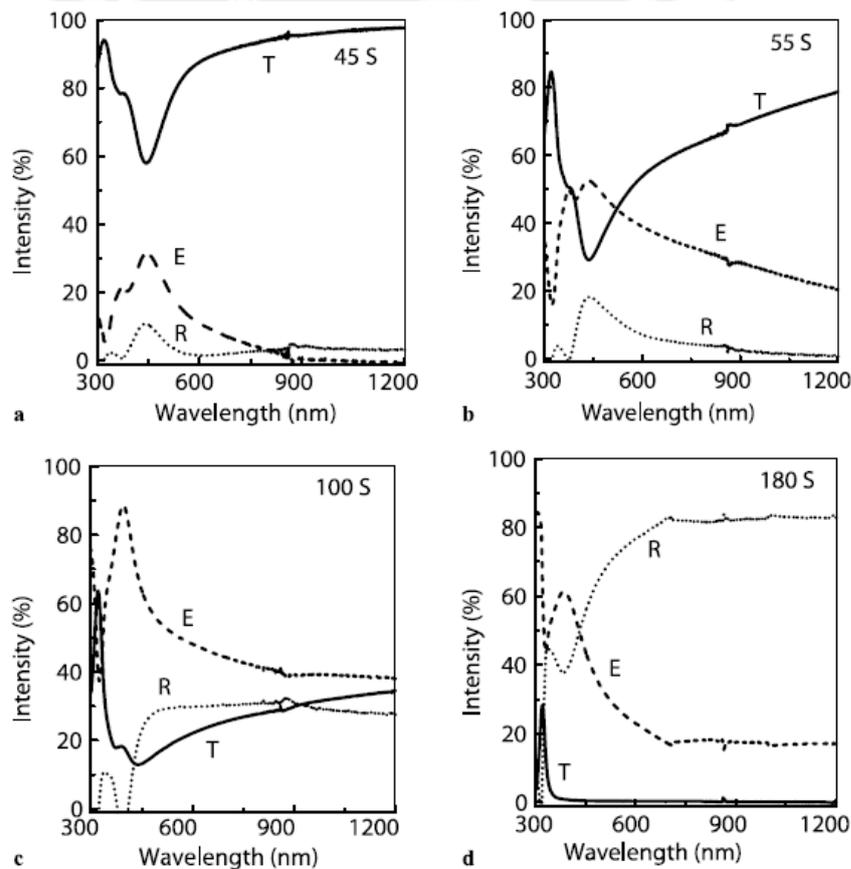


Figura 3. Espectros de transmisión (T), reflexión (R) y extinción (E) de películas de plata para diferentes tiempos de deposición. (Tomado de [5])

Evaluación SERS de 4-mercaptopyridine

La figura 4, muestra el espectro Raman para superficies de plata con tiempos de deposición de 55 s y 135 s con muestra de 4- mercaptopyridine y se observa una pequeña dependencia con el recubrimiento de plata.

Las frecuencias Raman a 1013 cm^{-1} , 1100 cm^{-1} and 1580 cm^{-1} están asociados con las vibraciones del anillo piridina.

En el espectro se observa que, aunque no haya una variación significativa en la detección de los modos vibracionales con cada una de las películas de plata, sin embargo, si hay un aumento en la intensidad de la señal Raman a 1100 cm^{-1} que se asocia a la película de plata con tiempo de deposición de 55 s [5].

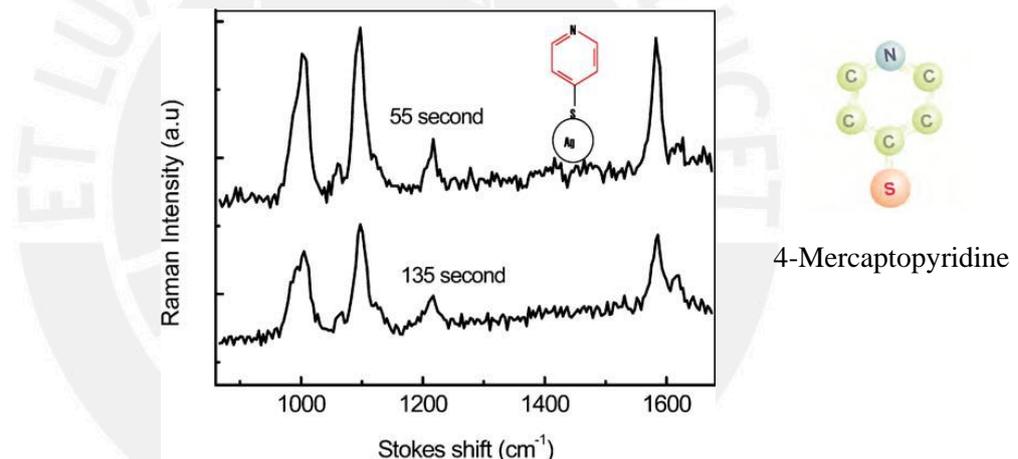


Figura 4: Espectro Raman de 4- mercaptopyridine (4-mpy) adsorbidas a superficies de plata fabricadas con tiempos de deposición de 55 s y 135 s. El recuadro muestra la estructura molecular de 4-mpy y el sitio de unión entre 4-mpy y la plata. (Tomado de [5])

Referencias

- [1] DOMINGO, L. C.
2008 *“Superficies metálicas nanoestructuradas y su funcionalización para sensores moleculares basado en espectroscopía vibracional (Raman é Infrarroja) intensificada por superficies”*, España, Instituto de estructura de la materia-CSIC.
- [2] DEL PUERTO, N. E.
2012 *“Detección y caracterización de quinacridonas de altas prestaciones mediante espectroscopías moleculares (Raman y fluorescencia) intensificadas por nanopartículas metálicas”*, tesis doctoral, CSIC.
- [3] BALLEZA, J.C.
2014 *“Superficies metálicas nanoestructuradas y su aplicación en espectroscopía vibracional”*, Tesis, UNAM.
- [4] MAIKUN, Fan y Alexandre G. BROLO
2009 *“Silver nanoparticles self assembly as SERS substrates with near single molecule detection limit”*, Physical Chemistry.
- [5] ZHENJIA Wang y L. J. ROTHBERG
2006 *“Silver nanoparticle coverage dependence of surface-enhanced raman scattering”*, USA, University of Rochester.
- [6] GUERRERO, D. X
2009 *“Síntesis y propiedades de nanopartículas monometálicas y bimetálicas oro - plata”*, Ingenierías Octubre 2009, vol. XII.

**B. Estudio de aminoácidos mediante las técnicas Raman y SERS desarrollado en
CCADET-UNAM**

**POSTER
(SOPERFI 2014. CUZCO)**

**ESTUDIO DE AMINOÁCIDOS MEDIANTE LAS
TÉCNICAS RAMAN Y SERS**

Aransselly Quiroz¹, Roberto Sato², José Saniger², Rubén Sánchez¹

¹Departamento de Ciencias, Pontificia Universidad Católica del Perú, Ap. Apartado Postal 1761, Lima 32, Perú

²Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P. 06510, México, D.F.

Introducción

El efecto Raman tiene lugar cuando una fuente de luz que ilumina una molécula interacciona con la nube electrónica de sus enlaces, provocando una distorsión momentánea de los electrones distribuidos alrededor del enlace de la molécula, seguida por la emisión de la radiación, la cual tiene una frecuencia distinta de la radiación incidente cuando el enlace vuelve a su estado normal [1]. La fracción de la radiación emitida (emisión Raman) proporciona información de la composición molecular (modos de vibración) de una sustancia y es del orden de 1 por cada 10^7 fotones incidentes. Una alternativa para aumentar la sección eficaz de la emisión Raman se consigue por aplicación del efecto SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy) que consiste en intensificar la señal Raman cuando las moléculas se encuentran en contacto con una superficie metálica nanoestructurada (Ag, Au, Cu) [2].

Metodología

Para evaluar la capacidad de respuesta Raman y SERS de los sustratos, se tomó los espectros de la Rodamina 6G (muestra de referencia) en 4 tipos de sustratos: sustrato de aluminio, sustrato de plata por evaporación, sustrato de plata por sputtering y sustrato de

plata por Tollens. En todos los casos, el espectro fue tomado sobre zonas residuales de la muestra en solución (1ul de muestra a 10^{-6} M). El equipo empleado en esta etapa es el Espectrofotómetro Raman Dispersivo Nicollet Almega XR, 532nm, resol.: 4cm^{-1} , pot.: 25mW. (Véase figuras 1a, 1b y 1c).

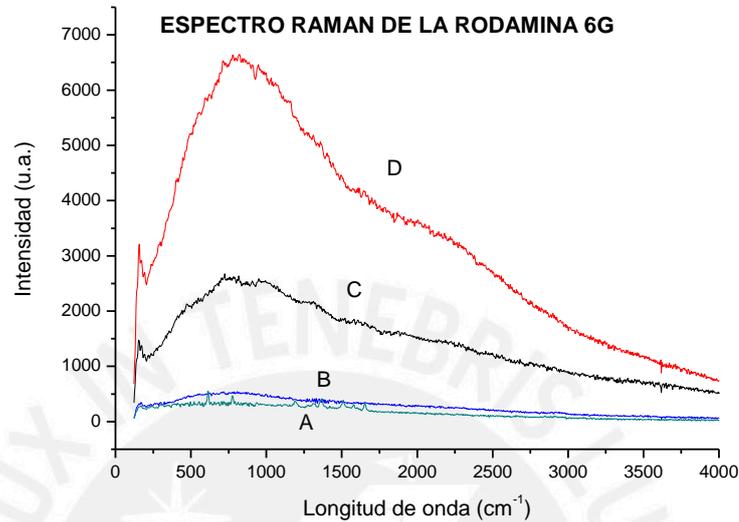


Figura 1a. Espectro Raman de la Rodamina 6G (concentración 10^{-6} M) sobre sustrato de aluminio (C). y sustratos de plata: por evaporación (D), por sputtering (B) y por Tollens(A).

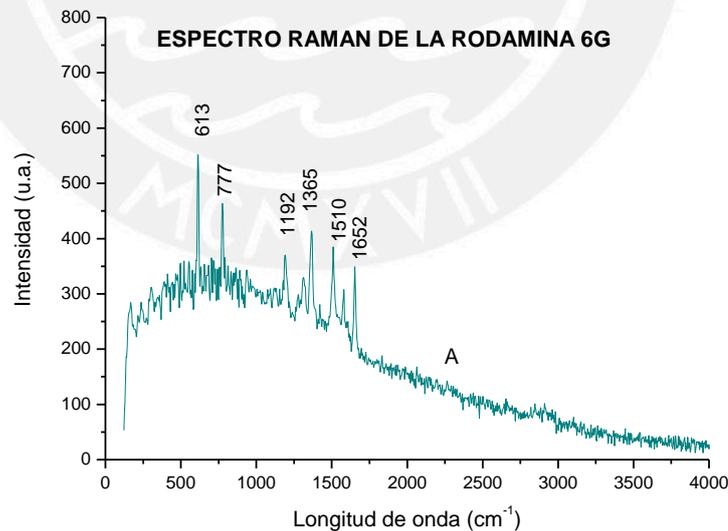


Figura 1b. Detalle de espectro Raman de la Rodamina 6G (concentración 10^{-6} M) sobre sustrato de plata por Tollens (Curva A en fig. 2a).

De las figuras 1a y 1b, se observa que la respuesta espectral de la muestra mejora con el sustrato de Tollens elaborado a una concentración de 100mM.



Figura 1c. Imágenes de zonas muestreadas en los espectros de la figura 2. (A) sustrato Ag-Tollens, (B) Sustrato de Ag. Sputtering, (C) sustrato de Al. (D) Sustrato Ag-evaporación

Resultados

Con el sustrato de Tollens, se obtuvo la señal SERS de aminoácidos en solución (Concentración: 1000ppm) depositando 1ul de muestra. El equipo empleado en esta etapa es el sistema Raman WiTec, con 532 nm, 75mW de potencia y captura de datos por mapeo. La figura 2a y 2b muestran los espectros obtenidos y la regiones muestreadas respectivamente.

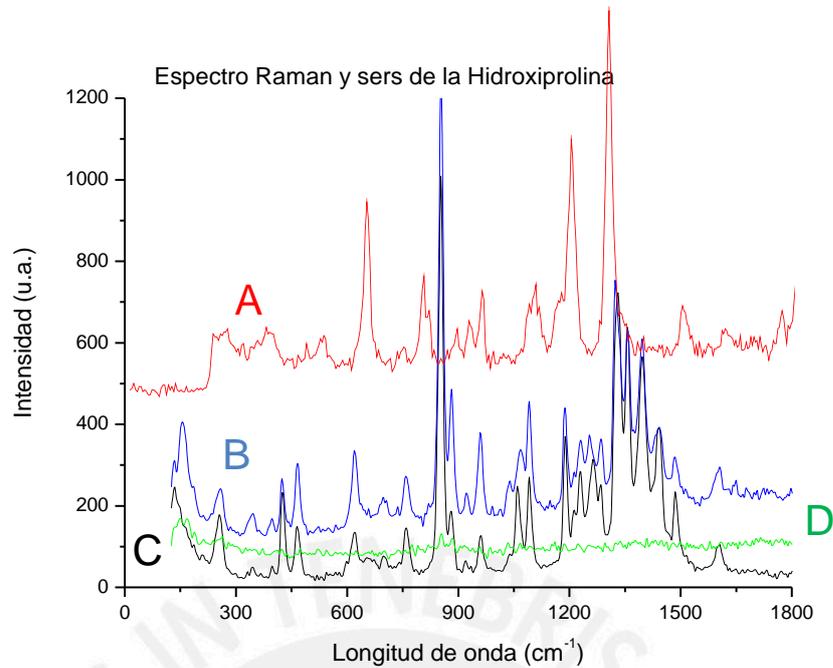


Figura 2a. Espectro del aminoácido hidroxiprolina: (A) espectro SERS de residuos de muestra en sustrato de Ag-Tollens, (B) espectro Raman de muestra recristalizada sobre sustrato de Al, (C) espectro Raman de aminoácido en polvo, (D) espectro Raman de residuos de muestra en sustrato de Al.

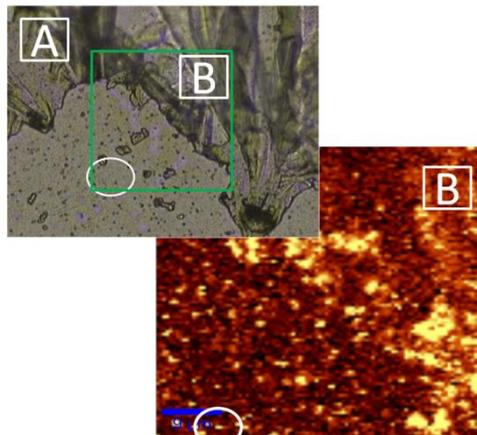


Figura 2b: Imágenes de sustrato de Ag.-Tollens con muestra de aminoácido. (A) vista del sustrato con muestra en solución capturada con objetivo 50x. (B) selección y vista del área mapeada a 50 x 50 μm .

Cuantificación de material estudiado:

Siguiendo la metodología desarrollada en [3] y asumiendo una distribución uniforme de la muestra sobre el sustrato, se estimó en 1.5×10^{-12} gr. ó 1.26×10^{10} moléculas, la cantidad de material colectada por el espectrómetro.

$g = n_s * W$: es la masa de la muestra en gramos

W es el peso molecular de la muestra

$n_s = (A_s/A_H) * C_i * V_{muestra}$: es el número de moles en el spot láser

$N_{moléculas} = n_s * N_{AV}$; es el número de moléculas



Referencias:

- [1] SKOOG, Douglas, James HOLLER y Stanley CROUCH
2008 *Principios de Análisis Instrumental*. Sexta Edición. Mexico: Cengage Learning Editores.
- [2] DEL PUERTO, N. E.
2012 *“Detección y caracterización de quinacridonas de altas prestaciones mediante espectroscopías moleculares (Raman y fluorescencia) intensificadas por nanopartículas metálicas”*, tesis doctoral, CSIC.
- [3] ARAIZA, E. y otros
2013 *“Quantification of solid residues by Raman spectroscopy”*, Optics and Photonics Journal, año 2013, número 3, pp. 1-6

Agradecimientos:

El autor agradece la colaboración del Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico de la Universidad Nacional Autónoma de México (CCADT-UNAM) y el apoyo económico de la Escuela de de la Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP).

C. Plan de Negocios

“DESARROLLO DE EQUIPOS DE ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA DETECCIÓN DE CONTAMINANTES EN AGUAS CRUDAS A NIVEL CUALITATIVO”

Justificación:

En nuestro país hace falta producir este tipo de tecnología, de bajo costo, que no requiera preparación de la muestra y con muy cortos tiempos de adquisición y procesamiento. Con estos equipos es posible detectar casi en tiempo real sustancias contaminantes en productos acuosos y verificar si estos han sido o no adulterados en su composición, como es el caso de las bebidas alcohólicas (podría presentar elevadas concentraciones de metanol perjudicial para la salud), los lácteos (comercializados como producto “sin lactosa”), contaminación de aguas crudas por hidrocarburos, relaves mineros y productos químicos derivados de la actividad agrícola y del consumo humano, así mismo, es posible detectar la calidad y cristalinidad de minerales que se extraen en el Perú como el cobre, la plata, oro, hierro, carbón mineral, así como otros productos de extracción como el petróleo y el gas natural.

Descripción de la propuesta:

Si bien la aplicación de esta técnica permite determinar la calidad de sustancias en diferentes sectores de la producción como: agricultura (control de pesticidas en suelos), minería, industria alimentaria, industria textil, industria de la construcción; también resulta de interés su aplicación en el control de calidad de los recursos naturales presentes en el medio ambiente. En esta propuesta, nos centraremos en el análisis del recurso hídrico: ríos, cuencas, lagos, aguas costeras, ello, debido a sus elevados índices de contaminación en determinadas regiones del Perú.

“En el Perú se produce una contaminación permanente del recurso hídrico tanto por productos químicos derivados de la minería y el narcotráfico, como por compuestos orgánicos derivados de las descargas domésticas, hospitalarias e industriales [1]”. La tabla 1, muestra las regiones afectadas según tipo el tipo de vertido.

Tabla 1:

Identificación de zonas afectadas por contaminación de productos químicos y compuestos orgánicos.

<i>Región afectada</i>	<i>Contaminación por productos químicos generados por la extracción minera</i>	<i>Contaminación por compuestos orgánicos</i>
Oroya	Pb, Cd, otros	-
Ilo	Lluvia ácida, As	-
Callao	Pb	-
Cerro de Pasco	Pb, Cd, As.	-
Madre de Dios	Hg, cianuro	-
Lima – Río Rímac	As, Pb, Cd	Descargas domésticas, industriales, mineras y agrícolas
Puno – Lago Titicaca	Metales tóxicos y otros desechos en el lago Titicaca	Descargas domésticas, industriales y hospitalarias
Cajamarca y Ancash	Pb, Cd, As	-
Loreto – Río Corrientes	-	Vertimientos de petroleras

Fuente: Control de los contaminantes químicos en el Perú. [1].

En la Tabla 1, se muestra los tipos de contaminantes por productos químicos y compuestos orgánicos, sin embargo solo algunos de ellos ó sus derivados son detectados por espectroscopía Raman, es el caso de los sulfatos y bisulfatos que resultan de la extracción minera y que aumentan los niveles de acidez del recurso hídrico [2] mientras que, entre los contaminantes que resultan de las descargas domesticas, industriales y hospitalarias se encuentran los bicarbonatos, fluoruros y fosfatos. Los límites permisibles para estas sustancias son del orden de ppm (partes por millón) de acuerdo a los estándares nacionales de calidad del agua vigente en Perú y se muestran en la tabla 2.

Tabla 2:

Límites permisibles de algunas sustancias derivadas de las descargas domésticas, industriales y mineras.

<i>Parámetros</i>	<i>Aguas que pueden ser potabilizadas con desinfección</i>	<i>Riesgo de vegetales</i>	<i>Riesgo de bebidas de animales</i>	<i>Ríos de la costa y sierra</i>
Bicarbonatos	-	370 ppm	-	-
Fluoruros	1 ppm	1 ppm	-	-
Fosfatos	-	1 ppm	-	0.5 ppm
Sulfatos	250 ppm	300 ppm	500 ppm	-

Fuente: Estándares nacionales de calidad ambiental para agua [3].

Ventaja competitiva:

- La aplicación de ésta Técnica de espectroscopía reducirá los tiempos de análisis ya que al no requerir casi ninguna preparación de la muestra, se podría decir que tiene una capacidad de detección en tiempo real.
- Las dimensiones del equipo pueden reducirse hasta lograr su portabilidad, lo que permitirá desarrollar mediciones in situ y garantizar un monitoreo permanente en las regiones afectadas.
- El equipo tiene un costo de 14000 nuevos soles, y podría optimizarse para facilitar la transferencia de datos a través de la nube.

Referencias:

[1] CHUNG, Betty

2008 Control de los contaminantes químicos en el Perú. Scielo Perú. Lima, s/a, volumen 25, número 4. Consulta: 13 de julio de 2016.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342008000400012.

[2] SOBRÓN, Pablo

2008 *Acidic Aqueous Solutions and Sulfate-Rich Mineralogy: Raman Investigations of Rio Tinto, Spain, a Model for Acid mine Drainage and a Potential martian Analog*. Tesis de Doctorado. Universidad de Valladolid, Departamento de Física de la Materia Condensada, Cristalografía y Mineralogía, Facultad de Ciencias. Consulta: 13 de julio de 2016.
<http://uvadoc.uva.es/handle/10324/2439>

[3] PRESIDENTE DE LA REPÚBLICA

2008 Decreto Supremo N° 002-2008-MINAM. Aprueban los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua. Lima, 31 de julio. Consulta: 13 de julio de 2016.
http://www.minam.gob.pe/calidadambiental/wp-content/uploads/sites/22/2013/10/ds_002_2008_eca_agua.pdf