

**REPARACIÓN, CALIBRACIÓN Y ADQUISICIÓN DE DATOS POR PC DEL
ESPECTROFOTÓMETRO DMS-100**

KARINA PAULOVA REALPE REBOLLEDO

NARLI XIMENA RÍOS BURBANO

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
INGENIERÍA FÍSICA
POPAYÁN
2005**

**REPARACIÓN, CALIBRACIÓN Y ADQUISICIÓN DE DATOS POR PC
DEL ESPECTROFOTÓMETRO DMS-100**

KARINA PAULOVA REALPE REBOLLEDO

NARLI XIMENA RÍOS BURBANO

**Trabajo de grado en la modalidad de pasantía presentado como requisito
parcial para optar al título de Ingenieras Físicas**

Director

MSc. LUIS FERNANDO ECHEVERRI

Magister en Ciencias Físicas

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
INGENIERÍA FÍSICA
POPAYÁN**

2005

NOTA DE ACEPTACIÓN

Director **Magíster** Luis Fernando Echeverri

Jurado **Doctor** Francisco Racedo N.

Jurado **Ingeniero** Diego A. Bravo

Fecha de Sustentación: Popayán, 18 de Febrero de 2005

DEDICATORIA

A Leo, a mi Madre, a mis Hermanos y a mis seres queridos con amor.

Karina

*A mis Padres, a mis Abuelos y demás seres queridos por todo su
apoyo y dedicación.*

Ximena

AGRADECIMIENTOS

Las autoras expresan sus agradecimientos a:

Luis Fernando Echeverri, Magíster en Ciencias Físicas y Director del Trabajo de Grado, por su confianza y motivación durante la realización de este trabajo.

Jaury León Tellez, Magíster en Física y Jefe del Departamento de Física de la Universidad del Cauca, por su apoyo y colaboración.

Mario Milver Patiño, Ingeniero Físico y docente del Departamento de Física de la Universidad del Cauca, por su valiosa orientación.

Olga Lucia Hoyos, Doctora en Química Inorgánica y Coordinadora del Laboratorio de Aguas Residuales del Departamento de Química de la Universidad del Cauca, por su paciencia y preocupación.

German Cuervo, Mágister en Química Analítica y Jefe del Departamento de Química de la Universidad del Cauca, por su colaboración.

Grupo I+D en Ingeniería Física. Por toda su colaboración y orientación.

Francisco Racedo, Doctor en Ciencias en Ingeniería Eléctrica y Docente del Departamento de Física de la Universidad del Cauca, por su motivación y colaboración.

Javier H. Cortés, Ingeniero Electrónico y Docente del Departamento de Física de la Universidad del Cauca, por su apoyo y colaboración.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	1
1. ESPECTROFOTOMETRÍA	3
1.1 ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO	3
1.2 MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS	6
1.2.1 Absorción y emisión de radiación por parte de la materia	8
1.3 ESPECTROFOTOMETRÍA	11
1.3.1 Espectrofotometría de absorción molecular ultravioleta-visible	13
1.3.2 Ley de Bourguer-Lambert- Beer	13
1.4 INSTRUMENTOS PARA LA MEDIDA DE ABSORCIÓN DE LUZ	18
1.5 ESPECTROFOTÓMETRO UV – VISIBLE	20
1.5.1 Componentes fundamentales de un espectrofotómetro ultravioleta-visible	22
1.5.1.1 Fuentes de radiación	22
1.5.1.2 Selectores de la longitud de onda	24
1.5.1.3 Celdas y dispositivos de muestreo	27
1.5.1.4 Detectores	28
1.5.1.5 Registrador	31
1.5.2 Tipos de espectrofotómetros ultravioleta-visible	32

1.5.2.1	Espectrofotómetro de un solo haz	32
1.5.2.2	Espectrofotómetro de haz doble	34
1.6	FACTORES QUE INFLUYEN EN LA CALIDAD ESPECTROFOTOMÉTRICA	36
1.6.1	Comprobación de parámetros	37
1.6.1.1	Control de calibración de la longitud de onda	37
1.6.1.2	Control de medidas de absorbancia	37
1.6.1.3	Control de la linealidad fotométrica	38
2.	ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE DMS 100	40
2.1	DISPOSICIÓN ELECTRÓNICA DEL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100	42
2.2	DISPOSICIÓN ÓPTICA DEL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100	47
2.3	INFORMACIÓN GENERAL Y ESPECIFICACIONES DEL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100	50
3.	ADQUISICIÓN DE DATOS A TRAVÉS DEL PUERTO PARALELO	54
3.1	ADQUISICIÓN DE DATOS	54
3.2	PUERTO PARALELO	55
3.2.1	Hardware y software del puerto paralelo	56
3.2.2	Conector centronics	60
3.2.3	Protocolo de comunicación del puerto paralelo	61
3.2.4	Puerto paralelo bidireccional	63
3.3	SOFTWARE PARA ADQUISICIÓN DE DATOS	64
4.	REPARACIÓN, CALIBRACIÓN Y ARREGLOS GENERALES DEL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100	65

4.1 ARREGLOS DEL SISTEMA ELECTRÓNICO	66
4.2 ARREGLOS DEL SISTEMA ÓPTICO	70
4.3 CALIBRACIÓN	76
4.4 ARREGLOS MECÁNICOS	80
5. ADQUISICIÓN DE DATOS DEL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100 A TRAVÉS DEL PUERTO PARALELO DEL PC	82
5.1 HARDWARE PARA LA ADQUISICIÓN DE DATOS A TRAVÉS DEL PUERTO PARALELO DEL PC	83
5.1.1 Verificación de la bidireccionalidad del puerto paralelo	85
5.1.2 Exploración de la comunicación entre el espectrofotómetro y su impresora	86
5.1.3 Interfaz física entre el PC y el espectrofotómetro	87
5.2 SOFTWARE PARA LA ADQUISICIÓN DE DATOS A TRAVÉS DEL PUERTO PARALELO DEL PC	88
5.2.1 Software de adquisición de datos	89
6. PROCESO DE ANÁLISIS DE ALGUNAS MUESTRAS EN EL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100	93
6.1 ANÁLISIS DE ALGUNAS MUESTRAS ORGÁNICAS	94
6.1.1 El azul de metileno y el naranja de metilo	97
6.1.2 Tiamina	103
6.1.3 β -caroteno	108
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	111
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113
ANEXOS	117

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Clasificación métodos espectroscópicos según los tipos de espectros que presentan.	7
Tabla 2. Transiciones energéticas en la materia.	10
Tabla 3. Registros y direcciones del puerto LPT1.	58
Tabla 4. Registro de datos.	59
Tabla 5. Registro de estado.	59
Tabla 6. Registro de control.	60
Tabla 7. Comparación de voltajes DC entre equipos espectrofotométricos de características similares.	69
Tabla 8. Lecturas de las señales observadas.	87

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Clasificación tipos de espectrofotometría.	12
Cuadro 2. Corrimiento entre las longitudes de onda de los espectros teórico y experimental.	77

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Espectro electromagnético.	4
Figura 2. Procesos de absorción y emisión en los niveles de energía.	9
Figura 3. Espectro de absorción ultravioleta del 2,5 dimetil-2,4-hexadieno en metanol, presenta una banda ancha entre 210 nm a 260nm.	11
Figura 4. Fenómenos de interacción de la luz con una muestra de material: reflexión, absorción, esparcimiento y luminiscencia.	14
Figura 5. Esquema general de las componentes fundamentales de un espectrofotómetro.	21
Figura 6. Monocromador de red Czerny-Turner.	27
Figura 7. Estructura de un tubo fotomultiplicador, (a). Circuito eléctrico; (b). Sección transversal.	31
Figura 8. Espectrofotómetro de un sólo haz.	33
Figura 9. Espectrofotómetro de doble haz.	35
Figura 10. Comprobación de la linealidad fotométrica con cromato alcalino.	39
Figura 11. Foto frontal del espectrofotómetro DMS 100.	40
Figura 12. Diagrama esquemático del espectrofotómetro.	41
Figura 13. Foto de fuente, tarjeta de potencia y de control del espectrofotómetro DMS 100.	44

Figura 14. Foto, vista posterior de la tarjeta de interfaz y de indicadores del espectrofotómetro DMS 100.	46
Figura 15. Foto del sistema óptico del espectrofotómetro DMS 100.	47
Figura 16. Foto del monocromador del espectrofotómetro DMS 100.	48
Figura 17. Arreglo óptico del espectrofotómetro.	49
Figura 18. Conector hembra DB-25.	56
Figura 19. Conector hembra CENTRONICS 36-pines.	60
Figura 20. Diagrama de tiempos para la interfase paralelo.	63
Figura 21. Foto de la vista frontal de la tarjeta de potencia.	66
Figura 22. Espectro del filtro de óxido de holmio con bandas irregulares.	68
Figura 23. Primera fase del sistema óptico: sistema espejo fuente-lámparas.	72
Figura 24. Espectro del filtro de óxido de holmio referenciado en la teoría.	74
Figura 25. Espectro del filtro de óxido de holmio experimental esperado.	75
Figura 26. Paralelo espectro teórico y experimental del óxido de holmio.	79
Figura 27. Foto de la estructura del espejo fuente.	81
Figura 28. Comunicación entre la impresora y el PC.	84
Figura 29. Comunicación entre el espectrofotómetro y el PC.	84
Figura 30. Niveles de energía electrónicos de los orbitales moleculares.	95
Figura 31. Estructura molecular del azul de metileno	98
Figura 32. Espectro de absorción experimental del azul de metileno.	99
Figura 33. Estructura molecular del naranja de metilo.	100
Figura 34. Espectro de absorción experimental del naranja de metilo.	102

Figura 35. Estructura molecular de la tiamina y el tiaminpirofosfato.	103
Figura 36. Espectro de absorción experimental del nitrato de tiamina a 15 ppm.	106
Figura 37. Espectro de absorción experimental del nitrato de tiamina a 25 ppm.	107
Figura 38. Estructura molecular del β -caroteno.	108
Figura 39. Espectro de absorción experimental del β -caroteno.	109
Figura 40. Espectro de absorción del β -caroteno en zanahoria referenciado en la teoría.	110

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Manual de operación y mantenimiento del espectrofotómetro DMS 100.	117
Anexo B. Fase del esquema eléctrico de la tarjeta de potencia donde se localizó el capacitor y la línea dañada.	144
Anexo C. Plano de la pieza de repuesto con sus respectivas especificaciones.	145
Anexo D. Programa para la adquisición de datos del espectrofotómetro DMS 100 al PC.	146

RESUMEN

Este proyecto tiene por objeto recuperar el Espectrofotómetro DMS 100, equipo perteneciente al Laboratorio de Aguas Residuales del Departamento de Química de la Universidad del Cauca, así como su mejoramiento en la adquisición de datos. Se realiza un exhaustivo estudio de las diferentes partes que componen el equipo (eléctrico, óptico y mecánico) detectando las fallas presentes en él. Se realizan los debidos ajustes y arreglos. Se procede a interfazar el espectrofotómetro con el PC, a través del puerto paralelo, obteniendo de esta manera el envío directo de datos a un archivo informático seguro, correspondiente a los picos característicos de absorbancia o transmitancia a determinadas longitudes de onda de muestras que absorben en el visible y en el ultravioleta. Finalmente, para observar todo el conjunto de dispositivos (Espectrofotómetro-PC) en funcionamiento, se realizan barridos a diversas muestras. Las lecturas de las muestras fueron las esperadas quedando registradas en un archivo del PC, que puede ser utilizado como referencia en algún estudio que lo requiera. Es de resaltar que este trabajo aporta la aplicación de la Ingeniería Física en la solución de un problema real, en este caso la reparación, calibración y toma de datos del espectrofotómetro DMS 100.

INTRODUCCIÓN

Es de vital importancia en el proceso de mantenimiento de laboratorios, la recuperación y mejoramiento de los equipos que son parte indispensable para el desarrollo integral de sus actividades. Este trabajo surge de la necesidad de aportar a la preservación de equipos pertenecientes a laboratorios de la Universidad del Cauca, los cuales refuerzan y complementan la educación y el servicio que presta dicha Institución al estudiantado y a la comunidad en general.

En este trabajo se realizó la recuperación del equipo espectrofotométrico del Laboratorio de Aguas Residuales del Departamento de Química de la Universidad del Cauca. Este equipo se encontraba fuera de servicio debido a desajustes de tipo eléctrico, mecánico y óptico, cuya solución no estaba al alcance del personal de servicio, ya que necesitó de reparaciones en el sistema mecánico y eléctrico así como la calibración en el sistema óptico. Estos procesos requerían de un conocimiento más avanzado de tipo ingenieril. Hay que resaltar que, debido a procedimientos inadecuados, el equipo pasó de un estado de operación deficiente a inaceptable.

Como parte complementaria a la reparación y calibración del equipo espectrofotométrico, se construyó una nueva etapa de recopilación de datos

adicional, sistematizada, que proporciona al usuario mayor versatilidad y ajuste a sus necesidades, recreando un ambiente práctico y de fácil accesibilidad.

Este proyecto contribuyó a la institución, ya que favorece el desarrollo de proyectos de investigación realizados en el laboratorio de aguas residuales de la Universidad del Cauca, así como al beneficio profesional de las autoras, puesto que este trabajo involucra la solución de problemas reales reforzando los conocimientos en el área ingenieril.

1. ESPECTROFOTOMETRÍA

1.1 ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO

La luz se puede explicar como un conjunto de radiaciones electromagnéticas que se propagan en el espacio. Estas radiaciones se pueden describir como partículas o como ondas. Al hacer la descripción de la luz como una onda esta se basa en campos eléctricos y magnéticos que oscilan perpendicularmente a la dirección de traslación por el espacio dando lugar a ondas transversales.

La radiación electromagnética, se define generalmente mediante dos parámetros:

(a) La *longitud de onda* (λ) que es la distancia recorrida por un ciclo de onda completo, de cresta a cresta. (b) La *frecuencia* (ν) que es el número de oscilaciones completas que realiza la onda en la unidad de tiempo.

La frecuencia (ν) es constante y sólo depende de la fuente que la produce, es decir, la frecuencia de la onda no cambia cuando la radiación atraviesa un medio dado, cambian solo la velocidad de propagación y la longitud de onda (λ).

En el vacío, el producto de estos parámetros es constante e igual a la velocidad de propagación de la luz:

$$\lambda\nu = c \quad (1)$$

Donde la constante c es la velocidad de la luz en el vacío (3×10^8 m/s).

Cuando las ondas electromagnéticas se organizan de acuerdo con su frecuencia o su longitud de onda, la disposición ordenada se llama *espectro electromagnético*. No existen divisiones o límites estrictos para separar una región de otra en el espectro electromagnético. Los límites son arbitrarios y se han escogido de acuerdo con la instrumentación utilizada para su medición [1].

En la figura siguiente, se muestran las zonas del espectro según la clasificación más aceptada [2],

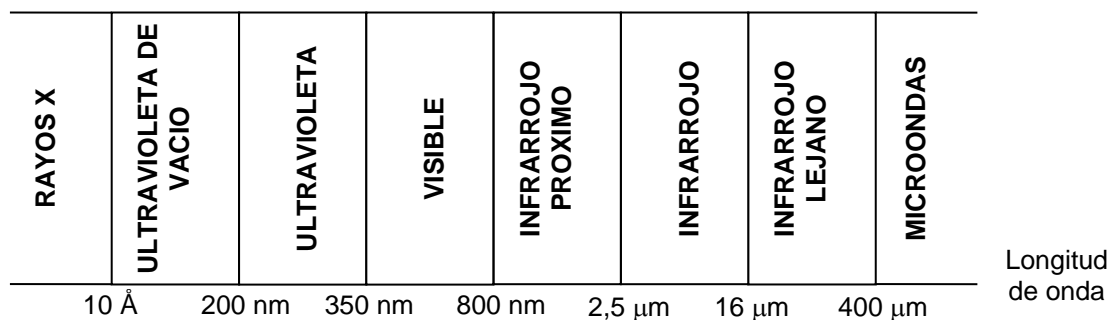


Figura 1. Espectro electromagnético

A continuación se cita la definición y el rango aproximado de cada región espectral:

- La región de los *rayos gamma* considera las radiaciones con longitudes de onda menores que 0.1 Å.
- La región de los *rayos X* cubre aproximadamente desde 0.01nm = 0.1 Å hasta 10nm =100 Å. (1 amgstrom = 1 Å = 10⁻¹⁰ m).
- La región del *ultravioleta lejano* cubre desde 10 nm hasta 200 nm y el *ultravioleta cercano* desde 200 nm hasta 380 nm.
- La luz *visible* es la porción del espectro a la que el ojo humano es sensible, ocupa una banda delgada que se extiende generalmente desde 380 nm hasta 780 nm. Las longitudes de onda más cortas del espectro visible corresponden a la luz violeta y las más largas a la luz roja y entre estos extremos se encuentran todos los colores.
- La región del *infrarrojo* cubre desde 0.75 μm a 1000 μm.
- La región de las *microondas* se extiende desde 1 mm hasta 30 cm.

- Y las *ondas de radio* cubren radiaciones de longitudes de onda desde 30 cm hasta 300 cm o mayores.

1.2 MÉTODOS ÓPTICOS DE ANÁLISIS

Los métodos ópticos de análisis químico se definen como aquellos que ***miden la radiación electromagnética que emite o absorbe la materia***. Estos métodos, tienen como objeto, la medida de la radiación que es emitida, absorbida, o transmitida por la materia, al interactuar el campo eléctrico o magnético de la radiación con los campos eléctricos o magnéticos de dicha materia; o bien la medida de la radiación que es reflejada, refractada, difractada, polarizada o dispersada cuando interactúa con la materia.

Los métodos ópticos se dividen en ***espectroscópicos y no espectroscópicos***. Los primeros ***miden la radiación absorbida por átomos, moléculas o iones*** y se conocen como ***métodos espectroscópicos de absorción***, y según sea la radiación absorbida, se conocen como métodos de absorción de rayos X, absorción en el ultravioleta, absorción en el visible, absorción infrarroja, etc. Si se ***mide la radiación emitida por átomos, moléculas o iones***, los métodos se conocen como ***métodos espectroscópicos de emisión*** y según sea la radiación emitida se conocen como métodos de emisión de rayos X, fluorescencia atómica

fluorescencia molecular, fosforescencia que pueden ocurrir en el visible o ultravioleta (Ver Tabla 1) [3].

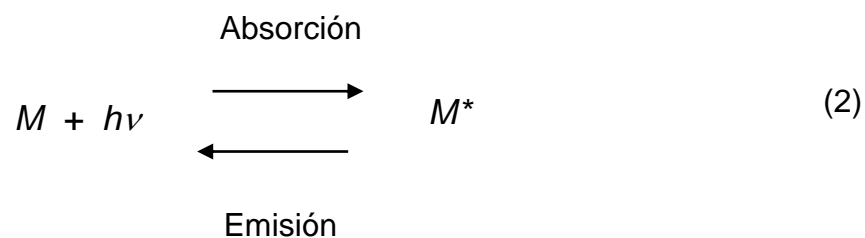
Tabla 1. Clasificación métodos espectroscópicos según los tipos de espectros que presentan

Espectros de Absorción	Espectros de Emisión	Espectros Raman	Otros
<p><i>Espectrofotometría de ultravioleta y visible.</i> Espectrofotometría de infrarrojo. Absorción atómica. Espectroscopía de Microondas. Espectrometría de Dicroísmo Circular. Espectroscopía de Absorción de Rayos X. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (rmn). Espectroscopía de Resonancia de Spin Electrónico (rse). Espectroscopía Mössbauer. Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier.</p>	<p>Espectroscopía de Emisión. Espectrofotometría de Llama. Espectrofluorimetría. Espectrofosforimetría. Espectroscopía de Emisión de Rayos X. Espectroscopía de Rayos Gamma.</p>	<p>Espectroscopía Raman.</p>	<p>Espectroscopía de Rayos X por Energía Dispersada (EDS). Espectrometría de Rayos X de Longitud de Onda Dispersada (WDS). Técnicas Radioquímicas, incluyendo el análisis por activación.</p>

Los segundos, ***no espectroscópicos***, se fundamentan en una interacción entre la radiación electromagnética y la materia, que conduce a cambios en las propiedades físicas de dicha radiación, es decir, miden cambios en la dirección de la propagación de la luz, entre ellos se tienen la refractometría, polarimetría, medidas de reflectancia, entre otros [4].

1.2.1 Absorción y Emisión de Radiación por Parte de la Materia. Cuando una molécula absorbe un fotón, su energía interna aumenta y el átomo o molécula pasa a un estado inestable, por lo que rápidamente vuelve a liberar esa energía “sobrante” y vuelve al estado inicial que es más estable. El estado de más baja energía interna posible se denomina estado fundamental y el estado más energético se llama estado excitado. La absorción de radiación produce un paso del estado fundamental al excitado (excitación) y en el proceso contrario (relajación) hay una liberación de energía. Esa energía liberada en la relajación puede ser en forma de calor o en forma de radiación electromagnética. Este último proceso de desprendimiento de radiación se llama emisión.

Estos procesos se pueden representar como una reacción química y en un diagrama de energía (Ver figura 2).



Donde,

M Materia en estado fundamental

$h\nu$ Energía de radiación

M^* Materia en estado excitado

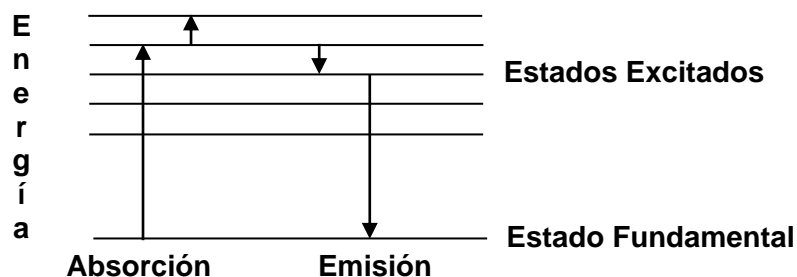


Figura 2. Procesos de absorción y emisión en los niveles de energía

Cuando una molécula absorbe una radiación electromagnética, el aumento en el nivel energético interno de la molécula produce unos cambios en los enlaces intramoleculares y/o en el movimiento de los electrones en la estructura de la nube electrónica. Estos cambios se llaman transiciones y se clasifican en tres tipos según la energía requerida de mayor a menor:

Tabla 2. Transiciones energéticas en la materia

TIPO DE TRANSICIÓN	INTERACCIÓN ENTRE...
Electrónicas	Átomos
Vibracionales	Moléculas o Iones
Rotacionales	Moléculas o Iones

Según lo anterior, las radiaciones más energéticas ocurren en el visible, el ultravioleta y en las regiones de menor longitud de onda, estas radiaciones comunican suficiente energía como para alterar el movimiento orbital de los electrones, tanto alrededor de un átomo sólo como de los orbitales de enlace entre dos átomos. Las radiaciones menos energéticas como en el infrarrojo producen cambios en los movimientos de vibración y rotación de la molécula.

Para realizar la identificación de una sustancia, generalmente se hace incidir sobre ésta, radiaciones electromagnéticas de diferente energía. Normalmente se estudia un rango de radiaciones y se va aumentando (o disminuyendo) la longitud de onda de las radiaciones incidentes desde un extremo del rango hasta el extremo opuesto. Así se obtiene un **espectro de absorción** de la sustancia, que se puede representar gráficamente (ver figura 3) [1,5].

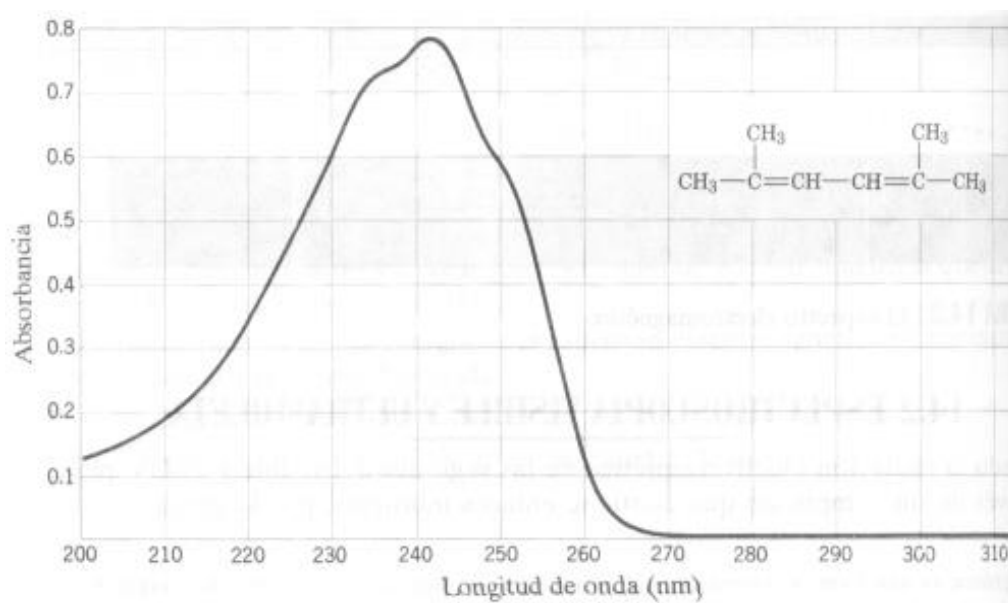


Figura 3. Espectro de absorción ultravioleta del 2,5 dimetil-2,4-hexadieno en metanol, presenta una banda ancha entre 210 nm a 260nm

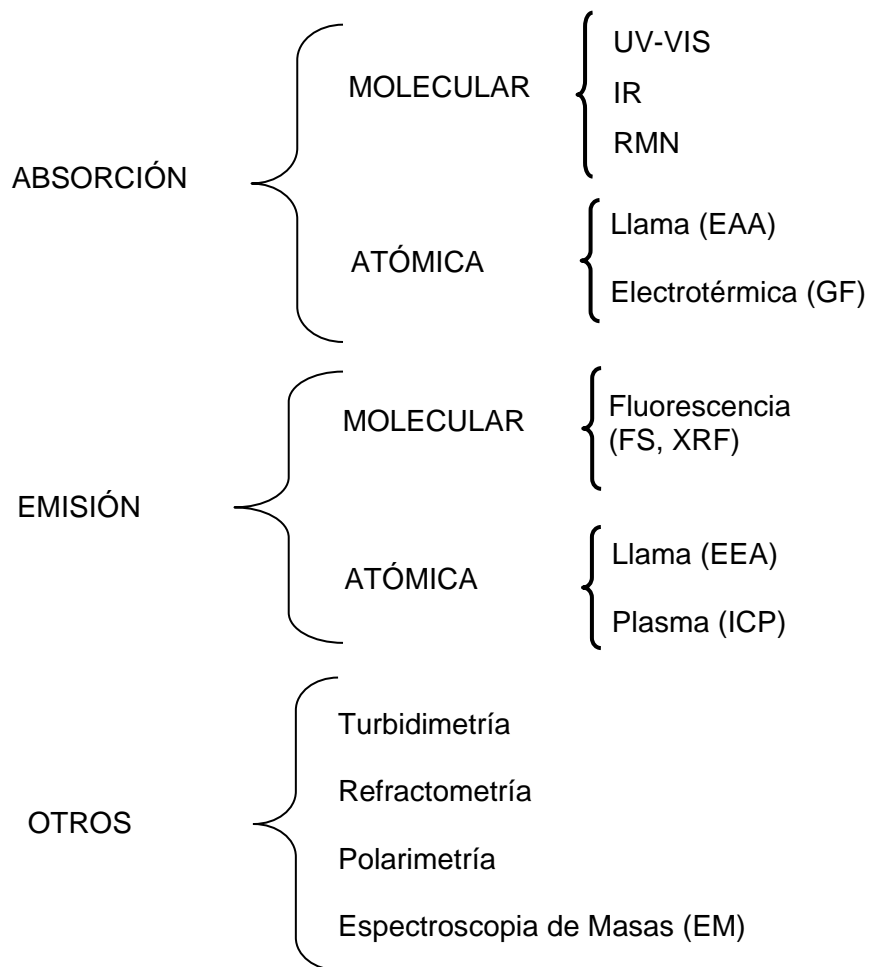
Los picos que se obtienen en un espectro corresponden aproximadamente a las transiciones energéticas de un enlace molecular, por lo tanto el espectro es único de cada molécula, entonces, si tenemos el espectro de absorción de una molécula se puede identificar esta con bastante exactitud.

1.3 ESPECTROFOTOMETRÍA

La espectrofotometría se refiere a los métodos cuantitativos de análisis químico que utilizan la luz para medir la concentración de las sustancias químicas. Se conocen como métodos espectrofotométricos y según sea la radiación utilizada

como espectrofotometría de absorción visible (colorimetría), ultravioleta e infrarroja. A continuación se clasificarán los principales tipos de espectrofotometría según la interacción luz-molécula (emisión o absorción) y según la zona del espectro en la que se trabaja (ver cuadro 1) [1,3].

Cuadro 1. Clasificación tipos de espectrofotometría

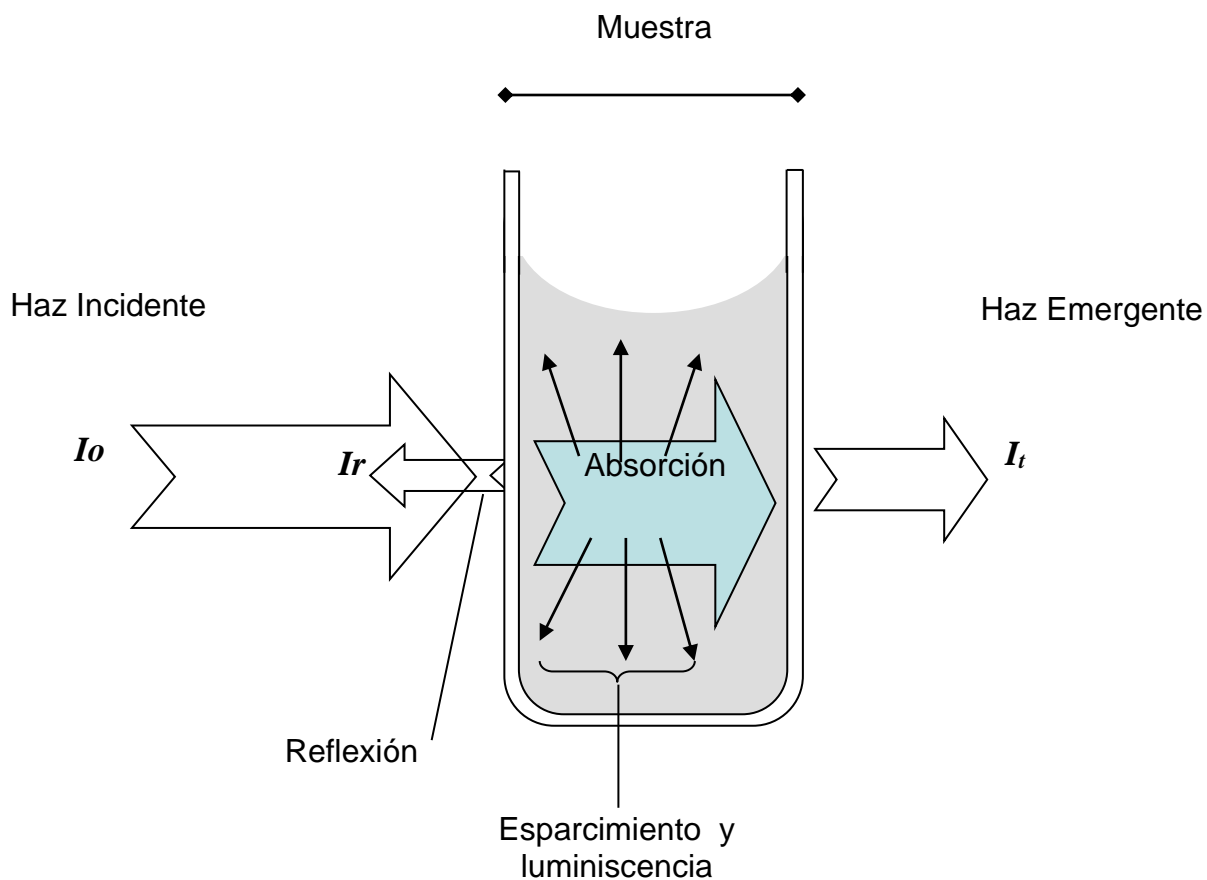


1.3.1 Espectrofotometría de Absorción Molecular Ultravioleta-Visible. Este método espectroscópico, como su nombre lo indica, trabaja en el rango correspondiente a las regiones: (a) Ultravioleta, la cual se divide en ultravioleta lejano (10 – 200 nm), ultravioleta próximo (200 – 400 nm), y (b) Visible. Las radiaciones ultravioleta y visible tienen en común, el que la absorción en ambas regiones provoca la excitación de electrones a niveles de energía superiores.

La espectrofotometría de absorción en el ultravioleta-visible, se considera como una técnica analítica que mide la cantidad de radiación electromagnética absorbida por un compuesto a una longitud de onda determinada dentro de este rango, siendo necesario aplicar la teoría de absorción, específicamente la Ley de Bourguer-Lambert- Beer [3].

1.3.2 Ley de Bourguer-Lambert- Beer. Bourguer, Lambert y Beer, a través de sus observaciones establecieron relaciones de la variación de la intensidad de luz transmitida por una muestra con el espesor de ella o con la concentración de la sustancia, para materiales translúcidos. Estas relaciones se conocen como la ley de ***Bourguer-Lambert-Beer*** ó **ley general de la espectrofotometría** que permite hallar la concentración de una especie química a partir de la medida de la intensidad de luz absorbida por la muestra.

Cuando una radiación atraviesa una sustancia semitransparente, aquella se trasmite parcialmente, es decir que parte se absorbe o se refleja dependiendo de la sustancia y de la longitud de onda de la radiación (ver figura 4).



**Figura 4. Fenómenos de interacción de la luz con una muestra de material:
reflexión, absorción, esparcimiento y luminiscencia**

Esta ley se puede expresar en términos de potencia de luz o de intensidad de luz, asumiendo luz monocromática, como:

$$\frac{I_t}{I_0} = 10^{-\epsilon bc} \quad (3)$$

Donde I_t es la intensidad de luz transmitida por la muestra, I_0 la intensidad de luz que incide sobre la muestra y que proviene de la fuente, ϵ el coeficiente de absorptividad molar en unidades de $M^{-1}cm^{-1}$, b es la longitud de la trayectoria del haz de luz a través de la muestra o el espesor de la celda en centímetros o lo que se conoce como camino óptico y C es la concentración de la muestra.

La relación I_t / I_0 se conoce como transmitancia, T , y es la medida primaria que se realiza en los instrumentos para medir la absorción de luz por parte de una muestra. Considerando que el haz es de radiación paralela y que incide sobre las superficies planas y paralelas de la muestra, formando ángulos rectos.

Si la relación se expresa en forma porcentual, entonces se llama porcentaje de transmitancia:

$$\% T = 100 \frac{I_t}{I_0} \quad (4)$$

La luz absorbida sería $I_0 - I_t$ es decir la diferencia entre la intensidad de la luz incidente y la intensidad transmitida después de pasar a través de la muestra. A veces se expresa en forma porcentual en función de la transmitancia medida como,

Porcentaje de absorción = $(T_{\text{blanco}} - T_{\text{muestra}}) * 100$ ó *absorbancia*.

Cuando se toma el logaritmo decimal negativo de la relación I_t / I_0 , entonces:

$$-\log \frac{I_t}{I_0} = -\log T \quad (5)$$

O igual que,

$$\log \frac{I_0}{I_t} = \log I_0 - \log I_t \quad (6)$$

Relación que representa la cantidad de luz absorbida por la muestra. La ecuación (5) recibe el nombre de *Absorbancia* y se designa por A .

La ley de Bourguer-Lambert-Beer se puede entonces escribir de las siguientes formas:

$$\begin{aligned} \frac{I_t}{I_0} &= 10^{-\epsilon bc} \\ -\log T &= \epsilon b C \\ -\log T &= A = \epsilon b C \end{aligned} \quad (7)$$

Siendo C la concentración del soluto en moles/litro de solución, ϵ una constante denominada **coeficiente de absortividad molar** cuyas unidades son: $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (M se expresa en moles/litro) y b en cm, se llega, entonces, a que la absorbancia es adimensional.

El coeficiente de absorptividad molar ε es función de la longitud de onda, del índice de refracción de la solución y es característico de cada sistema soluto-solvente. Es decir es una propiedad intensiva que no depende de la concentración de la sustancia y representa la absorción de luz por parte de un mol de soluto para una longitud de onda dada.

Si no se conoce el peso molecular de la sustancia la ley de Beer se puede expresar como:

$$A = abC \quad (8)$$

Donde a se denomina coeficiente de absorptividad y sus unidades dependen de las unidades de concentración utilizadas, que pueden estar en g/L ó g/1000mL.

El registro de la variación del coeficiente de absorptividad molar ε , o de la absorbancia A , o de la transmitancia T , en función de la longitud de onda da origen a lo que se denomina "**espectro**" o curva espectral de una sustancia química, el espectro indica las características de absorción de dicha sustancia con relación a la longitud de onda. En muchas ocasiones la curva espectral se presenta como absorbancia versus longitud de onda y el espectro se denomina espectro de absorción, o en función de la transmitancia, denominándose el espectro, espectro de transmisión.

De igual forma cuando se registra la emisión de radiación en función de la longitud de onda, los espectros se denominan espectros de emisión, o espectros de fluorescencia [2,6,7,8].

1.4 INSTRUMENTOS PARA LA MEDIDA DE ABSORCIÓN DE LUZ

Los instrumentos para realizar medidas de absorción de luz por parte de las especies químicas, constan básicamente de los siguientes componentes:

1. La **fente de luz que emite la radiación**, que posteriormente interactúa con la muestra. Si irradia luz en un intervalo amplio de longitudes de onda, recibe el nombre de fuente continua. Si irradia luz sólo en ciertas longitudes de onda específicas, recibe el nombre de fuente de líneas.
2. Un sistema que permite separar bandas de luz estrechas, ya sea antes o después de la interacción de la luz con la muestra, o **sistema monocromador**, constituido por lentes, espejos, redes de difracción, prismas de refracción, rendijas etc.
3. Un compartimiento para colocar la **muestra en celdas o cubetas** adecuadas, dependiendo de la región del espectro utilizada.

4. Un sistema para la detección de la radiación que ha atravesado la muestra o sistema **detector**, cuyas características dependen de la zona del espectro utilizada. Si la señal lumínica es transformada en señal eléctrica el sistema recibe el nombre de **transductor**.

5. Sistemas para la **amplificación, transformación y comparación de la señal eléctrica** para un registro posterior de ella.

6. Sistemas de *registro* de la señal mediante movimiento de agujas o señales digitales o registro gráfico o mediante sistemas computarizados.

Actualmente, los sistemas correspondientes a la fuente, monocromador, celda y detector son llamados **módulos característicos**, ya que su diseño, materiales ópticos y sus características dependen de la región del espectro que se esté utilizando. Los sistemas de amplificación, transformación, comparación de la señal y registro se llaman **módulos procesadores** y presentan características comunes sin importar la zona del espectro utilizado.

Los sistemas que miden las relaciones de intensidad de luz reciben el nombre de **fotómetros**, los cuales son instrumentos sencillos, que generalmente no poseen un sistema monocromador, sino que utilizan filtros para separar la radiación proveniente de la fuente y se conocen como **fotómetro de filtros**.

Los **espectrofotómetros** poseen los componentes de los fotómetros y de un **sistema monocromador con prisma, red o interferómetro**, para seleccionar un intervalo de longitudes de onda más estrecho, así como sistemas de detección muy sensibles o con especificaciones mas elevadas. Estos instrumentos pueden dividirse en dos bloques, espectrofotómetros de UV-Visible y espectrofotómetros de infrarrojo.

Los **espectrógrafos** poseen sistema monocromador y como detector suelen utilizar una película fotográfica y los **espectroscópios** utilizan como detector el ojo humano [8].

1.5 ESPECTROFOTÓMETRO UV - VISIBLE

Es el nombre genérico de todos los aparatos basados en la técnica de espectrofotometría de absorción en las regiones Ultravioleta - Visible. En general, un espectrofotómetro UV-Visible tiene un generador de radiación lumínica (policrómica), y un separador para obtener la radiación adecuada, con el objeto de medir la potencia radiante obtenida de una sustancia al incidir la luz sobre esta. Según lo anterior, los componentes fundamentales que tienen estos espectrofotómetros son fuente, monocromador, compartimiento de muestra, detector y registrador (ver figura 5).

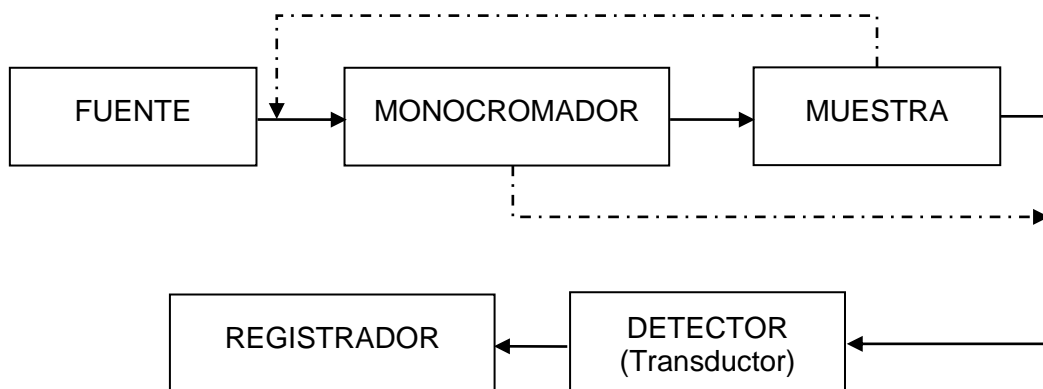


Figura 5. Esquema general de las componentes fundamentales de un espectrofotómetro

Es fundamental considerar aspectos operativos y de diseño de los instrumentos que se utilizan en espectrofotometría de absorción en las regiones Ultravioleta y visible del espectro electromagnético. En primer lugar, es necesario disponer de una fuente de radiación, con requerimientos adecuados para cada región de dicho espectro. Todos los espectrofotómetros poseen determinadas formas para discernir entre las diferentes frecuencias de radiación usando filtros, prismas o redes de difracción. Una porción de la radiación incidente que proviene de este sistema es absorbida por la muestra; el resto de ella es transmitida hasta un detector, en donde se transforma en una señal eléctrica y se visualiza, después de ser amplificada en un medidor, un registrador en papel o algún otro tipo de dispositivo de lectura [1,8].

1.5.1 Componentes Fundamentales de un Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible

1.5.1.1 Fuentes de Radiación. Las fuentes de radiación para la espectrofotometría de absorción poseen dos condiciones básicas. Inicialmente deben proporcionar la suficiente energía radiante a lo largo de toda la región de longitudes de onda en la que se medirá la absorción. Por otra parte, deben mantener una intensidad constante por encima del intervalo de tiempo durante el que se realicen las medidas. Si se cuenta con una fuente de intensidad baja en la región donde se produce la absorción, el intervalo de longitudes de onda que atraviesa la muestra, debe ser relativamente amplio, a fin de obtener el rendimiento necesario de energía; debido a esto es posible que se produzcan errores en las mediciones de absorción. Pero en las regiones ultravioleta y visible del espectro, generalmente la intensidad de las fuentes no constituye un problema.

Lámparas de descarga de Hidrógeno o de Deuterio

En las regiones de ultravioleta se trabaja principalmente con lámparas de descarga de hidrógeno o de deuterio operadas a bajas presiones (aproximadamente 0,2 - 0,5 torr) y bajo voltaje (aproximadamente 40 V DC), la excitación eléctrica del deuterio o hidrógeno a baja presión hace que uno de estos se disocie emitiendo un espectro continuo en la región ultravioleta.

Esta es una lámpara que se basa en la formación de un arco entre un filamento recubierto de óxido y un electrodo metálico, al calentarse el filamento aporta los electrones necesarios para mantener una corriente continua. El cátodo caliente realiza la función esencial de mantener la descarga, la cual tiene una característica negativa de temperatura en función de la resistencia, de modo que se requiere una fuente de corriente regulada para su operación. Uno de los aspectos vitales de estas lámparas se encuentra en el claro entre el cátodo y el ánodo, el cual reduce la descarga a una ruta estrecha. Normalmente el ánodo se dispone cerca de la salida de la fuente, con lo que se crea una intensa bola de radiación cerca de 0,6-1,5 mm del lado catódico de la salida. El uso del deuterio en vez de hidrógeno aumenta ligeramente el tamaño de ésta bola radiante pero intensifica el brillo, o sea la luminancia [candelas por unidad de área] de tres a cinco veces. A longitudes de onda inferiores a 360 nm, estas lámparas de descarga proporcionan una radiación fuerte y continua que cubre muchas de las necesidades de la región Ultravioleta. Con el uso de cubiertas de sílice fundida, es factible trabajar hasta 160 nm. A longitudes de onda superiores a 380 nm, la descarga posee una baja intensidad con líneas de emisión sobrepuestas al espectro continuo, lo que generalmente impide su utilización en la región visible.

Lámparas de filamento incandescente

Las mediciones arriba de 350 nm hasta el infrarrojo cercano a 2,5 μm generalmente se realizan con lámparas de filamento incandescente que dan un espectro continuo en todo ese intervalo. En estas lámparas se calienta un

filamento de alambre, generalmente de tungsteno, hasta la incandescencia por medio de corriente eléctrica. El filamento se encuentra en un tubo de vidrio herméticamente sellado al vacío o con gas inerte. Los filamentos generalmente se enrollan para aumentar su emisividad, eficacia y luminancia media. Las lámparas incandescentes son unidades robustas, de bajo costo y lo suficientemente brillantes para casi todos los trabajos de absorción en las regiones visible y del ultravioleta cercano.

Las lámparas de tungsteno y halógeno representan una clase especial de lámparas incandescentes que contienen yodo añadido a los gases normales de relleno. En la envoltura se utiliza el cuarzo para tolerar las altas temperaturas de operación de la lámpara (alrededor de 3500 K) [6,8].

1.5.1.2 Selectores de la Longitud de Onda. Los métodos espectrofotométricos generalmente requieren el aislamiento de bandas discretas de radiación, por tanto, para aislar una banda estrecha de longitudes de onda, es necesario utilizar filtros, monocromadores o ambos.

Filtros

Los filtros proporcionan alto rendimiento de radiación, con una eficiencia aproximada de 50% a 80%. El montaje de los instrumentos del filtro es relativamente fácil para más o menos hasta cinco longitudes de onda. Entre estos se encuentran los filtros de absorción.

En los *Filtros de absorción* los efectos se derivan de las interacciones totales de la radiación con el material. Algunos tipos se basan en dispersiones selectivas y en otros predomina la absorción verdaderamente iónica. La transmisión de radiación es una función que decrece uniformemente con el espesor.

Los filtros de absorción se fabrican en una gran variedad de materiales base como: gelatina, vidrio, líquidos y materiales plásticos. Los filtros de vidrio son ampliamente utilizados en los equipos automáticos de análisis químico y en colorimetría. Los de tipo dispersivo dependen de los cristales de dispersión que se forman dentro de la masa de vidrio, mediante tratamientos reductivos y térmicos. Las longitudes de onda más cortas se dispersan y absorben en el material, mientras que las longitudes de onda mayores resultan inafectadas. Los otros filtros del tipo de absorción alcanzan su efectividad a través de la absorción de bandas específicas de radiación mediante iones o moléculas contenidas en disoluciones verdaderas.

Monocromadores

Un monocromador consiste, en general, de una rendija de entrada que proporciona una imagen óptica estrecha de la fuente de radiación, un colimador que hace paralela la radiación procedente de la rendija de entrada, una red o prisma para dispersar la radiación incidente, otro colimador para reformar las imágenes de la rendija de entrada sobre la rendija de salida y una rendija de salida

para aislar la banda espectral deseada, bloqueando toda la radiación dispersada excepto la del intervalo deseado.

La función principal de un monocromador (ver figura 6) es proporcionar un haz de energía radiante con una longitud de onda nominal y una anchura de banda dada. La salida espectral de cualquier monocromador usado con una fuente de radiación continua, independientemente de su distancia focal y anchura de rendijas, consiste en una gama de longitudes de onda con un valor promedio de longitud que se presenta en el indicador del monocromador. La función secundaria de un monocromador consiste en el ajuste del rendimiento de energía. El flujo lumínico que emerge de la rendija de salida puede variarse ajustando el ancho de la rendija. Sin embargo, puesto que tal dimensión también controla la anchura de banda espectral, una rendija excesivamente amplia, con anchuras de bandas espectrales consecuentemente grandes, producirá desviaciones respecto a la ley de Beer. Por lo contrario, los anchos de rendija excesivamente pequeños provocan rendimientos de baja energía, afectando la sensibilidad analítica como resultado de la degradación de la razón señal-ruido.

Redes o rejillas de difracción

Actualmente son los dispositivos más utilizados en los espectrofotómetros UV-VIS. Una **rejilla o red de difracción** consiste en una superficie pulida y rayada finamente con un gran número de surcos o estrías equidistantes que reflejan o

transmiten la radiación. La distancia entre las estrías debe ser similar al orden de la longitud de onda de la radiación que se quiere obtener [6,8].

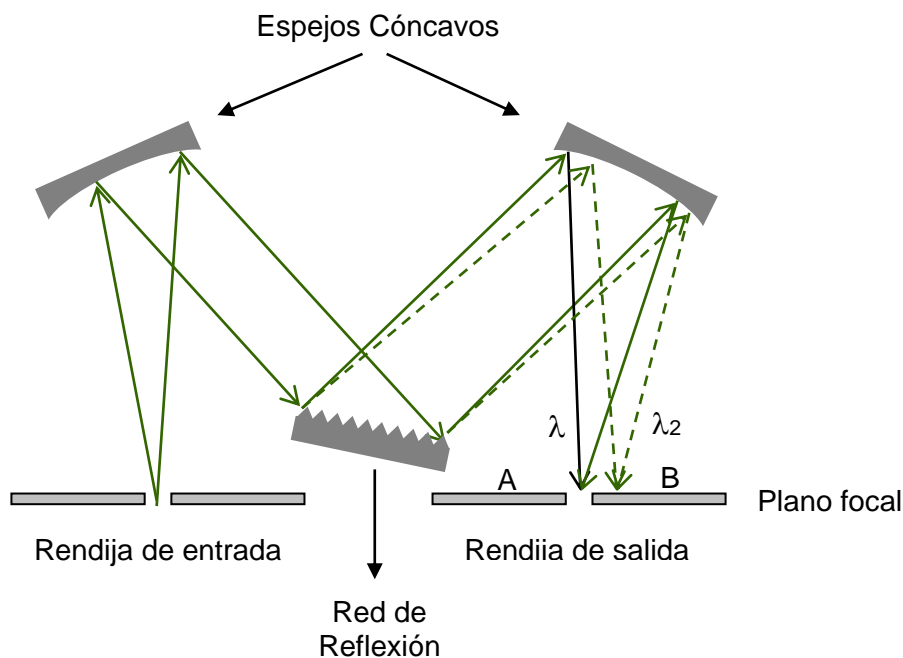


Figura 6. Monocromador de red Czerny-Turner

1.5.1.3 Celdas y Dispositivos de Muestreo. Las celdas (o cubetas) que contienen las soluciones de la muestra y de la referencia deben tener sus ventanas perfectamente paralelas y perpendiculares al haz de radiación. Las celdas utilizadas en espectrofotometría ultravioleta-visible, por lo general tienen un centímetro (cm) de espesor, aunque se puede utilizar desde 0,1 cm o menos hasta 10 cm o más.

Las celdas deben construirse con materiales que no absorban la radiación en la región de interés. La sílice fundida o el cuarzo son transparentes desde 190 nm en la región del ultravioleta hasta cerca de 3 a 4 μm en la región infrarroja.

Para obtener buenos datos de absorbancia, las celdas deben manejarse por pares y se pueden obtener como tales de los proveedores, pero, siempre es mejor verificar el par analizando muestras idénticas en cada celda y reservar una para la solución de la muestra y la otra para el disolvente solo.

Las celdas deben limpiarse minuciosamente antes y después de ser utilizadas, para ello se emplea ácido nítrico o agua regia, después de su limpieza deben enjuagarse completamente y secarse evitando el uso de estufas de secado o de flama, ya que puede existir variación en el espesor de las mismas. Las caras de las celdas nunca deben tocarse con los dedos cuando se manejan ya que las huellas digitales, los residuos de grasa y la pelusa pueden provocar cambios notables en la transmitancia de la celda [6,8].

1.5.1.4 Detectores. Un sistema detector consiste en los dispositivos que permiten "**ver o detectar u observar**" la radiación después de pasar por la muestra, en las medidas de absorción, u originada por la muestra en el caso de medidas de emisión de radiación. Generalmente también son **transductores**, es decir que convierten la radiación electromagnética o radiación lumínica en una corriente o voltaje que se observa después de amplificar en el circuito de lectura.

Dependiendo de la zona del espectro utilizada en el espectrofotómetro, los detectores deben poseer características que le permitan detectar ese tipo de radiación.

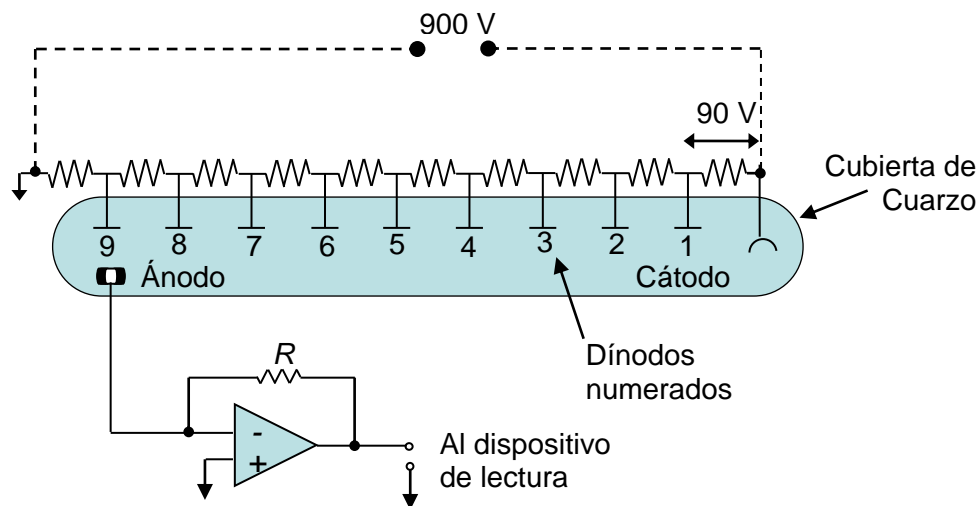
Para el ultravioleta, el visible y el cercano infrarrojo se encuentran: Los **fototubos** de vacío, de un solo paso, que contienen un cátodo sensible a la radiación y su ánodo. El **fotocátodo** opera según el principio de que se emiten electrones desde algunos materiales dependiendo de la frecuencia de los fotones que incidan en su superficie, es decir, hacen uso del efecto fotoeléctrico.

Los **fotodiodos** operan según un principio completamente diferente al de los detectores anteriores. Este consiste de una unión semiconductor p-n, la cual posee una polarización inversa, de modo que no existe un flujo de corriente. Cuando un fotón interactúa con el diodo, los electrones llegan hasta la banda de conducción en donde pueden actuar como portadores de carga. De esta manera, la corriente generada es proporcional a la potencia radiante incidente.

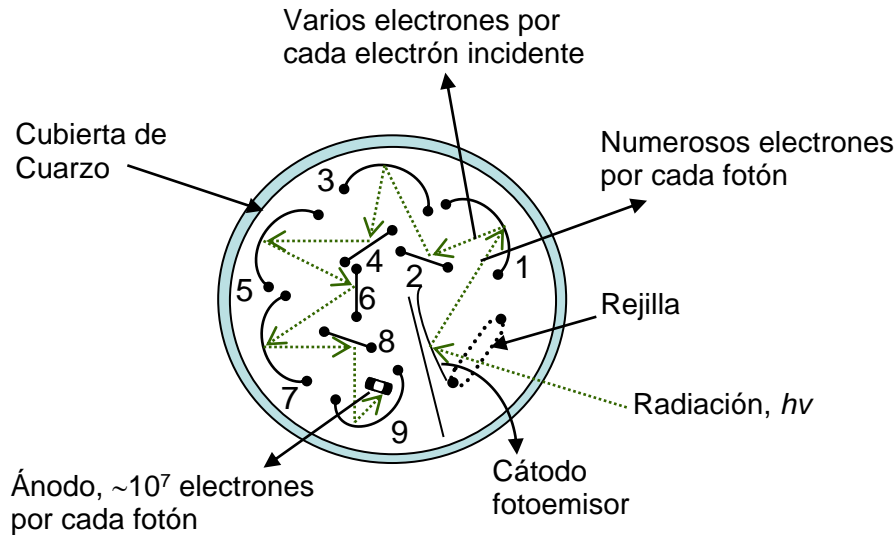
Los **fotomultiplicadores** son una combinación de un cátodo fotoemisivo y una cadena interna de díodos multiplicadores de electrones. La radiación incidente expulsa fotoelectrones del cátodo. Estos fotoelectrones son enfocados por un campo electrostático y acelerados hacia un electrodo curvo, que corresponde al primer dínodo, el cual está cubierto con un compuesto (BeO, GaP, CsSb) que expulsa varios electrones como resultado del impacto de un electrón de alta

energía. La forma redondeada de los dínodos hace converger a los electrones en una sola dimensión, mientras que el campo formado en los bordes o cerca de los extremos de los dínodos, los hace converger en una segunda dimensión. Repitiendo este proceso multiplicador electrónico a lo largo de una serie de dínodos sucesivos que se mantienen a altos voltajes, se produce una corriente de avalancha que finalmente llega al ánodo [6,8].

En los tubos fotomultiplicadores se presentan dos diseños, el de caja circular y el de configuración en línea (ver figura 7).



(a) Circuito eléctrico



(b) Sección transversal

Figura 7. Estructura de un tubo fotomultiplicador: (a) Circuito eléctrico; (b) Sección transversal

1.5.1.5 Registrador. En los instrumentos modernos se tiene un Indicador digital, en el que aparece el valor numérico de transmitancia, de la absorbancia o el valor de concentración.

En general, la lectura directa en el registrador es siempre la transmitancia ya que refleja la señal recibida por el detector y es lo que deja pasar la muestra. De todos modos, mediante un convertidor logarítmico electrónico puede tenerse una lectura en absorbancias, la cual a su vez, mediante un factor de proporcionalidad determinado, proporciona las lecturas en concentración previo ajuste y calibración con un patrón conocido.

Los sistemas de lectura son varios, lectura-digital, sistema de registro gráfico, impresora o computador. En el caso de obtener el espectro de absorción (en un intervalo de longitud de onda) de una sustancia, el registrador nos muestra un gráfico con el valor de longitud de onda en abscisas y la absorbancia en ordenadas [6,8].

1.5.2 Tipos de Espectrofotómetros Ultravioleta-Visible. En términos de su construcción estos espectrofotómetros se pueden diferenciar según la ruta de radiación, ya sea simple o de doble haz [8,9].

1.5.2.1 Espectrofotómetro de un Sólo Haz. Los instrumentos de canal sencillo o un único haz son aquellos en los cuales el haz de luz, proveniente de la fuente, sigue una única trayectoria entre la fuente y el detector. Estos instrumentos, actualmente, poseen lámparas de tungsteno-halógeno para trabajar en el visible y lámparas de descarga de Deuterio o Hidrógeno para la región ultravioleta. Las fuentes están montadas sobre bases prealineadas y un espejo selector enfoca la radiación de la fuente que se va a utilizar a la rendija de entrada del monocromador. La luz pasa por diferentes espejos y lentes hasta llegar a la red de difracción o al prisma donde se dispersa (en instrumentos más sencillos se emplean filtros por lo que se denominan colorímetros o fotómetros de filtros). La banda de luz dispersada se enfoca en la rendija de salida. Esta estrecha banda de luz atraviesa la muestra que se halla contenida en una celda, la luz transmitida por la muestra pasa al detector (fotodetector) originándose una corriente eléctrica que

por medio de diferentes circuitos eléctricos o electrónicos permite observar una señal, ya sea el movimiento de una aguja o señal digital o un registro gráfico (ver figura 8).

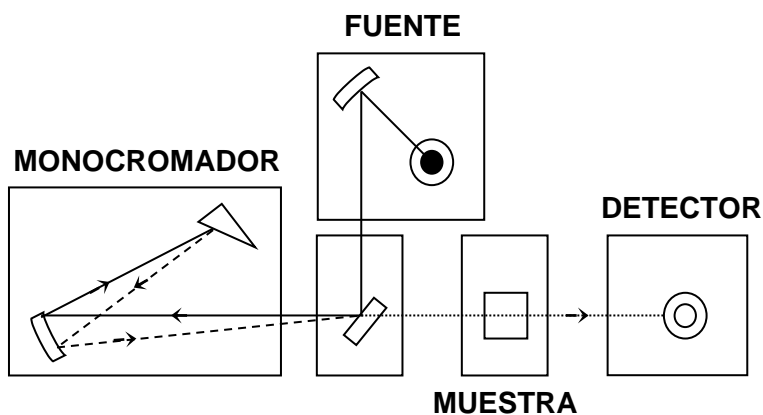


Figura 8. Espectrofotómetro de un solo haz

Estos instrumentos son de gran utilidad en muchos campos de la ciencia y se utilizan para realizar medidas de concentración a una longitud de onda fija. Permiten también la toma de espectros, aunque se requiere que en cada variación de la longitud de onda, se haga el ajuste de 0.0 y 100.0 % T del instrumento.

En haz sencillo es preciso, antes de efectuar la medida de una muestra a una determinada longitud de onda, efectuar un preajuste, es decir, una vez seleccionada la longitud de onda a la que se quiere realizar la medición debe ajustarse el 100 %T o el cero de absorbancia. Esto se hace normalmente con una cubeta idéntica a la que contiene la muestra y llena del mismo disolvente en el que ésta va disuelta. De esta forma se anula la posible absorción de radiación por

parte de la cubeta y del disolvente, quedando el equipo preparado para la lectura del soluto que es el problema en estudio. Una vez hecho esto, el aparato esta dispuesto para medir a esa longitud de onda.

Existen algunas ventajas en los equipos de haz sencillo; por ejemplo, (a) La lectura de referencia y de la muestra se efectúa a través de los mismos elementos ópticos; (b) El diseño de estos equipos suele ser significativamente más simple y más barato. Frente a esta ventaja, un equipo de haz sencillo presenta grandes desventajas para trabajar en diferentes longitudes de onda, ya que debido a la intensidad de la fuente de iluminación y la sensibilidad del detector existen diferencias de energías a diversas longitudes de onda, con lo que se necesitan repetidos ajustes del cero de absorbancia o 100 %T para cada longitud de onda seleccionada. Por tanto un equipo de un solo haz no puede realizar barridos de longitudes de onda automáticamente [8,9].

1.5.2.2 Espectrofotómetro de Haz Doble. En los instrumentos Ultravioleta-visible de doble haz, la luz proveniente de la fuente después de salir del monocromador es dividida en dos haces, mediante un espejo rotatorio semicircular o chopper o a través de un sistema de espejos divisores, semitransparentes (beam splitter) produciéndose dos haces de luz de pulsos alternantes. Uno de ellos se dirige a la celda de referencia o que contiene el blanco y el otro haz se dirige hacia la celda de muestra. Los dos haces de luz después de atravesar la celda de referencia y la de muestra pueden nuevamente recombinarse, por medio

de un espejo para llegar al detector o bien, cada haz puede llegar a detectores separados, para obtener luego la señal correspondiente (ver figura 9).

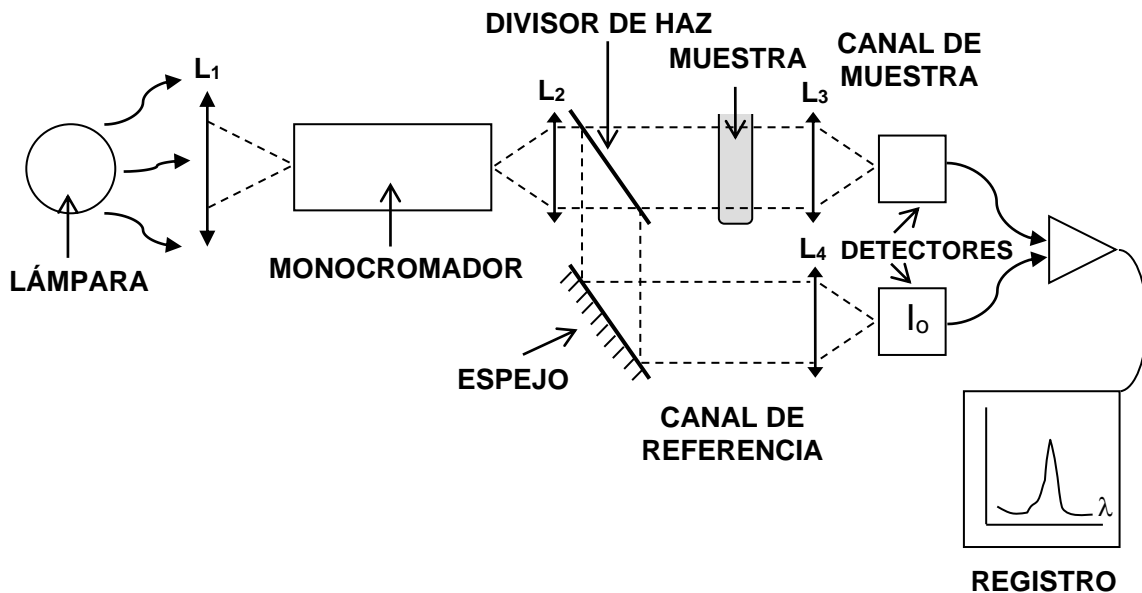


Figura 9. Espectrofotómetro de doble haz

Los sistemas de doble haz tienen la ventaja que cualquier variación en la intensidad de la fuente, la eficiencia de la red, la reflectividad de los espejos, la fotosensibilidad del detector, afecta simultáneamente o casi simultáneamente (la frecuencias de rotación del chopper son de 50 y 100 Hz o ciclos /s) a los dos haces. En consecuencia, la relación de energía de los dos haces permanece inalterada.

Otra de las ventajas, es que permite el registro automático de los espectros y la corrección del espectro por señales fluctuantes, además de múltiples procesos de

manejo de los datos del espectro entre ellos la derivación, suma y resta de espectros, entre otros.

Quizá el mayor inconveniente del haz doble sea su mayor complejidad y la existencia de dos caminos ópticos diferentes con diferentes componentes para los haces de muestra y de referencia [8,9].

1.6 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA CALIDAD ESPECTROFOTOMÉTRICA

Teniendo en cuenta que un espectrofotómetro es un instrumento capaz de determinar el grado de interacción entre una muestra y la luz monocromática que incide sobre ella, es decir, que determina la fracción de luz monocromática que una muestra transmite y/o absorbe, existen varios factores que pueden ser causas de error a la hora de efectuar esta determinación. Estos factores son: (a) Selección de la longitud de onda; (b) Resolución, es decir, el poder de separación de los diferentes componentes monocromáticos de la radiación por el monocromador; (c) Sistema fotométrico o parte electrónica del equipo; (d) Luz parásita, o sea radiaciones de longitudes de onda no deseadas que alcanzan el detector, provocando la correspondiente señal eléctrica e induciendo al correspondiente error en lectura [2].

1.6.1 Comprobación de Parámetros. Cuando se tiene el equipo dispuesto para el trabajo y suponiendo correcto su funcionamiento electrónico, existen una serie de medidas a realizar que indicarán su perfecta calibración en tres parámetros fundamentales: longitud de onda, absorbancias y linealidad fotométrica.

1.6.1.1 Control de Calibración de la Longitud de Onda. La comprobación de la longitud de onda es una operación en la cual se observa si la radiación que atraviesa en un momento dado la muestra corresponde a la del valor indicado por el selector de longitudes de onda del aparato. Esta comprobación puede ser efectuada usando un filtro de óxido de holmio, como estándar de longitud de onda. El filtro de óxido de holmio es un cristal que tiene un número exacto de bandas de absorción que aparecen a longitudes de onda perfectamente determinadas de las zonas visible y ultravioleta del espectro. Ello puede hacerse mediante la selección puntual de cada una de las longitudes de onda tabuladas o bien mediante gráfico (barrido de longitudes de onda), comprobando que existe un máximo de absorción en cada una de las longitudes de onda indicadas.

1.6.1.2 Control de Medidas de Absorbancia. Por otra parte, para conocer si el equipo proporciona, unas medidas de absorbancia correctas, deberá procederse a efectuar unas medidas con soluciones patrones de absorbancia conocida a longitudes de onda determinadas.

Existen una serie de soluciones estándar ya conocidas como patrones de absorbancia que pueden prepararse minuciosamente en el laboratorio y mediante las cuales se puede contrastar la coincidencia entre los valores de la lectura del equipo y los previamente esperados.

Aparte de los de preparación propia, existen en el mercado una serie de filtros sólidos y soluciones ya preparadas que se utilizan con este mismo fin. Unos de ellos son los de la División de Química Analítica de la NBS los cuales vienen ya certificados con un valor de absorbancia determinado que cubre el margen entre 0,1 a 0,9 A.

1.6.1.3 Control de la Linealidad Fotométrica. La linealidad fotométrica puede ser comprobada representando gráficamente la absorbancia en función de la concentración para una serie de soluciones especiales de un mismo producto y de concentración conocida [2].

Uno de los compuestos más usuales para dicha comprobación es el cromato potásico en solución alcalina que a distintas concentraciones proporciona una gráfica $A = f(c)$ como muestra la figura 10 [2].

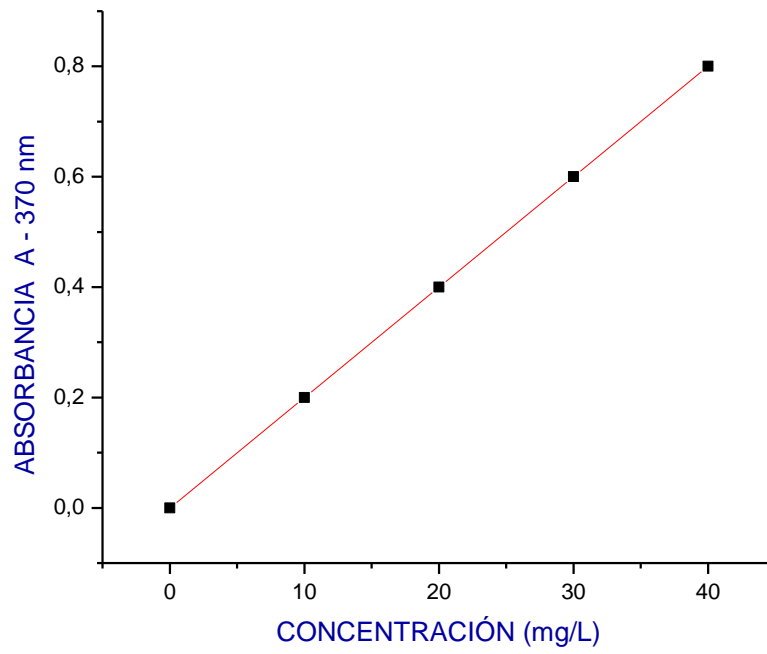


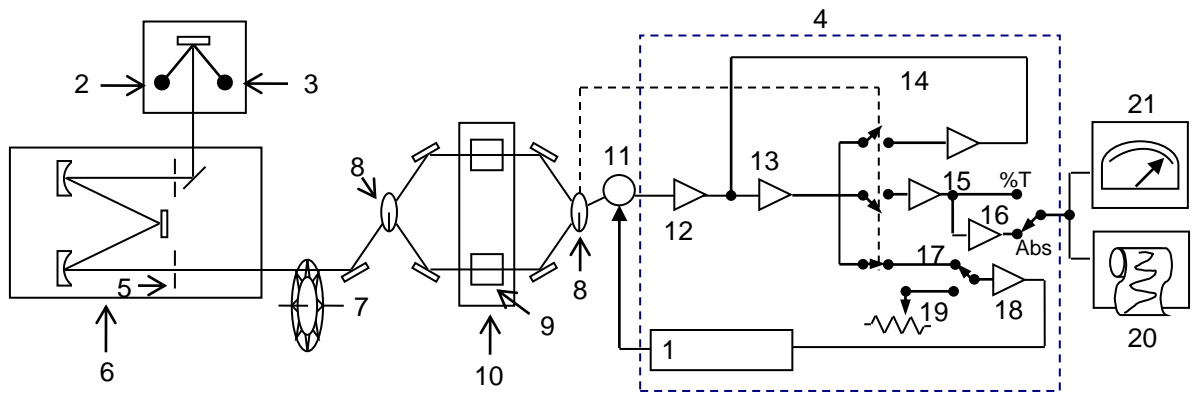
Figura 10. Comprobación de la linealidad fotométrica con cromato alcalino

2. ESPECTROFOTÓMETRO UV-VISIBLE DMS 100



Figura 11. Foto frontal del espectrofotómetro DMS 100

El equipo espectrofotométrico UV-Visible DMS 100, es un espectrofotómetro de doble haz, que consta de una parte electrónica, eléctrica, mecánica y óptica. La parte eléctrica tiene como funciones recibir y procesar la información proveniente de la parte óptica siendo esta última también controlada por esta (ver figura 12) [10].



- | | |
|--|----------------------------------|
| 1 - Regulador de Voltaje del Fotomultiplicador. | 10 - Compartimiento de Muestra. |
| 2 - Fuente Ultra-Violeta - Lámpara de Deuterio. | 11 - Fotomultiplicador. |
| 3 - Fuente Visible - Lámpara Wolframio - Halógeno. | 12 - Pre-Amplificador. |
| 4 - Electrónica. | 13 - Amplificador de Entrada. |
| 5 - Rendija de Salida | 14 - Corrección de Cero. |
| 6 - Monocromador | 15 - Amplificador de la Muestra. |
| 7 - Filtros. | 16 - Conversor Logarítmico. |
| 8 - Choppers. | 17 - Haz Doble. |
| 9 - Muestra. | 18 - Amplificador de Referencia. |
| | 19 - Haz Simple. |
| | 20 - Registrador. |
| | 21 - Indicador. |

Figura 12. Diagrama esquemático del espectrofotómetro

2.1 DISPOSICIÓN ELECTRÓNICA DEL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100

La parte electrónica consta de tres tarjetas básicas: la de potencia, la de control y la de interfase o adquisición de datos. Estas se encargan netamente del funcionamiento general del espectrofotómetro (ver anexo A).

El equipo es alimentado por una fuente alterna a la cual se le aplican 110 V o 220 V AC. Esta fuente cuenta con un sistema de protección que consta de dos fusibles, a estos le siguen tres interruptores para cada una de las líneas las cuales envían los voltajes AC: 200 V, 100 V y 120 V al transformador, el cual convierte dichos voltajes en su primario a DC. En la parte del secundario del transformador los voltajes DC: 10 V y 17 V son rectificadas a través de un puente de diodos. Los voltajes 11 V, 4 V, 110 V y 210 V, no son rectificadas; todos estos voltajes entran a la tarjeta de potencia [10].

La tarjeta de potencia (ver anexo A) se encarga de regular y suministrar el voltaje requerido a los diferentes dispositivos electrónicos y mecánicos, es decir, toma los voltajes ajustándolos a las diferentes necesidades y frecuencias de estos circuitos. A grandes rasgos, esta tarjeta se compone de varias etapas que toman los diferentes voltajes a partir del transformador que se encuentra ubicado en la fuente de alimentación. A la primera etapa llegan 10 V. Esta consta de un puente rectificador, de un sistema de protección con fusibles (5 A), dos integrados lineales (amplificadores operacionales), y un SCR (rectificador de silicio controlado). Esta

etapa controla y maneja los voltajes de salida del sistema de reinicio (reset) y del sistema de detección de fallas en la potencia (Power Fail). Además, esta etapa fija un voltaje de 5 V en la tarjeta de control y también envía este voltaje a la tarjeta de indicadores (displays). A la segunda etapa se le aplican 17 V y tiene como elementos principales dos integrados lineales (amplificadores operacionales). Esta etapa se encarga de enviar el voltaje necesario para el encendido de la lámpara visible. La tercera etapa donde ingresan los voltajes no rectificadas del transformador esta dividida en fases según los voltajes: (a) 210 V, esta fase esta compuesta por un circuito rectificador que fija el voltaje de la lámpara ultravioleta. (b) 110 V, esta fase se encarga de manejar el sistema de protección de la lámpara ultravioleta. (c) 4 V y 11 V, en esta fase se suministra el voltaje que alimenta el filamento de la lámpara ultravioleta; del punto de la línea de los 11 V se toma el voltaje para la habilitación, encendido y protección de dicha lámpara. Finalmente, de la tarjeta de potencia se toman 15 V y a través de tres transistores y un transformador se proporciona el voltaje para la entrada del tubo Fotomultiplicador.

La tarjeta de potencia (ver figura 13) es de suma importancia para el equipo debido a que cualquier falla en uno de sus elementos implicaría un funcionamiento deficiente o no adecuado del equipo. Por tanto, el mantenimiento de esta tarjeta se debe hacer en forma preventiva para evitar dichos daños, ya que los voltajes que esta suministra son de alta precisión y cualquier variación en ellos acarrearía la alteración de las lecturas en el equipo.

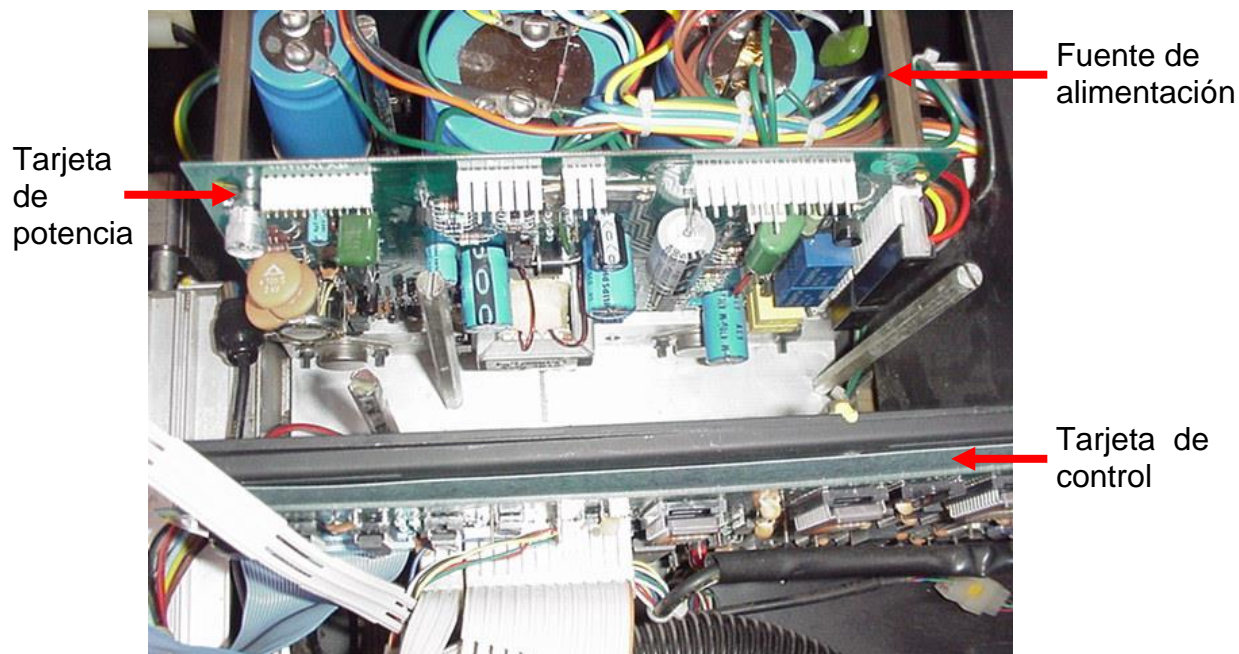


Figura 13. Foto de fuente, tarjeta de potencia y de control del espectrofotómetro DMS 100

La tarjeta de control (ver figura 13) se considera como el “cerebro” del equipo ya que es la parte inteligente que controla tanto la parte electrónica, mecánica y óptica del espectrofotómetro. Esta indica el funcionamiento o cualquier falla que se presente en tarjetas que cumplen funciones específicas, como lo son, la tarjeta de longitud de onda, la del sensor de apertura, la del sensor de choppers, la del fotomultiplicador y los indicadores del panel de control. Por ende, el buen funcionamiento de la tarjeta de control es vital para que el equipo tome la información adecuada de una muestra en estudio, y envíe dicha información a la tarjeta de interfase para el debido proceso de los datos.

Esta tarjeta de control se compone en su mayoría de circuitos integrados o chips (memorias, integrados lineales y circuitos lógicos) y de algunos elementos pasivos (ver anexo A).

La tarjeta de interfase (ver Anexo A) realiza una interconexión entre la tarjeta de control y la tarjeta de indicadores, manejando todo lo correspondiente a esta última. Es decir, se encarga de adquirir la información proveniente de la tarjeta de control bidireccionando la información sin sufrir alteración alguna.

Esta tarjeta esta compuesta por circuitos integrados de tipo TTL, operacionales y memorias (de escritura), además de constar de muy pocos elementos pasivos (ver figura 14).

Básicamente, el sistema de interfase trabaja todo lo concerniente al manejo de los indicadores, que son los monitores del correcto funcionamiento del equipo, así como los encargados de dar las lecturas de medición. Por tanto, un daño en uno o varios elementos de la interfase repercute en una inapropiada reproducción de lecturas en el panel de indicadores.

También, es de importancia mencionar que esta tarjeta electrónica maneja dos salidas de puertos:

El primer terminal o puerto sirve para conectar (adaptar) una tarjeta de memoria.

El segundo terminal externo es un conector GPIB (IEEE), el cual permite efectuar la comunicación con otros dispositivos, convencionalmente con un computador.

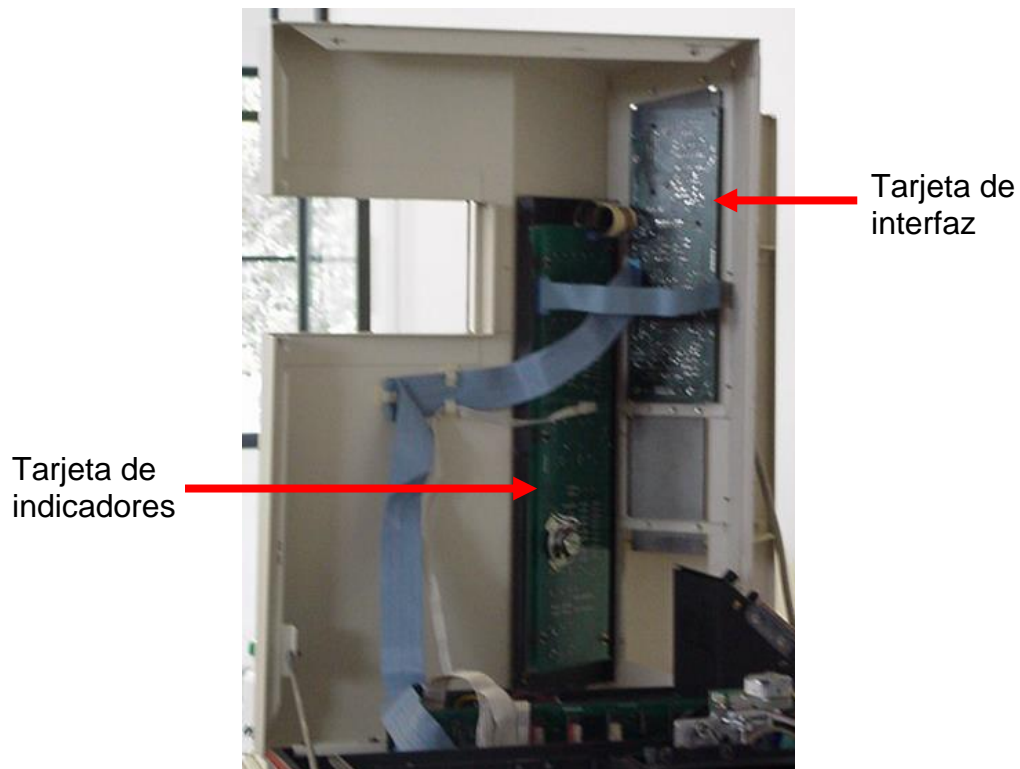


Figura 14. Foto, vista posterior de la tarjeta de interfaz y de indicadores del espectrofotómetro DMS 100

Finalmente, otra parte importante son los motores de los choppers, los cuales son de tipo casta, que no generan ruido y son manipulables electrónicamente. El sistema de ventilación mantiene la temperatura de los motores a nivel ambiente.

2.2 DISPOSICIÓN ÓPTICA DEL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100

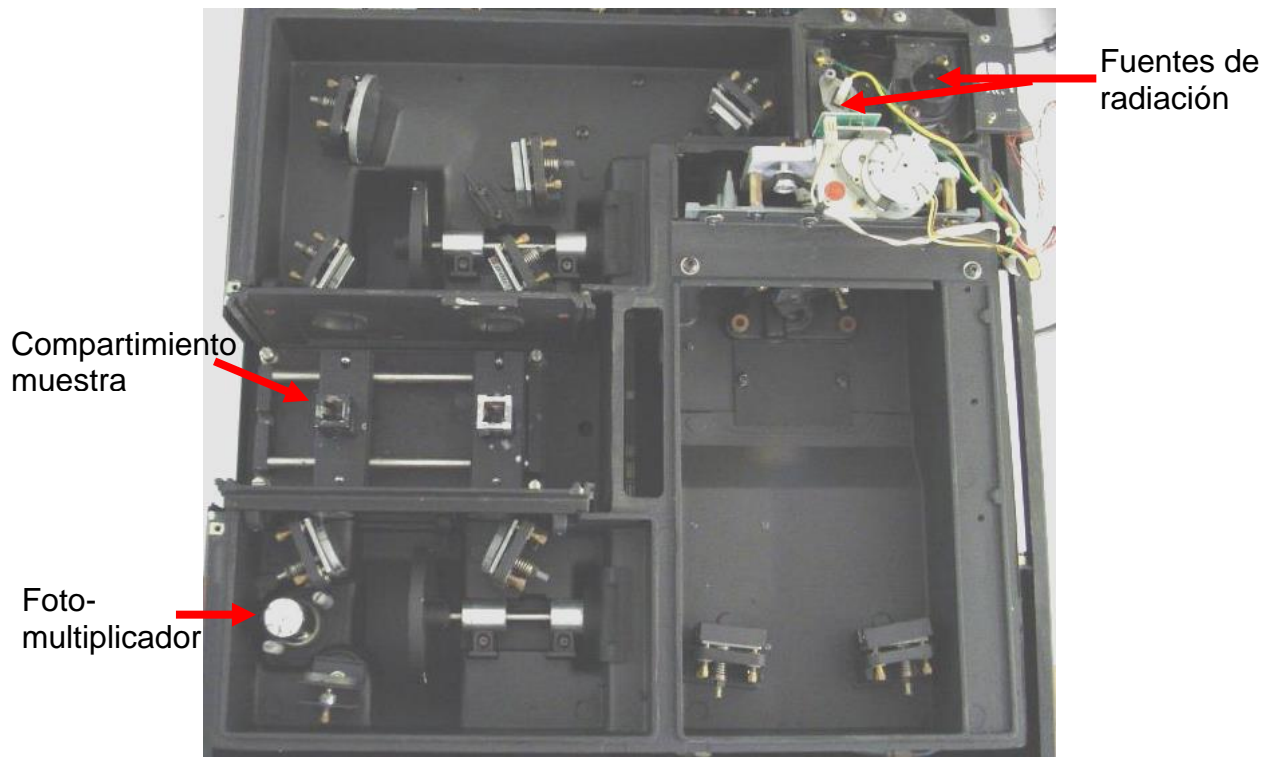


Figura 15. Foto del sistema óptico del espectrofotómetro DMS 100

La parte óptica se conforma de dos fuentes, una lámpara de tungsteno-halógeno (Visible) y una de Deuterio (Ultravioleta), un monocromador Czerny-Turner y su estructura complementaria (filtro óptico, espejos, choppers, fotomultiplicador).

La radiación proveniente de una de las fuentes entra en el monocromador, sufriendo una dispersión en sus respectivas longitudes de onda. El monocromador Czerny-Turner empleado en el equipo consta de una rejilla de difracción, dos aperturas, una de entrada y otra de salida y un filtro de bandas el cual se utiliza

para reducir las radiaciones de ruido resultantes de dispersiones o reflexiones no deseadas, particularmente las de segundo orden generadas en la rejilla de difracción (ver figura 16).

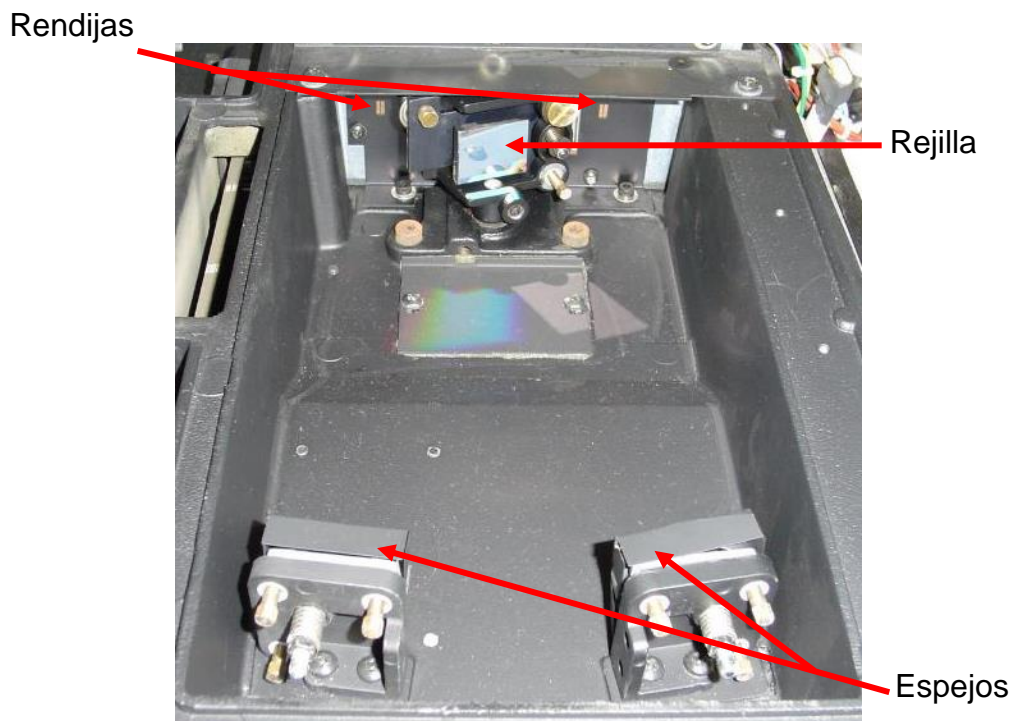


Figura 16. Foto del monocromador del espectrofotómetro DMS 100

El filtro es posicionado automáticamente de acuerdo al intervalo de longitudes de onda seleccionadas. El haz óptico es alternado entre la celda de la muestra y la de referencia por el sistema de chopper y espejos. Los dos haces de radiación, separados entre si por un intervalo oscuro, son direccionados hacia un fotomultiplicador para convertirlos en señales eléctricas para ser procesadas por el fotómetro (ver figura 17) [10].

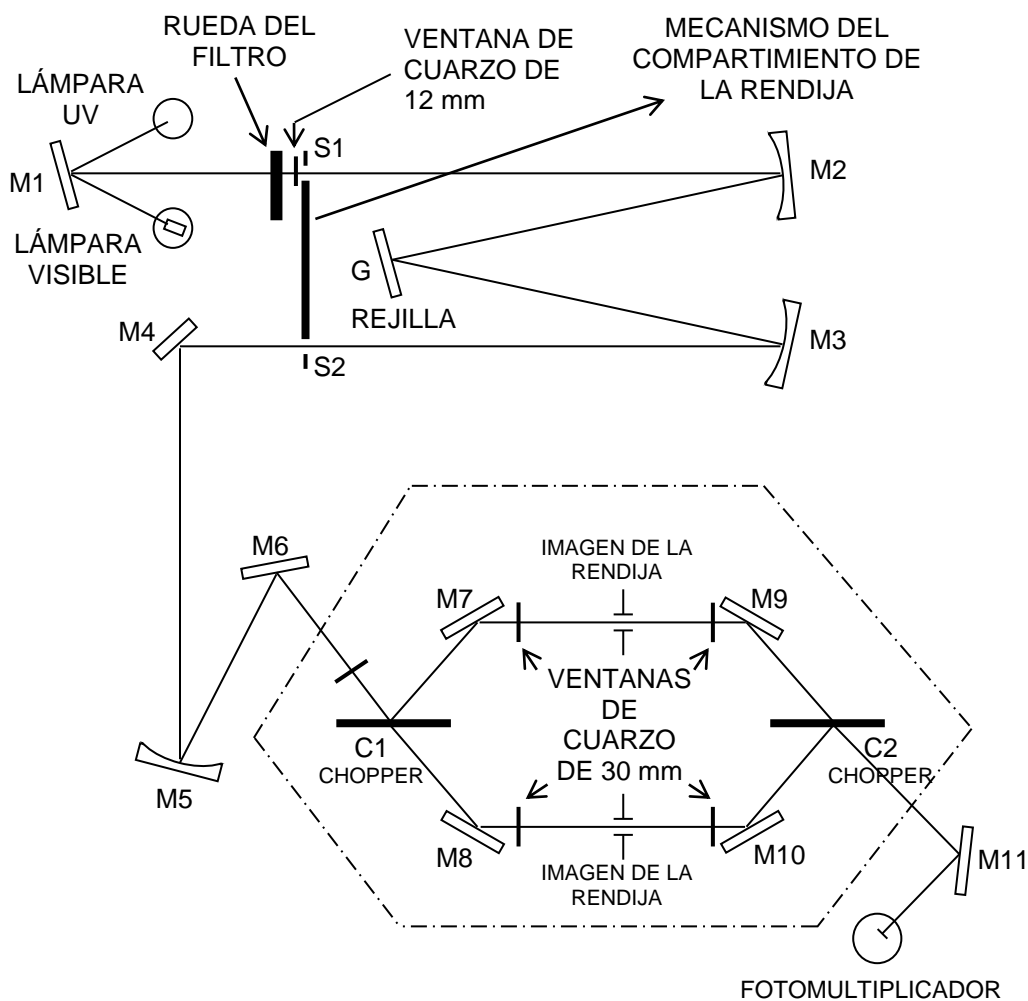


Figura 17. Arreglo óptico del espectrofotómetro

Después de la amplificación de la señal proveniente del fotomultiplicador, una señal de referencia se utiliza para proporcionar una señal hacia el regulador de voltaje del dínodo (remitirse figura 12). El voltaje del dínodo es variado para mantener la señal de referencia constante y dejar todos los amplificadores dentro de los límites operacionales requeridos. En el amplificador se tiene un circuito que se ocupa de realizar la corrección de cero, para asegurar que la salida del amplificador sea cero cuando no hay radiación en el fotomultiplicador durante el

intervalo oscuro. Un chopper óptico, que separa los haces, el de referencia y el analítico, provee un intervalo de tiempo entre las señales para la manipulación del fotomultiplicador.

La señal que proviene del fotomultiplicador es analizada y procesada a través de un conversor logarítmico para la medida de absorbancia o utilizada directamente para la medida de transmitancia en un sistema de salida adecuado, como: lectura digital, analógica, registrador, impresora, computador, etc.

Las medidas de emisión también pueden ser analizadas en haz simple. En este caso, el circuito electrónico (remitirse figura 12) se encarga de no utilizar la señal de referencia o de mantener un valor constante en el voltaje del dínodo, y la señal del fotomultiplicador es amplificada y leída con los sistemas de lectura descritos anteriormente (Ver capítulo 1, sección 1.5.1.5).

2.3 INFORMACIÓN GENERAL Y ESPECIFICACIONES DEL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100

Las siguientes son las especificaciones físicas, electrónicas, ambientales y ópticas propias del Espectrofotómetro DMS 100, teniendo en cuenta que todas son necesarias para su adecuado funcionamiento [10].

CARACTERÍSTICAS ELECTRÓNICAS

Voltaje	100, 120, 220, 240 voltios AC
Frecuencia	50 o 60 Hz
Tolerancia de voltaje	$\pm 10 \%$
Tolerancia de Frecuencia	± 1 Hz

CONDICIONES AMBIENTALES

Temperatura para funcionamiento	10°C a 40°C
Temperatura para almacenamiento	5°C a 45°C
Humedad para funcionamiento	20% a 95% Relativa
Humedad para almacenamiento	Menos de 80% Relativa

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS (Dimensiones y Peso)

Largo	850 mm
Ancho	620 mm
Alto	380 mm
Operacional	53 kg

CARACTERÍSTICAS ÓPTICAS

Principal: Fuente de luz ultravioleta o visible, que opera con haz simple o doble. El espejo del chopper rota manejado por un motor, un monocromador tipo rejilla, un fotomultiplicador con salida a control electrónico integral y sistema de indicadores.

Fuente de luz Ultravioleta: Arco de deuterio (Lámpara D₂).

Fuente de luz visible: Cuarzo halógeno (Lámpara visible)

Cambio de la fuente: Automático. Inicializada en encendido a 350 nm. Operador seleccionable (perilla para seleccionar el rango) en el rango 300 nm a 700 nm.

Desvío de Luz: menor que 0,02% en 220 nm.

Ancho de banda Espectral: Variable de 0,2 nm a 4 nm en pasos de 0,1 nm.

Lectura de Longitud de Onda: LED indicador de cuatro dígitos a 0,1 nm.

Rango de Longitud de Onda: 190 nm a 900 nm.

Exactitud de Longitud de Onda: Mejor que ± 1 nm.

Repetibilidad de Longitud de Onda: Mejor que $\pm 0,2$ nm.

Velocidad de barrido de la Longitud de Onda: 10, 20, 50, 100, 400 nm/minuto.

Lectura fotométrica: Indicador de 4 dígitos, para absorbancia, %T transmitancia, concentración, primera y segunda derivada, logaritmo de absorbancia, energía, cero automático.

Rango fotométrico: - 0,3 Abs. a + 3,5 Abs., 0 a 200 %T, concentración a 999.

Plano Básico: Entre ± 2 %T, 200 a 850 nm sin corrección ($\pm 0,1$ %T con corrección de plano).

Obtención de Longitud de Onda: Por encima de 10 Abs/nm, ó 10 Abs/nm²

Tiempo de Obtención: Por encima de 10 Abs/minuto, ó 10 Abs/minuto²

Precisión Fotométrica: Entre $\pm 0,005$ a 1 Abs.

Repetibilidad Fotométrica: $\pm 0,002$ a 1 Abs.

Estabilidad Fotométrica: Mejor que 0,0003 Abs/hora a 500 nm, 2 nm de apertura de la rendija (slit).

3. ADQUISICIÓN DE DATOS A TRAVÉS DEL PUERTO PARALELO

3.1 ADQUISICIÓN DE DATOS

En la actualidad las herramientas computacionales acopladas a otros instrumentos de medición de variables físico-químicas han logrado una mayor facilidad en el procesamiento y eficiencia en la obtención de resultados. Con los datos capturados en el computador se pueden realizar cálculos matemáticos, tratamientos estadísticos, elaboración de graficas, etc.

La adquisición de datos es la conversión de señales análogas a digitales, para ser procesadas y supervisadas mediante PC. Este proceso necesita de una interfase entre el mundo físico y el computador que se suele denominar tarjeta de adquisición de datos. En algunos casos, muchos equipos ya la tienen adaptada en su estructura, permitiendo de esta manera realizar una toma de datos continua o en tiempo real, lo que significa que el proceso de adquisición no es interrumpido.

En el caso del PC se cuenta con un conector denominado comúnmente puerto paralelo por medio del cual se puede realizar captura de datos de numerosos instrumentos o equipos de medición realizando las configuraciones de software y

hardware adecuadas, ya que el puerto paralelo es convencionalmente utilizado para la comunicación entre el PC y la impresora. De manera que por medio de este puerto se puede adquirir los datos de equipos que posean otros puertos o buses (GPIB, serial, paralelo), utilizando los respectivos conversores.

3.2 PUERTO PARALELO

En el año 1981 cuando la IBM introdujo el PC, el puerto paralelo de la impresora fue incluido como una alternativa al lento acceso al puerto serial como un medio para conducir las últimas impresoras de alto rendimiento por matriz de punto. El acceso paralelo tenía la capacidad de transferir 8 dígitos binarios de datos en el tiempo mientras que el acceso serial transmitía un dígito binario en el mismo tiempo. Cuando el PC fue introducido, las impresoras de matriz de punto eran el periférico principal que utilizaba el puerto paralelo. En tanto que la tecnología progresaba y la necesidad de una mayor conectividad externa incrementaba, el puerto paralelo se convirtió en el medio por el cual uno podía conectar periféricos de más alto desempeño. Estos periféricos se extendieron desde la impresora a otros dispositivos, como escáneres y demás. En aplicaciones electrónicas, se le puede extraer mucho beneficio a este medio de comunicación entre el PC y el exterior, aprovechando con esto las grandes prestaciones del mismo [11].

3.2.1 Hardware y Software del Puerto Paralelo [11,12,13,14,16]. En general el puerto paralelo es un conector DB-25 normalmente hembra, que consta de 17 líneas de señales y 8 líneas de tierra. Las líneas de señales se dividen en tres grupos:

- Datos (8 líneas).
- Estado (5 líneas).
- Control (4 líneas).

Según lo diseñado originalmente, las líneas del control son utilizadas como señales de control y de protocolo del PC a la impresora. Las líneas de estado son utilizadas para las señales de protocolo y como indicadores de estado (para cosas tales como la indicación de ausencia de papel, entre otras).

Físicamente el conector DB-25 esta configurado de la siguiente manera:

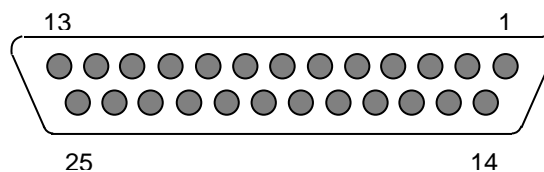


Figura 18. Conector hembra DB-25

Habitualmente, la salida de datos es la encargada de transferir la información desde la computadora a un periférico en paralelo. Estas líneas de datos se localizan entre los pines 2 al 9 del conector DB-25. Las cinco líneas de estado

que son de entrada: SEL, PE, BUSY, ACK, FAULT, se las denomina "entrada de diálogo" y se ubican en los pines 13, 12, 11, 10 y 15 respectivamente. Las cuatro líneas de control que son de salida: STROBE, AUTOFEED, SELECT IN, INT se las denomina "salidas de diálogo" y envían señales específicas al dispositivo, interrogándolo para cumplir su labor, estas se sitúan en los pines 1, 14, 17 y 16 correspondientemente. Estas líneas de control junto con las de estado, complementan el procedimiento de comunicación entre el PC y el dispositivo en cuestión.

Los pines restantes (18 al 25) del DB-25 cumplen la función de tierra, es decir que vinculan las tierras de señal de los dos dispositivos que se interconectan de modo que puedan compartir una tierra común como referencia para la señal. Cabe aclarar, que las tensiones presentes en el puerto deben respetar el estándar de la familia TTL, es decir, 0 V (cero lógico-tierra) y 5 V (uno lógico-tensión), es decir, que al escribir uno (1) a un bit hace que la salida correspondiente pase a ALTO. Sin embargo, las salidas de SELECT IN, AUTOFEED y STROBE del puerto de control tienen lógica invertida, lo que indica, que al poner un uno (1) lógico a un bit causa un cero lógico en la salida correspondiente. De igual forma la señal BUSY de entrada del puerto de estado, es de lógica invertida.

A las señales de los tres grupos (datos, estado y control) se les asignan bits específicos dentro de los registros que llevan a la interfaz del hardware/software al puerto paralelo. Estos grupos consisten en un bloque contiguo de tres (3) registros

que empiezan con las direcciones de puerto paralelo. Estos puertos son descritos comúnmente como el puerto LPT que se distinguen entre si con los nombres LPT1, LPT2 y LPT3. Todos ellos son idénticos pero tienen asignadas diferentes direcciones en el mapa de entrada/salida. Para el caso del puerto LPT1 el programa “CMOS SETUP” del PC toma por defecto las siguientes direcciones:

Tabla 3. Registros y direcciones del puerto LPT1

PUERTO	DATOS	ESTADO	CONTROL
LPT1	0x0378	0x0379	0x037a

*Las direcciones anteriores están dadas en base hexadecimal (0x).

Las doce salidas y cinco entradas pueden ser controladas y manejadas a través de instrucciones por medio de un compilador para enviar y recibir datos. La instrucción se compone de dos parámetros que son la dirección y el dato. La dirección es el lugar en dónde va a ser escrito el dato. Existen tres direcciones posibles en dónde ubicar al puerto paralelo, entre las cuales la más frecuentemente utilizada es la 0x378. Una aclaración importante es que esta dirección corresponde a las salidas de datos, es decir, en la dirección 0x378, se tiene acceso a los ocho bits denotados desde D0 a D7. Para acceder a los otros cuatro bits de salida se le debe sumar dos unidades a la dirección original (0x37A, por ejemplo) y se tiene acceso a los cuatro bits más significativos.

A continuación se describe cada registro del puerto LPT teniendo en cuenta su pin, su bit y su función correspondiente:

Tabla 4. Registro de datos

PIN	9	8	7	6	5	4	3	2
BIT	7	6	5	4	3	2	1	0
NOMBRE DE LA SEÑAL	D7	D6	D5	D4	D3	D2	D1	D0

El registro de datos es solo de salida, ya que se diseñó para enviar caracteres a la impresora. Actualmente este registro es bidireccional.

Tabla 5. Registro de estado

PIN	11	10	12	13	15	--	--	--
BIT	7	6	5	4	3	2	1	0
NOMBRE DE LA SEÑAL	BUSY	ACK	PE	SELECT	ERROR	--	--	--

El registro de estado es de entrada y está destinado a la lectura del estado de las líneas de interfaz con la impresora.

Tabla 6. Registro de control

PIN	--	--	--	--	17	16	14	1
BIT	7	6	5	4	3	2	1	0
NOMBRE DE LA SEÑAL	--	--	--	IRQ	SELECT IN	INIT	AUTOFEED	STROBE

El registro de control es de salida y esta destinado a la escritura de comandos sobre la impresora.

3.2.2 Conector Centronics [11,15,16]. Teniendo en cuenta que el puerto paralelo es un mecanismo que conecta al PC con otro dispositivo, los PC han estandarizado un tipo de interfaz para su comunicación, conocida normalmente como CENTRONICS que es un conector comúnmente de 36 pines (ver figura 19).

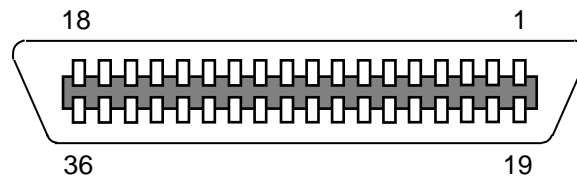


Figura 19. Conector hembra CENTRONICS 36-pines

Esta Interfaz es capaz de enviar caracteres a la impresora en forma paralela. Cada carácter está codificado en un byte, del cual cada bit se transmite por un terminal diferente.

La relación entre el puerto paralelo DB-25 y el conector CENTRONICS de 36 pines se puede encontrar en internet (ver referencia [16]).

3.2.3 Protocolo de Comunicación del Puerto Paralelo [15]. Un sistema típico de comunicación en paralelo puede ser de una dirección (*unidireccional*) o de dos direcciones (*bidireccional*). El mecanismo más simple utilizado en un puerto paralelo de un PC es de tipo unidireccional y es el que se analizará en primer lugar. Se distinguen dos elementos: la *parte transmisora* y la *parte receptora*.

La parte transmisora coloca la información en las *líneas de datos* e informa a la parte receptora que la información (los datos) está disponible; entonces la parte receptora lee la información en las líneas de datos e informa a la parte transmisora que ha tomado la información (los datos). Es importante, que ambas partes sincronicen su respectivo acceso a las líneas de datos; la parte receptora no leerá las líneas de datos hasta que la parte transmisora se lo indique, en tanto, que la parte transmisora no colocará nueva información en las líneas de datos hasta que la parte receptora remueva la información y le indique a la parte transmisora que ya ha tomado los datos, a ésta coordinación de operaciones se le llama

handshaking, que en español es el acto con el cual dos partes manifiestan estar de acuerdo.

Para implementar el *handshaking* se requieren dos líneas adicionales. La línea de estroboscopio (en inglés *strobe*) es la que utiliza la parte transmisora para indicarle a la parte receptora la disponibilidad de información. La línea de admisión (*acknowledge*) es la que utiliza la parte receptora para indicarle a la parte transmisora que ha tomado la información (los datos) y que está lista para recibir más datos. El puerto paralelo posee una tercera línea de *handshaking* llamada en inglés *busy* (*ocupado*); ésta señal la puede utilizar la parte receptora para indicarle a la parte transmisora que está ocupada, por lo tanto, la parte transmisora no debe intentar colocar nueva información en las líneas de datos.

Se debe ser muy cuidadoso al seguir éstos pasos, tanto la parte transmisora como la receptora coordinan sus acciones de tal manera que la parte transmisora no intentará colocar varios bytes en las líneas de datos, en tanto que la parte receptora no debe leer más datos que los que le envíe la parte transmisora, un byte a la vez. Esto se puede ver más claramente en el siguiente diagrama de tiempos (ver figura 20) [17].

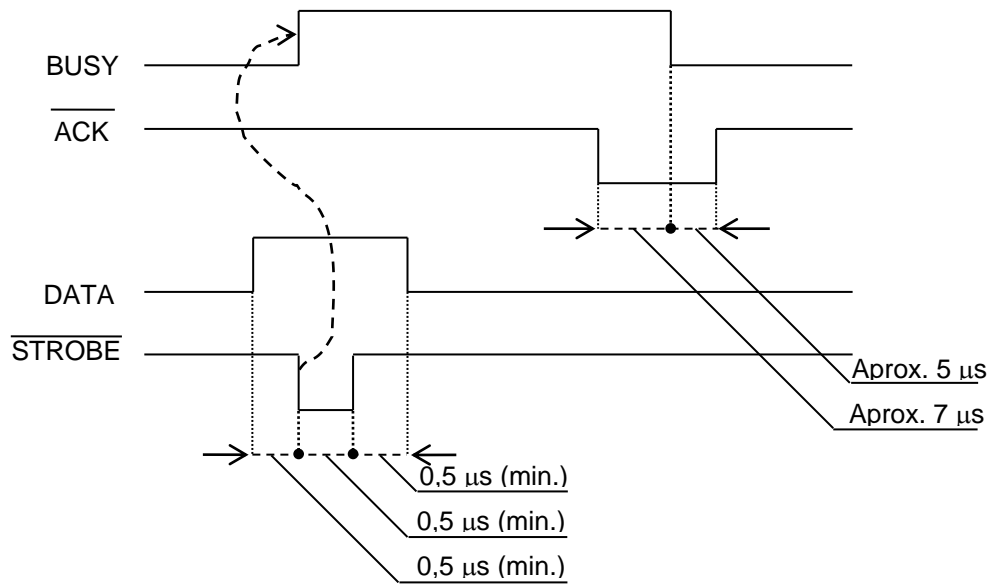


Figura 20. Diagrama de tiempos para la interfase paralelo

3.2.4 Puerto Paralelo Bidireccional [18]. Para configurar el puerto paralelo del PC en forma bidireccional es necesario escribir en el bit cinco (5) del registro de control un uno (1) lógico, ya que este es el bit encargado de direccionar el puerto. También, en la Bios Setup de todo computador se puede configurar en dos modos de comunicación bidireccional: Modo EPP (Enhanced Parallel Port ó Puerto Paralelo Mejorado) y Modo ECP (Extended Computer Port ó Puerto Extendido del Computador).

El modo EPP, es una forma de comunicación diseñada para obtener un puerto paralelo de alta resolución totalmente compatible con el puerto paralelo estándar.

Comparativamente permite mejorar la velocidad de transmisión de 500 Kbytes hasta 2 Mbytes por segundo. Este utiliza la misma disposición de buses, el mismo conector y la misma asignación de pines que el puerto paralelo estándar (SPP) sólo que en este caso el bus de datos puede tanto enviar información hacia fuera del PC como recibirla desde allí. En el caso del ECP, este es igual al EPP pero adicionalmente el bus de datos es bidireccional permanente y, además, posee acceso directo a la memoria de interrupción programable del procesador.

3.3 SOFTWARE PARA ADQUISICIÓN DE DATOS

Adquirir datos por medio del PC es muy ventajoso para muchos procesos tanto industriales como en laboratorios de investigación que estén constantemente emitiendo datos, ya que se pueden realizar cálculos, estadísticas, generar gráficos, entre otros, así como crear archivos de datos de tal forma que pueda ser llevada la información a una hoja electrónica ó a una interfaz grafica para su debido proceso.

Para tener pleno acceso al puerto paralelo es necesario, en primera instancia, algún compilador, cualquiera es válido desde ensamblador hasta Visual Basic o Visual C++ pasando por "C", Basic y Labview. Sin embargo, y a pesar de la gran diversidad de lenguajes, la sintaxis de las respectivas instrucciones para enviar (escribir) y recibir (leer) datos del puerto es similar.

4. REPARACIÓN, CALIBRACIÓN Y ARREGLOS GENERALES DEL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100

El espectrofotómetro DMS 100 UV-Visible equipo perteneciente al Laboratorio de Aguas Residuales del Departamento de Química de la Universidad del Cauca, en los últimos tres años no presentaba un óptimo funcionamiento en la región ultravioleta, observándose en los espectros bandas irregulares en la zona mencionada, así como fluctuaciones en las Absorbancias o Transmitancias en longitudes de onda específicas.

Según lo anterior, se requirió estudiar el sistema electrónico y óptico del equipo para realizar un diagnóstico, permitiendo arreglarlo para su óptimo funcionamiento. En primera instancia, se procedió a examinar la parte interna del equipo en general, haciéndolo tanto de forma apagada como encendida. Al estar en la posición de encendido se observó que la lámpara Ultravioleta no encendía, teniendo en cuenta que esta fuente emite luz violeta. Por lo cual, se dio paso a revisar la parte electrónica.

4.1 ARREGLOS DEL SISTEMA ELECTRÓNICO

Inicialmente, se realizó un estudio previo de la parte electrónica en el manual de servicio del espectrofotómetro DMS 100, procediéndose a la revisión de las tarjetas electrónicas empezando por la tarjeta de potencia; ya que esta es la encargada de regular el suministro de voltaje. Seguidamente se desmontó dicha tarjeta con el fin de evaluar su estado y medir las diferencias de potencial en sus componentes electrónicos. A partir de esto se constató que existían fallas debido a un corto circuito evidente, probablemente causado por un pico de voltaje ocasionado por factores externos. El componente electrónico comprometido era un capacitor de 470 μF , 2C8 (ver anexo A, figura 6), además de su línea en la tarjeta impresa (ver figura 21).

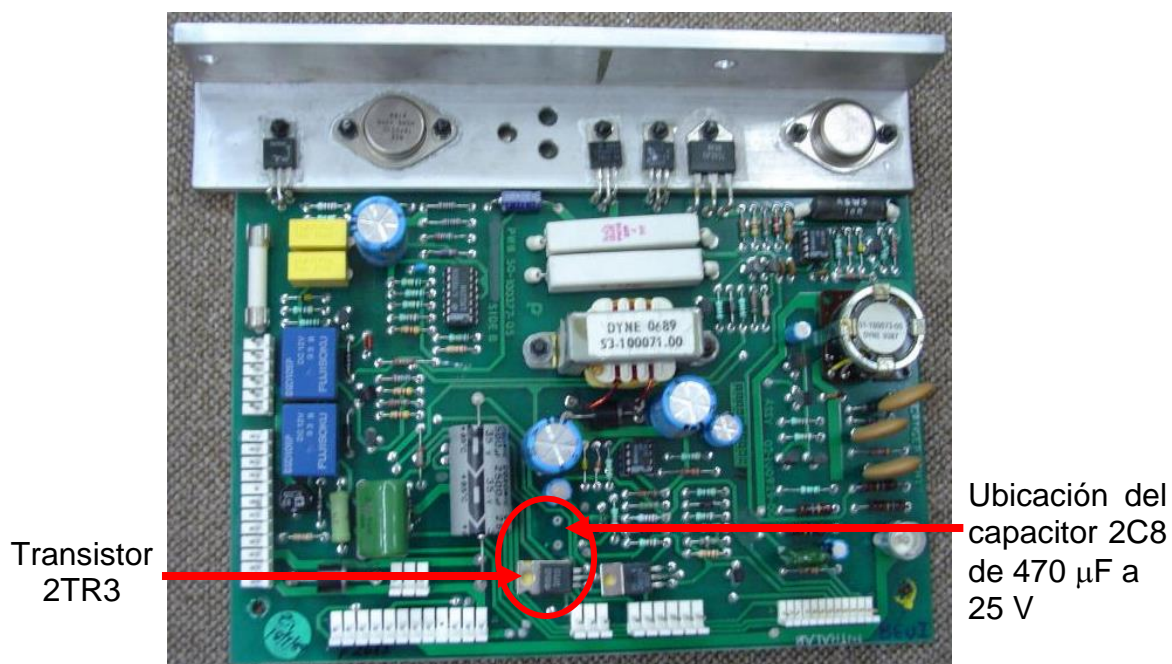


Figura 21. Foto de la vista frontal de la tarjeta de potencia

Dicha línea va conectada hacia el colector del transistor 2TR3 (ver anexo A, figura 6). A este transistor, por su base se le suministran cinco (5) voltios que provienen de una fuente regulada (ver Anexo B). Al estar la línea del colector dañada, los cinco voltios fueron enviados al emisor del transistor que va a tierra. Este voltaje proporcionado por la fuente regulada en condiciones normales se dirige a la tarjeta de control, lo cual no ocurrió debido al daño mencionado. En la tarjeta de control el voltaje (5 voltios) llega a un microprocesador, siendo una de las funciones de este microprocesador el encendido de la lámpara ultravioleta. Por tanto, se cambió dicho elemento por un capacitor con las características especificadas en el manual de servicio (470 μ F a 25 V) y se reparó la línea realizando un puente externo.

Con estos arreglos en la tarjeta de potencia, se pasó a instalarla en el equipo. En seguida, se encendió y se logró el funcionamiento de la lámpara Ultravioleta. Verificado esto, se procedió a realizar barridos con la muestra patrón (filtro de óxido de holmio) observando que su espectro presentaba bandas irregulares en la región Ultravioleta (ver figura 22), lo cual era evidenciado en la saturación de la absorbancia en esta zona de la región ultravioleta.

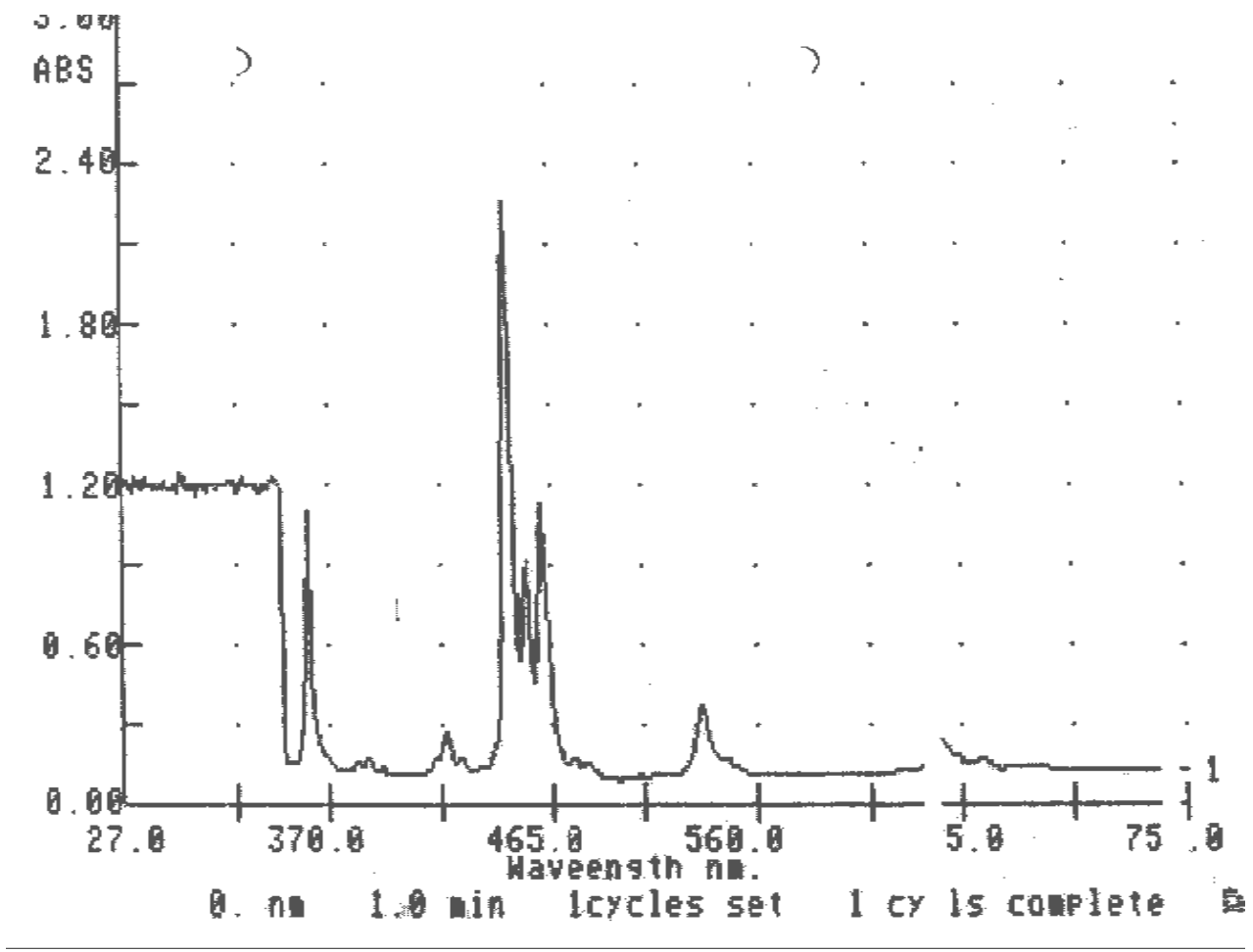


Figura 22. Espectro del filtro de óxido de holmio con bandas irregulares

La probable causa de las bandas irregulares que se sondeó fue: La poca intensidad de luz debida a la baja potencia o al desvío del haz, lo cual se evidenció en el espectro al obtenerse una absorbancia alta en la región ultravioleta.

Posteriormente, se prosiguió a verificar los voltajes de alimentación de la lámpara, con el fin de descartar que el suministro de voltaje fuera errado. Estos voltajes se compararon con los voltajes de un equipo de características similares. Se tomaron los voltajes registrados en los tres pines de la lámpara UV. Estos se registraron con las lámparas apagadas, lámparas VIS ON y UV OFF, y finalmente con las dos lámparas encendidas. Los datos obtenidos son los siguientes:

Tabla 7. Comparación de voltajes DC entre equipos espectrofotométricos de características similares

	ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100		ESPECTROFOTOMETRO DMS 100 DE REFERENCIA	
	Pines 1 y 2	Pin 3	Pines 1 y 2	Pin 3
Lámparas Apagadas	359 V	421 V	343 V	402 V
Lámparas Vis ON y UV OFF	352 V	417 V	335 V	393 V
Lámparas Encendidas	69 V	136 V	60 V	129 V

De aquí se descartó que haya fallas en el suministro de voltaje a la lámpara UV, ya que se determina como error si la diferencia de voltajes entre las medidas de los dos equipos fuera de más de 100 V.

Finalmente se revisó la tarjeta de control sin encontrar daños, por lo que se procedió a revisar el sistema óptico y mecánico del equipo.

4.2 ARREGLOS DEL SISTEMA ÓPTICO

El sistema óptico del espectrofotómetro DMS 100 se compone de cuatro fases, por cada una de las cuales el haz proveniente de las fuentes de radiación (Ultravioleta y Visible) realiza la trayectoria hasta el fotomultiplicador. Dicho recorrido es observado con el equipo abierto y en posición de encendido, empleando las dos fuentes de radiación.

Según lo visto en la descripción del sistema óptico del espectrofotómetro DMS 100 (ver capítulo 2 sección 2.2), se tienen estas cuatro secciones por las cuales atraviesa el haz proveniente de las fuentes (ultravioleta y visible). En la primera sección se encuentran localizados las dos fuentes de radiación y el espejo fuente, el cual posee un mecanismo de rotación sobre su eje vertical, lo que permite la selección de la respectiva lámpara. En seguida, el haz se dirige a la primera rendija que da paso al segundo compartimiento donde está ubicado el arreglo

óptico del monocromador. El rayo saliente de este sistema pasa a una segunda rendija la cual lo envía a una tercera sección en la que se encuentra un conjunto de espejos que tienen la función de conducir la trayectoria del haz al primer chopper, el cual da paso al compartimiento de la muestra; seguidamente el rayo entra a la unidad del fotomultiplicador donde finaliza la trayectoria del haz.

Es de recalcar que en la primera sección, la trayectoria del haz proveniente de alguna de las fuentes depende inicialmente del grado de inclinación del espejo fuente respecto a estas. Basándose en la teoría estudiada, el haz proveniente de la fuente de radiación debe incidir perpendicularmente al recipiente que contiene la muestra para evitar reflexiones que disminuyan tanto la intensidad del haz incidente como la del haz transmitido por la muestra. Esto permitió concluir que el espejo fuente respecto a la fuente ultravioleta no estarían adecuadamente alineados, ocasionando que el haz no incidiera en forma perpendicular a la superficie del recipiente de la muestra, provocando pérdida de intensidad que se manifestaría en la saturación de la absorbancia. Por ello fue necesario investigar el funcionamiento de este primer sistema óptico (ver figura 23), además de que esta área es la más propensa a desajustes de tipo optomecánico, ya que en las demás secciones los elementos ópticos están estáticos.

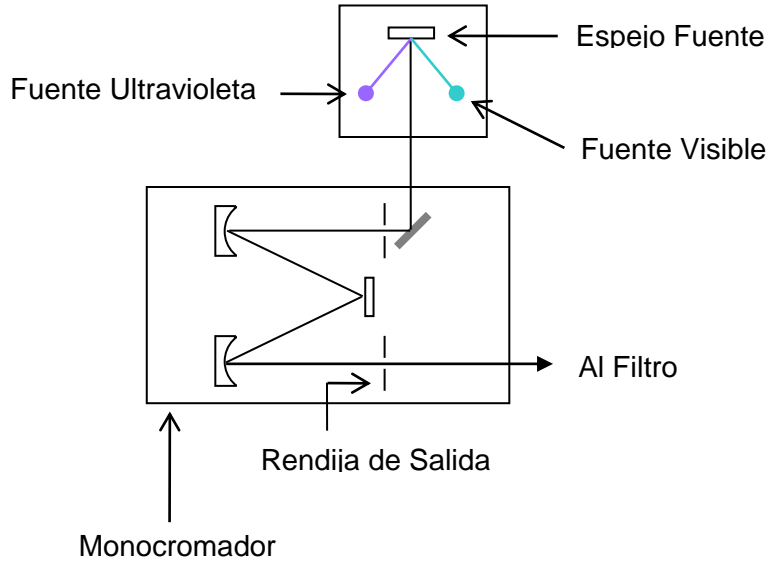


Figura 23. Primera fase del sistema óptico: Sistema espejo-fuentes

Se observó detalladamente la primera fase del sistema óptico. En esta sección fue notorio que el espejo fuente había sido manipulado, esto debido a que una de las piezas de su sostenimiento se encontró fragmentada y reemplazada por una pieza improvisada no acorde con las especificaciones de la estructura de sostenimiento de este espejo. Además de tener en cuenta que la fuente de deuterio fue reemplazada sin llevar a cabo el procedimiento establecido por el Manual de Operación y Mantenimiento (ver anexo A). La lámpara de deuterio fue sustituida debido a que se creía que dicha lámpara había expirado, lo que implicó que el Laboratorio de Aguas Residuales efectuara un gasto extra en la compra de una fuente ultravioleta de iguales características.

Por tanto, se realizó el proceso de calibración del sistema espejo - fuente Ultravioleta, debido a que estos dos dispositivos juegan un papel importante en el adecuado funcionamiento del equipo. Para dicha calibración se recurre al Manual de Operación y Mantenimiento del Espectrofotómetro DMS 100 (ver anexo A), donde se explica paso a paso, como ajustar la lámpara después de su reemplazo. A pesar de realizar un minucioso procedimiento, las bandas irregulares siguieron presentes en los espectros de diferentes sustancias, lo mismo que sin ellas.

Con el previo ajuste de la lámpara y sin obtener los resultados esperados, se procedió a calibrar el espejo fuente respecto a la posición de la fuente Ultravioleta. Analizada la estructura del espejo fuente se observó que este posee dos tornillos, cuyo objeto es ajustar la posición del espejo a las dos fuentes de radiación; el tornillo que calibra la ubicación de la superficie especular con la fuente Ultravioleta estaba visiblemente desviado lo que significaba que el grado de inclinación de dicha superficie estaba fuera de la posición adecuada, ya que, el haz proveniente de la fuente UV debe incidir en el espejo de tal manera que la reflexión salga con el ángulo apropiado para continuar su trayectoria de forma que no hayan pérdidas de intensidad, ni reflexiones fantasmas.

Se procedió a graduar el espejo girando el tornillo, hasta obtener la posición requerida. Para ello, se coloca en el compartimiento de la muestra el patrón de referencia (filtro de óxido de holmio), y con el equipo en posición encendido se realizaron varios barridos. Todo este procedimiento se hizo simultánea y

paralelamente, con el fin de observar en el monitor de video las variaciones de lectura en la zona problema (ultravioleta). Después de varios intentos se logró obtener un espectro muy similar al referenciado en la teoría (ver figura 24), sin embargo, este aun presentaba ciertas irregularidades. Esto debido a que cualquier grado de desviación de la superficie del espejo con relación a la fuente ocasionaría distorsiones en el espectro evidenciadas en la formación de bandas irregulares.

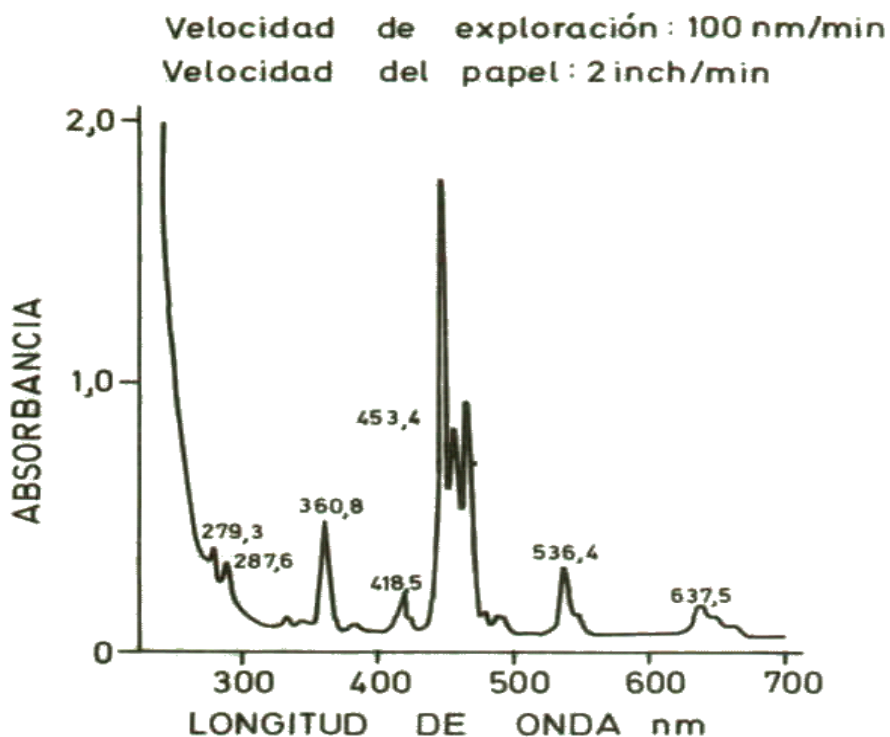


Figura 24. Espectro del filtro de óxido de holmio referenciado en la teoría

Teniendo en cuenta todo lo anterior, era evidente que aquí radicaba el problema, por lo tanto se siguen realizando varias sesiones de ajuste hasta obtener resultados óptimos (ver figura 25), es decir, se observan todos los picos característicos del óxido de holmio, sin presenciarse ninguna banda irregular.

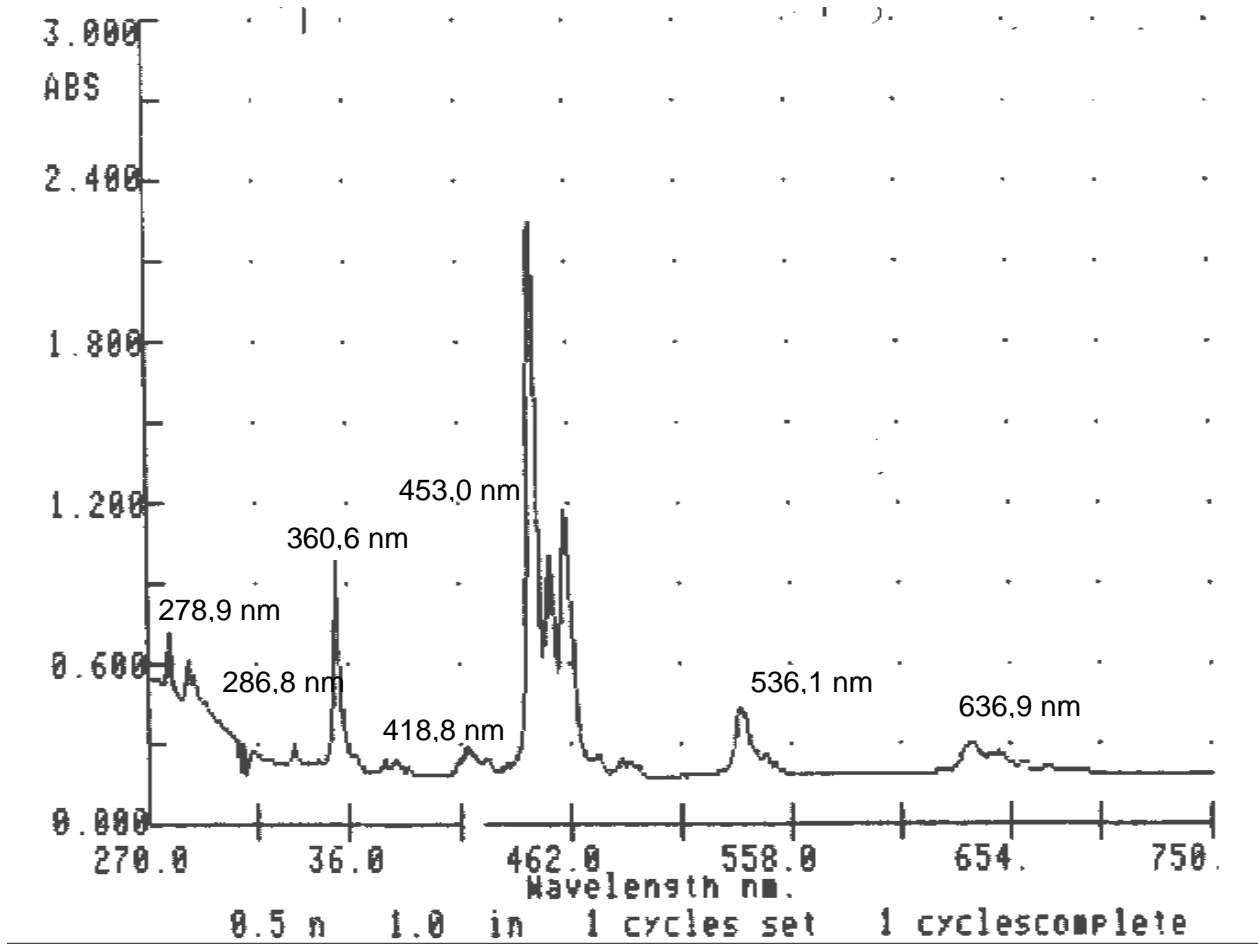


Figura 25. Espectro del filtro de óxido de holmio esperado

4.3 CALIBRACIÓN

Mejorado el proceso de registro de absorción en la zona ultravioleta de los espectros, se iniciaron las calibraciones correspondientes a las longitudes de onda y los valores fotométricos (la absorbancia y transmitancia) del equipo. Dichas sesiones de calibración se realizaron bajo diferentes condiciones climáticas las cuales estaban dentro de los rangos de temperatura y humedad especificados por el manual de servicio del equipo espectrofotométrico (ver capítulo 2, sección 2.3), lo que permitió establecer que los resultados de las lecturas del equipo fueran confiables y reproducibles.

En primer lugar, se realizaron diferentes pruebas de calibración de la longitud de onda del espectrofotómetro.

Fundamentándose en el hecho de que el óxido de holmio es un cristal que presenta un número exacto de picos de absorción a longitudes de onda perfectamente determinadas en las regiones visible y ultravioleta cercano, se utiliza este cristal como patrón de calibración de la longitud de onda del espectrofotómetro DMS 100, empleando como guía el procedimiento planteado en el manual (ver anexo A, Método A: filtro de óxido de holmio, página 14). Teóricamente, los picos en el filtro de óxido de holmio, se observan en las siguientes longitudes de onda dadas en nanómetros: 637,5 536,4 453,4 418,5 360,8 287,6 279,3 [2,19].

En las pruebas realizadas, los espectros obtenidos con el filtro de óxido de holmio fueron reproducibles, ya que entre ellos sus valores de longitudes de onda no diferían en más de ± 0.5 nm (ver anexo A, características ópticas, exactitud de la longitud de onda, página 11). Por consiguiente, se tomó uno de estos espectros como referencia experimental para ser comparado con el espectro citado en la teoría.

Es de resaltar que en el Manual de Operación y Mantenimiento del Espectrofotómetro DMS 100 (ver anexo A, Método A: filtro de óxido de holmio, página 14), las longitudes de onda registradas en el espectro no deben diferir por más de 1.0 nm de los valores teóricos mencionados anteriormente.

Para verificar la confiabilidad de los resultados obtenidos se realizó la comparación de los valores de las longitudes de onda de los dos espectros (teórico y experimental):

Cuadro 2. Corrimiento entre las longitudes de onda de los espectros teórico y experimental

	Longitudes de Onda (nm)						
Espectro teórico	279,3	287,6	360,8	418,5	453,4	536,4	637,5
Espectro experimental	278,9	286,8	360,6	418,8	453,0	536,1	636,9
Corrimiento del experimental respecto al teórico	0,4	0,8	0,2	0,3	0,4	0,3	0,6

Según el cuadro anterior es evidente que el corrimiento o desfase entre las longitudes de onda de los espectros, se encuentra dentro del rango especificado (± 1 nm) por el manual del espectrofotómetro DMS 100 (ver anexo A, Método A: filtro de óxido de holmio, página 14), esto permitió concluir que las lecturas de la longitud de onda fueron correctamente calibradas, sin embargo, es conveniente que el personal de laboratorio, se encargue periódicamente de realizar la calibración con el método especificado. Aunque solo se tomó un espectro experimental de referencia, es de destacar que los corrimientos presentados entre los diferentes espectros obtenidos, estuvieron dentro del margen preestablecido para la exactitud de la longitud de onda (± 0.5 nm), siendo esto un indicador de la reproducibilidad y fiabilidad de las lecturas registradas por el equipo.

Gráficamente (ver figura 26), los espectros muestran analogía en sus respectivas bandas de absorción, además de que la absorbancia que presenta cada pico del espectro experimental es similar a la que se observa en cada pico del teórico.

Análogamente, se calibraron los valores fotométricos empleando la solución de dicromato de potasio como referencia, considerando que el valor de la absorbancia de esta solución estándar está entre 0.654 ± 0.010 A (ver anexo A, Método C: solución de dicromato, página 17). El método fue aplicado, obteniendo un buen resultado. Se recomienda que el personal de laboratorio se encargue periódicamente de realizar dicha calibración con el método especificado anteriormente.

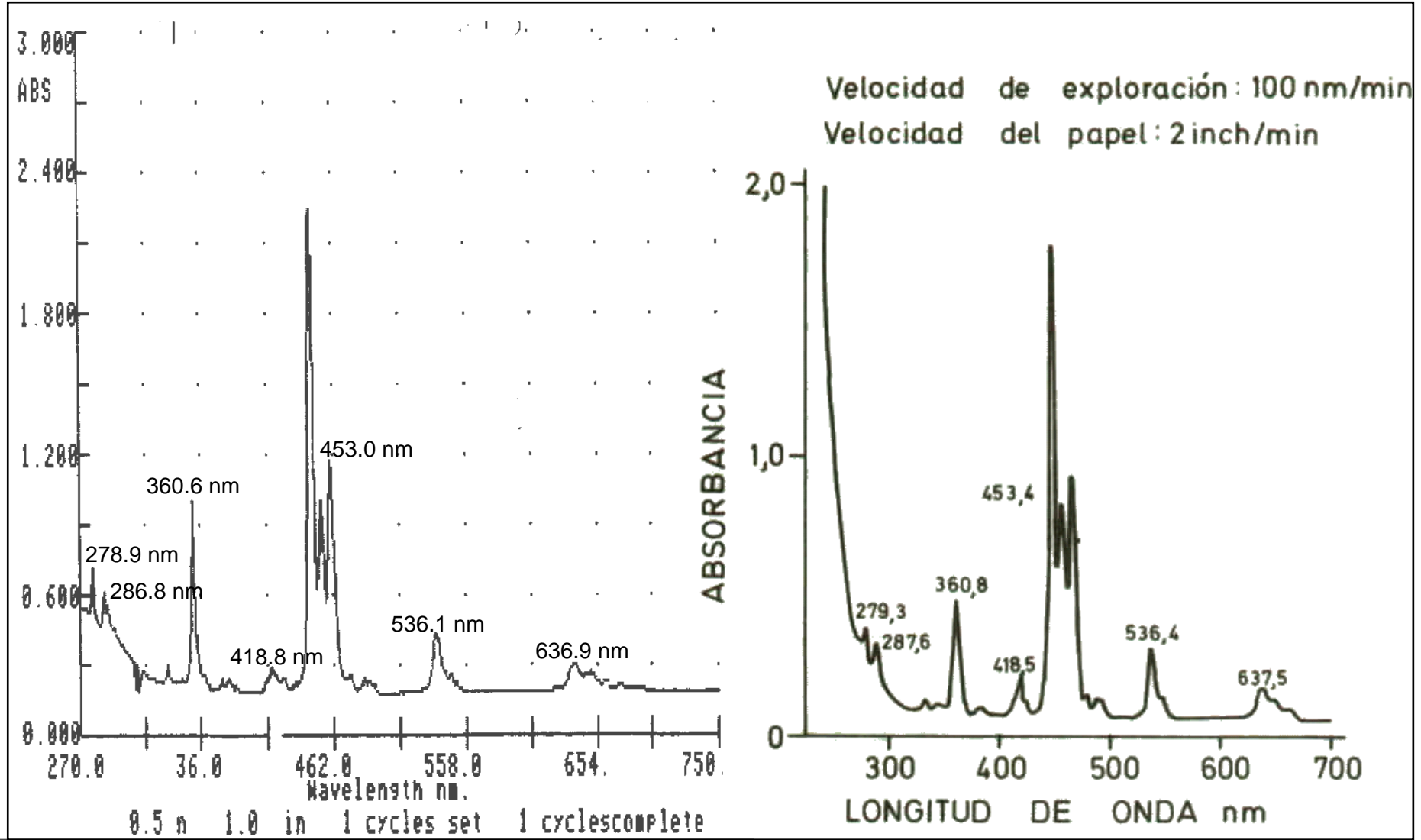


Figura 26. Paralelo espectro teórico y experimental del óxido de holmio

Es importante tener en claro que si se tienen calibradas las lecturas de la longitud de onda se obtendrán espectros propios de cada muestra, ya que, los máximos de absorción de la muestra aparecen a determinadas longitudes de onda características de cada grupo funcional presentes en su estructura molecular. En el caso de la absorbancia (o en su defecto la transmitancia) esta depende de la concentración de la muestra y no afecta la posición de los picos característicos del espectro.

4.4 ARREGLOS MECÁNICOS

Otro de los factores causales del mal funcionamiento del equipo, se presentaba en el resorte del solenoide (ver figura 27) que le proporciona movimiento de giro al espejo fuente. Es de aclarar que por defecto este espejo esta en posición frontal a la fuente Halógena (visible), por lo cual al realizar barridos de una muestra, el espejo es forzado a girar entre una lámpara y otra para obtener las lecturas correspondientes a las zonas Visible y Ultravioleta; en el momento en que el espejo cambia de una fuente a otra durante un barrido, el resorte se atascaba dejando al espejo en una posición intermedia, que obviamente impide el correcto barrido del espectro. Para solucionar dicho problema se cambió la posición del resorte, considerando que esta es la más adecuada ya que el resorte tiene mayor grado de libertad y mayor agarre de la estructura de sostenimiento del espejo. Para constatar el apropiado funcionamiento del espectrofotómetro se corroboró

que las posiciones del espejo durante la realización de barridos repetitivos son las adecuadas.

Finalmente, el ultimo arreglo mecánico es la colocación de la pieza del chasis de sostenimiento del espejo fuente, mencionada anteriormente (ver sección 4.2 del presente capítulo). Dicha pieza sostiene el espejo por su parte posterior, ya que posee una curvatura para dar mayor afianzamiento del espejo al marco (ver figura 27). Esta pieza fue mandada a elaborar, con las especificaciones de dimensión y material (acero) requeridas (ver anexo C). La pieza fue reemplazada cuidadosamente evitando tanto fragmentar como rayar o contaminar la superficie especular.

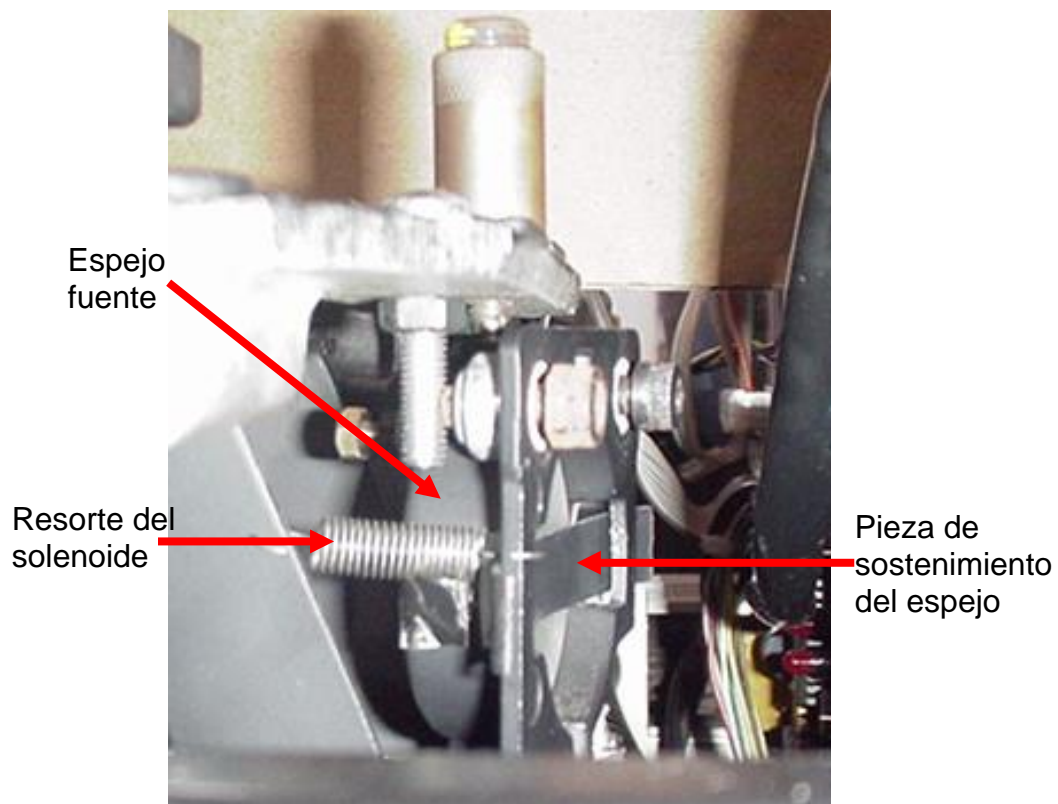


Figura 27. Foto de la estructura del espejo fuente

5. ADQUISICIÓN DE DATOS DEL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100 A TRAVÉS DEL PUERTO PARALELO DEL PC

En el proyecto planteado se estableció que se realizaría la comunicación con el PC a través del bus de interfase GPIB por medio del lenguaje de programación gráfica Labview. Debido a inconvenientes de tipo logístico y metodológico, los cuales se aclararán durante el desarrollo de este capítulo, este procedimiento no se aplicó en la adquisición de datos del presente trabajo.

Consecuentemente, fue necesario plantear un nuevo procedimiento para la adquisición, por lo que se consideró la interfaz entre el Espectrofotómetro y la impresora por medio del Puerto Paralelo tipo Centronics, el método más viable para la toma de datos.

La interfaz del equipo espectrofotométrico con la impresora, consiste en un conversor GPIB-Centronics que permite la conexión directa con el puerto de la impresora (Centronics), por tanto, se consideró posible realizar una interfaz que comunique el Espectrofotómetro con el PC por medio del puerto paralelo.

5.1 HARDWARE PARA LA ADQUISICIÓN DE DATOS A TRAVÉS DEL PUERTO PARALELO DEL PC

Cuando se desea establecer comunicación entre dos dispositivos es necesario realizar ciertas pruebas preliminares inicialmente de la interfaz física entre el emisor y el receptor. En este caso los dispositivos en cuestión son el espectrofotómetro (el emisor) y el PC (el receptor).

Se aclaró que la comunicación entre los dos equipos sería por medio del puerto paralelo. Este puerto generalmente fue diseñado para enviar información de un PC a una impresora (estándar), por ello se vio en la necesidad de encontrar una solución al proceso inverso, es decir, realizar la transmisión de datos del espectrofotómetro al PC, siendo normalmente el PC un emisor y no un receptor.

Se estudió rigurosamente el protocolo de comunicación del puerto paralelo del PC a la impresora. Básicamente, en este proceso el registro de control y de datos son de salida, es decir, el PC envía ordenes y datos a la impresora, a su vez la impresora envía su estado por el registro de entrada al PC (ver figura 28).

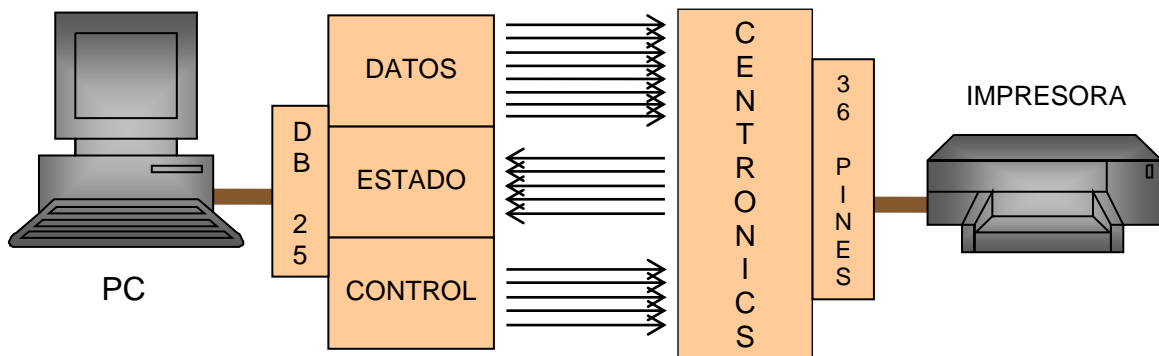


Figura 28. Comunicación entre la impresora y el PC

Según lo anterior, en esta comunicación el espectrofotómetro es el emisor y el PC el receptor. El computador tiene la función de simular las señales que envía una impresora. Por tanto, se simularon las señales que convencionalmente son de salida en entrada y viceversa (ver figura 29). Ya que las direcciones de registro del puerto paralelo de un PC vienen determinadas en su hardware.

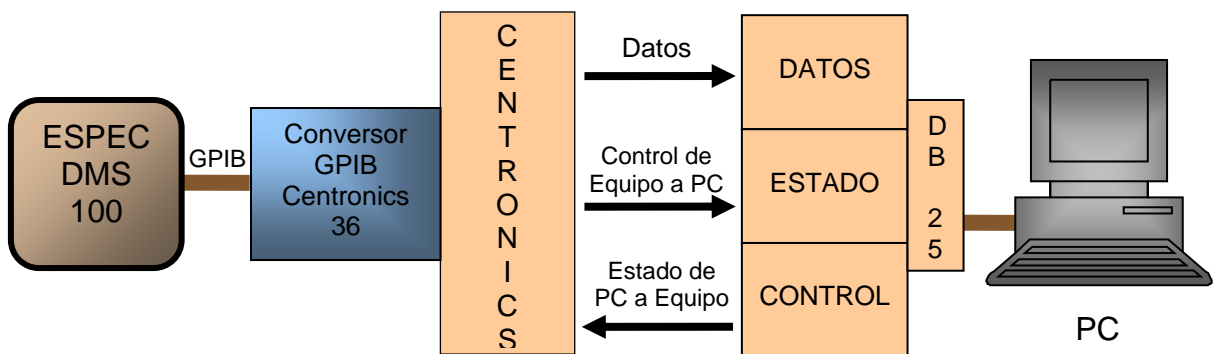


Figura 29. Comunicación entre el espectrofotómetro y el PC

Por lo tanto, las órdenes impartidas por el equipo entran por el registro de estado del puerto paralelo del PC, por el registro de control del PC se envía su estado al espectrofotómetro y por el registro de datos se recibe la información proveniente del equipo. Físicamente, se realizó un adecuado cruce de líneas entre los puertos del equipo y PC, teniendo en cuenta la función de cada pin de los terminales (DB-25 y Centronics).

El registro de datos en el PC en general es de salida, pero este puede ser bidireccional, para que este que de entrada (ver Capítulo 3 sección 3.2.4).

5.1.1 Verificación de la Bidireccionalidad del Puerto Paralelo. Es importante comprobar la bidireccionalidad del puerto paralelo del computador antes de establecer una comunicación entre dos dispositivos, en este caso el PC y el equipo espectrofotométrico.

Para ello, es necesario configurar el puerto en uno de los modos que permite comunicación bidireccional (Modo EPP o ECP) en la bios setup del computador, y escribir en el registro de control un uno (1) lógico en el bit cinco (32 número en base decimal), en la dirección H37A.

Se realizó en el computador asignado para este trabajo, la verificación de la bidireccionalidad del puerto obteniendo resultados positivos (ver artículo "Adquisición de datos a través del puerto paralelo bidireccional", [18]). La prueba

es conveniente realizarla para evitar conflictos de comunicación entre los dispositivos, previniendo de esta manera riesgos de quemar los circuitos internos del puerto.

5.1.2 Exploración de la Comunicación Entre el Espectrofotómetro y su Impresora. Para establecer el protocolo de comunicación entre el equipo espectrofotométrico y la impresora es ventajoso realizar un montaje físico donde se puede observar con más accesibilidad las señales que intervienen en la comunicación entre ambos dispositivos.

Como se mencionó, el espectrofotómetro cuenta con un conversor de GPIB a puerto paralelo (Centronics 36 pines) que directamente se conecta a la impresora, por tanto los dos puertos manejan las líneas del terminal Centronics 36 (ver sección 3.2.2 Conector Centronics). Por ello, se procedió a realizar un montaje electrónico con el fin de observar la conmutación de datos, y las diferentes lecturas de direcciones de los registros de control y estado, durante el proceso de envío de información del equipo a la impresora.

Este circuito electrónico consta de dos integrados 74LS245, los cuales permiten recibir las señales y sirve como etapa separadora y amplificadora de corriente. De esta manera se protegen los puertos ya que la exigencia de corrientes altas o cualquier corto circuito puede causar daños irreparables en los terminales o

tarjetas de los equipos en cuestión. A estos integrados se conectan los LEDs que indicarán las entradas y salidas del sistema. Esta fase de observación permite establecer las señales de protocolo de comunicación entre el equipo y la impresora, resaltando los registros de control y estado (ver Tabla 8), para luego ser simulados en el PC, que hace el papel de receptor en este sistema de comunicación.

Tabla 8. Lecturas de las señales observadas

REGISTRO DE ESTADO		
FUNCIÓN	Niveles Lógicos en	
	Periodo Normal	Periodo de Impresión
ERROR	1	1
SELECT	1	1
PE	0	0
ACK	1	1
BUSY	0	*

REGISTRO DE CONTROL		
FUNCIÓN	Niveles Lógicos en	
	Periodo Normal	Periodo de Impresión
STROBE	0	*
AUTOFEED	1	1
INIT	1	1
SELECT IN	0	0

* Señales observadas con osciloscopio debido a su velocidad en microsegundos (μs); conmutan entre cero (0) y uno (1) durante el proceso de impresión. La variación de la señal BUSY es observada a simple vista.

5.1.3 Interfaz Física entre el PC y el Espectrofotómetro. La interfaz física consta de un cable de 36 líneas, cuyos terminales son: Centronics Hembra 36 pines y DB-25 Macho.

En pruebas preliminares se determinó que la interfaz entre el PC (receptor) y el equipo (transmisor), se realiza de tal manera que:

- Los pines de estado del equipo se conectan con los pines de control del PC.
- Los pines de control del equipo se conectan con los pines de estado del PC.
- Los pines de datos se conectan entre sí.

Para observar mejor el arreglo de la interfaz física entre el espectrofotómetro y el PC, diríjase al anexo A, tabla 1.

5.2 SOFTWARE PARA LA ADQUISICIÓN DE DATOS A TRAVÉS DEL PUERTO PARALELO DEL PC

El compilador empleado para la adquisición es el programa Turbo C++, ya que este programa es de fácil sintaxis; además de que beneficia la transmisión de la información, puesto que su velocidad es comparativamente mayor que otros compiladores. Por ejemplo, Labview trabaja con velocidades mínimas iguales a un milisegundo (1 ms), lo cual afecta la comunicación entre el equipo y el PC, ya que la velocidad de transferencia de datos del espectrofotómetro es mucho mayor, trabajando a velocidades de bytes por micro segundo (byte/ μ s).

5.2.1 Software de Adquisición de Datos

El diagrama de tiempos visto en el capítulo 3 sección 3.2.3, muestra las señales que intervienen convencionalmente en la comunicación entre un PC y una impresora. Dicho mapa es estudiado con anticipación, además de la teoría ya referenciada (Capítulo 3), para la realización del programa en lenguaje Turbo C++.

El algoritmo consta de treinta y siete (37) líneas (ver anexo D) y se diseñó para simular el protocolo de comunicación de la impresora (receptor) con el equipo (emisor), haciendo énfasis que en este proyecto el PC tiene la función de receptor en dicha comunicación.

En el programa se utilizaron tan solo dos de estas señales necesarias para la transmisión de datos (STROBE y BUSY), ya que la señal ACK en diversos programas de prueba se verificó que no era necesaria. Es de resaltar, que en muchos PC se ignora la señal ACK, y el computador solo examina el estado de la línea BUSY, sin alterar la eficiencia en la adquisición de datos [20]. También, en el programa se creó un archivo, que permite al usuario, guardar y tener copia de seguridad de la información enviada del espectrofotómetro al PC (Datos de tipo alfa-numérico), contribuyendo a que el usuario pueda acceder a este archivo cuando lo requiera.

Para utilizar el programa de adquisición de datos se creó un archivo ejecutable, disponible en el escritorio (ventana de inicio) del PC asignado al equipo (ver anexo A, figura 10).

Este programa se probó inicialmente con el patrón de referencia de calibración del espectrofotómetro, el filtro de óxido de holmio, el cual como se ha mencionado presenta picos característicos a ciertas longitudes de onda. Además de resaltar que dichas longitudes de onda no deben estar desfasadas de ± 1 nm, a las dadas en el manual del espectrofotómetro DMS 100 (ver anexo A, Método A: filtro de óxido de holmio, página 14).

Estas longitudes de onda donde se presentan los picos característicos se encuentran tanto en la región visible como en la ultravioleta y son las siguientes:

637,5 nm

536,4 nm

453,4 nm

418,5 nm

360,8 nm

287,6 nm

279,3 nm

Los valores obtenidos en la verificación del programa de adquisición de datos para las longitudes de onda del óxido de holmio son muy próximas a las teóricas (ver figuras 24 y 26), lo cual se constata con el archivo de texto adquirido a través del PC.

ARCHIVO DE TEXTO ADQUIRIDO EN EL PC DE LOS PICOS
CARACTERÍSTICOS DEL FILTRO DE OXIDO DE HOLMIO CON SUS
RESPECTIVAS LONGITUDES DE ONDA

Operator/Date:

Trace: 1

Sample Type:

Absorbance mode Bandwidth 10 nm. Time constant 0.3 sec

Ord. Min 0.000 Ord. Max 3.000 Scan Speed 10.0 nm/min.

Upper Wl 750.0 nm. Lower Wl 275.0 nm.

I Lower Wl 275.0 nm.

17 Peak(s) detected

Peak at wavelength 678.1 nm. of value 0.242

Peak at wavelength 662.1 nm. of value 0.285

Peak at wavelength 648.4 nm. of value 0.307

Peak at wavelength 636.9 nm. of value 0.317

Peak at wavelength 536.1 nm. of value 0.459

Peak at wavelength 509.8 nm. of value 0.252

Peak at wavelength 453.0 nm. of value 1.201

Peak at wavelength 445.3 nm. of value 2.281

Peak at wavelength 431.5 nm. of value 0.282

Peak at wavelength 424.1 nm. of value 0.289

Peak at wavelength 418.8 nm. of value 0.303

Peak at wavelength 385.0 nm. of value 0.261

Peak at wavelength 360.6 nm. of value 0.952

Peak at wavelength 333.1 nm. of value 0.319

Peak at wavelength 315.2 nm. of value 0.283

Peak at wavelength 286.8 nm. of value 0.658

Peak at wavelength 278.9 nm. of value 0.729

Esto permitió ratificar que el equipo espectrofotométrico fue calibrado de manera adecuada, siendo un indicador de la confiabilidad en las medidas obtenidas en el equipo.

Con el espectrofotómetro y el PC se procede a realizar los barridos y la adquisición de los archivos de texto de algunas muestras, con el fin de corroborar el buen funcionamiento tanto de los diversos valores de lectura (absorbancia, longitud de onda) del espectrofotómetro como de la comunicación de este equipo con el PC (ver siguiente capítulo).

6. PROCESO DE ANÁLISIS DE ALGUNAS MUESTRAS EN EL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100

Para verificar la funcionalidad óptima del equipo espectrofotométrico se realizaron barridos para cuatro (4) muestras diferentes a lo largo del rango de las longitudes de onda en las zonas del visible y ultravioleta, con el fin de constatar que las lecturas obtenidas por el instrumento son coherentes con lo teóricamente esperado.

El proceso de realizar barridos en el espectrofotómetro esta resumido en los siguientes pasos:

1. La sustancia debidamente preparada, se vierte en la celda de cuarzo y se coloca en el compartimiento respectivo de la muestra.
2. Se ingresa por el teclado del equipo los valores extremos del rango de la longitud de onda (mayor y menor). Análogamente, se ingresan por el teclado las cantidades correspondientes a la absorbancia o en su caso el de la transmitancia (menor y mayor).

3. Se realiza el barrido a una velocidad de barrido de 50 nm/min (esta velocidad es recomendable ya que a mayor velocidad hay menos resolución perdiéndose información en algunas lecturas de la absorbancia).

4. Para dar inicio al barrido de la muestra se presionan las teclas SCAN MODE y START STOP ubicadas en el panel de indicadores del equipo.

5. Con la gráfica completa observada en el monitor de video, se procede a enviar los datos correspondientes a las lecturas de los picos de mayor absorbancia (o en su defecto de la transmitancia) con sus respectivas longitudes de onda a un archivo ejecutable del lenguaje C++. Para capturar dicha información en el computador se abre el archivo ejecutable: **ADQUISICION DE DATOS.exe**. En este programa de adquisición se encuentran las instrucciones a seguir para el registro de los datos. Estos datos quedan guardados en un archivo tipo texto el cual puede ser conservado en la PC y disponible para ser retomado cuando se requiera analizar y/o comparar con estudios posteriores.

6.1 ANÁLISIS DE ALGUNAS MUESTRAS ORGÁNICAS

La aplicación de la espectrofotometría de ultravioleta y visible es muy ampliamente utilizada para estudiar compuestos orgánicos, ya que estos son capaces de absorber radiación electromagnética porque contienen electrones de valencia que

pueden ser excitados a niveles de energía superiores. Las transiciones electrónicas entre los distintos niveles de energía para las zonas ultravioleta-visible son $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$ (ver figura 30). El orbital sigma (σ) esta asociado a los enlaces sencillos y en uno de los pares de electrones enlazantes del doble enlace, el orbital pi (π) esta asociado al otro par de electrones enlazantes del doble enlace, los orbitales σ^* y π^* son denominados antienlazantes que corresponden a estados excitados y n son los electrones que no participan en ningún enlace en una molécula.

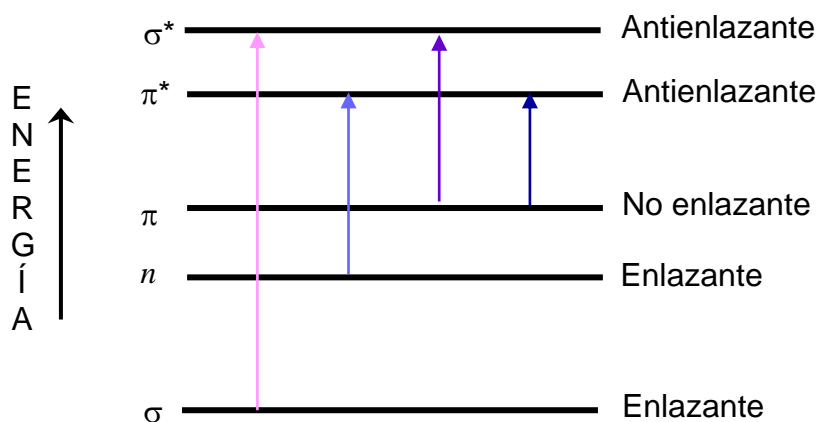


Figura 30. Niveles de energía electrónicos de los orbitales moleculares

Las transiciones $\sigma \rightarrow \sigma^*$ que ocurren en los enlaces sencillos, requieren una energía muy alta por lo que su absorción queda restringida a la región ultravioleta de vacío (longitud menor a 185 nm). Similarmente, las transiciones $n \rightarrow \sigma^*$ aunque requieren de menos energía que las anteriores, la mayoría de los picos de absorción aparecen por debajo de los 200 nm, quedando así, ambas transiciones

fuera del alcance instrumental de un espectrofotómetro común (equipo que normalmente trabaja a longitudes de onda de 190 nm a 900 nm).

La mayoría de las aplicaciones de espectroscopia de absorción en compuestos orgánicos se basa en transiciones de los electrones n y π al estado excitado π^* porque la energía requerida para estos procesos produce picos de absorción dentro de una región espectral experimental accesible, de 200 nm a 700 nm de longitud de onda. Ambas transiciones requieren la presencia de grupos no saturados que aportan los electrones π , a estos grupos se les denomina *cromóforos*.

Algunos de los cromóforos más comunes son los alquenos, alquinos, carbonilo, carboxilo, nitrato, amido, azo, nitro, nitroso. Los espectros electrónicos de moléculas orgánicas que contienen estos grupos funcionales son, en general, complejos porque la superposición de las transiciones vibracionales sobre las transiciones electrónicas conduce a una compleja combinación de líneas solapadas, generando una banda de absorción ancha que parece ser continua.

Otro de los compuestos orgánicos que poseen transiciones de los electrones π al estado excitado π^* son los sistemas aromáticos, estos hidrocarburos se caracterizan por tres grupos de bandas de absorción. Por ejemplo, el benceno presenta sus picos de absorción uno intenso a 184 nm, una banda débil a 204 nm

y un pico más débil a 256 nm. Estas tres bandas son afectadas en su longitud de onda por la sustitución del anillo [6].

Con base en lo anterior, se emplearon algunas sustancias orgánicas, escogidas de tal manera que presentaran bandas de absorción en las regiones de interés (ultravioleta y visible) para corroborar según sus referencias teóricas la confiabilidad de las lecturas de los espectros y su adquisición de datos en el PC.

6.1.1 El azul de metileno y el naranja de metilo. Son compuestos en estado líquido denominados indicadores, utilizados para determinar cuándo el proceso de una reacción se completa, ya que en este momento el indicador cambia de color [22].

El azul de metileno presenta en su estructura (ver figura 31) tres anillos de benceno en los cuales hay grupos funcionales sustituyentes auxocromos (este último es un grupo funcional que no absorbe en la región ultravioleta, pero tiene el efecto de desplazar los picos del cromóforo hacia longitudes de onda más largas), particularmente los sustituyentes auxocromicos tienen al menos un par de electrones no enlazantes (n) que interactúan con los electrones π del anillo. Esta interacción causa el efecto de disminuir la energía del enlace y por tanto provocando un desplazamiento en las longitudes de onda.

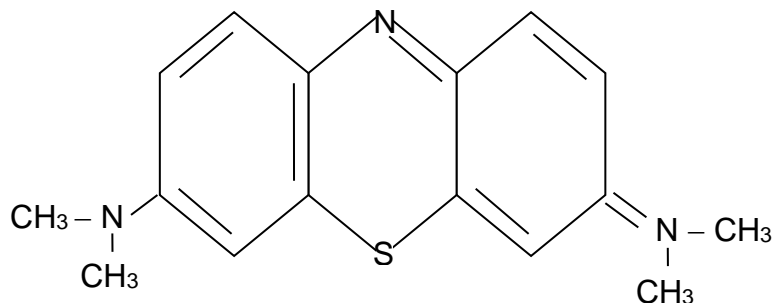


Figura 31. Estructura molecular del azul de metileno

El espectro experimental se observan dos bandas de absorción, la primera corresponde al máximo de absorbancia a una longitud de onda de 664.3 nm cercana al valor referenciado en la teoría, donde el máximo de absorbancia esta a 661 nm, la presencia de esta banda puede ser causada por el doble enlace del nitrógeno (sustituyente cromóforo) con el anillo [23]. La segunda banda más débil, como se mencionó, probablemente ocurrió por los sustituyentes auxocromos en la estructura del anillo causando el corrimiento del pico más débil del benceno, desplazando su longitud de onda de 256 nm a 291.2 nm.

A continuación se muestra el espectro experimental (ver figura 32) y el archivo de texto adquirido en el PC.

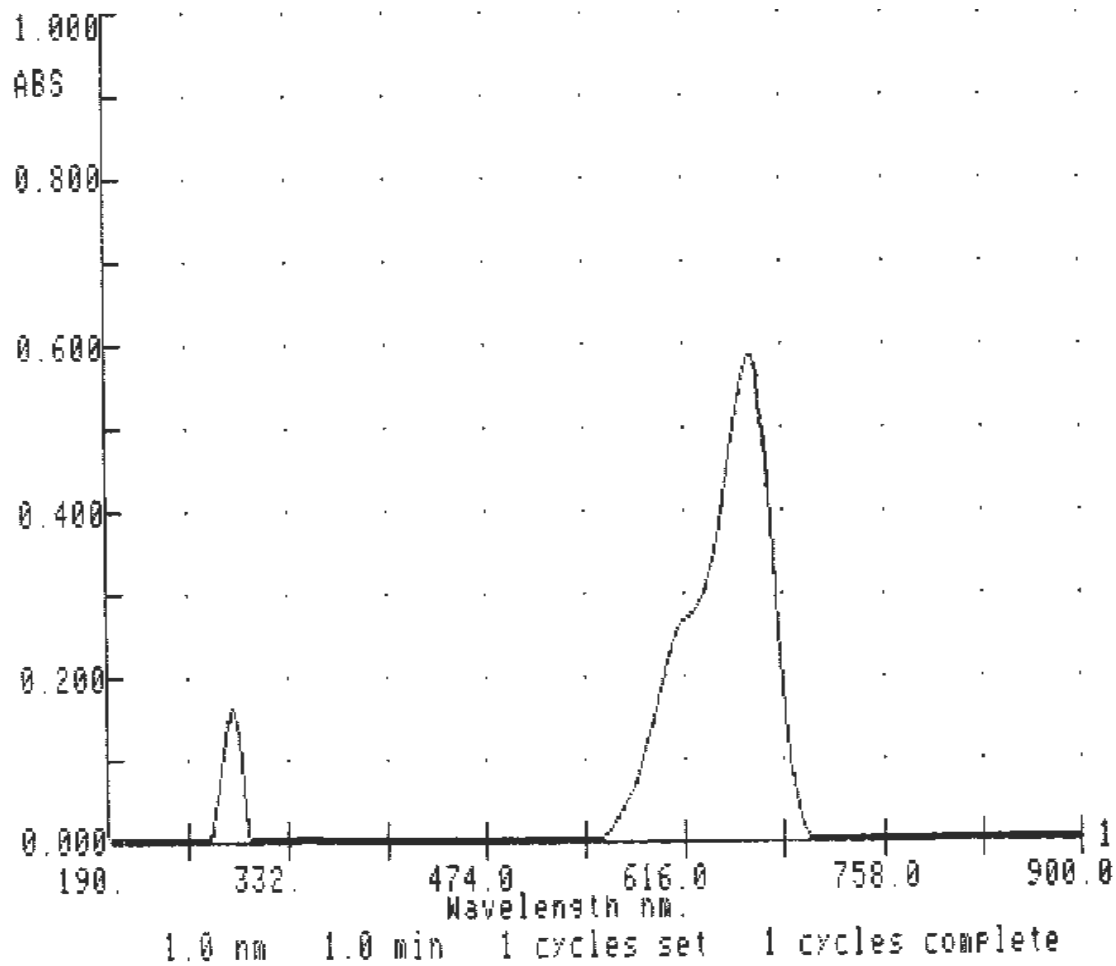


Figura 32. Espectro de absorción experimental del azul de metileno

ARCHIVO DE TEXTO ADQUIRIDO EN EL PC
PICOS DE ABSORBANCIA MÁXIMA CON SU RESPECTIVA LONGITUD DE
ONDA DEL AZUL DE METILENO

Operator/Date:

Trace: 1

Absorbance mode

Ord Min -0.000

Upper Wl 900.0 nm.

I Lower Wl 190.0 nm.

5 Peak(s) detected

Peak at wavelength 664.3 nm. of value 0.584

Peak at wavelength 458.8 nm. of value 0.05

Peak at wavelength 351.2 nm. o value -0.03

Peak at wavelength 291.2 nm. of value 0.161

Peak at wavelength 245.3 nm. of value -0.009

Sample Type:

Bandwidth 1.0 nm.

Ord Max 1.000

Lower Wl 190.0 nm.

Time Constant 0.3 sec

Scan Speed 50.0 n/min.

El naranja de metilo presenta en su estructura dos anillos bencénicos y tres sustituyentes (ver figura 33).

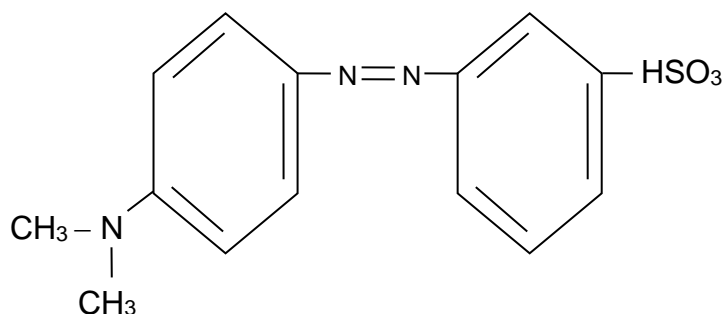


Figura 33. Estructura molecular del naranja de metilo

Según referencias teóricas, el naranja de metilo presenta su pico característico a una longitud de onda de 505 nm con una absorbancia de 0.312 A [23]. En el espectro experimental (ver figura 34) su pico de absorbancia se muestra a una longitud de onda de 463 nm, valor próximo al teórico, pero que fue desplazado a causa del disolvente (agua), el cual por su polaridad produce un corrimiento hipsocrómico o hacia el azul (disminución de la longitud de onda). La banda observada en el espectro se debe posiblemente al doble enlace que ocurre entre el cromóforo que lo constituyen los dos nitrógenos presentes en la estructura molecular del naranja de metilo. A continuación se muestra el archivo de texto adquirido en el PC de esta sustancia.

ARCHIVO DE TEXTO ADQUIRIDO EN EL PC
PICOS DE ABSORBANCIA MÁXIMA CON SU RESPECTIVA LONGITUD DE
ONDA DEL NARANJA DE METILO

Operator/Date:

Trace: 1

Absorbance mode

Ord Min -0.000

Upper Wl 900.0 nm.

I Lower Wl 190.0 nm.

5 Peak(s) detected

Peak at wavelength 680.2 nm. of value -0.013

Peak at wavelength 550.5 nm. of value -0.032

Peak at wavelength 463.0 nm. of value 0.306

Peak a wavelength 389.2 nm. of value 0.085

Peak at wavelength 269.0 nm. of value -0.017

Sample Type:

Bandwidth 1.0 nm.

Ord Max 1.000

Lower Wl 190.0 nm.

Time Constant 0.3 sec

Scan Sped 50.0 nm/min.

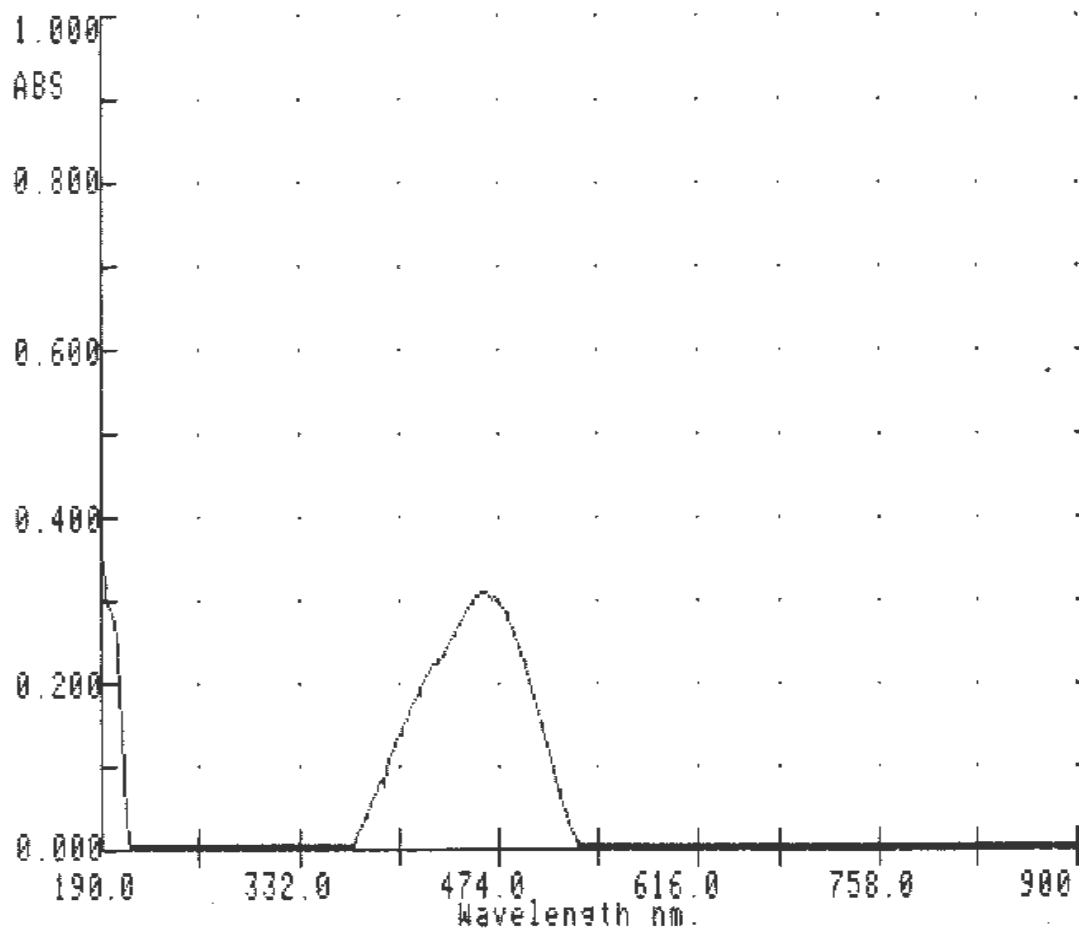


Figura 34. Espectro de absorción experimental del naranja de metil

Los espectros obtenidos del azul de metileno y el naranja de metilo cumplen con la Ley de Beer (ver Capítulo 1, sección 1.3.2, ecuación 8), ya que, las absorbancias de las sustancias (azul de metileno a 0.584 A y el naranja de metilo a 0.306 A) están dentro del rango de 0 a 1, conservándose la proporcionalidad entre la absorbancia y la concentración de la muestra.

6.1.2 Tiamina. La tiamina o comúnmente denominada vitamina B₁, es una sustancia cristalina e incolora, que actúa como catalizador en el metabolismo del ser humano. Para el análisis del espectro se empleó un patrón comercial de la tiamina llamado nitrato de tiamina, en la estructura molecular (ver figura 35) de la tiamina se encuentran tres clases diferentes de enlaces [21,24].

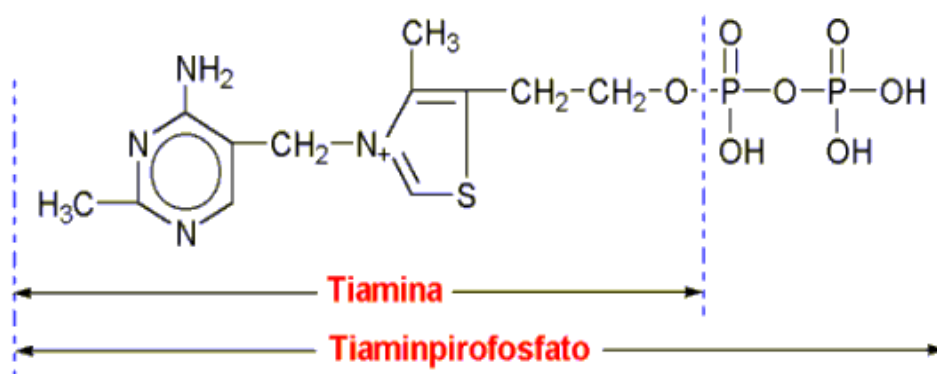


Figura 35. Estructura molecular de la tiamina y el tiaminpirofosfato

Para este compuesto se realizaron dos barridos espectrales a diferentes concentraciones a 15 ppm y a 25 ppm (ver figuras 36 y 37), observando los espectros se puede notar que la absorción es más alta en la sustancia de mayor

concentración (25 ppm). Sin embargo, en ambos espectros se observa una banda ancha con tres máximos de absorbancia, los cuales son ocasionados por los enlaces múltiples conjugados en la estructura molecular de la tiamina, identificándose máximos a longitudes de onda mayores y próximas a los 200 nm [25]. El máximo de absorbancia de menor longitud de onda en el espectro de la tiamina probablemente es uno de los picos característicos del benceno (204 nm). En seguida, se muestra los archivos de texto adquiridos en el PC de la sustancia a diferente concentración.

ARCHIVO DE TEXTO ADQUIRIDO EN EL PC
PICOS DE ABSORBANCIA MÁXIMA CON SU RESPECTIVA LONGITUD DE ONDA DEL NITRATO DE TIAMINA 15 ppm (ver figura 35)

Operator/Date:

Trace: 1

Sample Type:

Absorbance mode

Bandwidth 1.0 nm.

Time Constant 0.3 sec

Ord Min -0.000

Ord Max 1.00

Scan Speed 100.0 nm/min.

Upper Wl 320.0 nm.

Lower Wl 190.0 nm.

I Lower Wl 190.0 nm.

7 Peak(s) detected

Peak at wavelength 311.3 nm. of value 0.046

Peak at wavelength 264.1 nm. of value 0.287

Peak at wavelength 230.5 nm. of value 0.393

Peak at wavelength 208.8 nm. of value 0.385

Peak at wavelength 203.3 nm. of value 0.302

Peak at wavelength 200.4 nm. of value 0.281

Peak at wavelength 193.1 nm. of value 0.255

ARCHIVO DE TEXTO ADQUIRIDO EN EL PC
PICOS DE ABSORBANCIA MÁXIMA CON SU RESPECTIVA LONGITUD DE
ONDA DEL NITRATO DE TIAMINA 25 ppm (ver figura 36)

Operator/Date:

Trace: 1

Absorbance mode

Ord Min -0.000

Upper Wl 200 nm.

4 Peak(s) detected

Peak at wavelength 311.6 nm. of value 0.051

Peak at wavelength 264.7 nm. of value 0.591

Peak at wavelength 230.2 nm. of value 0.791

Peak at wavelength 211.1 nm. of value 0.806

Sample Type:

Bandwidth 1.0 nm.

Ord Max 1.000

Lower Wl 190.0 nm.

Time Constant 0.3 sec

Scan Speed 100.0 nm/min.

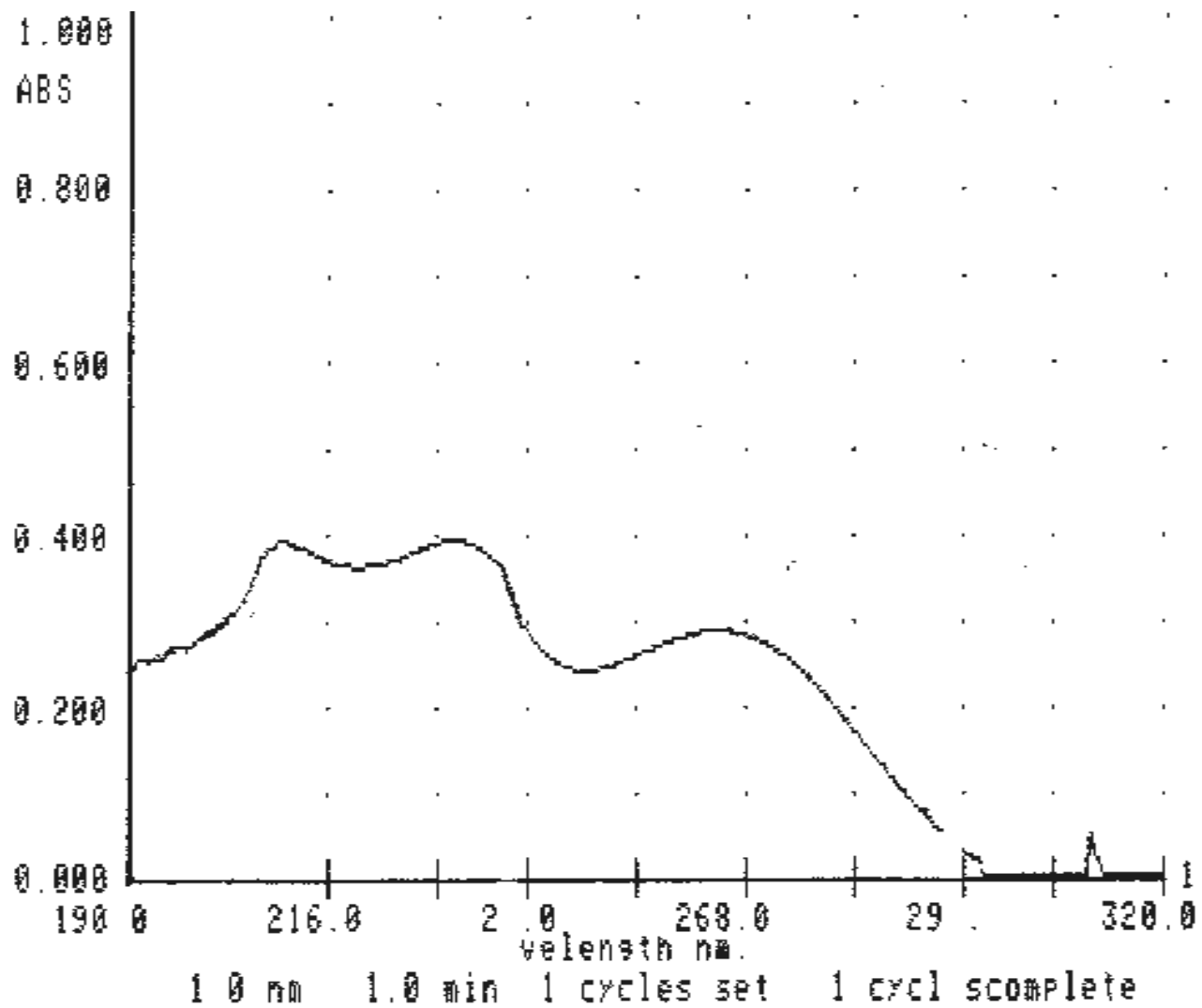


Figura 36. Espectro de absorción experimental del nitrato de tiamina a 15 ppm

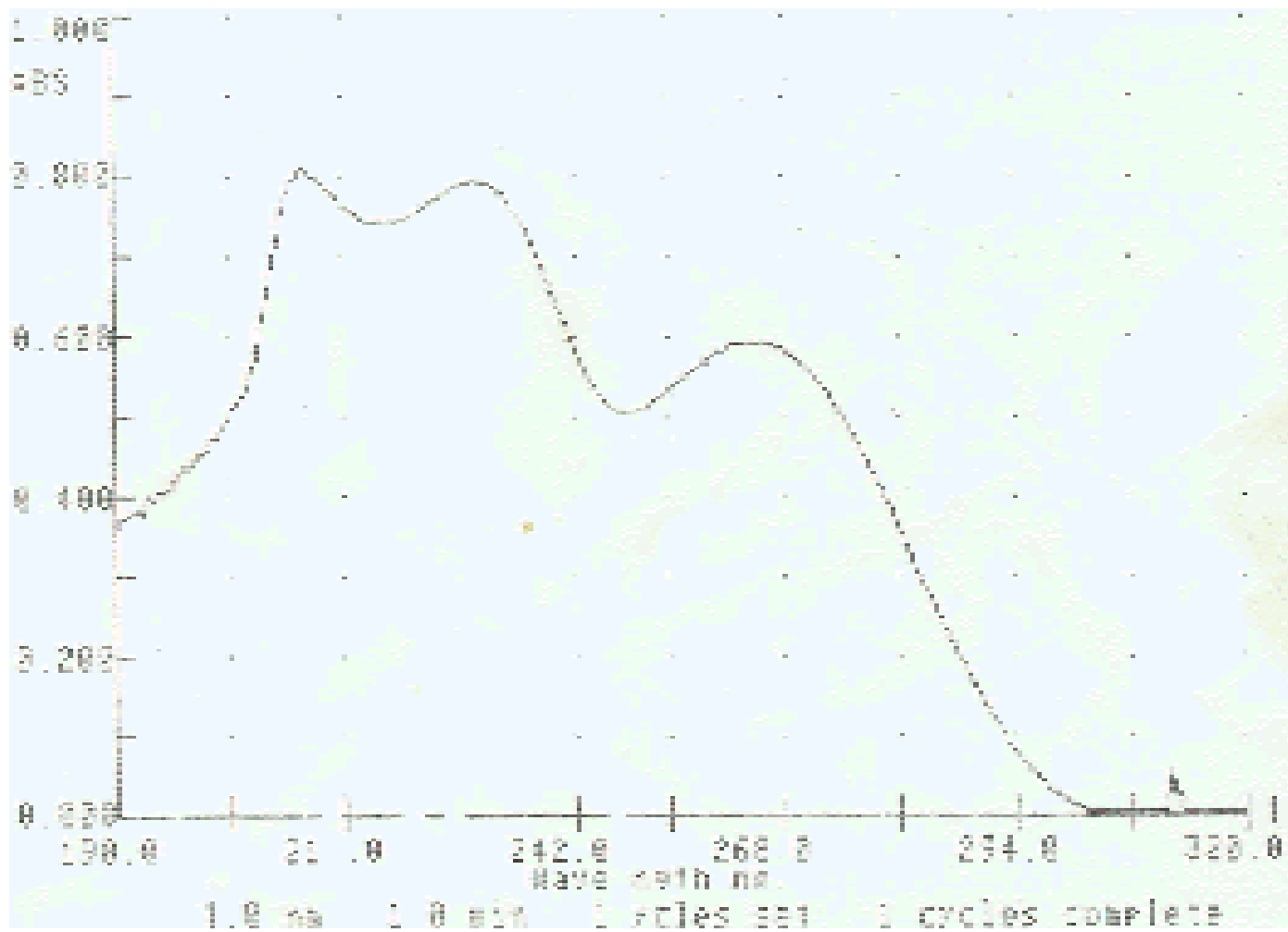


Figura 37. Espectro de absorción experimental del nitrato de tiamina a 25 ppm

6.1.3 β -caroteno. El β -caroteno es un precursor de la vitamina A y el compuesto que proporciona el color anaranjado a las zanahorias, posee once enlaces dobles conjugados (ver figura 38) perteneciendo por ello al grupo de los polienos, los cuales absorben luz en la región visible del espectro [25]. El espectro experimental (ver figura 39) presenta una banda ancha con tres máximos de absorbancia a las longitudes de onda de 425 nm, 451 nm y 482 nm ubicadas dentro de la región visible

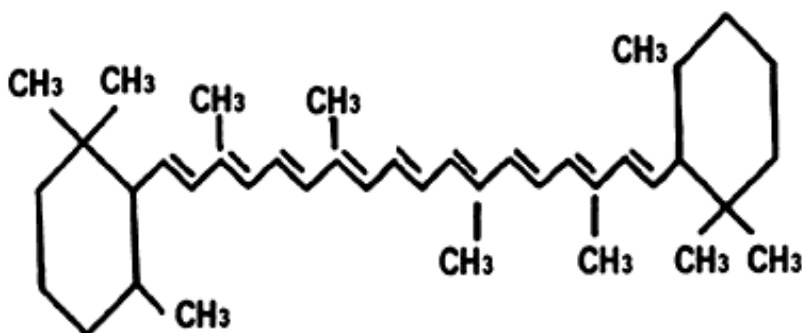


Figura 38. Estructura molecular del β -caroteno

Finalmente, se confrontó el espectro experimental del β -caroteno con la referencia teórica (ver figura 40) observándose una afinidad en la curva obtenida, así como en sus lecturas registradas. Ver archivo de texto adquirido en el PC (página 109).

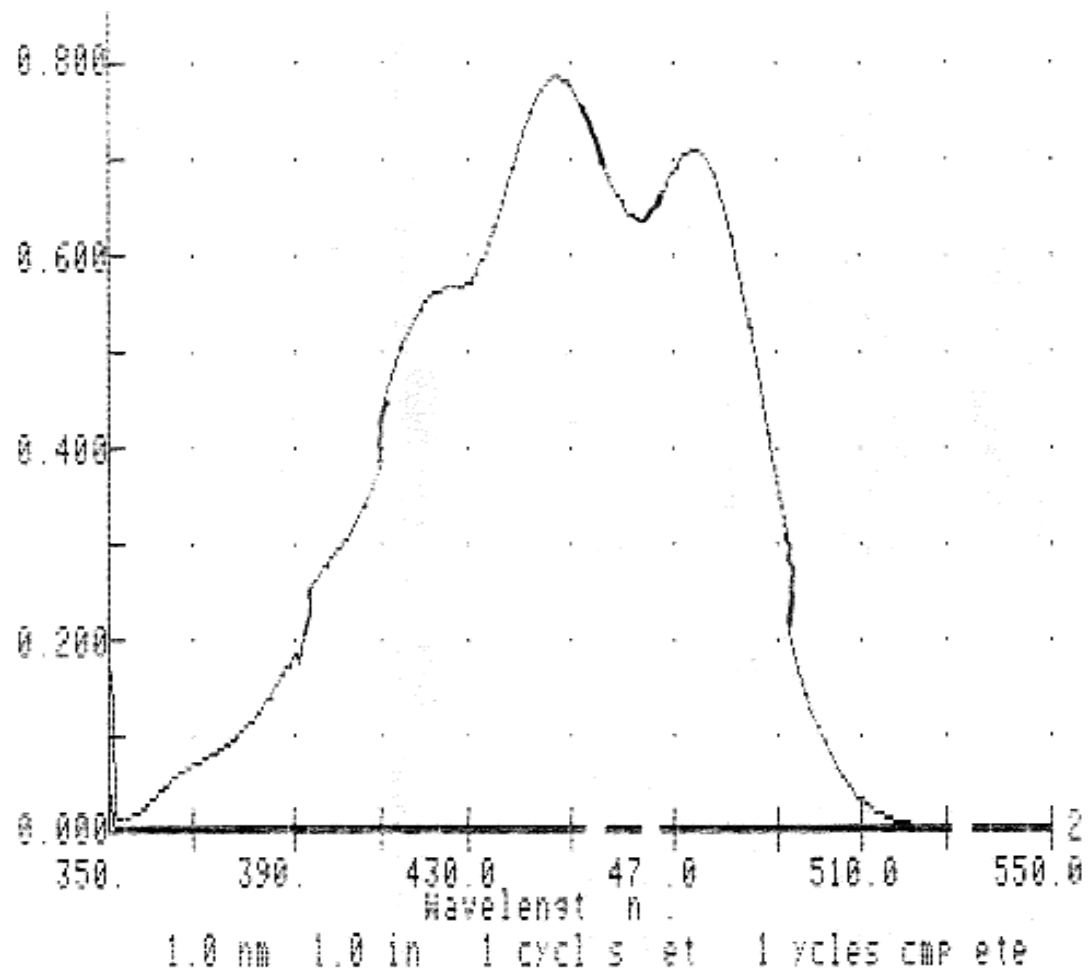


Figura 39. Espectro de absorción experimental del β -caroteno en zanahoria

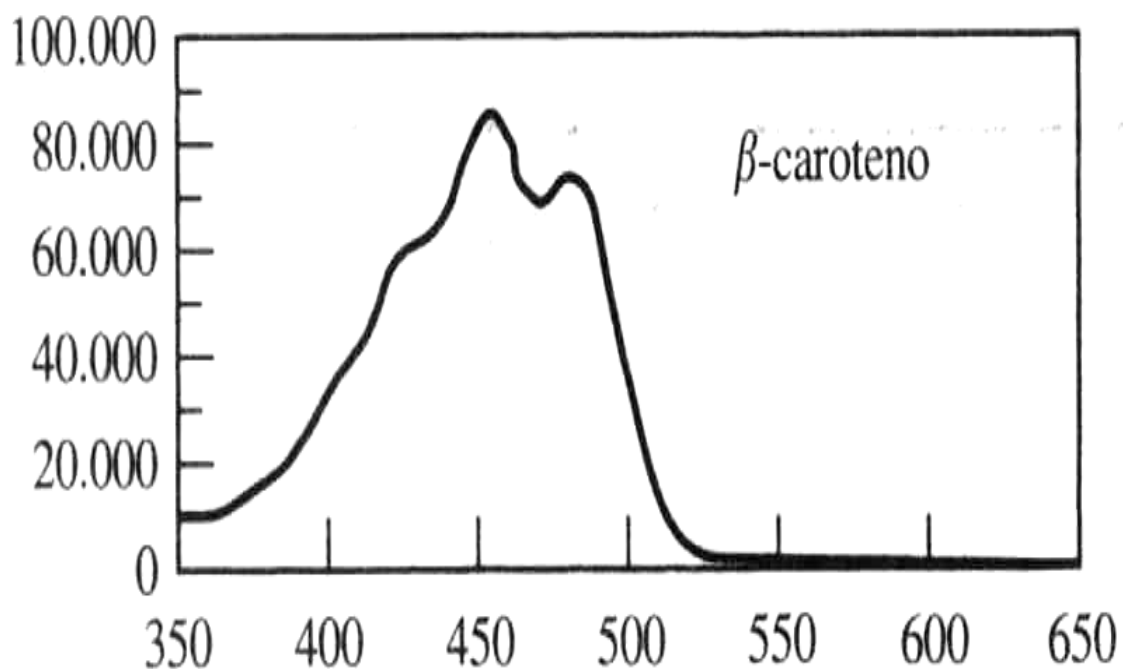


Figura 40. Espectro de absorción del β -caroteno referenciado en la teoría

ARCHIVO DE TEXTO ADQUIRIDO EN EL PC
 PICOS DE ABSORBANCIA MÁXIMA CON SU RESPECTIVA LONGITUD DE
 ONDA DEL β -CAROTENO

Operator/Date:

Trace: 1

Absorbance mode

Ord Min -0.000

Upper Wl 550.0 nm.

3 Peak(s) detected

Peak at wavelength 421.6 nm. of value 0.581

Peak at wavelength 449.8 nm. of value 0.793

Peak at wavelength 474.5 nm. of value 0.713

Sample Type:

Bandwidth 1.0 nm.

Ord Max 1.000

Lower Wl 350.0 nm.

Time Constant 0.3 sec

Scan Speed 50.0 nm/min.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Se recuperó y calibró el Espectrofotómetro DMS 100; sus diferentes partes fueron revisadas, diagnosticadas y arregladas permitiendo un buen funcionamiento, lo cual se evidenció en el monitoreo en las lecturas de muestras tales como: Nitrato de Tiamina, Filtro de Oxido de Holmio, entre otras sustancias.

- Se realizó la adquisición de datos a través del puerto paralelo del PC; se captura la información de los picos de mayor absorbancia (en su defecto, transmitancia) con sus respectivas longitudes de onda. Para ello se efectuaron barridos en distintas muestras verificando con sus pertinentes referencias teóricas para dar una mayor validez, además de tener en cuenta que dichas lecturas quedan en un archivo informático, permitiendo al usuario el acceso posterior para su análisis.

- El adecuado funcionamiento del espectrofotómetro DMS 100 contribuyó a que el Laboratorio de Aguas Residuales prestara nuevamente sus servicios a la institución como a la comunidad en general. Es de resaltar, que estudiantes y docentes retomaron sus prácticas usuales en el equipo, obteniendo los resultados esperados en sus muestras de análisis.

- El desarrollo de este trabajo permitió que el laboratorio de Aguas Residuales considerara el emplear personal calificado para la revisión y mantenimiento de equipos especializados, ya que al no tener esta precaución el laboratorio se hubiera evitado la compra de una nueva lámpara de deuterio, teniendo en cuenta que esta no era la causa del ineficiente funcionamiento del equipo, según los procedimientos de adecuación que se realizaron en el espectrofotómetro.

- La elaboración de este trabajo contribuyó al fortalecimiento ingenieril aportando a las estudiantes un refuerzo en las áreas teórico-prácticas, enfrentándose a problemas reales y propios del entorno laboral de un Ingeniero Físico.

- Se recomienda como continuación de este trabajo, implementar una base de datos donde la muestra a analizar se relacione con esta y el software sea capaz de inferir el resultado de la muestra, para ello se requiere la colaboración permanente de un químico analítico, ya que la envergadura de esta propuesta es tal, que puede conllevar a la formulación de un nuevo trabajo de grado de carácter interdisciplinario.

- Se sugiere realizar periódicamente la calibración del espectrofotómetro DMS 100 por los laboratoristas. Similarmente, el mantenimiento del equipo debe realizarse en un tiempo no mayor a seis meses por personal calificado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Disponible en internet: De La Torre, Florencio

<http://www.udg.es/deqata/fonaments-quimics/espectro-apt.es.pdf>.

[2] MOMPIN P, José. Transductores y Medidores Electrónicos. Editorial Bserrano, 1983.

[3] OLSEN D, Eugene. Métodos ópticos de análisis, edición en español. Editorial Reverté S.A. Barcelona. 1986.

[4] Disponible en internet: <http://www.photometrics.net/techniq.html>.

[5] Disponible en internet:

http://www.biol.unlp.edu.ar/toxicologia/seminarios/parte_1/monoxido_carbono.html.

[6] SKOOG Douglas et al. Principios de Análisis Instrumental. Quinta edición. Editorial McGraw-Hill. Madrid. 2001.

[7] Disponible en internet:

<http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/17143/lecciones/cap04/04.html>.

[8] WILARD. Hobart. et al. Métodos Instrumentales de Análisis. Grupo Editorial Iberoamericana. México. 1991.

[9] SKOOG. Douglas et al. Química Analítica. Séptima edición. Editorial McGraw-Hill. México. 2001.

[10] Service Manual DMS-100 UV-Visible Spectrophotometer. Intralab S.A. Enero. 1984.

[11] NORTON, Peter. Toda la PC. Quinta edición. Editorial Prentice Hall Hispanoamericana S.A. México. 1994.

[12] Disponible en internet: http://www.zator.com/Hardware/H2_5_2.htm

[13] Disponible en internet: <http://www.pablin.com.ar/electron/info/varios/spp.htm>

[14] Revista Sistemas Electrónicos. Artículo “El puerto centronics del PC”. p. 69 – 71. 1999.

[15] Disponible en internet: El puerto paralelo de la PC por Virgilio Gómez Negrete. <http://www.modelo.edu.mx/univ/virtech/circuito/paralelo.htm>

[16] Disponible en internet: www.nullmodem.com/centronics.htm,
www.nullmodem.com/DB-25.htm

[17] THE FX -286 Printers. Techniques Manual. Appendix E "The parallel interface". 1988.

[18] Revista Electrónica y Computadores. CEKIT. Artículo "Adquisición de datos a través del puerto paralelo bidireccional" por Guillermo Ramos R. p. 9 – 14. 2000.

[19] Operation Manual DMS-100 UV-Visible Spectrophotometer. Intralab S.A. Diciembre. 1982.

[20] Disponible en internet: Interfase Paralelo Centronics.
http://www.uantof.cl/facultades/csbasicas/fisica/fisica%20actual/fisica/ACADEMICOS/jkasaneva/capitulo_4.htm

[21] Disponible en internet:
<http://www.monografias.com/trabajos/vitaminas/vitaminas.shtml>

[22] HARRIS, Daniel C. Análisis Químico Cuantitativo. Grupo editorial Iberoamericana. Tercera edición. México. 1992. p. 151, 239.

[23] DEAN, John A. Manual de Química. Tomo IV. Decimatercera edición. Editorial McGraw-Hill. 1989.

[24] Revista Journal of Chemical Education. Artículo "UV-visible first derivate spectrophotometry applied to an analysis of a vitamin mixture". Aberasturi F. et al. Vol 78. Nº 6. Junio. 2001. p. 793-795.

[25] SOLOMONS GRAHAM, T.W. Química Orgánica. Segunda edición. Editorial Limusa Wiley. 2003.

ANEXO A

MANUAL DE OPERACIÓN Y MANTENIMIENTO DEL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100

ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100

MANUAL DE OPERACIÓN Y MANTENIMIENTO

Laboratorio de Aguas Residuales, Departamento de Química
Ingeniería Física
Universidad del Cauca

Realizado por:
Karina Paulova Realpe Rebolledo
Narli Ximena Ríos Burbano
Ingenieras Físicas

OBJETIVO

En este manual se describen las características, mantenimiento general, calibración y precauciones necesarias para el buen funcionamiento y preservación del espectrofotómetro DMS 100.

ALCANCE

Aplica para el espectrofotómetro DMS 100 del laboratorio de aguas residuales de la Universidad del Cauca.

DEFINICIONES

Espectrofotómetro DMS 100. Instrumento que sirve para determinar la absorbancia (o transmitancia) en función de la longitud de onda, de sustancias químicas que absorban en el ultravioleta-visible.

Monitor de video. Pantalla donde se observa el barrido del espectro de absorción (o transmisión), de la sustancia en estudio.

Impresora. Dispositivo de lectura del espectrofotómetro DMS 100 para registrar los datos obtenidos.

Computador. Dispositivo de lectura adaptado al espectrofotómetro DMS 100 en el trabajo de pasantía, para agilizar la toma de datos.

CONTENIDO

Capítulo 1. Partes del Espectrofotómetro DMS 100

Capítulo 2. Características del Espectrofotómetro DMS 100

Capítulo 3. Condiciones Ambientales del Espectrofotómetro DMS 100

Capítulo 4. Mantenimiento y Calibración del Espectrofotómetro DMS 100

Capítulo 5. Uso de la Adquisición de Datos en el PC

Capítulo 6. Interfaz Física del PC con el Espectrofotómetro DMS 100

Capítulo 7. Recomendaciones de Uso



Figura 1. Vista frontal del Espectrofotómetro DMS 100

PARTES ELECTRÓNICAS PRINCIPALES

Fuente de Alimentación	Con fusibles de protección. 100, 120, 220, 240 voltios AC.
Tarjetas de Potencia	Ingresa voltajes rectificadas 10 y 17 voltios, voltajes no rectificadas 4, 11, 110 y 210.
Tarjetas de Control	LEDs en encendido para indicar buen funcionamiento del equipo.
Tarjeta de Interfase	Con salida IEEE.
Tarjeta de indicadores	Sistema de displays.
Tarjeta del sensor de longitud de onda	LEDs en encendido para indicar buen funcionamiento del sensor de longitud de onda.

PARTES ÓPTICAS PRINCIPALES

Fuente de luz ultravioleta	Arco de deuterio.
Fuente de luz visible	Cuarzo halógeno.
Cambio de la fuente	Automático. Inicializada en encendido a 350 nm.
Monocromador	Tipo rejilla.
Chopper	Espejo que rota manejado por un motor
Fotomultiplicador	Tipo R446 con salida a control electrónico integral.

PARTES MECÁNICAS

Motores de los choppers
Ventiladores

PARTES DEL MONTAJE GENERAL DEL ESPECTROFOTÓMETRO

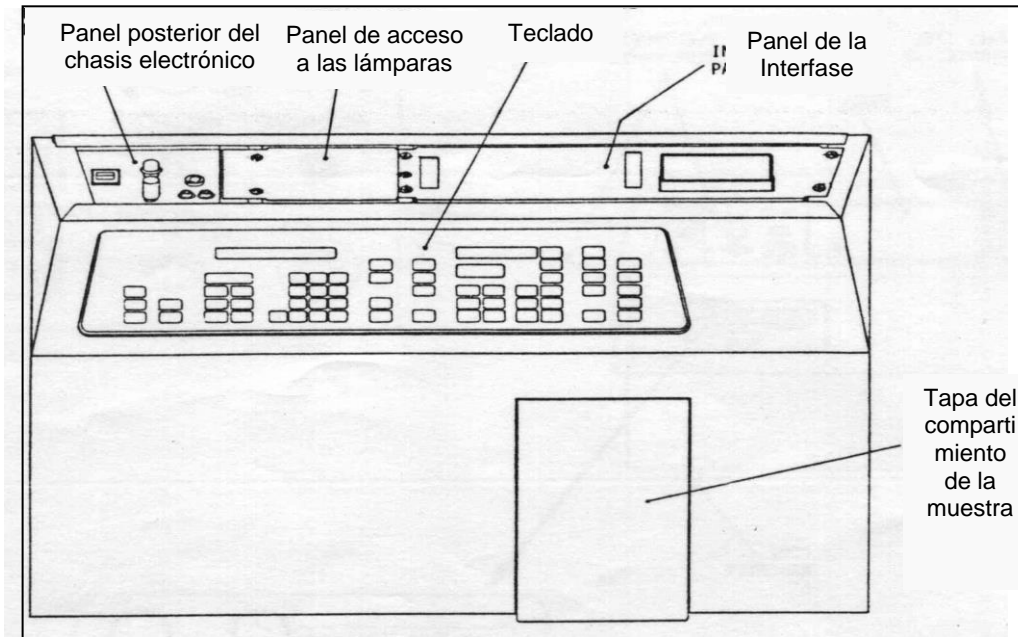


Figura 2. Vista plana del espectrofotómetro

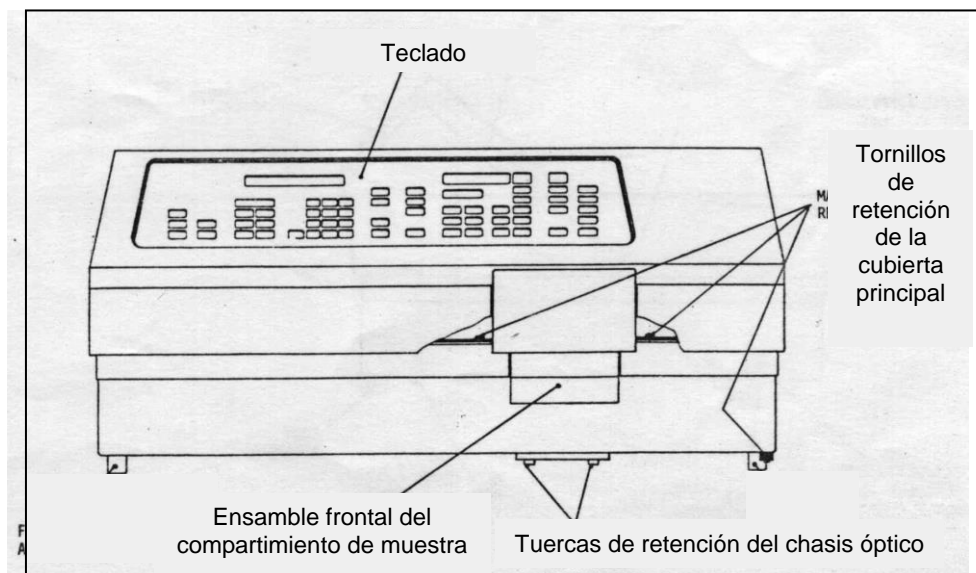


Figura 3. Vista frontal del espectrofotómetro

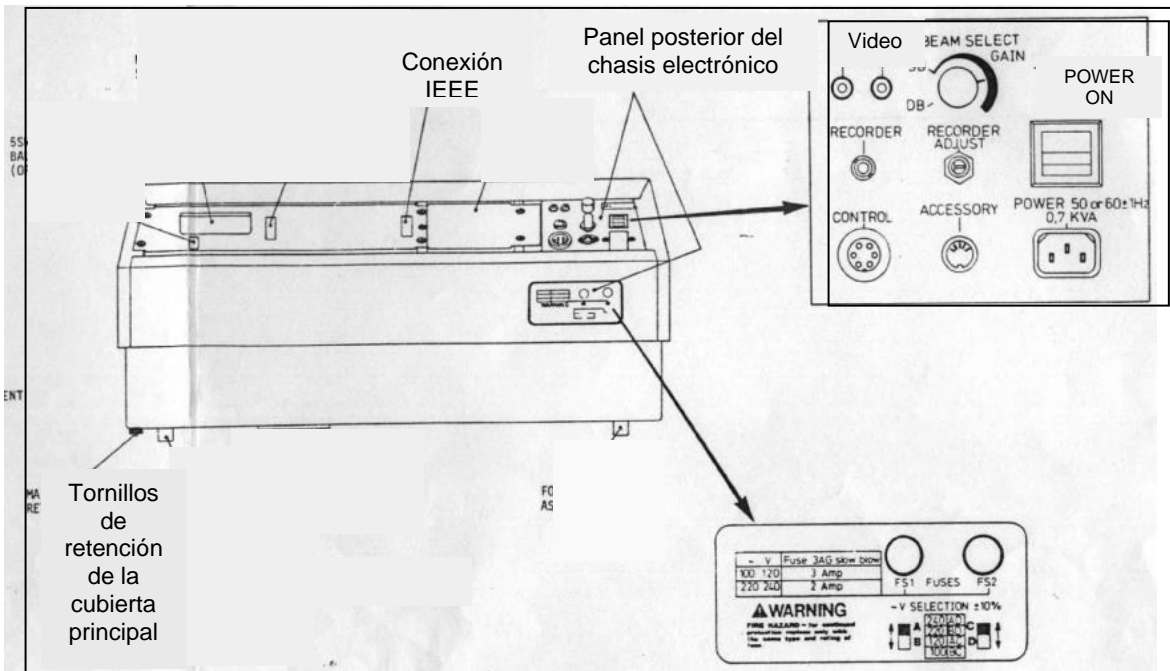


Figura 4. Vista posterior del espectrofotómetro

CIRCUITOS DEL ESPECTROFOTOMETRO DMS 100

Figura 5. Esquema del circuito del Espectrofotómetro DMS 100

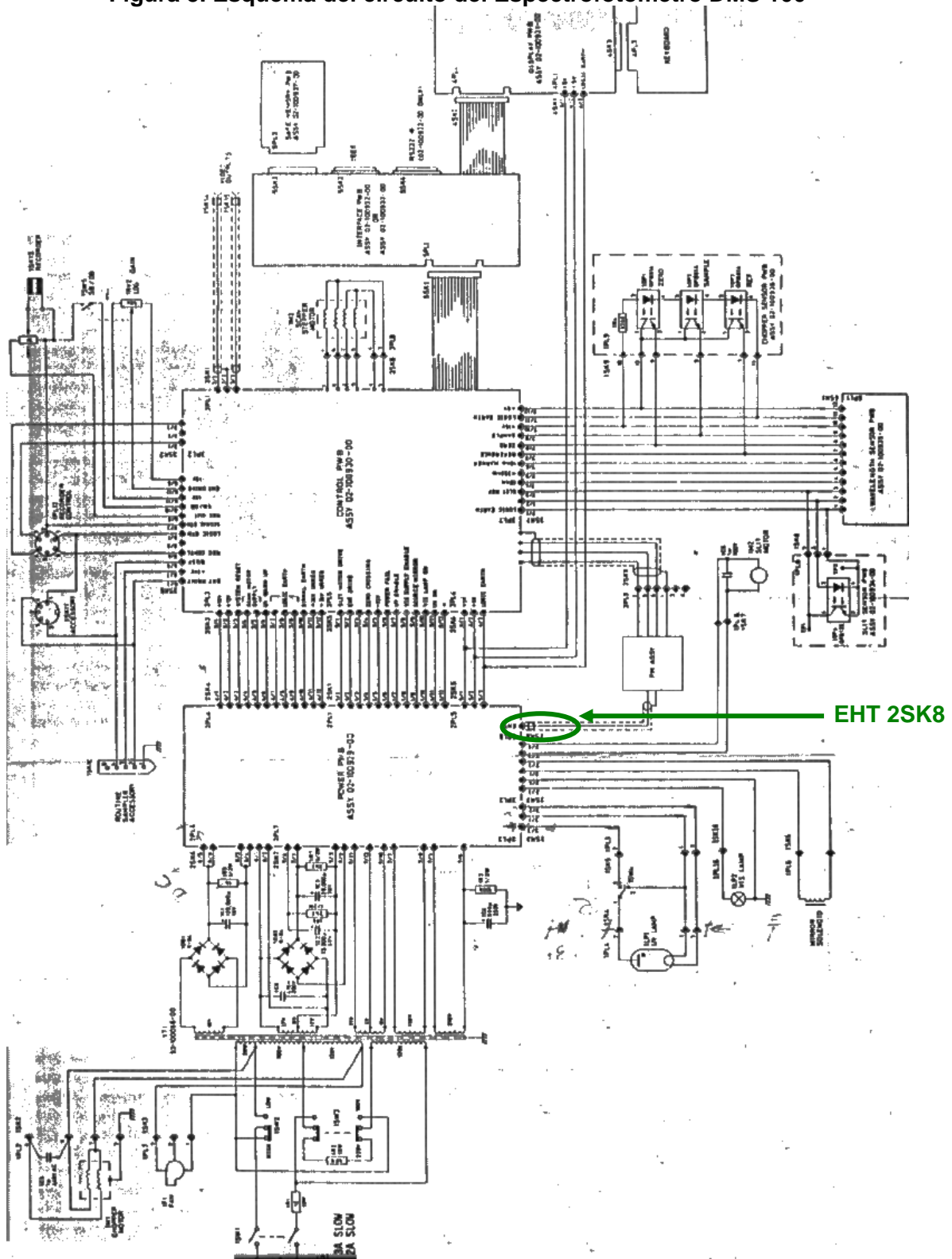


Figura 6. Distribución de elementos en el circuito impreso de la tarjeta de potencia

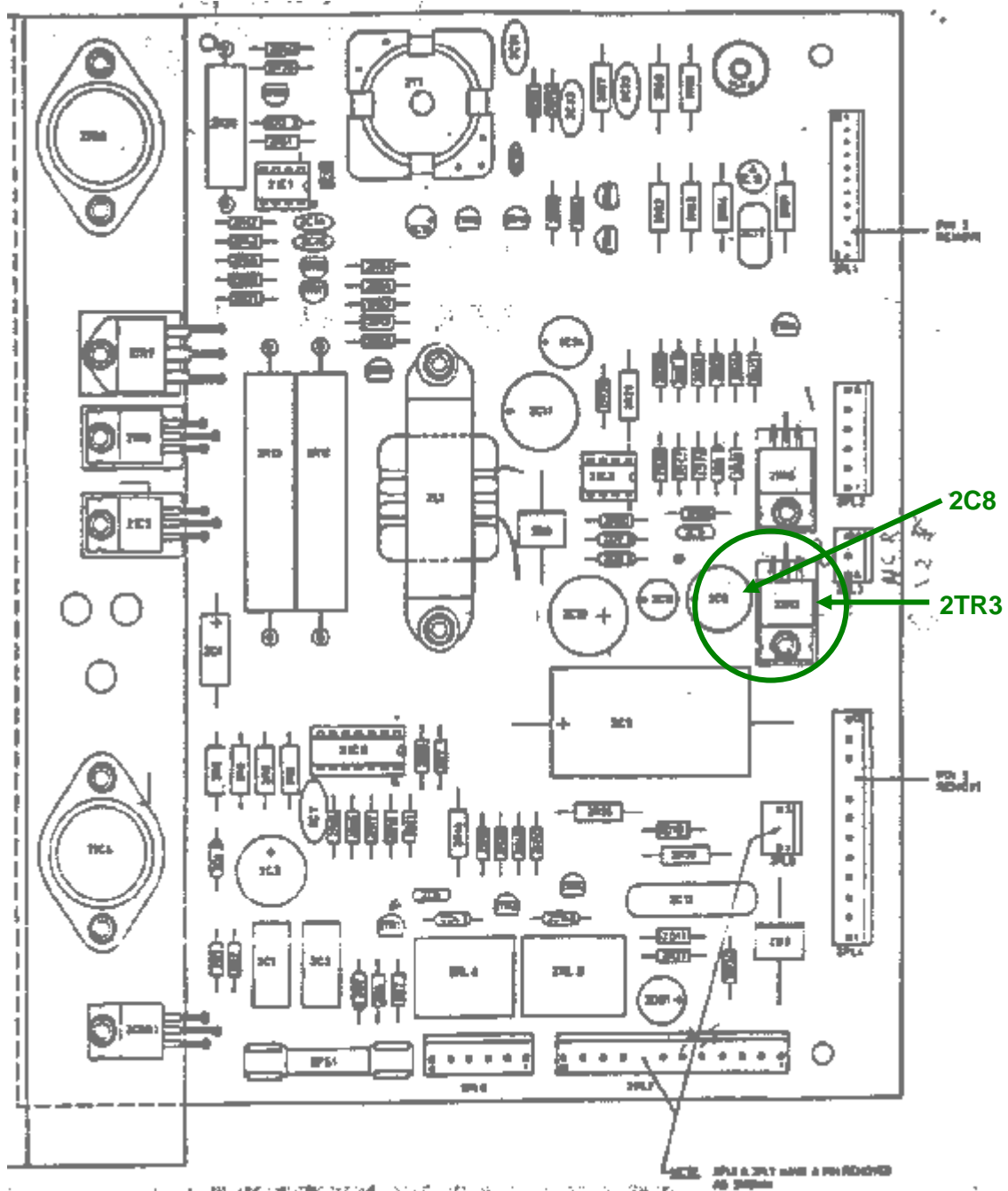
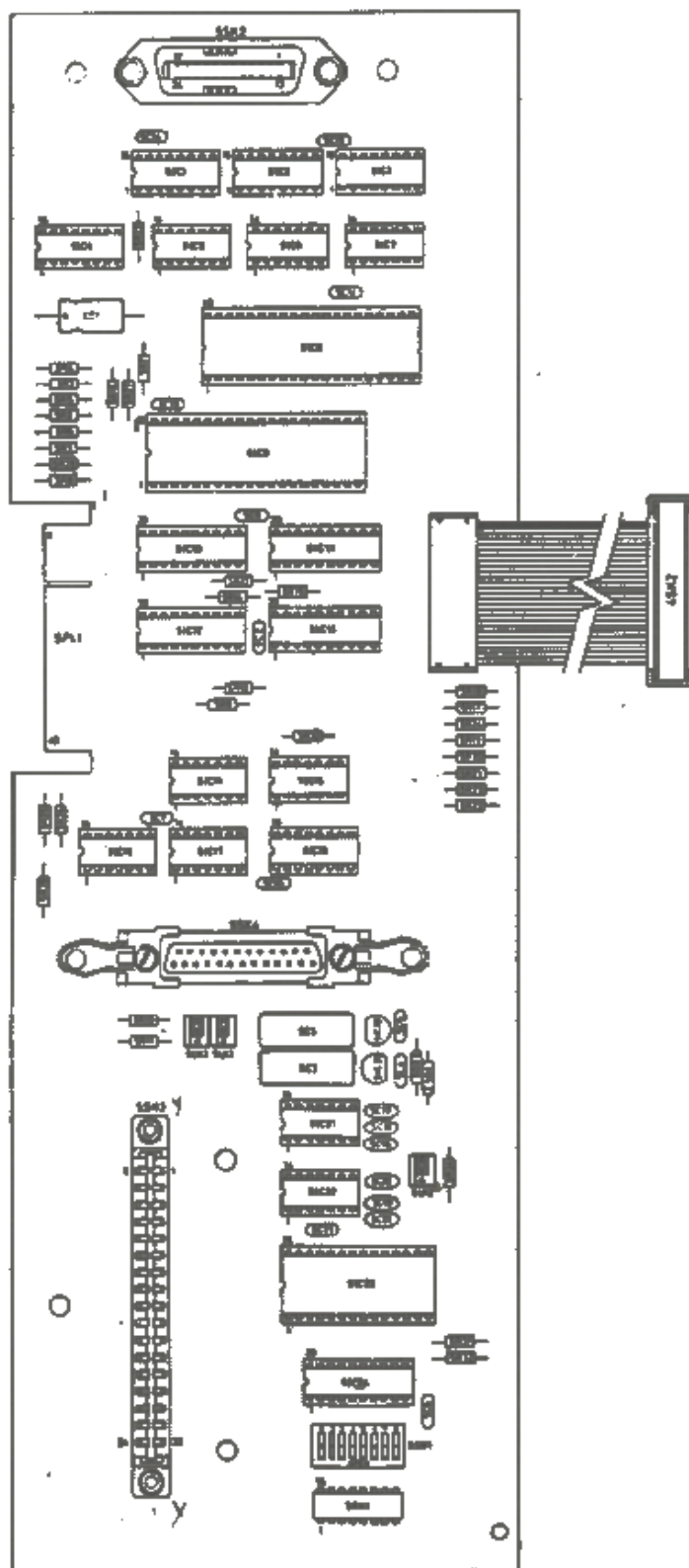


Figura 8. Distribución de elementos en el circuito impreso de la tarjeta de interfase



DESCRIPCION DE LA PARTE ELECTRÓNICA

La parte electrónica consta de tres tarjetas básicas: la de potencia, la de control y la de interfase o adquisición de datos. Estas se encargan netamente del funcionamiento general del espectrofotómetro.

El equipo es alimentado por una fuente alterna a la cual se le aplican 110 V o 220 V AC. Esta fuente cuenta con un sistema de protección que consta de dos fusibles, a estos le siguen tres interruptores para cada una de las líneas las cuales envían los voltajes AC: 200 V, 100 V y 120 V al transformador, el cual convierte dichos voltajes en su primario a DC. En la parte del secundario del transformador los voltajes DC: 10 V y 17 V son rectificadas a través de un puente de diodos. Los voltajes 11 V, 4 V, 110 V y 210 V, no son rectificadas; todos estos voltajes entran a la tarjeta de potencia.

Tarjeta de Potencia. Se encarga de regular y suministrar el voltaje requerido a los diferentes dispositivos electrónicos y mecánicos, es decir, toma los voltajes ajustándolos a las diferentes necesidades y frecuencias de estos circuitos. Esta tarjeta se compone de varias etapas que toman los diferentes voltajes a partir del transformador que se encuentra ubicado en la fuente de alimentación.

Tarjeta de Control. Esta tarjeta se compone en su mayoría de circuitos integrados o chips (memorias, integrados lineales y circuitos lógicos) y de algunos elementos pasivos.

Tarjeta de Interfase. Esta tarjeta esta compuesta por circuitos integrados de tipo TTL, operacionales y memorias (de escritura), además de constar de pocos elementos pasivos.

CAPÍTULO 2	CARACTERÍSTICAS DEL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100
-------------------	--

CARACTERÍSTICAS ELECTRÓNICAS

Voltaje	100, 120, 220, 240 voltios AC
Frecuencia	50 o 60 Hz
Tolerancia de voltaje	± 10 %
Tolerancia de Frecuencia	± 1 Hz

CARACTERÍSTICAS ÓPTICAS

Ancho de banda Espectral	Variable de 0,2 nm a 4 nm en pasos de 0,1 nm.
Lectura de Longitud de Onda	LED indicador de cuatro dígitos a 0,1 nm.
Rango de Longitud de Onda	190 nm a 900 nm.
Exactitud de Longitud de Onda	Mejor que ± 0.5 nm.
Velocidad de barrido de la Longitud de Onda	10, 20, 50, 100, 400 nm/minuto.
Lectura fotométrica	Indicador de 4 dígitos, para absorbancia, %T transmitancia, concentración, primera y segunda derivada, logaritmo de absorbancia, energía, cero automático.
Rango fotométrico	- 0,3 Abs. a + 3,5 Abs., 0 a 200 %T, concentración a 999.
Exactitud Fotométrica:	Entre ± 0,005 a 1 Abs.

CAPÍTULO 3	CONDICIONES AMBIENTALES DEL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100
-------------------	--

- Temperatura para funcionamiento 10°C a 40°C
- Temperatura para almacenamiento 5°C a 45°C
- Humedad para funcionamiento 20% a 95% Relativa
- Humedad para almacenamiento Menos de 80% Relativa

4.1 Reemplazo de las Lámparas UV y Visible

4.1.1 Reemplazo de la Lámpara UV

1. Apague el instrumento, y quite el cable de suministro de potencia.
2. Quite el panel posterior para acceder a las lámparas (4 tornillos).
3. Desconecte el cable de potencia de la lámpara ultravioleta.
4. Quite el tornillo retenedor de la pieza de fijación, y note el arreglo del collar blanco.
5. Quite el collar blanco, tome la lámpara UV por su base y levántela fuera del instrumento.
6. Limpie la lámpara nueva con alcohol etílico y un pañuelo óptico.
7. Con la ventana de la lámpara de frente hacia el espejo de la fuente, baje la lámpara hasta su posición final. Deslice en el collar blanco, coloque la pieza de fijación, asegúrelas con un tornillo, e inserte el otro tornillo de retención. Antes de apretar los tornillos, asegúrese que la abrazadera agarrará la base plástica de la lámpara y NO la envoltura de vidrio.
8. Apriete los tornillos hasta que la lámpara este bien segura pero que todavía pueda moverse para la alineación. Verifique que el microswitch es activado por la pieza de fijación.
9. Conecte el cable de potencia de la lámpara UV
10. Conecte el cable de suministro de potencia y encienda el instrumento.
11. Explore debajo de 350 nm, o hasta que la fuente UV sea seleccionada automáticamente.
12. Fije la abertura a 4 nm
13. Seleccione haz simple y % T.
14. Gire el control de ganancia hasta registrar un valor fotométrico aproximadamente de 50 % T.
15. El objetivo es ajustar la posición de la lámpara para una señal máxima. Cuidadosamente mueva la lámpara UV verticalmente y gire despacio para obtener una lectura máxima. Si la lectura esta por encima del rango, ajuste el control de ganancia para devolver la lectura al rango. Repita este procedimiento hasta obtener una señal máxima.

16. Apriete cada uno de los tornillos medio giro alternadamente hasta que la lámpara UV este firmemente asegurada.
17. Seleccione haz doble y verifique que el valor fotométrico al cambiar la posición de la fuente, no difiere por más de 0,5% T para las lámparas de fuente UV y VISIBLE. Si esta especificación no puede reunirse por el ajuste de la lámpara, la alineación del espejo fuente es sospechosa y debe verificarse por un ingeniero de servicio.

4.1.2 Reemplazo de la Lámpara VISIBLE

1. Apagar el equipo y desconectarlo.
2. Destapar el compartimento para tener acceso a las lámparas (cuatro tornillos).
3. Desconectar la lámpara **VISIBLE**.
4. Sacar la lámpara **VISIBLE**.
5. Limpiar cuidadosamente la lámpara nueva con alcohol etílico y una toalla óptica.
6. Sostener la lámpara por su parte terminal e introducirla correctamente en el equipo.
7. Ajustar la lámpara con los tornillos y conectarla.
8. Conectar el equipo y encenderlo.
9. Ingresar el valor 400 nm a través de las teclas numéricas, presionar **MAX λ** y **START-STOP** para que el monocromador se dirija a esta λ .
10. Usar las teclas numéricas y **SLIT** para seleccionar un slit de 4 nm.
11. Seleccionar **SINGLE BEAM** y **% T**. Ajustar la perilla hasta alcanzar una lectura de 90% T.
12. Asegurar el compartimento con los cuatro tornillos.

4.1.3 Precauciones

- La lámpara se calienta durante la operación y permanece así cerca de tres minutos después de desconectar el equipo.
- El calor es suficiente como para causar serias quemaduras.
- La lámpara **UV** opera a altos voltajes, el contacto con éste voltaje puede causar la muerte o serias quemaduras.
- Siempre apagar el equipo, desconectarlo y esperar hasta que las lámparas se enfríen antes de removerlas del compartimento.
- Nunca tocar la superficie de vidrio de las lámparas nuevas porque reduce su eficiencia. Siempre sostenerlas por la base.
- Siempre apagar el equipo, desconectarlo y esperar hasta que las lámparas se enfríen antes de removerlas del compartimento.

- Las lámparas **UV** emiten radiaciones ultravioleta peligrosas que pueden causar serios daños en los ojos. Siempre usar gafas protectoras cuando se reemplazan éstas lámparas.

4.2 Condiciones y mantenimiento de las celdas de muestreo

- El material de las celdas (o cubetas) del Espectrofotómetro DMS 100 deben ser de sílice fundida o cuarzo, ya que son transparentes en el rango UV-visible
- Las celdas (o cubetas) del Espectrofotómetro DMS 100 deben ser de un centímetro (1 cm) de espesor.
- Para obtener buenos datos de absorbancia, las celdas deben manejarse por pares idénticos.
- Las celdas deben limpiarse minuciosamente antes y después de ser utilizadas, para ello se puede emplear ácido nítrico o agua regia (Ácido Nítrico-Ácido Clorhídrico en relación 1:3).
- Después de su limpieza deben enjuagarse completamente y secarse evitando el uso de estufas de secado o de flama, ya que puede existir variación en el espesor de las mismas.
- Las caras de las celdas nunca deben tocarse con los dedos cuando se manejan ya que las huellas digitales, los residuos de grasa y la pelusa pueden provocar cambios notables en la transmitancia de la celda.

4.3 Pruebas de Calibración

4.3.1 Prueba para calibrar la longitud de onda

Método A: Filtro de Óxido de Holmio

1. Encender la impresora ó el PC.
2. Encender el espectrofotómetro y esperar hasta que se complete la rutina de calibración.
3. Asegurarse de haber seleccionado el modo de doble haz (al encender **DB** el indicador **SB** se apagará).
4. Seleccionar el modo de lectura Absorbancia.
5. Ingresar el valor 0.5 a través de las teclas numéricas y presionar **SLIT**.

6. Asegurarse que el compartimiento de la muestra este vacío, presionar la tecla **ZERO** y notar que en la lectura digital aparece 0.000 Absorbancia.
7. Ubicar el filtro de óxido de holmio en el compartimiento de la muestra.
8. Ingresar el valor de 750 a través de las teclas numéricas y presionar **MAX λ** . Ingresar el valor de 275 a través de las teclas numéricas y presionar **MIN λ** .
9. Ingresar el valor de 3.0 a través de las teclas numéricas y presionar **ORD MAX**. Ingresar el valor de 0.0 a través de las teclas numéricas y presionar **ORD MIN**.
10. Seleccionar una velocidad de barrido de 20 nm por minuto.
11. Seleccionar el modo **SCAN**.
12. Presionar **START-STOP**. El monocromador se dirige a la mayor λ (750 nm) y luego empieza el barrido hasta llegar a la menor λ . El espectro del filtro de óxido de holmio aparecerá en la pantalla.

Durante el barrido, los picos aparecerán en las siguientes λ :

637.5
536.4
453.4
418.5
360.8
287.6
279.3

Las λ registradas en la lectura digital no deben diferir por más de 1.0 nm de los valores que aparecen en la lista anterior. Observar el espectro en la pantalla y presionar **PLOT** si se desea imprimir ó para enviar al archivo del PC.

Método B: Lámpara de Deuterio

1. Encender el espectrofotómetro y esperar hasta que se complete la rutina de calibración.
2. Encender la lámpara UV.
3. Ingresar el valor 670 a través de las teclas numéricas y presionar **SOURCE CHANGE** para asegurar que la lámpara UV sea usada durante la calibración en las λ seleccionadas.
4. Seleccionar **SINGLE BEAM** (la luz del indicador **SB** se enciende).
5. Seleccionar el modo de lectura % T.
6. Ingresar el valor 0.2 a través de las teclas numéricas y presionar **SLIT**.

7. Asegurarse que el compartimento de la muestra este vacío.
8. El objetivo es programar el instrumento para realizar un barrido sencillo en la primera λ (656.1 nm). Proceder de la siguiente manera:
 - Ingresar el valor 660 a través de las teclas numéricas y presionar **MAX λ** .
 - Ingresar el valor 635 a través de las teclas numéricas y presionar **MIN λ** .
 - Presionar **START-STOP**. El monocromador se dirige a la mayor λ y se estabiliza en éste punto.
 - Ajustar el control **GAIN** para que la lectura digital sea aproximadamente 2% T.
 - Seleccionar una velocidad de barrido de 10 nm por minuto.
 - Seleccionar el modo **SCAN**.
 - Presionar **START-STOP**. El monocromador realiza el barrido desplazándose hacia la menor λ a una velocidad de 10 nm por minuto. Se espera un pico agudo a 656.1 nm. El objetivo es observar la λ exacta donde aparece el pico. Detener el instrumento inmediatamente el pico aparece (presionar **START-STOP**) y observar el valor de la λ que se registra en la pantalla, no debe diferir de 656.1 por más de 0.5 nm.
9. El objetivo es programar el instrumento para realizar un barrido sencillo en la segunda λ (486.0 nm). Proceder de la siguiente manera:
 - Ingresar el valor 490 a través de las teclas numéricas y presionar **MAX λ** .
 - Ingresar el valor 465 a través de las teclas numéricas y presionar **MIN λ** .
 - Presionar **START-STOP**. El monocromador se dirige a la mayor λ y se estabiliza en éste punto.
 - Ajustar el control **GAIN** para que la lectura digital sea aproximadamente 2% T.
 - Seleccionar una velocidad de barrido de 10 nm por minuto.
 - Seleccionar el modo **SCAN**.
 - Presionar **START-STOP**. El monocromador realiza el barrido desplazándose hacia la menor λ a una velocidad de 10 nm por minuto. Se espera un pico agudo a 486.0 nm. El objetivo es observar la λ exacta donde aparece el pico. Detener el instrumento inmediatamente el pico aparece (presionar **START-STOP**) y observar el valor de la λ que se registra en la pantalla, no debe diferir de 486.0 por más de 0.5 nm.
 - Presionar el modo **SCAN** para salir.

10. Repetir los pasos 8 y 9 y notar la lectura exacta de las dos λ . Comparar éstas lecturas con los resultados obtenidos en la calibración original. El último grupo de lecturas no debe diferir del primero por más de 0.25 nm.

4.3.2 Prueba para la exactitud fotométrica

Método C: Solución de Dicromato

1. Disolver 3.3 g de hidróxido de potasio grado AR en 1 L de agua destilada. Esta es una solución 0.05 M.
2. Disolver 20.0 mg de dicromato de potasio grado AR en 500 mL de la solución de hidróxido de potasio 0.05 M.
3. Encender el espectrofotómetro y esperar hasta que la rutina de calibración se complete.
4. Asegurarse de haber seleccionado el modo de doble haz (al encender **DB** el indicador **SB** se apagará).
5. El indicador **MULTI λ** , modo **SCAN** y modo **REPEAT** deben estar apagados.
6. Seleccionar la constante de tiempo requerido.
7. Cambiar el ancho de banda espectral a 2.0 nm como sigue:
 - Ingresar el valor requerido a través de las teclas numéricas.
 - Presionar la tecla **SLIT** para guardar éste valor en la memoria del instrumento.
8. Cambiar el valor de λ a 373.0 nm como sigue:
 - Ingresar el valor de 373 a través de las teclas numéricas.
 - Presionar la tecla **MAX λ** .
 - Presionar la tecla **START-STOP**. El monocromador se dirigirá automáticamente a esta λ .
9. Abrir el compartimiento de la muestra.
10. Tomar dos cubetas y llenarlas con hidróxido de potasio 0.05 M. Ubicar una cubeta en la celda de referencia y la otra en la celda de la muestra. Cerrar el compartimiento.
11. Presionar la tecla **ZERO** y notar que en la lectura digital aparece 0.000 Absorbancia.

12. Sacar la solución de hidróxido de potasio de la celda de la muestra e insertar la cubeta que contiene la solución estándar (dicromato de potasio en hidróxido de potasio).
13. Observar la medida de Absorbancia obtenida. La Absorbancia de la solución estándar debería estar entre $0.654 \pm 0.010 A$. Si el resultado está cercano, pero se aleja de los límites especificados, repetir el procedimiento desde el paso 1.

4.4 Mantenimiento y Calibración de los espejos

Todos los espejos, excepto la rejilla del monocromador, tiene un especial recubrimiento para reducir los efectos de contaminación y envejecimiento, estos pueden ser limpiados como se indica a continuación.

Para sacar los espejos, la cubierta principal debe ser levantada y la tapa del chasis óptico debe ser removida.

La limpieza de los espejos puede llevarse a cabo como último esfuerzo para restaurar un instrumento ineficiente a sus especificaciones pero siempre debe intentarse antes de decidirse a reemplazar los espejos.

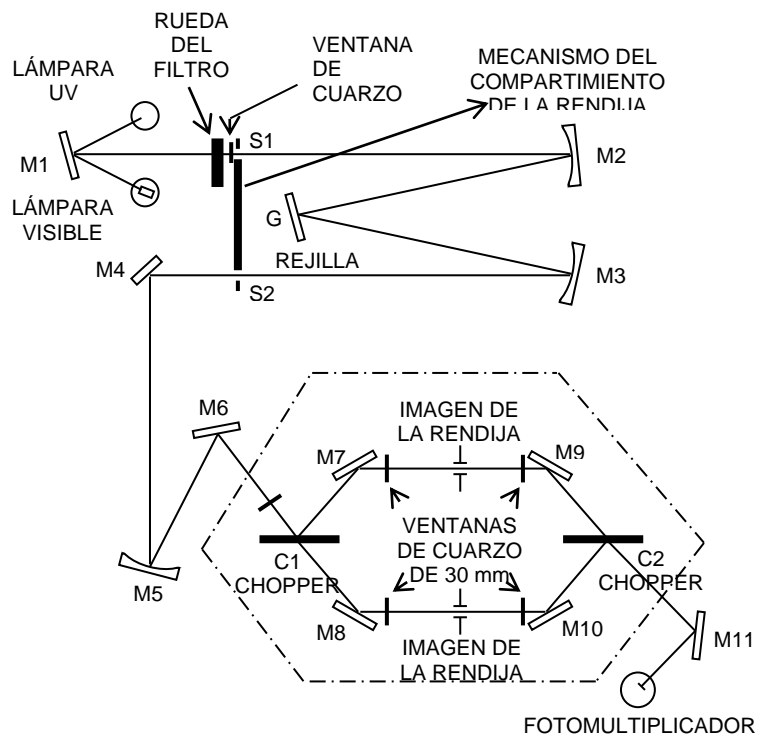


Figura 9. Arreglo óptico del espectrofotómetro

Los espejos en el área de doble rayo (ó haz) (M7, M8, M9, M10, C1 y C2) son especialmente emparejados para garantizar el balance del rayo y nunca deben reemplazarse individualmente. Estos espejos se disponen en juego de pares M7/M8, M9/M10 y C1/C2.

Antes de reemplazar los espejos, si se sospecha que persiste un problema de equilibrio en los rayos, se comprueba otra vez en el compartimiento de la muestra, retirando las ventanas y limpiándolas, ó re-organizándolas.

Si se hace necesario limpiar las superficies de los espejos

EL ÚNICO MÉTODO DE LIMPIEZA RECOMENDADO es primero lavar abundantemente y rápido con etanol, luego secar con éter-petróleo. Ambos de estos solventes pueden ser aplicados usando una botella de spray, sin necesidad de tocarlos, o limpiar la superficie del espejo con algún material. Este método de limpieza será generalmente suficiente para retirar algún tipo de contaminantes los cuales resultan debido a depósitos de la atmósfera normal.

En casos de extrema contaminación el método de lavado debe necesariamente ser seguido por un brillado suave con un pañuelo óptico, o lana de algodón la cuál es humedecida en alcohol, o éter de petróleo.

Los espejos deben ser retirados del equipo para limpiarlos, y los siguientes puntos deben seguirse.

- Siempre que un espejo es retirado del equipo, se debe tomar con mucho cuidado para evitar un daño accidental.
- Retirar un espejo a la vez.
- Para minimizar las posibles manchas de residuos del solvente, se coloca el espejo en tal posición que el solvente corra hacia una esquina de la superficie reflectante.
- Para secar puede ser logrado, colocando el espejo debajo de una lámpara incandescente potente.
- La alineación necesitará ser verificada cuando se reemplace los espejos.

4.4.1 Espejo Fuente (M1)

1). Se suelta el espejo fuente empujando el resorte delgado hacia o cerca del espejo, y luego se hala lentamente hacia el otro extremo. El espejo caerá hacia atrás, y puede ser levantado hacia fuera cuando se remueva el resorte.

2). Para reemplazar el espejo fuente, se procede de forma inversa a la forma como se quito. Verificar que el eje del espejo este arreglado antes de proceder a alinear la inclinación y se pare el pivoteado.

Ajustes generales sobre el espejo fuente:

Alineación de la inclinación del espejo fuente

Este ajuste únicamente puede ser requerido si el espejo fuente ha sido reemplazado.

- 1). Quitar el panel posterior para acceder al espejo fuente.
- 2). Prender el equipo, y seleccionar %T.
- 3). Seleccionar un haz simple, fuente VIS y ajustar a 50%T (aprox.).
- 4). Aflojar la contratuerca sobre el tornillo ajustado (localizado inmediatamente sobre el espejo fuente, en el interior del compartimiento de la lámpara).
- 5). Cuidadosamente ajustar el tornillo de inclinación para una máxima lectura de transmisión de un haz simple.
- 6). Apretar la contratuerca y verificar que la lectura no cambia significativamente del máximo.

Alineación de detención del espejo fuente

- 1). Quitar el panel posterior para acceso al espejo fuente.
- 2). Prender el equipo, y seleccionar %T.
- 3). Seleccionar un haz simple, fuente VIS y colocar a 350 nm la longitud de onda.
- 4). Ajustar el control de energía (potenciómetro) dado para 50%T (aprox.).
- 5). Girar el tornillo de detención del VIS (localizado cerca al panel posterior) a la mitad y girar en sentido contrario a las manecillas del reloj. Luego girar el tornillo en sentido de las manecillas del reloj para obtener un pico de lectura.

Si toda la escala es alcanzada, reducir el control de energía. Siempre aproxime el pico rotando el tornillo de detención en sentido de las manecillas del reloj. Si te pasas del pico, note el máximo, gire hacia atrás el tornillo y aproxímese de nuevo.

- 6). Seleccione la fuente UV y repita los pasos (4) a (6), usando el tornillo de detención de la fuente UV (más lejos ó más adelante del panel posterior).

7). Seleccione rayo doble y observe el %T con cada fuente a 350 nm. Si la diferencia es mucho mayor que 0,5%T, seleccione UV y ligeramente ajuste el tornillo de detención de la fuente UV para igualar las dos lecturas.

Si la diferencia observada es remarcada, compruebe la posición de la lámpara fuente y/o la alineación óptica.

4.4.2 Precauciones

La rejilla del monocromador no posee un recubrimiento protector. Limpiar estos componentes puede reducir su eficiencia permanentemente. Nunca intente limpiar la rejilla.

4.5 Procedimiento de reemplazo del tubo fotomultiplicador

- 1). Apague el instrumento, desconecte todos los cables del panel posterior, y levante la cubierta principal.
- 2). Quite la cubierta del chasis del sistema óptico.
- 3). Quitar el protector de la luz del fotomultiplicador teniendo cuidado para evitar distorsiones.
- 4). Cuidadosamente quite el tubo fotomultiplicador, tomándolo por la base, no por la cubierta de vidrio ya que esta es muy delgada.
- 5). Ajustar el tubo fotomultiplicador de reemplazo (tomándolo solo por la base). Antes del ajuste, la cubierta del tubo debe ser limpiada con un pañuelo óptico y alcohol etílico.
- 6). Desconecte el cable ETH (2SK8) de la tarjeta de potencia (ver figura 5).
- 7). Conecte el suministro de energía primario, encienda el instrumento, y seleccione la lámpara visible.
- 8). Fije las aberturas a 4,0 nm y la longitud de onda a 560 nm.
- 9). Observe la imagen rectangular cayendo sobre el cátodo del fotomultiplicador. Esto debe ser centrado, horizontal y verticalmente dentro del área de la ventanilla del fotomultiplicador con los ángulos de la cara de la ventanilla derechos al camino óptico. Si se requiere ajustes, afloje las tuercas de ajuste del circuito pre-amplificador y rote el montaje completamente hasta que la imagen caiga en la posición correcta.
- 10). Reemplace el protector de la luz del fotomultiplicador, asegúrese que la apertura es correctamente posicionada en la trayectoria de la luz.
- 11). Apague el instrumento, reemplace la cubierta del sistema óptico y la conexión ETH mencionada en el numeral 6.
- 12). Quite el cable de suministro de potencia, y baje la cubierta principal.
- 13). Con el compartimiento de la muestra completamente cerrado y el instrumento encendido, verifique que el instrumento esta operando satisfactoriamente.

BARRIDO SENCILLO DE ABSORBANCIA O TRANSMITANCIA

1. Al encender el equipo, asegúrese que el registrador a emplear este seleccionado y realícelo en el siguiente orden:
 - a. Si se va a utilizar el PC
 - PC
 - Espectrofotómetro UV-VISIBLE DMS 100
 - b. Si se va a utilizar la impresora
 - Impresora
 - Espectrofotómetro UV-VISIBLE DMS 100

El instrumento realizará automáticamente la rutina de calibración. Tan pronto termina la calibración, las condiciones instrumentales estándar serán automáticamente seleccionadas.

2. Asegurarse de haber seleccionado el modo de doble haz (al encender **DB** el indicador **SB** se apagará).
3. El indicador **MULTI** λ , modo **SCAN** y modo **REPEAT** deben estar apagados.
4. Seleccionar el modo de operación requerido (Abs, % T, etc).
5. Seleccionar la constante de tiempo requerido.
6. Seleccionar el ancho de banda espectral como sigue:
 - Ingresar el valor a través de las teclas numéricas, éste valor debe estar comprendido entre 0.2 y 4.0 con incrementos de 0.1.
 - Presionar la tecla **SLIT** para guardar éste valor en la memoria del instrumento.
7. Si se quiere corregir automáticamente la línea base durante el barrido, seleccionar **BASELINE CORRECT** antes de realizar el barrido.

Alternativamente si se quiere calibrar el instrumento **ZERO** en una λ particular antes de realizar el barrido, proceda de la siguiente manera:

- Ingresar el valor de la λ a través de las teclas numéricas, éste valor debe estar comprendido entre 190 - 900 nm con incrementos de 0.1 nm.
- Presionar la tecla **MAX** λ .
- Presionar la tecla **START-STOP**. El monocromador se dirigirá automáticamente a la λ seleccionada.

- Abrir el compartimento de la muestra. Tomar dos cubetas y llenarlas con las soluciones de referencia. Ubicar una cubeta en la celda de referencia y la otra en la celda de la muestra. Cerrar el compartimento.

Presionar la tecla **ZERO** y notar que la lectura digital mostrará automáticamente 0.000 Absorbancia o 100% T.

- Sacar las soluciones de referencia.

8. Programar el instrumento en el rango de λ requerido para el barrido propuesto:

- Ingresar la mayor λ a través de las teclas numéricas.
- Presionar la tecla **MAX** λ para guardar éste valor en la memoria del instrumento.
- Ingresar la menor λ a través de las teclas numéricas. Notar que el rango de barrido mínimo permitido es 25 nm. Además se debe usar una λ menor que ésta, al menos 25 nm por debajo de la λ máxima.
- Presionar la tecla **MIN** λ para guardar éste valor en la memoria del instrumento.

9. Seleccionar la velocidad de barrido presionando la tecla apropiada (10, 20, 50 o 100 nm por minuto). Si se quiere realizar un barrido preliminar en el mínimo tiempo, se puede usar una velocidad de barrido de 400 nm por minuto. Notar que ésta velocidad no debe ser usada para observaciones prácticas.

Nota: Para reducir el tiempo durante un análisis es preferible hacer un barrido rápido y práctico, pero si la velocidad es muy alta y esta acompañada de grandes cambios en las señales, se puede perder resolución, reducción a nivel de Absorbancia y posibles cambios en las λ grabadas de los picos de Absorbancia obtenidos.

Si no se está seguro de qué velocidad de barrido escoger, se puede establecer por error y ensayo. Por ejemplo: Realizar primero un barrido de 100 nm por minuto seguido por uno de 50 nm por minuto, si las trazas muestran las mismas características después del barrido de 100 nm por minuto, se puede escoger ésta velocidad de barrido como satisfactoria. Si por el contrario las diferencias son significativas, ésta velocidad de barrido es demasiado rápida y los ensayos se deben realizar a menores velocidades hasta obtener una óptima.

10. Si se desea seleccionar un valor específico para la escala fotométrica, ingresar el valor requerido a través de las teclas numéricas y presionar **ORD MAX** y **ORD MIN** para guardar éstos valores en la memoria del instrumento.

11. Presionar la tecla **SCAN**.

12. El instrumento está ahora programado para realizar un barrido sencillo en el rango de λ seleccionado.

Nota: Cuando se realiza el barrido en el rango de λ seleccionado, las lámparas deben ser automáticamente encendidas antes de iniciar la operación.

Si se desea alterar la λ en la cual se realiza el cambio automático de fuente, ingresar el valor de la λ a través de las teclas numéricas y luego presionar la tecla **SOURCE CHANGE**.

13. Colocar la cubeta que contiene la solución de referencia en la celda de referencia y la que contiene la muestra en la celda de la muestra.

14. Presionar la tecla **START-STOP**. El monocromador se dirigirá automáticamente a la mayor λ seleccionada.

El instrumento luego iniciará el barrido desde la mayor λ seleccionada hasta la menor, luego se detiene y regresa a la mayor λ donde se estabiliza.

Finalmente el espectro resultante aparece en la pantalla.

15. Para obtener los datos de los picos característicos de absorbancia o transmitancia en el PC abra el archivo ejecutable que aparece en el escritorio del PC: "ADQUISICIÓN DE DATOS", siga las instrucciones que aparecen en este archivo y obtendrá los datos, luego podrá acceder a ellos cuantas veces sea necesario, siguiendo la siguiente ruta:

- Mi PC/C/TC/bin/**archivo** (creado por el usuario)

El archivo tendrá el nombre que el usuario haya escogido.

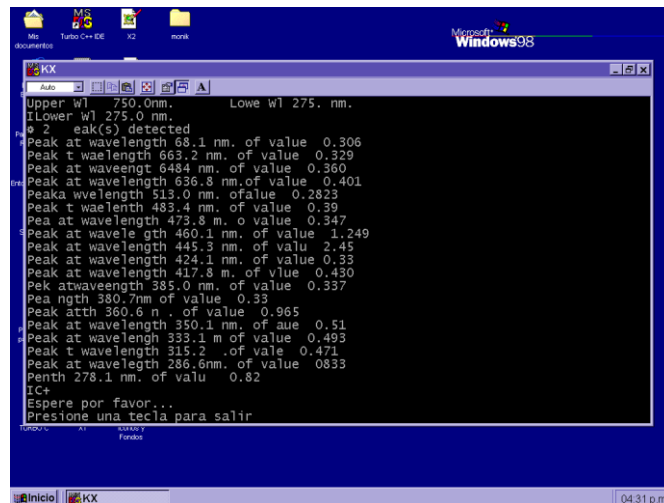


Figura 10. Vista del archivo ejecutable para la adquisición de datos en el PC

CAPÍTULO 6 | INTERFAZ FÍSICA DEL PC Y EL ESPECTROFOTÓMETRO DMS 100

En caso de fallas en la transmisión de datos del espectrofotómetro al PC, verificar la interfaz física, la cual consta de un cable de 36 líneas que se conectan a los terminales CENTRONICS 36 (hembra) y DB- 25 (macho).

La relación de las líneas del conector Centronics 36 a DB-25 se describe en la siguiente tabla:

Tabla 1. Conexión de pines para la interfaz

PINES CENTRONICS	FUNCIÓN	PINES DB-25
1	STROBE	15
2	D0	2
3	D1	3
4	D2	4
5	D3	5
6	D4	6
7	D5	7
8	D6	8
9	D7	9
10	ACK	16
11	BUSY	17
12	PE	N/C
13	SELECT	14
14	AUTOFEED	13
15	n/c	N/A
16	0 V	N/C
17	TIERRA A CHASIS	N/C
18	TIERRA	N/C
19-30	TIERRA	18-25
31	/RESET	12
32	/ERROR	1
33	TIERRA	N/C
34	TIERRA	N/C
35	TIERRA	N/C
36	/SLCT IN	10

- No dejar derramar sustancias corrosivas o contaminantes en el compartimiento de muestra.
- No abrir el compartimiento de la muestra mientras se este realizando medidas a una sustancia, para evitar radiaciones lumínicas externas que provoquen error en los valores de absorbancia o transmitancia.
- Cuando se abra el equipo no exponerlo a contaminantes como polvo y otros.
- Cuando se abra el chasis del sistema óptico no exponerlo a luces fuertes, especialmente que no incidan sobre el fotomultiplicador.
- No tocar las cubiertas de las fuentes de radiación, ni la del tubo fotomultiplicador para evitar el rompimiento de estas ó, que en su superficie queden huellas o marcas que generen errores en las lecturas de la absorbancia o transmitancia.
- No introducir herramientas metálicas cuando se realice el mantenimiento preventivo, mientras el equipo este encendido.
- Realizar mantenimiento y limpieza en los ventiladores periódicamente.
- Para evitar daños provocados por picos de voltaje, se recomienda utilizar reguladores para el espectrofotómetro DMS 100, impresora y computador.
- En caso de traslado o cambio de ubicación del espectrofotómetro, evitar movimientos bruscos que puedan descalibrar o desalinear el sistema óptico.

DOCUMENTOS REFERENCIADOS

Service Manual DMS-100 UV-Visible Spectrophotometer. Intralab S.A. Enero. 1984.

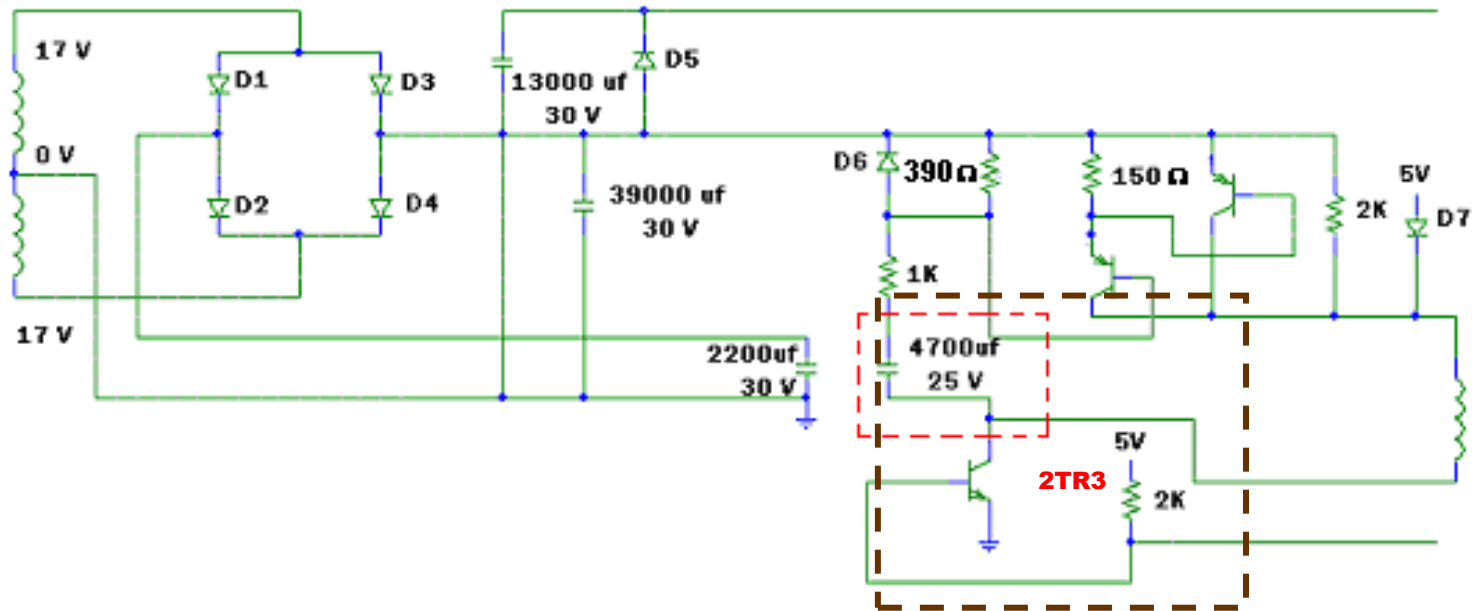
Operation Manual DMS-100 UV-Visible Spectrophotometer. Intralab S.A. Diciembre. 1982.

ANEXOS

No aplica.

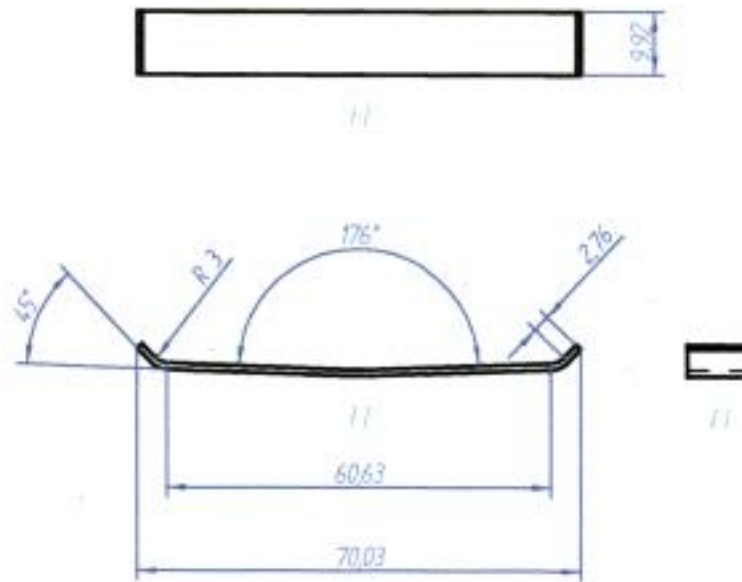
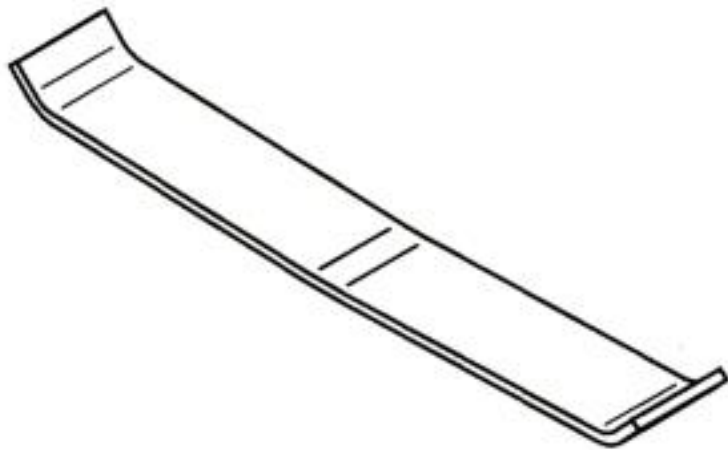
Anexo B

Fase del esquema eléctrico de la tarjeta de potencia donde se localizó el capacitor y la línea dañada



Anexo C

Plano de la pieza de repuesto con sus respectivas especificaciones



Anexo D

Algoritmo para la Adquisición de datos del Espectrofotómetro DMS 100 al PC

```
#include<iostream.h>
#include<conio.h>
#include<fstream.h>
#include<process.h>

void main(){
int puerto=888;
long int tiempo=0;
char dato, *nombre;
clrscr();
cout<<"Ingrese el nombre del archivo donde desea guardar los datos,"<<endl;
cout<<"coloque la extension .TXT y presione ENTER: ";
cin>>nombre;
ofstream archivo; //Definimos una clase de tipo ofstream llamada archivo
archivo.open(nombre);
cout<<"\n\nPresione la tecla PLOT del espectrofotometro...";
do{
    outportb(puerto+2,40); //limpia busy, no ocupado
    while(inportb(puerto+1)&8)
    outportb(puerto+2,32); //ocupa busy
    dato=inportb(puerto);
    archivo<<dato;
    cout<<dato;
    }while(dato!='+');
archivo.close();
while(1==1){
    outportb(puerto+2,40); //limpia busy, no ocupado
    while(inportb(puerto+1)&8) { //Espera pulso de strobe
        if(tiempo>=100000) {archivo.close();
            cout<<"\nPresione una tecla para
salir...";
            getch();
            abort();}
        }
    outportb(puerto+2,32); //ocupa busy
    tiempo=0;
}
}
```