

SISTEMA EXPERIMENTAL PARA MEDIR LA CANTIDAD DE SUSTANCIAS ÓPTICAMENTE ACTIVAS EN SOLUCIÓN LÍQUIDA A TIEMPO REAL

Daniel López-Echevarría^{1,*}, Felipe Hernández-Marquez^{2,*}, Jorge Huerta-Ruelas¹

¹Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del IPN,
José Siurob 10, Querétaro, Qro 76040, México

Tel/fax (4) 2121111, 2129466 jhuerta@cicatagro.ipn.mx

²Centro Nacional de Metrología, km 4.5 Carretera un los Cués, Municipio El Marqués,
C.P. 76900, Querétaro, México, Apdo. Postal 1-100 Centro, C.P. 76000.

Resumen: El desarrollo de sistemas in-situ para medir parámetros en tiempo real son necesarios para optimizar el control de procesos industriales. Algunas soluciones de compuestos orgánicos transparentes tienen actividad óptica, la cual rota el estado de polarización lineal incidente, debido al diferente índice de refracción complejo para luz polarizada circular izquierda respecto al índice para luz polarizada circular derecha. Esto hecho, hace posible identificar la cantidad y el comportamiento de estas soluciones en función del tiempo. Hemos construido un sistema experimental basado en un láser semiconductor comercial de bajo costo y un modulador fotoelástico. Se midieron soluciones de azúcares con concentraciones diferentes para calibrar el instrumento. Se logró una sensibilidad aproximada de 0.001 grados en el ángulo de rotación de la luz polarizada para concentraciones pequeñas. Se mencionan algunas aplicaciones importantes para la supervisión en el procesamiento de alimentos, como la producción de bebidas alcohólicas que involucran un proceso de fermentación.

* Estudiante de postgrado en CICATA

INTRODUCCION

La determinación in-situ durante los procesos industriales de parámetros como rugosidad, actividad óptica, presión, espesores de película y composición, es muy importante para la fabricación de productos de mejor calidad. Se han aplicado tradicionalmente varias técnicas para controlar parámetros de calidad de producto fuera de proceso. Sin embargo, es necesario emplear métodos no destructivos y no invasivos de costo bajo, como las técnicas ópticas, para minimizar las pérdidas producidas durante el tiempo en que el producto se comprueba fuera del proceso. Se han desarrollado múltiples técnicas ópticas dentro de las cuales se ha seleccionado la técnica de rotación óptica con la finalidad de estudiar la evolución de sistemas orgánicos en función de la presión. Esta técnica es clasificada como una sonda de volumen. Los inicios de la rotación óptica y polarimetría comienzan con los estudios de E.L. Malus quien descubrió que la luz no era la misma en todas direcciones alrededor de su línea de propagación [1]. Cuatro años más tarde, J.B. Biot encontró que algunos sólidos cristalinos y soluciones líquidas rotaban el plano de polarización de la luz, en ese entonces se pensó que esto se debía a algún tipo de actividad óptica relacionada a la estructura molecular [2]. Si luz linealmente polarizada pasa a través de una solución transparente que contiene moléculas quirales, el plano de polarización de la luz

incidente será rotado. Esto se llama rotación óptica (o rotación óptica natural para distinguirla de la rotación de Faraday en un campo magnético). La rotación óptica también se llama birrefringencia circular. Una luz linealmente polarizada puede ser descompuesta en dos componentes ortogonales, luz circularmente polarizada derecha e izquierda. Cualquier diferencia de la fase (retardo) entre las dos componentes produce una rotación del plano de polarización. El diagrama del sistema óptico utilizado en este trabajo, es un arreglo básico para medir rotación óptica que usa un modulador fotoelástico (PEM).

Algunas de las aplicaciones de esta técnica son:

- Determinación de la pureza de materia prima como vitaminas, esteroides y antibióticos ya que para la mayoría de los compuestos quirales sólo un isómero tiene actividad óptica. Las aplicaciones más conocidas son en productos que contengan azúcares como vinos, chocolates, jaleas, harinas [3, 4].
- Análisis de compuestos quirales presentes en matrices complejas como antibióticos en leche de vaca, o drogas en fluidos biológicos y monitoreo procesos de manufactura como la fermentación, conversión catalítica y enzimática.

Esta propiedad puede permitir a las compañías mejorar en su eficiencia de proceso, contando con un monitoreo continuo de los cambios en la actividad óptica de sus reactantes o productos [5].

- También es utilizada en investigación fundamental para medir la no-conservación de la paridad atómica en vapor de Talio [6].

En este trabajo, se ha aplicado la rotación óptica, para medir soluciones con concentraciones diferentes de moléculas quirales. Se muestra que la técnica utilizada basada en un modulador fotoelástico, es una manera directa y simple de determinar rotación óptica en tiempo real. En el proyecto completo, se aplicará el dicroísmo circular que considera la medición en forma espectroscópica de la rotación óptica. En este trabajo, se reportan resultados preliminares obtenidos con el sistema en desarrollo.

DETALLES EXPERIMENTALES

El sistema experimental construido esta basado en un láser semiconductor comercial de bajo costo el cual emite a 647,0 nm y con una potencia de 2mW. El uso de fuentes de luz coherente en polarimetría ofrece varias ventajas como la fácil alineación, mayor luminosidad y transparencia [7]. Se utilizaron además, dos polarizadores, un modulador fotoelástico PEM-90 y un detector de Silicio. La señal modulada por el PEM se procesa por un amplificador sensible a la fase. Un diagrama de los componentes ópticos y electrónicos se muestra en la Figura 1. La respuesta espectral de láser fue medida, y la cresta de emisión se ajustó a una función Gaussiana, obteniéndose un máximo a 647.4 nm con un ancho menor a 0.18 nm. El haz fue polarizado linealmente por un prisma de Glan Taylor a 45° grados respecto al plano de la mesa óptica. Posteriormente atraviesa un modulador fotoelástico (Hinds PEM-90 I/FS50, 50 KHz), la muestra que esta contenida en una celda de cuarzo de 1 cm de trayectoria óptica y posteriormente, otro prisma de Glan Taylor como analizador. La luz del láser se detecto con un sensor de Si con un preamplificador.

La señal se procesó con un amplificador sensible a la fase marca Stanford Research System modelo SR830, sintonizado al segundo armónico (2F) del modulador fotoelástico. La señal de DC es necesaria medirla para normalizar la señal a la

potencia del láser en todo instante. Es posible medirla con un convertidor analógico digital del amplificador sensible a la fase o con un multímetro digital de buena precisión (6 y 1/2 dígitos o más) de manera que se disminuya al máximo el ruido de la medición. Para evitar variaciones producidos por la línea, tanto el láser semiconductor como el detector, son alimentados con baterías.

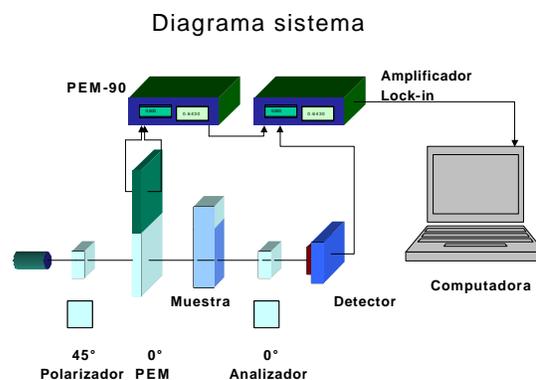


Fig. 1 Diagrama del sistema experimental para medir rotación óptica, utilizado en este trabajo.

El análisis óptico del sistema se realiza mediante el uso de matrices de Jones, en las que cada elemento es representado por una matriz. La relación que se obtiene entre la intensidad de la luz detectada y la rotación óptica es:

$$I_{\text{det}} = \frac{1}{2} I_{\text{prom}} (1 \pm a \cdot \cos d)$$

Donde α es la rotación óptica y δ es el retardo en fase del PEM y I_{prom} es la señal electrónica debida a la intensidad promedio del haz de luz. Para facilitar el cálculo, es posible relacionar valores de Intensidades medidas con una solución de valor conocido de RO:

$$a = a^{\text{Cal}} \cdot \frac{I_{\text{dc}}^{\text{Cal}}}{I_{2f}^{\text{Cal}}} \cdot \frac{\pm I_{2f}}{I_{\text{dc}}} \quad (1)$$

El subíndice indica si la medida es de la intensidad en DC o el segundo armónico de la señal de AC. El superíndice indica si se trata de la muestra de referencia, mientras que si no existe superíndice se trata de la muestra bajo medición [8]. Estas ecuaciones son válidas para ángulos pequeños de rotación óptica. Si queremos medir en ángulos

mayores a 10 grados es necesario realizar el calculo con técnicas de análisis numérico dado que se obtiene una ecuación no despejable.

Se prepararon muestras de acuerdo al método estándar establecido en la farmacopea americana USP [9]. Los compuestos se secaron a 105°C durante 2 horas para garantizar que no hubiera humedad. Las soluciones fueron preparadas disolviendo el compuesto en agua destilada en concentraciones diferentes medidas en mg/ml. Aunque el método estandarizado requiere que la solución sea medida dentro de los 30 min. posteriores a la preparación, aumentamos este tiempo para eliminar variaciones temporales presentes en azucares disueltas en agua.

RESULTADOS

Se hicieron varias medidas para conocer las variaciones en el experimento usando muestras diferentes de la misma concentración. El sistema tiene consistencia en los resultados. En la Figura 2, pueden estimarse la estabilidad y la sensibilidad por el tamaño de las variaciones de las mediciones como una función de tiempo. Al hacer un ajuste lineal se obtuvo una desviación estándar de sólo 1.7×10^{-4} y un variación entre medidas, hasta la cuarta cifra decimal, asegurando estabildades de 0.001 grados en esta medición.

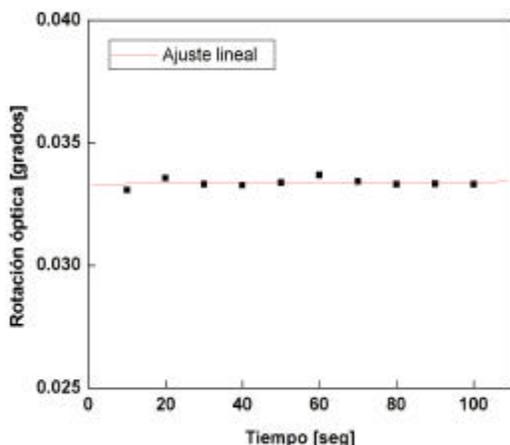


Fig. 2 Medición de la estabilidad en la medición de rotación óptica para una solución de Dextrosa con una concentración de 1g en 100 ml.

Ópticamente, las sustancias activas son clasificadas como dextro rotatorias ó isomero óptico (+) (gira el estado de la polarización de luz en el

sentido de las agujas del reloj, observando hacia la fuente del haz) y levo rotatoria ó isomero óptico (-) (gira en dirección opuesta).

Debido a que la dextrosa presenta el fenómeno de mutarrotación [10], los cambios debidos a este fenómeno se presentan durante varias horas posteriores a la preparación de la muestra, por lo que realizamos la prueba de estabilidad en soluciones que tenían 2 meses de reposo y en las que este fenómeno ya terminó. Para cuantificar la rotación óptica se determinó una constante de proporcionalidad entre la señal de AC/DC y el valor de rotación, que juega el papel de todos los términos con subíndice Cal , siendo este valor de 320, siendo este valor inherente al instrumento. Si se considera un valor aproximado de 50 grados de rotación óptica específica para una solución de Dextrosa estabilizada [9], obtenemos los valores de la Figura 2.

Este desempeño define una sensibilidad alta a los cambios de rotación óptica que pueden producirse durante un proceso industrial particular o una investigación de laboratorio bajo estudio.

INCRUSTAR

En Figura 3, se muestran valores de rotación óptica para compuestos quirales muy diferentes en cuanto a su actividad óptica. Las soluciones mostradas son Lisina y Dextrosa (dextro rotatorias) y N-butil (levo rotatoria). Estos resultados validan nuestro sistema en un rango de valores positivos y negativos de rotación óptica.

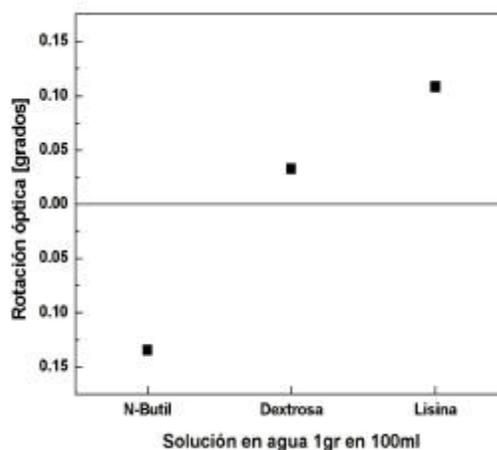


Fig. 3 Medición de diferentes soluciones que contienen isomeros ópticos tanto negativos como positivos. La concentración fue de 1g en 100 ml para todas las muestras.

En la Figura 4, se grafican los datos para las concentraciones diferentes en muestras de dextrosa, se puede observar un comportamiento lineal de rotación óptica como función de la concentración. Éste es un resultado lógico debido a que más moléculas en la misma trayectoria cruzada por el haz láser, giran el estado de la polarización del haz de prueba.

Los puntos graficados es el promedio de dos juegos de muestras con 10 mediciones cada una. La desviación máxima calculada fue de 4% que equivale a un error total en las lecturas de rotación menor a .001 grados para la concentración de 1gr por 100 ml y de 0.01 grados para la de 8gr por 100 ml, que es la mayor concentración. Este error es global en el que se tiene que considerar que existen errores instrumentales y en la determinación de las concentraciones.

INCRUSTARINCLUIRIMAGEN

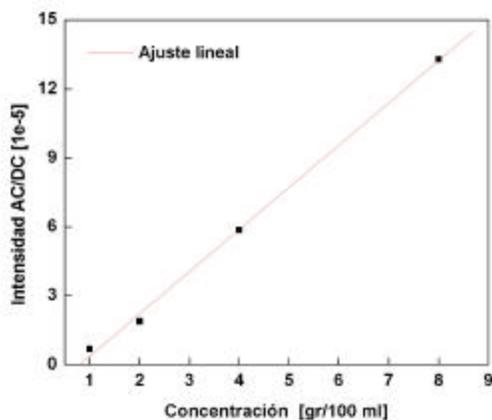


Fig. 4 Medición de la linealidad del valor de rotación óptica con la concentración para muestras de lactosa monohidratada.

Para cuantificar la linealidad se calculó un ajuste, obteniéndose un factor de correlación de 0.9984 y una desviación estándar de 3.2×10^{-6} , siendo estos valores muy aceptables si se considera todas las variables del experimento (preparación de muestra, fuente de luz, detector, amplificador lock-in, temperatura, humedad y errores metodológicos y humanos). Podrá notarse que la línea no cruza por cero. Esto es debido a que siempre existe una señal inicial inherente a la alineación del instrumento pero que fácilmente puede ser restada utilizando la función de offset en el amplificador lock-in. La magnitud de esta señal se mantuvo constante desde el inicio al final de cada sesión de medición.

CONCLUSIÓN

La aplicación inicial de un sistema modular óptico para medir soluciones orgánicas ópticamente activas ha sido probada. Se han cuantificado la sensibilidad, linealidad y determinado un intervalo de funcionamiento. En la prueba de estabilidad se puede apreciar que la sensibilidad del sistema es del orden de 0,001 de grado para muestras con rotaciones pequeñas. El sistema es estable al estar en operación continua y es sensible a la concentración en forma lineal.

Como un ejemplo, en uso a tiempo real y funcionamiento remoto de este sistema, es posible controlar el proceso de fermentación durante un proceso de alimentos como la fabricación de bebidas fermentadas de una manera muy precisa. Este instrumento es la versión inicial de un sistema espectroscópico, que se usará para la investigación de sistemas biológicos sometidos a altas presiones.

RECONOCIMIENTOS

Los autores agradecen la asistencia técnica y la preparación de muestras proporcionada por Celia Placencia y el apoyo de Guillermo Valencia Luna por la caracterización complementaria de las muestras empleadas. Se reconoce el apoyo financiero concedido por CONACyT I-35656U y CGPI-IPN 200143.

REFERENCIAS

- [1] Bates, F.J., A Quartz Compensated Polaroscope with Adjustable Sensibility, Bull. Nat. Bur. Stand. 4, 461 (1908); 5, 193 (1908).
- [2] Jean Baptiste Biot, Mém. l'Institut, Class Math. Phys. 12, 135-280 (1811); 13, 1-371 (1812); 13, 1-18 (1813); 13, 18-38 (1814); Bul. Sciences Soc. Philomatique, 190-195 (1815); Mem. Acad. Sci. 2, 41-136 (1817); Sur la construction des appareils destinés a observer le pouvoir rotatoire des liquides, Ann. chim. phys. 74, 401-430 (1840).
- [3] Optical rotation by USP <781> <http://www.wcaslab.com/tech/tech2.htm>

-
- [4] Fajer V., Rodriguez C., Flores R., Naranjo S., Cossio G. Y Lopez J. Aplicación de la polarimetría láser en el proceso de control de la producción de la industria tequilera, Simposio de metrología CENAM D3-12, 2001.
- [5] Application manual,
<http://www.pdr-chiral.com/chiraldetect.htm>
- [6] A. D. Cronin,* R. B. Warrington, S. K. Lamoreaux,† and E. N. Fortson, Studies of electromagnetically Induced Transparency in Thallium Vapor and Possible Utility for Measuring Atomic Parity Nonconservation, Phys. Rev. Lett. Vol. 20 No. 17 p. 3719.
- [7] Fajer V., Laser polarimeters: Overview of recent developments, design and applications, Journal of laser applications Vol. 8 p. 43-53 (1996).
- [8] B. B. Wang, SPIE. Vol 3535(1999).
- [9] USP24–NF19 United States Pharmacopeia p.1968 (2000).
- [10] <http://www.chem-eng.utoronto.ca/~thermo/k1.doc>