

Capítulo 5. El accesorio de reflexión total atenuada (ATR)

5.1. Introducción

En el espectrómetro de FTIR, el dispositivo donde se produce la interacción entre la radiación infrarroja y la muestra a ser analizada se le conoce como accesorio de interacción y, al igual que los equipos, a través del tiempo han aparecido en el mercado novedosos diseños. En la Figura 5.1 se pueden observar algunos diseños. Estos diseños están basados generalmente en el aspecto físico de la muestra a ensayar, que pueden ser líquidas, solidas, semisólidas, gaseosas, en polvo o en forma de laminilla delgada. En este apartado se habla del accesorio de reflexión total atenuada, o también conocido como ATR (acrónimo proveniente del inglés, *Attenuated Total Reflection*), ya que es un accesorio ampliamente versátil, debido a que prácticamente se adapta a cualquier tipo de presentación física de la muestra (véase Figura 5.1). También, se mencionan los principios ópticos esenciales relacionados con el accesorio de ATR (por ejemplo, la ley de Snell), así como se muestran algunos diseños geométricos básicos. Además, se mencionan las características de los materiales con que se elaboran los cristales de interacción del ATR.

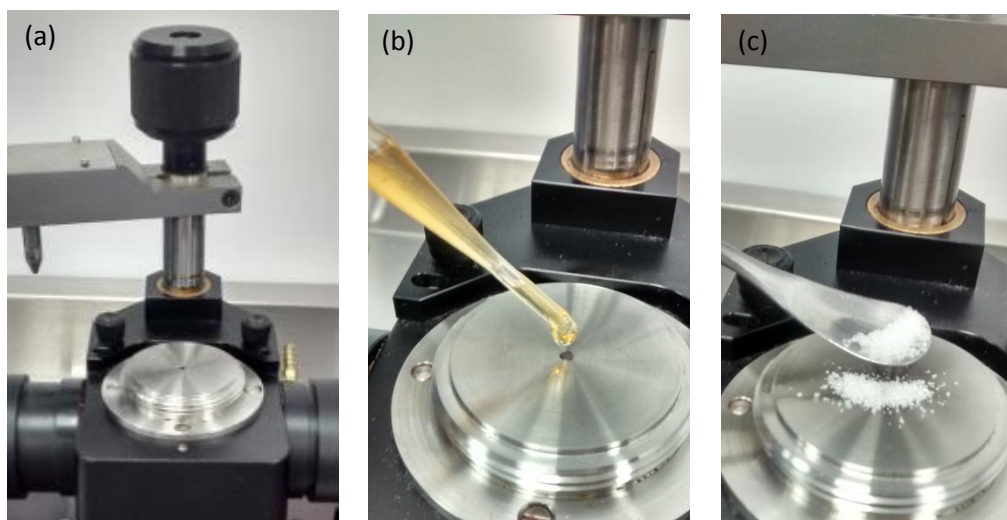


Figura 5.1. Un accesorio de ATR (a) y su versatilidad para el análisis de muestras en estado líquido (b) o sólido (polvos) (c).

5.2 Los accesorios de interacción

Los modos o accesorios para que suceda la interacción de la radiación infrarroja y la muestra son de varios tipos, y principalmente se conocen en función a la forma en que interactúa el haz de infrarrojo con la muestra y por lo tanto sus diseños geométricos y materiales son diferentes. Por ejemplo, los más comunes son los basados en fenómenos de reflexión difusa, reflexión total atenuada y de transmisión. En la Figura 5.2a-c se muestran gráficamente estos fenómenos. Este libro, al estar basado en el análisis de alimentos haciendo uso del accesorio de reflexión total atenuada más adelante se hablará más detalle de este diseño (Figura 5.2c).

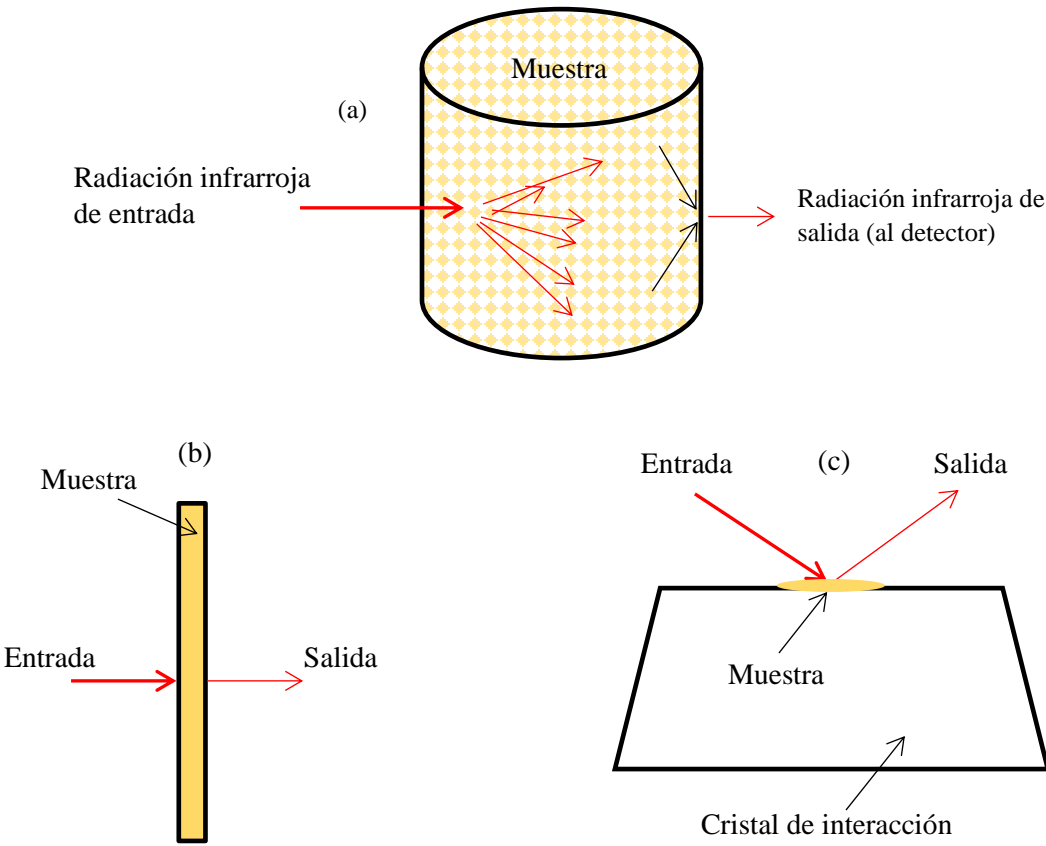


Figura 5.2 Modos comunes de interacción entre una muestra y un haz de infrarrojo, (a) Reflexión difusa, (b) Transmisión y (c) Reflexión total atenuada.

El modo de transmisión es el más antiguo de los métodos de interacción y (Figura 5.2b) consiste básicamente en colocar la muestra (con un espesor relativamente delgado) de manera perpendicular al haz de infrarrojo, de esta manera el haz interactúa con la muestra al atravesarla. En el modo de reflexión difusa la muestra, generalmente dispersa en una matriz

transparente al infrarrojo (no absorbe radiación infrarroja), por ejemplo, polvo de bromuro de potasio (KBr), se coloca en un compartimiento donde el haz de infrarrojo interacciona en forma difusa (en varias direcciones) con la muestra dispersa en el KBr, para después salir en varias direcciones y concentrar la señal que se dirigirá hacia el detector del espectrómetro (Figura 5.2a). Estos dos modos de interacción mencionados han ido perdiendo relativamente popularidad en relación con el modo de ATR debido principalmente a la simplicidad del método y a la buena resolución de los espectros resultantes, independientemente del estado físico de la muestra. Esto no quiere decir que los modos de transmisión y de reflexión difusa dejen de utilizarse definitivamente para el caso de muestras alimenticias, ya que aún con las bondades de la técnica de ATR, hay que mencionar que es una medida superficial de las muestras.

5.3 Principios básicos de refracción y reflexión de la luz

5.3.1 El índice de refracción

En el vacío, la luz se propaga a una velocidad (c) de 299,792.458 m/s, mientras que, en cualquier otro medio, se propaga más lentamente. La relación entre c y la velocidad de la luz propagada en cualquier otro medio (v), se denomina índice de refracción (n) de esa sustancia, es decir:

$$n = c/v \quad (5.1)$$

Sí bien, la determinación del índice de refracción está influenciada por la temperatura y la longitud de onda de la luz emitida sobre una sustancia. En condiciones controladas de medición, es una propiedad constante para un material y permite determinar la pureza de una sustancia o cuantificar un compuesto en mezclas binarias de constituyentes conocidos. El índice de refracción se mide en un refractómetro normalmente a 20°C y a una longitud de onda de 589 nm. Actualmente la medición del índice de refracción de líquidos se determina de manera rápida y fácilmente. En cambio, para muestras sólidas es conveniente que ésta se fije en forma correcta en el porta-muestras del refractómetro.

5.3.2 El índice de refracción de los alimentos

La mayoría de los alimentos fluidos frescos tienen un índice de refracción mayor al del agua (1.333), lo cual resulta obvio ya que todos estos alimentos poseen una buena cantidad de ella. Por ejemplo, la miel de abeja presenta un índice de refracción entre 1.491 y 1.486, ya que puede presentar valores de humedad cambiantes (16-24%) como consecuencia de las condiciones ambientales donde la producen las abejas. Las bebidas de sabor suelen tener un valor de índice de refracción por arriba de 1.333 en función de la cantidad de azúcar añadida.

Una solución de sacarosa al 95% en peso tiene un índice de refracción aproximadamente de 1.518. La leche fluida puede tener valores de índice de refracción también cambiantes y tiene en promedio un valor de 1.350. Por otro lado, un aceite comestible presenta un valor promedio de 1.460. Hay que hacer notar que los índices de refracción mencionados, los cuales aparecen muy frecuentemente en la bibliografía especializada, fueron calculados utilizando una luz en el rango del espectro visible (589 nm), no con radiación infrarroja, pero para fines prácticos pueden considerarse como valores aproximados del índice de refracción.

5.3.3 Ley de Snell

En la segunda década del siglo XVII el matemático y astrónomo holandés Willebrord Snell realizó trabajos sobre varios aspectos de geometría óptica. Sin embargo, no fue sino hasta 80 años después de la muerte de Snell, en el año de 1703, que el también holandés Christiaan Huygens publicó los resultados de Snell, entre los que se encuentran varios estudios sobre las leyes de la refracción, lo que le permitió encontrar lo que hoy en día se conoce como la ley de Snell.

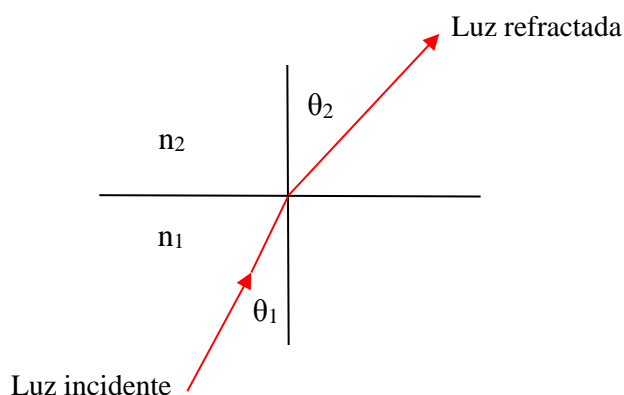


Figura 5.3 Representación del fenómeno de refracción de la luz

La ley de Snell relaciona los índices de refracción de dos medios (n_1 y n_2) con las direcciones de propagación de la luz en términos de los ángulos de la normal (θ_1 y θ_2) (ver Figura 5.3), lo cual matemáticamente se puede representar como:

$$(n_1) \text{ sen } \theta_1 = (n_2) \text{ sen } \theta_2 \quad (5.2)$$

De acuerdo a la ley de Snell, es posible decir que mientras mayor sea el ángulo de incidencia, el ángulo de refracción será mayor. Sin embargo, hay un límite. Para cierto ángulo de incidencia, ahora llamado el ángulo crítico (θ_c), el ángulo de refracción es 90° y el rayo refractado se dirige a lo largo de la interface entre los medios (Figura 5.4).

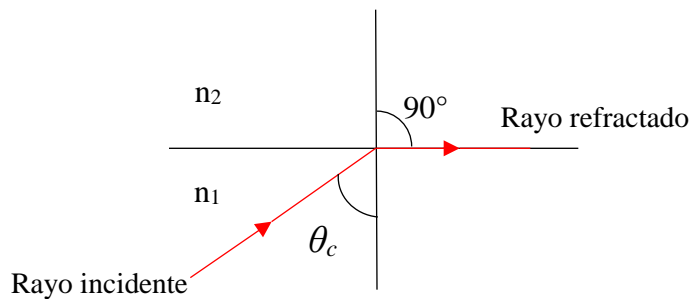


Figura 5.4 Representación de un rayo refractado paralelo a la horizontal

Sí el ángulo de incidencia es mayor que el ángulo crítico ($\theta_i > \theta_c$), el rayo ya no se refracta, sino que ahora se refleja internamente, a esta condición se le llama reflexión interna total y se muestra gráficamente el fenómeno en la Figura 5.5.

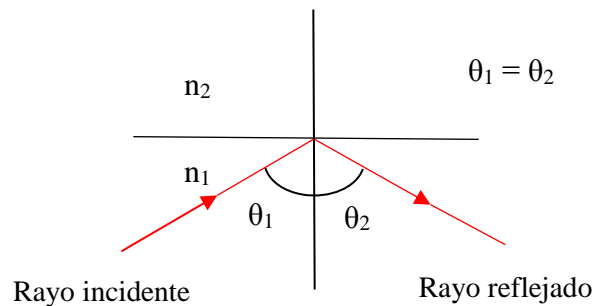


Figura 5.5 Representación del fenómeno de reflexión interna total, donde el ángulo θ_1 es mayor que el ángulo crítico θ_c .

Utilizando la ley de Snell es posible encontrar una relación para generar la reflexión interna total. Y dado que $\theta_2 = 90^\circ$ y como $\text{sen } 90^\circ = 1$, la ecuación (5.2) queda como sigue:

$$\text{sen } \theta_1 = n_2/n_1 \tag{5.3}$$

Por lo tanto, si el ángulo de θ_1 es mayor al ángulo crítico (θ_c) se estará generando en la interfase de ambos medios, el fenómeno de reflexión interna total, es decir:

$$\theta_c = \text{sen}^{-1} (n_2/n_1) \tag{5.4}$$

La relación anterior es válida para cualquier tipo de radiación, sin embargo, cuando se utiliza una radiación infrarroja un fenómeno diferente sucede en la interfase (n_2/n_1), lo cual es la clave del accesorio de ATR, es decir a cada reflexión de la radiación, una onda evanescente se forma en el medio de menor densidad óptica.

5.4 El fundamento del accesorio de ATR

Un accesorio comercial de ATR consta principalmente de un cristal de alto índice de refracción (n_1), el cual no absorbe radiación infrarroja, donde se coloca la muestra a medir. En la Figura 5.6 se muestra el dibujo de un típico accesorio comercial de ATR. La muestra alimenticia, con índice de refracción n_2 , se coloca en contacto con la superficie del cristal. Entonces, la radiación infrarroja incide a través de cristal, y de ahí a la interfase (cristal-muestra), y enseguida una fracción de está radiación es la que penetra a la muestra (en forma de onda evanescente, e^{-1}), la cual parte de ella es selectivamente absorbida por la muestra a determinadas frecuencias, el resto de la radiación sale hacia el detector del espectrómetro [1-5] (Figura 5.6). Existen accesorios de ATR donde se originan varias reflexiones internas o solamente una sola reflexión internas, y su uso depende de varios factores, pero podemos decir que depende en gran medida de la capacidad de absorción de una muestra, lo cual redundará en la obtención de un espectro de calidad (picos bien definidos).

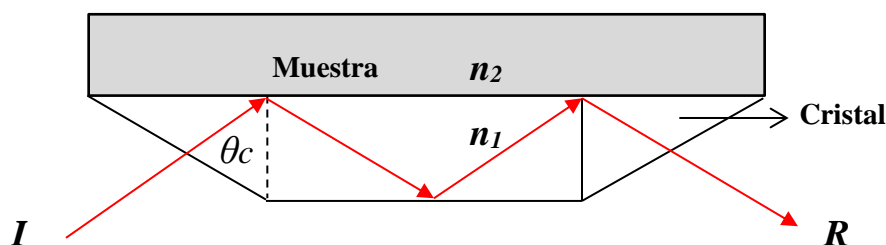


Figura 5.6 Representación del accesorio de reflexión total atenuada (ATR) y la forma en que interactúa la radiación infrarroja en la interfase cristal-muestra (I = radiación incidente, R = radiación reflejada). θ_c es el ángulo crítico.

Y de acuerdo a la ley de Snell, para que suceda entre la muestra y el cristal el fenómeno de reflexión interna se debe de cumplir la siguiente expresión matemática:

$$\text{sen } \theta_c > \frac{n_2}{n_1} \quad (5.5)$$

5.4.1 El fenómeno de la onda evanescente

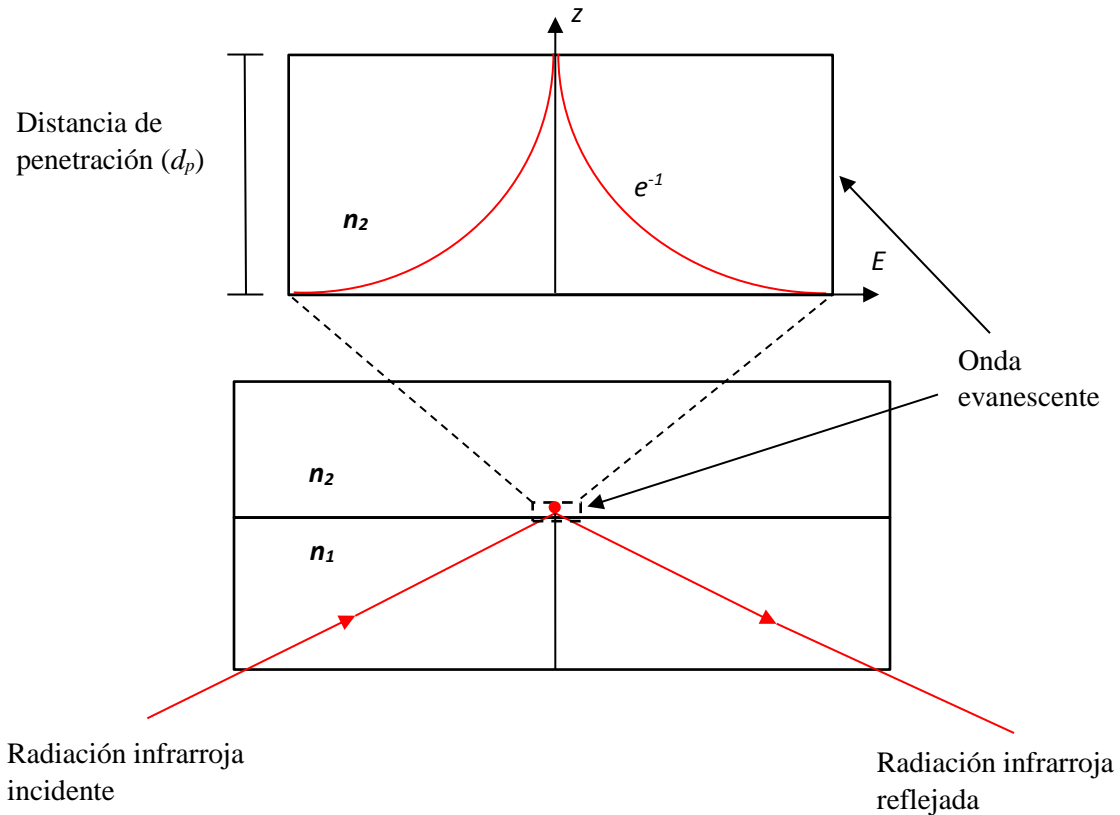


Figura 5.7 Representación gráfica de una onda evanescente formada en la superficie del elemento óptico de mayor índice de refracción (n_2) en contacto íntimo con el elemento óptico de menor índice de refracción (n_1).

Hemos visto que hay una condición para producir la reflexión interna total de la radiación cuando esta circula de un medio de alta densidad óptica a otro medio de baja densidad óptica. Sin embargo, cuando esta radiación es de naturaleza infrarroja se produce un fenómeno de suma importancia en la interfase de los dos cuerpos ópticos, es decir se genera una onda evanescente en el cuerpo de menor densidad óptica. En la Figura 5.7 se muestra esquemáticamente el principio de la onda evanescente. La onda evanescente puede ser descrita como un campo eléctrico, de la onda electromagnética, que permanece normal a la interfase de los medios ópticos y es el resultado de la interacción de los campos eléctricos de las ondas incidentes y reflejadas de la radiación infrarroja. La amplitud de la onda eléctrica (E) disminuye exponencialmente con la distancia desde la interfase y matemáticamente puede ser expresada como sigue:

$$E = E_0 e^{-\left(\frac{z}{d_p}\right)} \tag{5.6}$$

donde E_0 es la amplitud del campo eléctrico en la interfase ($z = 0$), z es la distancia desde la interfase y d_p es la profundidad de penetración. La distancia de penetración (d_p) está definida como la distancia donde la amplitud del campo eléctrico es e^{-1} de E_0 , es decir la intensidad de esta onda va decayendo a medida que se aleja de la interfase [4]. Una condición esencial para que se genere la onda evanescente es un eficiente contacto entre los dos cuerpos ópticos, en este caso el cristal y la muestra. La profundidad de penetración de la onda evanescente en la muestra puede ser expresada de acuerdo a la siguiente expresión matemática:

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi n_1 \sqrt{\sin^2 \theta_c - (n_2/n_1)^2}} \quad (5.7)$$

Como se puede apreciar en la ecuación anterior la profundidad de penetración (d_p) depende en gran medida de cada longitud de onda (λ) en el intervalo del infrarrojo medio y del índice de refracción del cristal del accesorio de ATR (n_1) y de la muestra (n_2), así como del ángulo crítico de incidencia de la radiación (θ_c).

5.5. Geometrías de los accesorios de ATR

Actualmente en el mercado existen diversos accesorios de interacción para la técnica de FTIR-ATR, y básicamente la diferencia estriba en el diseño geométrico de los accesorios para el estudio de muestras en cualquiera de sus presentaciones, ya sea en forma de polvos, líquidos, geles, semisólidas o películas con aplicaciones en alimentos.

En la Figura 5.8 se muestra el accesorio horizontal de múltiples reflexiones internas. Este diseño tiene como desventaja principal el uso de una muestra representativa del alimento relativamente grande (a menudo no disponible en la investigación), ya que el espacio donde se coloca ésta sobre el cristal del ATR tiene una superficie extensa (Figura 5.8). Algunos accesorios de ATR tienen una superficie de hasta 40 cm².

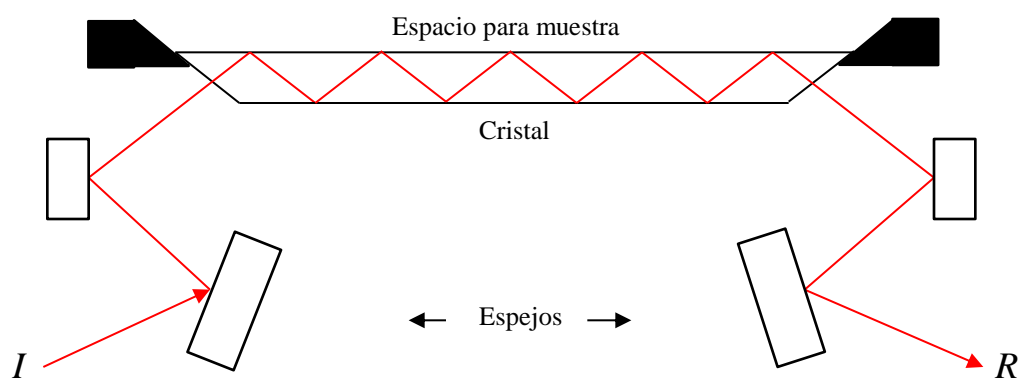


Figura 5.8 Representación del típico accesorio horizontal de ATR (Múltiples reflexiones internas (I = radiación incidente, R = radiación reflejada).

En la Figura 5.9 se muestra el dibujo de un accesorio horizontal de una simple reflexión interna, el cual tiene un cristal, en promedio, de 1.8 mm de diámetro. Hoy en día este tipo de diseño es ampliamente utilizado, debido principalmente a que un ensayo necesita muy poca cantidad de muestra.

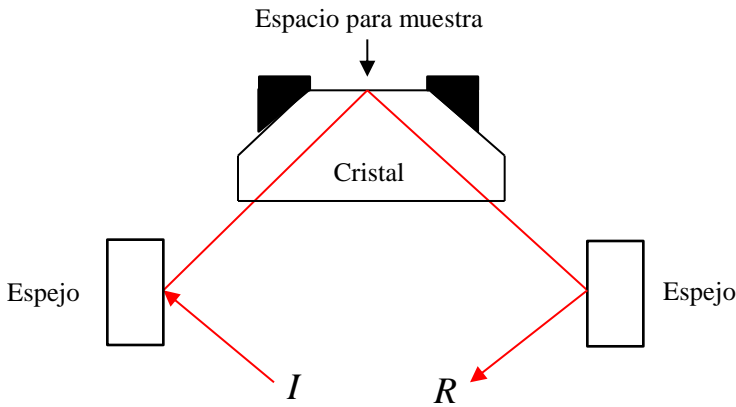


Figura 5.9 Representación del accesorio de ATR con una sola reflexión interna (I = radiación incidente, R = radiación reflejada).

Algunos modelos de accesorios de ATR de una simple reflexión interna vienen acompañados de una prensa, la cual permite un adecuado contacto entre el cristal y la muestra, tal y como se muestra en la representación de la Figura 5.10. En la Figura 5.11 se muestra un accesorio comercial de ATR de una simple reflexión interna con prensa (Modelo MIRacle, PIKE).

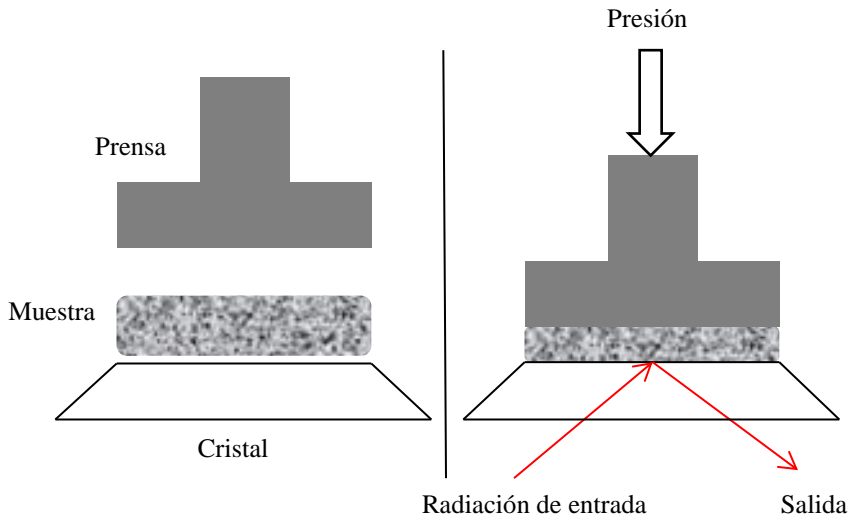


Figura 5.10 Representación gráfica del aseguramiento del contacto entre la muestra y el cristal de un accesorio de ATR.

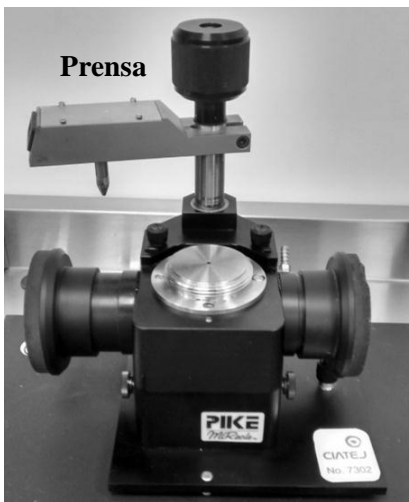


Figura 5.11 Accesorio de ATR de una reflexión interna (Modelo MIRacle, PIKE).

Existen en el mercado otros tipos de geometrías, como son los accesorios de tipo cámara o cilíndricos, los cuales se muestran representados en la Figura 5.12. Estos diseños, generalmente, son utilizados para cuando se utiliza gran cantidad de muestra.

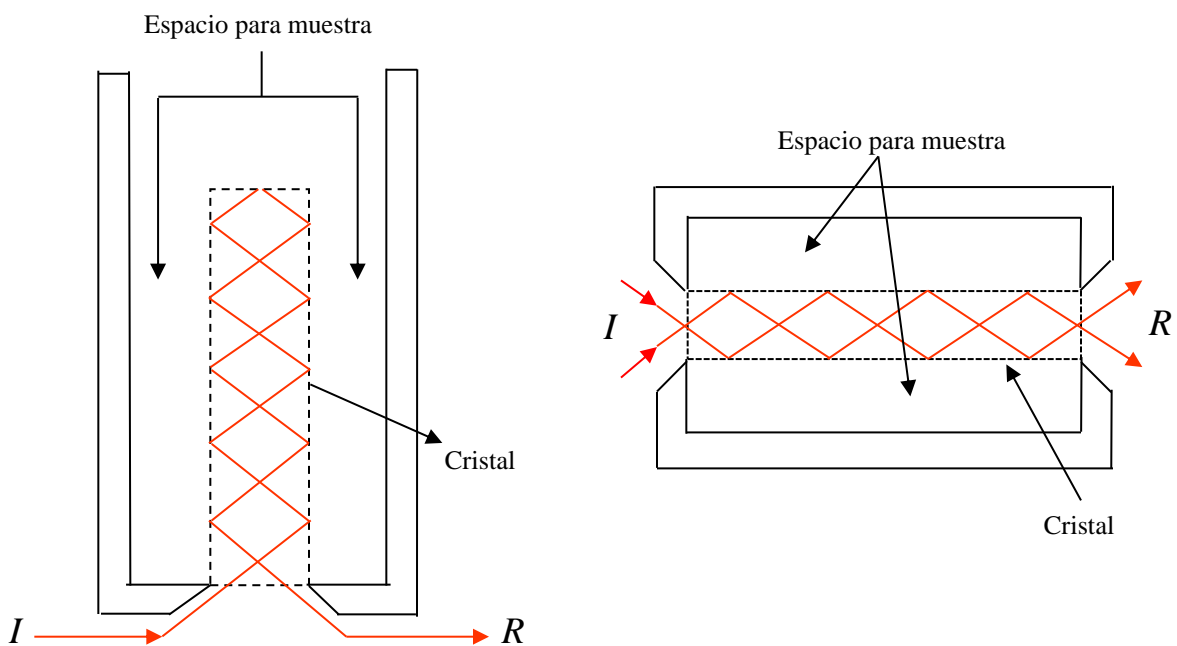


Figura 5.12 Representación del accesorio de ATR: (a) vertical o cámara y (b) cilíndrico o túnel (I = radiación incidente, R = radiación reflejada).

También, existen en el mercado accesorios de diseño especial, por ejemplo, en la Figura 5.13 se muestra esquemáticamente un accesorio de ATR de ángulo variable, el cual tiene un dispositivo que ajusta el ángulo de incidencia del haz de infrarrojo sobre la muestra.

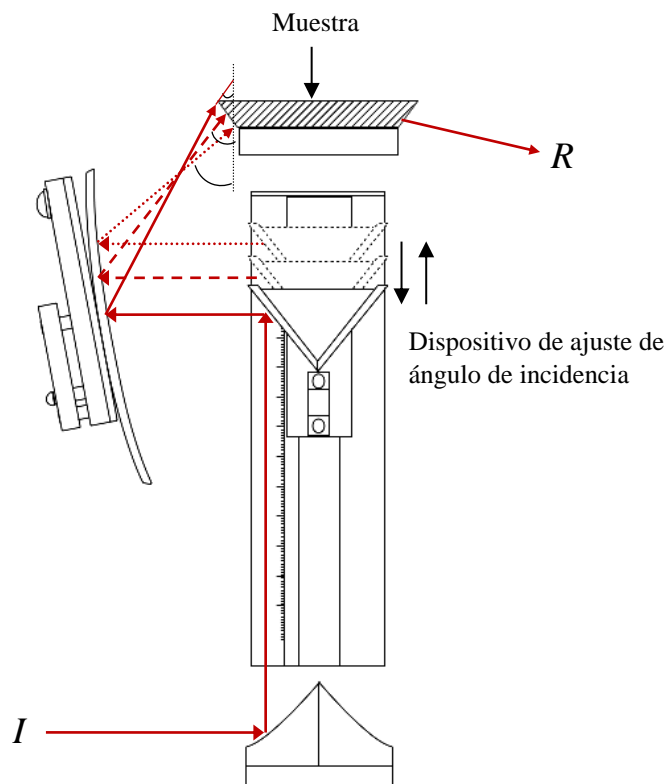


Figura 5.13 Representación esquemática de un accesorio de ATR de ángulo variable. (I = radiación incidente, R = radiación reflejada).

5.6 Tipos de cristales de los accesorios de ATR.

Los cristales del accesorio de ATR están elaborados de distintos tipos de materiales. Sin embargo, el más comúnmente usado es el que está hecho de seleniuro de zinc (ZnSe) simple o reforzado con un recubrimiento de diamante [1]. La selección del material del cristal del accesorio depende de muchos factores a considerar, los cuales son el intervalo del espectro de infrarrojo de interés, la naturaleza del solvente a ser utilizado, el pH del sistema, y por último, su respectivo costo. En la Tabla 5.1 son mostradas las características de varios tipos de cristales comercialmente disponibles. Los modernos accesorios de ATR tienen la facilidad de cambiar el tipo de cristal.

Hay una serie de factores que pueden afectar el ensayo de FTIR-ATR y que se traducen en la obtención de un espectro de infrarrojo de una muestra [2-8]. A continuación, se describen algunos de ellos.

Tabla 5.1 Propiedades físicas y químicas de cristales para ATR

Material	n	Dureza (Knoop) ^a	ρ (g/cm ³)	Solubilidad (g/100g H ₂ O)	Punto de fusión (°C)	Agente de limpieza	Rango de transmisión (cm ⁻¹) ^b
AMTIR	2.5	170	4.40	i	300	Alcohol, acetona, tolueno, agua.	11000-1000
CdTe	2.7	56	6.20	i	1040	Alcohol, acetona agua.	10000-500
Diamante	2.4	7000	3.5	i	3500	Alcohol, acetona, agua.	4500-2500 1667-33
Ge	4.0	550	5.32	i	936	Alcohol, acetona, tolueno, agua.	5000-900
Cuarzo	1.4	174	2.6	i	1610	Alcohol, acetona, agua.	25000-2200 250-FIR
Zafiro	1.7	1370	4.00	i	2030	Alcohol, acetona, tolueno, agua.	33000-2800
Si	3.4	1150	2.33	i	1420	Alcohol, acetona, agua.	9500-1500 350-FIR
KRS-5	2.4	40	7.45	0.05	415	Metil etil cetona.	14000-400
ZnSe	2.4	137	5.27	i	1520	Alcohol, acetona, agua.	20000-700
ZnS	2.2	178	4.08	i	1830	Alcohol, acetona, agua.	14000-1000

^a kg/mm².^b Rango de transmisión

El ángulo crítico: Aunque hoy en día los accesorios comerciales de ATR cuentan con cristales de alto índice de refracción y de buena resistencia mecánica, además de estar diseñados para que el ángulo de incidencia sea superior al ángulo crítico, este aspecto no parece afectar a un ensayo de FTIR-ATR de algún tipo de muestra hoy en día. Además, hay accesorios de ATR en donde es posible variar el ángulo de incidencia.

Calidad de contacto: Una condición básica para producir una buena interacción de la radiación infrarroja sobre la muestra es lograr un contacto eficiente entre ésta y el cristal del accesorio de ATR. Cuando se trata de una muestra líquida no hay problema, ésta se adhiere perfectamente, pero cuando la muestra es sólida o semisólida, o con forma irregular, se debe de asegurar un buen contacto mediante la aplicación de una presión efectiva, la cual frecuente se hace con una prensa que acompaña al accesorio de ATR.

Número de reflexiones internas: Actualmente en el mercado existen accesorios de ATR desde una reflexión interna hasta los diseñados con múltiples reflexiones internas. Obviamente el incremento del número de reflexiones internas aumenta en ese orden las veces en que interacciona la radiación de infrarrojo con la muestra. La selección del adecuado número de reflexiones estará dada por la capacidad que tenga la muestra para absorber la radiación infrarroja incidente, es decir sí el espectro de la muestra presenta las bandas de

absorción características y en forma clara. En la mayoría de las muestras a menudo con la aplicación del accesorio con una reflexión interna es suficiente, pero todo dependerá de la concentración relativa del o los compuestos que absorben la radiación infrarroja. Si las bandas en un espectro son débiles, entonces es recomendable utilizar un accesorio de múltiples reflexiones internas para mejorar la intensidad de las bandas espectrales.

Características del cristal del accesorio: Comercialmente existen diferentes tipos de cristales del accesorio de ATR. Estos cristales tienen la propiedad de no absorber radiación infrarroja. Las principales características de los cristales es su alta densidad óptica y están hechos de materiales de alta dureza que soportan amplios intervalos de pHs. Actualmente se utiliza ampliamente el cristal de ZnSe con o sin recubrimiento de diamante.

5.7 Ventajas del accesorio de ATR con relación a los modos de transmisión y reflexión difusa

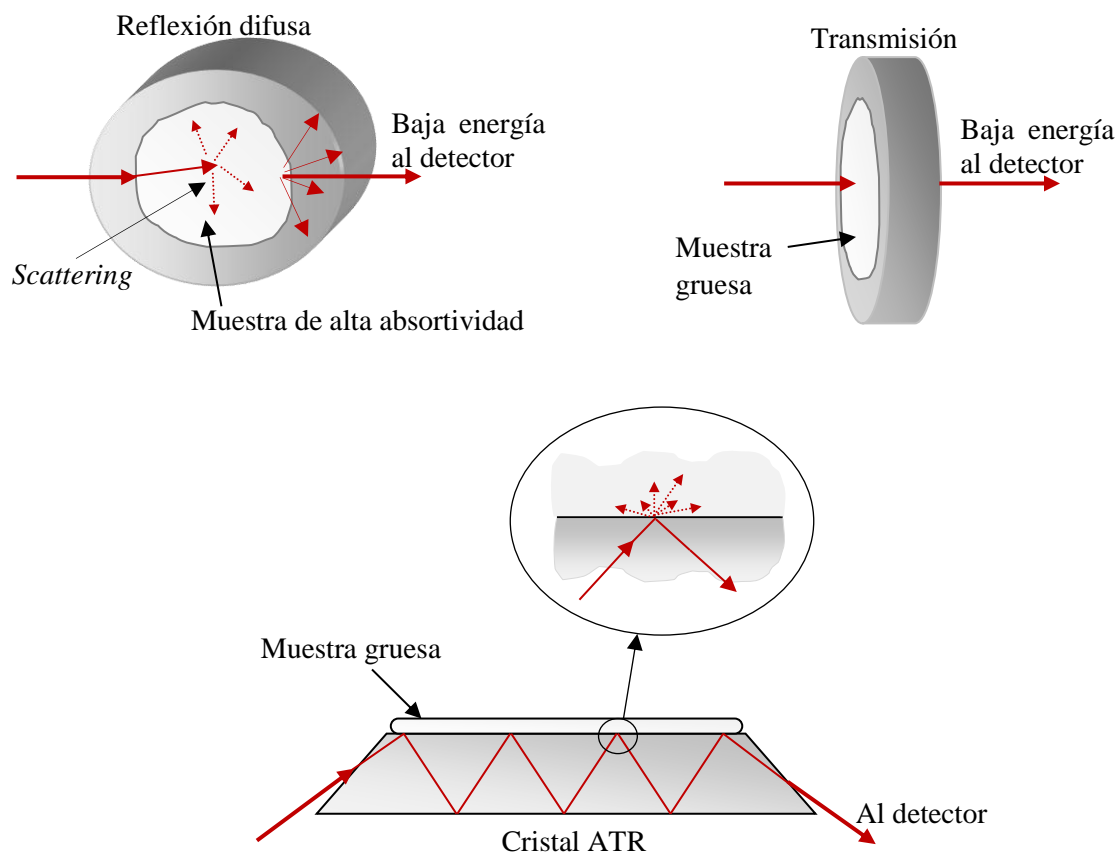


Figura 5.14 Representación esquemática de las desventajas de las técnicas de reflexión difusa y transmisión. Estos efectos pueden ser minimizados utilizando la técnica de ATR.

Hoy en día, quizá una de las causas de la popularidad del método de ATR es el hecho que los espectros puedan ser obtenidos a partir de muestras en cualquier forma física, a parte de los líquidos, es decir gases, líquidos turbios, muestras en polvo o en forma de películas delgadas. Estas muestras pueden ser consideradas como “problemáticas”, ya que algunas veces presentan una alta capacidad de absorción y/o presentan propiedades de alta dispersión (*scattering*) de luz (Figura 5.14), lo que origina espectros de mala calidad, por ejemplo, picos de absorción poco intensos [9, 10].

De hecho, como hemos mencionado tradicionalmente para este tipo de muestras (en polvo o en películas delgadas) se han utilizado por muchos años los modos de medición de transmisión y reflexión difusa. Sin embargo, sí se utiliza el accesorio de ATR para esta muestra “problemática” es posible que no se presenten problemas de dispersión o de alta absorción debido a que el haz de infrarrojo penetra en forma tenue (atenuada) y en varias ocasiones (múltiples reflexiones internas). La forma atenuada minimiza los problemas provocados por la dispersión y a la alta capacidad de absorción de una muestra se compensa al interactuar en forma de reflexión repetidamente la radiación en ella. Otra gran ventaja de la técnica de ATR respecto a transmisión y reflexión difusa, es el hecho de que, en estas técnicas, en primer lugar, se debe de diluir una muestra en polvo con una muestra de sal transparente al infrarrojo (por ejemplo, el KBr) y obtener mediante una prensa un disco o un pellet. Una ventaja del accesorio de ATR respecto al de transmisión es el resultado del tamaño del espesor de la muestra, es decir sí una muestra es demasiado gruesa la mayoría de la radiación infrarroja es absorbida por la muestra, provocando que solamente una pequeña fracción de la radiación llegue al detector del equipo, lo cual genera como resultado espectros con picos de absorción poco claros e intensos.

Referencias

1. Anónimo. (2011). ATR-Theory and applications. Application note-PIKE Technologies.
2. Swathi, S., Srikanth, S., Maheswara, Rao, V. U., Attenuated total reflectance spectroscopy: A overview, *International Journal of Pharmaceutical Research and Analysis*, **4**, 229-236 (2014).
3. Hind, A., R., Bhargava, S. K., Mckinnon, A., At the solid/liquid interface: FTIR/ATR-the tool of choice, *Advances in Colloids and Interface Science*, **93**, 91-114 (2001).
4. Stuart, B., *Infrared spectroscopy: Fundamentals and applications*, John Wiley and Sons Ltd, Chichester, England (2004).
5. Harrick, N. J., *Internal reflection spectroscopy*, Wiley, New York, USA (1967).
6. Rodríguez-Saona, L. E., Allendorf, L. E., Use of FTIR for rapid authentication and detection of adulteration of food, *Annual Review of Food Science and Technology*, **2**, 467-483 (2011).
7. Zhang, Z., Ewing, G. E., Attenuated partial internal reflection infrared spectroscopy, *Analytical Chemistry*, **74**, 2578-2583 (2002).
8. Vigano, C., Ruyschaert, J. M., Goormaghtigh, E., Sensor application of attenuated total reflection infrared spectroscopy, *Talanta*, **65**, 1132-1142 (2005).
9. Hartman Kok, P. J. A., Kazarian, S. G., Briscoe, B. J., Lawrence, C. J., Effect of particle size on near-wall depletion in mono-dispersed colloidal suspensions, *Journal of Colloids and Interface Science*, **280**, 511-517 (2004).

10. Coates, J., Interpretation of infrared spectra, a practical approach, Encyclopedia of Analytical Chemistry. R. A. Meyers (Ed.), John Wiley and Sons Ltd, Chichester, 10815-10837 (2000).