



VI CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA
APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD
4, 5 y 6 de junio de 2015
“Generación de Nuevas Técnicas
de Diagnóstico y Tratamiento”

DESARROLLO DE UN DETECTOR PARA MEDIR CONCENTRACIONES DE SUSTANCIAS BIOLÓGICAS

Montaño Zetina Luis Manuel^a, Pérez Polanco Paola^b, Fontaine Sánchez Marcos^a

^aCinvestav, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, D. F., México,
lmontano@fis.cinvestav.mx, mfontaine@fis.cinvestav.mx

^bEscuela de Medicina, Universidad Justo Sierra, D. F., México, pperezp@ujierra.com.mx

RESUMEN

Presentamos la construcción y calibración de un detector de absorbancia-transmitancia construido en nuestro laboratorio. Para verificar su funcionalidad realizamos la calibración de este prototipo a través de la comparación de las mediciones de concentraciones conocidas del colorante azul de metileno con respecto a un espectrofotómetro comercial. Nuestro detector tiene la característica de trabajar con una luz incidente a las muestras a una sola longitud de onda de 459nm, mientras que el comercial es más versátil ya que consigue variar sus longitudes de onda de 380 a 600nm, con paso de un nanómetro.

1. INTRODUCCIÓN

En muchas investigaciones del área de la salud es muy importante tener la metodología de identificar los componentes que están presentes en algunas muestras biológicas. Para lograr dicha identificación uno de los procesos más usados es dirigir un haz de luz a la muestra y detectar la variación o cambio de esa luz al pasar por ella. Para cuantificar la cantidad de luz transmitida o inclusive absorbida se utilizan técnicas de espectrofotometría¹. La espectrofotometría es el método de análisis óptico utilizado para la identificación de la concentración de compuestos. El fundamento de la espectroscopía se basa en la capacidad de las moléculas de poder absorber o transmitir la radiación en determinadas longitudes de onda, principalmente en el ultravioleta – visible (UV- visible)². En particular, el determinar la concentración de proteínas en una muestra biológica con métodos espectrofotométricos es una técnica de rutina básica y ha sido de gran utilidad para el diagnóstico de enfermedades.

La necesidad de realizar análisis de concentraciones de sustancias biológicas cada vez requiere de métodos y equipos que sean más versátiles, rápidos y sobre todo menos costosos. En particular, la construcción y venta de equipos de laboratorio como es el espectrofotómetro suelen ser muy caros y no muy accesibles para los centros de salud ni para los investigadores experimentales. Es por ello que una de las múltiples actividades de la investigación en espectrofotometría es conseguir la creación de prototipos que realicen la función de los espectrofotómetros existentes pero que sean más económicos y casi con la misma precisión y exactitud. Para llevar a cabo la construcción de los instrumentos necesarios para continuar con las investigaciones, en los casos de contar con recursos económicos limitados, es importante aprovechar como en nuestro caso, de las herramientas que tiene un laboratorio de instrumentación.

VI CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD 4, 5 y 6 de junio de 2015 “Generación de Nuevas Técnicas de Diagnóstico y Tratamiento”

2. OBJETIVO

Construir un detector simple tipo espectrofotómetro y determinar el funcionamiento del mismo midiendo la absorbancia y transmitancia de concentraciones conocidas del azul de metileno.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Para la construcción del detector de transmitancia y absorbancia nos basamos en el fundamentos de espectrofotometría^{3,4} que indica que la luz procedente de la fuente (1a) se debe pasar a través del monocromador (1b), que la desdobra en haces monocromáticos. El colimador (1c) tiene una rendija de ajuste variable y, según su abertura se obtiene luz de una determinada longitud de onda. La longitud de onda que se desee utilizar se selecciona variando la posición del monocromador. La luz que sale del colimador se hace pasar por la solución a probar (1d) y luego incide sobre el fototubo (1e), donde se detecta. La señal se envía a un registrador (1f), el cual puede ser la escala de un galvanómetro calibrado (Figura 1).

Para la construcción de nuestro detector se utilizaron los siguientes materiales: 1 Led ultrabrillante 459nm, 5mm diámetro, 1 Fototransistor Vis-Ir, 5mm diámetro PT-331, 1 Circuito integrado microcontrolador programable PIC18F4550 I/P, 1 Display LCD, 3 Reguladores de voltaje de 9, 5 y 3.3 volts a 1 Amp, 1 Cristal de cuarzo de 4Mhz, 1 Alojamiento de celda, fototransistor y led de excitación, 1 Gabinete de 12.5x19.5x7.5 cm, Múltiples dispositivos resistivos y capacitivos (fijos y variables) usados como elementos de polarización, acoplamiento y filtrado, 1 Eliminador de baterías de 12 volts 1 amp, 1 Jack para alimentación 6.1 invertido y 1 Foco piloto.

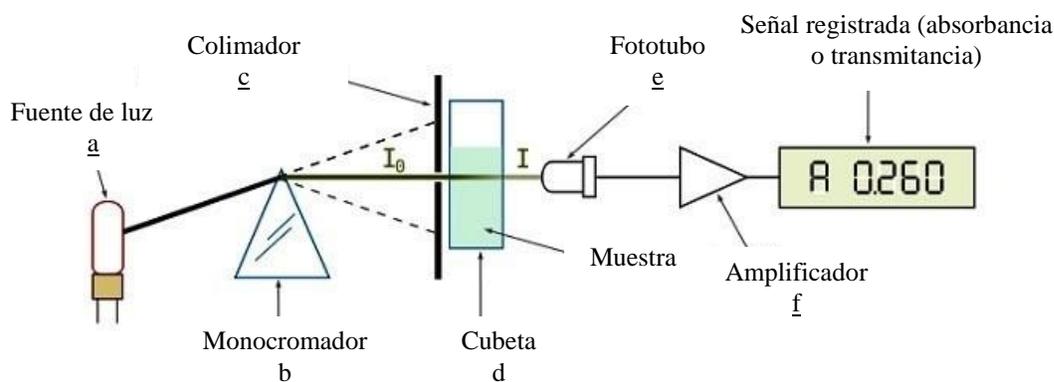


Figura 1. Fundamento teórico para la construcción del detector de absorbancia – transmitancia.

Para comprobar el buen funcionamiento de nuestro prototipo se realizó la comparación de las mediciones de absorbancia y transmitancia con un espectrofotómetro comercial Genesys 20 ®. Esta comparación se efectuó a través de confrontar las curvas de concentración con respecto a la absorbancia y transmitancia, utilizando el colorante azul de metileno a concentraciones de 1.6 mM a 6.25 nM. Las lecturas de la absorbancia y



transmitancia con el espectrofotómetro se realizaron a diferentes longitudes onda, y en el caso de nuestro detector sólo se realizó con la longitud de onda de 459 nm.

4. RESULTADOS

Lo primero que se hizo fue la construcción del detector, el cual consiste inicialmente en un led que produce una luz de excitación en el espectro del visible de 459 nm. Esa luz atraviesa la muestra y es detectada por un fototransistor que produce una señal de voltaje proporcional a la intensidad de la luz que los componentes de la muestra dejan pasar. De esta manera se logra medir la transmitancia. Esa señal recolectada por el fototransistor es enviada a un microcontrolador a través de su entrada analógica en donde es convertida a señal digital que a su vez es convertida a un número decimal que representa el porcentaje de transmitancia. El porcentaje de transmitancia es enviado a un display LCD de escala 0 a 100% (Figura 2).

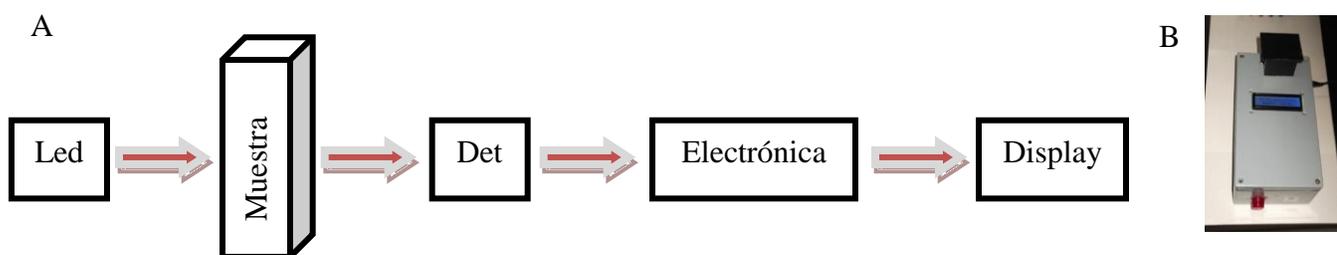


Figura 2. Diagrama representativo del funcionamiento del prototipo del detector. **A.** Descripción del proceso de calibración de nuestro detector. **B.** Fotografía de nuestro prototipo de detector.

Las curvas de absorbancia y transmitancia del azul de metileno detectadas con el espectrofotómetro comercial son mostradas en la figura 3. Con nuestros resultados se puede observar una línea recta que indica la longitud de onda a la cual debe leerse la muestra correspondiente. La lectura de absorbancia y transmitancia del azul de metileno fue perfectamente detectable a las longitudes de onda de 420 a 460nm. A longitudes de onda más grandes se pierde la relación lineal entre absorbancia y concentración (Figura 3). Utilizamos un segundo colorante (rojo congo) para descartar que nuestro prototipo de detector mida absorbancia y transmitancia a otras longitudes de onda. Se utilizaron concentraciones de 1.3 nM a 0.8 nM, sólo se detectaron medidas confiables a las longitudes de onda de 350 a 420nm con el espectrofotómetro comercial (datos no mostrados). Estos resultados nos permitieron descartar que nuestro detector pueda medir valores confiables de absorbancia menores a 420nm

En la figura 4 se hace una comparación del resultado de nuestro detector con los resultados de tres diferentes longitudes de onda 450, 460 y 470nm del espectrofotómetro para el colorante azul de metileno. Se puede apreciar cómo la línea de nuestro detector (rojo) es muy cercana a la línea verde que corresponde a la longitud de onda de 460 nm del espectrofotómetro, indicando que el detector construido en nuestro laboratorio trabaja a una longitud de onda cercana a ese valor, siendo en realidad de 459nm.

VI CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD

4, 5 y 6 de junio de 2015
 “Generación de Nuevas Técnicas de Diagnóstico y Tratamiento”

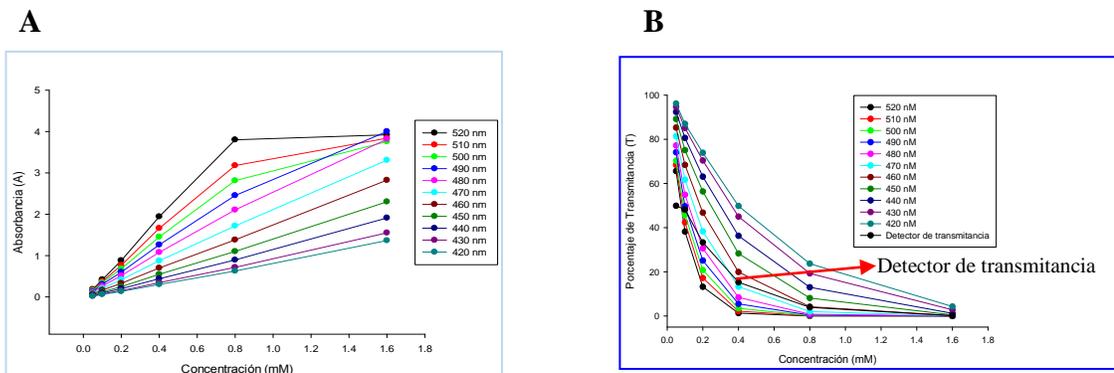


Figura 3. Calibración de azul de metileno con nuestro detector. **A.** Absorbancia de azul de metileno con el espectrofotómetro comercial. **B.** Porcentaje de transmitancia de azul de metileno con el espectrofotómetro comercial y nuestro detector. NOTA: Con la flecha roja se muestra la señal de transmitancia percibida por el prototipo a una longitud de onda de 459nm.

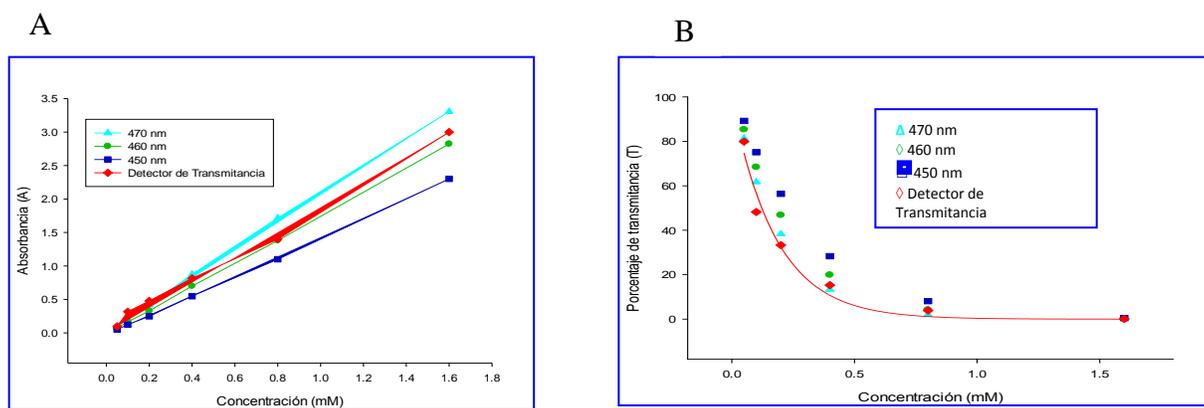


Figura 4. Comparación de tres longitudes de onda del espectrofotómetro comercial con respecto al resultado de nuestro detector. **A.** Absorbancia de azul de metileno con el espectrofotómetro comercial y el prototipo. **B.** Porcentaje de transmitancia de azul de metileno con el espectrofotómetro comercial y el prototipo. Se aprecia cómo el prototipo da resultados cercanos a la longitud de onda de 460nm.

5. CONCLUSIÓN

Con esta investigación se verificó la funcionalidad, precisión y exactitud de un detector sencillo construido en nuestro laboratorio con material de bajo costo, con el cual pudimos cuantificar las concentraciones del colorante azul de metileno a través de medición de absorbancia y transmitancia a una sola longitud de onda. El prototipo logró reproducir las concentraciones del azul de metileno a la longitud de onda muy cercana a la del espectrofotómetro comercial.



La construcción de detectores de absorbancia y transmitancia sencillos y económicos que permitan cuantificar la concentración de sustancias químicas ayudará a reducir los costos de los análisis y con esto ser más accesible para una mayor cantidad de pacientes.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. O'Toole, Dimond D. 2008. Absorbance based light emitting diode optical sensors and sensing devices. *Sensors* 8: 2453-2479.
2. Shokoufi N, Shemirani F. 2007. Laser induced-thermal lens spectrometry after cloud point extraction for the determination of trace amounts of rhodium. *Talanta* 73(4):662-7.
3. MikroC PRO for PIC User Manual v100, by Mikroelektronika, April 2009.
4. Boylestad R, Nashelsky L. *Electrónica: Teoría de Circuitos y Dispositivos Electrónicos*. Octava edición, Pearson Prentice Hall.