



Application Note AN-RS-055

Espectroscopia Raman de baja frecuencia

La espectroscopia Raman es una herramienta analítica que permite medir la estructura molecular e identificar materiales basándose en los modos rotacionales y vibracionales de una molécula. La mayoría de los sistemas Raman de laboratorio cubren la región espectral de huella dactilar que va desde $200\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$. Sin embargo, el acceso a las áreas de baja frecuencia proporciona información adicional para aplicaciones en la caracterización de proteínas. [1], detección e identificación de polimorfos [2], junto con la determinación de la fase y la estructura del

material.

La sonda de muestreo de fibra óptica de grado laboratorio para espectrómetros de laboratorio de Metrohm puede acceder a modos de baja frecuencia de hasta 65 cm^{-1} , proporcionando una solución rentable para mediciones de mayor alcance. Esta nota de aplicación describe el uso de la espectroscopia Raman de baja frecuencia para el estudio de aminoácidos, la detección de polimorfos y el monitoreo de cambios de fase.

INTRODUCCIÓN

La región de baja frecuencia aumenta el contenido de información de la región de huella dactilar del espectro Raman y amplía las posibles aplicaciones. La detección de enlaces de hidrógeno y otras

EXPERIMENTO

Para la obtención de espectros Raman se utiliza el espectrómetro Raman de laboratorio i-Raman Plus 785S de Metrohm, equipado con un láser de 785 nm y 300 mW (potencia de salida máxima) y un detector CCD (detector de carga acoplada) sensible, con refrigeración termoeléctrica y de película delgada posterior.

El i-Raman Plus está equipado con una sonda de fibra

características estructurales, como el polimorfismo, se puede diferenciar utilizando esta región del espectro. El resultado es una mayor especificidad para materiales muy similares.

AMINOÁCIDOS

La espectroscopia Raman se utiliza para estudiar la estructura y la conformación de los aminoácidos, los componentes básicos de las proteínas. La porción de baja frecuencia del espectro Raman es una fuente de información necesaria para un estudio exhaustivo de los aminoácidos. Esto es evidente en el rango de 65 a 3200 cm^{-1} región del espectro Raman de L-asparagina en **Figura 1**. Específicamente, la información vibracional en un espectro Raman puede ayudar a interpretar las interacciones moleculares y los procesos biológicos [3].

Figura 1 Muestra tanto la región de huella dactilar (azul) como la región Raman de baja frecuencia (rojo) para la L-asparagina; obsérvense las tres bandas dominantes por debajo de 200 cm^{-1} .

óptica única que permite la recopilación de datos en un rango espectral completo de 65–3500 cm^{-1} con una resolución espectral de 4,5 cm^{-1} .

Los espectros Raman se obtienen a temperatura ambiente utilizando el software SpecSuite con tiempos de integración que van desde 100 ms hasta 10 s.

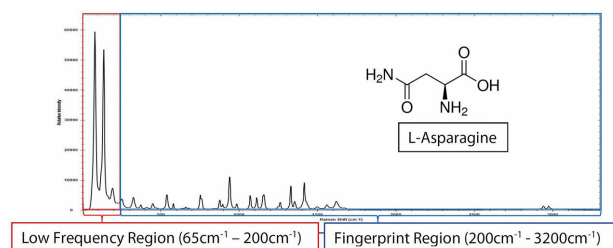


Figure 1. El espectrómetro i-Raman Plus de Metrohm, con una sonda estándar de grado de laboratorio, se utiliza para obtener los espectros de baja frecuencia de la L-asparagina con un tiempo de integración total de 1,2 s.

DETECCIÓN DE POLIMORFOS

Determinar la forma estructural de los principios activos farmacéuticos (API) es de gran importancia para la industria farmacéutica. Esto es especialmente cierto durante el desarrollo, la fabricación y el control de calidad del producto final.

Los principios activos farmacéuticos (API) presentan polimorfismo: tienen la misma composición química pero diferentes estructuras en estado sólido. Los polimorfos pueden afectar la biodisponibilidad y el índice terapéutico, por lo que la eficacia de un fármaco puede verse comprometida si se utiliza la forma incorrecta.^{2]} Los pseudopolimorfos incluyen disolventes suspendidos en una estructura reticular.

Figura 2 Proporciona un ejemplo del pseudopolimorfo D-glucosa, demostrando la capacidad de la sonda i-Raman Plus para detectar diferencias entre las formas monohidratada y anhidra a frecuencias inferiores a 200 cm^{-1} .

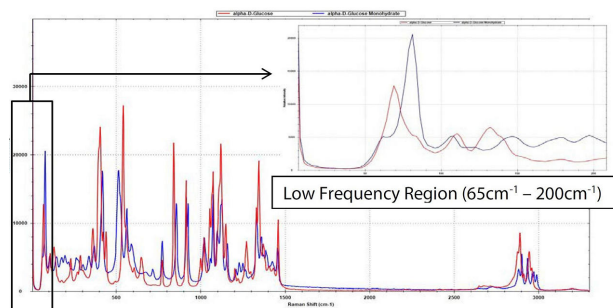


Figure 2. Espectros Raman de α -D-glucosa (rojo) y α -D-glucosa monohidrato (azul), tomados con un tiempo de integración de 10 s. Nótese la diferencia significativa entre los dos pseudopolimorfos dentro del rango de baja frecuencia (véase el recuadro).

SEGUIMIENTO DEL CAMBIO DE FASE

En la región de baja frecuencia se puede observar un cambio de un polimorfo a otro como resultado de la fusión seguida de la recristalización. Se requiere una especificidad excepcional para monitorear dichos cambios de fase, y la sonda del i-Raman Plus es muy adecuada, como se ha demostrado para el azufre (Figura 3).

El azufre α sólido se deposita sobre una bandeja de aluminio y se calienta con una placa calefactora mientras se recogen los espectros Raman con un i-Raman Plus y una sonda de fibra, utilizando una potencia láser de 300 mW y un tiempo de integración de 0,1 s para medir tanto la fase sólida como la líquida.

Después de calentar la muestra por encima de su punto de fusión a $115,2\text{ °C}$, el pico de baja frecuencia a $83,6\text{ cm}^{-1}$ se ensanchó y se desplazó, lo que indica el cambio de la forma α a la forma λ . Tenga en cuenta que no hay cambios observables dentro de la región de la huella dactilar (Figura 3).

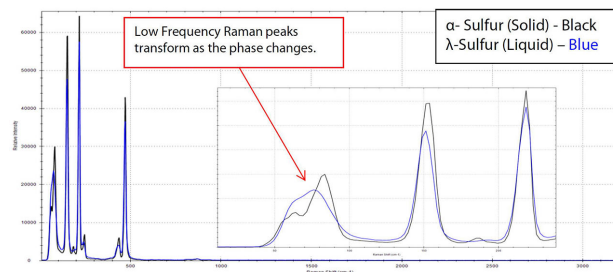


Figure 3. Espectros Raman del azufre en transición de la forma cristalina α a la forma líquida λ , obtenidos con un tiempo de integración de 0,1 s. Obsérvese un ensanchamiento significativo en los picos situados en la región de baja frecuencia (véase el recuadro).

CONCLUSIÓN

El espectrómetro Raman i-Raman Plus 785S es una herramienta valiosa para aplicaciones que requieren detección Raman de baja frecuencia hasta 65 cm^{-1} . La capacidad de caracterizar polimorfos y formas solvatadas respalda los procesos de fabricación y formulación en las industrias farmacéutica y biológica.

Junto con la caracterización de proteínas, polimorfos y fases, la espectroscopia Raman de baja frecuencia también se puede utilizar para estudiar redes de semiconductores [4], nanotubos de carbono [5], células solares y una variedad de minerales, pigmentos y piedras preciosas.

REFERENCIAS

1. Teixeira, A. METRO. R.; Freire, P. T. C.; Moreno, A. J. D.; y otros. Estudio Raman a alta presión de cristales de l-alanina. *Comunicaciones de estado sólido* **2000**, *116* (7), 405–409. [https://doi.org/10.1016/S0038-1098\(00\)00342-2](https://doi.org/10.1016/S0038-1098(00)00342-2).
2. Larkin, P. J.; Dabros, M.; Sarsfield, B.; et al. Caracterización polimórfica de principios activos farmacéuticos (API) mediante espectroscopia Raman de baja frecuencia. *Espectroscopia aplicada* **2014**, *68* (7), 758–776. <https://doi.org/10.1366/13-07329>.
3. Golichenko, B. O.; Naseka, V. M.; Strelchuk, V. V.; y otros. Estudio Raman de moléculas de L-asparagina y L-glutamina adsorbidas en películas de aluminio en un amplio rango de frecuencias. *Semiconductor. Física. Electrón cuántico. Optoelectrónico*. **2017**, *20* (3), 297–304. <https://doi.org/10.15407/spqeo20.03.297>.
4. Smith, E.; Dent, G. *Espectroscopia Raman moderna: un enfoque práctico*, 2.a ed.; John Wiley & Sons, 2019.
5. Pelletier, M. J. *Aplicaciones analíticas de la espectroscopia Raman*, 1.a ed.; Blackwell Science: Oxford, 1999.

CONTACT

Metrohm Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

mh@metrohm.es

CONFIGURACIÓN



i-Raman Plus 785S

El i-Raman Plus 785S es un espectrómetro de alta resolución y apto para investigaciones, diseñado para aportar precisión y versatilidad en un aparato compacto y portátil. Cuenta con un láser de 785 nm y una amplia gama espectral desde 65 a 3350 cm^{-1} y proporciona un rendimiento excelente para análisis cualitativos y cuantitativos. Su detector de matriz de CCD con refrigeración termoeléctrica asegura medidas con escaso ruido —incluso durante extensos tiempos de integración—, por ello resulta ideal para detectar señales Raman débiles en aplicaciones como la conservación de obras de arte, la mineralogía y la dispersión Raman mejorada en superficie, SERS.

El sistema incorpora opciones de muestreo flexibles, ya que permite utilizar una sonda de fibra óptica y diversos accesorios como, por ejemplo, un soporte de cubeta, un microscopio de vídeo y una platina de posicionamiento XYZ. Gracias al software SpecSuite, el 785S aporta refinados análisis de datos e identificación espectral.

El i-Raman Plus 785S es la opción ideal para equipos de profesionales que requieran análisis Raman fiables en una amplia gama espectral en entornos operativos muy difíciles, para investigaciones tanto en laboratorios como sobre el terreno.

Descubra cómo el i-Raman Plus brinda espectroscopía Raman apta para investigaciones en un paquete asequible:

- Amplia cobertura espectral y configuraciones de espectrómetro de alta resolución.
- El pequeño tamaño del sistema, su diseño ligero y su bajo consumo de corriente garantizan poder disponer de capacidad de análisis Raman apto para investigaciones en cualquier lugar.
- El i-Raman Plus cuenta con una sonda de fibra óptica para un muestreo fácil y puede usarse con un soporte de cubeta, un microscopio de vídeo y una platina de posicionamiento XYZ con soporte de sonda.
- El i-Raman Plus es respaldado por el software SpecSuite para facilitar la recogida de datos Raman, además de la construcción del modelo cuantitativo, la identificación por comparación con bibliotecas de espectros y los análisis de rutina.



Sonda Raman para laboratorio (785 nm)

Módulo de sonda de fibra óptica Raman para laboratorio con botón disparador. Longitud de la fibra: 1,5 m. Compatible con los modelos i-Raman Plus 785S y 785HR.