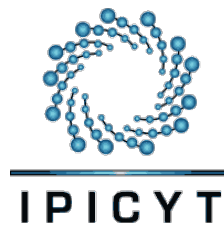


**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y
TECNOLÓGICA**

DIVISIÓN DE MATERIALES AVANZADOS



**LABORATORIO DE INVESTIGACIONES EN NANOCIENCIAS Y
NANOTECNOLOGÍA**



Manual de Operación del espectrómetro

MICRO-RAMAN RENISHAW



Índice

Introducción.....	2
1.0 FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	3
1.1 Antecedentes históricos.....	3
1.2 Principio físico.....	4
2.0 COMPONENTES DEL ESPECTROMETRO MICRO-RAMAN.....	7
3.0 PREPARACIÓN DE MUESTRA.....	8
4.0 ENCENDIDO DEL EQUIPO Y CALIBRACIÓN DE LOS LASERES.....	9
4.1 Encendido general del equipo.....	9
4.2 Encendido parcial del sistema.....	12
4.3 Lentes de seguridad.....	12
4.4 Calibración del instrumento.....	13
5.0 ADQUISICIÓN DE DATOS Y MEDICIONES.....	24
5.1 Creación de una base de datos para adquirir espectros.....	25
5.2 Remoción de rayos cósmicos.....	31
5.3 Exportar y convertir datos.....	33
6.0 FINALIZAR SESIÓN.....	35
Bibliografía.....	30

Introducción

Este manual es una guía rápida para el uso práctico del espectrómetro micro-Raman Renishaw. El objetivo del manual es ayudar al usuario con conocimientos básicos de la técnica, a montar correctamente la muestra para analizarla y obtener los espectros Raman apropiados para su interpretación.

Este manual es una herramienta para el correcto desempeño y funcionamiento del espectrómetro micro-Raman Renishaw y no sustituye el contenido del instructivo del software “WiRE 3.4 Training Modules” ni los manuales de operación del microscopio Leica y de los láseres.

En términos generales, el espectrómetro micro-Raman Renishaw permite analizar muestras sólidas y polvos de compuestos orgánicos, inorgánicos y biológicos. Por medio de la espectroscopía Raman se pueden analizar materiales semiconductores, películas delgadas, polímeros, medicamentos y cristales, entre otros compuestos, para elucidar su estructura mediante la obtención de un espectro Raman que posteriormente permitiera obtener información de composición, estabilidad y presencia de grupos funcionales.

La espectroscopía Raman se considera una técnica de análisis no destructiva debido a que se realiza directamente sobre el material sin necesidad de ningún tratamiento previo además de que el uso de luz normalmente no causa daños en la muestra a menos que ésta sea fotosensible o se irradie con demasiada intensidad por periodos prolongados de tiempo.

El hecho de que el espectrómetro Raman este acoplado a un microscopio óptico, permite obtener espectros con bandas más definidas, mayor intensidad y mejor resolución.

1.0 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

La espectroscopía Raman es una técnica fotónica utilizada para obtener en pocos segundos información química y estructural de diversas sustancias. El análisis por espectroscopía Raman se basa en la medición de la luz dispersada por un material sobre el cual se hace incidir un haz monocromático. La luz dispersada presenta cambios en la longitud de onda respecto al haz incidente dependiendo de la estructura química de la muestra. Esto también permite determinar semi cuantitativamente la cantidad de sustancia en una muestra de casi cualquier material o compuesto para su identificación, detectar vibraciones en moléculas y caracterizar fases puras y mezclas de minerales con un empaquetamiento atómico similar.

1.1 Antecedentes históricos

En 1921, el físico hindú Chandrasekhara Venkata Raman realizó las primeras observaciones que lo llevaron a descubrir el fenómeno inelástico de dispersión de luz que permite el estudio de vibraciones moleculares, llamado efecto Raman en su honor [1].

En 1923, estudiando la dispersión de luz en agua y alcoholes purificados, uno de los estudiantes de Raman observó que un rayo de luz solar cambiaba de color al pasar a través de un líquido. Este efecto se describió como una "fluorescencia débil" [2], pero el hecho de no poder eliminar dicha fluorescencia después de purificar los líquidos llevó a decidir que el fenómeno es una propiedad característica de la sustancia.

Durante los siguientes 5 años, Raman y su grupo realizaron estudios meticulosos en un amplio número de líquidos aromáticos, alifáticos e inorgánicos. Al irradiar un líquido transparente con una luz monocromática y estudiar el espectro de la luz difundida, observó variaciones de la frecuencia, según había predicho teóricamente Smekal en 1923. Como consecuencia de dichas observaciones,

Raman y Krishnan proclamaron, en su famoso artículo de *Nature* en 1928 [3], el descubrimiento experimental de "un nuevo tipo de radiación secundaria". Casualmente, el descubrimiento fue anunciado casi simultáneamente por Landsberg y Mandelstam en Rusia [4], pero debido a la evidencia sistemática y altamente detallada presentada por el grupo hindú, Raman logró demostrar que ésta no contenía sólo la radiación que genera la excitación sino también un conjunto de radiaciones características del espectro de vibración y rotación de las propias moléculas. Por este motivo fue nombrado caballero en 1929 y se le concedió el premio Nobel de Física en 1930 y su nombre quedó asociado al fenómeno y a la técnica espectroscópica que se desarrolló a continuación.

En 1930 cuando Raman recibió la Medalla Hughes, Rutherford dijo [5] que el descubrimiento debía estar "... entre los mejores... en la Física experimental de la última década" y que "... resultaría de mucha utilidad...".

En la década posterior a su descubrimiento se publicaron internacionalmente más de 2,000 artículos sobre el efecto Raman, y en la actualidad se estima que puede encontrarse más de 30,000 artículos originales en la literatura.

1.2 Principio físico

El análisis mediante espectroscopía Raman consiste en hacer incidir un haz de luz monocromática de frecuencia ν sobre una muestra cuyas características moleculares se desean determinar [6]. Los fotones del haz incidente pueden experimentar los siguientes efectos:

1) Colisiones elásticas con los átomos de la muestra, prácticamente sin pérdida de energía y conservando la misma frecuencia con la que incidieron generando la llamada **dispersión Rayleigh** (figura 1) la cual, no aporta ninguna información sobre la composición de la muestra debido a que las moléculas vuelven al mismo nivel de energía que tenían antes del choque como se muestra en la gráfica de la figura 2.

2) Colisiones inelásticas con los átomos de la muestra en donde se presentan transferencia de energía que modifican la frecuencia de los fotones dispersados (*1 fotón de cada 10^{11}* que inciden) que forman la llamada **dispersión Raman** la cual contiene información sobre la composición y estructura de la muestra debido a que las moléculas son excitadas a un estado vibracional distintos del que tenían antes del choque (figura 2) en dos formas posibles:

- a) El fotón incidente transmite energía a la molécula con la que choca, (**dispersión Stokes**), induciendo vibraciones moleculares, y disminuyendo su frecuencia (figura 1) por la pérdida de energía al chocar.
- b) El fotón absorbe energía al chocar con moléculas excitadas, (**dispersión anti - Stokes**) aumentando su frecuencia al ganar energía (figura 1) durante el choque [7].

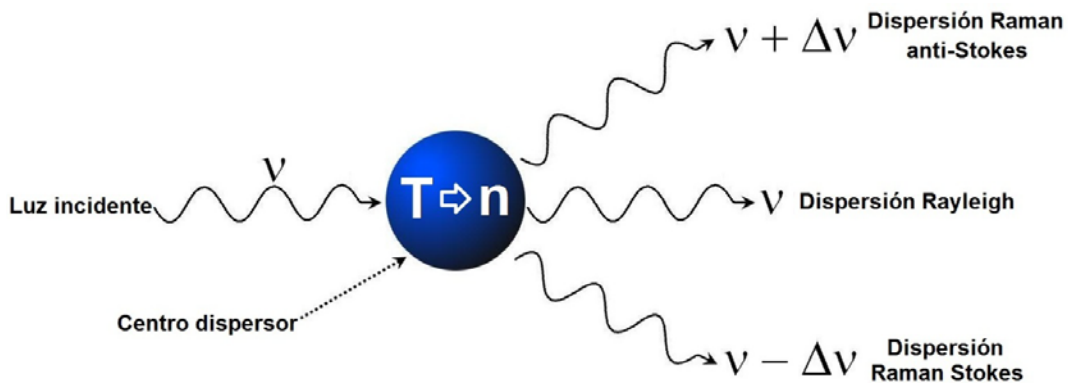


Figura 1. Representación esquemática de los tres tipos de dispersión de luz.

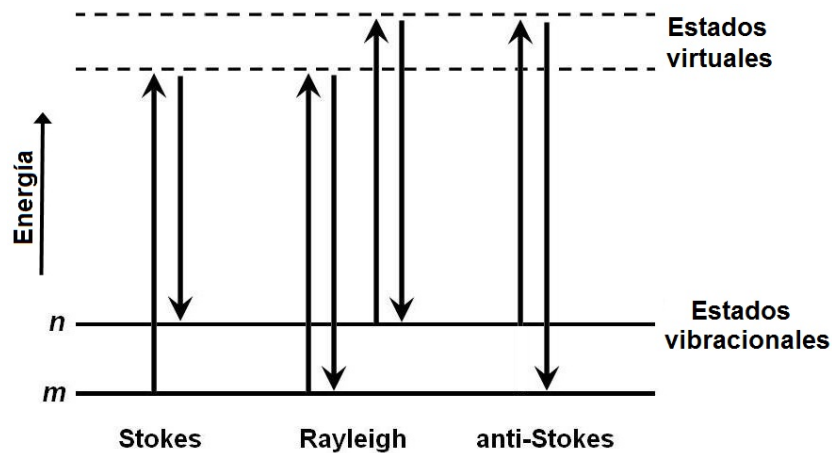


Figura 2. Procesos de dispersión Rayleigh y Raman.

Los iones y átomos enlazados químicamente para formar moléculas y redes cristalinas, están sometidos a constantes movimientos vibracionales y rotacionales; estas oscilaciones se realizan a frecuencias bien determinadas en función de la masa de las partículas que intervienen y del comportamiento dinámico de los enlaces existentes. A cada uno de los movimientos vibracionales y rotacionales de la molécula le corresponderá un valor determinado de la energía molecular [8, 9].

Para que una forma de vibración natural, dentro de una molécula, absorba energía radiante, debe cumplir dos requisitos:

- 1) Que la frecuencia natural de vibración de la molécula sea la misma que la frecuencia de radiación.
- 2) Que la vibración que va a estimularse produzca un cambio en el momento dipolar de la molécula.

Como condición tenemos que si una oscilación en particular de una molécula se vuelve imposible de realizar debido a su simetría (H_2 , O_2 , $H_2C=CH_2$), no se observará ninguna radiación correspondiente a dicha oscilación siendo inactiva en infrarrojo pero muy activa en Raman [9].

La diferencia de energía entre los de los fotones incidentes y los disipados se analiza con un espectrómetro óptico para generar el espectro vibracional "Raman" el cual es único para cada tipo compuesto y sirve como una "huella digital" para identificarlo [8, 9].

La diferencia de longitudes de onda entre la radiación incidente y la dispersada corresponden a las longitudes de onda de la región del infrarrojo medio la cual se encuentra entre 780 y 3000 nm (de 1.3×10^4 a $3.3 \times 10^1 \text{ cm}^{-1}$). Aun así, existen suficientes diferencias entre los grupos funcionales que son activos ante la espectroscopia de infrarrojo y la espectroscopia Raman, por lo las técnicas son complementarias. Además por tratarse solamente de irradiación con luz, la técnica no resulta agresiva, por lo que se dice que es no destructiva y puede realizarse al ambiente [8].

2.0 COMPONENTES DEL ESPECTROMETRO MICRO-RAMAN RENISHAW

El espectrómetro In via micro-Raman de la marca Renishaw del laboratorio de espectroscopía Raman, contiene los siguientes componentes cuya ubicación se muestra en la figura 3:

a) Fuente de luz monocromática (laser). El espectrómetro esta equipado con dos laseres, uno verde de 514 nm y 20 mW marca Spectra-Physic y otro rojo de 633 nm y 50 mW marca Renishaw.

b) Sistema de iluminación de la muestra que recolecte la luz dispersada (microscopio).

c) Medio para filtrar toda la luz excepto por la dispersión Raman (Filtros holográficos Notch o filtros dieléctricos).

d) Rejilla de difracción para dividir la luz dispersada en longitudes de onda.

e) Un fotodetector para medir la luz dispersada (cámara CCD).

El espectrómetro esta conectado a una computadora para la obtención, registro y manipulación de los espectros Raman.

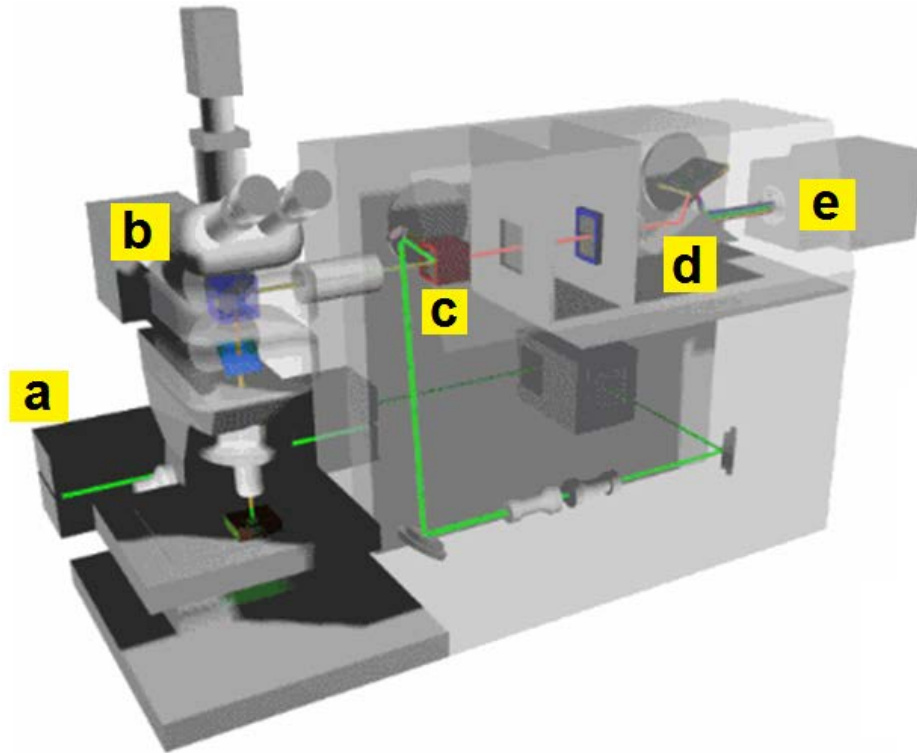


Figura 3. Espectrómetro Micro-Raman Renishaw

3.0 PREPARACIÓN DE MUESTRA

Las muestras sólidas se pueden manipular de dos formas:

1. Colocando la muestra directamente sobre un porta objetos de vidrio. Esta opción se recomienda cuando se desea recuperar el cien por ciento del material a analizar o cuando la muestra consiste en fragmentos sólidos.
2. Montando la muestra sobre cinta de doble cara colocada previamente en un porta objetos de vidrio. Este alternativa se recomienda cuando la muestra presenta estatica o tiene una superficie irregular de forma que la cinta permite fijar el material para evitar que se mueva del porta objetos.

Debido a que la cantidad de material que se requiere para medir los espectros Raman es muy pequeña, se pueden montar varias muestras en un mismo porta objetos como se observa en la en la figura 4.

Existe la posibilidad de analizar algunas muestras líquidas, principalmente aquellas que tienen presencia de solidos dispersos en algun liquido volátil. Este tipo de muestras se monta colocando una gota de muestra directamente sobre el porta objetos esperando a que se evapore el exceso de líquido.

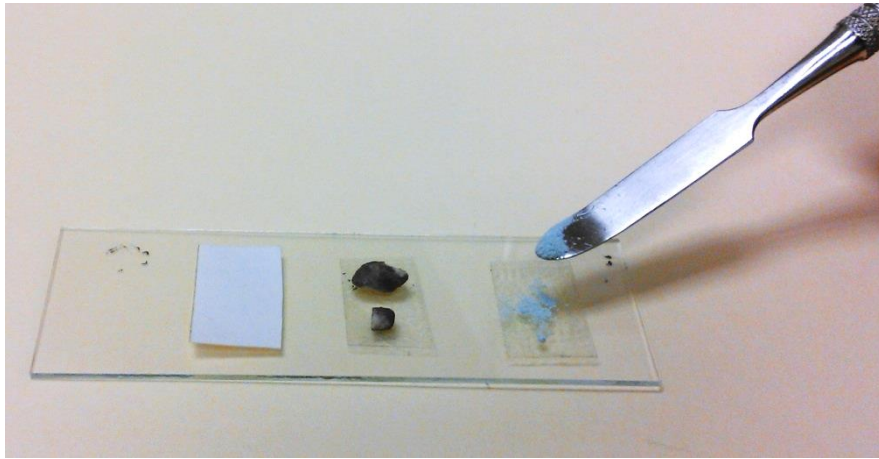


Figura 4. Montaje de muestras para espectroscopía Raman.

4.0 ENCENDIDO DEL EQUIPO Y CALIBRACIÓN DE LOS LASERES

4.1 Encendido general del equipo

1. Encender el sistema usando el interruptor principal situado del lado derecho del instrumento que se muestra con el inciso "**a**" de la figura 5.
2. Encender los interruptores de los láseres en el mismo panel que se indican con el inciso "**b**" en la figura 5.

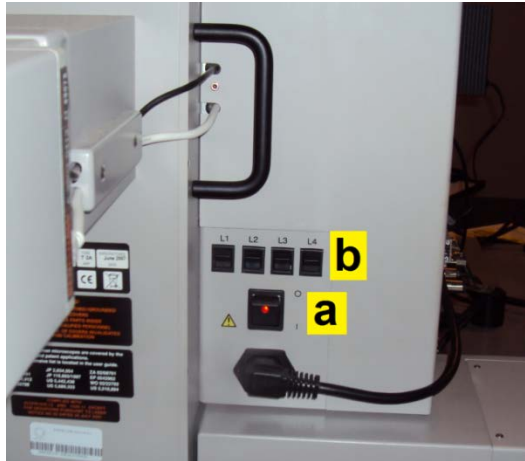


Figura 5. Panel con el interruptor principal (a) y los interruptores de los láseres (b).

3. Encender los láseres necesarios para la realización del análisis, que se encuentran en la parte posterior del microscopio como se muestra en la figura 6. Para el láser verde, etiquetado con el inciso “a” en la figura 6, se debe encender primero el ventilador con el botón que está del lado izquierdo y posteriormente se enciende el láser girando la llave a la derecha. El láser rojo marcado con el inciso “b” se enciende directamente girando la llave de la posición 0 a 1.

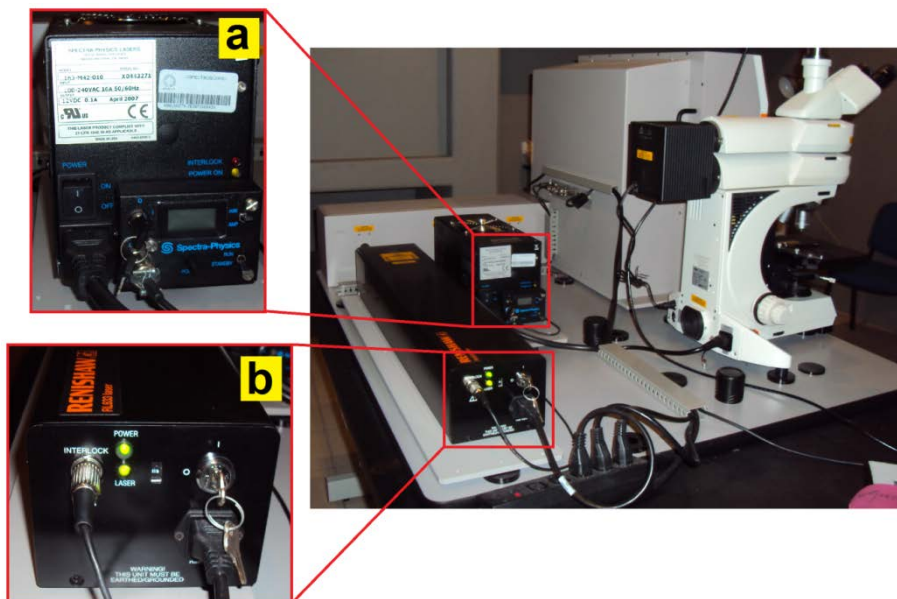


Figura 6. Láseres y sus llaves de encendido.

4. Encender el microscopio con el botón que está del lado izquierdo de la base del mismo como se muestra en la figura 7.



Figura 7. Botón de encendido del microscopio.

5. Encender la computadora y correr el programa **“WiRE 3.4”**. A continuación aparece la pantalla de inicio del programa que se muestra en la figura 8.

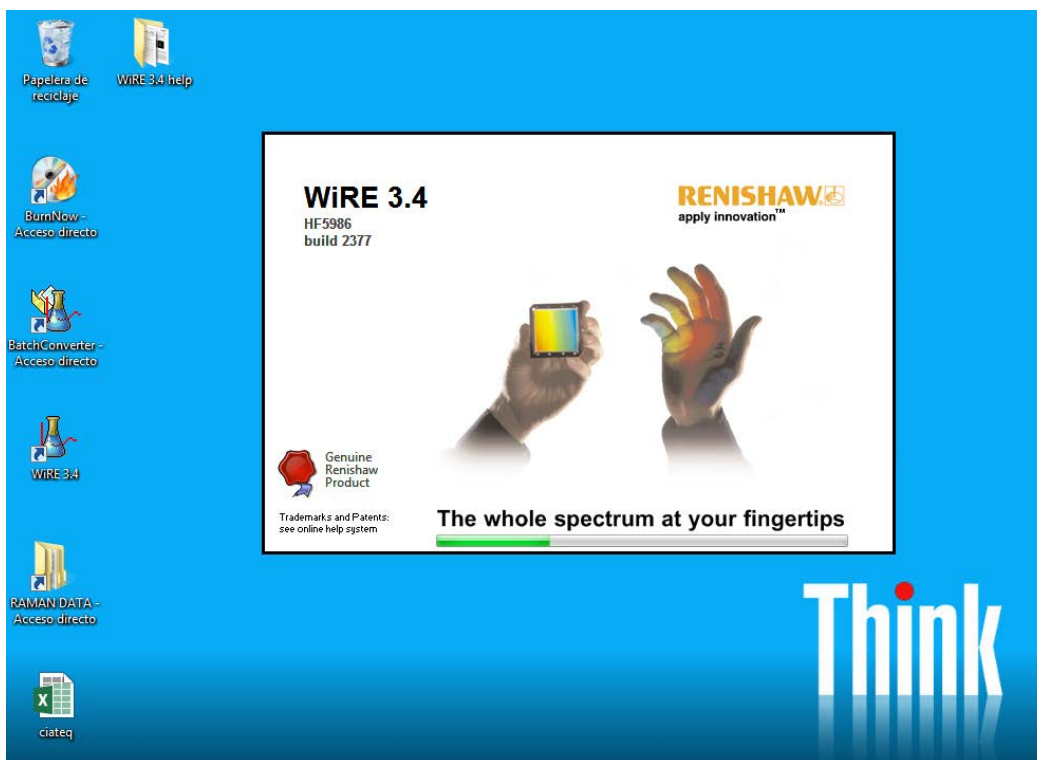


Figura 8. Inicio de programa wire 3.4

6. Después de iniciar, el programa **“WiRE 3.4”** solicita una revisión de la posición de los motores del espectrómetro, apareciendo la pantalla de la figura 9. Elegir la primera opción **“Reference un-referenced motors only”** y hacer click en **“Ok”**.

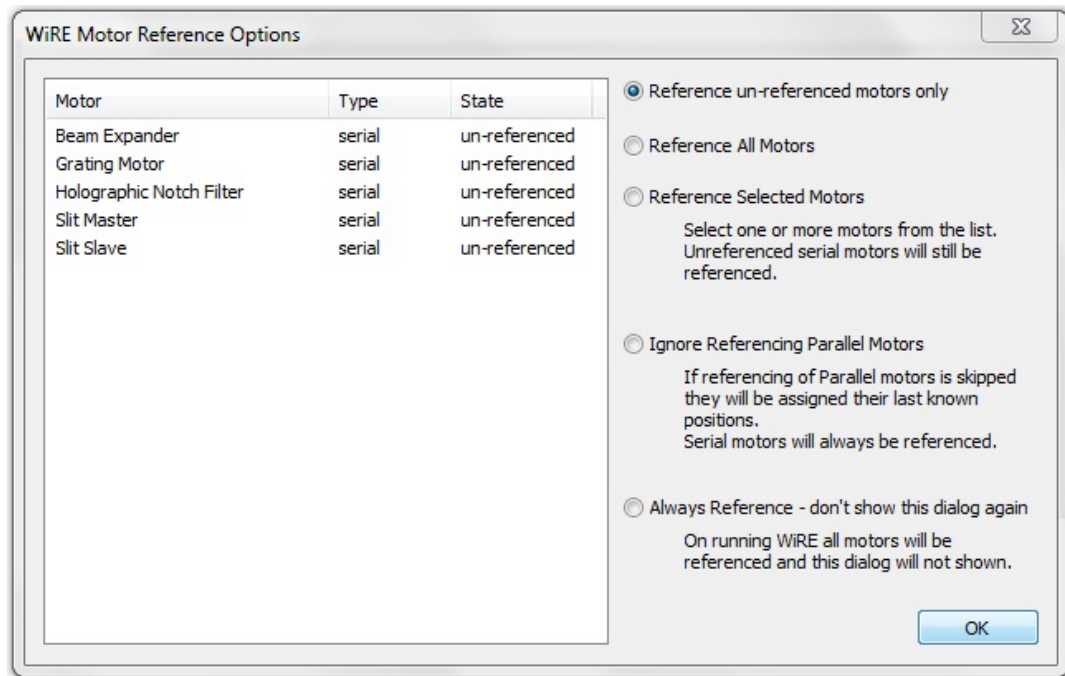


Figura 9. Pantalla de revisión de motores del espectrómetro micro-Raman.

4.2 Encendido parcial del sistema

En caso de que el espectrómetro esta encendido y los demás componentes estén apagados, primero se debe encender el láser que se desea utilizar, posteriormente se enciende la computadora y después se abre el programa **“WiRE 3.4”**. En este caso no habrá solicitud para la referencia de los motores, debido a que su estado actual será reconocido por el software y referenciado si es necesario.

4.3 Protección ocular para uso de los láseres

Antes de realizar cualquier medición, el usuario debe colocarse los lentes de seguridad para evitar daños a su vista. Existen dos tipos de lentes, adecuados para filtrar la radiación de longitud de onda proveniente de los láseres con los que cuenta el equipo, los cuales se muestran en la figura 10. Los lentes de color anaranjado (que filtran longitudes de onda de 190 a 532 nm) se deben utilizar cuando se trabaja con el láser verde de 514 nm y los lentes azules (que filtran longitudes de onda de 610 a 695 nm) para el láser rojo de 633 nm.



Figura 10. Lentes de seguridad para espectroscopía Raman. Lentes anaranjados para trabajar con el láser verde de 514 nm y lentes azules para trabajar con el láser rojo de 633 nm.

4.4 Calibración del instrumento

1. Colocar sobre la platina del microscopio el porta muestra de calibración que se presenta en la figura 11, el cual contiene un cristal de silicio.



Figura 11. Porta muestra de calibración con cristal de silicio.

2. Ajustar los tornillos de posición “xy” de la platina de modo que el cristal quede debajo del objetivo como se indican en la figura 12.

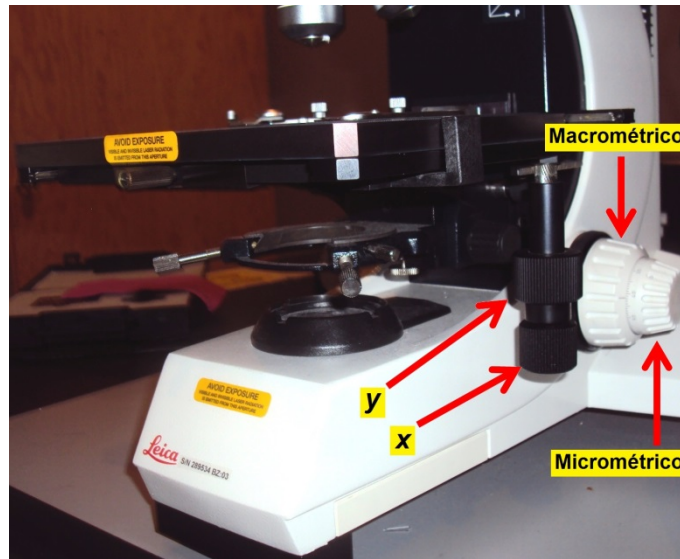


Figura 12. Tornillos de posición “xy” de la platina del microscopio.

3. Mover hacia adelante la palanca que está atrás y del lado derecho de la platina como se muestra en la figura 13, para liberar el seguro y poder ajustar la altura de la platina de modo que el porta muestra quede lo más cerca al objetivo de “50x” y que sea visible el reflejo de la luz del microscopio sobre el cristal.



Figura 13. Palanca para ajustar la altura de la platina.

4. Mover la palanca hacia atrás para asegurar de nuevo la platina.
5. Asegurarse que los selectores de la parte frontal del microscopio (figura 14) estén en las posiciones 2 y 1 que es el modo de luz. Las posiciones 1 y 2 son el modo de láser.



Figura 14. Selectores de modo de operación del microscopio.

6. Regresar al objetivo de 5x y observando por los binoculares, enfocar el cristal de silicio con ayuda de los tornillos de posición “xy” de la platina y los tornillos micro y macrométricos que se muestran en la figura 12, buscando el contraste adecuado hasta que la imagen sea clara. Se recomienda realizar este procedimiento en los bordes del cristal para evitar que la luz sea reflejada por la superficie, lo cual dificulta lograr un buen contraste.
7. Repetir el paso anterior con el objetivo de 20x y hasta realizar el enfoque con el objetivo de 50x.

8. Abrir el menú **“Measurement”** y hacer click en la opción **“New measurement”** que se muestra en la figura 15 para seleccionar la plantilla de calibración previamente guardada para cada uno de los láseres como se observa en la figura 16.

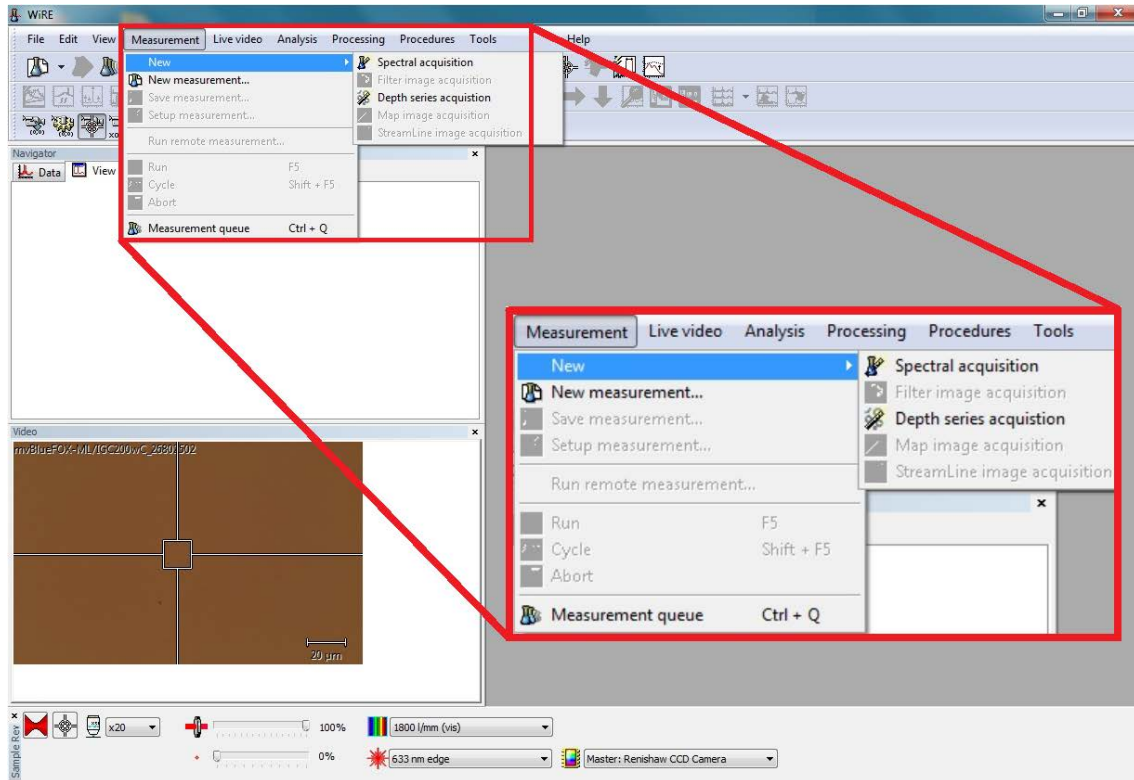


Figura 15. Menú “Measurement” del programa Wire 3.4.

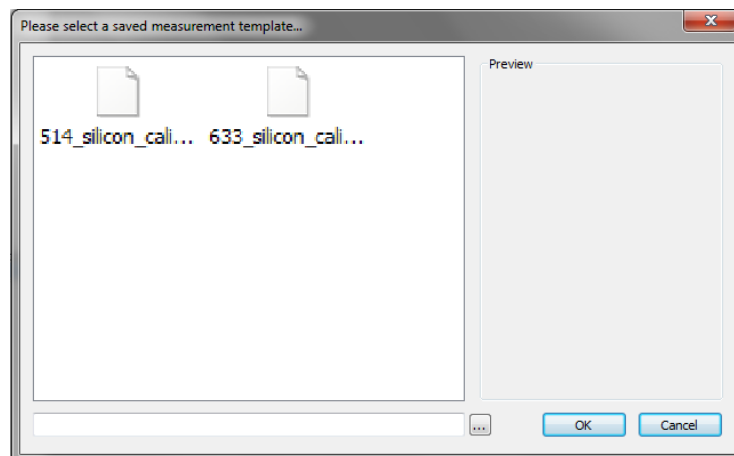


Figura 16. Plantillas para calibración de los láseres.

9. En la barra de herramientas **“Sample review”** que aparece en la parte inferior de la pantalla, hacer click en la opción **“Laser shutter open”** marcada con el inciso **“a”** de la figura 17 para abrir el obturador.



Figura 17. Barra de herramientas simple review del programa WiRE 3.4.

10. Ajustar el enfoque con el tornillo micrométrico hacia un lado y hacia otro, observando en la pantalla como el haz aumenta y se dispersa o bien decrece y se concentra. El haz debe estar lo mas condensado posible como se muestra en la figura 18.

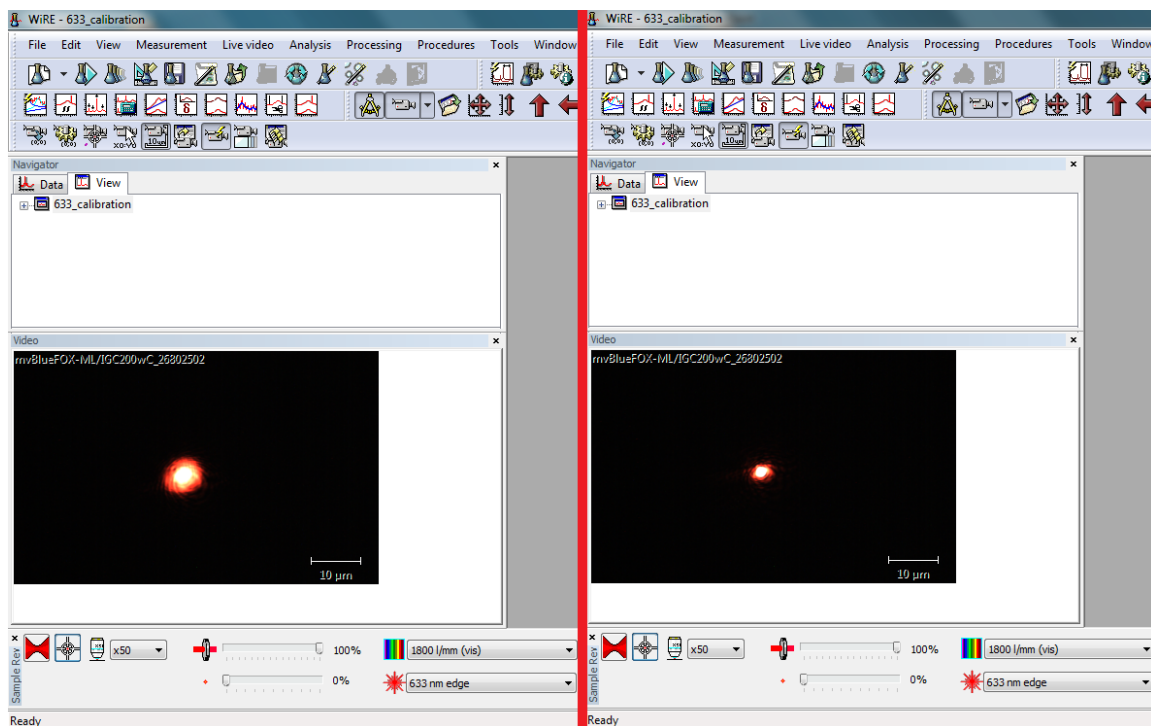


Figura 18. Haz expandido (izquierda) y haz condensado (derecha).

11. Para medir el espectro, hacer click en el icono **“Run”** de la barra de herramientas que está en la parte superior de la pantalla como se indica en la figura 19.

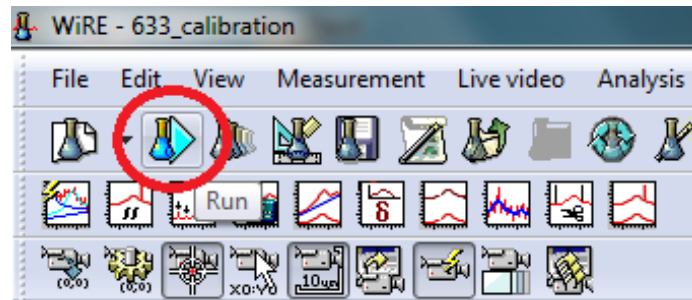


Figura 19. Botón **“Run”** de la barra de herramientas del programa WiRE 3.4.

12. Se debe obtener un espectro con un solo pico en 521 cm^{-1} como el que se muestra en la figura 20.

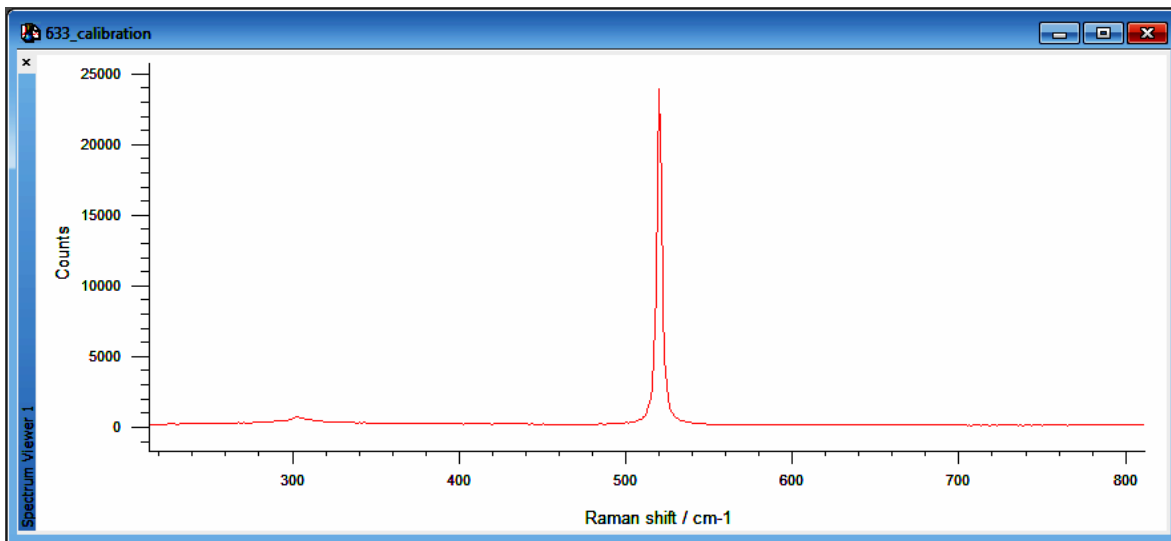


Figura 20. Espectro del silicio del dispositivo para calibración.

13. Abrir el menú **“Tools”** y desplegar el submenú **“System Health”** para hacer click en la opción **“Health check”** que se muestra en la figura 21.

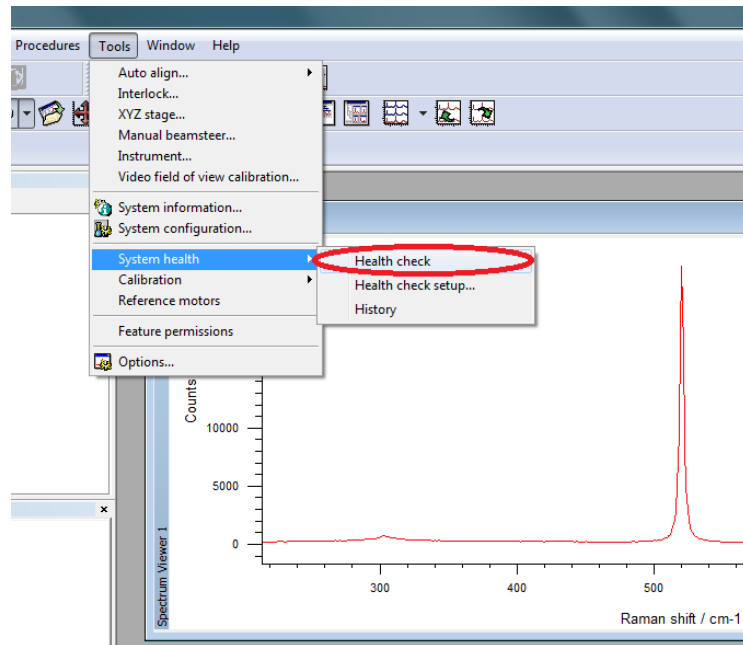


Figura 21. Opción **“Health check”** del submenú **System health** en el menú **“Tools”**.

14. Hacer click en Aceptar en la figura 22

Fig 22

15. Dar Ok en la figura 23

Fig 23

16. El equipo realizará la revisión y después aparecerá el cuadro de diagnóstico **“System Health Viewer”** que se muestra en la figura 24, el cual nos indica que hacer si alguno de los componentes de equipo como el laser, el detector o las rejillas requieren alguna calibración específica.

17. Si el cuadro **“System Health Viewer”** solicita **“Perform a Quick Calibration”** (figura 24), desplegar el menú **“Tools”**, hacer click en la opción **“Quick Calibration”** del submenú **“Calibration”** y posteriormente

en **Aceptar** del cuadro **WiRE: Quick Calibration** que se muestra con el inciso **a** en la figura 25.

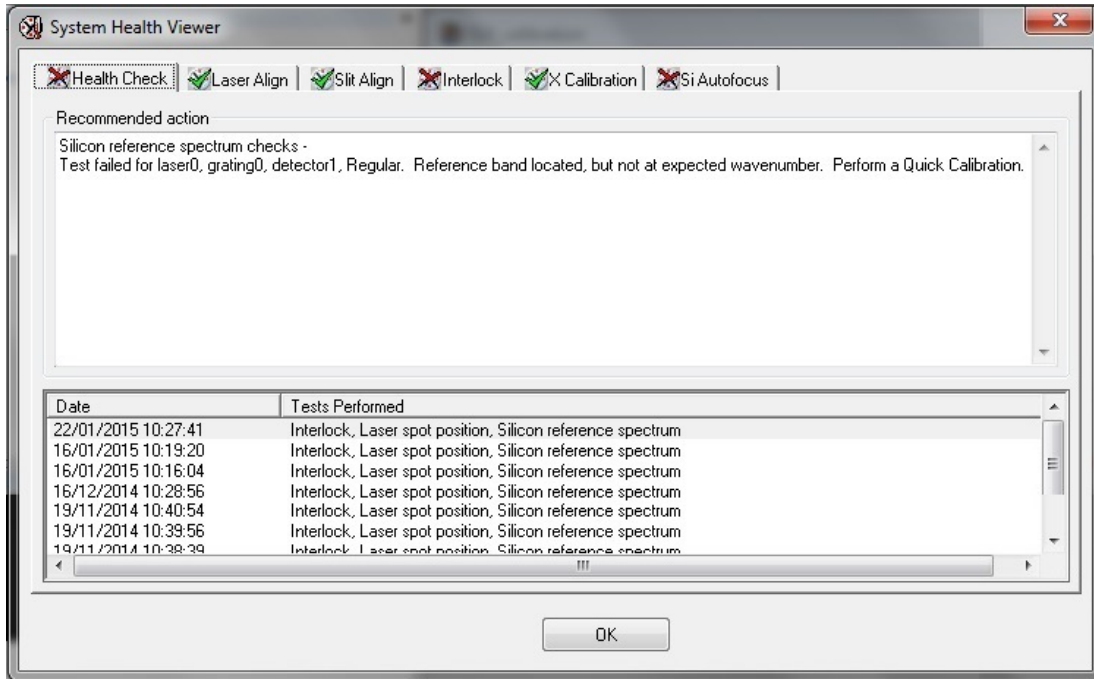


Figura 24. Cuadro de dialogo **System Health Viewer** solicitando calibración”.

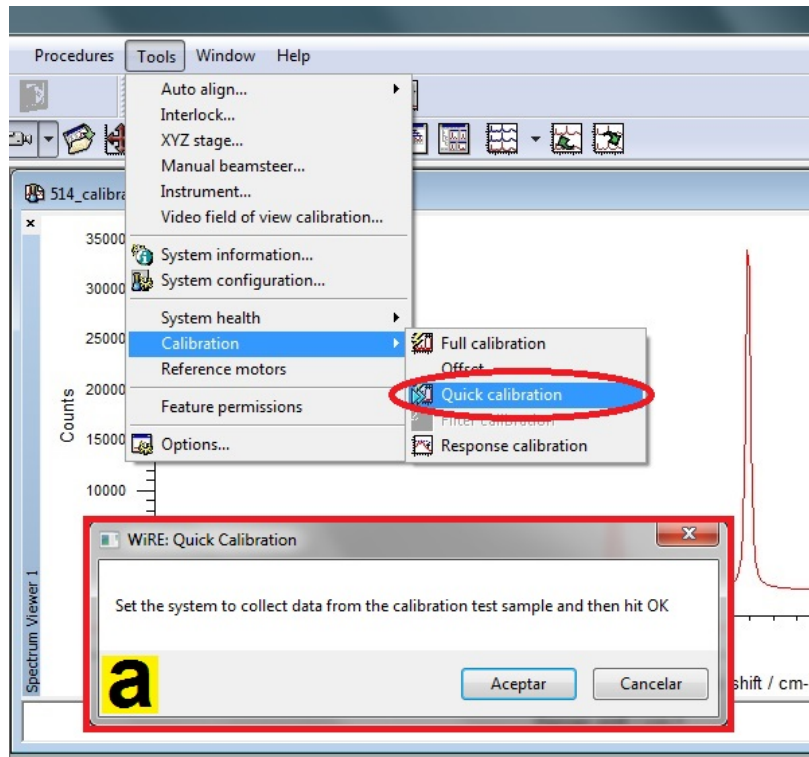


Figura 25. Secuencia para realizar la calibración rápida solicitada por el equipo.

18. (repetir la rutina del system health pasos 14 al 16) Abrir nuevamente el menú "**Tools**" y desplegar el submenú "**System Health**" para hacer click en la opción "**Health check**" como fue indicado anteriormente en la figura 21.

19. En caso de aparecer un nuevo mensaje en el cuadro "**System Health Viewer**" atender la sugerencia que se indica; por ejemplo, en la figura 26 se muestra que el cuadro solicita "**Perform laser auto-alignment**", así que se debe desplegar el menú "**Tools**" de la barra de herramientas, hacer click en la opción "**Align...**" del submenú "**Auto-alignment**" y aparecerá el cuadro "**Auto align**" que se indica con el inciso "**a**" en la figura 27. En dicho cuadro hacer click en la segunda opción "**Auto Align Laser**" (o Auto align Slits y Auto Align CCD Area) y posteriormente en "**OK**".

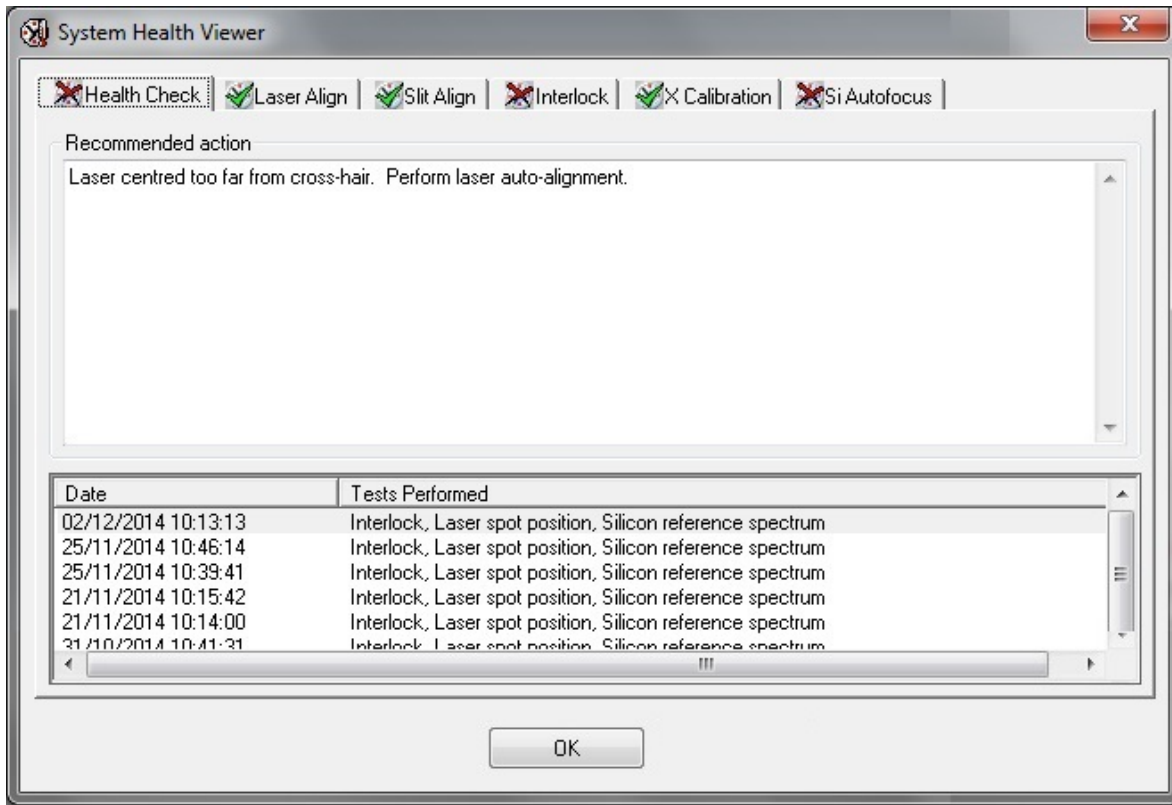


Figura 26. Cuadro de diálogo **“System Health Viewer”** solicitando auto alinear laser”.

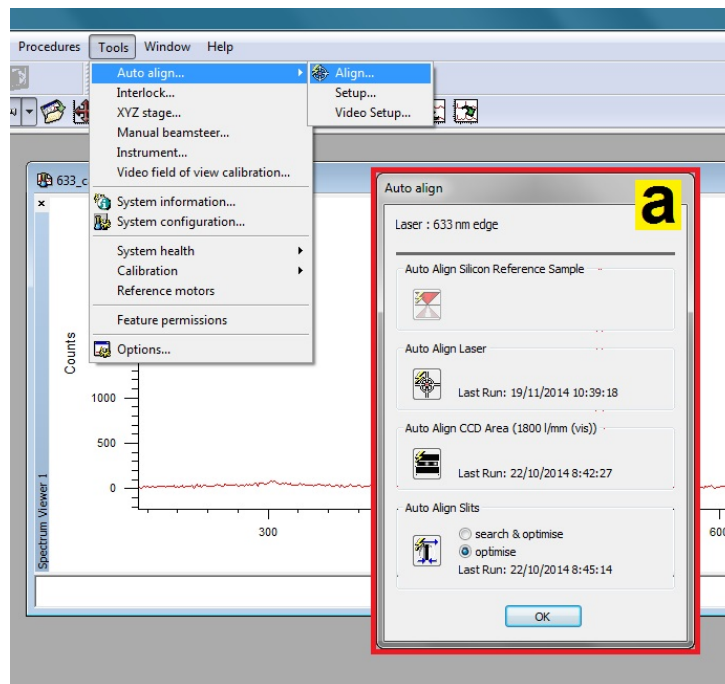


Figura 27. Secuencia para realizar la auto alineación del laser.

20. Hacer click en el boton **“Aceptar”** de los cuadros que se muestran en las figuras 28 y 29 para completar la auto alineación del laser, asi como en el cuadro del informe de la alineación que se presenta en la figura 30.

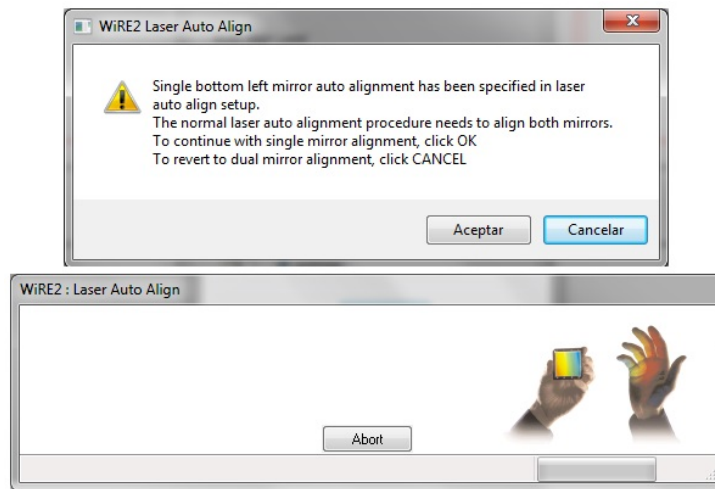


Figura 28. Cuadro “WiRE Laser Auto Align” solicitando la alineación de espejor para la auto alineación del laser.

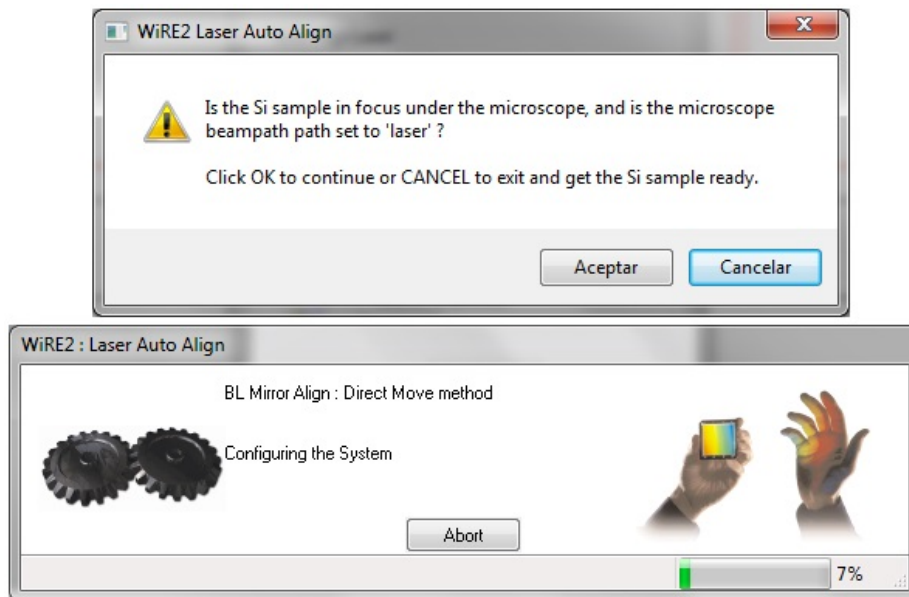


Figura 29. Cuadro **“WiRE Laser Auto Align”** preguntando si la muestra de silicio para la calibración esta en debajo del microscopio y este se encuentra alineado.

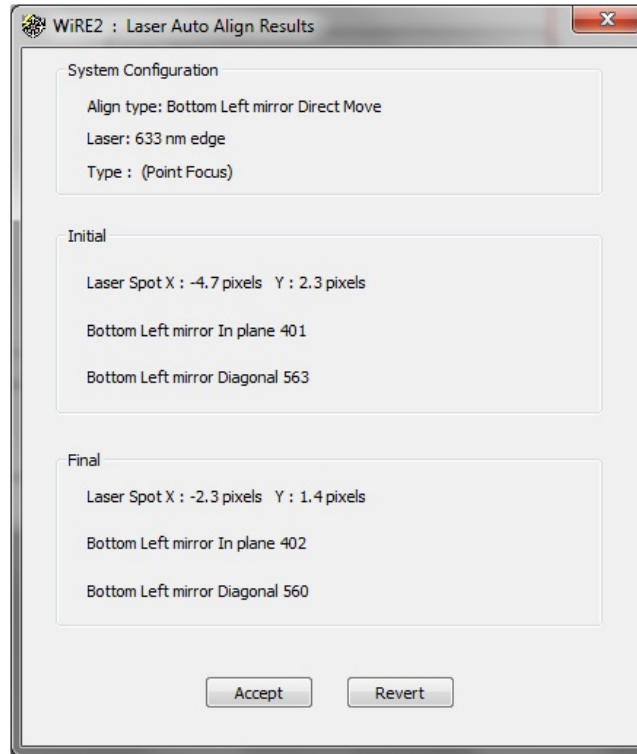


Figura 30. Cuadro **“WiRE Laser Auto Align”** mostrando el resumen de la auto alineación del laser.

21. Realizar de nuevo la rutina de **“Health check”** como se indicó anteriormente y realizar las operaciones requeridas hasta que el cuadro **“System Health Viewer”** deje de solicitar ajustes como se muestra en la figura 31.

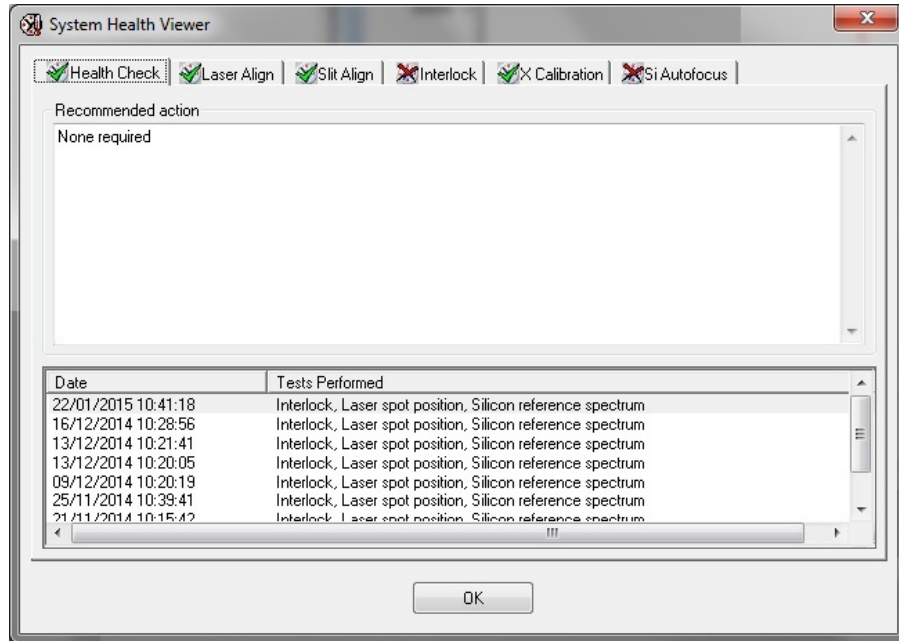


Figura 31. Cuadro de dialogo **“System Health Viewer”**.

5.0 ADQUISICIÓN DE DATOS Y MEDICIONES

Existen diferentes tipos de mediciones disponibles dependiendo de la configuración del microscopio.

1. Para realizar una nueva medición se abre el menú **“Measurement”**, se despliega el submenú **“New”** y se hace click en la opción **“Spectral acquisition”** que se muestra en la figura 32.

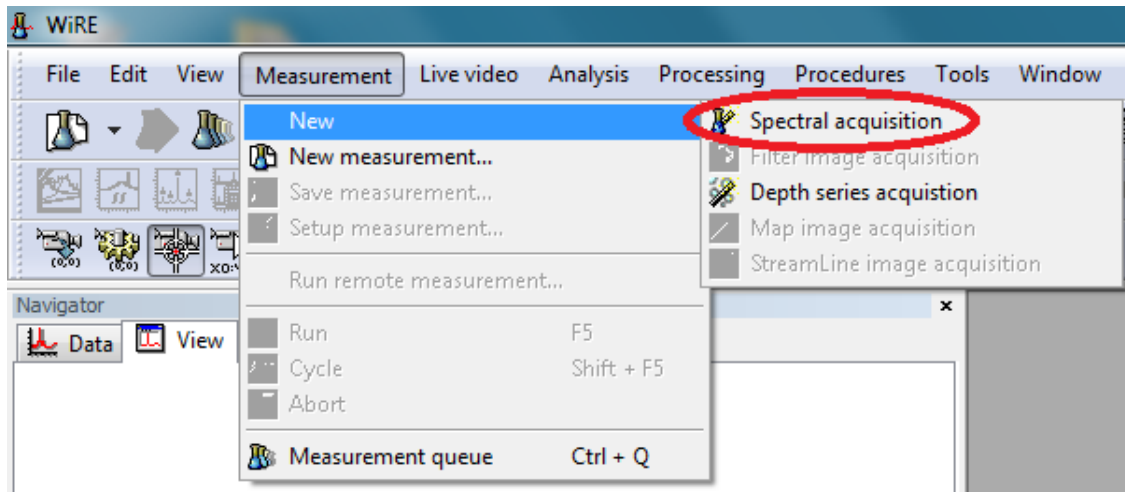


Figura 32. Acceso a nuevas mediciones del menú “Measurement”.

2. También se puede acceder a este menú por medio del acceso directo que está en la barra de herramientas que se muestra en la figuras 33.

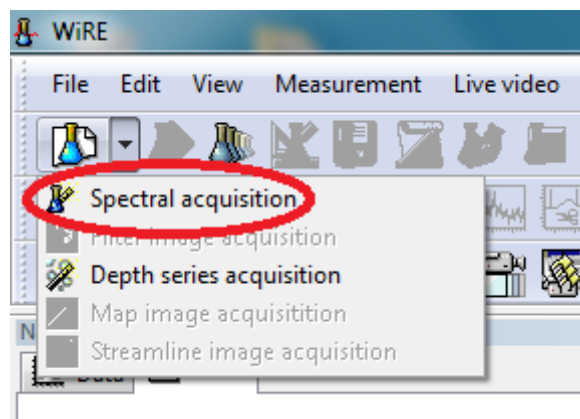


Figura 33. Acceso directo a nuevas mediciones en la barra de herramientas.

5.1 Creación de una base de datos para adquirir espectros

Después de seleccionar la opción “***Spectral acquisition***”, aparecerá automáticamente el cuadro de configuración que se muestra en la figura 34.

En la primera pestaña “***Range***”, se debe configurar el tipo de barrido, la confocalidad, el intervalo de colección del espectro y el láser a emplear.

- a) **Grating scan type (Tipo de barrido):** El más utilizado es “**Extended**”, que realiza un barrido entre los límites superior e inferior, y una vez activo, podrán ser introducidos estos valores en la opción “**Spectrum Range**”.
- b) **Spectrum Range (Intervalo del espectro):** Permite capturar el intervalo del espectro deseado, que puede ir de 10 a 4000 cm^{-1} .
- c) **Confocality (Confocalidad) :** Permite al usuario elegir entre un rendimiento confocal alto y estándar. La confocalidad define el volumen de muestra del cual se recolecta la señal. Se recomienda seleccionar confocalidad estándar.
- d) **Configuration:** Permite al usuario seleccionar el láser que será utilizado. En este caso se cuenta con el láser de 514 nm (potencia de 25 mW) y el de 633 nm (potencia de 50 mW). Los diferentes láseres tienen diferente potencia e inducen diferentes cantidades de fluorescencia en la muestra.

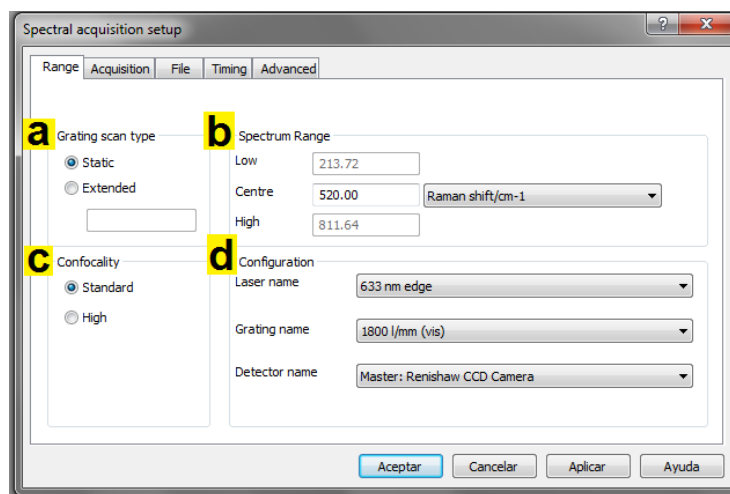


Figura 34. Pestaña “**Range**” del cuadro de configuración de mediciones.

En la pestaña “**Acquisition**”, se pueden modificar las condiciones del barrido como son el tiempo de exposición, el número de acumulaciones y la potencia del láser, entre otras opciones, tal como se muestra en la figura 35.

- a) **Exposure time (Tiempo de exposición):** Se debe capturar el tiempo de exposición que es el tiempo que el detector está expuesto a la señal Raman. Transcurrido este tiempo, se construye el espectro. Tiempos de exposición altos ofrecen una mejor razón señal-ruido en el espectro. Al seleccionar la opción de rango extendido, en la pestaña “**Range**” el tiempo mínimo de exposición es 10 segundos, por encima de este valor, el usuario puede escoger cualquier otro, de acuerdo al tipo de muestra y la potencia empleada del laser, tomando en cuenta que grandes tiempos de exposición y elevadas potencias pueden ocasionar que algunas muestras se quemen, sobre todo aquellas de origen biológico.

- b) **Accumulations (Acumulaciones):** Las acumulaciones son el número de repeticiones del barrido. Se pueden incrementar el número de acumulaciones manualmente para producir espectros con la mejor razón señal-ruido. Se recomienda utilizar más de una acumulación en las muestras en cuyo espectro se tiene un fondo con alta fluorescencia. Un barrido largo o de varias acumulaciones puede saturar el detector mas facilmente que varios barridos o uno solo mas corto.

- c) **Objective (Objetivo):** Indica la magnificación de los objetivos utilizados. La mejor razón señal-ruido se obtienen usualmente a partir de objetivos de alta magnificación, debido a que dan una mayor densidad de potencia en la muestra. Esto se ajusta únicamente en la barra de herramientas “**Sample review**” en la parte baja de la pantalla.

- d) **Laser Power (Potencia del láser):** Permite seleccionar el porcentaje de la potencia del láser empleado en el barrido. Una elevada potencia mejora

la razón señal-ruido, pero esto puede dañar la muestra. La potencia se puede fijar entre 5×10^8 % y 100 % seleccionando el valor deseado en el listado que se muestra en el inciso "d" de la figura 35.

- e) **Cosmic ray removal (Remover rayos cósmicos):** Si se activa esta opción, removerá picos agudos aleatorios debidos a la radiación cósmica de fondo. Los rayos cósmicos son eliminados automáticamente al obtener tres espectros y tomar el promedio de los mismos.

Si se utiliza el removedor de rayos cósmicos, se desarrollan dos acumulaciones extras. Si el barrido consiste de 10 acumulaciones de 10 segundos, entonces se tienen dos acumulaciones extras de 10 segundos. Si el barrido consiste de una acumulación de 100 segundos, entonces se tienen dos acumulaciones extras de 100 segundos, lo cual claramente consume más tiempo.

- f) **Close laser shutter on completion (Cerrar el obturador del láser en terminación):** Esta opción siempre debe estar activa y se encarga de cerrar el obturador del láser después de recolectar datos. Lo anterior permite que la muestra no este expuesta al láser cuando no se esta realizando alguna medición.

- g) **Title (Título):** Sirve para identificar el conjunto de mediciones que se colectaran mediante la configuración que ha sido dada de alta.

- h) **Description (Descripción):** Permite describir datos sobre la muestra que el usuario desee guardar.

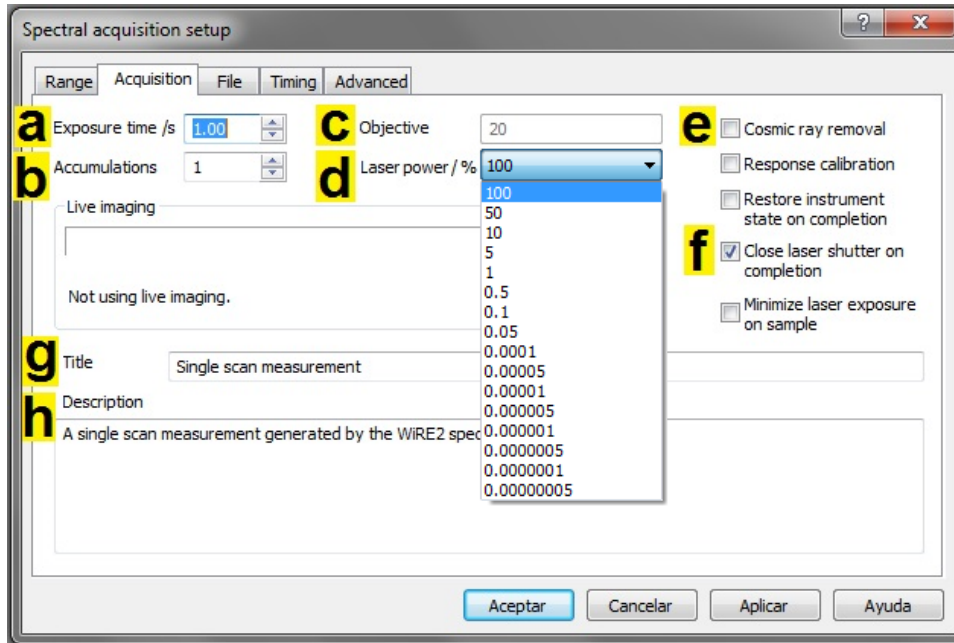


Figura 35. Pestaña “Acquisition” del cuadro de configuración de mediciones.

En la pestaña “**File**” que se muestra en la figura 36, se presentan las opciones para el guardado automático de los datos. Inserta un nombre de archivo y busca un folder determinado.

- a) En la opción “**File name**”, seleccionar “**Browse**” para determinar la ubicación en la computadora, de los archivos que serán generados durante la medición. El usuario deberá crear una carpeta con su nombre en el directorio “**RAMAN DATA**” que está en el escritorio.

Frente a la opción “**File name**”, capturar el nombre base correspondiente a la identificación de la muestra para poder guardar los archivos.

Activar la opción “**Auto increment**” para guardar las mediciones consecutivas.

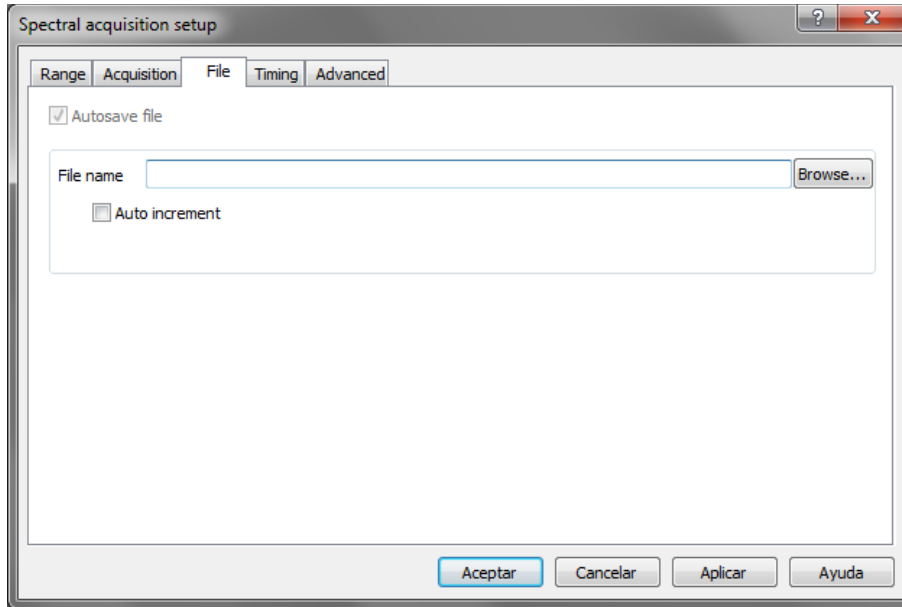


Figura 36. Pestaña “File” del cuadro de configuración de mediciones.

Una vez revisados y establecidos estos parámetros, se hace click en la opción “**Run**”, que está en la barra de herramientas, etiquetada con el inciso “**a**” de la figura 37 para obtener el espectro correspondiente a la muestra que está analizando.

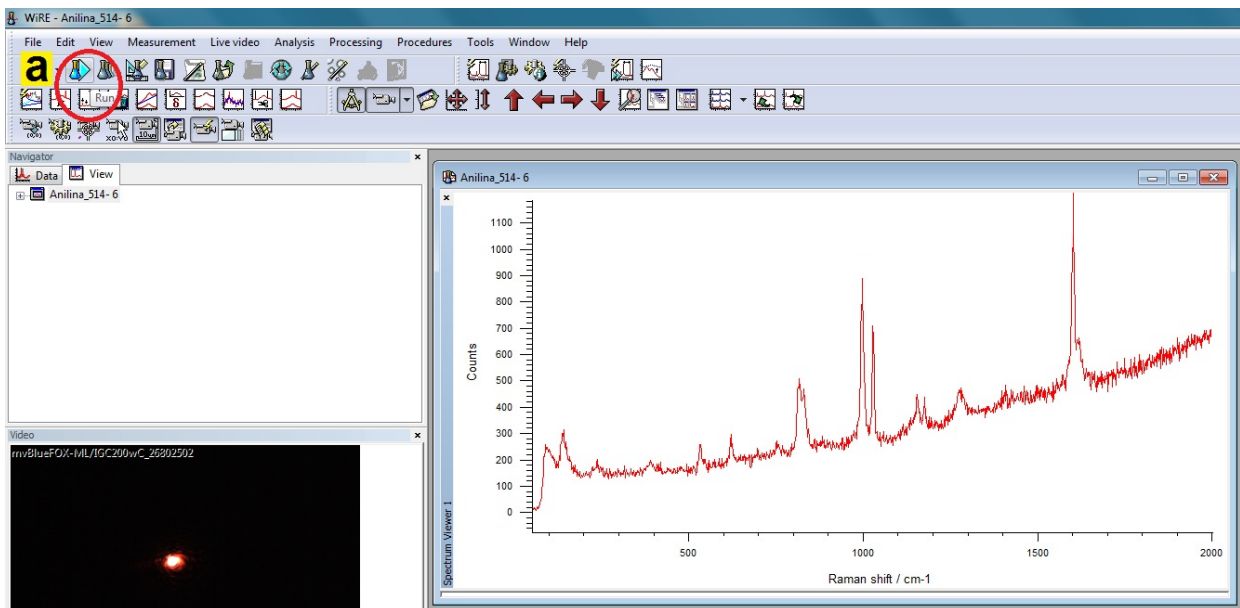


Figura 37. Ejemplo de un espectro Raman típico.

5.2 Remoción de rayos cósmicos

En ocasiones el detector es capaz de coleccionar radiación cósmica proveniente del espacio exterior, cuya característica es poseer alta energía. Esta radiación aparece en el espectro en forma de picos muy finos de mayor intensidad que las bandas Raman llamados rayos cósmicos como los que se observan en la figura 38. Cuando no se esta seguro si una banda pertenece a la muestra o se trata de un rayo cósmico, se debe coleccionar de nuevo el espectro en el mismo punto y bajo las mismas condiciones. Si la señal no aparece, significa que era un rayo cósmico.

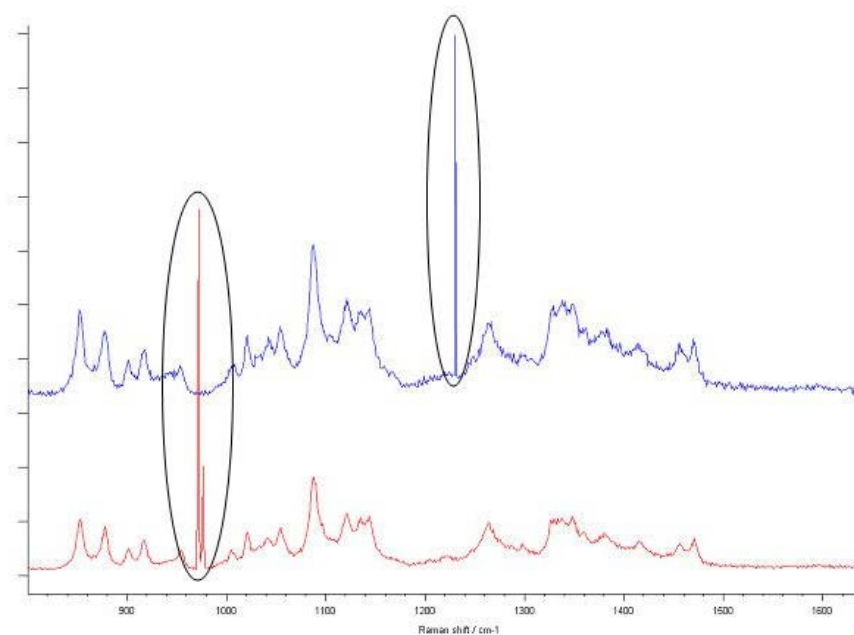


Figura 38. Ejemplos de espectros Raman con picos de rayos cósmicos.

En caso de aparecer los rayos cósmicos, hacer click en el icono **“Zap data”** (suprimir datos) de la barra de herramientas y aparece la ventana que se muestra en la figura 36 donde se deben mover las barras verticales a los lados del pico que se desea remover. Haciendo click con el botón derecho del mouse aparece una lente de aumento para obtener una amplificación de una zona del espectro que se observa en la imagen de la figura 39, debajo del espectro original. Posteriormente, hacer click de nuevo en el botón derecho y seleccionar **“Accept”** si estamos de

acuerdo con la posición de las líneas o **“Reject”** para salir de la aplicación. A hacer click en aceptar, obtendrá el espectro sin el pico seleccionado como se aprecia en la figura 40.

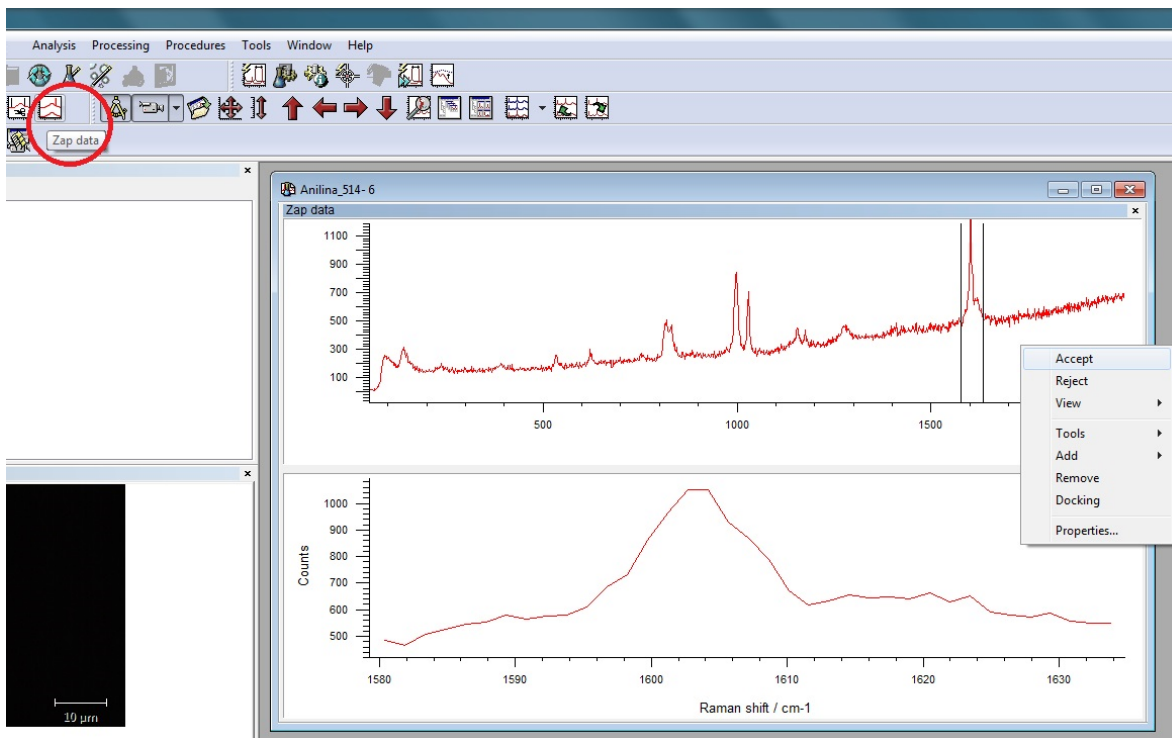


Figura 39. Remoción del pico de rayos cósmicos en un espectro Raman.

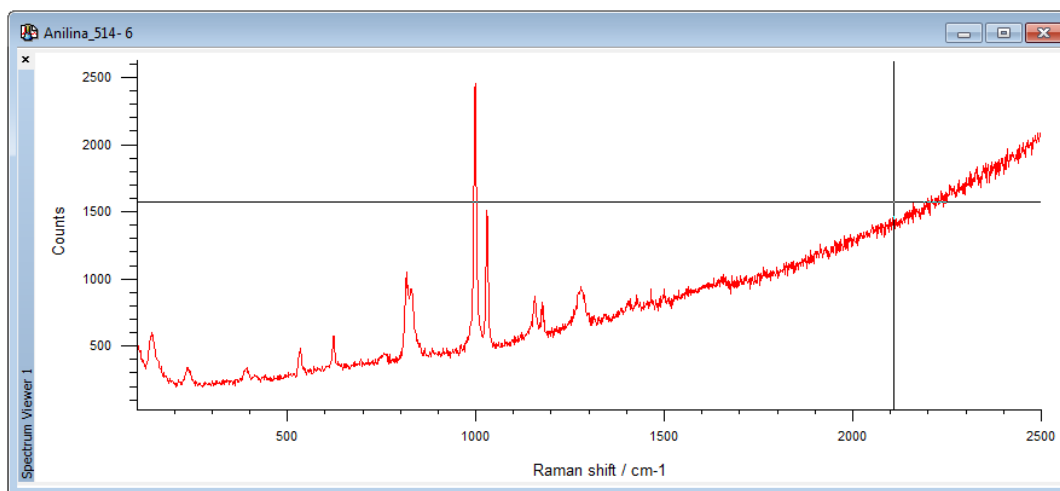


Figura 40. Espectro Raman después de remover el pico de rayos cósmicos.

5.3 Exportar y convertir datos

Al finalizar las mediciones se deben convertir los datos de los espectros del formato **.wxd** al formato **.txt** para poderlos graficar. Para esto es necesario abrir el programa **“Batch Converter”** con el acceso directo que está en el escritorio como se muestra en la figura 41.

Al abrir el programa **“Batch Converter”** aparecerá la ventana **“WiRE2 Batch File Converter”** que se muestra en la figura 42. Hacer click en el botón **“Browse”** etiquetado con el inciso **“a”** para buscar la carpeta con los archivos a convertir. Posteriormente aparecerá la ventana marcada con el inciso **“b”**, en este menú se debe seleccionar el directorio marcado deseado que contiene los archivos.

Activar las opciones **“All files”** y **“Use Source Directory”** indicados con los incisos **“c”** y **“d”** respectivamente para desplegar todos los archivos de la carpeta y guardar los nuevos archivos que se convertirán a extensión **“.txt”**, en la misma carpeta. Hacer click en el botón **“Go”** etiquetado con el inciso **“e”** y hacer click en la opción **“Si”** de la ventana marcada con el inciso **“f”** de la figura 42.

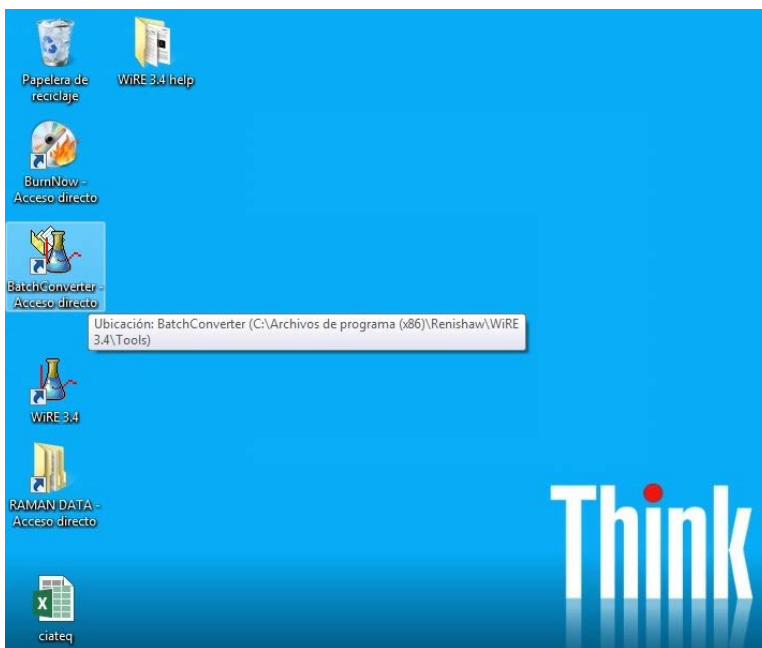


Figura 41. Acceso directo del programa **“Batch Converter”**.

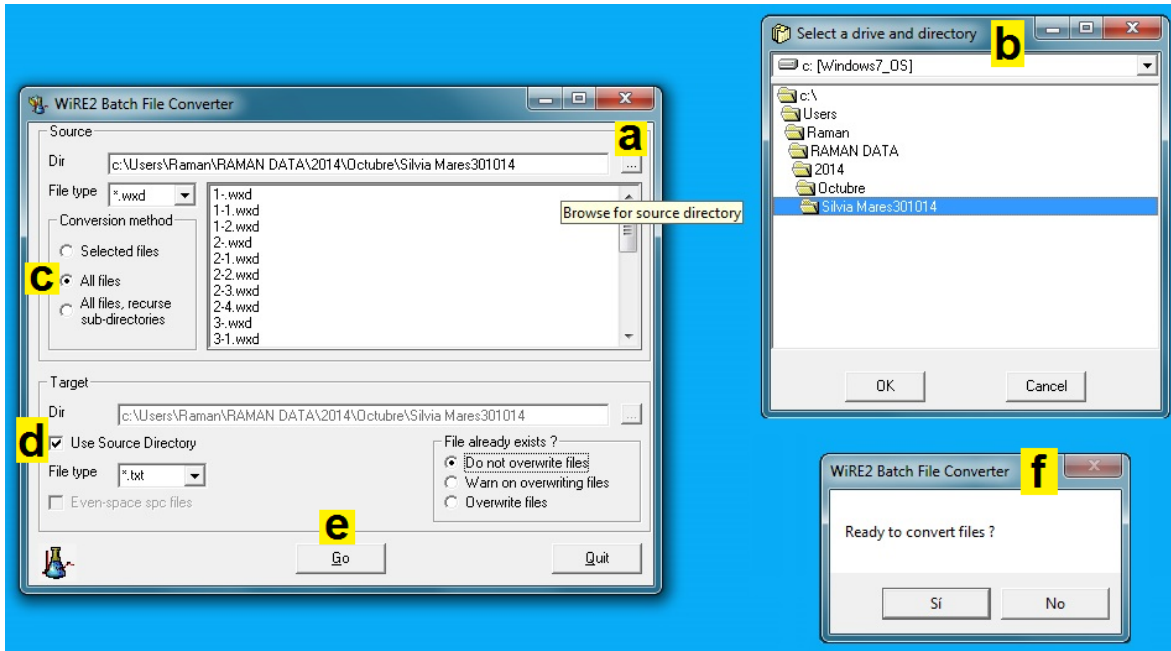


Figura 42. Ventanas del programa “Batch Converter” para convertir archivos.

Consultar en la carpeta “Raman Data” por medio del acceso directo que esta en el escritorio, para verificar que aparezca el directorio del año en curso con las carpetas de cada mes y dentro de estas, localizar la carpeta personal del usuario contenga los pares de archivos “.wxd” y “.txt” como se muestra en la figura 43.

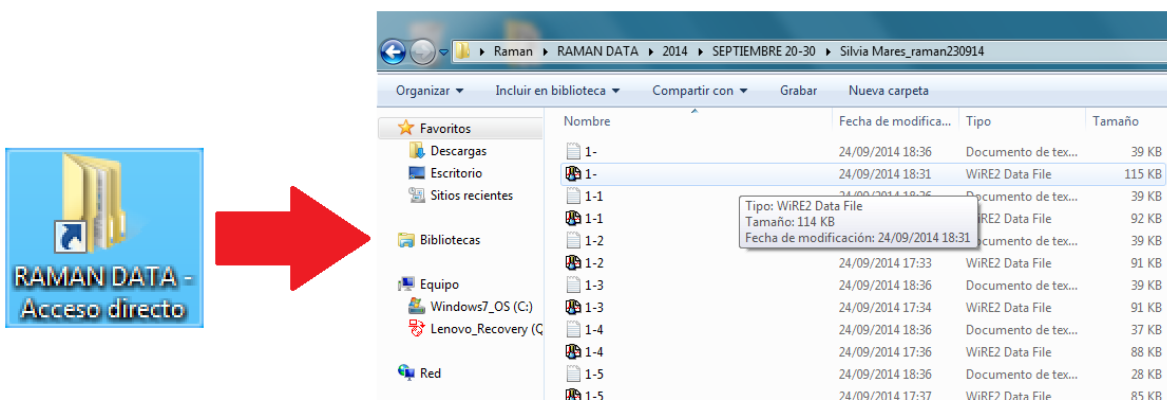


Figura 43. Carpeta del usuario con los pares de archivos “.wxe” y “.txt”.

Para extraer los archivos de la computadora se debe quemar un disco compacto con el programa "**Burn Now**" con el acceso directo que está en el escritorio.

6.0 FINALIZAR SESIÓN

1. Al finalizar la sesión, se debe cerrar el programa "**WiRE 3.4**".
2. Apagar los láseres girando hacia la izquierda la llave de cada uno y para el láser verde, esperar que el ventilador se detenga para poder apagar el interruptor.
3. Apagar únicamente el microscopio y posteriormente la computadora.

Bibliografía:

1. Raman C.V., **1921**. *Nature*, **108**, 367.
2. Ramanathan K.R., **1923**. *Proc. Ind. Assoc. Cult. IV Sci.*, **8**, 181.
3. Raman C.V., Krishnan K.S., **1928**. *Nature*, **121**, 619.
4. Landsberg G.R., Mandelstam L., 1928. *Rus. J. Phys. Chem.*, **60**, 335.
5. *Nature*, **1930**. **126**, 898.
6. Smith E. and Dent G. **2005** "Modern Raman Spectroscopy – A practical approach" John Wiley & Sons England.
7. Nakamoto K. **1986**. "**Infrared and Raman Spectra**", Wiley-Interscience, New York, 4^aed.
8. Skoog D. A., Holler F. J., Nieman T. A. **2001** "Principios de análisis instrumental" 5ta Edición Ed. Mc Graw Hill España.
9. Willard H. H. **1971**. "Métodos instrumentales de análisis" 4ta edición Editorial Continental, México.