



Application Note 410000006-B

Espectroscopía Raman de baja frecuencia

La espectroscopia Raman es una herramienta analítica que permite medir la estructura molecular y la identificación de materiales en función de los modos rotacionales y vibratorios de una molécula. La mayoría de los sistemas Raman de laboratorio comerciales cubren la región espectral de huellas dactilares que oscila entre 200 y 3400 cm^{-1} .

La sonda B&W Tek i-Raman Plus BAC102 puede

acceder a modos de frecuencia más baja hasta 65 cm^{-1} , proporcionando una solución rentable para mediciones de rango más completo. El acceso a regiones de baja frecuencia proporciona información clave para aplicaciones en la caracterización de proteínas [1], detección e identificación de polimorfos [2], junto con la fase del material y la determinación de la estructura.

INTRODUCCIÓN

La región de baja frecuencia aumenta el contenido de información de la región de huellas dactilares del espectro Raman y amplía las posibles aplicaciones moleculares, como la detección de enlaces de

Aminoácidos

La espectroscopia Raman es una forma moderna de estudiar la estructura y conformación de los componentes básicos de las proteínas: los aminoácidos. Específicamente, el contenido de información vibratoria en un espectro Raman puede ayudar con la interpretación de interacciones moleculares y procesos biológicos [3].

A diferencia de muchas sustancias que no presentan picos por debajo de $\sim 400\text{ cm}^{-1}$, la porción de baja

hidrógeno. El resultado es una mayor sensibilidad de detección y diferenciación de materiales muy similares.

frecuencia del espectro Raman es una fuente de información necesaria para un estudio exhaustivo de los aminoácidos. Esto es obvio en todo el espectro Raman de la L-asparagina, de $65\text{ a }3200\text{ cm}^{-1}$.⁻¹ (Figura 1).

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

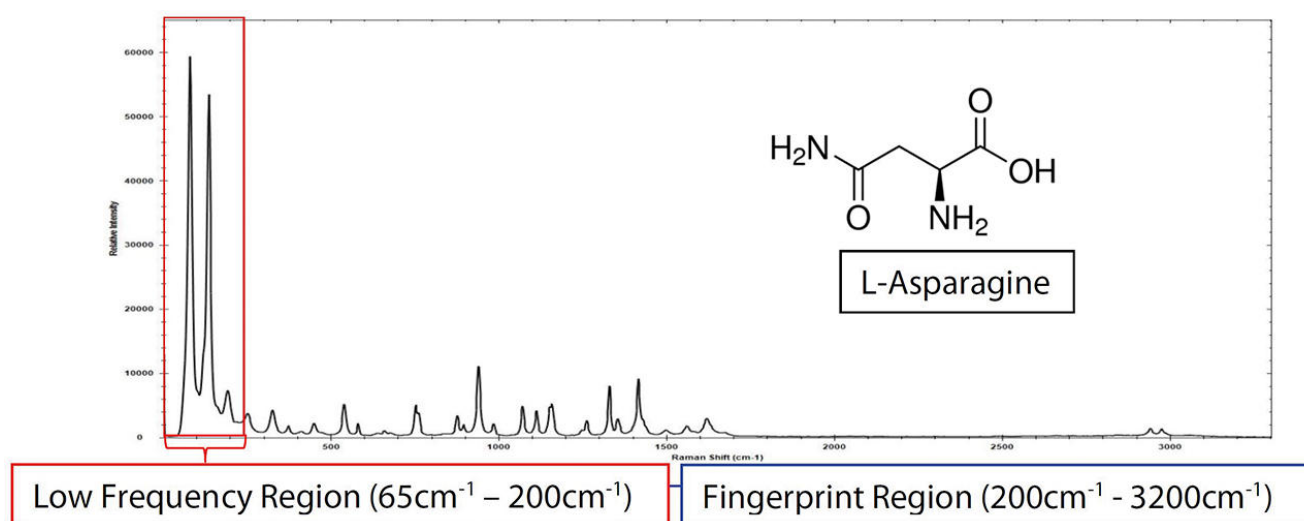


Figure 1. Se utilizaron i-Raman Plus y una sonda de grado E BAC102 para recolectar los espectros de baja frecuencia de L-asparagina con un tiempo de integración total de 1,2 s.

EXPERIMENTO

En esta aplicación se utilizó i-Raman Plus 785S, el espectrómetro Raman de laboratorio de B&W Tek que utiliza CleanLaze® patentado. Este instrumento presenta Excitación láser de 785 nm con un ancho de línea de menos de 0,2 nm y potencia de salida máxima de 300 mW.

i-Raman Plus está equipado con un CCD sensible, retrodelgado y refrigerado por TE. Una sonda BAC102

de grado E, que utiliza tecnología patentada, admite la recopilación de datos dentro de un rango espectral completo de 65–33500cm⁻¹ con una resolución espectral de 4,5 cm⁻¹.

Los espectros Raman se recogieron a temperatura ambiente utilizando una potencia de láser de 300 mW con tiempos de integración que oscilaron entre 100 milisegundos y 10 segundos (tabla 1).

Tabla 1. Parámetros experimentales.

Equipo	Configuración	
i-Raman Plus 785S	Potencia del láser	300mW
Sonda BAC102	Tiempo de integración	1,2 s
Software BWSpec	Promedios	1

RESULTADOS: DETECCIÓN DE POLIMORFOS

La determinación de la forma estructural de los ingredientes farmacéuticos activos (API) es una preocupación principal para la industria farmacéutica. Esto es especialmente cierto durante el desarrollo, la fabricación y el control de calidad de los medicamentos.

Los API exhiben polimorfismo: composición química idéntica pero diferentes estructuras de estado sólido. Los polimorfos pueden afectar la biodisponibilidad y

el índice terapéutico. 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 es un ejemplo del pseudopolimorfo D-glucosa, que demuestra la capacidad de la sonda de grado E para detectar diferencias entre las formas monohidrato y anhidra en frecuencias inferiores a 200 cm⁻¹.

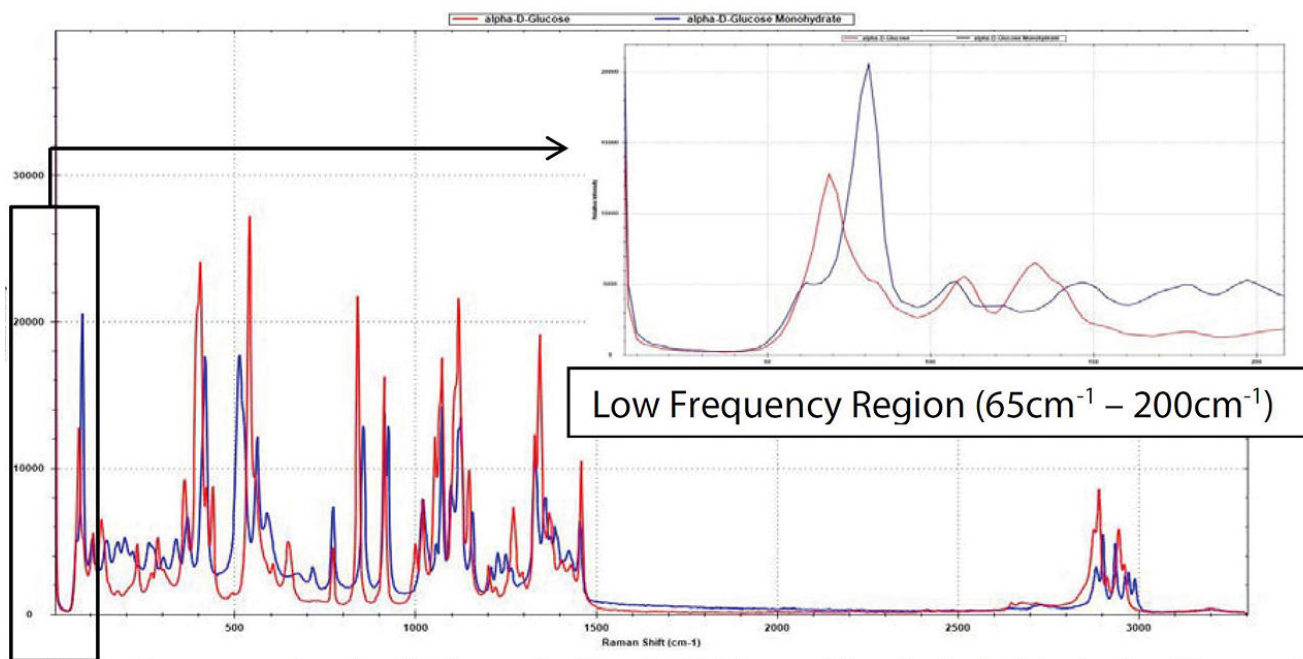


Figure 2. Espectros Raman de α -D-glucosa (rojo) y α -D-glucosa monohidrato (azul), tomados con un tiempo de integración de 10 s. Tenga en cuenta la diferencia significativa entre los dos pseudopolimorfos dentro del rango de baja frecuencia (ver incrustación).

RESULTADOS: SEGUIMIENTO DEL CAMBIO DE FASE

Se requiere una especificidad excepcional para monitorear cambios de fase como la cristalización en procesos químicos. La sonda de baja frecuencia de grado E puede monitorear tales cambios de fase, como se demostró para el azufre (figura 3).

Se depositó azufre α sólido en una bandeja de aluminio y se calentó con una placa calefactora mientras se recogían los espectros Raman con una sonda de grado E e i-Raman Plus, utilizando una

potencia del láser del 100% (~300 mW) y un tiempo de integración de 0,1 s para tanto en fase sólida como líquida.

Después de que la muestra se calentó por encima de su punto de fusión a 115,2 °C, el pico de baja frecuencia a 83,6 cm^{-1} se amplió y se desplazó, indicando el cambio de la forma α a la λ . Tenga en cuenta que no hay cambios observables dentro de la región de la huella digital (figura 3).

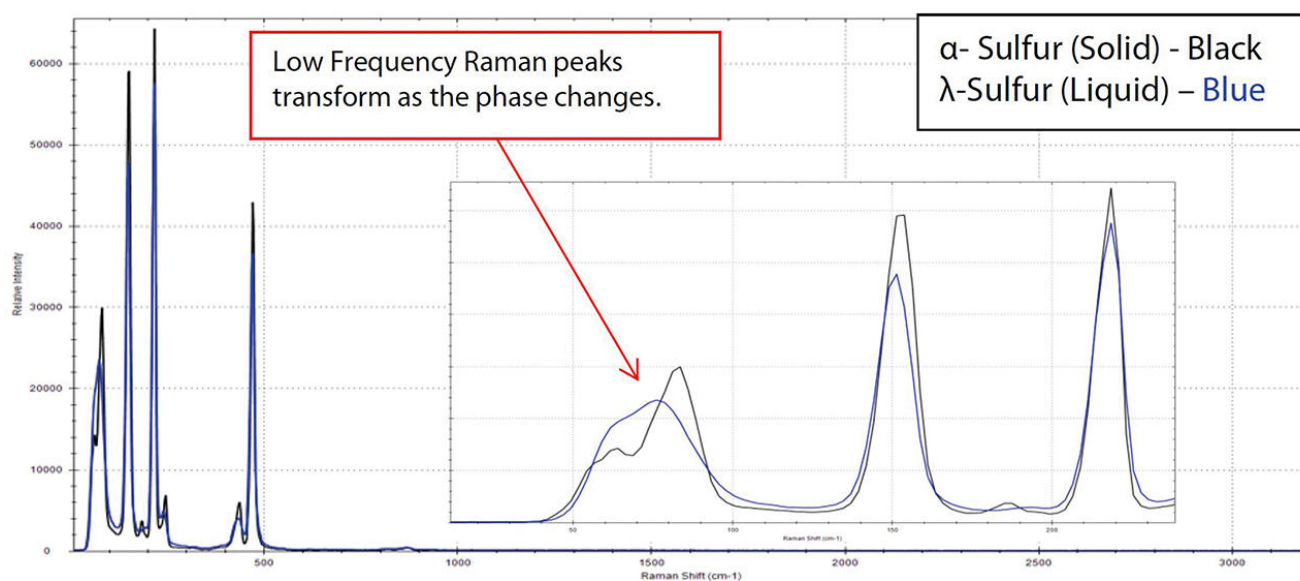


Figure 3. Espectros Raman de azufre en transición de la forma α -cristalina a la forma λ -líquida, tomados con un tiempo de integración de 0,1 s. Nótese un ensanchamiento significativo en los picos ubicados en la región de baja frecuencia (ver incrustación).

CONCLUSIÓN

El espectrómetro Raman i-Raman Plus 785S, junto con la sonda de baja frecuencia de grado E, puede ser una herramienta valiosa para aplicaciones que requieren detección de baja frecuencia de 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.

Además de 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 carbon [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.; et al. Estudio Raman de alta presión del cristal 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 polimorfa de ingredientes farmacéuticos activos (API) mediante espectroscopia Raman de baja frecuencia. *Appl Spectrosc* **2014**, 68 (7), 758–776.
<https://doi.org/10.1366/13-07329>.
3. Golichenko, B. O.; Naseka, V. METRO.; Strelchuk, V. V.; et al. Estudio Raman de moléculas de L-asparagina y L-glutamina adsorbidas en películas de aluminio en un amplio rango de frecuencia. *Semisegundo. Física. Electrón cuántico. Optoelectrón.* **2017**, 20 (3), 297–304.
<https://doi.org/10.15407/spqeo20.03.297>.
4. Smith, E.; Dent, G. *Espectroscopía Raman moderna: un enfoque práctico*, 2a ed.; John Wiley e hijos, 2019.
5. Pelletier, M. J. *Aplicaciones analíticas de la espectroscopia Raman*, 1a ed.; Ciencia de Blackwell: Oxford, 1999.

CONTACT

Metrohm Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

mh@metrohm.es

CONFIGURACIÓN



Espectrómetro Raman portátil i-Raman Plus 785S

El i-Raman® Plus 785S forma parte de nuestra serie premiada de espectrómetros Raman portátiles i-Raman con nuestra innovadora tecnología de espectrómetro inteligente. Este espectrómetro Raman portátil utiliza un detector equipado con una matriz de CCD con una alta eficiencia cuántica, refrigeración termoeléctrica y elevado rango dinámico, y proporciona un funcionamiento excepcional con poco ruido, incluso con tiempos de integración de hasta 30 minutos. Por lo tanto, también se pueden medir las señales Raman débiles.

El i-Raman Plus 785S ofrece una combinación única de amplio rango espectral y alta resolución con configuraciones que permiten medidas de 65 cm^{-1} a 3350 cm^{-1} . El pequeño tamaño del sistema, su diseño ligero y su bajo consumo de energía permiten el análisis Raman en el ámbito de investigación en todas partes. El i-Raman Plus está equipado con una sonda de fibra óptica para facilitar el muestreo y se puede utilizar con un soporte de cubeta, un microscopio de vídeo, un carro de rodillos dobles XYZ con soporte de sonda y nuestro software de análisis multivariado BWIQ® y el software de identificación BWID®. Con el i-Raman Plus, siempre tendrá una solución Raman de alta precisión para el análisis cualitativo y cuantitativo.



Extensión de sonda Raman con disparador (785 nm)

Módulo con sonda Raman de fibra óptica de calidad laboratorio a partir de 65 cm^{-1} con disparador manual, con fibra óptica de $105\text{ }\mu\text{m}$ de diámetro y 0,22 NA para excitación a 785 nm, $200\text{ }\mu\text{m}$ de diámetro 0,22 NA para registro Raman. Densidad óptica > 6 ; 1,5 m de longitud de fibra con conector SMA905 en el extremo del espectrómetro y conector FC/PC en el extremo del láser. Ventana de vidrio de cuarzo sellada con adhesivo para toma de muestras sin contacto. Distancia de trabajo 5,4 mm. No apto para inmersión.