

DISPERSIÓN DE LUZ

1. FUNDAMENTOS DEL FENÓMENO DE DISPERSIÓN DE LUZ

1.1. La dispersión (o difusión) de la luz es el fenómeno mediante el cual la radiación electromagnética, al chocar con pequeñas partículas de tipo coloidal o incluso molecular, es desviada en su dirección de propagación, de forma aparentemente caótica, en cada uno de los núcleos de dispersión, por tener un índice de refracción diferente al del medio. La medida de la luz dispersada (o difusa) da lugar a técnicas muy útiles en la determinación de la concentración de sustancias en suspensión, así como en la caracterización de la forma y del tamaño de las partículas coloidales y macromoleculares. Estas técnicas son de dos tipos: *Turbidimetría*¹ y *Nefelometría*².

La aparición de turbidez en un medio en el que tiene lugar cierta reacción química, es un hecho que ha sido explotado, como medio de identificación de determinadas sustancias, desde muy antiguo. Se sabía, por ejemplo, que la acidificación de una disolución de proteínas provoca su precipitación (floculación, coagulación), y por lo tanto, genera turbidez. La medida de esta turbidez se utiliza en la actualidad para la determinación cuantitativa de proteínas en líquidos biológicos.

Los métodos *turbidimétricos* y *nefelométricos*, con los que, de forma diferente pero análoga, se mide la turbidez de un medio, se utilizan indistintamente en medidas de concentración. Cuando el objetivo es la determinación de la forma y tamaño de las partículas en suspensión, los métodos *nefelométricos* son indudablemente mucho más ventajosos.

1.2. Cualquier medio sólido, líquido o gaseoso es capaz de dispersar luz en mayor o menor grado. Este fenómeno se conoce como *efecto Tyndall*³, quien lo describió por primera vez en 1854. Sin embargo fué Rayleigh⁴ en 1871 quien propuso el primer modelo físico que interpreta de forma notable el fenómeno de dispersión en sistemas diluidos, y que constituye la base fundamental de los métodos turbidimétricos y nefelométricos.

1.3. Durante la propagación de la luz en un medio cualquiera, la acción del vector campo eléctrico de la onda electromagnética produce la polarización del medio, es decir, las moléculas adquieren un momento dipolar cuya polaridad cambia de forma oscilante con la misma frecuencia que la del campo. De acuerdo con las leyes de la electrodinámica clásica, los dipolos oscilantes se convierten en fuentes emisoras de radiación. La radiación emitida, sin embargo, puede tener la misma o distinta frecuencia que la radiación incidente. En este sentido, la dispersión se describe como: Dispersión clásica, elástica o estática, si la frecuencia no cambia sensiblemente; Dispersión cuasi-elástica, o dinámica, si la frecuencia se modifica ligeramente (normalmente en el margen de unas decenas de Hz); y Dispersión inelástica o, más propiamente, Raman, si la frecuencia se modifica de forma importante, involucrando normalmente otros tipos de energía molecular en el proceso.

¹Del latín *turbidus*, turbio; y éste de *turbo*, *as*, *are*, alborotar

²Del griego $\nu\epsilon\varphi\epsilon\lambda\eta$, nube.

³John Tyndall (1820-1893), físico irlandés, colaborador de Faraday y profesor en la Royal Institution.

⁴J S Rayleigh (1842-1919), eminente físico británico, Premio Nóbel de Física de 1904

2. DISPERSIÓN DE LUZ ESTÁTICA.

En un medio homogéneo, las ondas reemitidas se producen en la dirección de propagación del haz incidente, sin embargo, en un medio no homogéneo, constituido por partículas en suspensión o zonas microheterogéneas –macromoléculas, fluctuaciones de densidad, etc.–, parte de la radiación sufre difracción en estos puntos, lo que da lugar a la aparición de la *opalescencia* típica del efecto Tyndall. El caso más simple es el de la dispersión de luz por partículas aproximadamente esféricas con un tamaño mucho menor que la longitud de onda de la luz ($< \lambda/10$), no absorbentes de radiación y en concentración baja. Si se utiliza luz visible, como es habitual, esto corresponde a partículas de tamaños del orden de 50 nm o inferiores. En este caso, dado que la partícula es tan pequeña, toda ella estará sometida a un campo eléctrico de la misma magnitud, y el momento dipolar inducido será proporcional al volumen de la partícula (a través de su polarizabilidad⁵).

2.1. En estas circunstancias, la intensidad de luz dispersada a una distancia r de la fuente donde se origina resulta proporcional al cuadrado de la polarizabilidad e inversamente proporcional a r^2 . Según este modelo, la relación de la intensidad de luz dispersada, I_θ , con la intensidad de la luz incidente, I_0 en la dirección que forma un ángulo θ con ella, está dada por la siguiente expresión:

$$\frac{I_\theta}{I_0} = \frac{8\pi^4}{r^2\lambda^4} \left(\frac{\alpha}{4\pi\epsilon_0} \right)^2 \frac{N}{V} (1 + \cos^2 \theta) = \frac{\pi^2\alpha^2}{2\epsilon_0^2 r^2 \lambda^4} \frac{N}{V} (1 + \cos^2 \theta) \quad (2)$$

donde α es la polarizabilidad de la partícula, ϵ_0 es la permitividad del vacío, λ es la longitud de onda de la radiación en el medio en el que se encuentra la partícula, La relación, $\frac{N}{V} = \frac{C}{M} N_A$, donde N_A es el número de Avogadro, C la concentración o densidad del medio y M la masa molecular, representa la concentración de partículas por unidad de volumen. La anterior ecuación, 2, da la intensidad de luz dispersada por unidad de volumen.

2.2. Como se sabe, la polarizabilidad del medio se relaciona con el índice de refracción:

$$\alpha = \frac{3\epsilon_0}{\frac{N_A C}{M}} \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right) \quad (3)$$

donde $n = \frac{n_1}{n_0}$, es el *índice de refracción relativo*. Teniendo en cuenta que en la mayor parte de los casos este valor relativo es próximo a la unidad:

$$\alpha = \frac{\epsilon_0}{\frac{N_A C}{M}} (n^2 - 1) \quad (4)$$

y si se expresa como función lineal de la concentración:

$$\begin{aligned} n &\approx 1 + \left(\frac{dn}{dC} \right)_0 C \\ n^2 &\approx 1 + 2 \left(\frac{dn}{dC} \right)_0 C \end{aligned} \quad (5)$$

la ecuación 4, queda:

$$\alpha \approx \frac{2\epsilon_0}{N_A} \left(\frac{dn}{dC} \right)_0 M \quad (6)$$

⁵El momento dipolar inducido es:

$$\mu_{ind} = \alpha E \quad (1)$$

La polarizabilidad se suele expresar en la forma $\left(\frac{\alpha}{4\pi\epsilon_0} \right)$, con dimensiones de volumen

con lo cual, la intensidad de luz dispersada, de la ecuación 2, se puede expresar:

$$\frac{I_\theta}{I_0} = \frac{2\pi^2\epsilon^2 \left(\frac{dn}{dC}\right)_0^2}{r^2\lambda^4 N_A} (1 + \cos^2\theta) MC \quad (7)$$

o bien:

$$R_\theta = \frac{I_\theta r^2}{I_0(1 + \cos^2\theta)} = \frac{2\pi^2\epsilon^2 \left(\frac{dn}{dC}\right)_0^2 MC}{\lambda^4 N_A} \quad (8)$$

El factor R_θ se conoce como *cociente Rayleigh*.

La intensidad de luz dispersada depende, a través de la polarizabilidad, de la diferencia de índices de refracción, del medio dispersor, n_1 , y de la fase continua, n_0 –cuanto mayor sea esta diferencia mayor será la intensidad de dispersión–; depende, asimismo, inversamente de la cuarta potencia de la longitud de onda, $\frac{1}{\lambda^4}$, resultando que la luz más fuertemente dispersada es la del extremo azul del espectro visible. Es decir, si una suspensión de partículas de tamaño coloidal se ilumina con luz blanca, la luz dispersada es fundamentalmente de tonalidad azulada, mientras que la luz transmitida es preferentemente rojiza. Esta es la causa de la coloración azul del firmamento y del aspecto rojizo del sol poniente⁶.

2.3. Cuando la dispersión se produce en disolución, debido a las fluctuaciones de concentración de compuestos de alto peso molecular,

$$\frac{I_\theta}{I_0} = \frac{\pi^2 \overline{\delta\alpha^2}}{2\epsilon_0^2 \lambda^4 r^2} (1 + \cos^2\theta) \quad (9)$$

Las fluctuaciones en polarizabilidad, $\delta\alpha$, se relacionan con las fluctuaciones en índice de refracción y en concentración, de modo que se obtiene:

$$\frac{I_\theta}{I_0} = \frac{2\pi^2 [n_0 \frac{dn}{dc}]^2}{N_A \lambda^4 r^2 (\frac{1}{M} + 2Bc)} (1 + \cos^2\theta) \quad (10)$$

que en términos del cociente de Rayleigh, R_θ , y de la denominada *constante óptica*, K ,

$$R_\theta = \frac{I_\theta r^2}{I_0(1 + \cos^2\theta)} \quad K = \frac{2\pi^2 [n \frac{dn}{dc}]^2}{N_A \lambda^4} \quad (11)$$

la expresión queda:

$$\frac{Kc}{R_\theta} = \frac{1}{M} + 2Bc \quad (12)$$

2.4. La intensidad total de luz dispersada en un entorno esférico, denominada *turbidez*, τ , del sistema, se obtiene mediante la integración desde $-\frac{\pi}{2} \leq \theta \leq \frac{\pi}{2}$:

$$\tau = \frac{I_s}{I_0} = \frac{16\pi Kc}{3(1/M + 2Bc)} \quad (13)$$

que a veces se escribe:

$$\frac{Hc}{\tau} = \frac{1}{M} + 2Bc \quad (14)$$

donde se ha introducido una nueva constante óptica, $H = \frac{16\pi K}{3}$, ligeramente modificada.

⁶La interpretación de estos fenómenos proporcionaron una enorme popularidad a este modelo desarrollado por Rayleigh.

2.5. Cuando se ilumina con luz monocromática una suspensión de sustancia no absorbente, pero con capacidad de dispersión de luz, la intensidad de la luz transmitida, $I_t = I_0 - I_s$, está dada por una relación del tipo de la ecuación de Bouguer-Lambert:

$$I_t = I_0 e^{-a l} \quad (15)$$

donde a es el coeficiente neperiano de dispersión, que puede relacionarse con la turbidez, τ , y l representa el paso óptico de la muestra. Cuando en un medio dispersor se mide la luz transmitida (o, de modo equivalente, la luz a un ángulo $\theta = 0^\circ$), la técnica se conoce como *Turbidimetría*. El procedimiento puede llevarse a cabo mediante un espectrofotómetro de absorción convencional y resulta de cierta utilidad en la determinación de la concentración de partículas en suspensión.

La determinación no solo de la concentración de partículas, sino de su forma y tamaño, se suele llevar a cabo midiendo la luz dispersada en un ángulo $\theta \neq 0^\circ$. En este caso la técnica recibe el nombre de *Nefelometría* y requiere un tipo de instrumento específico, denominado *nefelómetro*, capaz de determinar la intensidad de luz dispersada, I_θ , a diferentes ángulos, si bien lo más corriente es realizar la medida a 90° . En este caso, la intensidad de luz es proporcional directamente a la concentración.

2.6. Cuando el tamaño de la partícula es mayor que el límite establecido hasta ahora, ($> \lambda/10$), el modelo anterior deja de ser aplicable, teniendo que introducir un factor de corrección, $P(\theta)$, que compensa la interferencia de la luz dispersada en distintas zonas de una misma partícula:

$$\frac{Kc}{R_\theta} = \frac{1}{P(\theta)} \left(\frac{1}{M} + 2Bc \right) \quad (16)$$

Puede demostrarse que el valor de la corrección es:

$$P(\theta) = 1 + \frac{1}{3}(qR_g)^2 \quad (17)$$

donde $q = \frac{4\pi n}{\lambda} \text{sen}\left(\frac{\theta}{2}\right)$ y R_g es el radio medio hidrodinámico de la partícula. La ecuación queda:

$$\frac{Kc}{R_\theta} = \left(\frac{1}{M} + 2Bc \right) \left[1 + \frac{16\pi^2 n^2}{3\lambda^2} R_g^2 \text{sen}^2\left(\frac{\theta}{2}\right) \right] \quad (18)$$

La representación de los resultados según la ecuación anterior, lo que se conoce como *diagrama de Zimm*, permite la determinación conjunta de la masa molecular, M , y del tamaño de la partícula macromolecular. El tamaño puede determinarse de forma más simple mediante la medida de la luz dispersada a dos ángulos diferentes, por ejemplo, a 45° y 135° . De su relación:

$$z = \frac{I_{45}}{I_{135}} = \frac{P(45)}{P(135)} = \frac{1 + (16\pi^2 n^2/3)(R_g/\lambda)^2 \text{sen}^2 22,5^\circ}{1 + (16\pi^2 n^2/3)(R_g/\lambda)^2 \text{sen}^2 67,5^\circ} \quad (19)$$

se obtiene más fácilmente el valor de R_g

3. DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA

En las medidas de dispersión de luz estática, la intensidad de luz, para un determinado ángulo, es el resultado de un promedio a lo largo de un amplio período de observación. Sin embargo, con las técnicas hoy en día accesibles, es posible medir la intensidad de luz dispersada en tiempos muy breves, en el margen del microsegundo, de tal forma que puede detectarse el movimiento caótico (*browniano*) de las partículas emisoras, como consecuencia de su energía térmica. Esta información, que por efecto Doppler se manifiesta en un ensanchamiento de la banda de frecuencia de la luz dispersada, puede ser utilizada para la determinación del coeficiente de difusión de las partículas y de su radio hidrodinámico.

3.1. En un experimento de *Dispersión de luz dinámica* (también denominado *Photon correlation spectroscopy*), se mide la luz dispersada en intervalos de tiempo, τ , pudiéndose observar que la intensidad fluctúa alrededor de un valor medio, como consecuencia del movimiento aleatorio de las partículas. Este comportamiento puede racionalizarse a través de la denominada *función de autocorrelación*, $g(\tau)$,

$$g(\tau) = \overline{\Delta I_{\theta}(t)\Delta I_{\theta}(t + \tau)} \quad (20)$$

que representa el promedio de los valores de la intensidad de luz medida a diferentes valores del intervalo de tiempo, τ . Puede demostrarse que la evolución $g(\tau)$ es decreciente de forma exponencial a medida que crece el valor de τ , de la siguiente forma:

$$g(\tau) = g(0)Exp(-\Gamma\tau) \quad (21)$$

donde $\Gamma = q^2D$ y $D = \frac{kT}{6\pi\eta R_g}$ es el coeficiente de difusión.

3.2. Cuando se trata de partículas con carga eléctrica, lo cual es común a todas las partículas de tipo coloidal, la medida de la luz dispersada por dichas partículas cuando se mueven bajo el efecto de un campo eléctrico, Técnica denominada *Dispersión de luz electroforética*, la función de autocorrelación:

$$g(\tau) = g(0) \left[quE_f \cos\left(\frac{\theta}{2}\right) \right]^2 Exp(-\Gamma\tau) \quad (22)$$

permite la determinación simultánea del coeficiente de difusión y de la movilidad electroforética. Este último parámetro está relacionado con el potencial Zeta, ζ , o potencial electrocinético, de las partículas en suspensión.