

# LA DIFUSION DE LUZ Y SU APLICACIÓN AL ESTUDIO DE MACROMOLÉCULAS

**Luis Carlos Cesteros Iturbe**

Grupo de Nuevos Materiales. Departamento de Química Física. Facultad de Ciencias. Campus de Leioa. Universidad del País Vasco.

La difusión de luz se encuentra entre las técnicas experimentales más versátiles en el estudio de las propiedades de macromoléculas. Esta técnica encuentra su origen en la interacción radiación electromagnética-materia. La materia está constituida por partículas cargadas eléctricamente (electrones y protones) que incluso en ausencia de todo proceso de absorción de la radiación incidente, van a responder a la influencia del campo electromagnético de la misma. Esto genera una oscilación de la densidad electrónica de sus átomos o moléculas a la frecuencia de la onda incidente. Estas partículas pueden entonces asimilarse a dipolos eléctricos oscilantes, y como tales emitirán radiación electromagnética en todas las direcciones del espacio. Este es justamente el fenómeno de difusión de la luz. Manifestaciones cotidianas de este fenómeno son el color azul del cielo, la percepción de los humos o de las partículas de polvo moviéndose a través de un rayo de sol.

Se conocen diversas formas de este fenómeno. Así cuando la radiación difundida presenta una frecuencia similar a la incidente, y por tanto no hay intercambio de energía durante el proceso, la difusión se denomina *elástica*. Ella será el objetivo fundamental de este tema. En otros casos la radiación difundida presenta una frecuencia distinta de la radiación incidente, intercambiándose energía entre la radiación y las partículas difusoras del medio; la difusión se denomina entonces *inelástica*. El ejemplo más característico es la difusión Raman, que permite obtener información espectroscópica sobre los movimientos rotacionales y vibracionales de las partículas difusoras. En el caso de las disoluciones, el movimiento browniano de las partículas del soluto puede originar pequeños desplazamientos de frecuencia por efecto Doppler que ensanchan el espectro de la luz difundida con respecto a la incidente. A este fenómeno se le denomina difusión *cuasielástica*, y se está convirtiendo en el método más utilizado para determinar coeficientes de difusión de traslación de macromoléculas en disolución, se tratará someramente al final de este tema.

La intensidad de la luz difundida elásticamente por un determinado material dependerá, necesariamente, del número de moléculas por unidad de volumen (concentración) y de su polarizabilidad (capacidad de sus moléculas para seguir la perturbación del campo electromagnético), que está relacionada con su índice de refracción. El sistema más sencillo de estudiar mediante difusión elástica es un gas ideal: sus partículas no interaccionan entre sí, se mueven al azar y a grandes distancias unas de otras. Admitiendo que su tamaño es pequeño en relación con la longitud de onda de la luz incidente, se puede considerar que se comportan como dipolos puntuales y que la intensidad de la luz difundida por el sistema es suma de las intensidades difundidas por cada partícula individual. Lord Rayleigh demostró que la intensidad difundida total  $I$ , cuando se utiliza luz incidente no polarizada, viene dada por:

$$I = \frac{2p^2 M I_o}{r^2 I_o^4 N_A} \left( \frac{dn}{dc} \right)^2 (1 + \cos^2 \mathbf{q}) \quad (1)$$

ecuación en la que  $M$  es el peso molecular de las moléculas del gas,  $N_A$  el número de Avogadro,  $dn/dc$  la variación del índice de refracción del gas con su concentración,  $\lambda_0$  es la longitud de onda de la luz incidente,  $I_0$  es la intensidad del haz de luz incidente,  $r$  es la distancia de observación y  $\theta$  es el ángulo al que se ha efectuado la observación. Un aspecto importante de esta ecuación es que implica una dependencia angular de la intensidad difundida por las partículas.

En la práctica se suele preferir expresar la intensidad difundida ( $I$ ) de forma que sea independiente de las condiciones experimentales, tales como la distancia de observación ( $r$ ) y la intensidad del haz incidente ( $I_0$ ). Para ello se utiliza en los experimentos de difusión de luz la llamada *relación Rayleigh* :

$$R_q = \frac{I r^2}{I_o} \quad (2)$$

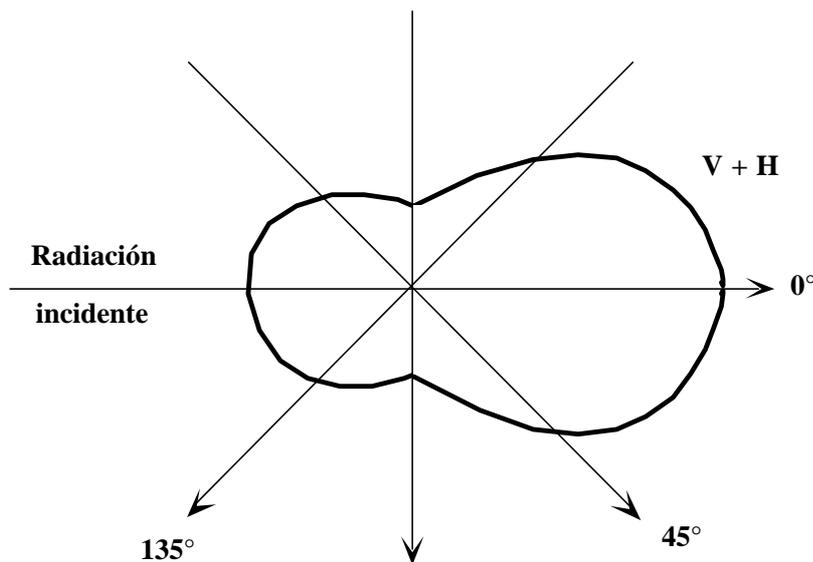
de esta forma, la ecuación [1] se transforma en:

$$R_q = \frac{2p^2 M c}{I_o^4 N_A} \left( \frac{dn}{dc} \right)^2 (1 + \cos^2 \mathbf{q}) \quad (3)$$

Para sistemas más concentrados, como es el caso de los gases densos o los líquidos, la situación se complica dado que las partículas del medio difusor no se pueden ya considerar como independientes. En los líquidos puros son fluctuaciones locales de densidad las responsables de que en ellos se pueda observar este fenómeno. Con la ayuda de la teoría de fluctuaciones puede obtenerse la siguiente expresión para la relación de Rayleigh de un líquido:

$$R_q = \frac{\rho^2 k T r^2 b}{2 I_o^4} \left( \frac{\partial \epsilon}{\partial r} \right)_T (1 + \cos^2 q) \quad (4)$$

en la que  $\rho$  es la densidad del líquido,  $\epsilon$  su constante dieléctrica,  $\beta$  su coeficiente de compresibilidad,  $k$  la constante de Boltzmann y  $T$  la temperatura absoluta.



**Figura 1.** Distribución angular de la intensidad de la luz difundida por una partícula de dimensiones comparables a las de la longitud de onda de la radiación incidente.

El caso más interesante para el estudio de macromoléculas va a ser el de las disoluciones. En una disolución habrá que tener en cuenta no sólo las fluctuaciones de densidad, sino también las fluctuaciones de concentración. En disoluciones diluidas se puede considerar que las fluctuaciones de densidad son esencialmente similares a las existentes en el disolvente puro. De esta forma el exceso de intensidad difundida por la disolución con relación al disolvente puro tiene su origen únicamente en las fluctuaciones de concentración de la misma. Podemos definir entonces la relación Rayleigh del soluto  $\Delta R_\theta$ , como:

$$\Delta R_{\theta} = R_{\theta, \text{ disolución }} - R_{\theta, \text{ disolvente }} \quad (5)$$

La teoría de permite llegar a la siguiente expresión para la relación de Rayleigh del soluto:

$$\Delta R_q = \frac{2p^2 n_1^2 k T \bar{V}_1 c}{I_o^4} \frac{(dn/dc)^2}{(\partial \mu_1 / \partial c)_T} (1 + \cos^2 q) \quad (6)$$

en esta expresión  $n_1$  es el índice de refracción del disolvente,  $\bar{V}_1$  su volumen molar parcial,  $(dn/dc)$  es el incremento específico del índice de refracción de la disolución con respecto a su concentración  $c$ , y  $\mu_1$  es el potencial químico del disolvente. Como sabemos existe una relación termodinámica entre el potencial químico del disolvente y la presión osmótica de la disolución, y a su vez la presión osmótica se puede expresar como una serie de potencias de la concentración en lo que se conoce como desarrollo del virial. Se puede así transformar la ecuación [6] en la expresión más útil en la práctica:

$$\frac{K c (1 + \cos^2 q)}{\Delta R_q} = \frac{1}{M} + 2 A_2 c + 3 A_3 c^2 + \dots \quad (7)$$

donde  $M$  es el peso molecular del soluto;  $A_2, A_3, \dots$ , son el segundo, tercer, ..., coeficientes del virial y  $K$  es una constante que engloba las características ópticas del sistema:

$$K = \frac{2p^2 n_1^2}{I_o^4 N_A} \left( \frac{dn}{dc} \right)^2 \quad (8)$$

La ecuación [7] es la expresión general para la difusión Rayleigh de una disolución real de partículas cuyas dimensiones son mucho más pequeñas que las de la longitud de onda de la radiación incidente, cuando se utiliza luz no polarizada. Obsérvese que en una disolución diluida (en la que se pueden despreciar los términos del desarrollo del virial superiores al segundo) una representación del primer término frente a la concentración nos daría una recta, de cuya ordenada en el origen se obtendría el peso molecular  $M$  del soluto; y  $A_2$  de su pendiente. Desgraciadamente, en las disoluciones de polímeros se presentan frecuentemente dos particularidades, como son la

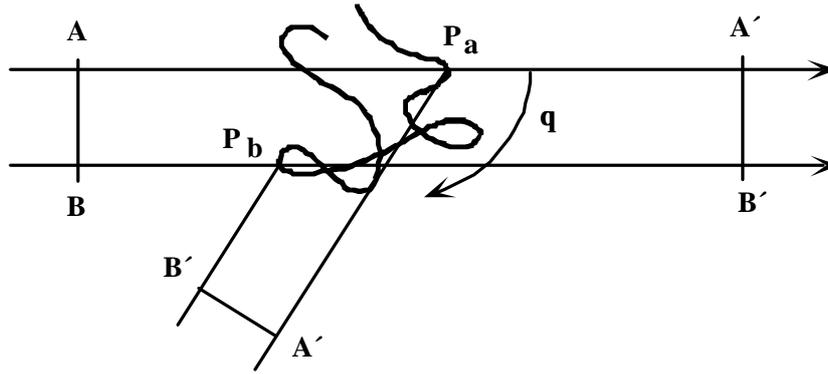
polidispersidad y el tamaño de las partículas del soluto con respecto a la longitud de onda de la radiación incidente, que no se tienen en cuenta en la ecuación [7].

La mayor parte de las muestras macromoleculares presentan, por las características de su síntesis, una distribución de pesos moleculares. En una disolución de partículas de este tipo cada componente contribuirá a la relación de Rayleigh total del soluto  $DR_q$ , que será la suma de todas las contribuciones particulares. De esta forma, al aplicar la ecuación [7] obtendremos en realidad un peso molecular promedio. No es difícil demostrar que para disoluciones de polímeros polidispersos este promedio se corresponde con el llamado peso molecular promedio en peso,  $M_w$ , que es la magnitud que permite determinar la técnica de la difusión de luz. De forma que para este tipo de sistemas debemos escribir esta ecuación en la forma:

$$\frac{K c (1 + \cos^2 \mathbf{q})}{\Delta R_q} = \frac{1}{M_w} + 2 A_2 c + \dots \quad (9)$$

La segunda particularidad es más difícil de tratar. La ecuación [9] sólo puede aplicarse a partículas cuyo tamaño es muy inferior al de la longitud de onda de la radiación incidente (difusión Rayleigh), puesto que cuando las dimensiones de las partículas son superiores a  $\lambda_0/20$ , caso habitual en macromoléculas, no se puede seguir considerando que éstas se comportan como dipolos puntuales. En esta situación se puede considerar que la macromolécula está constituida por un conjunto de dipolos puntuales, cuya emisión dará lugar a fenómenos de interferencia destructiva que dependen del ángulo de observación.

Como se muestra en la Figura 1 se produce una disminución de la intensidad difundida por la disolución conforme aumenta el ángulo de observación, puesto que las diferencias de camino óptico de los rayos difundidos por las diferentes partes de la macromolécula aumentan conforme éste lo hace (véase la Figura 2). Por el contrario, no se producen desfases en la dirección de propagación ( $\theta = 0$ ), generándose así una disimetría angular. Esta es la denominada difusión Debye. En estas condiciones, si queremos obtener la información correspondiente al peso molecular y coeficiente del virial del soluto en la disolución mediante la ecuación [9], va a ser necesario extrapolar a ángulo nulo los valores experimentales de  $Kc(1+\cos^2\theta)/\Delta R_\theta$ .



**Figura 2** Interferencias intramoleculares de la luz difundida por diferentes puntos de una cadena macromolecular para ángulos de observación distintos de cero.

El efecto de la disimetría angular sobre la intensidad de luz difundida se describe mediante la llamada función de forma de la macromolécula  $P(\theta)$ , que se define como el cociente entre la intensidad de luz difundida realmente por la disolución en una dirección dada y la intensidad que se observaría en ausencia de las interferencias destructivas intermoleculares (ecuación [9]):

$$P(\mathbf{q}) = \frac{\Delta R_{\mathbf{q}}(\text{experimental})}{\Delta R_{\mathbf{q}}(\text{sin interferencias})} \quad (10)$$

La función  $P(\theta)$  es igual a 1 cuando  $\theta = 0$ , y disminuye conforme aumenta el ángulo de observación para moléculas de tamaño comparable a la longitud de onda de la radiación incidente. Teniendo en cuenta este factor de corrección, sustituyendo  $\Delta R_{\theta}$  (sin interferencias) dado por la ecuación [10] en la ecuación [9] tenemos:

$$\frac{Kc(1 + \cos^2 \mathbf{q})}{\Delta R_{\mathbf{q}}} = \left( \frac{1}{M_w} + 2A_2c + \dots \right) \frac{1}{P(\mathbf{q})} \quad (11)$$

La función  $P(\theta)$  se puede calcular teóricamente para diferentes formas de las partículas (esferas, ovillos estadísticos, bastones, discos, etc.). Para partículas no excesivamente grandes esta función adopta, independientemente de su forma, la expresión general:

$$\frac{1}{P(\mathbf{q})} = 1 + \frac{16\mathbf{p}^2 n^2}{3\mathbf{I}_o^2} \langle R_G^2 \rangle \text{sen}^2 \frac{\mathbf{q}}{2} \quad (12)$$

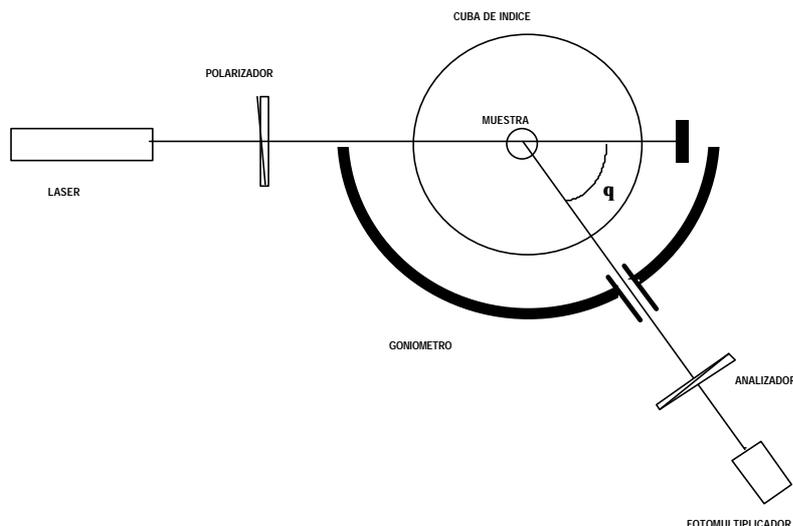
donde  $\langle R_G^2 \rangle$  es el radio de giro cuadrático medio de la partícula.

Finalmente la ecuación general que describe la distribución de la intensidad de luz difundida, en función de la concentración y del ángulo de observación, por una disolución de partículas de tamaño comparable a la longitud de onda de la radiación incidente viene dada por:

$$\frac{Kc(1+\cos^2 \mathbf{q})}{\Delta R_{\mathbf{q}}} = \frac{1}{M_w} + \frac{16\mathbf{p}^2 n^2}{3\mathbf{I}_o^2 M_w} \langle R_G^2 \rangle \text{sen}^2 \frac{\mathbf{q}}{2} + 2A_2 c + \dots \quad (13)$$

En consecuencia, si deseamos obtener mediante difusión de luz las tres magnitudes básicas  $M_w$ ,  $A_2$  y  $\langle R_G^2 \rangle$  es necesario efectuar una doble extrapolación. Si extrapolamos los valores de  $Kc(1+\cos^2 \theta)/\Delta R_{\theta}$  a concentración nula, según la ecuación [13] obtendremos una recta de cuya ordenada en el origen podremos obtener  $M_w$  y de cuya pendiente obtendremos  $\langle R_G^2 \rangle$ . Si extrapolamos a ángulo de observación cero entonces  $P(\theta)$  es igual a la unidad y la ecuación [13] se transforma en la ecuación [9], lo que nos permite obtener de nuevo  $M_w$  y  $A_2$ .

Veamos a continuación como se efectúa en la práctica un experimento de difusión de luz y como se realizan las extrapolaciones que acabamos de indicar. En la Figura 3 se muestra un esquema sencillo de un dispositivo experimental de medida de intensidades difundidas por una disolución. Un rayo procedente de una fuente de luz, que hoy en día es habitualmente un láser de He-Ne ( $\lambda_0 = 632,8$  nm), penetra sobre un recipiente lleno de un disolvente de índice de refracción próximo al del vidrio (lo que evita reflexiones en las interfases), e incide sobre una célula de vidrio que contiene la muestra. Rodeando al conjunto existe una ventana de observación que con la ayuda de un goniómetro puede situarse a ángulos precisos alrededor de ella. Esta ventana conduce a un fotomultiplicador que nos da en un voltímetro la medida de la intensidad difundida por la muestra al ángulo seleccionado.



**Figura 3.** Esquema de un dispositivo experimental destinado a la determinación de intensidades de luz difundidas por líquidos y disoluciones a distintos ángulos de observación (fotogoniodifusómetro).

Es preciso hacer aquí dos consideraciones que son de gran importancia en la medida. La primera de ellas es que las muestras que se van a estudiar deben estar totalmente exentas de polvo, pues éste difunde notablemente, perturbando tanto los valores de la intensidad como la repartición angular de la misma. Para ello será necesario centrifugar las muestras durante dos horas a 14.000 r.p.m., o someterlas a ultrafiltración. Por otro lado, para obtener un buen contraste en la medida, el disolvente y el polímero que se utilicen deben tener índices de refracción tan diferentes como sea posible; pues la magnitud del fenómeno de difusión depende del cuadrado del  $dn/dc$ . De esta forma podremos determinar en unidades arbitrarias las intensidades de luz difundida por nuestra disolución de polímero a diferentes ángulos de observación y a diferentes concentraciones.

Si volvemos a la ecuación [13], vemos como la magnitud que en ella se utiliza es la relación de Rayleigh del soluto ( $\Delta R_{\theta}$ ). Para determinar esta relación, las intensidades difundidas por el disolvente y por las disoluciones (en unidades arbitrarias) se comparan con la intensidad difundida por un líquido de referencia cuya relación de Rayleigh es conocida (el más utilizado es el benceno). Como las intensidades difundidas por el soluto  $\Delta I_{\theta}$ , vienen dadas por la diferencia :

$\Delta I_\theta = I_{\text{disolución}} - I_{\text{disolvente}}$ . Su relación de Rayleigh, conocida la intensidad dada por la referencia a  $90^\circ$ , viene dada por:

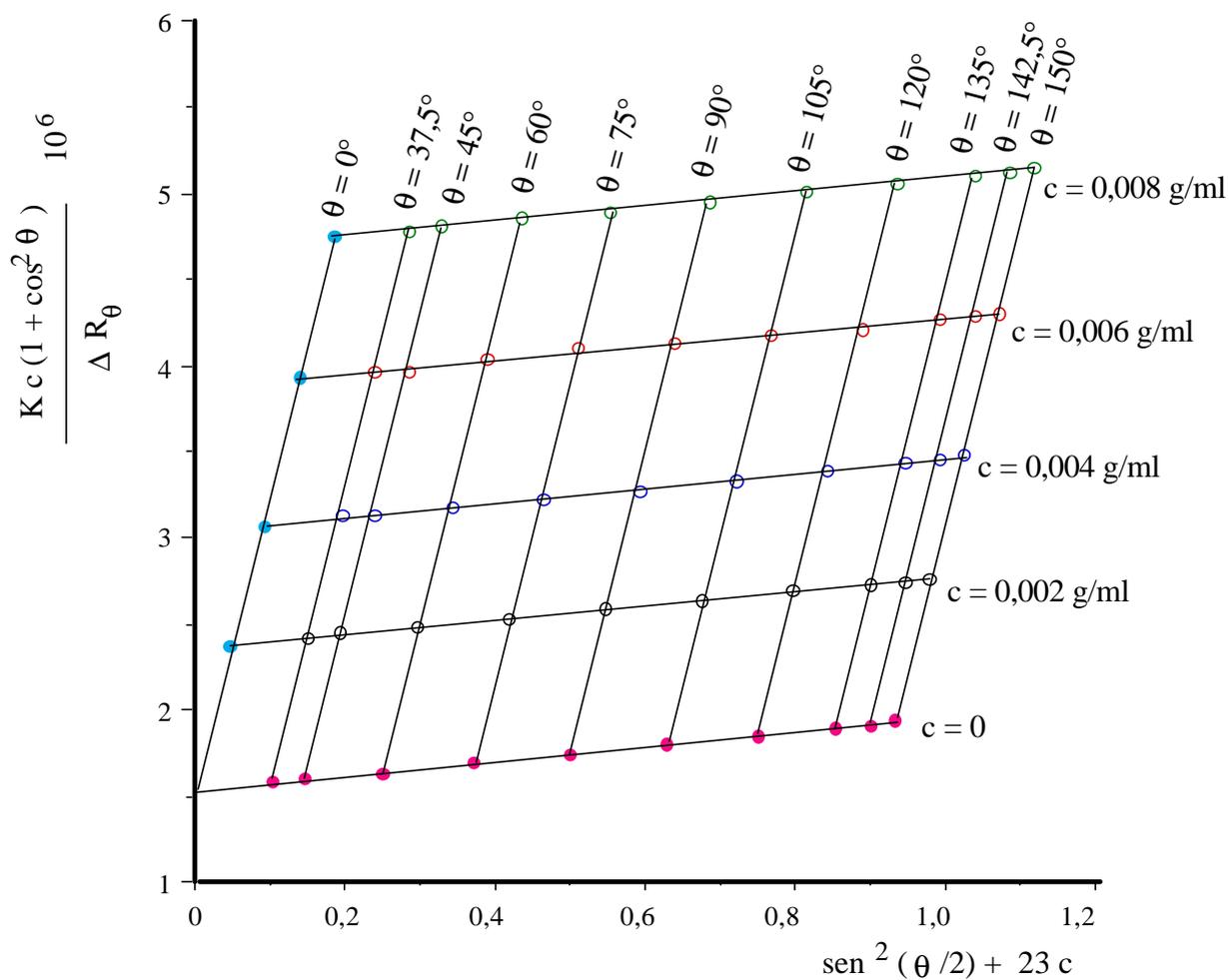
$$\frac{\Delta R_q}{R_{ref}(90^\circ)} = \frac{\Delta I_q}{I_{ref}(90^\circ)} \frac{\text{sen } q}{n_{ref}^2} \quad (14)$$

El primer término de la ecuación [13], contiene además la constante K, cuyo valor (ecuación [8]) incluye el índice de refracción del disolvente, deberá medirse a la longitud de onda de la luz incidente con un refractómetro Abbé, y el incremento específico del índice de refracción de la disolución  $dn/dc$ , que deberá medirse, en iguales condiciones, mediante un refractómetro diferencial. Con estos datos podemos ya calcular el primer término de la ecuación [13] a diferentes concentraciones y ángulos  $\theta$  que nos permitirá efectuar la extrapolación. Para ello se utiliza el llamado diagrama de Zimm, que es una representación de cada valor de  $Kc(1+\cos^2\theta)/\Delta R_\theta$  correspondiente a un ángulo  $\theta$ , y a una concentración  $c$ , frente a la variable combinada  $\text{sen}^2(\theta/2) + k'c$ , siendo  $k'$  una constante arbitraria que se escoge de forma que el valor máximo de  $\text{sen}^2(\theta/2)$  sea de una magnitud similar a  $k'c$ , lo que permite una clara separación de los puntos.

En la Figura 4 puede verse un diagrama de Zimm para una muestra de poli(vinil carbazol) en tetrahidrofurano, donde se han efectuado las extrapolaciones a concentración y a ángulo nulo a partir de las medidas de la intensidad difundida a diez ángulos distintos de observación por cuatro disoluciones de diferente concentración; así como la información obtenida para el mismo. Teniendo en cuenta los errores asociados con la determinación del  $dn/dc$  y de las intensidades difundidas, los pesos moleculares se obtienen con una precisión del 5%, mientras que la precisión en la determinación del radio de giro medio y del segundo coeficiente del virial oscila entre el 5 y 12% según los casos. En principio, la técnica de la difusión de luz abarca el intervalo de pesos moleculares situado entre  $5 \cdot 10^3$  y  $10^7$  g/mol y, puesto que no se recurre a ningún modelo molecular, permite determinar valores absolutos de  $M_w$ , mientras que en otras técnicas de caracterización, como la viscosimetría o la cromatografía de exclusión molecular, la determinación de pesos moleculares necesita de un calibrado previo.

Analizaremos a continuación algunos casos particulares a los que se puede aplicar ventajosamente esta técnica, tales como sistemas agregados, disoluciones en mezclas de disolventes, disoluciones con mezclas de polímeros, copolímeros, polielectrolitos y biopolímeros.

En general cualquier *proceso de agregación* da lugar a la formación de partículas compactas y por tanto a una modificación del peso molecular del soluto, de su forma, de sus dimensiones y de sus interacciones con el disolvente. Todo ello origina modificaciones en la forma de los diagramas de Zimm que permiten obtener información de este tipo de procesos. Un buen ejemplo de estas posibilidades lo encontramos en el estudio de formación de micelas.



$M_W = 659.000 \text{ g/mol}$   
 $A_2 = 2.10^{-4} \text{ cm}^3 \text{ mol g}^{-2}$   
 $R_G = 328 \text{ \AA}$

**Figura 4.** Diagrama de Zimm obtenido para una muestra de polivinilcarbazol en tetrahidrofurano a 25 °C.

En un sistema de este tipo, se produce un equilibrio entre las micelas, con un número medio de agregación  $n$ , y las moléculas aisladas con una concentración igual a la concentración micelar crítica (c.m.c.). Por debajo de la c.m.c. la disolución no contiene más que moléculas aisladas que van a difundir mucho menos que las micelas, de forma que si seguimos la variación de la intensidad difundida por la disolución en función de la concentración (o de la temperatura), esta presentará una brusca variación de su valor cuando se alcanza la c.m.c. A esta concentración se puede asimilar la disolución al disolvente y determinar así la masa molecular de las micelas, y por tanto, su número de agregación.

Otros sistemas de gran interés en su estudio por difusión de luz son las disoluciones de polímeros en mezclas binarias de disolventes. En esta situación es habitual que uno de los disolventes solvate preferencialmente al polímero. Cuando esto sucede, los valores de la intensidad difundida por el polímero se ven afectados por las variaciones locales del índice de refracción debidas al fenómeno de solvatación preferencial. Esto da lugar a que se obtengan pesos moleculares aparentes para el polímero al efectuar las extrapolaciones. Para estos sistemas la aplicación, tanto de la teoría molecular como de la teoría de fluctuaciones, conduce a una relación general para la difusión que contiene un término suplementario en la expresión del  $dn/dc$ :

$$\left[ \frac{K'c}{\Delta R_q} \right]_{\substack{c \rightarrow 0 \\ q \rightarrow 0}} = \frac{1}{M_w} \frac{1}{\left[ \left( \frac{dn}{dc} \right) + \lambda_1 \left( \frac{dn}{du_1} \right) \right]^2} \quad (15)$$

donde  $K'$  es igual a la constante  $K$  sin el  $dn/dc$  (véase la ecuación [8]);  $dn/du_1$  es la variación del índice de refracción de la mezcla binaria de disolventes con su composición (expresada como fracción en volumen de uno de sus componentes) y  $\lambda_1$  es el llamado coeficiente de solvatación preferencial, que expresa el volumen de disolvente 1 en exceso por gramo de polímero. Si no tenemos en cuenta esta corrección y aplicamos la ecuación general de la difusión de luz (ecuación [13]) se obtiene un peso molecular aparente  $M_w^*$ . La comparación entre el peso molecular verdadero (obtenido en un disolvente único) y el aparente permite obtener el coeficiente  $\lambda_1$  y conocer el proceso de solvatación de la disolución. Estos estudios permiten obtener información muy valiosa en lo que respecta a las interacciones de las macromoléculas con moléculas pequeñas.

Por otro lado, se puede demostrar que el término  $(dn/dc) + \lambda_1(dn/du_1)$  no es otra cosa que el incremento específico del índice de refracción de la disolución a potencial químico

constante. De esta forma se puede determinar pesos moleculares exactos en mezclas de disolventes si se mide el  $dn/dc$  del sistema después de someterlo a un proceso de equilibrio de diálisis entre la disolución y la mezcla de disolventes. Esto tiene especial importancia en el estudio de polielectrolitos y biopolímeros. Estas moléculas contiene grupos ionizables, de forma que se producen interacciones electrostáticas a larga distancia que originan fuertes correlaciones de posición entre las partículas, que distorsionan la intensidad de luz difundida y su distribución angular. Para obtener información sobre las moléculas individuales suele ser necesario apantallar estas interacciones mediante la adición de una sal (habitualmente NaCl 0,1 M). En estas condiciones nos encontramos en presencia de un sistema ternario que se rige por la ecuación [15], de forma que para obtener pesos moleculares correctos será preciso determinar los valores del  $dn/dc$  mediante equilibrio de diálisis.

Otro caso particular de interés es el estudio de disoluciones de copolímeros. En este caso los dos tipos de monómeros se van a comportar como centros difusores de distinta polarizabilidad, con distintos valores de su  $dn/dc$ . Si es  $v$  el valor experimental del  $dn/dc$  para el copolímero, podemos considerar que será válida la hipótesis de aditividad de los  $dn/dc$  de sus componentes, de forma que si es  $w_a$  la fracción en peso de uno de los componentes podemos escribir:

$$v = w_a v_a + (1-w_a) v_b \quad (16)$$

Ahora bien, el peso molecular obtenido utilizando la ecuación general de difusión (ecuación [13]), con el valor de  $v$ , es en realidad un valor aparente  $M^*$ , pues en un copolímero existe una doble polidispersidad, la de pesos moleculares y la de su composición, que hace que en realidad exista una distribución de valores de  $w_a$ . La relación entre el peso molecular verdadero  $M_w$ , y el aparente  $M^*$ , viene dada por:

$$M^* = M_w + 2P \frac{(n_A - n_B)}{n} + Q \left( \frac{(n_A - n_B)}{n} \right)^2 \quad (17)$$

donde P y Q son parámetros relacionados con la distribución de composición alrededor del valor medio de  $w_a$ . Pues bien, en la ecuación [17] existen tres parámetros desconocidos,  $M_w$ , P y Q, por lo que será necesario determinar  $M^*$  en tres disolventes distintos para hallar  $M_w$ .

La difusión de luz tiene, así mismo, importantes aplicaciones en el estudio de mezclas de polímeros en disolución. En efecto, el análisis de disoluciones de mezclas de polímeros mediante la ecuación general [13], conduce de nuevo a la obtención de pesos moleculares aparentes, debido a la contribución a la intensidad difundida de las interacciones entre ambos polímeros. Su análisis permite el cálculo del parámetro de interacción entre los polímeros, magnitud que es de gran interés para la evaluación de la miscibilidad de ambos polímeros en estado sólido.

La difusión de luz tiene también importantes aplicaciones en estudios termodinámicos. En el caso de las mezclas binarias de líquidos es posible obtener los coeficientes de actividad de los líquidos en la mezcla y sus propiedades termodinámicas de exceso. Otra posibilidad de gran interés es la determinación de diagramas de fase en disoluciones, y más concretamente de la curva de equilibrio metaestable del sistema (espinodal). En efecto, cuando una disolución se aproxima a las condiciones de separación de fases aumentan enormemente las fluctuaciones de concentración en el sistema, y por tanto también lo hace la intensidad difundida. Termodinámicamente la condición de metaestabilidad del sistema se corresponde con la condición de que la relación de Rayleigh a ángulo de observación nulo se hace infinita. De esta forma la técnica de la difusión de luz permite obtener las concentraciones a las que se alcanza la curva espinodal representando  $(1/\Delta R_\theta)_{\theta \rightarrow 0}$  frente a la concentración y extrapolando a ordenada nula.

Un campo que ha significado un nuevo impulso para la técnica de la difusión de luz clásica es su utilización como detector adicional en cromatografía de exclusión molecular (SEC). Recuérdese que en nuestros días la SEC es la técnica más empleada, por su versatilidad y velocidad, para la caracterización de pesos moleculares y de distribución de peso molecular en polímeros. Sin embargo, tiene la limitación de que se trata de una técnica de caracterización no absoluta. Es decir, se necesita disponer de patrones de calibrado de peso molecular perfectamente conocido (la caracterización de estos patrones se realiza precisamente mediante difusión de luz clásica). Este problema se puede solventar acoplado al cromatógrafo SEC un detector de difusión de luz láser a ángulo bajo (LALLS), que permite determinar pesos moleculares y polidispersidades de polímeros sin necesidad de calibrar las columnas. Para ello, únicamente resulta necesario conocer el  $dn/dc$  del polímero que se quiere caracterizar en el eluyente que emplea el equipo cromatográfico.

Hemos visto que en la práctica habitual de estudio de disoluciones de polímeros mediante difusión de luz se determina el cociente  $Kc(1+\cos^2\theta)/\Delta R_\theta$  en función de la concentración

y del ángulo de observación, y obtener el peso molecular mediante el método de doble extrapolación conocido como diagrama de Zimm. Pues bien, en el caso de los detectores que se emplean en el acoplamiento GPC-LALLS, se trabaja a ángulos de difusión extremadamente bajos, para los que se puede considerar con muy buena aproximación que  $1/P(\theta)$  es igual a 1, de forma que la ecuación [2] se simplifica a:

$$\frac{K c (1 + \cos^2 \mathbf{q})}{\Delta R_q} = \frac{1}{M_w} + 2 A_2 c \quad (18)$$

teniendo en cuenta que trabajamos a ángulo fijo, podemos englobar el factor coseno en la constante K:

$$\frac{K c}{\Delta R_q} = \frac{1}{M_w} + 2 A_2 c \quad (19)$$

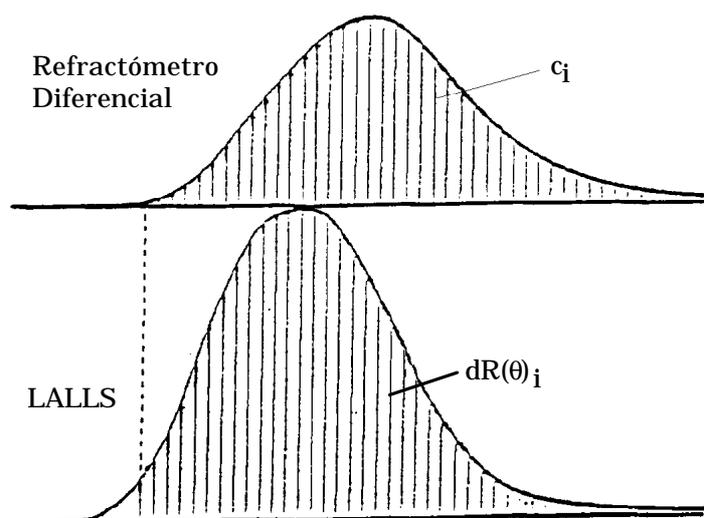
de donde:

$$M_w = \frac{1}{\frac{Kc}{\Delta R_q} - 2 A_2 c} \quad (20)$$

Pero además, cuando se usa un detector LALLS, la ecuación se simplifica aún más. En efecto, las concentraciones de muestra que se emplean en experimentos cromatográficos son extremadamente bajas, de forma que el término  $2A_2c$  es despreciable en la mayor parte de los casos, por lo que podemos escribir:

$$M_w = \frac{1}{\frac{Kc}{\Delta R_q}} \quad (21)$$

de esta forma, podemos calcular el peso molecular de la muestra, con una sola medida, si se conoce el  $dn/dc$  del sistema polímero-disolvente y la concentración de polímero inyectado.



**Figura 5.** Cromatogramas correspondientes a un acoplamiento refractómetro diferencial-LALLS en una línea de GPC.

Los equipos LALLS están diseñados para trabajar con equipos de cromatografía líquida, típicamente utilizan un láser He-Ne de 5 mW de potencia a la longitud de onda de 632,8 nm y una célula de flujo de bajo volumen (30  $\mu$ L), con unas dimensiones aproximadas de 10 mm de longitud y 2 mm de diámetro. El volumen difusor es del orden de 0,1  $\mu$ L y el ángulo de observación es de  $5^\circ (\pm 0,5^\circ)$ . Conectados a un sistema de GPC permiten determinar la distribución de pesos moleculares de una muestra polidispersa, a partir de la señal LALLS obtenida en función del volumen de elución (Figura 5). Para ello se promedia el peso molecular obtenido para cada fracción de polímero eluido a intervalos regulares,  $M_i$ , dado por:

$$M_i = \frac{1}{\frac{Kc_i}{\Delta R_{iq}}} \quad (22)$$

El principal problema que se plantea es el cálculo de la concentración  $c_i$  de cada fracción eluida. Este valor se puede calcular a partir de la respuesta  $x_i$ , que origina en un detector secundario de concentración (usualmente un refractómetro diferencial, Figura 5) para esa fracción  $x_i$ , siempre que el detector esté convenientemente calibrado. Una forma alternativa es el cálculo de  $c_i$  a partir de la respuesta normalizada y de la masa total inyectada,  $m$ :

$$c_i = \frac{m x_i}{V_i \sum x_i} \quad (23)$$

donde  $V_i$  es el volumen de eluyente que pasa a través de la célula de muestra durante el intervalo  $i$ -ésimo y  $\sum x_i$  es la suma de todos los valores de  $x_i$  para el pico cromatográfico completo.

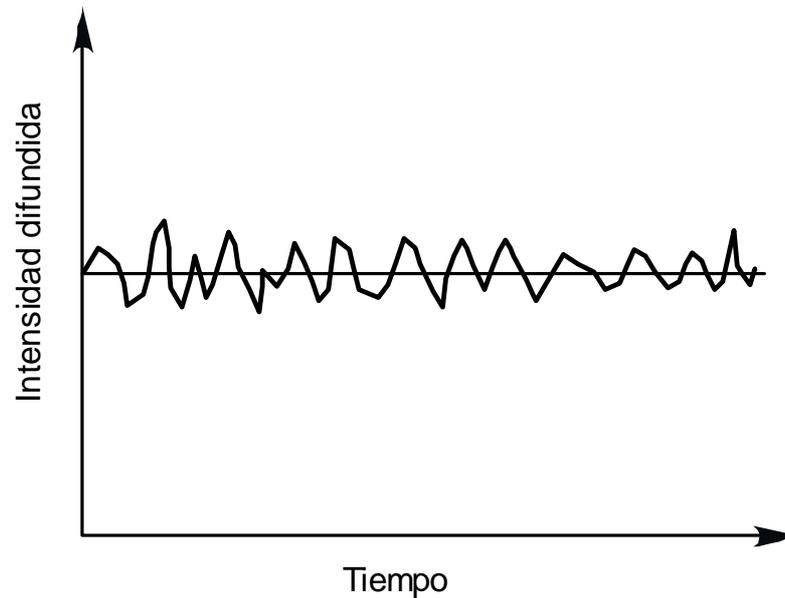
### **Difusión de luz cuasielástica**

En todo el análisis precedente se ha supuesto que la frecuencia de la luz difundida es idéntica a la de la luz incidente (difusión elástica o Rayleigh). Sin embargo, se conocen diversos procesos de difusión inelástica, el fenómeno de este tipo más conocido es la difusión Raman, que implica tránsitos en los niveles de energía vibro-rotacional de las moléculas presentes en el medio difusor. Pero existe otro fenómeno de interés en lo que respecta a la difusión inelástica en las disoluciones de polímeros, es el originado por el movimiento browniano de las moléculas del soluto en la disolución, que provoca un ligero ensanchamiento de las frecuencias difundidas de acuerdo con el efecto Doppler.

Igualmente, el movimiento browniano modifica las distancias que existen entre el detector y las partículas difusoras, que son ahora una función del tiempo. En consecuencia, la luz difundida puede interferir constructiva o destructivamente dependiendo de la distancia que viaja hasta el detector. El resultado es un valor medio de la intensidad difundida que llega al detector, sobre la que se superponen una serie de fluctuaciones.

Los tiempos de relajación de las fluctuaciones están relacionados con las constantes de difusión, y en consecuencia, con los tamaños de las partículas. Las partículas pequeñas, que se mueven más rápidamente presentan unos tiempos de relajación más cortos que las partículas grandes, que se mueven más lentamente. Los tiempos de relajación de las fluctuaciones se pueden determinar tanto en el dominio de las frecuencias (usando un analizador espectral) o en el dominio del tiempo (usando un correlador). A este fenómeno se le conoce como difusión de luz cuasielástica y su estudio se ha convertido en el método clásico de determinación de coeficientes de difusión translacional de macromoléculas en disolución. En esencia los equipos de difusión de luz cuasielástica tienen un diseño similar a los de difusión de luz clásica (Figura 3), simplemente el fotomultiplicador está conectado a un correlador numérico con un gran número de canales (por encima de 500) que permiten tomar medidas en tiempos muy cortos (inferiores a las centésimas de  $\mu$ s). Usualmente es necesario utilizar una fuente láser de potencia más elevada que la de los

difusores clásicos, y de nuevo, el polvo es un factor crítico en la preparación de las muestras, haciéndose necesaria su perfecta eliminación de acuerdo con los métodos ya mencionados. En cualquier caso, este tipo de instrumentos permiten efectuar medidas de difusión de luz clásica.



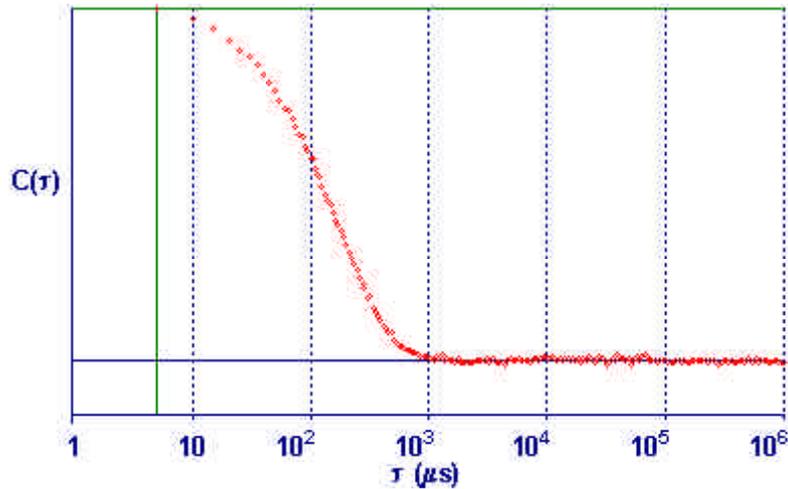
**Figura 6.** Fluctuaciones de intensidad de luz difundida sobre el valor promedio.

El concepto de correlación no es bastante familiar. Si dos variables o dos señales están correlacionadas, esto significa que el cambio de una de ellas se puede utilizar para predecir, con certeza, el cambio que se ha originado en la otra. La autocorrelación es justamente la media del producto de una variable  $A(t)$  por su valor  $A(t+\tau)$  tras un cierto tiempo de retardo  $\tau$ . De manera que la función de autocorrelación de la propiedad  $A$  medida durante un tiempo total  $T$  viene dada por:

$$\langle A(0) A(\mathbf{t}) \rangle = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T A(t) A(t+\mathbf{t}) dt \quad (24)$$

En la difusión de luz cuasielástica el tiempo total durante el que se efectúa la medida se divide en pequeños intervalos de tiempo, denominados periodos de relajación o tiempos de correlación. Estos intervalos de tiempo se eligen de manera que sean pequeños en comparación con el tiempo que necesita una fluctuación típica para volver (“relajarse”) hasta el valor medio. En estas condiciones, los valores estarán correlacionados entre sí, mientras que ésta se perderá si el intervalo de medida se hace grande en comparación con el periodo de las fluctuaciones. La

intensidad de luz difundida en cada uno de esos intervalos, representada por el número de pulsos eléctricos registrado durante cada periodo de relajación, fluctúa alrededor de un valor medio. La intensidad de la función de autocorrelación se forma promediando los productos de las intensidades en estos pequeños intervalos de tiempo como una función del tiempo entre los intervalos (periodos de relajación).



**Figura 7.** Función de autocorrelación para un látex de poliestireno constituido por partículas monodispersas.

Lo realmente interesante es conocer como varía la función de autocorrelación con el tiempo, lo que llamaremos  $C(\tau)$ , siendo  $\tau$  el periodo de relajación. Si denominamos  $B$  al valor medio de la señal de difusión, conforme mayor sea  $\tau$  hemos visto que la correlación se va perdiendo y el valor de  $C(\tau)$  se haría igual a  $B$ . Por el contrario, para valores de  $\tau$  pequeños la correlación sería alta. Entre estos dos límites, para una suspensión de partículas globulares monodispersas la función de correlación decae exponencialmente (Figura 7), y viene dada por:

$$C(\mathbf{t}) = A e^{-2\Gamma t} + B \quad (25)$$

expresión en la que  $A$  es una constante óptica que depende del diseño del instrumento, y  $\Gamma$  está relacionada con la relajación de las fluctuaciones mediante:

$$\Gamma = D \left[ \frac{2\mathbf{p} \cdot \mathbf{n}}{l_o} 2 \operatorname{sen}\left(\frac{\mathbf{q}}{2}\right) \right]^2 \quad (26)$$

donde  $D$  es el coeficiente de difusión translacional de las partículas,  $\theta$  es el ángulo de observación,  $\lambda_0$  la longitud de onda de la radiación incidente y  $n$  el índice de refracción del líquido en el que se encuentran las partículas.

El coeficiente de difusión  $D$  está relacionado de una manera sencilla con el tamaño de la partícula para las geometrías más simples como esferas, elipsoides, cilindros u ovillos estadísticos. En la mayor parte de los casos, se asume que la forma de las partículas es de tipo esférico, con lo que:

$$D = \frac{k_B T}{3\eta d} \quad (27)$$

siendo  $k_B$  la constante de Boltzmann,  $T$  la temperatura,  $\eta$  la viscosidad del medio y  $d$  es el diámetro hidrodinámico de la partícula. Esta ecuación asume que las partículas se mueven independientemente unas de otras.

En definitiva, la determinación del tamaño de partícula en un experimento de difusión de luz cuasielástica consiste en:

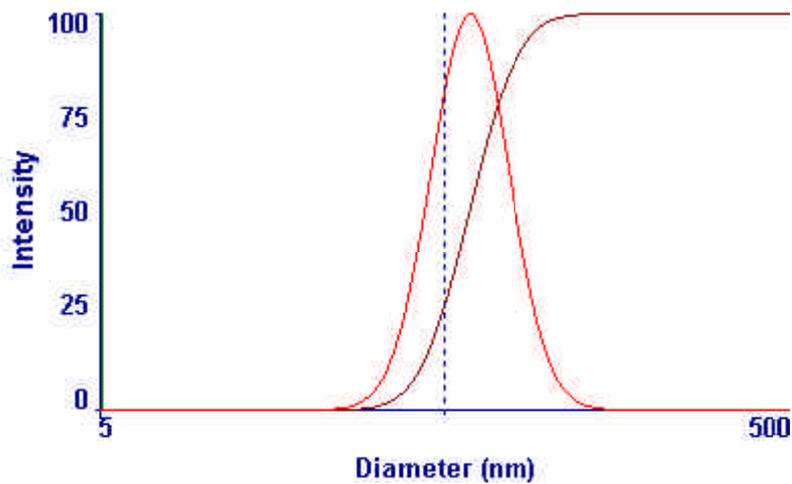
- Medir la función de autocorrelación.
- Ajustar la función medida a la ecuación [25] para determinar  $\Gamma$ .
- Calcular  $D$  a partir de la ecuación [26], conocidos  $n$ ,  $\theta$  y  $\Gamma$ .
- Calcular el diámetro de partícula,  $d$ , a partir de la ecuación [27], conocidos  $T$  y  $\eta$ .

En la Figura 8 se pueden observar los resultados obtenidos por difusión de luz cuasielástica para el látex monodisperso de poliestireno cuya función de autocorrelación se muestra en la Figura 7, siguiendo los pasos que se acaban de mencionar.

Hasta aquí se ha tratado el problema de la difusión cuasielástica de partículas monodispersas. Este es un caso muy particular, dado que en la mayor parte de las muestras poliméricas se va a presentar una distribución de tamaños. En este caso cada partícula de distinto tamaño contribuye con su propia exponencial, de forma que la función de correlación debe expresarse como suma de todas ellas:

$$g(\mathbf{t}) = \int_0^{\infty} G(\Gamma) e^{-\Gamma t} d\Gamma \quad (28)$$

donde  $G(\Gamma)$  es la función de distribución de los tiempos de relajación. El principal problema ahora es la caracterización de  $G(\Gamma)$  en sistemas polidispersos, para ello se recurre a varios métodos matemáticos de tratamiento de datos, que permiten obtener dicha función de distribución y, a partir de ella, la función de distribución de tamaños de partícula. Los dos métodos más empleados con este fin son el método de cumulantes y el método NNLS (Non Negative constrained Least Squares).



**Figura 8.** Distribución de tamaños de partícula y distribución acumulada para el látex de poliestireno cuya función de autocorrelación se muestra en la Figura 7.

La difusión de luz cuasielástica se ha convertido en la técnica más utilizada para la determinación de tamaños de partícula en suspensiones o en disoluciones micelares, dentro del intervalo comprendido entre los 2 nm y las 3  $\mu\text{m}$ .

### Bibliografía

"Light Scattering from Polymer Solutions". M.B. Huglin (Editor). Academic Press. London. 1972.  
 "Determination of Molecular Weights by Light Scattering". M.B. Huglin. Topics in Current Chemistry, 77, 141 (1978).

"Diffusion de la Lumière". C. Strazielle y G. Weill. Enciclopedia "Techniques de l'Ingénieur". Paris. 1980.

"Química Física Macromolecular". I. Katime. Servicio Editorial de la Universidad del País Vasco. Bilbao 1994.

"Scattering Properties: Light and X-Rays". I. Katime y J.R. Quintana. Comprehensive Polymer Science. Vol. 1, pag 103-132. Pergamon Press. Oxford. 1989.

"Laser Light Scattering". B. Chu. Academic Press, New York. 1974

"Dynamic Light Scattering with Applications to Chemistry, Biology and Physics". B. Berne y R. Pecora