

Espectroscopia Raman y sus aplicaciones

Raman spectroscopy and its applications

Jorge Castro Ramos, Adrián E. Villanueva Luna^(*), Carlos M. Ortiz Lima

Coordinación de Óptica, Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica, Luis Enrique Erro #1, Tonantzintla, Puebla, México.

^(*) Email: euge69869@yahoo.com

Recibido / Received: 15/01/2013. Revisado / Revised: 22/02/2013. Aceptado / Accepted: 26/02/2013.

DOI: <http://dx.doi.org/10.7149/OPA.46.1.83>

RESUMEN:

El presente artículo trata una de las técnicas espectroscópicas con mayor crecimiento en los últimos 20 años: la espectroscopia Raman. Se describen algunas de las aplicaciones más importantes que se conocen en el mundo hoy en día desde su origen así como la relación que ha tenido con los avances tecnológicos que han generado un alto impacto en la sociedad. Se explica de manera didáctica a fin de que estudiantes de bachillerato y licenciatura conozcan los fundamentos de la espectroscopia Raman.

Palabras clave: Espectroscopia, Espectroscopia Raman.

ABSTRACT:

This paper addresses one of the fastest growing spectroscopic techniques over the past 20 years: Raman spectroscopy. It describes some of the most important applications that are known in the world nowadays from its origin and the relationship it had with the technological advances that have generated a high impact on society. It explains in a didactic way so that high school and undergraduate students learn the fundamentals of Raman spectroscopy.

Key words: Spectroscopy, Raman spectroscopy.

REFERENCIAS Y ENLACES / REFERENCES AND LINKS

- [1]. R. P. Feynman, R. B. Leighton, M. Sands, *The Feynman Lectures on Physics, Vol. II: The New Millennium Edition: Mainly Electromagnetism and Matter*, First Trade Paper Edition, Basic Books, New York (2011).
- [2]. P. Tipler, *Physics for Scientists and Engineers: Electricity, Magnetism, Light, and Elementary Modern Physics*, 5th Edt., W. H. Freeman, New York (2004).
- [3]. S. I. Newton, *Opticks*, CreateSpace, London (2012).
- [4]. J. C. D. Brand, *Lines of Light: the Sources of Dispersive Spectroscopy, 1800-1930*, CRC Press, New York (1995).
- [5]. A. Montwill, A. Breslin, *Let There Be Light: The Story of Light from Atoms to Galaxies*, 2nd Edt., Imperial College Press, London (2012).
- [6]. G. W. Castellan, *Physical Chemistry*, 3rd Edt., Addison Wesley Publishing Company, Ann Arbor (1983).
- [7]. E. Smith, G. Dent, *Modern Raman Spectroscopy: A Practical Approach*, Wiley, Great Britain (2005).
- [8]. P. N. Prasad, *Introduction to Biophotonics*, Wiley-Interscience, New Jersey (2003). [DOI](#)
- [9]. R. L. McCreery, *Raman Spectroscopy for Chemical Analysis*, Wiley-Interscience, New York (2000). [DOI](#)
- [10]. F. M. Requena, *Espectroscopia*, Pearson Publications Company, Madrid (2005).
- [11]. P. J. Caspers, G. W. Lucassen, R. Wolthuis, H. A. Bruining, G. J. Puppels, "In vitro and in vivo Raman spectroscopy of human skin", *Biospectroscopy* **4**, S31-S39 (1998). [DOI](#)

- [12]. P. J. Caspers, G. W. Lucassen, G. J. Puppels, "Combined in vivo confocal Raman spectroscopy and confocal microscopy of human skin", *Biophys. J.* **85**, 572–580 (2003). [DOI](#)
- [13]. A. E. Villanueva-Luna, J. Castro-Ramos, S. Vazquez-Montiel, A. Flores Gil, J. A. Delgado-Atencio, "Comparison of different kinds of skin using Raman spectroscopy", *Proc. SPIE* **7572**, 75720M (2010). [DOI](#)
- [14]. A. Tfayli, O. Piot, F. Draux, F. Pitre, M. Manfait, "Molecular characterization of reconstructed skin model by Raman microspectroscopy: Comparison with excised human skin", *Biopolymers* **87**, 261–274 (2007). [DOI](#)
- [15]. A. S. Haka, K. E. Shafer-Peltier, M. Fitzmaurice, J. Crowe, R. R. Dasari, M. S. Feld, "Identifying microcalcifications in benign and malignant breast lesions by probing differences in their chemical composition using Raman spectroscopy", *Cancer Res.* **62**, 5375–5380 (2002).
- [16]. L. de Oliveira Nunes, A. A. Martin, L. Silveira, M. Zampieri, "FT-Raman spectroscopy study for skin cancer diagnosis", *Spectrosc-Int. J.* **17**, 597–602 (2003).
- [17]. E. M. Kanter, E. Vargis, S. Majumder, M. D. Keller, E. Woeste, G. G. Rao, A. Mahadevan-Jansen, "Application of Raman spectroscopy for cervical dysplasia diagnosis", *J. Biophotonics* **2**, 81–90 (2009). [DOI](#)
- [18]. P. O. Andrade, R. A. Bitar, K. Yassoyama, H. Martinho, A. M. E. Santo, P. M. Bruno, A. A. Martin, "Study of normal colorectal tissue by FT-Raman spectroscopy", *Anal. Bioanal. Chem.* **387**, 1643–1648 (2007). [DOI](#)
- [19]. A. P. Oliveira, R. A. Bitar, L. Silveira, R. A. Zângaro, A. A. Martin, "Near-infrared Raman spectroscopy for oral carcinoma diagnosis", *Photomed. Laser Surg.* **24**, 348–353 (2006). [DOI](#)
- [20]. K. Golcuk, G. S. Mandair, A. F. Callender, N. Sahar, D. H. Kohn, M. D. Morris, "Is photobleaching necessary for Raman imaging of bone tissue using a green laser?", *Biochim. Biophys. Acta* **1758**, 868–873 (2006). [DOI](#)
- [21]. M. D. Morris, W. F. Finney, R. M. Rajachar, D. H. Kohn, "Bone tissue ultrastructural response to elastic deformation probed by Raman spectroscopy", *Faraday Discuss.* **126**, 159–168 (2004). [DOI](#)
- [22]. N. Ismail, L.-P. Choo-Smith, K. Wörhoff, A. Driessen, A. C. Baclig, P. J. Caspers, G. J. Puppels, R. M. de Ridder, M. Pollnau, "Raman spectroscopy with an integrated arrayed-waveguide grating", *Opt. Lett.* **36**, 4629–4631 (2011). [DOI](#)
- [23]. P. G. Spizzirri, N. J. Cochrane, S. Prawer, E. C. Reynolds, "A comparative study of carbonate determination in human teeth using Raman spectroscopy", *Caries Res.* **46**, 353–360 (2012). [DOI](#)
- [24]. H. P. Buschman, E. T. Marple, M. L. Wach, B. Bennett, T. C. B. Schut, H. A. Bruining, A. V. Bruschke, A. van der Laarse, G. J. Puppels, "In vivo determination of the molecular composition of artery wall by intravascular Raman spectroscopy", *Anal. Chem.* **72**, 3771–3775 (2000). [DOI](#)
- [25]. A. Katz, E. F. Kruger, G. Minko, C. H. Liu, R. B. Rosen, R. R. Alfano, "Detection of glutamate in the eye by Raman spectroscopy", *J. Biomed. Opt.* **8**, 167–172 (2003). [DOI](#)
- [26]. J. Hwang, H. Choi, D. H. Jeong, M. J. Kim, H. Tchah, "Noninvasive identification of different intraocular lenses using Raman spectroscopy in porcine eyes", *J. Cataract Refr. Surg.* **33**, 709–712 (2007). [DOI](#)
- [27]. E. M. A. Ali, H. G. M. Edwards, M. D. Hargreaves, I. J. Scowen, "Raman spectroscopic investigation of cocaine hydrochloride on human nail in a forensic context", *Anal. Bioanal. Chem.* **390**, 1159–1166 (2008). [DOI](#)
- [28]. E. G. Bartick P. Buzzini, "Raman spectroscopy in forensic science", pp. 5900–5915 in *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Chichister (2009).
- [29]. J. De Gelder, P. Vandenabeele, F. Govaert, L. Moens, "Forensic analysis of automotive paints by Raman spectroscopy", *J. Raman Spectrosc.* **36**, 1059–1067 (2005). [DOI](#)
- [30]. S. D. Harvey, M. E. Vucelick, R. N. Lee, B. W. Wright, "Blind field test evaluation of Raman spectroscopy as a forensic tool", *Forensic Sci. Int.* **125**, 12–21 (2002). [DOI](#)
- [31]. E. L. Izake, "Forensic and homeland security applications of modern portable Raman spectroscopy", *Forensic Sci. Int.* **202**, 1–8 (2010). [DOI](#)
- [32]. H. Chung, M. S. Ku, "Comparison of near-infrared, infrared, and Raman spectroscopy for the analysis of heavy petroleum products", *Appl. Spectrosc.* **54**, 239–245 (2000). [DOI](#)

- [33]. I. R. Lewis, H. Edwards, *Handbook of Raman Spectroscopy*, CRC Press, New York (2001).
- [34]. P. Matousek, M. D. Morris, Edts., *Emerging Raman Applications and Techniques in Biomedical and Pharmaceutical Fields*, Springer, City (2010).
- [35]. J. L. Koenig, *Infrared and Raman Spectroscopy of Polymers*, iSmithers Rapra Publishing, Shrewsbury (2001).
- [36]. M. S. Amer, *Raman Spectroscopy. Fullerenes and Nanotechnology*, Royal Society of Chemistry, Cambridge (2010).
- [37]. C. S. S. R. Kumar, *Raman Spectroscopy for Nanomaterials Characterization*, Springer, Berlin (2012). [DOI](#)
- [38]. V. N. Popov, P. Lambin, *Carbon Nanotubes: From Basic Research to Nanotechnology*, Springer, Dordrecht (2006).
- [39]. P. M. Fauchet, I. H. Campbell, "Raman spectroscopy of low-dimensional semiconductors", *Crit. Rev. Solid State* **14**, 79–101 (1988). [DOI](#)
- [40]. S. Nakashima, H. Harima, "Raman spectroscopy of semiconductors", pp. 2990–3003 in *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, Wiley, New York (2006).
- [41]. P. Ehrenfreund, W. M. Irvine, T. Owen, L. Becker, J. Blank, J. R. Brucato, L. Colangeli, S. Derenne, A. Dutrey, D. Despois, A. Lazcano, F. Robert, *Astrobiology: Future Perspectives*, Springer, Dordrecht (2004).
- [42]. S. E. Jorge Villar, H. G. M. Edwards, "Raman spectroscopy in astrobiology", *Anal. Bioanal. Chem.* **384**, 100–113 (2006). [DOI](#)
- [43]. H. G. M. Edwards, "Raman spectroscopic approach to analytical astrobiology: The detection of key geological and biomolecular markers in the search for life", *Philos. T. R. Soc. A* **368**, 3059–3065 (2010). [DOI](#)
- [44]. P. Vandenabeele, "Raman spectroscopy in art and archaeology", *J. Raman Spectrosc.* **35**, 607–609 (2004). [DOI](#)
- [45]. P. Vandenabeele, L. Moens, H. G. M. Edwards, R. Dams, "Raman spectroscopic database of azo pigments and application to modern art studies", *J. Raman Spectrosc.* **31**, 509–517 (2000). [DOI](#)
- [46]. D. Bersani, P. P. Lottici, "Applications of Raman spectroscopy to gemology", *Anal. Bioanal. Chem.* **397**, 2631–2646 (2010). [DOI](#)
- [47]. R. J. Kirkpatrick, J. L. Yarger, P. F. McMillan, Y. Ping, X. Cong, "Raman spectroscopy of CSH, tobermorite, and jennite", *Adv. Cement Based Mater.* **5**, 93–99 (1997). [DOI](#)
- [48]. B. Kwiecinska, I. Suárez-Ruiz, C. Paluszkiwicz, S. Rodriques, "Raman spectroscopy of selected carbonaceous samples", *Int. J. Coal Geol.* **84**, 206–212 (2010). [DOI](#)
- [49]. Y. Ozaki, R. Cho, K. Ikegaya, S. Muraishi, K. Kawauchi, "Potential of near-infrared Fourier transform Raman spectroscopy in food analysis", *Appl. Spectrosc.* **46**, 1503–1507 (1992). [DOI](#)
- [50]. E. C. Y. Li-Chan, "The applications of Raman spectroscopy in food science", *Trends Food Sci. Tech.* **7**, 361–370 (1996). [DOI](#)
- [51]. V. Baeten, P. Hourant, M. T. Morales, R. Aparicio, "Oil and fat classification by FT-Raman spectroscopy", *J. Agr. Food Chem.* **46**, 2638–2646 (1998). [DOI](#)
- [52]. M. Lin, L. He, J. Awika, L. Yang, D. R. Ledoux, H. Li, A. Mustapha, "Detection of melamine in gluten, chicken feed, and processed foods using surface enhanced Raman spectroscopy and HPLC", *J. Food Sci.* **73**, T129–T134 (2008). [DOI](#)
- [53]. V. L. Brewster, R. Goodacre, "Vibrational spectroscopy for "Food Forensics"", pp. 583–592 in *Infrared and Raman Spectroscopy in Forensic Science*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester (2012).
- [54]. K. Larsson, R. P. Rand, "Detection of changes in the environment of hydrocarbon chains by Raman spectroscopy and its application to lipid-protein systems", *BBA-Lipids and Lipid Metabolism* **326**, 245–255 (1973). [DOI](#)
- [55]. C. L. Liu, G. W. Hu, Y. G. Ye, Q. G. Meng, "Dry water: A prospective material for methane storage via clathrate hydrate form", *Adv. Mater. Res.* **399**, 1473–1476 (2012). [DOI](#)
- [56]. W. H. Jay, J. O. Orwa, "Raman spectroscopy applied to early (ca. 1746–1754) English steatitic porcelains: A tentative study of compositions", *J. Raman Spectrosc.* **43**, 307–316 (2012). [DOI](#)

- [57]. M. C. Zuluaga, A. Alonso-Olazabal, M. Olivares, L. Ortega, X. Murelaga, J. J. Bienes, A. Sarmiento, N. Etxebarria, "Classification of glazed potteries from Christian and Muslim territories (Late Medieval Ages, IX–XIII centuries) by micro-Raman spectroscopy", *J. Raman Spectrosc.* **43**, 1811-1816 (2012). [DOI](#)

1. Introducción

Todos o la mayoría de todos nosotros hemos leído o escuchado el término "radiación electromagnética" o simplemente la palabra radiación y quizá nos asombremos porque la asociamos como la causante de daños en la piel (comúnmente el cáncer). En realidad este término no nos debería impresionar, pues no todo tipo de radiación causa lesión en la piel.

Para entender un poco más sobre este tema definimos a la radiación electromagnética como la combinación de un campo eléctrico y un campo magnético, ambos oscilantes, que se propagan a través del espacio transportando energía de un lugar a otro [1]. La radiación electromagnética puede manifestarse de diversas maneras: como calor radiado (el que se desprende de la flama de la estufa o el calor de un incendio), luz visible, rayos X (con la que nos "iluminan" al realizarnos una radiografía), rayos gamma (empleados para exterminar bacterias e insectos en productos alimenticios como la carne o huevo) o bien como ondas de radio o televisión [2].

Ahora que hemos conocido algunos términos técnicos definiremos otros adicionales en base a un acontecimiento histórico. En el año 1250 el monje inglés Roger Bacon observó que cuando la luz solar incidía en un vaso de agua se formaba una serie de haces de luz de colores. Al tratar de explicar este fenómeno, dio lugar a lo que se conoce como teoría del color.

Varios años más tarde, en 1671, Isaac Newton observó que cuando un haz estrecho de luz solar incidía con un cierto ángulo de inclinación sobre un prisma triangular de vidrio, una parte de la luz se reflejaba y otra pasaba a través del vidrio, mostrando diferentes bandas de colores, como el arco iris que se observa cuando nos encontramos entre el Sol y una región lluviosa, como se ve en la Fig. 1.

La hipótesis de Newton era que la luz estaba constituida por partículas de diferentes colores y que la diferencia en los colores se debía a las

diferentes velocidades de cada una de ellas dentro del material, de modo que en un medio transparente (como el vidrio o las gotas de agua), la luz roja era más veloz que la luz violeta. El resultado es que la luz roja se "dobla" menos que la luz violeta cuando pasaban a través del prisma, generando lo que él llamo y definió como el espectro de colores (del latín spectrum, apariencia o aparición [3,4]). De manera particular podemos definir al espectro electromagnético visible como el conjunto de haces de luz de colores que el ojo humano puede distinguir, como se muestra en la Fig. 2.

Después de Newton, Joseph Fraunhofer determinó que el conjunto de haces de colores que emite una sustancia cuando es iluminada es muy propia y característica de cada material y que cada color está asociado con la forma en que



Fig. 1: Haces de luz de diferentes colores conforman el arcoíris.

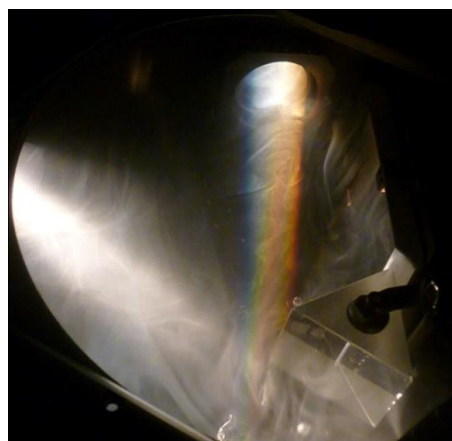


Fig. 2: Espectro electromagnético de la luz visible generado al pasar un haz de luz blanca a través de un prisma.

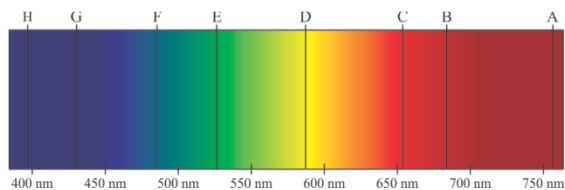


Fig. 3: Fraunhofer propuso que a cada color del espectro de la luz solar se le asigne una letra que asocie la frecuencia de oscilación o bien su recíproco, la longitud de onda.

vibran sus átomos cuando el material es iluminado. A esa vibración la llamo frecuencia de oscilación y a su recíproco la llamé longitud de onda; por lo que cada color que vemos en el espectro de la luz solar en el arco iris está asociado con una frecuencia o, como también es común decir, cada color está descrito cuantitativamente por una longitud de onda (ver Fig. 3).

En cierta ocasión, mientras Robert Wilhem Bunsen (1811-1899) y Gustav Robert Kirchhoff (1824-1887) observaban desde unos 80 km de distancia un incendio en el puerto de Hamburgo, se les ocurrió hacer pasar por un prisma la luz que provenía del incendio. Observaron una luz amarilla intensa, como la que anteriormente habían observado al quemar un poco de sodio. Pronto encontraron la explicación. Lo que estaba ardiendo era un almacén de salazones (materiales para conservar alimentos), los cuales contienen sodio. Bunsen y Kirchhoff pensaron de inmediato de manera inversa, planteándose si era posible deducir la presencia de sodio a cierta distancia analizando simplemente la luz de las llamas [5]. También se preguntaron si sería posible conocer la composición de las estrellas analizando la luz que recibimos de ellas. Después de varias semanas de intenso trabajo dieron a conocer algunos resultados, entre ellos que el Sol está formado por sustancias como las que hay en la Tierra.

En la actualidad sabemos que cada sustancia y elemento químico que existe en la naturaleza puede emitir un espectro muy propio y característico, de manera semejante a las huellas dactilares, las cuales son diferentes para cada individuo.

Retomando algunas definiciones de las ciencias físicas podemos decir que al referirnos a

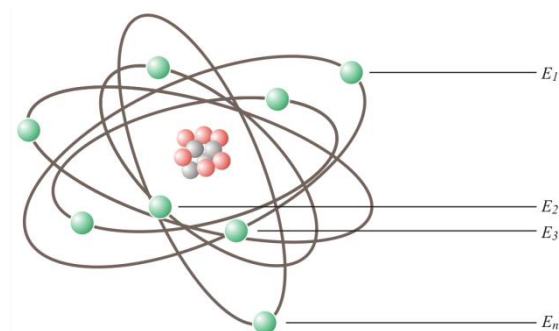


Fig. 4: Modelo de Bohr para un átomo. Nótese en el centro los protones y neutrones y alrededor del núcleo los electrones, cuyas órbitas están caracterizadas por una energía diferente E_n .

un objeto cualquiera (elemento químico, sustancia, materia, etc.), se denomina espectro electromagnético o simplemente “espectro” a la radiación electromagnética que emite (espectro de emisión) o absorbe (espectro de absorción). La ciencia que se encarga de la generación, estudio y análisis del espectro electromagnético (refiriéndose a cada haz de colores en frecuencias o longitudes de onda de absorción o emisión) de las sustancias o elementos químicos se llama “espectroscopia”.

Planteamos una cuestión más: ¿cómo se genera la luz? Existen muchas teorías y por ende muchas respuestas. De la manera más sencilla uno puede decir que toda la materia está compuesta por moléculas, estas moléculas están compuestas por elementos químicos, estos elementos químicos están compuestos por átomos y, a su vez, los átomos están constituidos por partículas como protones, neutrones y electrones.

En 1913 el físico danés Niels Bohr propuso un modelo atómico que trata de explicar la manera en la que la materia está estructurada. En él estableció que los átomos están constituidos por un núcleo el cual está compuesto por protones y neutrones y que los electrones describen órbitas circulares alrededor del núcleo, formando lo que él llamó una nube electrónica. Además, cada órbita tiene asignada una cantidad de energía, la cual, en estado normal, no se emite a ningún lado. En semejanza al sistema solar, el núcleo sería el Sol y cada planeta representaría un electrón que porta una cantidad de energía específica, como lo muestra la Fig. 4.

Un electrón puede pasar a otra órbita respecto de la que se encontraba inicialmente pero no a todas. Solo a algunas órbitas “le es permitido” trasladarse al ser excitado por alguna fuerza interna o externa (por ejemplo al aplicarle el voltaje de una batería o bien al iluminar la muestra). Al pasar de un nivel u órbita a otro nivel, el electrón emite o absorbe energía en forma de un fotón (nombre científico de las “partículas constituyentes de la luz”) y cuya energía es la diferencia de energías entre ambos niveles. Esta energía de emisión o absorción está asociada con el color de la luz que distinguimos en el espectro de una sustancia (en el arco iris, a cada color se le asigna una longitud de onda diferente y por ende una cantidad de energía diferente).

La información presentada en los párrafos anteriores servirá de base para describir la esencia del artículo, “la espectroscopia Raman”. Lo haremos mediante el fenómeno observado en la Fig. 5. Si un haz de luz de un solo color incide y pasa a través de una sustancia, una fracción de la luz cambia de dirección respecto de la que provenía (técnicamente se dice que es esparcida) debido a la interacción con las moléculas de la sustancia. La nube de electrones que envuelve al núcleo en una molécula puede ser polarizada (deformada) de muy diversas maneras por un campo eléctrico. Si aplicamos un campo eléctrico oscilante como el campo eléctrico de un haz de luz a una molécula, la deformación de la nube de electrones oscilará con la frecuencia del haz de luz incidente. La oscilación de la nube produce lo que se llama un dipolo oscilante que radia (re emisión de luz en diferentes direcciones respecto de la original) a la misma frecuencia de la luz incidente. Este proceso es llamado esparcimiento Rayleigh y es el causante de que las nubes se vean blancas cuando son iluminadas por el Sol. Reiteramos aquí que cuando un haz de luz (onda electromagnética) choca con un átomo o molécula, hace que la nube de electrones que rodea al núcleo se mueva. El movimiento de sus cargas (Fig. 5) hace que se irradian ondas con la misma frecuencia, fenómeno conocido como esparcimiento de Rayleigh [6].

Generalizando la idea de Bunsen y Kirchoff podríamos preguntarnos: si iluminamos una

sustancia cualquiera y recolectamos la luz que esta re-emite, ¿podemos ser capaces de describir su composición química? La respuesta es sí. Este fenómeno fue analizado por primera vez por el físico Hindú Chandrasekhara Venkata Raman en el año 1928 y se conoce como “efecto Raman” el cual lo llevo a la obtención del premio Nobel de física en 1930. Este científico dio nombre al fenómeno inelástico de esparcimiento de la luz que permite el estudio de rotaciones y vibraciones moleculares. Sus estudios sobre este fenómeno se inspiraron en los trabajos realizados anteriormente por Rayleigh. A diferencia de Rayleigh que afirmaba que el color azul del mar no es más que el azul del cielo visto en reflexión, Raman realizó un experimento sencillo con el que pudo demostrar que el color azul del agua procedía de un fenómeno propio, posteriormente explicado como el esparcimiento

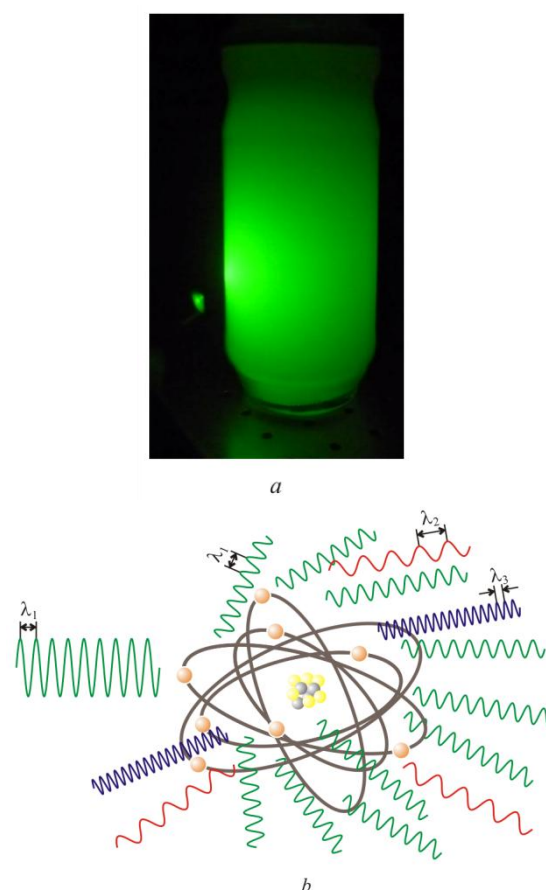


Fig. 5: (a) Esparcimiento Rayleigh. La luz verde (caracterizada por λ_1) incide sobre el contenido del frasco y se re-direcciona internamente de manera aleatoria en todas direcciones. Note que no hay cambio en la coloración de la luz (la longitud de onda λ_1 no cambia). (b) En un esparcimiento Raman incide una longitud de onda y se emiten otras longitudes de onda λ_2 y λ_3 .

(re-direccionamiento) de la luz debido a su interacción con las moléculas del agua.

Adicionalmente al esparcimiento Rayleigh que pudimos observar en el frasco iluminado con luz verde, surge el efecto que nos concierne: el esparcimiento Raman.

En realidad en las moléculas no solo se realizan transiciones electrónicas (“saltos” de los electrones entre diferentes órbitas), sino que las moléculas vibran y rotan también. En esos movimientos también se realizan transiciones energéticas. Hay una pequeña probabilidad de que la radiación incidente sobre una sustancia transfiera parte de su energía a uno de los niveles energéticos de vibración o rotación de las moléculas que la conforman. Como resultado de ello la radiación esparcida tendrá una frecuencia menor comparada con la frecuencia con la que vibran las moléculas (ver Fig. 5(b)). De manera similar, hay una pequeña probabilidad de que la molécula en algún estado energético excitado vibracional o rotacional aumente su energía luminosa, en este caso la radiación esparcida tendrá una frecuencia más alta que la del haz incidente. De esta manera observamos tres líneas de la radiación esparcida: una línea correspondiente al esparcimiento Rayleigh de la misma longitud de onda (verde) y dos líneas Raman una de frecuencia mayor (azul), llamada línea anti-Stokes y la otra de frecuencia menor (roja) llamada línea de Stokes, ver Figs. 5 y 6 [7]. Las dos líneas Raman son extremadamente débiles

comparadas con la intensidad Rayleigh de la luz esparcida. Solamente 1/10,000 de la intensidad esparcida corresponde a las líneas Raman, de esta manera la intensidad Raman es menor que la intensidad incidente de la luz. En la Fig. 6 vemos la emisión Raman Stokes en la que un haz de luz violeta incide sobre una muestra, el haz emerge con una longitud de onda mayor (verde), como producto de la relación entre la luz incidente y la manera de vibrar y rotar de la moléculas de la sustancia. La absorción se produce cuando la frecuencia de la radiación incidente coincide con la frecuencia de vibración de la molécula y esta se eleva a un estado electrónico excitado.

La fluorescencia es otro fenómeno que ocurre al incidir un haz de luz en un material. Los procesos de esparcimiento Raman y fluorescencia no están relacionados. En la fluorescencia la molécula absorbe completamente al fotón incidente el cual pasa a un estado electrónico excitado. Transcurre un tiempo (vida media) en el que la molécula sufre una nueva transición al estado electrónico inferior, re-emitiendo radiación, normalmente de longitud de onda superior a la que se absorbió. En el efecto Raman, el fotón como un todo, nunca resulta absorbido, sino que perturba a la molécula y le induce a que sufra una transición electrónica. La diferencia esencial radica en el hecho de que la fluorescencia puede disminuirse agregando especies que, mediante colisiones, disminuyan la energía de la molécula excitada por absorción de radiación antes de que

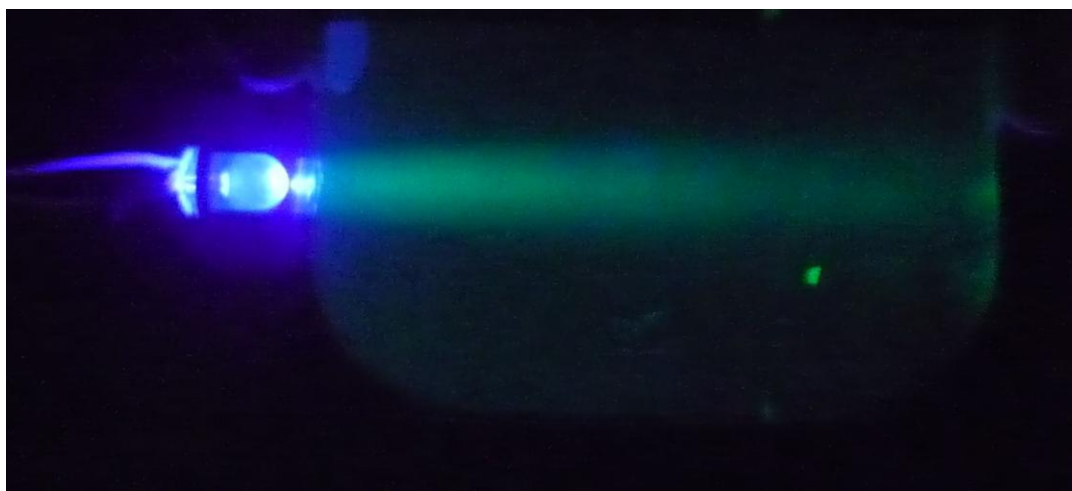


Fig. 6: Esparcimiento Raman. Un haz incidente violeta y un haz emergente verde, resultado de las vibraciones moleculares de la sustancia iluminada (agua carbonatada y azúcar).

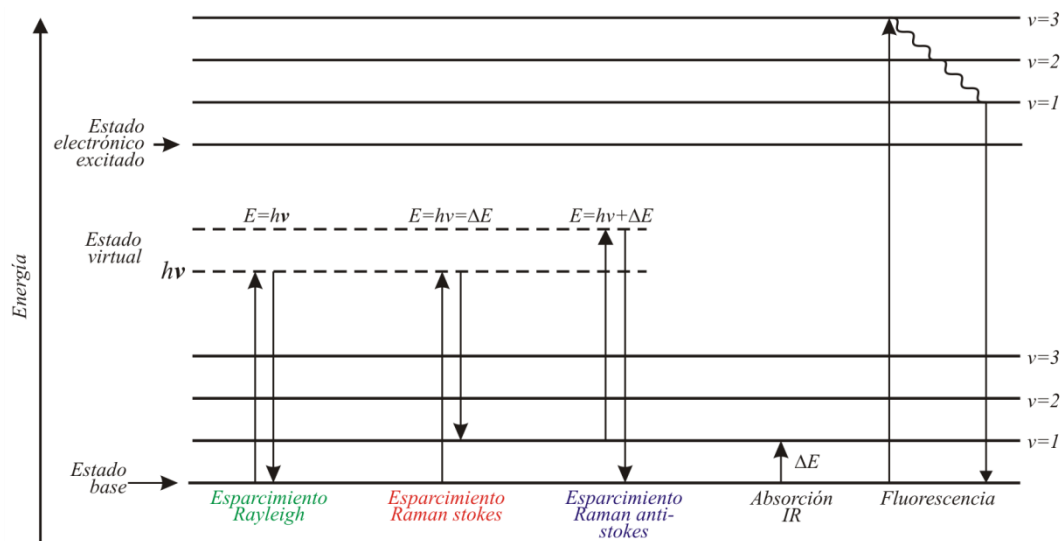


Fig. 7: Saltos energéticos de un electrón. En su decaimiento se emiten tres fotones dando lugar al esparcimiento Rayleigh, anti-Stokes y Stokes.

aquella la re-emita, mientras que en el esparcimiento Raman no es posible llevar a cabo este proceso debido a que la molécula excitada nunca alcanza un estado excitado en una situación intermedia y por tanto no es posible que permanezca el tiempo necesario para que pueda tener lugar la colisión que la inhiba. El estado intermedio que alcanza una molécula en un proceso de esparcimiento Raman es un estado virtual, que no necesariamente coincide con ningún estado propio de la molécula [8]. En la Fig. 7 se muestra el diagrama de Jablonsky donde se representan las transiciones energéticas anteriormente mencionadas.

La espectroscopia Raman ha evolucionado desde su planteamiento original a la par de la tecnología y en la actualidad tiene una gran cantidad de aplicaciones. A continuación presentamos la forma en la cual se lleva a cabo la espectroscopia Raman.

2. Instrumentación

2a. Fuentes de excitación

La fuente luminosa utilizada en espectroscopia Raman es una emisión láser, la cual se caracteriza por ser monocromática o de una única frecuencia o color, ser direccional y tener la misma fase, constituyéndola en una emisión coherente. Estas características permiten la

concentración de una gran cantidad de energía en una superficie relativamente pequeña. La utilización de un láser en la espectroscopia Raman se debe a que la alta intensidad por unidad de área producida por este tipo de fuentes luminosas genera el suficiente esparcimiento Raman como para poder ser cuantificado o medido con una intensidad razonablemente por encima del ruido no deseado que se pueda presentar en el proceso. Las longitudes de onda o colores comúnmente utilizadas en las fuentes luminosas en espectroscopia Raman corresponden a los láseres de argón (488 nm, 514.5 nm), Kriptón (530.9 nm, 647.1 nm), Helio-Neón (632.8 nm), de diodo (785 nm, 830 nm) y Nd:YAG (del acrónimo en inglés *neodymium-doped yttrium aluminium garnet*) (1064 nm). Las fuentes van desde el azul hasta el infrarrojo cercano en el orden en que se mencionaron [9].

2b. Espectrómetros Raman

Raman utilizó la luz del Sol enfocada a través de un telescopio para lograr una alta intensidad y visualizar la luz esparcida por la muestra. Los primeros espectrómetros usaban lámparas de descargas de mercurio como fuente de iluminación y placas fotográficas para detectar la luz. La invención de tubos fotomultiplicadores permitió la colección y manipulación electrónicamente de la luz detectada. Sin

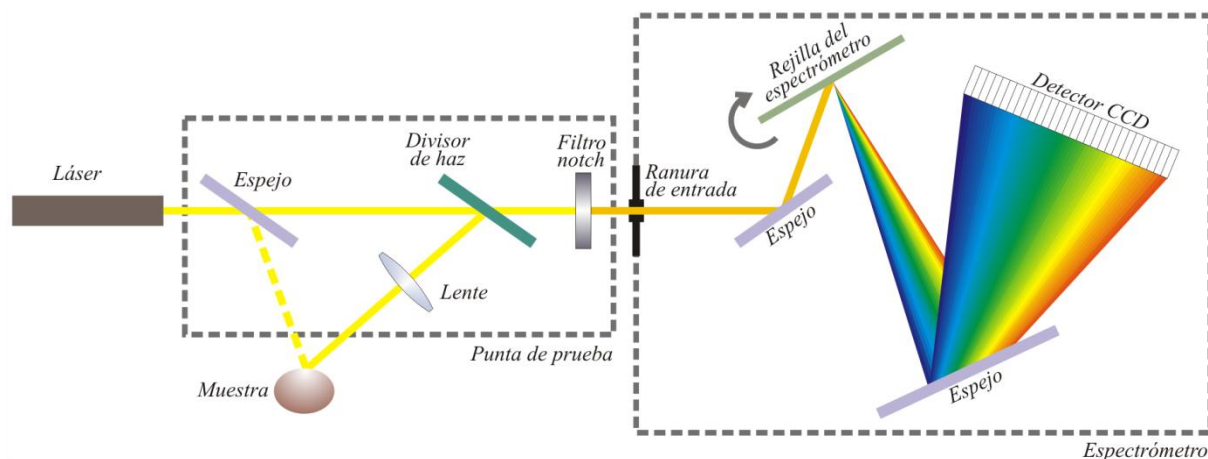


Fig. 8: Diagrama básico para hacer espectroscopia Raman.

embargo tenían la desventaja de sólo ser capaces de medir una sola longitud de onda. Los espectrómetros modernos utilizan dispositivos acopladores de carga (CCDs) como los usados en las cámaras fotográficas modernas los cuales son altamente sensitivos, y tienen la capacidad de medir todo el espectro de una sola vez.

La principal dificultad en la espectroscopia Raman es prevenir la superposición de la señal Raman con la señal Rayleigh. Los filtros rechaza-banda (*notch*) se utilizan comúnmente debido a que son capaces de filtrar aproximadamente 100 cm^{-1} de la longitud de onda del láser. Sin embargo este tipo de filtros no son usados cuando los desplazamientos Raman son más bajos a esa región. Uno de las mayores mejoras de la espectroscopia Raman es el uso de múltiples etapas de dispersión ya sean dobles o triples. Mientras más rejillas de difracción se tengan menor será el ruido que se introduzca en el detector [10]. Una rejilla de difracción es un dispositivo que al igual que un prisma, puede separar la luz incidente en diferentes colores como se muestra en la Fig. 8.

La Fig. 8 muestra un diagrama de un arreglo para hacer espectroscopia Raman, el cual consiste en una fuente de iluminación, en este caso un láser, una punta de prueba, y un espectrómetro Raman.

2c. Unidades de medición

Es importante resaltar que el desplazamiento de las longitudes de onda Raman respecto a la longitud de onda incidente es independiente de esta última y por ello suele tomarse este

desplazamiento como abscisa para representar los espectros Raman. La banda Rayleigh estará situada en el centro como origen del eje. De tal forma en el eje de abscisas en realidad aparecerá la diferencia entre la longitud de onda Raman y la de excitación del láser. Las líneas Raman Stokes son utilizadas comercialmente debido a que son más intensas y no dependen de la temperatura. La magnitud del desplazamiento Raman es independiente de la longitud de onda de excitación [7].

3. Aplicaciones de la espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman ha tenido un gran crecimiento en diversas áreas de investigación, esto se debe a su gran versatilidad, su sencillez en la preparación de las muestras y la gran cantidad de información química que nos brinda. Abajo enlistamos diversas áreas en la que se aplica la espectroscopia Raman así como su utilidad en cada una de ellas.

3a. Aplicaciones biomédicas

La capacidad para estudiar la composición química in vivo (en el cuerpo vivo o en tiempo real) e in-vitro (sobre tejido removido del cuerpo a manera de biopsias) de tejido biológico de forma no destructiva es una cualidad valiosa para cualquier enfoque de diagnóstico analítico. La combinación de mediciones no destructivas, sin contacto y la capacidad para proporcionar discriminación espacial hace a la espectroscopia

Raman una herramienta poderosa para la investigación biomédica y el diagnóstico.

Las aplicaciones incluyen:

- Estudios in-vivo e in-vitro de la piel [11–13],
- Estudios de transferencia trans-dérmica de fármacos [14],
- Identificación de Cáncer (piel, oral, de mama, de cuello uterino, colo-rectal) [15–19],
- Los estudios de hueso (composición, la mecánica y estado de la enfermedad) [20,21],
- Dientes [22,23],
- Aterosclerosis intra-coronaria [24],
- Estudios en el ojo (cornea y fluidos) [25,26].

3b. Aplicaciones forenses

La espectroscopia Raman es una poderosa herramienta analítica para el estudio de materiales forenses. Las ventajas de la espectroscopia Raman en esta área son la naturaleza sin contacto y no destructiva de la muestra a medir, la capacidad de acoplar con un microscopio para observar y analizar muestras pequeñas de cantidades pico-molares, el hecho de poderse acoplar a una sonda de fibra óptica para muestreo remoto y la especificidad química inherente de Raman. La capacidad de analizar compuestos tanto orgánicos como inorgánicos, ya sean de especies volátiles o no volátiles y la capacidad de poder examinarlos a menudo in situ en el interior recipientes de vidrio, de plástico transparentes o bolsas de pruebas, ha incrementado el interés y la utilidad de la espectroscopia Raman.

Las áreas de aplicación incluyen abuso de drogas y la identificación de explosivos y sustancias químicas que se encuentran comúnmente en los laboratorios clandestinos. Otras áreas incluyen la identificación de cabellos, fibras, virutas de pinturas y tintas [27–31].

3c. Aplicación en la industria petrolera

La especificidad química combinada con la facilidad de instalación en línea y el bajo costo del análisis tiempo real han hecho que la espectroscopia Raman sea una opción atractiva para el monitoreo y control de procesos en la industria petrolera. Los ejemplos incluyen

- Agrietamiento,
- Extracción de solventes,

- Materiales de producción BTEX (benceno, tolueno, etileno y xileno) y separación de xileno,
- Tratamiento C4,
- Procesado de aromáticos,
- Mezcla.

Para los procesos anteriores la espectroscopia Raman se puede aplicar para monitorizar la pureza química y operación de la columna de destilación (tanto antes como durante el estado estable o de equilibrio de operación). La espectroscopia Raman es capaz de medir espectros de materiales sólidos, líquidos, gases, en forma de vapor o en suspensión. Las áreas de aplicación química incluyen:

- Benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos,
- Olefinas, etileno, propileno,
- Ciclohexano,
- Hidrocarburos C4,
- El cumeno,
- Estireno,
- Acrilonitrilo,
- Gasolina (mezcla, octanaje, compuestos oxigenados).

Otra de las categorías de productos en la industria petrolera asociados son los polímeros, oligómeros y polímeros pre-cursores. La espectroscopia Raman se puede utilizar para analizar dichos productos químicos comercialmente importantes, tales como [32,33]:

- Polietileno de baja densidad,
- Polietileno de baja densidad lineal,
- Polietileno de alta densidad,
- Polipropileno,
- Cloruro de polivinilo,
- Poliestireno,
- Butadieno,
- Olefinas.

3d. Aplicaciones farmacéuticas

Espectroscopia Raman se ha establecido como proceso de control en muchas investigaciones farmacéuticas y análisis de laboratorios. Las aplicaciones que se benefician de la espectroscopia Raman son diversas y se extienden a partir del examen de detección en

fase temprana de ensayos del producto final en la fabricación.

Debido la gran cantidad de información contenida en el espectro Raman, se puede conseguir información química y en algunos casos, información física sobre el material en investigación. Esta información puede ser crítica para los objetivos del control de calidad del producto y la robustez del proceso de fabricación mediante la generación de comprensión.

Los Estados Unidos, a través de su agencia de regulación de comida y drogas FDA (*Food and Drug Administration*) ha presentado una reciente iniciativa en tecnología de procesos analíticos PAT (*Process Analytical Technology*) y calidad por diseño QbD (*Quality by Design*) que estimula la aplicación de instrumentos y metodologías para asegurar la calidad de los productos dentro de la industria farmacéutica, proporcionando un marco de calidad por diseño [34].

Las solicitudes de ingredientes farmacéuticos activos API (*Active Pharmaceutical Active*) incluyen:

- Monitoreo de nuevos medicamentos usando técnicas de alta calidad,
- Cristalización,
- Identificación de la forma polimórfica,
- Análisis en tiempo real de la reacción, la optimización en punto final y detección de punto intermedio,
- Secado.

Las aplicaciones productos farmacéuticos incluyen:

- Identificación de las materias primas en el muelle, en el dispensario y en el almacenaje.
- Seguimiento en tiempo real de granulación, mezcla, secado y recubrimiento,
- Análisis no destructivos de tabletas, cápsulas de gel, y formulación líquida.

Como ejemplo de la versatilidad de la espectroscopia Raman en el control de calidad en los procesos farmacéuticos, en la Fig. 9 muestra el espectro del paracetamol. Se puede observar que presenta muchas bandas espectrales, algunas de ellas muy características de este compuesto.

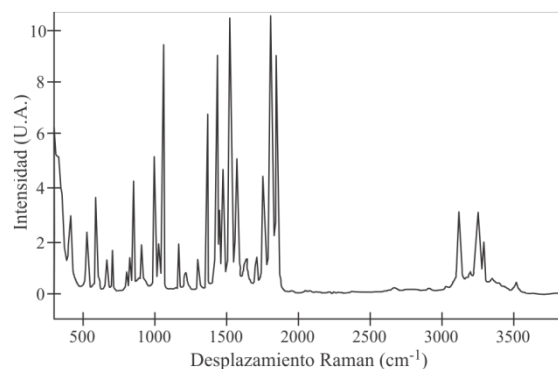


Fig. 9: Espectro Raman del paracetamol.

La Fig. 9 es una gráfica que muestra la manera típica en la que se representa el espectro Raman de una sustancia. A partir de estas gráficas es posible obtener toda la información del material analizado.

3e. Aplicación en polímeros

La espectroscopia Raman proporciona un método para estudiar muchos enlaces químicos pero es particularmente sensible en el estudio de los enlaces principales de las cadenas de los polímeros (estos enlaces son muy activos en la espectroscopia Raman). Esta sensibilidad es especialmente útil para el estudio de monómeros y polímeros [35].

Las áreas de aplicación incluyen la supervisión de reacción para:

- Composición química,
- Control de las reacciones de polimerización,
- Bloqueo y formación del co-polímero.

La microscopía Raman o Raman in situ puede utilizarse para evaluar y controlar el nivel de cristalinidad de un polímero durante diversos procesos, o bien identificar las diferentes fases dentro de una mezcla de polímeros. Las propiedades físicas como la densidad, en algunos casos, también se pueden predecir durante la fabricación.

- Polimerización (identificación química),
- Cristalinidad de película o fibra,
- En el grado de enlace,
- La hidrogenación (extendida, punto final),
- Extrusión (en las mediciones de extrusión con sonda en alta presión),
- Mezcla.

3f. Aplicación en Nanotecnología

La espectroscopia Raman es una herramienta estándar para la caracterización y estudio de las propiedades físicas de materiales basados en carbono. En su estado sólido el carbono natural existe en diferentes formas estructurales (diamante y grafito), que presentan propiedades físicas y mecánicas muy diferentes. Los investigadores en los campos de la química, la física y la ciencia de los materiales están adaptando el carbono en forma de fullerenos y nanotubos con el fin de optimizar sus propiedades. Los fullerenos y nanotubos generan un espectro complejo cuando se examinaron mediante espectroscopia Raman. Del espectro se obtiene información sobre los modos vibracionales intra- e inter-moleculares de las moléculas de carbono. La información sobre el tamaño, longitudinal y radio, se puede inferir a partir del espectro. La incorporación de dopantes en la estructura afecta a las propiedades del material y estas modificaciones también se pueden observar en el espectro [36–38]. La espectroscopia Raman se puede utilizar en el laboratorio durante la fase de investigación o como herramienta de control de calidad en los procesos de fabricación.

3g. Aplicación en semiconductores

La espectroscopia Raman es una técnica establecida para la caracterización de semiconductores. Las posiciones de la banda en el espectro medido contienen información sobre la composición del material, la estructura y las fuerzas mecánicas. El acoplamiento de la medición Raman a un microscopio permite la observación de tensión local y para la investigación a pequeña escala de dispositivos micro-electrónicos.

El análisis de fallas o defectos es otra área importante de la microscopía Raman. La capacidad de analizar partículas de tamaño micrométrico, incluso in situ puede proporcionar la información relativa a los contaminantes y las posibles fuentes de contaminación.

Durante un proceso de fabricación las mediciones sin contacto como la espectroscopia Raman se pueden utilizar como indicadores de la temperatura, variable que puede afectar el

crecimiento de cristales. El análisis in situ de los procesos de lavado esto es posible utilizando espectroscopia Raman. La capacidad de analizar y predecir la concentración de materiales en los procesos de lavado da pauta para establecer un tiempo de procesamiento óptimo y reduce el desperdicio debido a ataque químico, de tal manera que sólo se realiza el lavado cuando es necesario y se mantienen las especificaciones del producto de salida [39,40].

3h. Aplicaciones en materiales extraterrestres

En los últimos años, una gran cantidad de trabajos se han realizado para demostrar que la espectroscopia Raman es una valiosa herramienta para la investigación planetaria. La investigación de minerales mediante el empleo de la espectroscopia de Raman es una aplicación para realizar mediciones diversas en planetas in situ, existiendo varios proyectos en curso para demostrarlo [41–43].

Un espectrómetro de micro-Raman como un dispositivo independiente sobre una superficie planetaria (por ejemplo Marte) ofrece una amplia gama de posibilidades:

- El análisis químico mediante la determinación de la composición mineral,
- Análisis de las moléculas orgánicas en el suelo,
- Identificación de las fases minerales principales (es decir, los que constituyen al menos 90% del material en suelos y rocas),
- Clasificación de las rocas (ígneas, sedimentarias y metamórficas) y la definición de los procesos petrogenéticos marcianos,
- Estado de oxidación de los elementos del suelo marciano en las superficies de rocas y en su interior,
- El contenido de compuestos volátiles en minerales y cristales,
- Determinación del contenido de elementos seleccionados menores y traza (por ejemplo, elementos de tierras raras),
- Medición de las propiedades físicas (por ejemplo, distribución de tamaños),
- Determinación procesos de oxidación en superficies recién expuestas, y la determinación de los productos de reacción,

- Morfología de las inclusiones orgánicas (fósiles) y minerales a escala micrométrica,
- El agua y el hielo en Marte, la identificación de minerales secundarios, arcillas, estado de la materia carbonosa, cristales hidratados,
- Imágenes espectroscópicas Raman es una técnica nueva en el análisis de los materiales extraterrestres como los meteoritos, polvo interplanetario (IDPs) y muestras de material cometario devueltas por la sonda Stardust de la NASA.

3i. Otras aplicaciones

- Arte y arqueología. Determinación de los objetos reales y falsas, las restauraciones, la identificación de pigmentos, etc [44,45],
- Gemología. Determinación de los materiales reales y falsos, la determinación de origen, restauración, etc [46],
- Geología. Análisis de la inclusión, la química y la identificación mineral [47,48],
- Ciencias de la alimentación. Identificación y cuantificación de no saturación, contenido de grasa, etc [49-53],
- Determinación de los componentes del medio ambiente [54,55],
- Industria del cristal y porcelana. Composición, vidrios, pigmentos, etc [56,57].

4. Conclusiones

Considerando los beneficios de la espectroscopia Raman, tales como la capacidad de hacer pruebas no destructivas, su selectividad, la habilidad de utilizar muestras con poca o nula preparación y su flexibilidad para realizar análisis cuantitativos y cualitativos, se hace fácil entender por qué esta técnica es ampliamente utilizada en diversas áreas de investigación, la ciencia médica y la industria.

Agradecimientos

AEVL agradece el apoyo otorgado por la fundación Pablo García y al CONACYT para la realización de sus estudios de doctorado. CMOL y JCR agradecen a los contribuyentes de México.