

**Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
del Instituto Politécnico Nacional**

UNIDAD ZACATENCO
DEPARTAMENTO DE FÍSICA

**“Espectroscopía Fotoacústica con luz
polarizada en pigmentos naturales”**

Tesis que presenta

Maria Fernanda Arriaga Argüelles

para obtener el Grado de

Maestra en Ciencias

en la Especialidad de

Física

Director de tesis: **Dr. Alfredo Cruz Orea**

Ciudad de México

Diciembre, 2024

*A mis padres Aida y Martín, por su amor y apoyo incondicional, por siempre alentarme para
nunca rendirme y por siempre confiar en mí.
A mis mascotas, mi perrito Bailey y mi gatito Miti, por que su sola existencia alegra mis días
y por ser el motor de mi vida.*

Agradecimientos

Expreso mi profundo agradecimiento al Cinvestav y al Departamento de Física por abrirme las puertas de su prestigiosa institución, proporcionándome el espacio y los recursos necesarios para llevar a cabo esta investigación. Asimismo, agradezco al Conahcyt por el apoyo económico que me permitió realizar mis estudios de maestría.

Quiero agradecer especialmente a mi asesor, el Dr. Alfredo Cruz Orea, por su guía constante, por sus enseñanzas invaluable y, sobre todo, por su paciencia y acompañamiento a lo largo de este proceso. De igual forma, agradezco a la Dra. Lilia Ivonne Olvera Cano, por ser mi mentora en el laboratorio, y a mi compañero de cubículo Israel, por los momentos de colaboración, las interminables tareas compartidas y los buenos ratos que hicieron más llevadera esta etapa.

A mis padres, Aida y Martín, les agradezco por ser mi mayor inspiración, por alentarme a seguir adelante cada día, y por su apoyo incondicional en los momentos difíciles. Su confianza en mí ha sido la base de cada uno de mis logros.

Finalmente, a mi novio Sebastián, gracias por ser mi mayor apoyo emocional, por alentarme a seguir adelante incluso en los momentos más complicados, y por creer en mí aún cuando yo dudaba. Tu amor y compañía han sido esenciales en este camino.

Abstract

Polarized light plays a crucial role in the interaction with biological systems, which has sparked a growing interest in its study. This research analyzes the effect of polarized light on the absorption spectrum of biological samples using photoacoustic spectroscopy. Absorption spectra of algae, red onion, spinach and cochineal were obtained, with and without polarizers at different polarization angles. To identify the pigments present, first and second derivative methods and phase separation were applied. The results reveal that polarized light impacts differently depending on the structure and composition of each sample, with more pronounced changes in onion. These findings highlight the influence of polarized light on anisotropic systems, such as onion, and emphasize its potential for the analysis of other biological and inorganic samples.

Resumen

La luz polarizada desempeña un rol crucial en la interacción con sistemas biológicos, lo que ha despertado un creciente interés en su estudio. Esta investigación analiza el efecto de la luz polarizada sobre el espectro de absorción de muestras biológicas mediante espectroscopía fotoacústica. Se obtuvieron espectros de absorción del alga, cebolla morada, espinaca y grana cochinilla, con y sin polarizadores a distintos ángulos de polarización. Para identificar los pigmentos presentes, se aplicaron los métodos de primera y segunda derivada y separación en la fase. Los resultados revelan que la luz polarizada impacta de diferente manera según la estructura y composición de cada muestra, con cambios más pronunciados en la cebolla. Estos hallazgos resaltan la influencia de la luz polarizada en sistemas anisotrópicos, como la cebolla, y enfatizan su potencial para el análisis de otras muestras biológicas e inorgánicas.

Tabla de Contenido

Agradecimientos	iii
Abstract	iv
Resumen	v
Lista de Figuras	vii
Lista de Tablas	x
1 Introducción	1
2 Espectroscopía Fotoacústica	5
2.1 Historia de la Espectroscopía Fotoacústica	5
2.2 Mecanismos de transferencia de calor	6
2.3 Teoría de Rosencwaig y Gersho	7
2.3.1 Ecuaciones de Flujo de Calor	7
2.3.2 Producción de la señal fotoacústica	10
2.3.3 Casos Especiales	12
Muestras ópticamente transparentes ($\mu_\beta > l$)	12
Muestras ópticamente opacas ($\mu_\beta \ll l$)	13
2.4 Método de separación en la fase	14
2.5 Ley de Malus	15
2.6 Montaje experimental	17
3 Resultados y Discusión	19
3.1 Espectro de emisión de la lámpara	19
3.2 Comprobación de la Ley de Malus	19
3.3 Alga Nori (<i>Porphyra Yezoensis</i>)	21
3.4 Cebolla morada (<i>Allium cepa var. cepa</i>)	25
3.5 Espinaca (<i>Spinacia oleracea L.</i>)	32
3.6 Grana cochinilla (<i>Dactylopius coccus Costa</i>)	34
4 Conclusiones y Perspectivas	41
Referencias	43

Lista de Figuras

2.1	Diagrama de la sección transversal de una celda fotoacústica cilíndrica. Se muestran las posiciones del soporte, la muestra y la columna de gas	8
2.2	Distribución espacial de la temperatura del gas en la capa adyacente a la muestra	11
2.3	Representación de los casos especiales	12
2.4	(a) Diagrama de la señal fotoacústica $\vec{S}(\lambda)$ y sus componentes; (b) Proyección de la señal fotoacústica a un ángulo de fase θ ; (c) Proyección de la señal fotoacústica resultante de las contribuciones $\vec{S}_A(\lambda)$ y $\vec{S}_B(\lambda)$	15
2.5	Luz natural incide sobre un polarizador lineal inclinado a un ángulo θ con respecto a la vertical [21]	16
2.6	Luz natural de irradiancia I_0 incide sobre un polarizador lineal inclinado un ángulo θ con respecto a la vertical. La irradiancia que deja el primer polarizador es $I_1 = I(0)$. La irradiancia que deja el segundo polarizador es $I(\theta)$ [21] . . .	16
2.7	Montaje experimental del equipo de espectroscopía fotoacústica con polarizadores	18
2.8	Configuración de la celda fotoacústica para las muestras estudiadas en la presente tesis	18
3.1	(a) Espectro de emisión de la lámpara de Xe y (b) espectro de emisión con diferentes grados de polarización de la luz incidente.	20
3.2	Superficie de la muestra <i>PY</i> de las caras (a) rugosa y (b) lisa.	21
3.3	Espectro de absorción de la <i>PY</i>	22
3.4	(a) Primera y (b) segunda derivada del espectro de absorción óptico de la <i>PY</i> .	23
3.5	Estructura molecular de (a) la clorofila a [8] y (b) las ficobiliproteínas: a la izquierda ficocianina, en medio ficoeritrina y a la derecha aloficocianina [22].	24
3.6	Estructura molecular de algunos tipos de carotenoides [23].	26
3.7	Espectro de absorción de (a) la Chl a, la ficoeritrina (phycoerithrin), la ficocianina (phycocyanin) y la aloficocianina (allophycocyanin) [8]; y (b) los carotenoides β -caroteno (β -C), luteína (Lut), violaxantina (Vio) y neoxantina (Neo) [24]	27
3.8	Espectro de absorción óptico de la <i>PY</i> para distintos ángulos de polarización	28
3.9	Espectro de absorción de la <i>PY</i> de las caras lisa y rugosa a ángulos de polarización de 0° y 60°	28
3.10	Superficie de color de la muestra <i>AC</i>	29
3.11	Espectro de absorción óptico de la <i>AC</i>	30
3.12	Sepación en la fase del espectro de absorción óptico de la <i>AC</i>	30

3.13	Estructura molecular de las seis clases de flavonoides [25].	31
3.14	Espectro de absorción óptico de la <i>AC</i> para distintos ángulos de polarización	32
3.15	Espectro de absorción óptico de la <i>AC</i> de la superficie en su posición (a) inicial y (b) rotada un ángulo de 90°.	33
3.16	Superficie de de la muestra <i>SO</i>	33
3.17	Espectro de absorción óptico de la <i>SO</i>	34
3.18	Sepación en la fase del espectro de absorción óptico de la <i>SO</i>	35
3.19	Espectro de absorción de (a) las Clorofilas a y b [24] y (b) los ácidos clorogénico, cafeico y ferúlico [29]	36
3.20	Estructura molecular de las dos clases de ácidos fenólicos [25].	36
3.21	Espectro de absorción óptico de la <i>SO</i> a distintos ángulos de polarización. . .	37
3.22	Espectro de absorción óptico de la <i>DCC</i>	37
3.23	Sepación en la fase del espectro de absorción óptico de la <i>DCC</i>	38
3.24	Evolución del espectro de absorción UV-Vis del ácido carmínico usando las longitudes de onda de excitación de (a) 420 nm y (b) 300 nm [31]	38
3.25	Estructura molecular del ácido carmínico [31].	39
3.26	Espectro de absorción óptico de la <i>DCC</i> a distintos ángulos de polarización.	39

Lista de Tablas

- 3.1 Valores de la absorción, calculados por la Ley de Malus, y medidos del espectro de emisión de la lámpara, a través de la magnitud de la señal fotoacústica, a una longitud de onda de 470 nm para los distintos ángulos de polarización de la lámpara y los errores porcentuales asociados. En donde utilizó como I_0 , en la ecuación de Malus, la magnitud de la señal fotoacústica a cero grados . . . 21
- 3.2 Razones entre los picos de absorción para las caras lisa y rugosa de la *PY* en donde abs_0 y abs_{60} son los valores de absorción a 0° y 60° respectivamente . 25

Capítulo 1

Introducción

La luz polarizada, se encuentra presente en varios fenómenos de la naturaleza y puede ser modificada debido a efectos como la reflexión, dispersión o transmisión de la luz. En el cielo y bajo el agua, la dispersión de la luz produce una polarización parcial que varía según la posición del sol y la dirección de la visión. Asimismo, la reflexión de la luz en superficies como la interfaz aire-agua, hojas, superficies mojadas, piel de animales o escamas genera una polarización en condiciones geoméricamente favorables. Para animales terrestres con visión de luz polarizada, como los artrópodos, el cielo ofrece un patrón útil para la navegación, aunque las reflexiones polarizadas pueden enmascarar los colores "verdaderos" de los objetos [1].

La polarización de la luz también ha demostrado efectos biológicos. Por ejemplo, se ha encontrado que los brotes de lentejas y guisantes crecen más rápido bajo luz polarizada circularmente hacia la izquierda [2]. Además, se ha investigado su uso como biomarcador, aprovechando la polarización circular provocada por microorganismos fotosintéticos, vegetación y minerales [3]. Otros estudios revelan que las hojas de maíz interactúan con la luz polarizada, modificando su elipticidad al ser irradiadas con radiación láser de baja intensidad [4].

En la fotosíntesis, los pigmentos juegan un papel clave en la captura de luz. Las clorofilas a y b absorben en la región visible mediante múltiples bandas, debido a la asimetría de su macrociclo y al fuerte acoplamiento vibrónico [5]. El contenido de clorofila (LCC, por sus siglas en inglés) es un indicador fisiológico relevante, que refleja la capacidad fotosintética y el estado de salud de la planta. La reflexión polarimétrica se ha utilizado para estimar este contenido a partir de mediciones de múltiples ángulos [6].

Por su parte, los carotenoides actúan como pigmentos accesorios, protegiendo contra la fotooxidación causada por el exceso de luz [7]. La creciente demanda de estos compuestos impulsa su desarrollo biotecnológico para satisfacer tanto la industria como las preferencias de los consumidores. De igual forma, las ficobiliproteínas, presentes en cianobacterias, rodofitas y criptofitas, son pigmentos fluorescentes capaces de capturar energía luminosa en los ficobilisomas [8]. Las ficobiliproteínas han llamado la atención de industrias, tales como la alimentaria, biomédica y cosmética, esto debido a sus propiedades antioxidantes, antibacteriales y antitumorales, y como aditivos colorantes alimentarios y en cosméticos [8].

En el caso de los polifenoles, este grupo de compuestos bioactivos está ampliamente distribuido

en alimentos. Los polifenoles tienen dos clases generales: los flavonoides y los ácidos fenólicos. Los flavonoides contribuyen al color de las plantas [9]. Estos a su vez, se dividen en flavonas, flavonolas, flavonoles, flavanoles, isoflavonas y, los ácidos fenólicos generalmente se clasifican en ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos. Investigaciones han revelado que los polifenoles juegan un papel clave para prevenir diversas enfermedades, como la hipercolesterolemia, la hiperglucemia, la hiperlipidemia y la aparición del cáncer [10].

En caso del reino animal, un ejemplo notable de pigmento natural es el ácido carmínico, obtenido de la grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa). Este pigmento es ampliamente utilizado como colorante en la industria alimentaria y ha encontrado aplicaciones emergentes como fotosensibilizador en celdas solares [11]

A pesar del conocimiento sobre los pigmentos naturales, aún se continúa estudiando la influencia de la luz polarizada en su absorción. Este trabajo tiene como objetivo explorar cómo la luz polarizada, a distintos ángulos de polarización, afecta el espectro de absorción de muestras biológicas fotosensibles. Además, se busca identificar si existe alguna correlación entre los espectros obtenidos y la orientación de las muestras.

Los pigmentos en los organismos están localizados, en ciertas ocasiones, en sistemas anisotrópicos y por lo que el uso de modelos de sistemas anisotrópicos y varios tipos de espectroscopía de luz polarizada han sido aplicados para investigar sus interacciones [12]. En este trabajo se utiliza la espectroscopía fotoacústica para analizar las siguientes muestras: alga nori (*Porphyra yezoensis*), cebolla morada (*Allium cepa* var. *cepa*), espinaca (*Spinacia oleracea* L.) y grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa).

Se obtuvieron los espectros de absorción de cada muestra y, mediante los métodos de primera y segunda derivada o separación en la fase, se identificaron los pigmentos presentes. En el caso del alga y la cebolla, debido a su anisotropía, se midieron los espectros en diferentes posiciones para evaluar si existe alguna orientación preferencial.

En el capítulo 2 se describe la espectroscopía fotoacústica y los mecanismos de transferencia de calor involucrados. Se presenta la teoría de Rosencwaig y Gersho, que propone un modelo matemático para una celda fotoacústica, junto con los ajustes necesarios según las características ópticas y térmicas de las muestras. Además, se describe el método de separación en la fase para analizar los componentes espectrales y se introduce la Ley de Malus, utilizada para comparar con el espectro de emisión de la lámpara. Finalmente, se describe el montaje experimental empleado.

En el capítulo 3 se presentan los resultados obtenidos. Se compararon los espectros de emisión de la lámpara con y sin polarizadores y se verificó la Ley de Malus a 470 nm, donde se ubica el máximo en el espectro de emisión de la lámpara de xenón utilizada y, se calcularon los errores porcentuales correspondientes. Posteriormente, se presentan los espectros de absorción de las muestras, con y sin polarizadores, y se identifican los pigmentos mediante análisis numéricos y consultando la literatura publicada acerca de estos pigmentos naturales. En el caso del alga y la cebolla, se comparan los espectros obtenidos en diferentes posiciones de las muestras.

En las conclusiones se sintetizan los resultados obtenidos y se proponen perspectivas para futuras investigaciones en el estudio de la interacción entre luz polarizada en pigmentos

naturales y en muestras biológicas e inorgánicas.

Capítulo 2

Espectroscopía Fotoacústica

2.1 Historia de la Espectroscopía Fotoacústica

La espectroscopía fotoacústica (por sus siglas en inglés PAS), es una herramienta versátil y útil con la cuál se puede obtener información espectral sobre las componentes de una muestra. El rango del espectro electromagnético utilizado en la PAS va desde el ultravioleta hasta el infrarrojo. Las muestras analizadas en la PAS requieren de una sencilla preparación y pueden ser sólidos, líquidos, gases, geles, polvos o material biológico [13].

El efecto fotoacústico fue descubierto por Alexander Graham Bell en 1880 durante sus experimentos con el fonógrafo. Bell proyectaba un haz de luz solar sobre una celda de selenio conectada a un circuito telefónico. Utilizaba un espejo montado en el diafragma de un altavoz para reflejar el haz, provocando que vibrara al ser activado por la voz. De esta forma, la resistencia eléctrica del selenio se modulaba con la luz, permitiendo la reproducción de la voz en el receptor telefónico [14].

Sin embargo, Bell también observó que el selenio emitía una señal audible al ser expuesto a un rayo de luz modulado. Demostró que tanto el selenio como otros sólidos, al acoplarse como diafragmas a tubos auditivos, generaban sonido bajo la influencia de luz modulada. Además, identificó que la magnitud del efecto dependía de la longitud de onda de la luz e interpretó el fenómeno como un proceso de absorción óptica. Estos descubrimientos sentaron las bases para la espectroscopía fotoacústica [14].

El hallazgo de Bell despertó el interés de destacados científicos de la época, como Rayleigh, Röntgen y Tyndall, quienes investigaron el fenómeno en la década de 1880 [15]. Pero fue hasta 1976 que Allan Rosenzweig y Allen Gersho desarrollaron una teoría que describe el efecto fotoacústico en una muestra en una celda cerrada [16].

En PAS, la muestra se ilumina con radiación electromagnética de longitud de onda específica, lo que induce la absorción de energía por parte de la muestra. Como resultado de esta absorción, la muestra experimenta un calentamiento localizado que genera expansiones y contracciones periódicas, produciendo ondas acústicas. Estas ondas acústicas son detectadas por un transductor, como un micrófono, y se convierten en una señal eléctrica que puede ser

analizada para obtener información sobre las propiedades de la muestra, como su composición, estructura molecular, concentración de especies químicas, entre otros [13].

La espectroscopía fotoacústica tiene numerosas aplicaciones en diversas áreas, incluyendo la química, la física de materiales, la biología, la medicina y la ciencia de los materiales. Se utiliza comúnmente para el análisis de muestras que son opacas o difíciles de estudiar con otras técnicas, así como para la caracterización de materiales a nivel microscópico [13].

2.2 Mecanismos de transferencia de calor

Los mecanismos de transferencia de calor son procesos físicos por los cuales se transfiere calor de un cuerpo a otro o dentro de un mismo cuerpo [15]. Existen varios procesos por los cuales se produce una transferencia de calor, siendo básicamente tres métodos, los cuales se describen a continuación.

Conducción

Este método de transferencia de calor es debido a la interacción de las partículas en un medio. Las partículas con mayor energía cinética transfieren energía a las partículas con menor energía cinética por medio de colisiones. El conjunto de todas las colisiones genera un flujo neto de calor desde el cuerpo más caliente hacia el más frío [17].

El flujo de calor por conducción en una dimensión está dado por la Ley de Fourier, la cual está dada por la siguiente expresión

$$q_{cd} = -k \frac{\partial T}{\partial x} \quad (2.1)$$

en donde q_{cd} (Wm^{-2}) es el flujo de calor por unidad de área en la dirección x el cual es proporcional al gradiente de temperatura en esta dirección $\partial T / \partial x$. La constante de proporcionalidad k es conocida como conductividad térmica ($\text{Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$) la cual es característica del material.

Convección

En este método, el transporte de energía térmica se realiza mediante el movimiento de un fluido, ya sea un líquido o un gas. Se divide en dos tipos. El primero es la convección natural, en la cual el movimiento del fluido es debido a las diferencias de densidades debidas a las variaciones de temperatura. La segunda es la convección forzada, en la cual el movimiento del fluido es impulsado por fuentes externas como ventiladores y bombas [17].

El flujo de calor por convección q_{cv} (Wm^{-2}), está dado por la Ley de enfriamiento de Newton dada por la siguiente expresión

$$q_{cv} = h(T_s - T_\infty) \quad (2.2)$$

en donde q_{cv} es proporcional a la diferencia de temperaturas entre la superficie T_s y la temperatura del fluido T_∞ . La constante de proporcionalidad h ($\text{Wm}^{-2}\text{K}^{-1}$) es el coeficiente de transferencia de calor.

Radiación

La radiación es un método de transferencia de calor mediante ondas electromagnéticas. Las ondas no necesitan ningún medio para propagarse. Todos los cuerpos emiten radiación térmica y la cantidad de energía radiada y absorbida depende de las propiedades de los cuerpos involucrados, como su temperatura y su emisividad [17].

El flujo de calor por radiación q_{rd} está dado por la Ley de Stefan-Boltzmann la cual está determinada por

$$q_{rd} = \sigma_{SB}T_s^4 \quad (2.3)$$

en donde T_s es la temperatura absoluta de la superficie y σ_{SB} es la constante de Stefan-Boltzmann ($5.67 \times 10^{-8}\text{Wm}^{-2}\text{K}^{-4}$).

2.3 Teoría de Rosencwaig y Gersho

Utilizando espectroscopía fotoacústica (por sus siglas en inglés PAS), se obtiene el espectro de absorción de una muestra a analizar, principalmente de materiales sólidos y semisólidos. Para analizar un material, una pequeña muestra del material se coloca en una celda cerrada que contiene un gas, tal como el aire, y un micrófono. La muestra se ilumina con un haz de luz monocromática modulada por un chopper. La señal análoga del micrófono pasa a través de un amplificador lock-in cuya señal de salida se muestra como función de la longitud de onda de la luz incidente. El espectro obtenido por el amplificador corresponde con el espectro de absorción óptico del material.

La principal fuente de la señal acústica en la celda fotoacústica viene del flujo de calor periódico de la muestra a la capa de gas más próxima a la muestra. Esta capa de gas actúa como un pistón vibratorio, generando una señal acústica detectada por el micrófono en la celda [16].

2.3.1 Ecuaciones de Flujo de Calor

En este modelo se considera un sistema unidimensional de flujo de calor en la celda fotoacústica, como el mostrado en la Figura 2.1. En dicha figura, se representa una celda de forma cilíndrica con un diámetro D y un espesor L . La muestra, también de forma cilíndrica, tiene un diámetro D y un espesor l . Uno de los lados de la muestra está en contacto con la superficie de un soporte de espesor l_s , mientras que el otro lado está en contacto con una columna de gas (aire) de espesor l_g . Se considera que el soporte está fabricado con un material que es un mal conductor térmico, y que ni el gas ni el soporte absorben luz.

Se definen los siguientes parámetros:

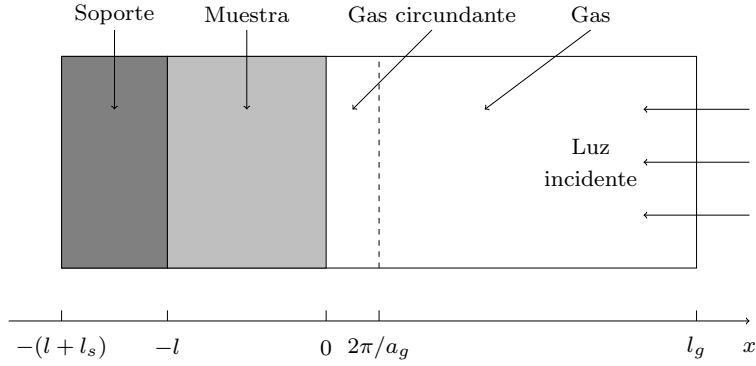


Figura 2.1: Diagrama de la sección transversal de una celda fotocústica cilíndrica. Se muestran las posiciones del soporte, la muestra y la columna de gas

- k_i la conductividad del material i
- ρ_i la densidad del material i
- c_i el calor específico del material i
- α_i la difusividad térmica del material i
- a_i el coeficiente de difusión térmico del material i
- μ_i la longitud de difusión térmica del material i
- ω frecuencia de modulación angular
- λ longitud de onda de la luz incidente
- $\beta(\lambda)$ coeficiente de absorción óptico de la muestra para una longitud λ

en donde i puede tomar los subíndices m , g y s para la muestra, el gas y el soporte respectivamente.

La intensidad de la luz incidente está dada por

$$I = \frac{1}{2}I_0(1 + \cos(\omega t)) \quad (2.4)$$

en donde I_0 es la intensidad de la luz monocromática incidente. Considerando la absorción óptica de la muestra para las distintas longitudes de onda, la densidad de calor producida a cualquier punto x debido a la luz absorbida en este punto está dada por

$$\frac{1}{2}\beta I_0 \exp(\beta x)(1 + \cos(\omega t)), \quad -l \leq x \leq 0 \quad (2.5)$$

Las ecuaciones de difusión de calor en cada medio están dadas por

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} = \frac{1}{\alpha_m} \frac{\partial \phi}{\partial t} - A(1 + e^{i\omega t})e^{\beta x}, \quad -l \leq x \leq 0 \quad (2.6a)$$

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} = \frac{1}{\alpha_g} \frac{\partial \phi}{\partial t}, \quad 0 \leq x \leq l_g \quad (2.6b)$$

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} = \frac{1}{\alpha_s} \frac{\partial \phi}{\partial t}, \quad -(l + l_s) \leq x \leq -l \quad (2.6c)$$

La parte real de la solución compleja $\phi(x, t)$ de las ecuaciones anteriores representa la temperatura en la celda relativa a la temperatura ambiente (Φ). El campo de temperaturas en la celda está dado por

$$T(x, t) = \text{Re}[\phi(x, t)] + \Phi \quad (2.7)$$

Tomando en cuenta las condiciones de frontera en la interfase entre un medio y otro y considerando que la temperatura en los extremos de la celda es la temperatura ambiente, encontramos la solución al sistema de ecuaciones (2.6). La solución al sistema es

$$\phi_s(x, t) = (1/l_s)(x + l + l_s)W_0 + W \exp[\sigma_s(x + l) + i\omega t], \quad -(l + l_s) \leq x \leq -l \quad (2.8a)$$

$$\phi_m(x, t) = e_1 + e_2 + d \exp(\beta x) + [U \exp(\sigma_m x) + V \exp(-\sigma_m x)] \exp(i\omega t), \quad -l \leq x \leq 0 \quad (2.8b)$$

$$\phi_g(x, t) = (1 - x/l_g)\theta_0 + \theta \exp(-\sigma_g + i\omega t), \quad 0 \leq x \leq l_g \quad (2.8c)$$

Las constantes W_0 , e_1 , e_2 , d y θ_0 son constantes reales asociadas a la componente independiente del tiempo (dc) y W , U , V , θ son constantes complejas asociadas a la componente dependiente del tiempo (ac) y $a_i = \sqrt{\omega/2\alpha_i}$, $\sigma_i = (1 + i)a_i$.

Las condiciones en temperatura y flujo de calor en las interfases están dadas por

$$\phi_g(0, t) = \phi_m(0, t) \quad (2.9a)$$

$$\phi_s(-l, t) = \phi_m(-l, t) \quad (2.9b)$$

$$k_g \frac{\partial \phi_g}{\partial x}(0, t) = k_m \frac{\partial \phi_m}{\partial x}(0, t) \quad (2.9c)$$

$$k_s \frac{\partial \phi_s}{\partial x}(-l, t) = k_m \frac{\partial \phi_m}{\partial x}(-l, t) \quad (2.9d)$$

De las ecuaciones (2.8) y (2.9) se encuentran los valores de las constantes reales y complejas. El principal objetivo es encontrar el valor de θ para conocer el comportamiento de la columna del gas dependiente del tiempo. La solución explícita para la amplitud compleja θ es

$$\theta = \frac{\beta I_0}{2k_m(\beta^2 - \sigma_m^2)} \left(\frac{(r-1)(s+1)\exp(\sigma_m l) - (r+1)(s-1)\exp(-\sigma_m l) + 2(s-r)\exp(-\beta l)}{(g+1)(s+1)\exp(\sigma_m l) - (g-1)(s-1)\exp(-\sigma_m l)} \right) \quad (2.10)$$

donde

$$s = \frac{k_s a_s}{k_m a_m} \quad (2.11a)$$

$$g = \frac{k_g a_g}{k_m a_m} \quad (2.11b)$$

$$r = (1-i) \frac{\beta}{2a_m} \quad (2.11c)$$

2.3.2 Producción de la señal fotoacústica

Como se había mencionado anteriormente, la principal fuente de la señal fotoacústica viene del flujo de calor del sólido al gas circundante. El proceso de difusión de calor produce una variación de la temperatura en el gas dada por la componente ac de la ecuación (2.8), es decir

$$\phi_{ac}(x, t) = \theta \exp(-\sigma_g x + i\omega t) \quad (2.12)$$

Dado que θ tiene un valor complejo, se puede expresar como la suma de su parte real θ_1 y su parte imaginaria θ_2 , es decir $\theta = \theta_1 + i\theta_2$. Tomando la parte real de la ecuación (2.8) y expresándola en términos de su parte θ_1 y θ_2 , se obtiene que la variación de temperatura producida por la señal ac es

$$T_{ac}(x, t) = \exp(-a_g x) [\theta_1 \cos(\omega t - a_g x) - \theta_2 \sin(\omega t - a_g x)] \quad (2.13)$$

En la Figura 2.2 se muestra la solución (2.13) evaluada para distintos valores de ωt considerando $2\pi\mu_g \approx 0,1cm$ a $\omega/2\pi = 100Hz$. De la Figura 2.2 se puede observar que la variación de la temperatura decae rápidamente a cero, por lo cual se puede definir una capa de gas circundante de espesor $2\pi\mu_g$, como una buena aproximación del espesor de la capa de gas que es capaz de responder térmicamente a la variación periódica de la temperatura en la superficie de la muestra.

El objetivo es conocer la temperatura promedio espacial en la capa de gas circundante, pues de esta manera la función de la temperatura tendría únicamente una dependencia temporal. De la ecuación (2.12) se tiene

$$\bar{\phi}(t) = \frac{1}{2\pi\mu_g} \int_0^{2\pi\mu_g} \phi_{ac}(x, t) dx = \frac{1}{2\sqrt{2}\pi} \theta \exp[i(\omega t - \pi/4)] \quad (2.14)$$

De la ecuación (2.14) se puede observar que la temperatura de la capa de gas de espesor $2\pi\mu_g$ varía periódicamente con el tiempo. Estas variaciones de temperatura causan la expansión y

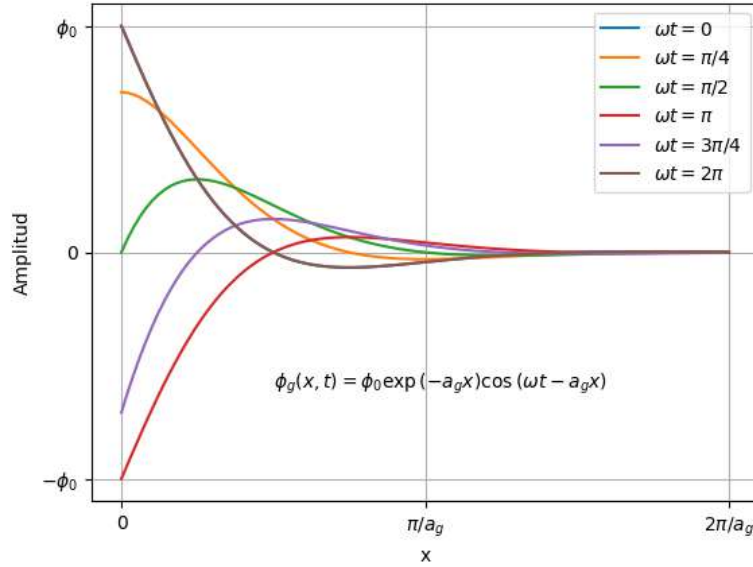


Figura 2.2: Distribución espacial de la temperatura del gas en la capa adyacente a la muestra

compresión de la capa de gas, lo que genera cambios en la presión del aire. En otras palabras, la capa de aire funciona como un pistón acústico.

Considerando que el gas se comporta como un gas ideal, podemos utilizar la ley del gas ideal ($PV = nkT$) para calcular el desplazamiento del pistón. Así el desplazamiento es

$$\delta x(t) = 2\pi\mu_g \frac{\bar{\phi}(t)}{T_0} = \frac{\theta\mu_g}{\sqrt{2}T_0} \exp[i(\omega t - \pi/4)] \quad (2.15)$$

en donde se ha considerado que la temperatura de la capa de gas circundante, en contacto con la muestra, es igual a la temperatura dc de la superficie de la muestra, $T_0 = \Phi + \theta_0$.

Suponiendo que el resto del gas responde a la acción de este pistón adiabáticamente, entonces la presión acústica en la celda debida al desplazamiento del gas se deriva de la condición adiabática

$$PV^\gamma = cte \quad (2.16)$$

en donde P es la presión, V el volumen y γ es la relación entre los calores específicos. Así, el incremento en la presión es

$$\delta P(t) = \frac{\gamma P_0}{V_0} \delta V = \frac{\gamma P_0}{l_g} \delta x(t) = Q \exp[i(\omega t - \pi/4)] \quad (2.17)$$

en donde P_0 y V_0 son la presión y volumen ambiente respectivamente y $Q = \gamma P_0 \theta / \sqrt{2}$. De acuerdo con la ecuación (2.10) podemos a Q de la siguiente manera

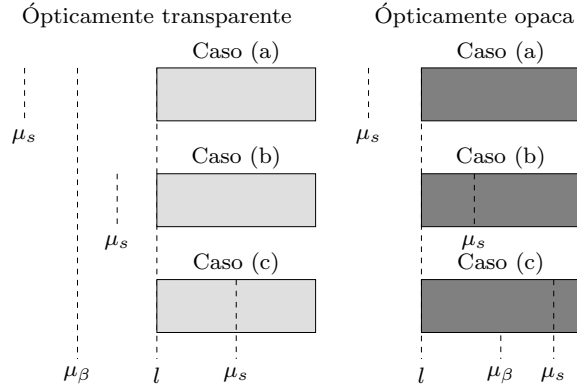


Figura 2.3: Representación de los casos especiales

$$Q = \frac{\beta I_0 \gamma P_0}{2\sqrt{2}k_s l_g a_g T_0 (\beta^2 - \sigma_m^2)} \left(\frac{(r-1)(s+1) \exp(\sigma_m l) - (r+1)(s-1) \exp(-\sigma_m l) + 2(s-r) \exp(-\beta l)}{(g+1)(s+1) \exp(\sigma_m l) - (g-1)(s-1) \exp(-\sigma_m l)} \right) \quad (2.18)$$

Para el efecto fotoacústico, la componente ac de la temperatura es la que produce ese efecto, así $T_0 \approx \Phi$ y no es necesario evaluar componente dc de la distribución de temperatura. Así, la ecuación (2.18) puede ser evaluada para la magnitud y fase de la onda acústica producida en la celda por el efecto fotoacústico.

2.3.3 Casos Especiales

Debido a la complejidad de la expresión para 2.18, es más sencillo analizar por casos dependiendo de la opacidad óptica del material, la cual está determinada por la longitud de absorción óptica del material, la cuál está determinada por

$$\mu_\beta = 1/\beta \quad (2.19)$$

En la Figura 2.3, se muestran los casos analizados. Para cada caso se considera que $g < b$, $b \sim 1$ y l es el espesor de la muestra. Además, es conveniente definir la siguiente constante

$$Y = \frac{\gamma P_0 I_0}{2\sqrt{2}l_g T_0} \quad (2.20)$$

Muestras ópticamente transparentes ($\mu_\beta > l$)

En este tipo de muestras, la luz es absorbida en el espesor de la muestra. Se clasifican en los siguientes casos.

- (a) **Muestras térmicamente delgadas** ($\mu_m \gg l, \mu_m > \mu_\beta$) Para este caso, se utilizan las aproximaciones $\exp(-\beta l) \cong 1 - \beta l$, $\exp(\pm \sigma_m l) \cong 1$ y $|r| > 1$ en la ecuación 2.18. Así, se obtiene

$$Q = \frac{lY}{2a_g a_s k_s} (\beta - 2a_m s - i\beta) \cong \frac{(1-i)\beta l Y}{2a_g} \left(\frac{\mu_s}{k_s} \right) \quad (2.21)$$

De la ecuación anterior, se puede notar que la señal acústica es proporcional a βl . Además, dado que μ_s/a_g es proporcional a ω^{-1} , la señal acústica depende también de ω^{-1} .

- (b) **Muestras térmicamente delgadas** ($\mu_m > l, \mu_m < \mu_\beta$) Para este caso, se utilizan las aproximaciones $\exp(-\beta l) \cong 1 - \beta l$, $\exp(\pm\sigma_m l) \cong (1 \pm \sigma_m l)$ y $|r| < 1$ en la ecuación 2.18. Así, se obtiene

$$Q = \frac{\beta l Y}{4a_g a_m^3 k_m s} [(\beta^2 + 2a_m^2) + i(\beta^2 - 2a_m^2)] \cong \frac{(1-i)\beta l Y}{2a_g} \left(\frac{\mu_s}{k_s} \right) \quad (2.22)$$

Al igual que en el caso anterior, la señal acústica es proporcional a βl y ω^{-1} . Las ecuaciones (2.21) y (2.22) son idénticas.

- (c) **Muestras térmicamente gruesas** ($\mu_m < l, \mu_m \ll \mu_\beta$) Para este caso, se utilizan las aproximaciones $\exp(-\beta l) \cong 1 - \beta l$, $\exp(\pm\sigma_m l) \cong 0$ y $|r| \ll 1$ en la ecuación 2.18. Así, la señal acústica es

$$Q = -\frac{i\beta\mu_m Y}{2a_g} \left(\frac{\mu_m}{k_m} \right) \quad (2.23)$$

Para este caso, la señal es proporcional a $\beta\mu_m$, lo cual implica que sólo la luz absorbida en la primera longitud de difusión térmica contribuye a la señal a pesar de que la luz es absorbida en todo el espesor l de la muestra. Dado que $\mu_m < l$ las propiedades térmicas del soporte en la ecuación (2.21) son remplazadas por las de la muestra. Además, para este caso, Q depende de $\omega^{-3/2}$.

Muestras ópticamente opacas ($\mu_\beta \ll l$)

En este tipo de muestras, la luz es absorbida en una distancia pequeña compara con l . Se clasifican en los siguientes casos.

- (a) **Muestras térmicamente delgadas** ($\mu_m \gg l, \mu_m \gg \mu_\beta$) Utilizando las aproximaciones $\exp(-\beta l) \cong 0$, $\exp(\pm\sigma_m l) \cong 1$ y $|r| \gg 1$ en la ecuación 2.18, se obtiene

$$Q = \frac{(1-i)Y}{2a_g} \left(\frac{\mu_s}{k_s} \right) \quad (2.24)$$

Es este caso la señal fotoacústica es independiente de β , por lo cuál una muestra ópticamente opaca y termicamente delgada genera opacidad fotoacústica. Ejemplos de este tipo de muestras son el carbón negro o el grafito. La señal depende de las propiedades del soporte, es proporcional a ω^{-1} y es $1/\beta l$ veces mayor que en el caso 2.21.

- (b) **Muestras térmicamente gruesas** ($\mu_m < l, \mu_m > \mu_\beta$) Utilizando las aproximaciones $\exp(-\beta l) \cong 0$, $\exp(\pm\sigma_m l) \cong 0$ y $|r| > 1$ en la ecuación 2.18, se tiene

$$Q = \frac{Y}{2a_g a_m k_m} (\beta - 2a_m - i\beta) \cong \frac{(1-i)Y}{2a_g} \left(\frac{\mu_m}{k_m} \right) \quad (2.25)$$

La ecuación anterior es análoga a la ecuación (2.24) salvo que los parámetros térmicos del soporte son remplazados por los de la muestra. La señal acústica es proporcional a ω^{-1} y no depende de β .

- (c) **Muestras térmicamente gruesas** ($\mu_m \lll l, \mu_m < \mu_\beta$) Para este caso, se utilizan las aproximaciones $\exp(-\beta l) \cong 0$, $\exp(\pm\sigma_m l) \cong 0$ y $|r| < 1$ en la ecuación 2.18. Así, la señal acústica es

$$Q = \frac{-i\beta Y}{4a_g a_m^3 k_m} [2a_m - \beta + i\beta] \cong -\frac{i\beta \mu_m Y}{2a_g} \left(\frac{\mu_m}{k_m} \right) \quad (2.26)$$

A pesar de que la muestra es ópticamente opaca, al igual que en la ecuación (2.23), la señal fotoacústica depende de $\beta\mu_m$, es decir, sólo la luz absorbida entre la primer longitud de difusión térmica μ_m contribuye a la señal acústica. Al igual que en la ecuación (2.23) la señal depende de $\omega^{-3/2}$.

2.4 Método de separación en la fase

El método de separación en la fase permite separar las contribuciones individuales de dos centros absorbentes en un espectro de absorción efectivo [18].

Se considera una muestra está constituida por dos capas, una de material A y otra de material B con la cara de la muestra A en contacto con la columna de gas en la celda fotoacústica. Para una frecuencia de modulación fija, la señal acústica detectada por el micrófono es la resultante de la contribución de los materiales A y B. Dado que la capa B está detrás de la capa A, existe un tiempo de retardo entre las señales provenientes de A y B debido a la diferencia entre sus correspondientes tiempos de difusión térmica. Como consecuencia, la diferencia en el tiempo en que la fase del gas produce un cambio de fase ϕ entre las dos señales [19]. Vale la pena mencionar que el método de separación en la fase no sólo es aplicable a sistemas de dos capas, también cuando los constituyentes de la muestra (A y B) tienen tiempos de relajación no radiativos diferentes.

De la Figura 2.4(a), se divide la señal fotoacústica en la componente de la fase S_0 y su componente de cuadratura S_{90} , de manera que se cumple la condición

$$S(\lambda)^2 = S_0(\lambda)^2 + S_{90}(\lambda)^2, \quad \varphi = \arctan \left(\frac{S_{90}(\lambda)}{S_0(\lambda)} \right) \quad (2.27)$$

De la Figura 2.4(b) se muestra la proyección $S_\theta(\lambda)$ del vector $\vec{S}(\lambda)$ al ángulo de fase θ . La proyección se puede expresar en función de $S_0(\lambda)$ y $S_{90}(\lambda)$ de la siguiente manera

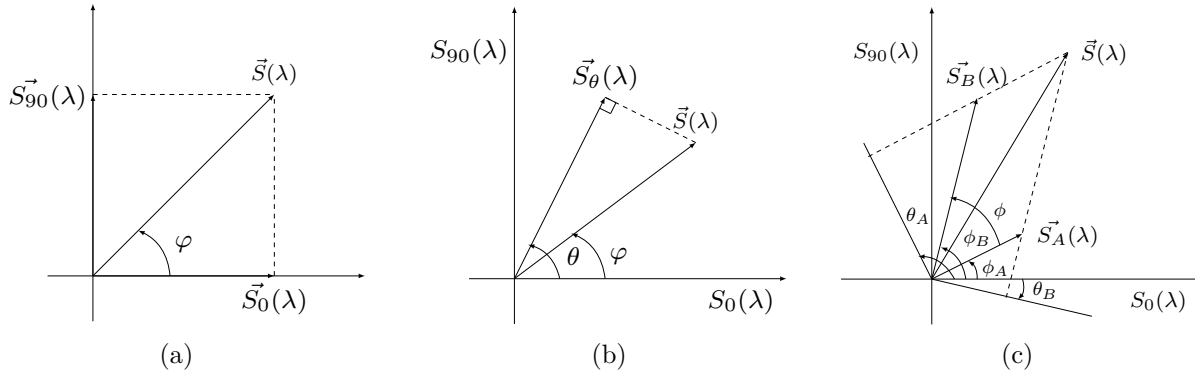


Figura 2.4: (a) Diagrama de la señal fotoacústica $\vec{S}(\lambda)$ y sus componentes; (b) Proyección de la señal fotoacústica a un ángulo de fase θ ; (c) Proyección de la señal fotoacústica resultante de las contribuciones $\vec{S}_A(\lambda)$ y $\vec{S}_B(\lambda)$.

$$S_\theta(\lambda) = S_0(\lambda) \cos(\theta) + S_{90}(\lambda) \sin(\theta) \quad (2.28)$$

Considerando un sistema de dos capas la señal $\vec{S}(\lambda)$ es la suma de los vectores correspondientes a la señal de cada capa ($\vec{S}_A(\lambda)$ y $\vec{S}_B(\lambda)$) como se muestra en la Figura 2.4(c). Los vectores $\vec{S}_A(\lambda)$ y $\vec{S}_B(\lambda)$ están desfasados por un ángulo $\phi = \phi_B - \phi_A$. Para encontrar las componentes de capa capa, un método consiste en proyectar la señal resultante a un ángulo de fase θ . Cuando un ángulo de fase θ_B está a un ángulo 90° de una de las contribuciones, por ejemplo $\vec{S}_B(\lambda)$ como se puede ver en la Figura 2.4(c), la proyección de la señal resultante es igual a la componente de la otra contribución $\vec{S}_A(\lambda)$. El resultado de esta proyección es el espectro de absorción centrado en la capa A. Desde otro ángulo θ_A , el espectro de B también es aislado. Así, el ángulo de fase de $\vec{S}_A(\lambda)$ está dado por $\theta_A \pm 90^\circ$ en donde θ_A es el ángulo en el que el espectro de A fue separado, análogamente, el ángulo de fase de $\vec{S}_B(\lambda)$ está dado por $\theta_B \pm 90^\circ$ en donde θ_B es el ángulo en el que el espectro de B fue separado [20].

Cuando los picos de absorción característicos de A y B están localizados a distintas longitudes de onda, se pueden determinar los ángulos θ_A y θ_B anulando uno de los picos a través de la proyección a distintos ángulos.

Para poder realizar separación de espectros generados por ambas o por los dos picos, es necesario que el retraso de la fase media sea mayor que la precisión de la instrumentación. Así se asuma que el límite para a diferencia de la fase será de $\phi > 5^\circ$ [18].

2.5 Ley de Malus

Un polarizador es un dispositivo óptico sobre el que si incide alguna fuente de luz de entrada, este da como resultado una forma de luz polarizada [21]. En la Figura 2.5, se puede observar que la dirección del campo eléctrico depende del ángulo de polarización. Si el campo eléctrico incidente tiene una magnitud E , el campo eléctrico transmitido por el polarizador tiene una magnitud $E \cos \theta$.

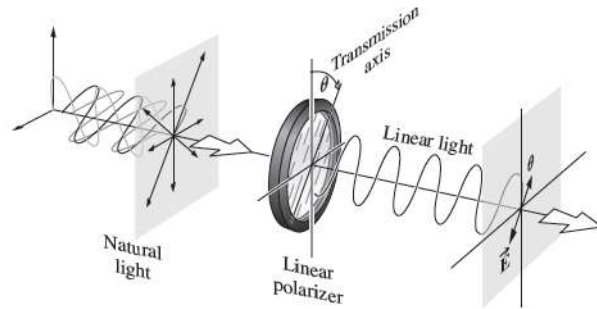


Figura 2.5: Luz natural incide sobre un polarizador lineal inclinado a un ángulo θ con respecto a la vertical [21]

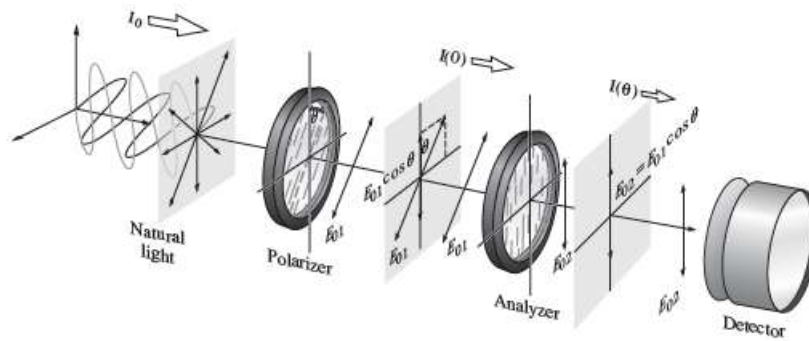


Figura 2.6: Luz natural de irradiancia I_0 incide sobre un polarizador lineal inclinado un ángulo θ con respecto a la vertical. La irradiancia que deja el primer polarizador es $I_1 = I(0)$. La irradiancia que deja el segundo polarizador es $I(\theta)$ [21]

Cuando se tiene un arreglo de dos polarizadores, como el mostrado en la Figura 2.6, la irradiancia que llega al detector es proporcional al cuadrado de la amplitud del campo eléctrico que llega al segundo polarizador, es decir

$$I(\theta) = I(0) \cos^2 \theta \quad (2.29)$$

La fórmula anterior se conoce como la Ley de Malus, la cuál fue publicada en 1809 por Étienne Malus, ingeniero militar y capitán del ejército de Napoleón [21].

Cuando se utiliza luz polarizada como la fuente, la expresión 2.4 está dada por

$$I = \frac{1}{2} I(0) \cos^2 \theta (1 + \cos(\omega t)) \quad (2.30)$$

Es importante notar que la intensidad de la luz incidente depende del ángulo de polarización.

2.6 Montaje experimental

En la Figura 2.7 se muestra el montaje experimental que compone al espectrómetro fotoacústico, el cual consta de las siguientes componentes:

- Una fuente de luz, la cual es una lámpara de Xénon que opera a 700 W.
- Un monocromador para dispersar la luz de la lámpara en sus diferentes longitudes de onda constituyentes y seleccionar una de ellas para el análisis.
- Un modulador mecánico de luz (chopper) para modular la frecuencia del haz a 17 Hz.
- Dos polarizadores de luz de la marca Edmund Optics de 42 mm.
- Una fibra óptica para transmitir el haz de luz monocromado y modulado hacia la celda fotoacústica.
- La celda fotoacústica, en la cuál se coloca la muestra analizar. La celda está cerrada herméticamente con grasa de vacío. Dentro que la celda se encuentra un micrófono de electreto por el cual se detectan las ondas acústicas producidas por las variaciones de presión de la muestra.
- Dos amplificadores Lock-in para amplificar la señal proveniente del micrófono. Además, el amplificador Lock-in se sincroniza con la frecuencia de modulación de la luz para extraer la información espectral de la muestra en amplitud y fase, con alta sensibilidad y precisión.
- Una PC para la adquisición de datos. Por medio del programa LabView, se registra la amplitud y fase de la señal medida en el amplificador en función de la longitud de onda.

Para este trabajo, se analizaron muestras ópticamente opacas, para este tipo de muestras el montaje experimental se muestra en la 2.8. En dicha figura, se coloca la muestra ópticamente opaca dentro de la celda. Esta se cierra herméticamente con una ventana de cuarzo y se sella

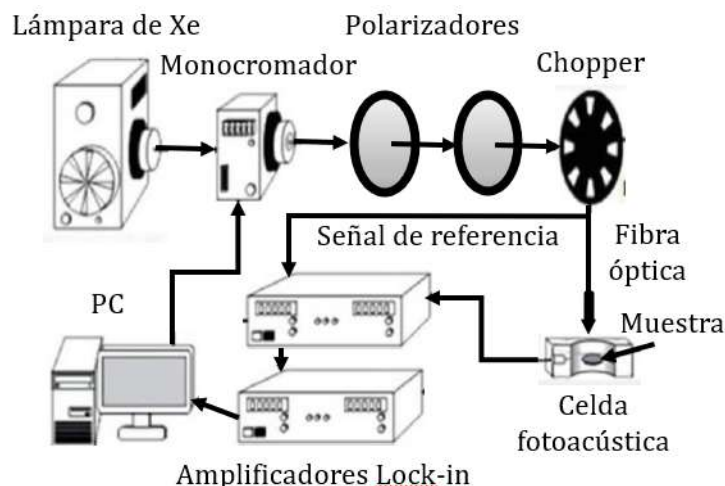


Figura 2.7: Montaje experimental del equipo de espectroscopía fotoacústica con polarizadores

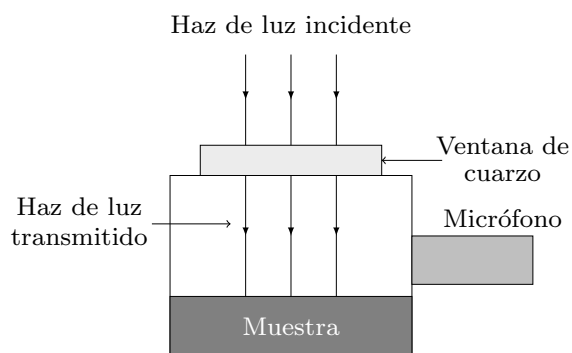


Figura 2.8: Configuración de la celda fotoacústica para las muestras estudiadas en la presente tesis

con grasa de vacío. El haz de luz modulado atraviesa la ventana e incide sobre la muestra, generando un espectro de absorción resultado de la absorción de luz de la muestra.

Capítulo 3

Resultados y Discusión

En este capítulo se presentan los resultados de las mediciones realizadas del espectro de emisión de la lámpara y de las cuatro muestras estudiadas. Para el análisis de datos, en el caso del método de separación en la fase, se realizó según lo descrito en el capítulo 2.

3.1 Espectro de emisión de la lámpara

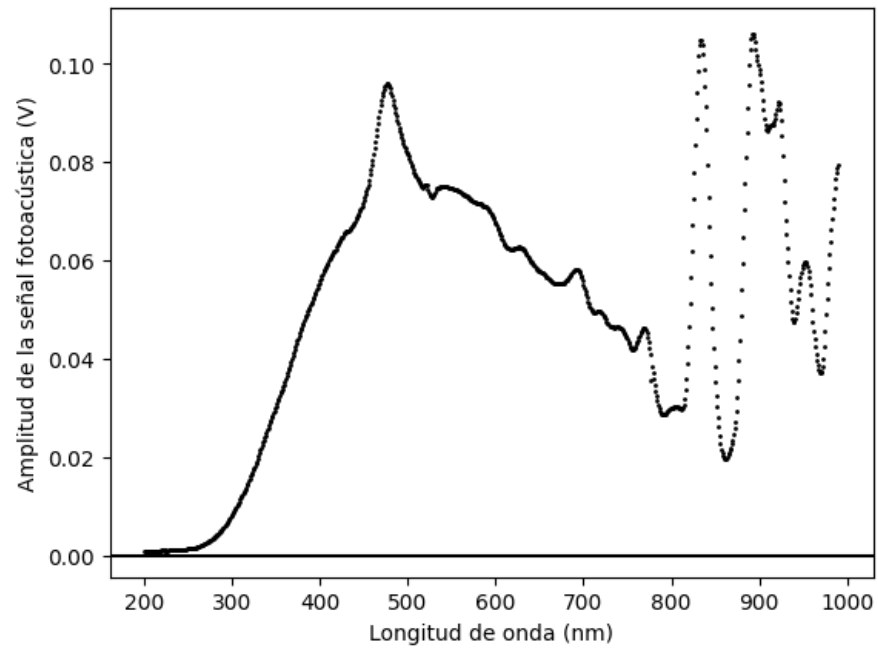
Para obtener el espectro de absorción correcto de las muestras analizadas en este trabajo, es necesario normalizar su espectro de absorción original con respecto del espectro de emisión de la lámpara. Para ello, se emplea el grafito en polvo, ya que este material absorbe por igual la radiación electromagnética incidente en el rango de 200 a 990 nm, correspondiente al espectro de emisión de la lámpara de xenón.

Se obtuvo el espectro de emisión de la lámpara, el cual se muestra en la Figura 3.1(a). Posteriormente, utilizando polarizadores, se obtuvo el espectro de emisión de la lámpara en diferentes ángulos de polarización, cuyos resultados se presentan en la Figura 3.1(b).

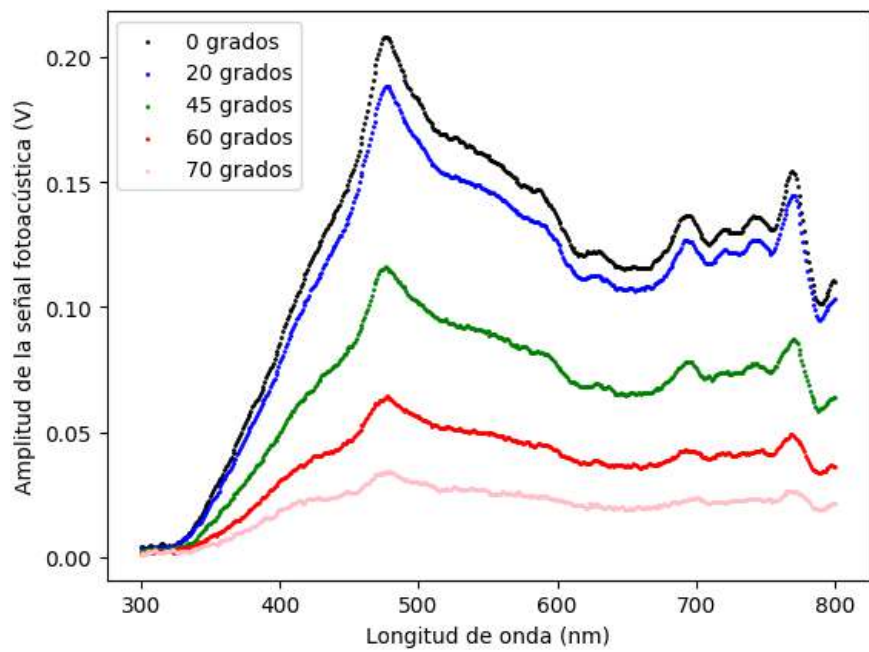
Con los espectros de emisión de la lámpara obtenidos, se procedió a normalizar el espectro de absorción de las muestras, ajustando al ángulo correspondiente.

3.2 Comprobación de la Ley de Malus

Con base en la Ley de Malus, descrita en la ecuación 2.29 dado que la señal fotoacústica es directamente proporcional a la intensidad de la lámpara, se calcularon los valores teóricos de la emisión de la lámpara a una longitud de onda de 470 nm para los distintos ángulos de polarización medidos. Los valores calculados, junto con los valores medidos, se presentan en la Tabla 3.1, donde también se muestran los errores porcentuales para cada ángulo. Se observa que el menor error porcentual es de 1.90 %, lo que indica que la Ley de Malus modela con gran precisión el experimento para ángulos entre 0° y 20° . Por otro lado, los mayores errores están posiblemente asociados a la naturaleza de la función $\cos^2 \theta$, la cual decae rápidamente a cero conforme el ángulo se aproxima a 90° , lo que hace que el valor teórico calculado se aproxime rápidamente a cero. Además, hay que tomar en cuenta que en el montaje experimental, los



(a)



(b)

Figura 3.1: (a) Espectro de emisión de la lámpara de Xe y (b) espectro de emisión con diferentes grados de polarización de la luz incidente.

fenómenos de dispersión y reflexión son más significativos cuando la intensidad de la luz disminuye conforme el ángulo se aproxima a 90° .

Tabla 3.1: Valores de la absorción, calculados por la Ley de Malus, y medidos del espectro de emisión de la lámpara, a través de la magnitud de la señal fotoacústica, a una longitud de onda de 470 nm para los distintos ángulos de polarización de la lámpara y los errores porcentuales asociados. En donde utilizó como I_0 , en la ecuación de Malus, la magnitud de la señal fotoacústica a cero grados

Ángulo ($^\circ$)	Absorción teórica (a.u)	Absorción medida (a.u)	Error porcentual (%)
20	0.176	0.179	1.90
45	0.099	0.111	11.75
60	0.049	0.061	23.29
70	0.023	0.033	43.13

3.3 Alga Nori (*Porphyra Yezoensis*)

Las muestras analizadas de *Porphyra Yezoensis* (PY) fueron de la marca comercial Great Value. Para su análisis, se colocó un fragmento de la muestra en la celda fotoacústica como se observa en la Figura 2.8. Debido a método de producción del alga, las láminas de alga tienen dos caras, una lisa y una rugosa. Por medio del uso del Microscopio de la marca Edmund Optics, se obtuvieron imágenes de la superficie de las muestras analizadas. En la Figura 3.2 se muestran ambas caras de la PY.

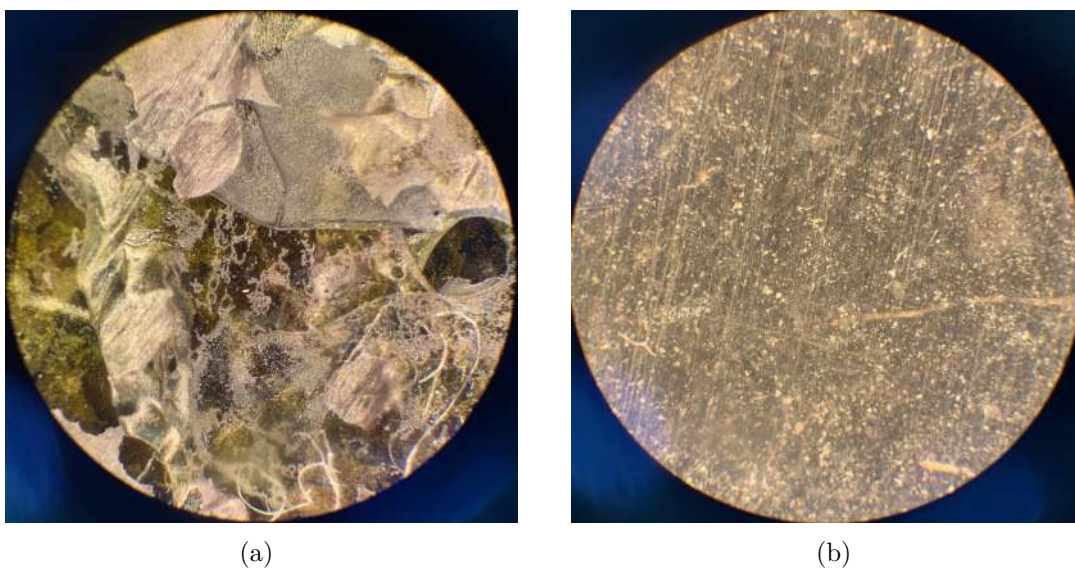


Figura 3.2: Superficie de la muestra PY de las caras (a) rugosa y (b) lisa.

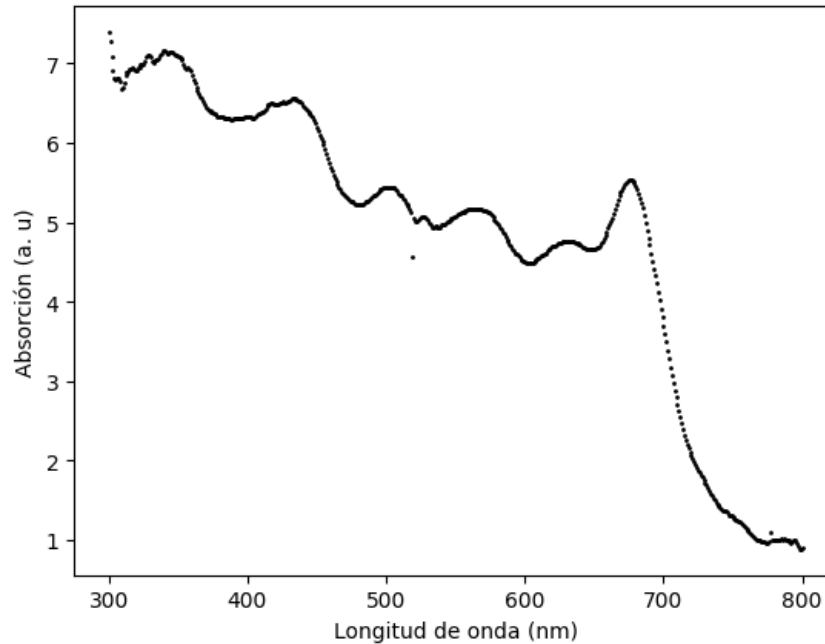


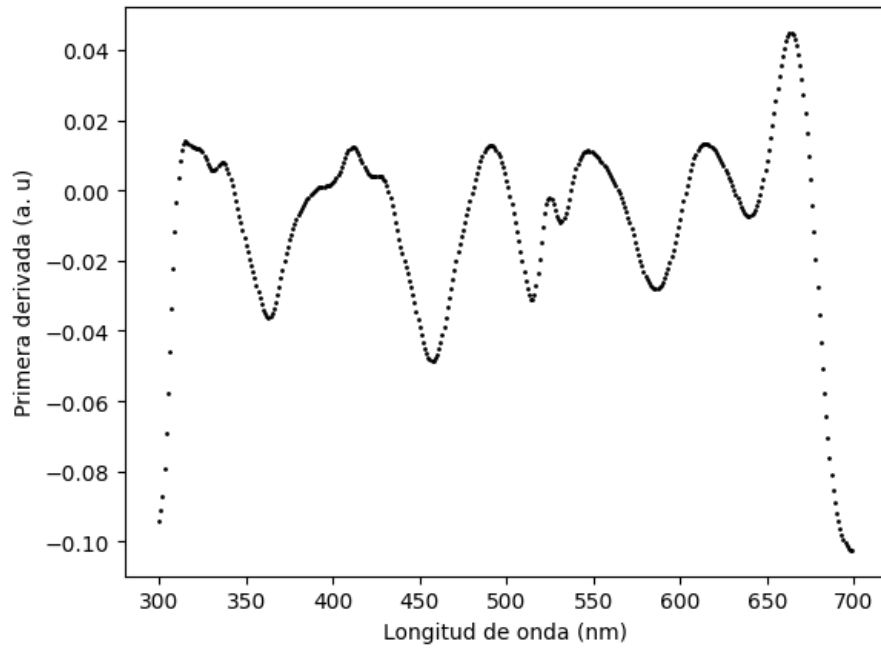
Figura 3.3: Espectro de absorción de la *PY*

Primero se obtuvo el espectro de absorción de la *PY*, el cual se muestra en la Figura 3.3. De dicha figura, se pueden observar varios picos de absorción asociados a los pigmentos presentes en el alga. Para identificar con mayor precisión los pigmentos de la *PY*, se calcularon la primera y segunda derivada del espectro de absorción, los espectros la primera y segunda derivada se presentan en la figura 3.4.

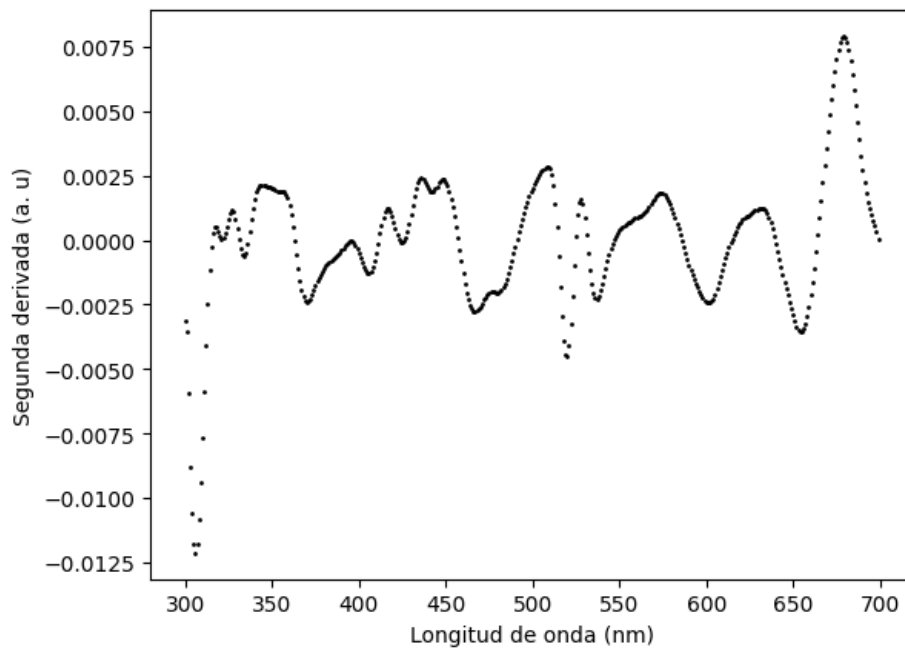
Las algas contienen una gran cantidad de pigmentos que absorben luz por la fotosíntesis. Los pigmentos fotosintéticos que predominan son las clorofilas, los carotenos y las ficobiliproteínas [7]. La clorofila (Chl) es el principal pigmento fotosintético. Todos los organismos fotosintéticos contienen Chl a, ya que todos deriban de un común antecesor. Hasta el día de hoy, se han descrito seis tipos de clorofila (a, b, c1, c2, d y f) y todos los grupos de Chls pueden absorber energía lumínica eficientemente entre 400 y 500 nm y entre 650 a 720 nm [8]. La estructura molecular de la Chl a se muestra en la figura 3.5(a). Del análisis de la primera y segunda derivada, reveló picos de absorción a 431 y 679 nm, correspondientes a la clorofila a.

Otro pigmento fotosintético presente en las algas son las ficobiliproteínas, las cuales son solubles en agua que, al romperse las células, se liberan fácilmente y producen soluciones de color azul o rojo vibrantes. Los principales tipos de ficobiliproteínas son las ficocianinas (PC), las aloficocianinas (APC) y las ficoeritrinas (PE). Las ficobiliproteínas absorben en gran parte del espectro visible como puede observarse en la Figura 3.7(a). Las estructuras moleculares de la ficobiliproteínas se muestran en la figura 3.5(b). Del análisis de la primera derivada se observó un hombro a 525 nm asociado a la PE. Por otro lado, del la segunda derivada se identificaron picos a 509, 528 y 574 nm, asociados con la PE, y un pico a 631 nm, correspondiente a la PC.

Adicionalmente, las algas tienen pigmentos carotenoides, los cuales son omnipresentes en los organismos fotosintéticos. La estructura molecular de algunos tipos de carotenoides se muestra



(a)



(b)

Figura 3.4: (a) Primera y (b) segunda derivada del espectro de absorción óptico de la PY.

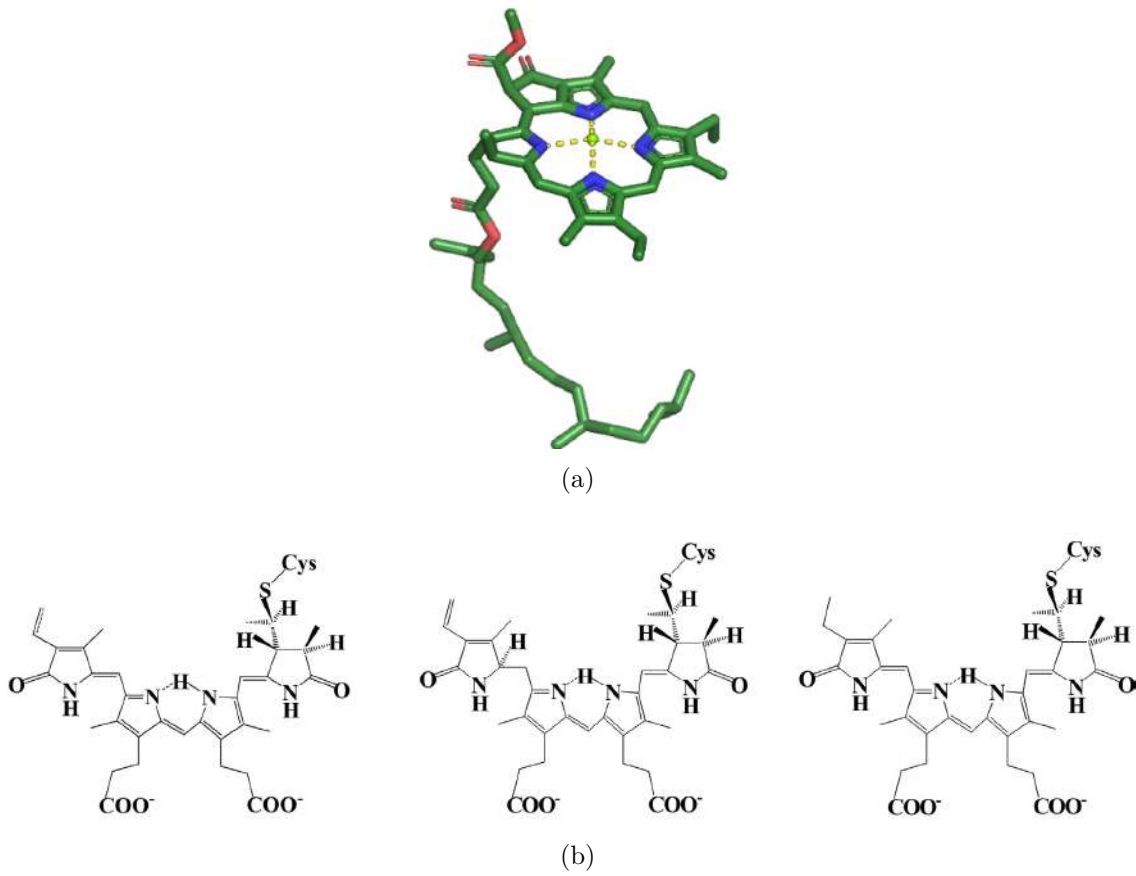


Figura 3.5: Estructura molecular de (a) la clorofila a [8] y (b) las ficobiliproteínas: a la izquierda ficyanina, en medio ficoeritrina y a la derecha aloficyanina [22].

en la figura 3.6. En solventes orgánicos los carotenoides de algas típicamente exhiben un triple pico de absorción en la región de 400-500 nm en donde la clorofila también absorbe [7] como puede observarse en la figura 3.7(b). Del análisis de la segunda derivada, se observaron picos a 416 y 448 nm, atribuibles a los carotenoides presentes en el alga.

Utilizando la configuración mostrada en la Figura 2.7, se obtuvo el espectro de absorción de la *PY* para distintos ángulos de polarización, el resultado se presenta en la Figura 3.8. En esta figura se puede observar que el espectro de absorción disminuye para mayores valores del ángulo de polarización. También se puede notar que los picos de absorción se conservan para cada ángulo, siendo el pico de absorción a 680 nm el más marcado.

Debido a la diferencia de las superficies de la *PY*, se obtuvo el espectro de absorción de ambas caras de la muestra, el cual se presenta en la Figura 3.9. De la figura, se observa que la absorción es ligeramente mayor en la cara lisa en comparación con la rugosa para ambos ángulos de polarización medidos. Para cuantificar la relación entre los espectros de absorción de cada cara, en la Tabla 3.2 se presentan las razones entre los picos de absorción a 0° y 60°, localizados en 489 y 677 nm. Los valores obtenidos indican que las razones entre los picos de absorción en la cara rugosa son menores que en la cara lisa, lo que sugiere que la luz polarizada tiene una mayor influencia en la absorción de la cara rugosa, esto también reflejaría el hecho de que los materiales rugosos dispersan más la luz.

Tabla 3.2: Razones entre los picos de absorción para las caras lisa y rugosa de la *PY* en donde abs_0 y abs_{60} son los valores de absorción a 0° y 60° respectivamente

Cara	abs_{60}/abs_0 en 489 nm	abs_{60}/abs_0 en 677 nm
Lisa	0.928	0.901
Rugosa	0.900	0.887

3.4 Cebolla morada (*Allium cepa var. cepa*)

Las muestras analizadas de *Allium cepa var. cepa* (*AC*) fueron adquiridas de un mercado local de la Ciudad de México. Se colocó un fragmento de la muestra en la celda fotoacústica, como se observa en la Figura 2.8, siendo la superficie de color morado sobre la que incida el haz de luz. En la figura 3.10 se presenta la imagen de la muestra utilizada obtenida por medio del microscopio.

Se obtuvo inicialmente el espectro de absorción de la muestra, el cual se presenta en la Figura 3.11. En dicha figura se observan dos bandas de absorción: la primera entre 300 y 400 nm, y la segunda entre 500 y 600 nm. Para asociar estas bandas con los pigmentos presentes en la cebolla, se empleó el procedimiento de separación en la fase descrito en el capítulo 2. El espectro resultante se muestra en la Figura 3.12.

El espectro de la separación del segundo pico de absorción revela dos bandas de absorción: la primera, entre 400 y 500 nm, corresponde a los carotenoides presentes en la cebolla, que absorben en este rango, como se observa en la Figura 3.7(b). La segunda banda, entre 500

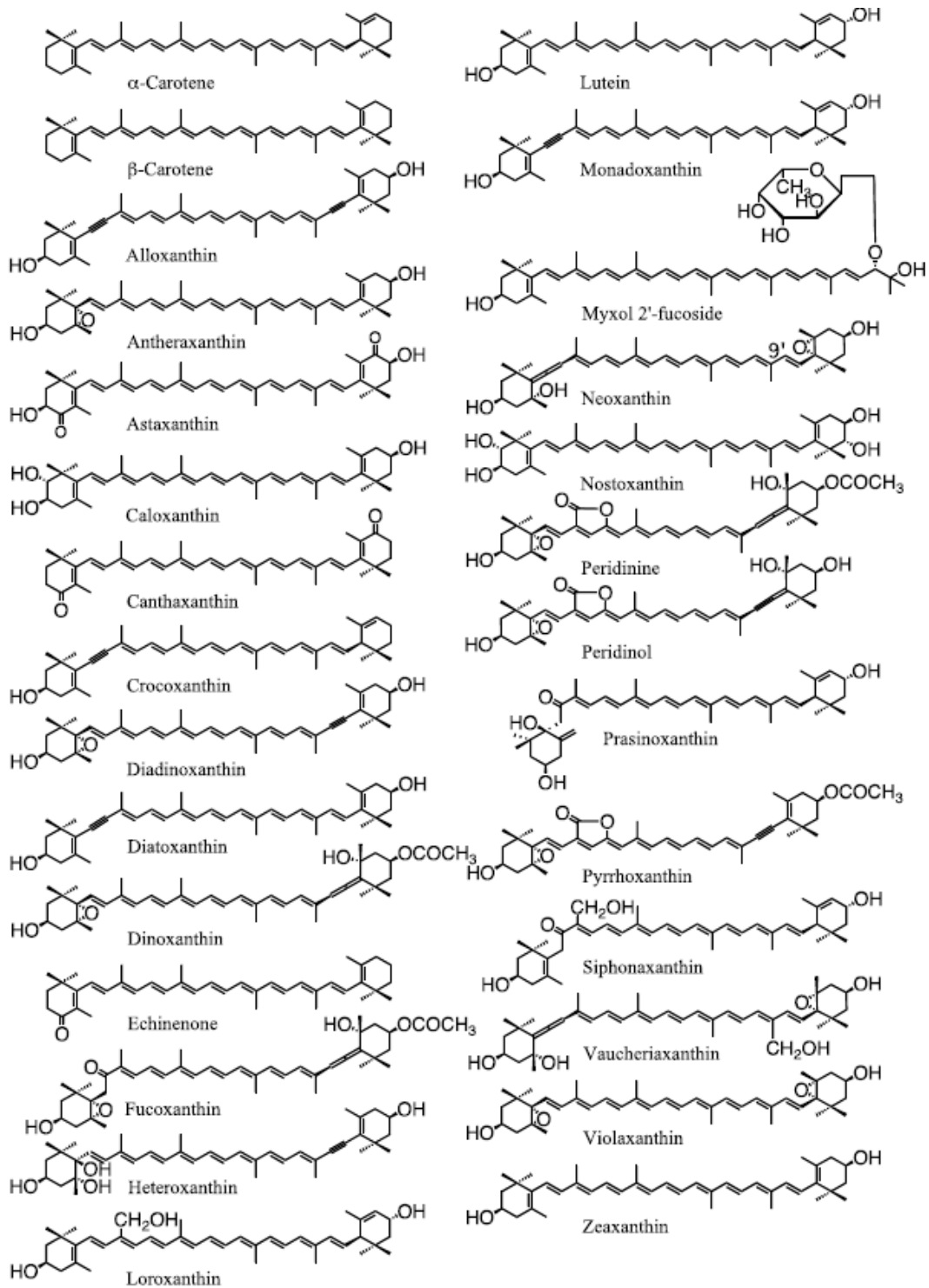
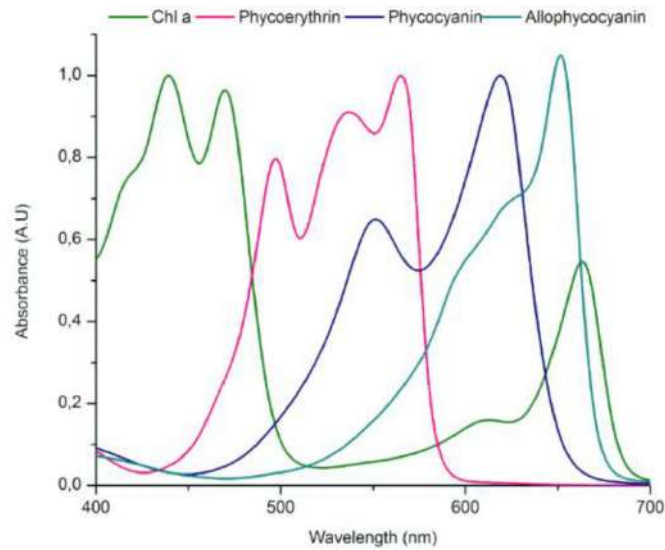
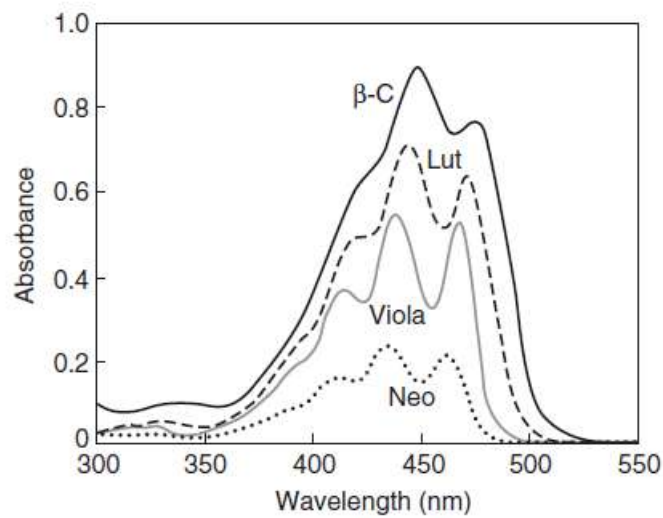


Figura 3.6: Estructura molecular de algunos tipos de carotenoides [23].



(a)



(b)

Figura 3.7: Espectro de absorción de (a) la Chl a, la ficoeritrina (phycoerithrin), la ficocianina (phycocyanin) y la aloficocianina (allophycocyanin) [8]; y (b) los carotenoides β -caroteno (β -C), luteina (Lut), violaxantina (Vio) y neoxantina (Neo) [24]

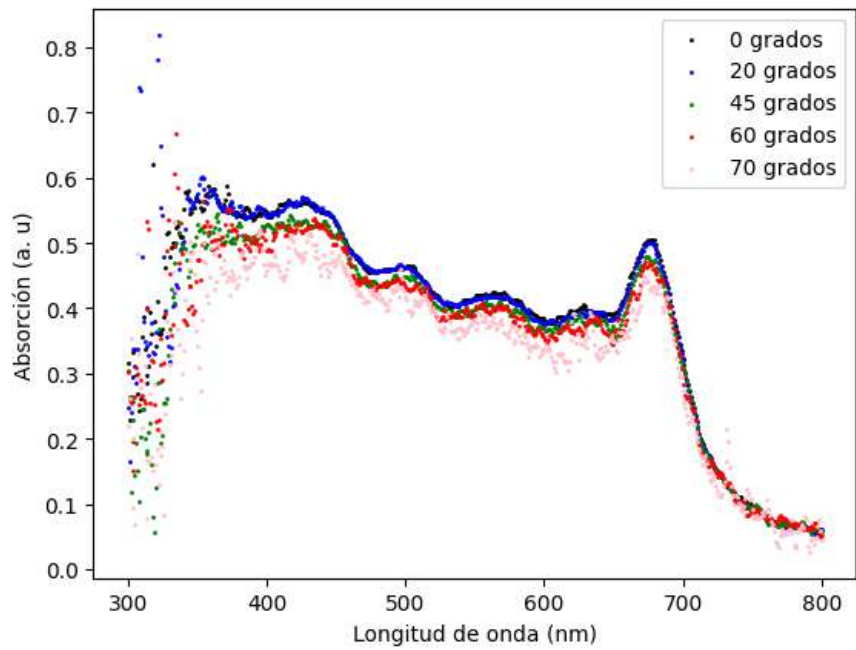


Figura 3.8: Espectro de absorción óptico de la *PY* para distintos ángulos de polarización

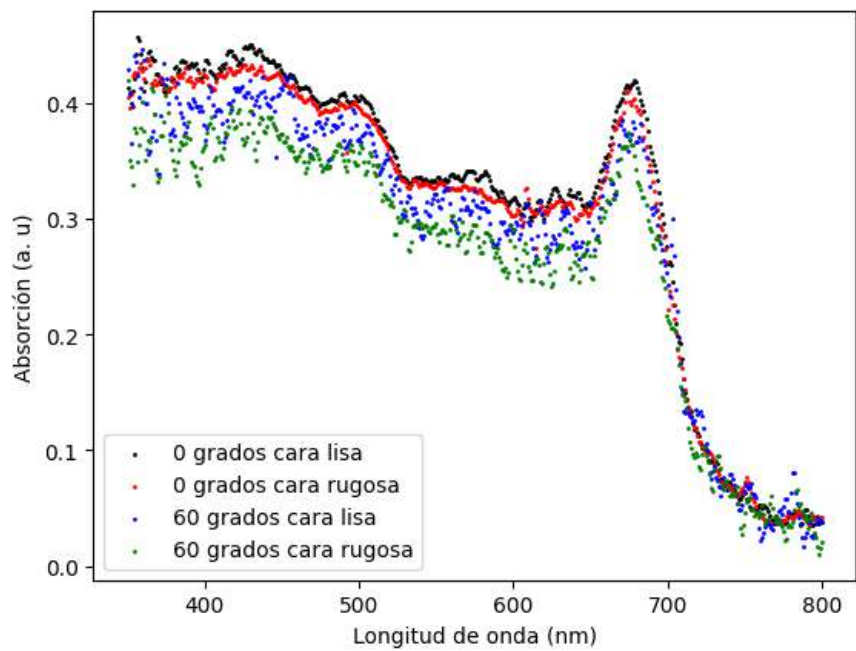


Figura 3.9: Espectro de absorción de la *PY* de las caras lisa y rugosa a ángulos de polarización de 0° y 60°

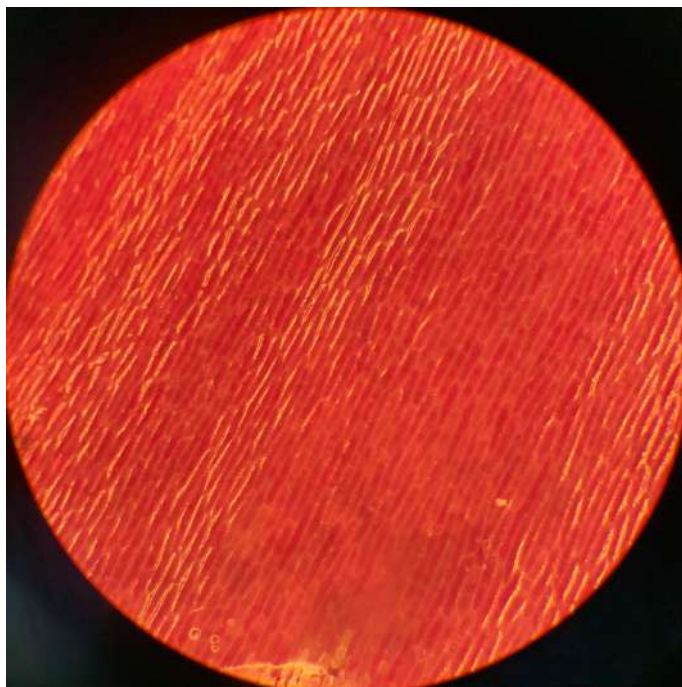


Figura 3.10: Superficie de color de la muestra *AC*

y 600 nm, está asociada a las antocianinas, una de las seis subclases de flavonoides [25], las cuales absorben entre 500 y 550 nm [9]. Las antocianinas son pigmentos disueltos en la savia vacuolar de los tejidos epidérmicos de flores y frutos, a los que aportan colores rosados, rojos, azules o púrpuras [25].

Por otro lado, el espectro de la separación del primer pico de absorción muestra otra banda de absorción entre 300 y 400 nm, asociada a los flavonoles, que absorben en el rango de 352 a 385 nm [9]. Los flavonoles son los flavonoides predominantes en las escamas pigmentadas de las cebollas, siendo la quercetina la principal. Las estructuras moleculares de las seis clases de flavonoides se muestran en la figura 3.13. La diversidad estructural de los flavonoles menores en cebollas es considerable e incluye derivados de kaempferol, isorhamnetina y posiblemente miricetina [26].

En la Figura 3.14 se presenta el espectro de absorción de la *AC* a distintos ángulos de polarización. En esta figura se puede observar que el espectro de absorción se mantiene casi constante hasta los 60° del ángulo de polarización. También se puede observar el pico de absorción a 561 nm se conserva en cada ángulo.

Sin embargo, en la Figura 3.10 se observa que la superficie morada de la cebolla presenta anisotropía. Por ello, se optó por obtener el espectro de absorción de la misma cara, pero ahora realizando una rotación extrema de 90°, con el fin de determinar si existía alguna orientación preferencial.

En la Figura 3.15 se presenta el espectro de absorción a dos ángulos de polarización de la superficie morada de la *AC* en la posición inicial y en la posición rotada. En la figura, se puede observar que los espectros de absorción de los dos ángulos de polarización analizados rotados

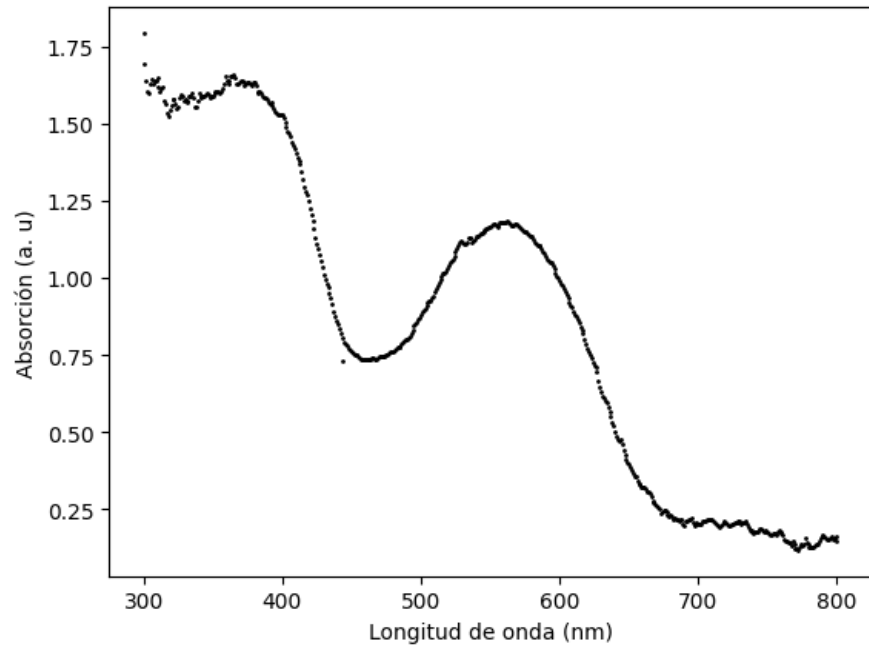


Figura 3.11: Espectro de absorción óptico de la AC.

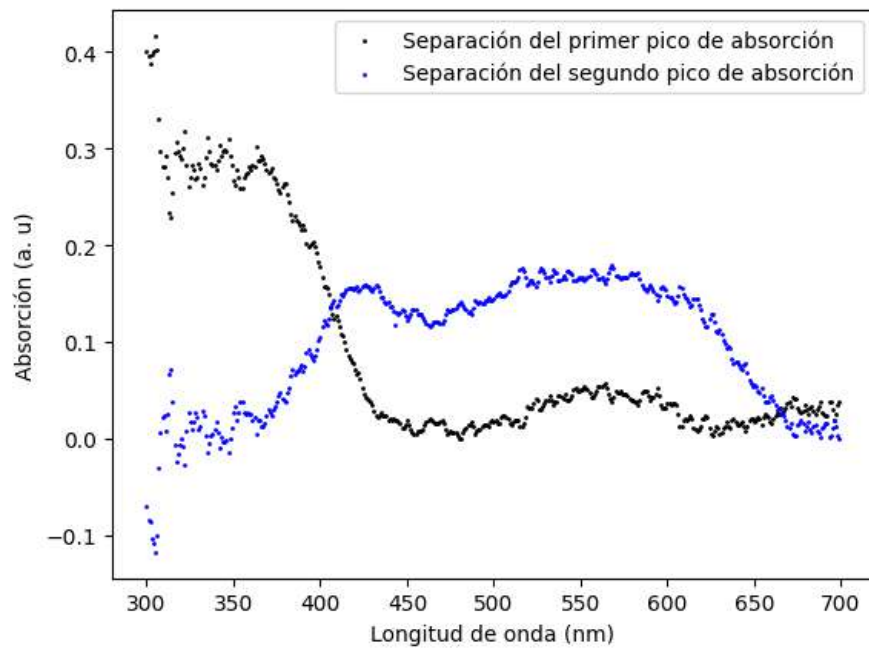


Figura 3.12: Separación en la fase del espectro de absorción óptico de la AC.

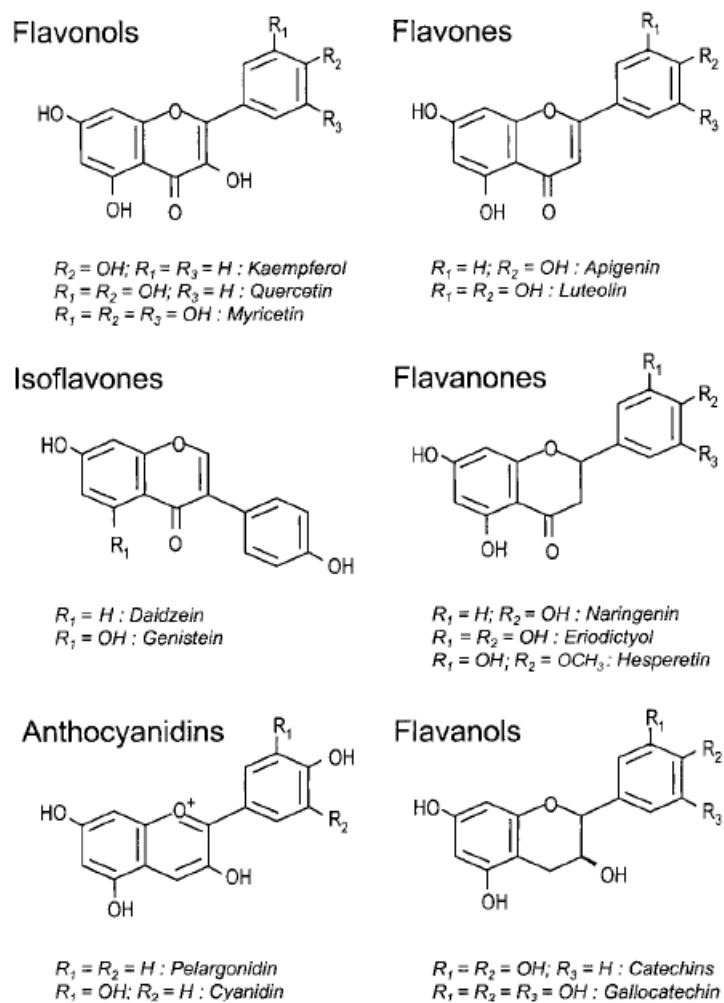


Figura 3.13: Estructura molecular de las seis clases de flavonoides [25].

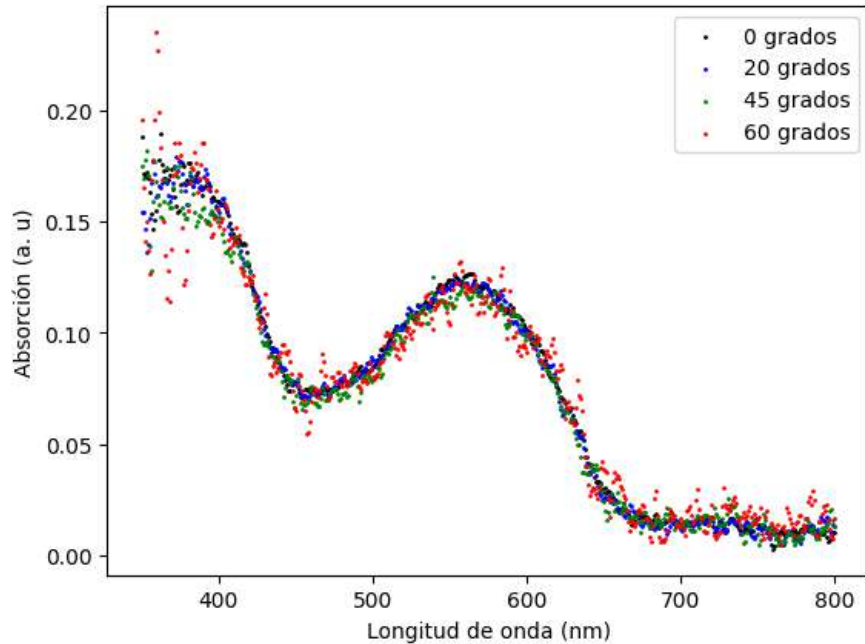


Figura 3.14: Espectro de absorción óptico de la AC para distintos ángulos de polarización

se encuentra por encima de los de la posición inicial. Para cuantificar la relación entre los espectros de absorción, se calculó la razón entre los picos ubicados en 561 nm para el espectro de absorción suavizado. Se obtuvo que el valor de la absorción a 60° entre la absorción a 0° en las posiciones inicial y rotada fueron 0.824 y 0.942 respectivamente. Con base en los valores obtenidos de las razones entre picos y de la figura 3.15, se puede observar claramente que la cebolla tiene una absorción anisotrópica.

3.5 Espinaca (*Spinacia oleracea L.*)

Las muestras analizadas de *Spinacia oleracea L.* (SO) en este estudio fueron adquiridas de un mercado local de la Ciudad de México. En la Figura 3.16, se presenta una imagen de la superficie de una de las muestras obtenida mediante el microscopio.

La muestra de la SO es ópticamente opaca y, se colocó un fragmento en la celda fotoacústica, tal como se ilustra en la Figura 2.8. Primero, se obtuvo el espectro de absorción, el cual es mostrado en la Figura 3.17. En este espectro se observa la presencia de varios picos y hombros de absorción en diferentes longitudes de onda. Para identificar dichos picos y hombros, se realizó una separación en la fase según el procedimiento descrito en la capítulo 2, cuyos resultados se presentan en la Figura 3.18.

En la separación del segundo pico de absorción del espectro, se observó que los hombros entre 400 y 500 nm se transforman en dos picos de absorción en esa misma región. Estos picos corresponden a pigmentos como las clorofilas a y b, y carotenoides como β -caroteno, luteína, violaxantina y neoxantina, todos presentes en la espinaca, y cuyas absorciones en ese rango de longitudes de onda se muestran en las Figuras 3.19(a) y 3.7(b). Además, el pico a 683 nm

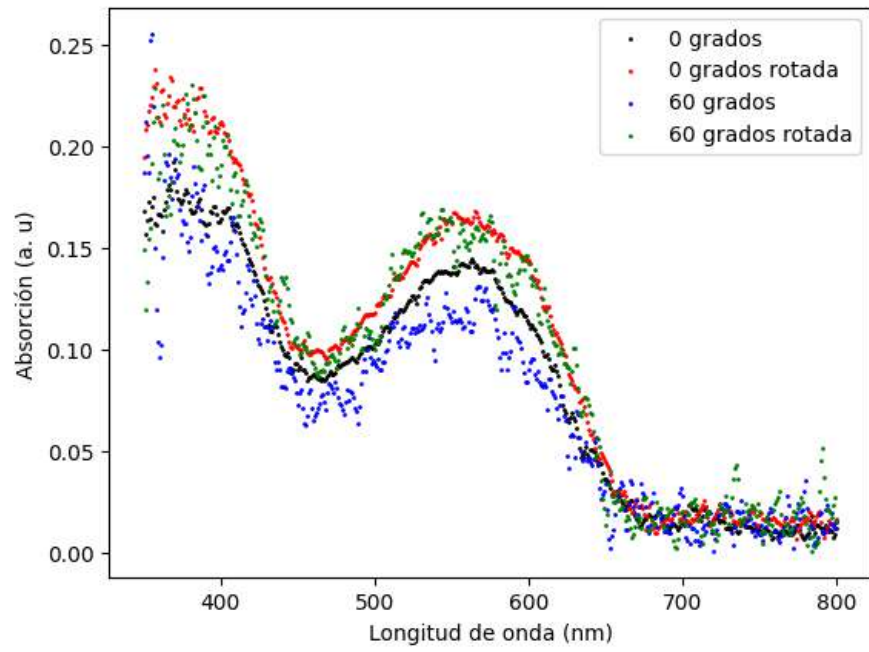


Figura 3.15: Espectro de absorción óptica de la AC de la superficie en su posición (a) inicial y (b) rotada un ángulo de 90°.



Figura 3.16: Superficie de de la muestra SO

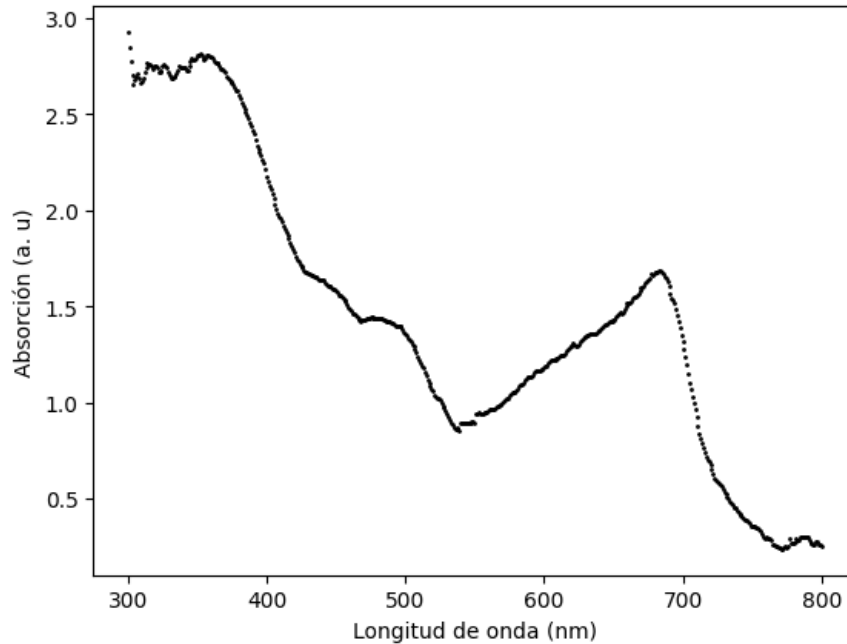


Figura 3.17: Espectro de absorción óptico de la *SO*

está relacionado con la absorción de la chl a en la región de 600 a 700 nm.

Por otro lado, la separación del primer pico de absorción del espectro, revela una banda de absorción entre 300 y 400 nm, asociada a flavonoides como la quercetina, la miricetina y la espinacina [27], así como a ácidos fenólicos como el ferúlico y el caféico, presentes en la espinaca [28]. La estructura molecular de los ácidos fenólicos se ilustra en la figura 3.20. Los flavonoides absorben entre 304 y 385 nm [9], mientras que los ácidos fenólicos lo hacen entre 200 y 375 nm, como se muestra en la Figura 3.19(b).

Utilizando la configuración mostrada en la Figura 2.7, se obtuvo el espectro de absorción óptico de la *SO* para distintos ángulos de polarización. De la figura 3.21, se puede observar los espectros a 20° y 45° se encuentran ligeramente por arriba del espectro a cero grados hasta antes de llegar al pico de absorción a 683 nm. Sin embargo, para el ángulo de 60° no se repite el mismo patrón. Lo anterior sugiere que en el caso de la espinaca, podría existir un ángulo de polarización óptimo entre 20° y 45° . Sin embargo de la imagen 3.16 no parece presentar anisotropía, por lo cual un mayor estudio es requerido.

3.6 Grana cochinilla (*Dactylopius coccus Costa*)

Las últimas muestras analizadas en la presente tesis corresponden a la grana cochinilla cuyo nombre científico es *Dactylopius coccus Costa* (*DCC*).

La muestra consiste en pequeños fragmentos de la de la *DCC* y es ópticamente opaca, por lo cual, se colocó un fragmento en la celda fotoacústica, tal como se ilustra en la Figura 2.8. Primero, se obtuvo el espectro de absorción, mostrado en la Figura 3.22. En este espectro se

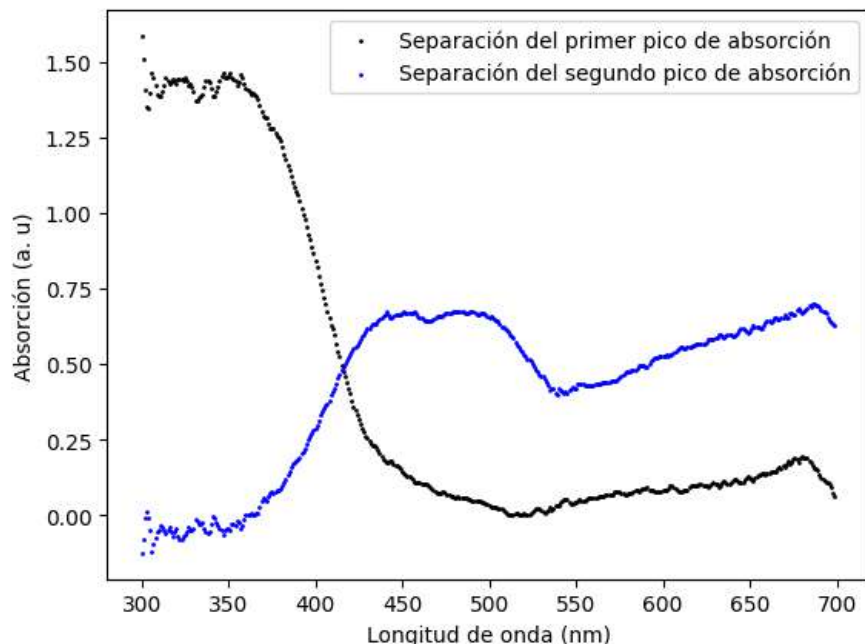


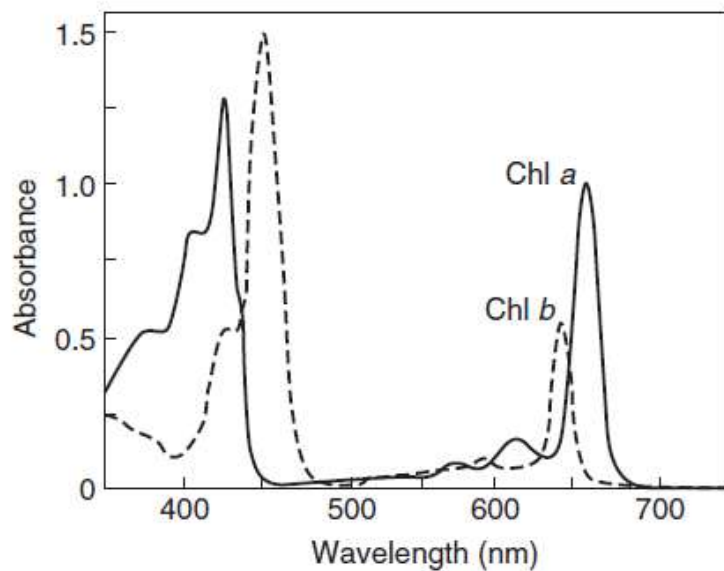
Figura 3.18: Separación en la fase del espectro de absorción óptico de la *SO*.

observa la presencia una banda de absorción bastante amplia entre 400 y 600 nm. Para estudiar de mejor forma dicha banda, se realizó una separación en la fase según el procedimiento descrito en la capítulo 2, cuyos resultados se presentan en la Figura 3.23.

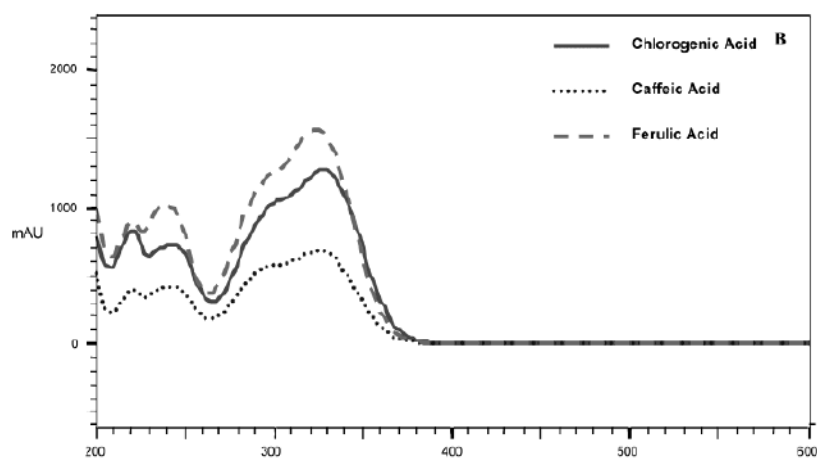
En la separación del primer pico de absorción del espectro, se observan dos hombros, uno entre 300 y 400 nm y otro entre 400 y 600 nm, estos dos hombros están asociados al ácido carmínico presente en la *DCC*. El ácido carmínico tiene varios picos de absorción entre 200 y 600 nm, como se observa en la Figura 3.24, siendo la longitud de onda de 275 nm a la que más absorbe [30]. La estructura molecular del ácido carmínico se ilustra en la Figura 3.25. El segundo pico de absorción podría estar relacionado con algún residuo vegetal con clorofila, del hábitat de este insecto (grana cochinilla), por el pico de absorción cercano a 670 nm, sin embargo es necesario un mayor estudio para corroborar esta hipótesis.

Utilizando la configuración mostrada en la Figura 2.7, se obtuvo el espectro de absorción óptico de la *DCC* para distintos ángulos de polarización. De la Figura 3.26 se puede observar que el espectro de absorción disminuye ligeramente a mayor sea el ángulo de polarización, sin embargo la muestra *DCC* corresponde al fragmentos del insecto y no parecería tener una anisotropía en su estructura, por lo que no se esperaría alguna diferencia en los espectros con luz polarizada.

La estructura molecular de los pigmentos desempeña un papel crucial en los espectros de absorción de las muestras analizadas. En transiciones que ocurren en el rango de 200 a 800 nm, los cromóforos contienen electrones (n o π) débilmente enlazados. La posición, intensidad y ancho de las bandas de absorción proporcionan información valiosa sobre la estructura e interacciones de la muestra. Estas bandas pueden experimentar un corrimiento al rojo (desplazamiento hacia longitudes de onda mayores) o un corrimiento al azul (desplazamiento



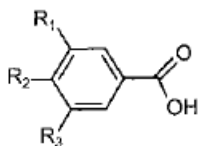
(a)



(b)

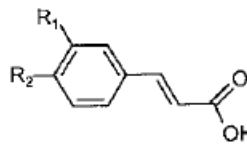
Figura 3.19: Espectro de absorción de (a) las Clorofilas a y b [24] y (b) los ácidos clorogénico, cafeico y ferúlico [29]

Hydroxybenzoic acids



$R_1 = R_2 = OH, R_3 = H$: Protocatechuic acid
 $R_1 = R_2 = R_3 = OH$: Gallic acid

Hydroxycinnamic acids



$R_1 = OH$: Coumaric acid
 $R_1 = R_2 = OH$: Caffeic acid
 $R_1 = OCH_3, R_2 = OH$: Ferulic acid

Figura 3.20: Estructura molecular de las dos clases de ácidos fenólicos [25].

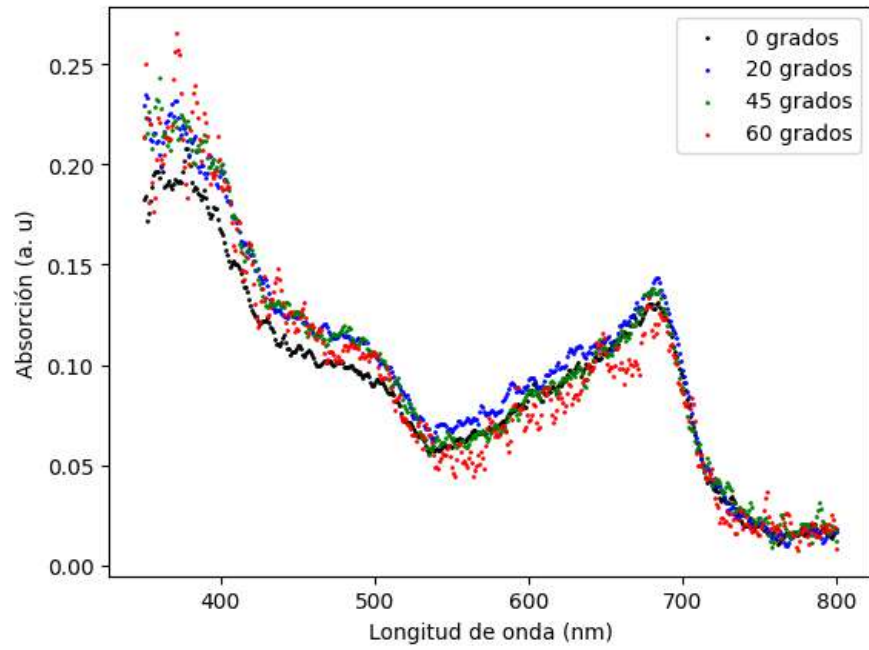


Figura 3.21: Espectro de absorción óptico de la *SO* a distintos ángulos de polarización.

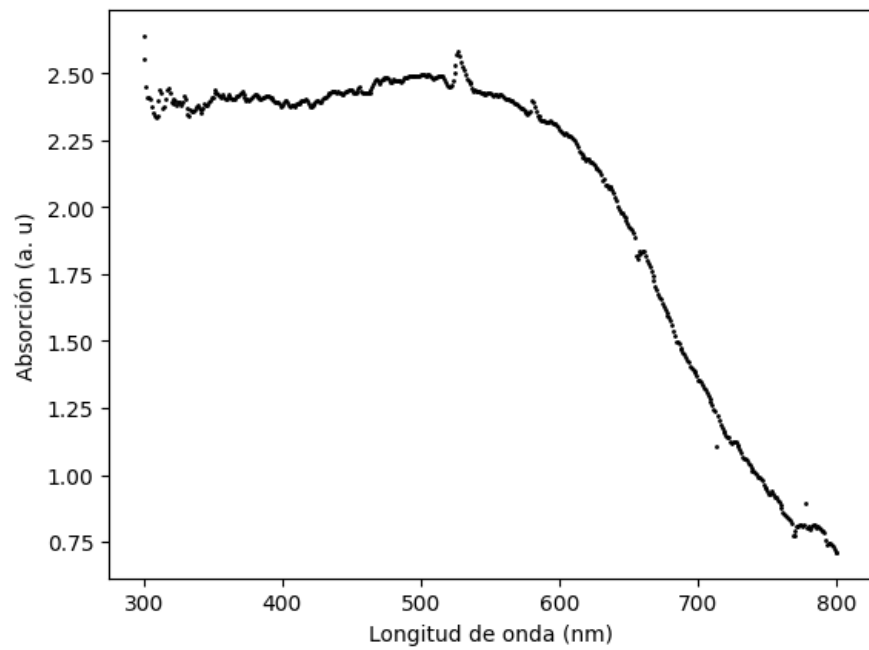


Figura 3.22: Espectro de absorción óptico de la *DCC*

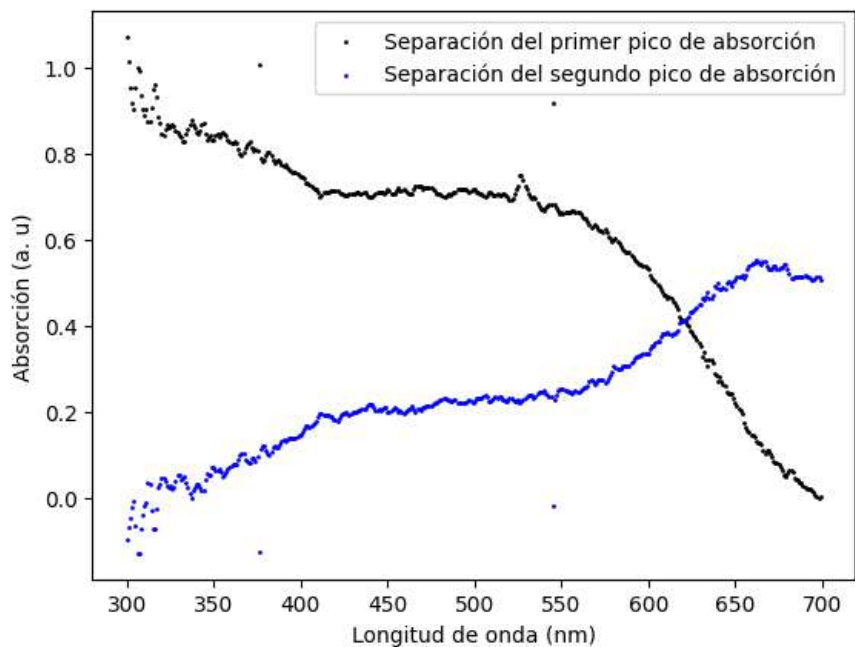


Figura 3.23: Sepación en la fase del espectro de absorción óptico de la *DCC*.

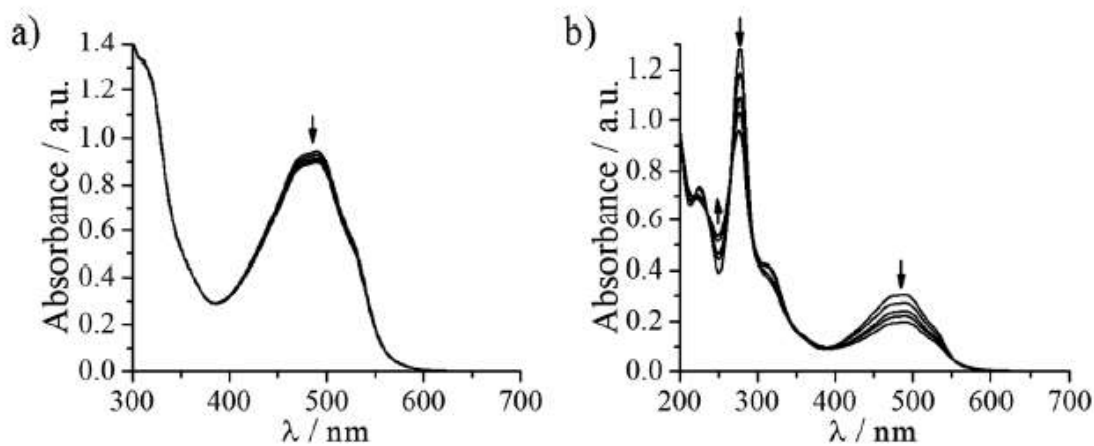


Figura 3.24: Evolución del espectro de absorción UV-Vis del ácido carmínico usando las longitudes de onda de excitación de (a) 420 nm y (b) 300 nm [31]

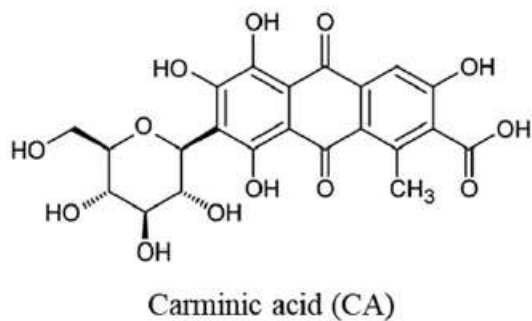


Figura 3.25: Estructura molecular del ácido carmínico [31].

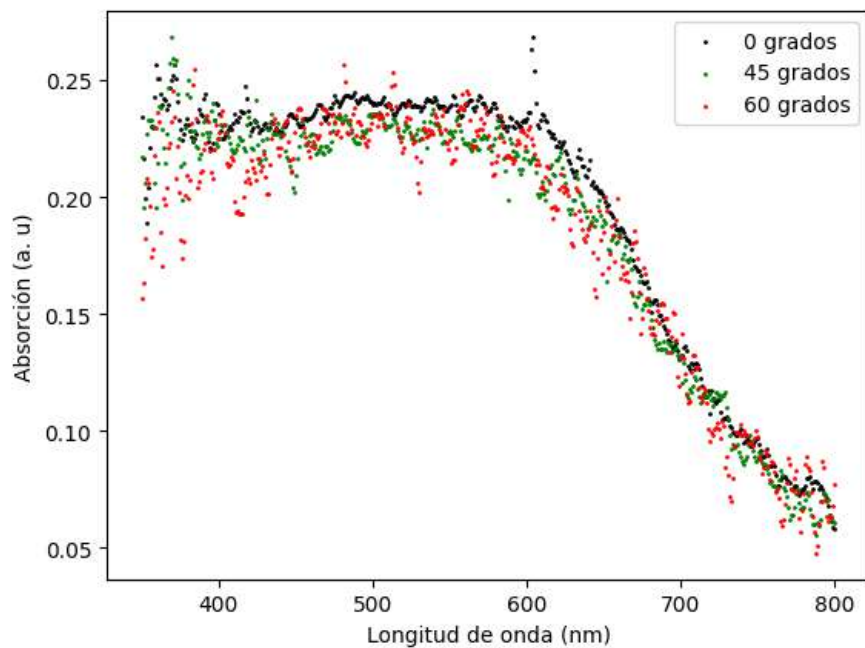


Figura 3.26: Espectro de absorción óptico de la *DCC* a distintos ángulos de polarización.

hacia longitudes de onda menores).

Por ejemplo, al analizar la absorción de sistemas con π -electrones:

- En péptidos, que tienen sistemas de π -electrones pequeños, el máximo de absorción ocurre alrededor de 190 nm.
- En el caso de ácidos nucleicos, con sistemas de π -electrones más grandes, la absorción se localiza cerca de 260 nm.
- En sistemas aún más extensos, como el β -caroteno, los máximos de absorción se encuentran entre 400 y 500 nm.
- De manera similar, la clorofila absorbe en torno a los 400 nm.

Si se modela un sistema de π -electrones utilizando una aproximación de caja de potencial de longitud l (donde l corresponde a la longitud de la cadena de enlaces conjugados), los valores propios de la energía, E_n , están determinados por:

$$E_n = \frac{h^2 n^2}{8ml^2} \quad (3.1)$$

De la expresión anterior, se puede observar que la energía depende de la longitud de la cadena l [32].

Las moléculas que absorben luz presentan anisotropía óptica, lo que significa que la probabilidad de absorción depende de la orientación del momento dipolar de transición en relación con el vector eléctrico de la luz incidente. En materiales compuestos principalmente por moléculas orientadas, esta estructura anisotrópica puede destacar características específicas de absorción cuando se utiliza luz polarizada linealmente.

Capítulo 4

Conclusiones y Perspectivas

Esta investigación analizó el impacto de la luz polarizada en la absorción de pigmentos en muestras biológicas mediante espectroscopía fotoacústica, identificando en algunas muestras variaciones espectrales a distintos ángulos de polarización.

Los métodos de análisis de primera y segunda derivada, junto con el método de separación en fase, permitieron identificar, con base en la literatura, los pigmentos presentes en cada muestra. Se observó que la orientación de la muestra afecta el espectro de absorción, particularmente en la cebolla. Para cuantificar estas diferencias, se calcularon las razones entre picos a longitudes de onda específicas.

Los espectros obtenidos revelan que la luz polarizada influye de manera diferente, dependiendo del ángulo de polarización, la composición pigmentaria y la estructura geométrica. Además, los resultados experimentales confirmaron la validez de la Ley de Malus, con mayor precisión para ángulos menores a 20° .

Uno de los desafíos más relevantes para un futuro trabajo será controlar con exactitud la orientación de las muestras para reducir la variabilidad en los datos. Asimismo, en el caso de la cebolla, su coloración cambia tras varias horas de exposición a la luz, lo cual puede afectar resultados, debido a la fotodegradación de la muestra. Para estudios futuros también, se recomienda considerar con mayor detalle la estructura y composición de las muestras para obtener mediciones más precisas.

El uso de luz polarizada continúa ganando relevancia en diversas áreas científicas. Estudios recientes han desarrollado modelos para describir la interacción de la luz polarizada con hojas de plantas, resaltando cómo la anisotropía influye en su comportamiento óptico y en la interacción con biomoléculas, proteínas y enzimas celulares [33]. En el ámbito biomédico, se ha utilizado para identificar estructuras anisotrópicas bajo las uñas con distintos parámetros de polarización [34]. Además, se ha diseñado un polarímetro computarizado que permite monitorear niveles de glucosa en orina de forma no invasiva y sin dolor [35].

En conclusión, esta investigación demuestra que la luz polarizada es una herramienta poderosa para explorar la interacción entre luz y materia en sistemas anisotrópicos, abriendo nuevas oportunidades para su aplicación en el estudio de muestras biológicas e inorgánicas.

Referencias

- [1] Thomas W Cronin et al. “Polarization vision and its role in biological signaling”. En: *Integrative and Comparative Biology* 43.4 (2003), págs. 549-558.
- [2] Pavel P Shibayev y Robert G Pergolizzi. “The effect of circularly polarized light on the growth of plants”. En: *Int J Bot* 7 (2011), págs. 113-117.
- [3] Claude Houssier y Kenneth Sauer. “Circular dichroism and magnetic circular dichroism of the chlorophyll and protochlorophyll pigments”. En: *Journal of the American Chemical Society* 92.4 (1970), págs. 779-791.
- [4] Yuriy N Kulchin et al. “The ability of plants leaves tissue to change polarization state of polarized laser radiation”. En: *Brazilian Journal of Botany* 47.2 (2024), págs. 463-472.
- [5] Elisabeth Gruber et al. “Intrinsic Photophysics of Light-harvesting Charge-tagged Chlorophyll a and b Pigments”. En: *Chemistry—A European Journal* 25.39 (2019), págs. 9153-9158.
- [6] Ce Yao, Shan Lu y Zhongqiu Sun. “Estimation of leaf chlorophyll content with polarization measurements: Degree of linear polarization”. En: *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* 242 (2020), pág. 106787.
- [7] Elisabeth Gantt y Francis X Cunningham Jr. “Algal pigments”. En: *e LS* (2001).
- [8] Jorge Dagnino-Leone et al. “Phycobiliproteins: Structural aspects, functional characteristics, and biotechnological perspectives”. En: *Computational and Structural Biotechnology Journal* 20 (2022), págs. 1506-1527.
- [9] Jeffrey B Harborne, Helga Marby y TJ Marby. *The flavonoids*. Springer, 2013.
- [10] Munawar Abbas et al. “Natural polyphenols: An overview”. En: *International Journal of Food Properties* 20.8 (2017), págs. 1689-1699.
- [11] Yavuz Kocak y Abdullah Yildiz. “Carminic acid extracted from cochineal insect as photosensitizer for dye-sensitized solar cells”. En: *International Journal of Energy Research* 45.11 (2021), págs. 16901-16907.
- [12] D Frąckowiak y B Smyk. “Interactions between photosynthetic pigments in organisms and in model systems”. En: *Photosynthetica* 45 (2007), págs. 1-8.
- [13] Roberto Carlos García Gómez. “Espectroscopia Fotoacústica: Una teoría antigua con nuevas aplicaciones”. En: *Conciencia Tecnológica* 24 (2004), pág. 2.
- [14] Ernesto Marín. “Escuchando la luz: breve historia y aplicaciones del efecto fotoacústico”. En: *Latin-American Journal of Physics Education* 2.2 (2008), pág. 17.
- [15] Darryl P Almond y Pravin Patel. *Photothermal science and techniques*. Vol. 10. Springer Science & Business Media, 1996.

- [16] Allan Rosencwaig y Allen Gersho. “Theory of the photoacoustic effect with solids”. En: *Journal of Applied Physics* 47.1 (1976), págs. 64-69.
- [17] SJLJS William Moebis. “Física universitaria volumen 2. Resistividad del conductor”. En: *de Resistividad y resistencia, Houston, Texas 2* ().
- [18] Lilia Ivonne Olvera Cano. “Relación entre glucemia y hemoglobina libre en diabetes tipo 1 experimental”. Escuela Superior de Física y Matemáticas del Instituto Politécnico Nacional, de 2018.
- [19] A Garcia-Quiroz et al. “Photoacoustic spectroscopy of layered samples: Phase-detection technique”. En: *Instrumentation science & technology* 26.2-3 (1998), págs. 227-239.
- [20] Antonio Manoel Mansanares. “Caracterização Fotoacústica de Materiais: Difusividade Térmica e Perfil de Profundidade”. Instituto de Física Gleb Wataghin, Universidade Estadual de Campinas, Março de 1991.
- [21] Eugene Hecht. *Optics*. Pearson Education India, 2017, págs. 346-347.
- [22] Vinod K Kannaujia et al. “Phycobiliproteins and their commercial significance”. En: *Cyanobacteria*. Elsevier, 2019, págs. 207-216.
- [23] Shinichi Takaichi. “Carotenoids in algae: distributions, biosyntheses and functions”. En: *Marine drugs* 9.6 (2011), págs. 1101-1118.
- [24] Claus Buschmann Harmut K. Lichtenthaler. “Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy”. En: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (2001).
- [25] Claudine Manach et al. “Polyphenols: food sources and bioavailability”. En: *The American journal of clinical nutrition* 79.5 (2004), págs. 727-747.
- [26] Rune Slimestad, Torgils Fossen e Ingunn Molund Vågen. “Onions: a source of unique dietary flavonoids”. En: *Journal of agricultural and food chemistry* 55.25 (2007), págs. 10067-10080.
- [27] Breetha Ramaiyan et al. “Spinach (*Spinacia oleracea* L.)” En: *Antioxidants in vegetables and nuts-Properties and health benefits* (2020), págs. 159-173.
- [28] M Antonia Murcia et al. “Spinach”. En: *Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables*. Elsevier, 2020, págs. 181-195.
- [29] Rebecca J Robbins. “Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology”. En: *Journal of agricultural and food chemistry* 51.10 (2003), págs. 2866-2887.
- [30] Jesús Méndez et al. “Color quality of pigments in cochineals (*Dactylopius coccus* Costa). Geographical origin characterization using multivariate statistical analysis”. En: *Journal of agricultural and food chemistry* 52.5 (2004), págs. 1331-1337.
- [31] Margherita Zucchelli et al. “Photophysics and photochemistry of carminic acid and related natural pigments”. En: *Physical Chemistry Chemical Physics* 22.17 (2020), págs. 9534-9542.
- [32] Walter Hoppe et al. *Biophysics*. Springer Science & Business Media, 2012.
- [33] Yu N Kulchin et al. “Simulation of interaction of polarised laser light with plant leaves”. En: *Quantum Electronics* 51.10 (2021), pág. 947.
- [34] Ying Chang y Wanrong Gao. “Identifying anisotropic structural features beneath the human nail with differential polarization parameters”. En: *Results in Physics* 52 (2023), pág. 106799.

- [35] YA Laksono, N Hidayat et al. “Noninvasive and painless urine glucose detection by using computer-based polarimeter”. En: *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. Vol. 202. 1. IOP Publishing. 2017, pág. 012030.