

Diseño y Desarrollo de un Espectrofotómetro UV-VIS de Coste Moderado para Aplicaciones Educativas y de Investigación

Design and Development of a Moderate-Cost UV-VIS Spectrophotometer for Educational and Research Applications

Jacob Sierra Lemus^{1*}, Angélica Hernández Rayas¹, Solange Ivette Rivera Manrique¹

¹Division of Sciences and Engineering, University of Guanajuato Campus León, Loma del Bosque 103, Lomas del Campestre, CP 37150, León, Gto, México

* j.sierralemus@ugto.mx

Resumen

Este artículo presenta el diseño y desarrollo de un espectrofotómetro UV-VIS de coste moderado, destinado a aplicaciones educativas y de investigación. El espectrofotómetro incluye una lámpara HID de xenón, un sistema de colimación, un monocromador, un sistema de selección de longitud de onda, un fotodetector, y un sistema de adquisición de datos con un microcontrolador. El dispositivo cuenta con dos modalidades de adquisición de datos: medida única y barrido espectral. Este diseño equilibra rendimiento y accesibilidad, ideal para entornos educativos y proyectos de investigación que requieren una solución económica sin sacrificar precisión. Aunque se han superado diversos retos técnicos, aún se requieren pruebas exhaustivas para validar completamente su rendimiento bajo diversas condiciones experimentales.

Palabras clave: espectrofotómetro UV-VIS, diseño de bajo coste, aplicaciones educativas, investigación científica, precisión, accesibilidad.

1. Introducción

La espectrofotometría es una técnica analítica que mide la absorbancia o transmitancia de una sustancia al pasar un haz de luz a través de una muestra. Esta técnica es ampliamente utilizada en la ciencia y la tecnología por su capacidad para proporcionar información cualitativa y cuantitativa sobre diversos compuestos basándose en sus propiedades moleculares (Bunaciu et al., 2013).

En el campo médico, la espectrofotometría UV-VIS se emplea para analizar componentes biológicos en fluidos corporales, como proteínas y ácidos nucleicos, monitorizar fármacos y detectar enfermedades (Paredes et al., 2023). En bioquímica y biología molecular, se utiliza para estudiar reacciones enzimáticas, interacciones proteína-ADN (Hagerman & Austin, 1986) y cambios estructurales en biomoléculas (Cervantes-Cervantes et al., 2005). En química analítica, facilita la identificación y cuantificación de compuestos químicos, el estudio de cinéticas de reacción y la caracterización de nuevos materiales (Heinz-Helmut Perkampus, 1992). En estudios ambientales, ayuda a monitorear contaminantes en agua y aire, evaluando el impacto ambiental y desarrollando estrategias de mitigación (Olmedo et al., 2021)(José de Jesús et al., 2016).

La espectrofotometría mide cómo una sustancia absorbe diferentes longitudes de onda de luz, proporcionando información sobre la concentración y composición de la muestra (Morris, 2015). La Ley de Lambert-Beer, fundamental en esta técnica, establece que la absorbancia (A) es directamente proporcional a la concentración (c), la longitud del camino óptico (l) y el coeficiente de extinción molar (ϵ), expresándose como $A = -\log_{10}(I_1/I_0)$, donde I_0 es la intensidad de la luz incidente e I_1 es la intensidad de la luz transmitida (Mayerhöfer et al., 2020). El espectro electromagnético, que abarca desde ondas de radio hasta rayos gamma, interactúa con la materia dependiendo de su energía y longitud de onda. Los espectrofotómetros se clasifican según el rango de longitud de onda de la fuente de luz: UV-VIS (185-700 nm) e IR (700-15000 nm)(Jin, 2023; WETZEL, 2001).

Aunque la espectrofotometría lleva siendo aplicada por más de 70 años y existan un sinfín de diseños y modelos disponibles comercialmente, la vasta mayoría operan en base a un esquemático muy similar. Componentes comunes que podemos encontrar son: una fuente de luz, óptica de colimación, un monocromador, un portamuestras, y un sistema de adquisición de datos. El diseño convencional de los espectrofotómetros es "pre-dispersivo" esto quiere decir que la fuente de luz "blanca" de la fuente es

dispersada con el monocromador para después atravesar la muestra y llegar al detector. (Morris, 2015). A continuación se incluye una breve explicación del propósito de cada componente de un espectrofotómetro:

a) Fuente de Luz: emite la radiación electromagnética que interactúa con la muestra. Debe ser potente, focalizada, colimada, de amplio espectro y estable para minimizar errores y maximizar la interacción medible. Sin estas características, la penetración en la muestra disminuye, la dispersión aumenta, y la variación en las mediciones incrementa. Existen varias opciones de bombillos, cada una con sus ventajas y desventajas. La elección de la fuente de luz debe basarse en criterios como el presupuesto, estabilidad deseada, conveniencia y distribución espectral (Abdel-Rahman et al., 2017).

- LEDs: Usados en espectrofotómetros caseros por su bajo costo y accesibilidad. Sin embargo, su espectro de emisión limitado los hace inadecuados para mediciones de alta resolución espectral. (Avila-Camacho et al., 2021)
- Lámparas Incandescentes/Halógenas: Utilizan un filamento de tungsteno y tienen un espectro de emisión en el rango visible, con intensidad que se inclina hacia el infrarrojo.
- Lámparas Fluorescentes: Más eficientes que las incandescentes, generan luz visible a partir de colisiones de electrones con átomos de mercurio. Su espectro de emisión presenta picos discretos que requieren más procesamiento y calibración para ser eliminados.
- Lámparas de Descarga de Alta Intensidad (HID): Producen luz mediante un arco de gas ionizado. Son potentes y longevas, con aplicaciones variadas según el gas usado (mercurio, haluros metálicos, sodio, xenón). (Yevgen Povrozin & Barbieri, 2016)
- Lámparas de Deuterio-Tungsteno: Esenciales para espectrofotómetros UV-VIS por su capacidad de emitir luz continua en el rango ultravioleta (160-400 nm). Son duraderas y estables, proporcionando resultados reproducibles.

b) Colimación: Para que el monocromador funcione de manera adecuada, es esencial que la luz proveniente de la fuente esté colimada. La colimación es el proceso de ajustar la alineación de un haz de luz o de partículas para que sus rayos sean paralelos. Es crucial que se lleve a cabo para evitar fenómenos de interferencia y solapamiento que puedan afectar la precisión de las mediciones. La colimación adecuada garantiza que la luz incidente en el monocromador mantenga un perfil consistente, mejorando la precisión y fiabilidad de los resultados obtenidos.

c) Monocromador: Los detalles teóricos de los fenómenos ópticos y de interferencia que explican el funcionamiento de las rejillas de difracción son complejos, y se sugiere al lector investigar por su cuenta para alcanzar una comprensión más completa. Ya que la absorbancia varía con la longitud de onda, se necesita un dispositivo que seleccione y emita un haz de una longitud específica. El monocromador divide el haz de luz colimado en sus distintas longitudes de onda, basado en el espectro de emisión del bombillo. Este proceso es esencial para medir con precisión, ya que permite seleccionar longitudes de onda específicas, evitando interferencias y garantizando que la luz que llega al detector tenga las características adecuadas.

d) Detector: La luz que atraviesa la muestra debe ser detectada y cuantificada de alguna manera. Esto se logra actualmente gracias a fotodiodos o fototransistores, los cuales convierten la luz que incide en ellos a una corriente cuantificable. Esta corriente suele ser muy pequeña, y es necesario amplificarla y procesarla digitalmente para convertirla en una medida utilizable.

En base a todo lo anterior, el objetivo del proyecto es desarrollar un espectrofotómetro que combine rendimiento y accesibilidad, ofreciendo una solución económica para entornos educativos y proyectos de investigación. Este diseño inicial busca proporcionar una herramienta precisa y asequible, ideal para usuarios que necesitan realizar análisis espectrofotométricos sin comprometer la calidad, facilitando el acceso a tecnología de medición avanzada mientras se mantiene un equilibrio entre costo y funcionalidad.

2. Métodos y Materiales

El espectrofotómetro controla y dirige la luz a través de una muestra, como se muestra en la figura 1. Se presenta un diagrama de flujo del proceso del diseño y desarrollo del sistema. Este consta de (a) una fuente de luz, (b) un monocromador para seleccionar longitudes de onda específicas y (c) un detector que cuantifica

la luz transmitida tras atravesar la muestra. Estos componentes trabajan en conjunto para proporcionar información precisa sobre las propiedades ópticas de la muestra. Las etapas de control del espectrofotómetro son gestionadas por un (d) microcontrolador ESP32, el cual facilita la interacción entre el usuario y el espectrofotómetro, permitiendo seleccionar entre las dos modalidades de adquisición, realizando internamente un ajuste de ganancia y sensibilidad para obtener mediciones altamente precisas y estables. Además, el ESP32 realiza un procesamiento básico digital y organiza los datos para su exportación posterior.

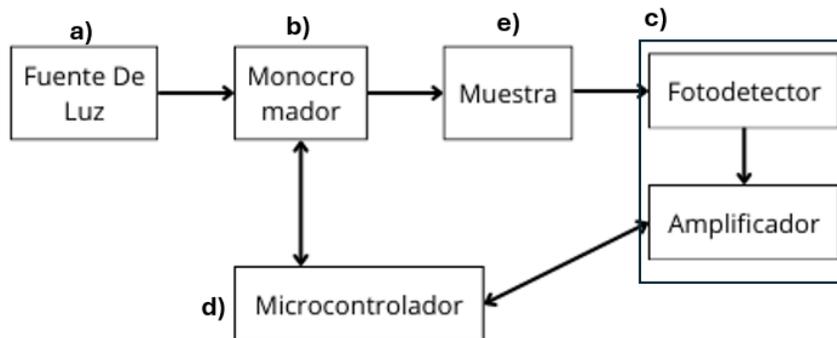


Figura 1. Funcionamiento del espectrofotómetro.

a) Fuente de luz: Para este prototipo, una versión temprana del dispositivo final, se utilizó un bombillo de arco corto de xenón y un balastro convencional, basado en los principios y criterios establecidos en la primera parte del artículo. Aunque este sistema es suficiente para el diseño, no garantiza la estabilidad ni la fiabilidad del encendido. Dado que se está encapsulando una fuente de luz de alta intensidad con una amplia distribución espectral, es crucial disipar el calor acumulado dentro del receptáculo donde se encuentra el bombillo de xenón, como se muestra en la figura 2.

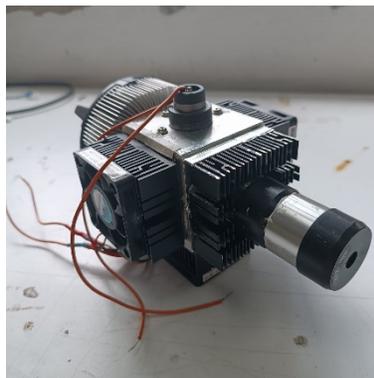


Figura 2. La fuente de luz. Dentro de ella se encuentra el bombillo de xenón.

Aunque existen soluciones más eficientes y efectivas, se optó por una implementación sencilla: la adhesión de una serie de disipadores de calor a cada pared del receptáculo. Esta solución, aunque básica y ligeramente primitiva, cumple con la necesidad inmediata de mantener el sistema operando dentro de los parámetros de temperatura adecuados, evitando el sobrecalentamiento y asegurando el rendimiento del espectrofotómetro.

b) Monocromador: El monocromador consiste en una rejilla de difracción planar montada en un motor a pasos, controlado por el mismo ESP32 que recibe los datos del fotodiodo. Los motores a pasos son valorados por su alta precisión; por ejemplo, los motores NEMA 17, que son comunes y comerciales, tienen la capacidad de dar 200 pasos discretos por cada vuelta. Sin embargo, esto no es suficiente para nosotros, ya que es deseable tener la capacidad de seleccionar longitudes de onda con la mayor resolución posible. Para lograr

esto, como se aprecia en la figura 2, utilizaremos un circuito integrado A4988 que nos permite simplificar el control del motor con entradas digitales y dar pasos más pequeños. La integración del IC en el dispositivo nos permite realizar micro-pasos, específicamente 1/16 de paso, dando como resultado 3,200 pasos por revolución en lugar de 200. En otras palabras, cada paso avanzará 0.1125 grados en lugar de 1.8 grados, mejorando significativamente la resolución espectral al momento de realizar la selección de longitudes de onda. Es importante señalar que el Arduino Nano mostrado en la Figura 3 se utiliza únicamente para propósitos demostrativos y no formará parte del dispositivo final.

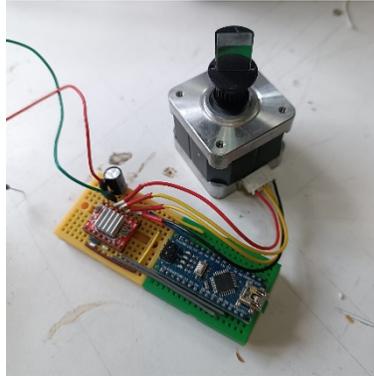


Figura 3. Montaje del monocromador en el motor a pasos y el IC de control preciso.

c) Detector: Consiste en un fotodiodo, el cual realiza la conversión de la intensidad luminosa recibida en su superficie a una corriente. En la figura 4 se muestra el circuito amplificador de transimpedancia (Baker, 2017). La fuente de voltaje de 3.3V corresponde al pin DAC del ESP32. La corriente generada por el fotodiodo se amplifica y transforma con un amplificador operacional 741 mediante el circuito mostrado, y la señal resultante se mide con un osciloscopio digital, que en este caso corresponde al ADC del ESP32.

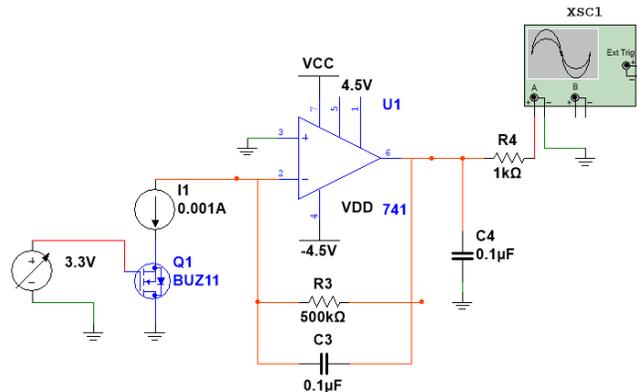


Figura 4. Circuito amplificador de transimpedancia.

El circuito amplificador consta principalmente de una etapa amplificadora y un selector de ganancia automatizado con un MOSFET. Este MOSFET es controlado por el ESP32, que cuenta con un convertidor digital a analógico (DAC) capaz de producir niveles digitales discretos a una resolución de 8 bits. La selección de fotodiodo se basó en la disponibilidad de materiales existentes en laboratorio. Futuras versiones implementarán un fotodiodo distinto con una curva de respuesta más estable en el rango espectral.

Se utilizó un **SD172-11-31-221**, el cual tiene una respuesta óptima en la región infrarroja del espectro electromagnético, aunque también presenta una ligera pero medible respuesta cercana al ultravioleta. Es crucial que la alimentación del amplificador operacional provenga de una fuente estable, idealmente una batería, para reducir significativamente el ruido y evitar interacciones indeseadas con el código.

Para asegurar una compensación adecuada del sensor, es fundamental utilizar la hoja de datos. Esta hoja proporciona información detallada sobre la respuesta a diferentes longitudes de onda. Al analizar la respuesta del fotodiodo a las diferentes longitudes de onda producidas por el monocromador, podemos determinar la longitud de onda óptima en la que el sensor tiene la mayor sensibilidad o respuesta máxima, como se muestra en la figura 4. Esta longitud de onda óptima se emplea como referencia crucial para ajustar y calibrar el barrido del espectrofotómetro, para que opere en las longitudes de onda específicas seleccionadas y garantizar que las mediciones realizadas sean precisas y fiables.

SPECTRAL RESPONSE

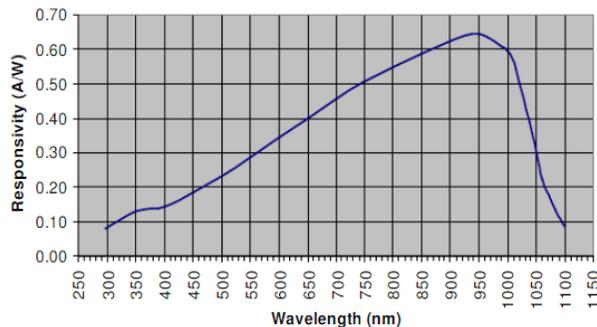


Figura 4. Respuesta Espectral del Fotodetector, hoja de datos del SD172-11-31-221.

d) Microcontrolador: El sistema de adquisición, procesado y exportación de datos lo lleva a cabo un microcontrolador ESP32. Este microcontrolador cuenta con capacidades excepcionales que son ideales para los propósitos de nuestro dispositivo. Concretamente, aprovecharemos su Convertidor Analógico a Digital (ADC) y su Convertidor Digital a Analógico (DAC). El ADC integrado del ESP32 tiene una resolución de 12 bits, lo que equivale a 4096 valores discretos. Aunque esta resolución puede parecer limitada, es suficiente para realizar mediciones con un margen de precisión aceptable para nuestro diseño. La capacidad del DAC del ESP32 también es fundamental para controlar el MOSFET en el circuito amplificador de transimpedancia, permitiendo ajustes precisos en la ganancia.

La respuesta del sensor en un espectrofotómetro no siempre es lineal a todas las longitudes de onda, y la señal obtenida puede presentar interferencias que causan fluctuaciones en los valores. Para abordar estos desafíos y asegurar mediciones precisas, es necesario implementar varios procedimientos para gestionar y calibrar los datos de manera efectiva. La normalización ajusta las lecturas para corregir las desviaciones sistemáticas, mientras que el promediado de múltiples mediciones ayuda a reducir el impacto del ruido y las fluctuaciones. La extracción de datos relevantes se realiza para separar la señal de interés de las posibles interferencias, garantizando que cada lectura refleje de manera precisa la respuesta correspondiente a la longitud de onda medida.

Dependiendo del análisis requerido, puede ser necesario realizar un barrido completo a través de todas las longitudes de onda disponibles o enfocar la medición en longitudes de onda específicas. Para satisfacer estas necesidades, el dispositivo está equipado con dos modalidades de operación:

- **Modalidad de Muestra:** Permite seleccionar y analizar longitudes de onda discretas, para luego tomar la medición correspondiente. Los datos obtenidos, incluyendo la longitud de onda seleccionada y la absorbancia, se exportan directamente al puerto serial. Esta modalidad es útil cuando se requiere información detallada en ciertas bandas espectrales.
- **Modalidad de Barrido:** Se realiza un barrido espectral completo, tomando mediciones en cada longitud de onda disponible, limitada a la resolución que permite el motor a pasos. Los datos obtenidos, que incluyen todas las longitudes de onda disponibles y sus respectivas absorbancias, se exportan directamente al puerto serial. Esta modalidad es ideal para estudios que requieren un análisis exhaustivo del espectro completo para detectar variaciones en diferentes rangos de longitud de onda.

Ambas modalidades permiten una flexibilidad en la adquisición de datos, adaptándose a los requisitos específicos del análisis espectrofotométrico.

e) Muestras: Se analizan diversas muestras para evaluar su absorbancia y transmitancia en los rangos ultravioleta (UV) y visible (VIS). Esto incluye soluciones químicas para determinar concentraciones y características de compuestos, muestras biológicas y materiales ambientales. Cada tipo de muestra ofrece información crucial sobre sus propiedades ópticas y composición, facilitando diversos análisis y controles en diferentes campos.

3. Resultados

Se presenta una vista preliminar del sistema completo en la figura 5, destacando los aspectos clave del ajuste, ensamblaje, y la implementación del microcontrolador ESP32 para el control del motor a pasos. Los ajustes iniciales son cruciales para calibrar el sistema y asegurar la sincronización de todos los componentes, incluyendo la configuración precisa del motor a pasos, la posición del fotodetector y la validación de la conexión con control de microprocesador. El futuro ensamblaje del sistema consistirá en integrar los componentes físicos siguiendo un esquema detallado para asegurar la correcta colocación y fijación para garantizar un ajuste adecuado y un funcionamiento óptimo. La implementación y unificación del sistema de control del dispositivo con el ESP32 es esencial para el control del motor a pasos y la gestión de la comunicación entre los componentes del sistema. Esto incluye además la implementación de una pantalla, una interfaz, y un joystick para la selección de modalidad y calibración del sistema.

Los resultados obtenidos tras la implementación temprana del sistema, que incluyen la evaluación del rendimiento del motor a pasos, la precisión de los ajustes, el funcionamiento del sistema de ganancia automática y la funcionalidad general en condiciones operativas, muestran que el dispositivo se comporta adecuadamente y cumple con las expectativas y requisitos iniciales para determinar la efectividad del sistema en su conjunto.

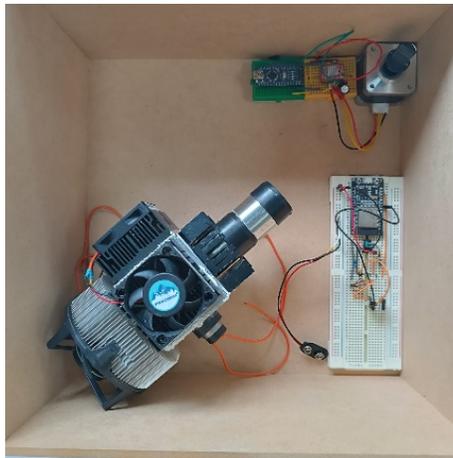


Figura 5. Montaje del sistema.

4. Conclusiones

Con este diseño se logró un equilibrio óptimo entre rendimiento y accesibilidad, siendo ideal para entornos educativos y proyectos de investigación que buscan soluciones económicas sin sacrificar la precisión. Aunque se superaron desafíos técnicos como la optimización del sistema de colimación y la calibración del fotodetector, es importante realizar pruebas exhaustivas para validar completamente el desempeño del espectrofotómetro en diversas condiciones experimentales. Las pruebas a futuro se enfocaran en evaluar la reproducibilidad y estabilidad del dispositivo en condiciones operativas y tipos de muestras. Además, comparar su rendimiento con dispositivos comerciales de gama alta ayudará a confirmar su eficacia y precisión. Estas evaluaciones proporcionarán una comprensión más completa de las capacidades del espectrofotómetro y permitirán ajustes para mejorar su funcionalidad y fiabilidad en aplicaciones prácticas.

Referencias:

- Abdel-Rahman, F., Okeremgbo, B., Alhamadah, F., Jamadar, S., Anthony, K., & Saleh, M. A. (2017). *Caenorhabditis elegans* a model to study the impact of exposure to light emitting diode (LED) domestic lighting. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 52(5), 433–439. <https://doi.org/10.1080/10934529.2016.1270676>
- Avila-Camacho, F. J., Moreno-Villalba, L. M., Cerón-Montes, G. I., 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 Boletín Científico de Ciencias Básicas E Ingenierías Del ICBI*, 9(Especial2), 19–28. <https://doi.org/10.29057/icbi.v9iespecial2.7788>
- Baker, B. (2017, June 28). *How to Design Stable Transimpedance Amplifiers for Automotive and Medical Systems*. DigiKey; Editores de DigiKey de América del Norte. <https://www.digikey.com.mx/es/articles/how-to-design-stable-transimpedance-amplifiers-automotive-medical-systems>
- Bunaciu, A. A., Hoang, V. D., & Aboul-Encin, H. Y. (2013). Applications of Differential Spectrophotometry in Analytical Chemistry. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 43(3), 125–130. <https://doi.org/10.1080/10408347.2013.803357>
- Cervantes-Cervantes, M. P., Calderón-Salinas, J. V., Albores, A., & Muñoz-Sánchez, J. L. (2005). Copper Increases the Damage to DNA and Proteins Caused by Reactive Oxygen Species. *Biological Trace Element Research*, 103(3), 229–248. <https://doi.org/10.1385/bter:103:3:229>
- Hagerman, A., & Austin, P. J. (1986). Continuous spectrophotometric assay for plant pectin methyl esterase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34(3), 440–444. <https://doi.org/10.1021/jf00069a015>
- Heinz-Helmut Perkampus. (1992). *UV-VIS spectroscopy and its applications*. Springer-Verlag.
- Jin, Z. (2023). Analysis of electromagnetic wave applications and development. *Highlights in Science Engineering and Technology*, 68, 172–181. <https://doi.org/10.54097/hset.v68i.12061>
- José de Jesús, R., Hernández-Aguilar José, A., Ávila-Camacho Francisco, J., Stein-Carrillo Juan, M., & Meléndez-Ramírez, A. (2016). Sistema sensor para el monitoreo ambiental basado en redes Neuronales. *Ingeniería, Investigación Y Tecnología*, 17(2), 211–222. <https://doi.org/10.1016/j.riit.2016.06.006>
- Mayerhöfer, T. G., Pahlow, S., & Popp, J. (2020). The Bouguer-Beer-Lambert law: Shining Light on the Obscure. *ChemPhysChem*, 21(18). <https://doi.org/10.1002/cphc.202000464>
- Morris, R. (2015). Spectrophotometry. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, 11(1). <https://doi.org/10.1002/9780470089941.et0201s11>
- Olmedo, L., Henning, M. F., Pappalardo, B., García, S. M., & Pellon Maison, M. (2021). Validación de un método enzimático-colorimétrico para la determinación de fructosa en refrescos comerciales. *Revista Española de Nutrición Humana Y Dietética*, 25(1), 69–77. <https://doi.org/10.14306/renhyd.25.1.1087>
- Paredes, R., Charca Benavente, L., Rafael, J., Sapacayo, V., & Isidro, M. (2023). PDF generado a partir de XML-JATS4R por Redalyc Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias Prototipo de un espectrofotómetro modular para la enseñanza de la química. *Revista Eureka Sobre Enseñanza Y Divulgación de Las Ciencias*, 20(2). https://doi.org/10.25267/Rev_Eureka_ensen_divulg_cienc.2023.v20.i2.2402
- Shidiq, A. S., Permasari, A., Hernani, & Hendayana, S. (2021). The use of simple spectrophotometer in STEM education: A bibliometric analysis. *Moroccan Journal of Chemistry*, 9(2), 9–2 (2021) 290-300. <https://doi.org/10.48317/IMIST.PRSM/morjchem-v9i2.27581>
- WETZEL, R. G. (2001). LIGHT IN INLAND WATERS. *Limnology*, 49–69. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-057439-4.50009-5>
- Yevgen Povrozin, & Barbieri, B. (2016). *FLUORESCENCE SPECTROSCOPY*. 2475–2498. <https://doi.org/10.1002/9781119244752.ch68>