

DISEÑO DE LA FUENTE DE LUZ, ENSAMBLADO Y CALIBRACIÓN DE UN MINIESPECTRÓMETRO DE BAJO COSTO

Walter Mario Solano-Reynoso^a,
Oswaldo Morales-Morales^b,
Gilberto Ramírez-Quispe, Raúl Condori-Tijera^c,
Renato Soca-Flores^d,
Noel Torres-Huaripaucar^e
y Marcelino Silvera-Molina.

a) walter.solano@unsch.edu.pe,
b) oswaldo.morales@unsch.edu.pe,
c) raul.condori@unsch.edu.pe,
d) renato.soca@unsch.edu.pe y
e) noel.torres@unsch.edu.pe

RESUMEN

Se ha diseñado y construido la fuente de luz y el ensamblado de un miniespectrómetro de bajo costo, que funciona en el rango visible e infrarrojo cercano, realizando mediciones del espectro de pigmentos extraídos de hojas verdes, particularmente beterraga. La fuente de luz se ensambló con componentes electrónicos que se encuentran en el mercado nacional, para rectificar la corriente alterna de entrada doméstica a una tensión continua de que alimente a una lámpara halógena de 30 W. La fuente ensamblada permite variar la tensión y amperaje hasta un máximo permitido por las características del circuito comercial utilizado, que hay que mantener a un amperaje constante para alimentar a la lámpara y produzca una intensidad de luz, también constante, que es enfocada a una fibra óptica mediante un lente incrustado en un cono metálico. La fibra es conectada a la cavidad donde va la muestra mediante otro cono con lente incrustado en la cavidad, para enfocar la luz en la muestra, cuya luz transmitida es recogida mediante otro lente en su respectivo cono, para conducir dicha luz mediante otra fibra óptica al espectrómetro, donde la luz es difractada en sus componentes espectrales para luego ser captada por los sensores que llevarán la información analógica en el circuito electrónico y luego ser digitalizada por un microprocesador para su procesamiento mediante el software spectragryph. Se ha obtenido el espectro del pigmento extraído de las hojas de beterraga. El calibrado no fue concluido debido a la necesidad de muestras patrones.

Palabra clave: Fuente de luz, espectrómetro, clorofila.

ABSTRACT

The light source and assembly of a low-cost mini-spectrometer has been designed and built, which operates in the visible and near-infrared range, performing measurements of the spectrum of pigments extracted from green leaves, particularly beets. The light source was assembled with electronic components found in the national market, to rectify the domestic input alternating current to a direct voltage that powers a 30 W halogen lamp. The assembled source allows the voltage and amperage to be varied up to a maximum allowed by the characteristics of the commercial circuit used, which must be maintained at a constant amperage to power the lamp and produce a constant light intensity, which is focused on an optical fiber through a lens embedded in a metal cone. The fiber is connected to the cavity where the sample goes through another cone with a lens embedded in the cavity, to focus the light on the sample, whose transmitted light is collected by another lens in its respective cone, to conduct said light through another optical fiber. to the spectrometer, where the light is diffracted into its spectral components to then be captured by the sensors that will carry the analog information in the electronic circuit and then be digitized by a microprocessor for processing using the spectragryph software. The spectrum of the pigment extracted from beet leaves has been obtained. The calibration was not completed due to the need for standard samples.

Key word: Light source, spectrometer, chlorophyll

I. INTRODUCCIÓN

Genéricamente los espectrómetros son instrumentos diseñados para cuantificar la interacción de una onda electromagnética con materiales de diferente naturaleza, para poder discernir diferentes propiedades de los materiales a través de la información recibida por la onda interactuante con el material.

Para Terceros et al. (2016), un espectrómetro es un dispositivo óptico que descompone la luz policromática en sus distintas componentes monocromáticas y las distribuye de manera que puedan ser analizadas en forma de un espectro en función de longitudes de onda. Una vez calibrado el espectrómetro puede brindar información cualitativa sobre la longitud de onda e intensidad de cualquier fuente luminosa (Zaidel y et al. 1976, James, 2007).

Un espectrómetro está compuesto por: 1) Fuente de luz que puede ser de tungsteno de bajo voltaje o lámpara de halógeno que se centra en la región del espectro visible al infrarrojo. 2) Monocromador cuya función es la de separar el espectro de luz. 3) Los detectores o sensores son transductores que convierten la energía de radiación luminosa en señal eléctrica cuando el sensor es bombardeado con fotones (James, 2007; Moreno-Villalba y et al., 2021; Laganovska y et al., 2018; Naeem y et al., 2022; Feng y et al., 2021.), todos estos elementos se muestran en la Fig.1.

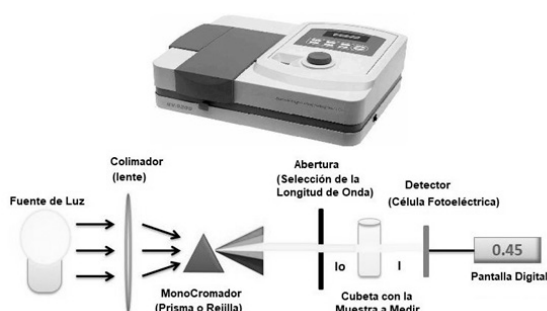


Fig. 1. Partes de un espectrómetro.

Las técnicas de absorción suponen que cuando una radiación incide sobre una muestra, se produce una absorción parcial de esta radiación, lo que produce una transformación entre los niveles energéticos de la sustancia, pasando ésta a un estado excitado, y al regresar a su estado fundamental, emitiendo radiación de un espectro característico (Guo y et al, 2020; Hollas, 2004; Requena Rodríguez y Zúñiga Román 2004; Uncu y et al., 2019; Bec, K., y et al., 2021). En la Fig.2. se muestra el esquema de un espectrómetro UV/Vis y el espectro de absorción correspondiente en función de la longitud de onda (Tomado

de Mettler-Toledo, www.mt.com/UV-VIS).

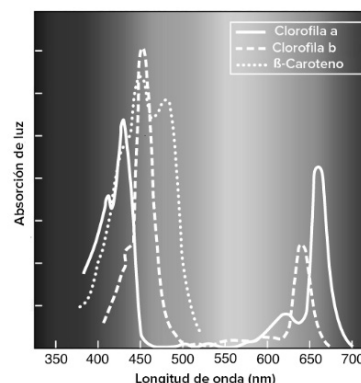
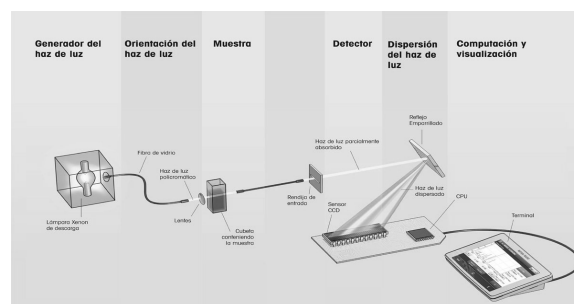


Fig.2. Esquema de espectroscopia UV/Vis y espectro de absorción

II. MATERIAL Y MÉTODOS

Ya que se trata de diseñar y ensamblar la fuente y el conjunto del espectrómetro, de acuerdo a la disponibilidad de los componentes de las partes de un espectrómetro, los costos económicos y facilidades de ser adquirido en el mercado nacional e internacional, nos ha llevado a tener que elegir componentes baratos y robustos en los posible. Felizmente, el desarrollo tecnológico, miniaturización y costos de producción bajos de componentes electrónicos y otros, ha favorecido adquirir un miniespectrómetro de 450 dólares y componentes como la cavidad, lentes y fibras ópticas importadas que no sobrepasaron los 600 dólares. A pesar de que la fuente de luz no tiene costos tan altos, se ha evaluado que diseñar y ensamblar con componentes adquiridos en el mercado nacional, reduce los costos a menos del 20 por ciento.

Diseño y ensamblado de la fuente de luz

En el diagrama de la Fig. 3 se muestra el diseño del circuito básico que proporcionará la corriente continua para alimentar a la lámpara. El ensamblaje se pudo realizar con componentes que se encuentran en el mercado nacional. Como se observa en el diagrama de la Fig. 3, el circuito de la fuente de luz consta de las siguientes partes: 1) Transforma-

dor reductor de 220 V-AC a 12 V-AC. 2) Circuito rectificador de corriente alterna a corriente continua: Utiliza un diodo puente, dos condensadores de 2200uF/63V. 3) Circuito variador de voltaje de 1.2 V-DC a 24 V-DC y amperaje de 0.2 A a 8 A que permite variar el voltaje y la intensidad de corriente. 4) Lámpara halógena de 60 W para generar luz .5) Sistema de refrigeración mediante un cooler de 12 V-DC 18mA. 6) Un display para mostrar las lecturas del voltaje e intensidad de corriente en uso.

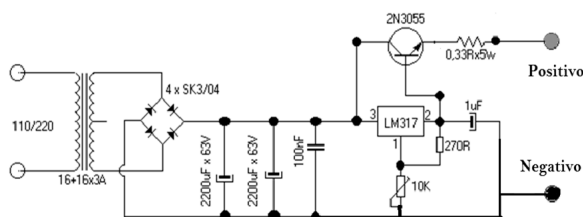


Fig. 3. Diagrama del circuito de la fuente de luz.

En la Fig. 4 se ven las fotografías de la fuente de luz ensamblada, donde en a) se observa el panel de lectura de la tensión (rojo) e intensidad de corriente (azul) que se está suministrando a la lámpara halógena de la fuente de luz ensamblada (b)) y en c) el cono empotrado a la fuente de luz, donde la punta roja es la conexión a la fibra óptica, estando dentro del cono una lente para enfocar la luz iluminada por la lámpara para conducida por la fibra óptica. El control de la tensión y corriente es de suma importancia, ya que la potencia de luz no debe exceder cierto valor para no quemar la lámpara halógena y también se debe tener en cuenta para las mediciones que se realizarán, puesto que, en la calibración del espectrómetro y las mediciones a realizarse, los valores de la intensidad de corriente y voltaje deben ser fijos.

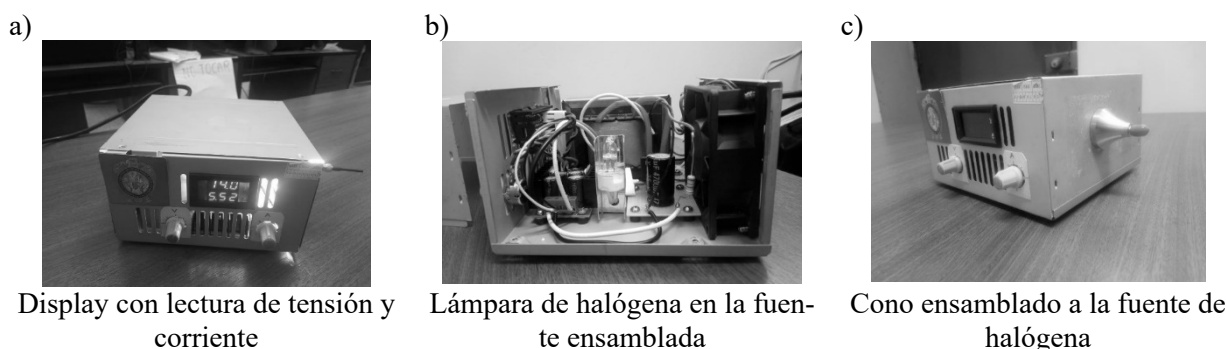


Fig. 4. Fotografías de la fuente de luz ensamblada

Conos con lentes, cavidad para las muestras y fibra óptica

En la Fig. 5 se muestran los conos sueltos dentro de los cuales se incrustan los lentes que enfocarán la luz y la cavidad porta muestras. La entrada de la luz a las fibras ópticas y también a la muestra en la cavidad, requiere de un diseño especial, como se muestra en la Fig. 5. Ello se logra mediante un dispositivo de forma cónica, donde en la base del cono se tiene incrustado una lente para que la lámpara sea enfocada hacia la punta del cono donde la fibra óptica recibe la luz y es conducida hacia otro cono con lentes. Este segundo cono está ajustado de modo que la luz que le llega se enfoca por otro lente hacia la muestra contenida en una cubeta, cuya luz transmitida se enfoca en un tercer cono con su propio lente para ser conducida por otra fibra óptica hacia el espectrómetro. Por otro lado, la cavidad tiene un diseño especial donde tiene tres agujeros. Los

dos agujeros alineados es para colocar los conos que se ajustan mediante roscas, entrando la señal de luz por uno de los conos y sale por el otro, llevando la señal de la luz transmitida hacia el espectrómetro. El tercer agujero es transversal a las dos alineadas y sirve para observar fenómenos de fluorescencia que no será descrita en este trabajo. En la parte superior de la cavidad se tiene el agujero para introducir las cubetas dentro de las cuales se colocan las muestras líquidas o soluciones para la medición. Finalmente, Las fibras ópticas utilizadas en la conducción de luz para la observación espectral, son fabricadas en base a silicio especialmente diseñados para estos fines, es decir, son los análogos a las guías de ondas de radio para conducir la señal electromagnética que constan de tubos metálicos (Griffiths, 2013). En nuestro caso de las fibras ópticas, básicamente son hilos de materiales dieléctricos que conducen la luz. La característica de las fibras ópticas es que están revestidas de otro material dieléctrico de tal modo

que la luz no se vaya al exterior de la guía principal que conduce la luz. Los costos de las fibras ópticas utilizadas en espectrometría visible-infrarrojo cercano oscilan entre 50 a 200 dólares, según la aplicación, no excediendo su longitud de 1 m.

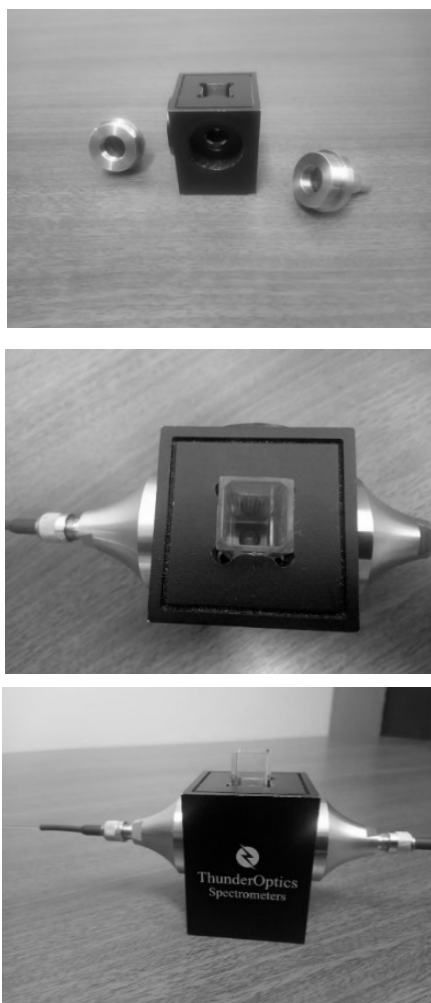


Fig. 5. Conos, cavidad y fibra óptica

Espectrómetro Thunder Optics

Según la información técnica del espectrómetro adquirido, consiste de una rendija de 100 micrómetros con 1000 rejillas, donde incide la luz transmitida y conducida por la fibra óptica. En las rejillas la luz es descompuesta, es decir, difractada (Ghatak, 2020) en sus componentes en intervalos de cierta longitud de onda que darán la resolución espectral del espectrómetro. Según la información técnica, su resolución es 1.5 nanómetros para 550 nanómetros de la luz visible que corresponde aproximadamente a la luz verde. La luz difractada incide sobre sensores especializados para ser convertidas en señales eléctricas y después digitalizadas por microprocesadores especializados. Según la especificación técnica, el espectrómetro adquirido contiene un detector monocromático CMOS (Wikipedia) de 1200 píxeles. El rango de la medición especificada es de

350 a 890 nanómetros. En la Fig. 6, se observa la conexión de las fibras ópticas de la fuente de luz a la muestra y luego a la caja negra que es el espectrómetro.



Fig. 6. Conexión de las fibras de la fuente a la muestra y al espectrómetro.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Fig. 4 se muestra la fuente de luz ensamblada con componentes electrónicos que se encuentran en el mercado nacional.

Con el software Espectragryph v1.2.16.1, que puede descargarse del sitio <https://www.ffmpeg2.de/spectragryph/>, se obtuvieron las absorbancias para cuantificar el contenido de clorofila de hojas verdes, con lo cual se ha intentado calibrar el espectrómetro extrayendo pigmentos de algunas hojas verdes como es el caso de la espinaca. Los espectros que se ensayaron fueron extraídos de la espinaca, tomando 5 ml de clorofila, de 25 gr de espinaca con metanol (alcohol de 96). Luego para cada caso, se realizaron las pruebas pertinentes con el miniespectrómetro ensamblado, mediante diferentes cantidades de disoluciones de clorofila: muestra1, muestra2, ...,

y muestra 7, en la Fig. 7 se puede observar el espectro de absorbancia de los pigmentos extraídos de la hoja de espinaca en metanol como solvente, para diferentes concentraciones.

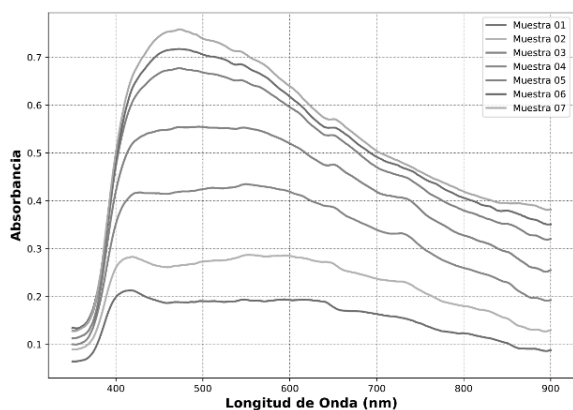


Fig. 7. Espectro de absorbancia de pigmentos extraídos de la espinaca.

En la Fig. 7 se observa el espectro en el rango ultravioleta A, visible y parte del infrarrojo cercano. Se comprueba que cuanto mayor sea la concentración del pigmento, crece la absorbancia debido a la mayor cantidad de moléculas de la especie considerada, en este caso, los picos de absorción de la clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides, están entre los 400 y 500 nm, como se verifica en la parte derecha de la Fig. 2. Por otro lado, El espectro de absorbancia de la Fig. 7 es la mezcla de las dos moléculas de clorofila, carotenoides y posiblemente antocianinas en muy poca proporción, que es prácticamente despreciada.

De acuerdo a la bibliografía revisada, los picos de absorción de los pigmentos dependen críticamente del solvente utilizado en la extracción de los pigmentos y la observación del espectro (Lichtenthaler, 1987; Porra et al., 1989; Ritchie, 2006), como también del tipo de espectrofotómetro utilizado, si bien en menor grado, de donde la importancia de evaluar los picos del espectro de las clorofilas puras, carotenoides y antocianinas de las hojas para la calibración, si la intención es medir el contenido de estos pigmentos usando espectrofotómetros, ya que podrían encontrarse diferencias significativas como se reporta entre el dimetilsulfóxido (DMSO) y acetona al 80% (Del Valle Tascón et al., 1994). Por motivos técnicos y presupuestales, no fue posible obtener dichos pigmentos puros para ser evaluados en nuestro espectrómetro ensamblado. Sin embargo, se ha intentado cuantificar el contenido de los pigmentos usando ecuaciones de varias publicaciones para el solvente que usamos, en este caso metanol. Una de las publicaciones más detalladas relacionadas a la cuantificación del contenido de clorofila y carotenoides de las hojas es el artículo de Lichtenthaler (1987), con posteriores trabajos de otros autores sobre el tema, donde básicamente se dan relaciones validadas sobre la cantidad de clorofila o carotenoides de acuerdo al solvente utilizado en la cuantificación espectrofotométrica (Porra et al., 1989; Lichtenthaler y Buschmann, 2001; Ritchie, 2006).

En la Tabla 1 se presentan los resultados de las absorbancias obtenidas del espectro de absorbancia para las diferentes concentraciones, donde se han ensayado los cálculos según las ecuaciones tomadas de las publicaciones ya referenciadas.

Tabla 1.
Valores de Absorbancia en las longitudes de onda especificada.

#	$A_{664.1}$	$A_{648.6}$	A_{470}	$A_{665.2}$	$A_{652.4}$
Muestra 01	0.170204	0.179914	0.188535	0.170220	0.175483
Muestra 02	0.253838	0.270208	0.264530	0.253325	0.265938
Muestra 03	0.369558	0.387678	0.418197	0.368193	0.384794
Muestra 04	0.459620	0.475292	0.553624	0.458285	0.474890
Muestra 05	0.520213	0.537126	0.676739	0.518846	0.535849
Muestra 06	0.539360	0.552859	0.716906	0.538046	0.552675
Muestra 07	0.554168	0.570582	0.756714	0.552541	0.570218

Las ecuaciones utilizadas para estimar la clorofila en :

$$c_a (\mu\text{g/ml}) = 13.36A_{664.1} - 5.19A_{648.6}$$

$$c_b (\mu\text{g/ml}) = 27.43A_{648.6} - 8.12A_{664.1}$$

$$c_{((x+c))} (\mu\text{g/ml}) = (1000A_{470} - 2.13c_a - 97.64c_b) / 209$$

En la Tabla 2 se tienen los resultados obtenidos a partir de las ecuaciones anteriores en las unidades dadas entre paréntesis.

Tabla 2.
Resultados obtenidos a partir de las ecuaciones anteriores.

#	C_a ($\mu\text{g/ml}$)	C_b ($\mu\text{g/ml}$)	$C_{(x+c)}$ ($\mu\text{g/ml}$)
Muestra 01	1.340173	3.552988	-0.771450
Muestra 02	1.988903	5.350629	-1.254266
Muestra 03	2.925254	7.633182	-1.594917
Muestra 04	3.673763	9.305146	-1.735672
Muestra 05	4.162364	10.509229	-1.714106
Muestra 06	4.336508	10.785311	-1.652671
Muestra 07	4.442358	11.151228	-1.634232

Para metanol (solvente puro), las ecuaciones utilizadas son:

$$c_a (\mu\text{g/ml}) = 16.72A_{665.2} - 9.16A_{652.4}$$

$$c_b (\mu\text{g/ml}) = 34.09A_{652.4} - 15.28A_{665.2}$$

$$c_{((x+c))} (\mu\text{g/ml}) = (1000A_{470} - 1.63c_a - 104.96c_b) / 221.$$

Los resultados obtenidos para las 7 mediciones utilizando las ecuaciones anteriores se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3:
Resultados obtenidos a partir de las ecuaciones anteriores

#	C_a ($\mu\text{g/ml}$)	C_b ($\mu\text{g/ml}$)	$C_{(x+c)}$ ($\mu\text{g/ml}$)
Muestra 01	1.238663	3.381234	-0.761891
Muestra 02	1.799606	5.195011	-1.283582
Muestra 03	2.631465	7.491655	-1.685142
Muestra 04	3.312535	9.186401	-1.882262
Muestra 05	3.766720	10.339135	-1.876002
Muestra 06	3.933630	10.619334	-1.828556
Muestra 07	4.015284	10.995908	-1.827881

Para etanol, 95% (v/v), las ecuaciones utilizadas para los contenidos de clorofila son:

$$c_a = 13.36A_{664.2} - 5.19A_{648.6}$$

$$c_b = 27.43A_{648.6} - 8.12A_{664.2}$$

$$c_{(a+b)} = 5.24A_{664.2} - 22.24A_{648.6}$$

$$c_{((x+c))} = (1000A_{470} - 2.13c_a - 97.64c_b) / 209$$

Los resultados mostrados son parte de los ensayos realizados en la obtención del espectro de absorción de un sistema en el rango de 350 nm a 850 nm. Para mediciones que tengan validez, es necesario la calibración con muestras patrones para el caso de la cuantificación del contenido de clorofila, carotenoides o antocianinas, que fue la motivación que indujo al presente trabajo.

IV. CONCLUSIONES

- Se ha diseñado y ensamblado la fuente de luz, que proporciona la luz incidente conducida por un fibra para luego incidir en la muestra colocada en una cubeta.
- Se ha ensamblado el sistema básico del mini-espectrómetro, que consiste de la fuente de luz, los cables de fibras ópticas que conducen la señal portadora de luz, el porta muestras hasta el sistema espectrométrico, el cual es una caja negra que contiene la rejilla de difracción de la luz transmitida en la muestra, los sensores que captan los componentes del espectro difractado para convertirlo en señales analógicas y luego ser digitalizadas por el microprocesador y un software controlador, statgryph en nuestro caso, para ser procesada y observada en la computadora.
- Se ha obtenido el espectro de absorción y transmitancia de la clorofila extraída en hojas de espinaca y beterraga, cuyo contenido de clorofila se ha calculado mediante protocolos publicados en varios artículos, pero no se pudo calibrar utilizando un patrón de clorofila y carotenoides en este tipo de mediciones.

V. AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por el financiamiento parcial de la investigación y permitido realizar el presente trabajo.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bec, K., & et al., (2021). Principles and applications of miniaturized near-infrared (NIR) Spectrometers, *Chem. Eur. J.*, 27, 1514-1532.
- Feng, Z.; Xia, G.; Lu, R.; Cai, X.; Cui, H.; Hu, M. (2021). High-Performance Ultra-Thin Spectrometer Optical Design Based on Coddington's Equations. *Sensors*, 21, 323. <https://doi.org/10.3390/s21020323>

Ghatak, A. (2020). *Optics*, Mc Graw Hill.

González Cantellano M. A., Montaña Zetina L. M., (2015). La espectroscopia y su tecnología: Un repaso histórico y su importancia para el siglo XXI. *Lat. Am. J. Phys. Educ.* Vol. 9 No. 4.

Griffiths, D.J. (2013). *Introduction to Electrodynamics*, PEARSON.

Guo, Y., & et al., (2020). Advances on Water Quality Detection by UV-Vis Spectroscopy. *Appl. Sci.*, 10, 6874.

Hollas, J. M., (2004). *Modern spectroscopy*, John Wiley & Sons, Ltd.

James J. F., (2007). *Spectrograph design fundamentals*, Cambridge.

Laganovska, K., & et al., (2018). Portable low-cost open-source Wireless spectrophotometer for fast and reliable measurements, *HardwareX*.

Lichtenthaler, H. (1987). Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. *Method. Enzymol.* 148: 350-382.

Martin, J. F. & Castañeda J. (2016). Análisis de la clorofila de spinacia oleracea y cuantificación de albumina de espagueti utilizando espectrofotometría. *UGCiencia* 22: 99-109.

Moreno-Villalba L., Ávila-Camacho F. J., Montes-Cerón I. G., Garrido-Hernández A., Cardoso-Chávez C. A., Pacheco-Piña C. J. (2021). Diseño de un espectrofotómetro UV-VIS de bajo costo para la industria bioquímica: una revisión, *Pädi* Vol. 9 (2), 19-28.

Naeem, M.; Imram, T.; Hussain, M.; Bhatti, A. S. (2022). Design Simulation and Data Analysis of an Optical Spectrometer. *Optics*, 3, 304-312.

Porra, R.J., Thompson, W.A., and Kriedemann, P.E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy, *Biochimica et Biophysica Acta*, 975(3), 384-394. doi:10.1016/s0005-2728(89)80347-0.

- Requena Rodríguez, A., y Zúñiga Román J., (2004). *Espectroscopia*, Pearson Educación, S. A.
- Ritchie, R. (2006). Consistent set of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynth. Res.* 89: 27-41.
- Thrane J-E, Kyle M, Striebel M, Haande S, Grung M, Rohrlack T, et al. (2015). Spectrophotometric Analysis of Pigments: A Critical Assessment of a High-Throughput Method for Analysis of Algal Pigment Mixtures by Spectral Deconvolution. *PLoS ONE* 10(9): e0137645. doi:10.1371/journal.pone.0137645.
- Terceros I., & et al., (2016). Desarrollo de un espectrómetro de bajo costo con una rejilla ajustable y control electrónico inalámbrico, *Revista Politécnica* Vol. 37 (1).
- Uncu, O., & et al., (2019). Use of FTIR and UV-visible spectroscopy in determination of chemical characteristics of olive oils.
- Zaidel A. N.; Ostrovskaya G. V. & Ostovski Y. I., (1976). *Técnica y práctica de espectroscopia*, MIR.