
MANUFACTURE OF CHEAP UV-VISIBLE AND FLUORESCENCE DETECTORS

I. Villanueva-Fierro, J. M. Viguera-Cortés, and I. C. López-Gonzalez
CIIDIR-IPN, UNIDAD DURANGO

ABSTRACT

During this presentation, the audience will be introduced a summary of the Lambert-Beer Law, and an introduction to the use of Light emitting diodes (LEDs), cells, photodetectors, amplifiers, binary signal data connection RS-232 or USB ports, for the construction of UV-Visible or fluorescence detectors, relatively cheap and easy to construct.

Lambert-Beer law is the analytical base to perform calibration curves between known amounts of compounds or elements Vs absorbance, then, knowing the absorbance of the compound and using the calibration curve, the concentration of the compound in the sample can be known. The use of Light emitting diodes (LEDs) started to appear in commercial instruments recently. LEDs are energy-efficient, and are ideal for miniature analytical devices. It is known that the length of the cell is directly proportional to the width of the cell, and making use of this property, a capillary can be used as a cell, having similar properties to a 1 cm width vial. A photodetector converts light to current or voltage; they can be amplified using an Op-Amp and an offset, to put signal to zero. Then, it is needed a communication port between the amplifier and the computer to measure the absorbance (or peak heights of the compounds if used HPLC) of the compounds, using a Recommended Standard 232 (RS-232) or a USB port.

As an example, Al analysis by flame spectrophotometry has a limit of detection of 1 to 50 mg/L, depending on the instrument. A home made detector has a limit of detection of 0.2 µg/L.

A commercial detector can cost between 10 and 15 thousand dollars, besides the cost of the software and computer (2 to 6 thousand dollars more). While a home made detector can cost around 400 dollars, having both similar limits of detection.

INTRODUCCION

Diodo emisor de luz (LED)

En química analítica, la detección óptica es utilizada de manera dominante (Dasgupta *et al.* 2003). Los pioneros en el uso de diodos emisores de luz (LED) como fuentes de radiación, fueron Flaschka *et al.* (1973) y Betteridge *et al.* (1978). Posterior a ellos, muchos grupos han hecho contribuciones significativas respecto a detectores ópticos en análisis químicos. En un principio no se contaba con LEDs lo suficientemente

brillantes, ni de baja longitud de onda, solo se producían LEDs de verde a rojo, y era los que se utilizaban (Chung *et al.* 1993, Benson *et al.* 1993, Taylor *et al.* 1996). En años recientes están a la venta LEDs de hasta 255 nm (rango ultravioleta, www.lightemittingdiodes.com), con baja emisión de calor. Se ha demostrado que un detector construido *in situ* tiene el mismo funcionamiento y sensibilidad de uno comercial (Dasgupta *et al.* 1994 y 2003). Es importante que el LED se alimente con una fuente de voltaje constante, ya que cualquier variación en ésta, producirá un cambio en el fotodetector, incrementando el ruido y disminuyendo por ende la sensibilidad del detector. Cada fabricante de LEDs recomienda la corriente y voltaje a la que debe trabajarse para optimizar la vida útil del LED.

Fotodiodos (PD)

Respecto a sensores de luz o fotodiodos (PD), excepto por el circuito integrado de Butler *et al.* (1997), basado en el dispositivo ACF2101 (www.ti.com), que provee un funcionamiento excepcional a bajos niveles de luz, no ha habido grandes avances en la mejora de su sensibilidad, excepto que ahora las tarjetas de comunicación Análogo/Digital (A/D) con computadoras se han vuelto mas accesibles; el costo de un PD con excelente sensibilidad cuesta 5 dólares (TSL 257). El uso de tubos fotomultiplicadores puede incrementar la sensibilidad, sin embargo, su costo es de alrededor de 500 dólares (www.hamamatsu.com). Al igual que con los LEDs, el PD debe trabajarse a las condiciones de voltaje y corriente adecuadas para optimizar la vida útil del detector.

Uso del multímetro

Con el fin de proporcionar la adecuada corriente al LED o PD, es necesario hacer uso del multímetro. No se intenta dar una detallada explicación sobre el uso del mismo, sino solamente un consejo, antes de su uso, para aquellos que no han tenido la ocasión de utilizarlo.

Para medir el voltaje, uno de los cables (el color negro) debe estar conectado a la tierra o puerto común [COM, ó (-)], y el otro cable (rojo) se conecta al puerto para medir voltaje (V) ó (+). Para efectuar la medición del voltaje, el multímetro se conecta en paralelo a la medición que se va a efectuar, con el cable de tierra conectado al lado de la tierra de la batería (-), y el cable de voltaje a la línea (+), tal y como se muestra en la **Figura 1**. Si no se hace la conexión apropiada, la lectura de voltaje va a ser negativa.

Para medir la corriente, o amperaje (A), el cable rojo debe conectarse al puerto para medir A o miliamperes (mA). La conexión del multímetro debe hacerse en serie, tal y como se muestra en la **Figura 2**. Se hace la aclaración, de que si los cables se dejan conectados para medir A, y entonces se conectan en paralelo, lo mas seguro es que se quemara el amperímetro, o al menos uno de los fusibles, si es que cuenta con ellos.

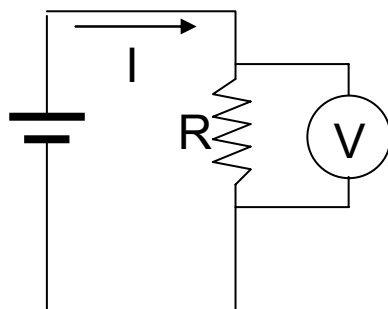


Figura 1. Conexión de multímetro en paralelo para la medición del voltaje.

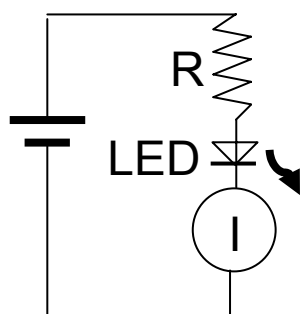


Figura 2. Conexión de multímetro en serie para la medición de corriente (A).

Ley de Lambert-Beer

La ley de Beer o ley de Lambert-Beer, como se conoce, es utilizada para efectuar mediciones cuantitativas de compuestos o elementos, basados en la absorción y requieren dos medidas de potencia, una antes de que el haz de luz haya pasado a través del medio que contiene el analito (P_0), y la otra, después (P), tal y como se representa en la **Figura 3**. La *transmitancia* (T) y la *absorbancia* (A) son los dos términos que se utilizan ampliamente en la espectrometría de absorción y se relacionan por la razón de P_0 y P .

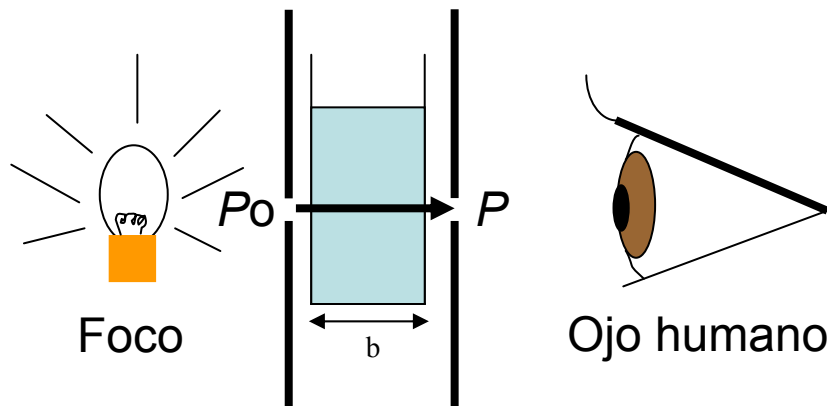


Figura 3. Atenuación de un haz de radiación por una disolución absorbente.

La Figura 1 muestra un haz de radiación paralelo antes y después de atravesar un medio que tiene un espesor de b cm y una concentración C de una especie absorbente. Como consecuencia de las interacciones entre los fotones y los átomos o moléculas absorbentes, la potencia del haz disminuye de P_0 a P . La *transmitancia* T del medio, es la fracción de radiación incidente transmitida por el medio:

$$T = P/P_0, \text{ ó como porcentaje, } \%T = (P/P_0)(100)$$

La absorbancia A de un medio se define por la ecuación:

$$A = -\log(T) = -\log(P/P_0) = \log(P_0/P)$$

Para una radiación monocromática, la absorbancia es directamente proporcional al camino óptico b a través del medio, y la concentración C de la especie absorbente.

$$A = abC,$$

Donde: a es una constante de proporcionalidad denominada absorptividad. Si las unidades de C son dadas en mol/L, y b en cm, a es llamada coeficiente de *absorptividad molar*, y se representa por el símbolo ϵ , y tiene unidades de L/(mol.cm). Esta última ecuación se conoce como la Ley de Lambert-Beer, y se aplica para todos los procesos de emisión o absorción, para el análisis de elementos o compuestos, a concentraciones bajas.

Construcción de un detector UV-Visible

Como se acaba de ver en la sección de la Ley de Lambert Beer, se necesita una fuente de radiación que en este caso puede ser proporcionada por un LED, donde la longitud de onda a utilizar dependerá del máximo del compuesto o elemento cromóforo. En la **Figura 4** se representa el detector de UV-Visible que puede construirse con un capilar de digamos 180 μm de diámetro interior, al que se le hacen un par de agujeros, con una navaja, uno para que entre a luz del LED, y el otro para que la luz sea detectada por el fotodiodo TSL 257. Una variación del detector se puede construir, eliminando una mayor longitud de la poliamida, la cual es reemplazada por el plateado del capilar, logrando así un incremento del espesor de la celda, y por ende un incremento en la sensibilidad del detector. El primer detector tiene menos sensibilidad debido a que es difícil evitar que la luz del LED no rodee y llegue al fotodetector.

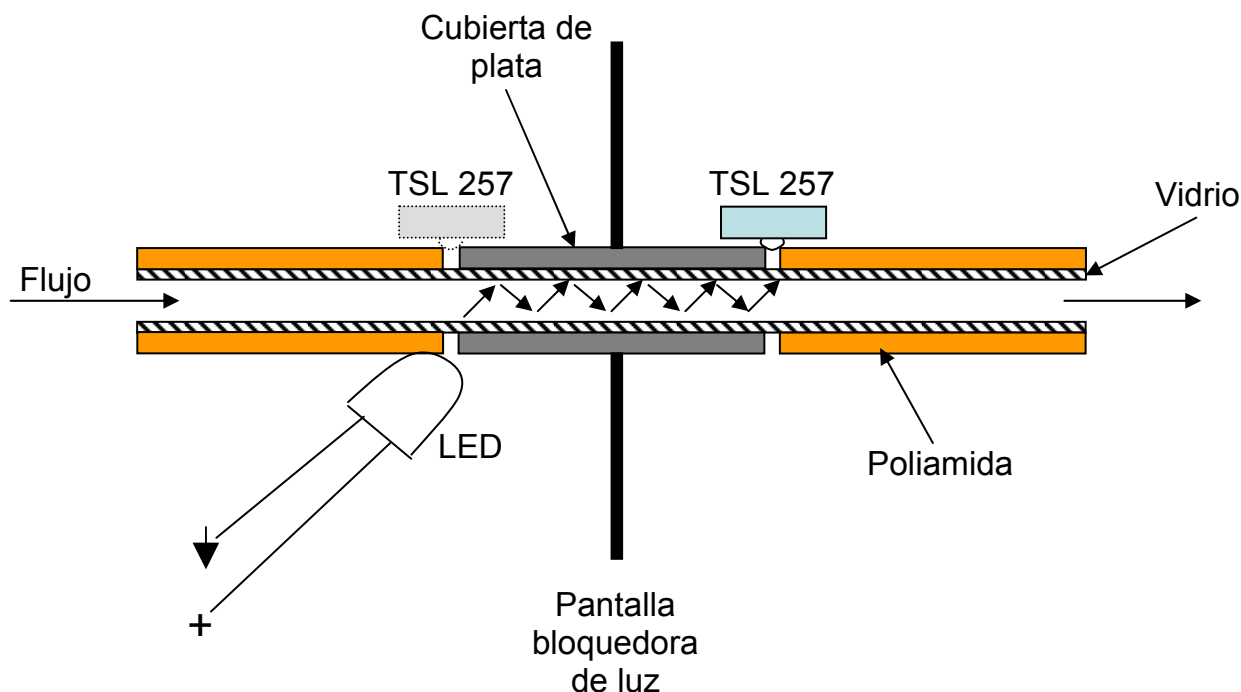


Figura 4. Detector UV-Visible construido con un capilar, un fotodetector TSL 257 y un diodo emisor de luz.

Construcción de un detector de Fluorescencia

En los detectores de fluorescencia, hay que leer la muestra a 90 grados para evitar la lectura de luz directa, para hacer el proceso mas sensible. En los procesos de fluorescencia hay que utilizar un LED para excitar la muestra a la correspondiente longitud de onda, y la lectura de la emisión o fluorescencia se lee a una longitud de onda diferente. La **Figura 5** muestra las partes de un detector de fluorescencia.

Operador amplificador (Op Amp)

El Op Amp es un circuito integrado que sirve para amplificar la señal del fotodiodo. El funcionamiento es sencillo, si se utilizara el Op Amp de una etapa, el voltaje de salida es igual a menos el voltaje de entrada, multiplicado por la razón de resistencias R_2/R_1 , de tal manera que si R_2/R_1 es igual a 10, el voltaje de entrada se amplifica 10 veces, aunque el voltaje de salida es negativo (Ver **Figura 6, una etapa**).

$$V_{out} = V_{in}(-R_2/R_1)$$

El tiempo, en segundos de un filtro RC se calcula multiplicando la resistencia R en Ohms por el capacitor en Farads. Si se utiliza un Op Amp de dos etapas (**Figura 6, dos etapas**), el voltaje de salida es positivo es:

$$V_{out} = V_{in}(R_2/R_1)/(R_4/R_3)$$

Finalmente, si se conecta un dispositivo para hacer un ajuste a cero el voltaje de entrada, que consta de una resistencia variable y otro par de resistencias fijas y calculadas, el circuito final puede parecerse al dado en la **Figura 7**.

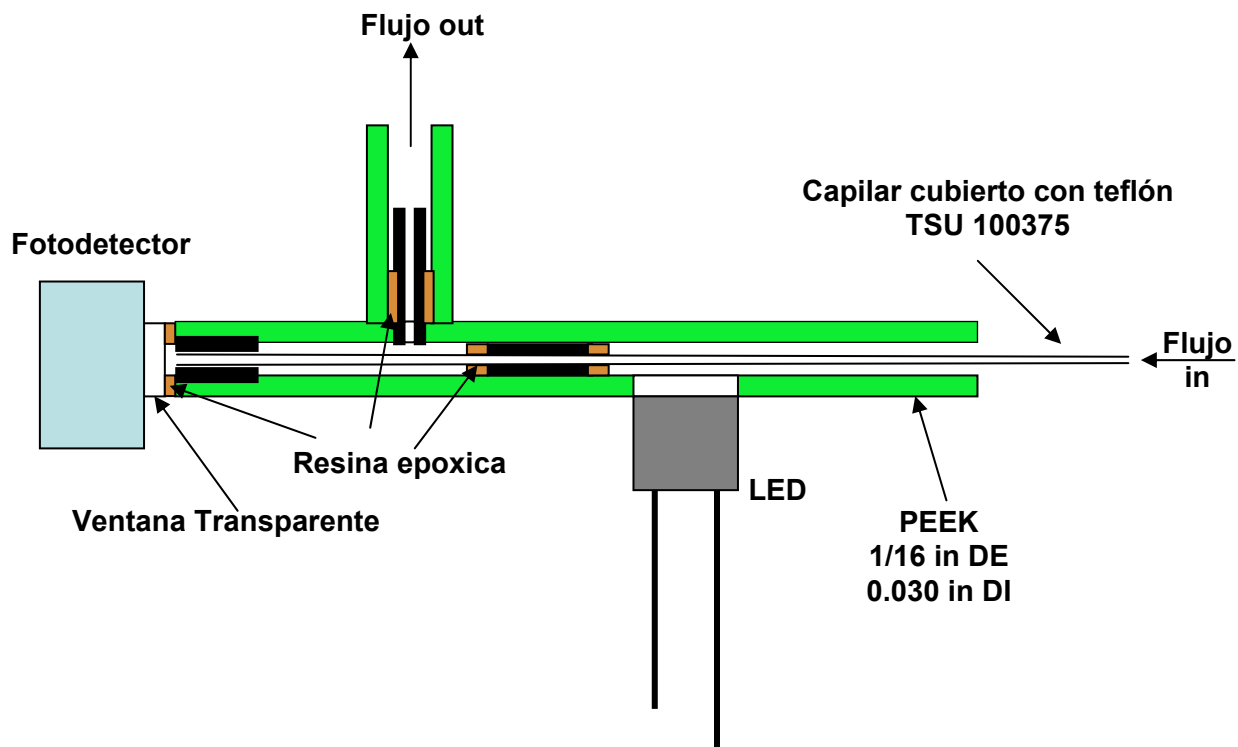


Figura 5. Detector de fluorescencia construido con tubería PEEK y un capilar de vidrio.

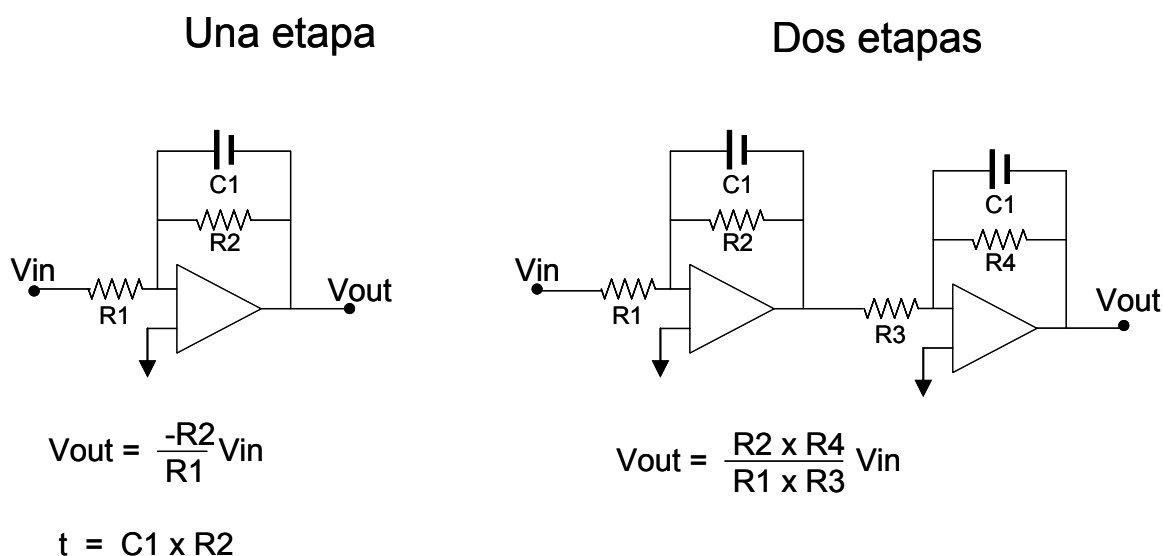


Figura 6. Amplificador de voltaje de Una y Dos etapas.

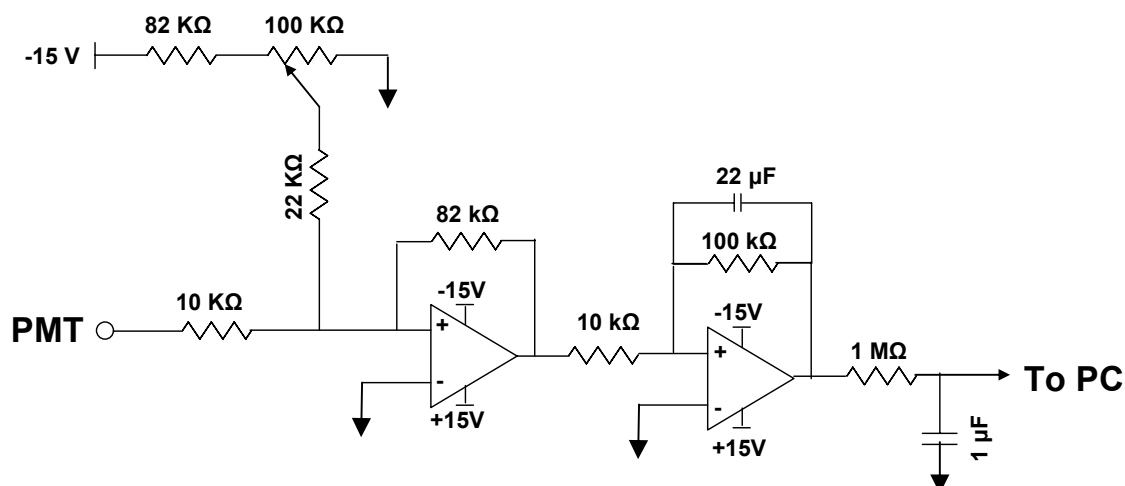


Figura 7. Ejemplo del circuito amplificador utilizado a la salida del fotodiodo, con un filtro de 2.2 segundos en la segunda etapa y de 1 segundo antes de entrar a la computadora.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

El uso de un sistema de HPLC construido con una bomba de jeringa, una válvula de inyección, con loop de 1 μL , una columna capilar de 250 μm de DI y con un detector de fluorescencia, se obtiene un límite de detección de aluminio de 0.2 $\mu\text{g/L}$, mientras que un equipo espectrofotometría de absorción atómica con flama, el límite de detección oscila entre 1000 y 50000 $\mu\text{g/L}$.

TRABAJOS A FUTURO

Elaborar un manual para la elaboración de detectores de UV-Visible o de fluorescencia, para que se construyan y utilicen en las escuelas preparatorias de México.

AGRADECIMIENTOS

El Instituto Politécnico Nacional, a través de COFAA, EDI y el programa de Año Sabático permitieron que la estancia para el aprendizaje y la elaboración de detectores de UV-Visible y Fluorescencia se llevara a cabo bajo la supervisión del Dr. Purnendu K. Dasgupta, de la Universidad de Texas en Arlington.

REFERENCIAS

- Betteridge D., Dagless E. L., Fields B., Graves N. F. *Analyst* 103 (1978) 897.
 Butler P. A. G., Mills B., Hauser P. C. *Analyst* 122 (1997) 949.
 Flaschka H., McKeithan C., Barnes R. *Anal Lett.* 6 (1973) 585.



Proceedings

Dasgupta, P. K., Bellamy H. S., Liu H., López J. L., Loree E. L., Morris K. J., Petersen K., Mir K. A., Talanta 40 (1993) 53.
Dasgupta P.K., Zhang G., Cobb G. P. Talanta 58 (1994) 1965.
Dasgupta P. K., Eom I., Morris K. J., Li J. Anal Chim Acta 500 (2003) 337.