

APLICACIONES ANALITICAS DE LA ESPECTROSCOPIA EN EL INFRARROJO CERCANO

Ing. Quím. Tomás Bense
Compañía Industrial de Tabacos Monte Paz S.A.

Introducción

La metodología conocida como "NIRA" (Near Infrared Reflectance Analysis) es relativamente desconocida para los químicos y muchas veces subestimada a priori por las dificultades que desde el punto de vista teórico aparenta presentar. Hay quien asegura que fue afortunado que los primeros investigadores que intentaron aplicar esta técnica carecieran de suficientes conocimientos teóricos como para considerarla irrealizable. Sin embargo, hoy que la industria y el avance tecnológico exigen técnicas analíticas cada vez más rápidas y precisas, el NIRA aparece, dentro de un vasto campo de aplicaciones, como la materialización del sueño dorado de los químicos analíticos: un analizador mágico en uno de cuyos extremos se introduce la muestra y en el otro, casi simultáneamente, se emite el informe final.

En efecto:

- NIRA permite medidas virtualmente instantáneas de las propiedades físicas y químicas del sistema analizado.
- NIRA no requiere insumos ni reactivos.
- NIRA no requiere una preparación especial de la muestra.
- NIRA produce resultados con exactitud y precisión similares a los métodos de laboratorio convencionales.
- NIRA no exige operadores especialmente adiestrados.
- NIRA es una técnica esencialmente no destructiva.

CTRLQ

HERRAMIENTAS DE SOFTWARE PARA EL CONTROL DE LA CALIDAD

Control estadístico de procesos:

- Análisis de Pareto de la frecuencia de defectos
- Gráficos de control por variables
- Gráficos de control por atributos

CTRL-Q funciona en computadores de tipo PC con sistema operativo MS-DOS

BCN Informática. Acevedo Díaz 1073. Tel. 420753/419476. Fax 420753.

Los espectros infrarrojos

Consideremos el espectro de las radiaciones electromagnéticas y centremos nuestra atención en la región del infrarrojo. (Fig. 1).

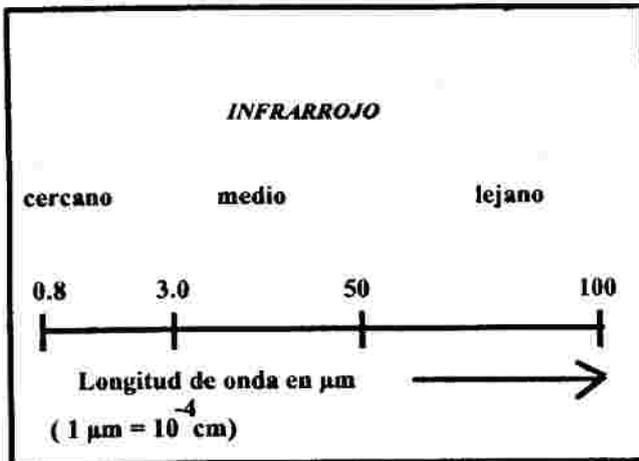


Figura 1

Esta se acostumbra a dividir más o menos arbitrariamente en tres regiones: IR cercano, IR medio e IR lejano.

Tradicionalmente fue el IR medio la región más fructífera para el estudio y elucidación de estructuras moleculares. En efecto, en dicha región se producen los espectros asociados a cambios energéticos en los estados vibracionales de las moléculas.

Cada enlace o grupo funcional vibra con frecuencias características y genera intensas líneas o bandas de absorción cuyas longitudes de onda permiten identificar la presencia de dichos enlaces o grupos funcionales.

Casi todos los compuestos orgánicos presentan espectros en dicha región espectral, que, por otra parte, es de fácil acceso instrumental, es decir, la óptica necesaria es relativamente sencilla y existen detectores muy sensibles para medir la intensidad de las radiaciones.

Cuando nos vamos desplazando hacia el IR cercano la situación cambia: las bandas de absorción se vuelven menos intensas en 2 ó 3 órdenes de magnitud (en realidad son debidas a transiciones prohibidas por la mecánica cuántica) y corresponden en general a vibraciones de estiramiento de enlaces en los que interviene el átomo de H. (Fig. 2).

EJEMPLOS

C - H	COMPUESTOS CON GRUPOS TERMINALES METILENO Y ETINO (POLIMEROS, OLEFINAS, EPOXIDOS, CICLOPROPANOS).
N - H	AMINAS, AMIDAS, HIDRACINAS, PEPTIDOS, ALCALOIDES, ETC.
O - H	ALCOHOLES, FENOLES, HIDROPEROXIDOS, ACIDOS CARBOXILICOS, OXIMAS Y AGUA.
C - O	ESTERES, CETONAS, ACIDOS.

Figura 2

Existen tablas de correlaciones estructurales y espectrales en el IR cercano como en la Fig. 3.

	LONGITUD DE ONDA (μm)										
	0.7	0.9	1.1	1.3	1.5	1.7	1.9	2.1	2.3	2.5	
-CH ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
>CH ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
>CH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
C=C-H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
≡CH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Aromatic CH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
R-CH ₂ -CH ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
R-CH ₂ -CH ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
H ₂ C=O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
>C=O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
>POH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
-SH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
-C≡N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
H ₂ O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
ROH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
RNH ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
RNHR ^I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
RCONH ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
RCONHR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Figura 3

Por otra parte, las bandas de absorción en el IR cercano son mucho más anchas en el IR medio, superponiéndose entre sí e interfiriéndose mutuamente, lo cual, unido a su menor intensidad, entorpece considerablemente su interpretación y aplicaciones analíticas (ver Fig. 4).

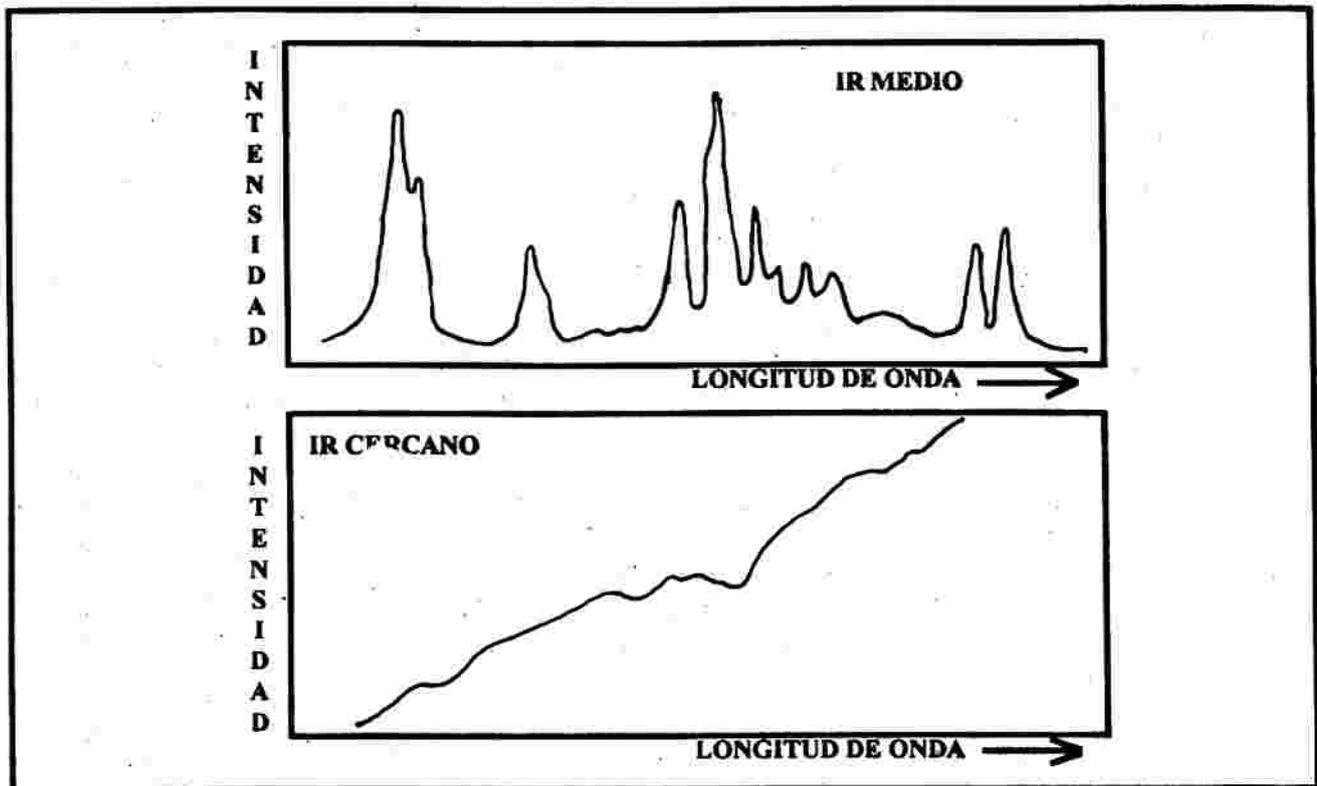


Figura 4

Estos hechos explican porqué el IR cercano fue una región por mucho tiempo olvidada, y porqué recién comenzó a cobrar importancia cuando se desarrollaron computadoras capaces de facilitar la aplicación de métodos matemáticos de deconvolución para el estudio individual de las bandas interferidas y cuando se tuvo acceso a una electrónica más sofisticada y a nuevos y más sensibles detectores surgidos de los avances que en el área de comunicaciones se realizó durante la Segunda Guerra Mundial.

Estas dificultades hicieron que recién en la década de 1955-1965 se comenzara a reconocer el potencial analítico de la espectroscopía en el IR cercano.

Por esa época el Departamento de Agricultura de E.E.U.U. inició un programa de investigación destinado a desarrollar métodos fisicoquímicos rápidos para la evaluación analítica de productos agrícolas.

Este grupo, liderado por Karl Norris, incluyó la metodología NIRA en la batería de métodos estudiados, y por la naturaleza misma del proyecto inicial no debe extrañarnos que la mayor parte del trabajo pionero en este campo se haya orientado a resolver problemas agrícolas.

Fue así que surgieron las primeras generaciones de equipos comerciales para análisis basados en la metodología NIRA. Se pudieron así poner a punto instrumentos para evaluar

humedad, proteínas, aceite, fibras, cenizas etc. en cereales, semillas oleaginosas, forrajes, raciones alimenticias y otros productos agrícolas.

Evidentemente resultaba sumamente tentador un método que resolvía estos problemas sin necesidad de manipulaciones químicas, ni operadores experimentados, en tiempo menores de un minuto y con la posibilidad de montar los equipos, particularmente robustos, en unidades móviles capaces de permitir un muestreo directamente en las áreas de cultivo o almacenaje, permitiendo evaluar rápidamente la calidad de los productos antes de las transacciones comerciales.

No debe pues sorprender que el método NIRA fuera adoptado en 1975 como método oficial para análisis de proteínas por la Canadian Grain Commission, alcanzando también el status oficial en USA en 1982 al ser aprobado por la American Association of Cereal Chemists.

Estos éxitos del NIRA promovieron el desarrollo de nuevas generaciones de instrumentos con dispositivos ópticos, electrónicos y computacionales cada vez más sofisticados, ampliándose el campo de aplicación al área de productos lácteos, papel, tabaco, films plásticos, fibras sintéticas, productos farmacéuticos, procesos químicos, etc.

Fundamentos de la instrumentación NIRA

Una de las grandes ventajas del NIRA radica en su aplicabilidad a sustancias sólidas, opacas, como cereales, material vegetal crudo, fibras, etc.

En este caso lo que se mide es la radiación reflejada, es decir se miden reflectancias. Aquí tenemos necesidad de aclarar ciertos conceptos sobre la reflexión de la luz.

Cuando nos miramos en un espejo lo que vemos es nuestra imagen prácticamente intacta: los rayos luminosos pasaron del objeto (nosotros) al espejo y volvieron al objeto sin cambio alguno. Contienen la misma información antes y después de la reflexión: esta es la llamada Reflexión Especular. Si ahora pretendemos mirarnos en una pared la situación cambia: los rayos provenientes del objeto interactúan con la pared y se dispersan en todas direcciones. Estos rayos dispersados, que ignoran nuestra imagen, llevan ahora una cantidad de información sobre el color, textura e incluso composición química de la pared. Este es el fenómeno de Reflectancia Difusa.

La diferencia entre ambos tipos de reflexión se esquematiza en la Fig. 5.

A1 representa el caso de la reflexión especular, mientras que A2 representa la reflexión difusa.

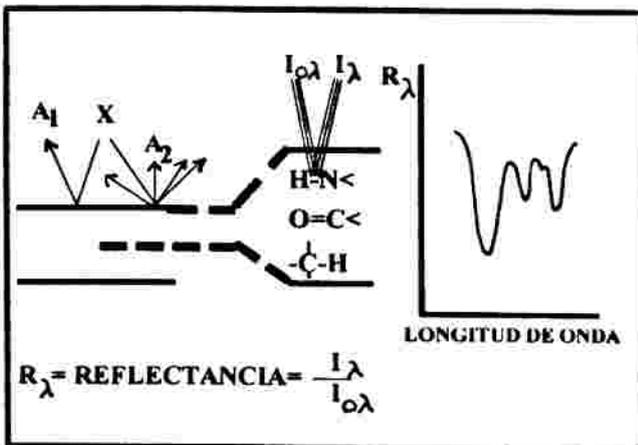


Figura 5

En este segundo caso la radiación incidente penetra hasta cierta profundidad en el material e interactúa con los componentes químicos de ésta. En particular si la radiación incidente corresponde a la región IR podrá interactuar con los estados vibracionales de los diversos tipos de enlaces químicos presentes en la muestra, siendo parcialmente absorbida y produciendo transiciones energéticas en dichos sistemas.

Las longitudes de onda absorbidas dependerán pues de los enlaces y grupos funcionales presentes, y, en consecuencia, la radiación reflejada transportará información sobre la composición química del material sobre el cual incidió. Como analistas, la reflexión que nos interesa es obviamente la difusa, y los sistemas instrumentales se basan en la medida de la Reflectancia, R_{λ} , a diferentes longitudes de onda, obteniéndose el correspondiente espectro.

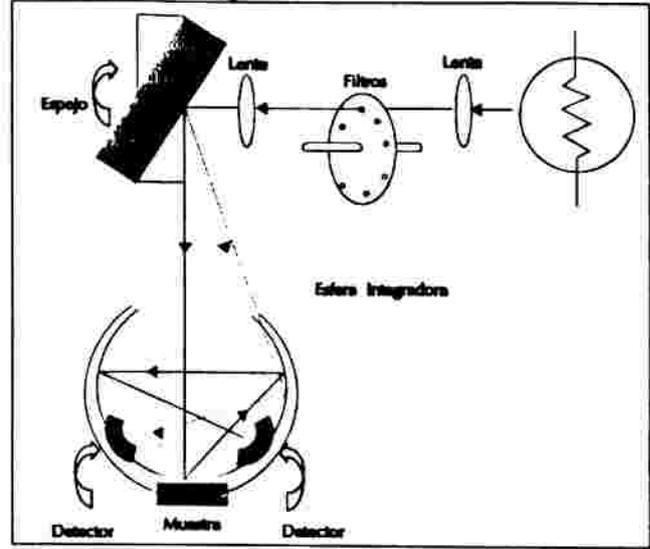


Figura 6

En la Fig. 6 se presenta un ejemplo típico de tales sistemas. Una fuente emisora de radiación continua, es decir que contiene todas las longitudes de onda, por lo menos del IR cercano, es filtrada secuencialmente por una serie de filtros de interferencia que solo dejan pasar ciertas longitudes de onda seleccionadas (en general, hasta 19 filtros). Estas radiaciones casi monocromáticas son dirigidas por un espejo hacia la superficie de la muestra, donde son parcialmente y selectivamente absorbidas según la naturaleza química de ésta, luego de lo cual son reflejadas en forma difusa en todas direcciones, siendo captadas por las paredes reflectoras de una esfera integradora que finalmente las dirige hacia detectores de PbS cuyas señales son procesadas por el sistema electrónico del instrumento. El espejo de enfoque es oscilante, lo que hace que la radiación se refleje alternadamente sobre la pared de la esfera y sobre la muestra, generando alternadamente en los detectores señales proporcionales a $I_{0\lambda}$ y I_{λ} respectivamente. La computadora asociada al instrumento procesa estas señales y calcula R_{λ} o una función de ésta, procediendo luego a resolver las ecuaciones que enseguida discutiremos y que permiten calcular la concentración de los componentes de interés. Los instrumentos más sofisticados sustituyen el sistema de filtros por un monocromador a red holográfica pudiendo efectuar medidas a 700 diferentes longitudes de onda.

Fundamentos del método NIRA cuantitativo

Un producto orgánico de origen vegetal como por ejemplo un cereal, una semilla oleaginosa, un forraje, etc., poseerá una serie de constituyentes químicos que en su mayoría presentarán bandas de absorción en el IR cercano. La compleja composición de tales materiales determinará obviamente una complicada curva espectral resultante de la sobreposición de los espectros individuales (ver. Fig. 7). Obsérvese que en las ordenadas no hemos utilizado R_{λ} sino una función de ésta que resulta más conveniente desde el punto de vista práctico, $\log (1/R_{\lambda})$.

Las interferencias espectrales señaladas impedirían la aplicación de los métodos de cálculo de la espectrofotometría convencional. Es aquí donde acuden en ayuda del NIRA los métodos Quimiométricos.

La quimiometría es la disciplina que aplicando métodos matemáticos y estadísticos permite lograr

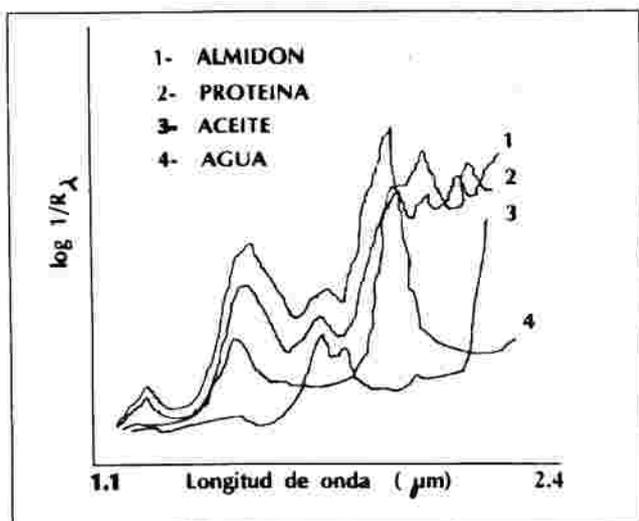


Figura 7

TABLA 1

CONSTITUYENTE	PRODUCTO	COEFICIENTE DE CORRELACION
PROTEINA	MAIZ	0.910
	SOYA	0.943
	AVENA	0.945
	TRIGO	0.988
	HARINA	0.998
	FORRAJE	0.992
ACEITE	CEBADA	0.986
	MAIZ	0.913
	SOYA	0.969
	AVENA	0.978
HUMEDAD	ARROZ	0.783
	MAIZ	0.997
	SORGO	0.974
CENIZAS	HARINA	0.968

la máxima información química acerca del sistema en estudio. Obviamente, el tratamiento matemático estadístico exige recurrir a métodos computacionales adecuados. A lo que finalmente se llega es a que, para evaluar la concentración de un dado componente X en un sistema bastará medir $\log (1/R_{\lambda})$ a n diferentes longitudes de onda y luego resolver la ecuación:

$$\% \text{ COMPONENTE X} = f_0 + \sum_{i=1}^n f_{\lambda i} \log \frac{1}{R_{\lambda i}}$$

Para cada componente de interés presente en el material analizado existirán cierto número de longitudes de onda previamente seleccionadas y los correspondientes coeficientes $f_0, f_{\lambda i}$, información que permanece almacenada en la memoria de la computadora asociada al instrumento.

La realización del análisis de un dado componente implicará pues simplemente introducir la muestra en el instrumento y pedirle a éste que mida las reflectancias a las longitudes de onda preestablecidas para el componente en cuestión y que luego aplique la ecuación anterior, conocida como ecuación de calibración. Todo esto en menos de un minuto.

En la tabla 1 se observan ejemplos de la excelente correlación lograda entre los resultados analíticos por métodos químicos convencionales y por NIRA.

Surge ahora una pregunta obvia: ¿cómo se seleccionan las longitudes de onda más apropiadas y como se evalúan los coeficientes f ? Para hacerlo, debe recurrirse a un conjunto de muestras de calibración (25 o más) fielmente representativas del material que luego deberá analizarse rutinariamente. Estas muestras deberán analizarse por algún método químico convencional (por ejemplo el método de Kjeldahl para proteínas).

Se medirá la reflectancia de estas muestras a todas las longitudes de onda disponibles en el instrumento (p.e.: 19). La ecuación de calibración podrá resolverse ahora para combinaciones de 1 a 19 coeficientes f utilizando un método de Regresión Múltiple.

Las longitudes de onda más adecuadas se seleccionarán combinando el método de Regresión Múltiple con una búsqueda basada en el estudio de **todas las combinaciones posibles** de longitudes de onda y un análisis de optimización a través de parámetros estadísticos. Duro trabajo, pero para la computadora.

En la Fig. 8 puede observarse como aumenta el número de modelos matemáticos a evaluar al aumentar el número de longitudes de onda en las combinaciones.

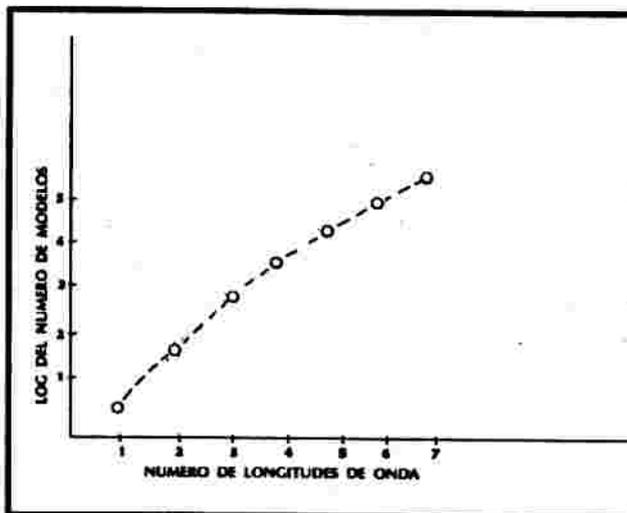


Figura 8

Para el análisis de optimización puede recurrirse a diversos parámetros estadísticos que nos permitirán limitar el número de longitudes de onda empleadas. Consideremos, por ejemplo, el empleo del coeficiente de correlación múltiple (R) y el error standard de predicción (ESP).

R se aproxima a la unidad cuando mejora el ajuste de la ecuación de regresión, y representa la fracción de la variación total explicada por la ecuación de regresión.

El ESP es una medida del error operativo real que se produce cuando se opera el instrumento bajo las condiciones de rutina. El ESP se computa utilizando un grupo de 25 a 100 muestras de predicción, e incluye todos los errores sistemáticos y aleatorios que involucran al grupo de muestras de predicción, al instrumento, al método de laboratorio de referencia utilizado para analizar las muestras de calibración y a los procedimientos utilizados para procesar los datos.

Son comunes interrelaciones entre R y ESP del tipo indicado en la figura 9.

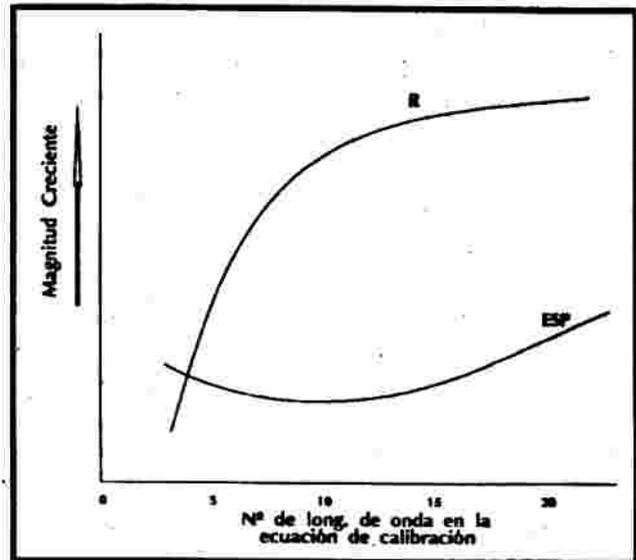


Figura 9

En el caso de la figura 9 vimos que no se justifica utilizar un número mayor de longitudes de onda del orden de aproximadamente 7-8. En muchos casos este número es aun menor (4-5).

Este comportamiento no debe extrañarnos. A priori parecería razonable que cuanto más longitudes de onda introdujéramos más información aportaríamos a la computadora y mejor sería la calibración obtenida.

Sin embargo, debemos considerar que hay longitudes de onda que aportan mucha información sobre un dado componente (por ejemplo las correspondientes o cercanas a sus máximos de absorción) mientras que otras aportan poco o nada de información y, en cambio, introducen fluctuaciones aleatorias asociadas a la matriz de la muestra: dicho de otra manera, introducen "ruido analítico".

Consideraciones finales

NIRA es una técnica eminentemente empírica. No existe ley matemática que describa la interacción de la radiación con un medio dispersivo conteniendo una distribución heterogénea de las especies absorbentes: es obvio pues que la mayor dificultad que va a encontrar quien intente adoptar esta metodología residirá en la etapa de calibración para los problemas analíticos concretos que desee resolver.

Una buena calibración debe ajustarse a una serie de condicionantes teóricas y prácticas que ni siquiera pudimos esbozar en este breve artículo. Exige esfuerzo, pero es bien recompensado por las ventajas de rapidez, precisión y economía que puede lograrse con el método.

Debemos aclarar que para ciertas aplicaciones específicas los fabricantes ya ofrecen sus equipos previamente calibrados. Nuestra experiencia nos permite afirmar que es muy recomendable que cada usuario calibre su equipo para sus aplicaciones específicas, ya que es discutible la universalidad de las calibraciones de origen.

No debe asustar el aparataje matemático necesario, pues las computadoras suelen ya ser herramientas corrientes en el laboratorio de química analítica y los programas de aplicaciones quimiométricas son integrantes corrientes de los paquetes de software científico.

Como una alternativa para los analistas reacios a estas disciplinas de cálculo, algunos fabricantes ofrecen la posibilidad de conectar el microprocesador del instrumento, a través de una red internacional de comunicaciones vía satélite, a una computadora central capaz de recibir y procesar la información relativa a las muestras de calibración devolviendo al usuario la ecuación de calibración adecuada para el problema concreto planteado.

Confiamos que en el futuro la metodología NIRA irá ganando aceptación, promoviendo nuevos desarrollos en dicha área y convirtiéndose finalmente en una herramienta corriente en los laboratorios de Química Analítica.



C I M E

CONSULTORES en INGENIERIA MECANICA y ELECTRICA

Desde 1973 brindando sus servicios a las empresas de nuestro medio en los diversos campos de la INGENIERIA INDUSTRIAL;
Proyectos y Dirección de Obras en las áreas
Eléctrica, Lumínica, Térmica, Acústica, Diseño de Máquinas.
Protecciones contra descargas atmosféricas:
Pararrayos Ionizantes, Proyecto, Suministro e Instalación.

Charrúa 1814

teléfono 49 17 64