

01170
15



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE INGENIERIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

TESIS

DESARROLLO DE UN INSTRUMENTO OPTOELECTRONICO
PORTATIL PARA EVALUAR EL CONTENIDO DE β -CAROTENO
RELACIONADO CON EL COLOR EN SUSTANCIAS ORGANICAS.

PRESENTADA POR

DOMINGO RANGEL MIRANDA

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN INGENIERIA
(ELECTRICA)

DIRECTOR DE TESIS: DR. VICTOR M. CASTAÑO MENESES

CIUDAD UNIVERSITARIA, SEPTIEMBRE DE 2003



A





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatoria

Dedico este trabajo a la memoria de mi padre, que siempre supo trasmitirme su fuerza para luchar por hacer realidad mis sueños y ahora que no está presente reconozco su sabias palabras: - ¡Cuando has luchado por alcanzar un sueño y lo has logrado, el mejor premio no está al final, sino en la lucha misma!

Lo dedico también a mi madre, quien ha sido pilar firme en la familia y ha sabido mantener la unión, perseverancia y cariño para todos nosotros sobre cualquier circunstancia.

En especial, a las mujeres que siempre son mi inspiración para alcanzar las metas que me propongo: Ivonne, Sofia e Inés, por estar presentes en mi vida mostrándome siempre todo su cariño.

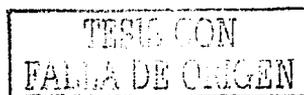
A todos mis hermanos, hermanas, sobrinos, a sus familias y a todos aquellos quienes me han brindado su amistad y han dejado en mí una huella profunda para toda la vida.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo excepcional.

NOMBRE: Domingo Rangel Miranda

FECHA: 23 de Septiembre del 2003.

FIRMA: [Firma]



Agradecimientos

A mi Alma Mater: La Universidad Nacional Autónoma de México, por ser parte fundamental en mi formación profesional y por ser pilar invaluable para el desarrollo de este país.

A la Facultad de Ingeniería, a través de la División de Estudios de Posgrado, donde tuve la oportunidad de enriquecer mis conocimientos.

A mis profesores del Posgrado, en quienes siempre observé su pasión por transmitir sus conocimientos y experiencia.

A mi asesor de Tesis, Dr. Víctor Manuel Castaño Meneses, quien me ha guiado a través de sus acertados comentarios para estructurar y culminar este trabajo, por aportarme un estilo en el trabajo académico y porque siempre he reconocido en él, a un Maestro, tanto dentro como fuera del plano laboral. Por haberme dado la oportunidad de realizar este proyecto dentro de las instalaciones del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM, el cual atinadamente dirige y por todo el apoyo que me ha brindado.

A mis sinodales, por las aportaciones y comentarios que permitieron enriquecer este trabajo. Al Dr. Augusto García Valenzuela, al Dr. Demetrio Mendoza Anaya, al Dr. Víctor M. Castaño Meneses, al M.I. Miguel Ángel Bañuelos Saucedo y al M.I. Luis Arturo Haro Ruiz.

Al Dr. Rodrigo Velásquez Castillo por compartir sus conocimientos y aportaciones durante la realización del proyecto y a nivel personal por la amistad que me ha brindado él y su familia.

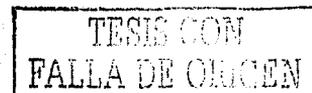
Al Sr. Edgar Méndez Moreno por el apoyo técnico siempre disponible, al Sr. René Preza Cortés por su trabajo en la realización del maquinado y ensamble mecánico, al personal que hizo posible la utilización de equipos de laboratorio para las diferentes pruebas y trabajo experimental.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por haberme otorgado beca durante la realización de mis estudios de maestría.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares por las facilidades en sus instalaciones y apoyo durante la realización de la tesis y mis estudios de maestría, así mismo al Dr. Demetrio Mendoza Anaya, quien fungió como coasesor de la tesis durante este tiempo.

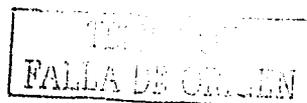
A todos mis amigos de CFATA con quienes convivo a diario.

C



INDICE	I
CAPITULO 1 ANTECEDENTES	1
1.1 Propiedades ópticas de los materiales	1
1.1.1 Naturaleza y propagación de la luz	1
1.1.2 Ondas electromagnéticas	2
1.1.3 Espectro electromagnético	4
1.1.4 Conceptos fundamentales en óptica	5
1.2 Interacción de la luz con la materia	7
1.2.1 Interacción energética relacionada con la frecuencia	7
1.2.2 Absorción de la radiación electromagnética	8
1.3 Efectos del contenido de β -caroteno en sustancias orgánicas	10
1.3.1 El β -caroteno como compuesto químico	10
1.3.2 Influencia del contenido de β -caroteno en el color de una sustancia	11
1.4 Técnicas de medición de propiedades ópticas en el visible	15
1.4.1 Métodos espectrométricos de absorción en el visible	15
1.4.1.1 Instrumentos espectrofotométricos	19
1.5 Objetivo General de este Trabajo	23
1.5.1 Objetivos particulares	23
CAPITULO 2 DESARROLLO DEL SISTEMA	25
2.1 Bloques del sistema	25
2.1.1 Obtención del algoritmo para obtener la concentración de β -caroteno.	25
2.1.2 Esquema general del sistema	33
2.2 Elementos del sistema óptico	36
2.2.1 Fuente de luz del sistema	36
2.2.1.1 Lámparas de filamento incandescente	36
2.2.1.2 Estabilidad de la fuente de iluminación	39
2.2.2 Acoplamiento de la luz con fibra óptica	40
2.2.3 Componentes ópticas	42
2.2.3.1 Lentes colimadora y enfocadora	42
2.2.3.2 Un prisma equilátero como dispositivo dispersor de luz	45

2.3	Detección y acondicionamiento de señales	49
2.3.1	Detectores ópticos	49
2.3.1.1	Fundamentos básicos de un fotodiodo	52
2.3.1.2	Característica voltaje-corriente de un fotodiodo	54
2.3.1.3	Fuentes de ruido en un fotodiodo	55
2.3.2	Detector óptico utilizado	56
2.3.3	Etapas adicionales de ganancia	61
2.4	Procesamiento y despliegue de la información	65
2.4.1	Características del microcontrolador	65
2.4.1.1	La arquitectura Harvard en los microcontroladores PIC	66
2.4.1.2	Organización de la memoria arquitectura del microcontrolador	67
2.4.2	Acondicionamiento de periféricos	69
2.4.2.1	Pantalla alfanumérica	69
2.4.2.2	Teclado de Membrana	71
2.4.2.3	Memoria EEPROM	73
2.4.3	Operaciones aritméticas de punto flotante	77
2.4.3.1	Consideraciones básicas	77
2.4.3.2	Representación de números en punto flotante	81
2.4.4	Fundamentos matemáticos en punto flotante basados en el estándar IEEE 754	82
2.4.4.1	Evaluación en forma binaria de una función matemática	82
2.4.4.2	Reducción de rango	83
2.4.4.3	Aproximación MINIMAX	84
2.4.4.4	Uso de la aproximación Minimax en el PIC 16F876	86
2.4.4.5	Evaluación de funciones logarítmicas en el microcontrolador PIC16F876	86
2.4.5	Implementación y uso de rutinas de punto flotante en el PIC16F876	89
2.4.5.1	Métodos de redondeo en el microcontrolador PIC16F876	91
2.4.5.2	Formatos en punto flotante manejados por Microchip Systems	92
2.4.5.3	Excepciones en la conversión a punto flotante	93
2.4.5.4	Requerimientos de RAM de datos para la conversión	94
2.4.5.5	Uso de las rutinas de punto flotante en el diseño con el PIC16F876	95
2.4.5.5.1	Manejo de las excepciones en la conversión a flotante	95



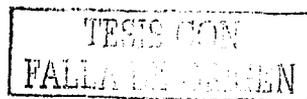
2.4.5.5.2 Rutina de redondeo	96
2.4.5.5.3 Rutina de conversión de entero a flotante	96
2.4.5.5.4 Rutina de normalización	96
2.4.5.5.5 Conversión de flotante a entero	96
2.4.5.5.6 Rutina de suma y substracción en punto flotante	97
2.4.5.5.7 Rutina de multiplicación en punto flotante	97
2.4.5.5.8 Rutina de la división en punto flotante	98
2.5 Calibración del sistema	99
2.5.1 Calibración de los sensores ópticos	99
2.5.2 Curva de calibración del instrumento	100
CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	106
3.1 Aplicación a un problema específico	106
3.2 Análisis de los datos proporcionados por el instrumento	108
3.3 Calidad de la medición	121
CAPITULO 4 CONCLUSIONES	126
4.1 Conclusiones del capítulo 1	126
4.2 Conclusiones del capítulo 2	127
4.3 Conclusiones del capítulo 3	129
4.4 Conclusiones generales	130
REFERENCIAS	132
ANEXO "A": Programación del sistema	
ANEXO "B": Diagrama Esquemático	
ANEXO "C": Instrucciones de uso del sistema	

RESUMEN

En este trabajo se ha diseñado y construido un instrumento opto-electrónico que permite cuantificar la concentración de β -caroteno que está relacionado con el color en muestras de diversas sustancias orgánicas. Este compuesto químico es el responsable de la coloración amarillo-naranja que presentan algunos alimentos como la zanahoria. El color es un factor determinante en la presentación de los alimentos al consumidor, por lo que en este trabajo se presenta el desarrollo de un sistema para la determinación automática de este u otros compuestos pigmentantes en productos de origen orgánico. Su aplicación fue para determinar el contenido de β -caroteno en muestras de tejido adiposo de bovinos en canal.

El diseño cuenta con una fuente de luz blanca de tungsteno-halógeno que ilumina la muestra mediante una esfera integradora. La luz reflejada por la muestra es captada por una fibra óptica que lleva la luz colectada hasta un sistema óptico. Este sistema cuenta con un juego de lentes colimadoras para enviar la luz que sale de la fibra óptica hasta un prisma dispersor, que descompone la luz en el espectro característico de cada muestra. El espectro contiene la información sobre la intensidad de las bandas de absorción del β -caroteno, las cuales son captadas por tres detectores ópticos colocados justamente en la posición de esas bandas.

Los sensores ópticos que captan la intensidad en esas bandas, son circuitos monolíticos en forma de circuito integrado con un pico de sensibilidad de 0.45 A/W, a 655 nm, que es característico de los detectores de silicio. Estos detectores proporcionan una salida lineal de voltaje, proporcional a la intensidad de cada una de las bandas específicas para este compuesto en particular. Las tres señales obtenidas son digitalizadas y procesadas por un Microcontrolador PIC16F876 de 8 bits, donde se aplica un algoritmo matemático programado para desplegar al final una lectura digital de la concentración de β -caroteno o color en la muestra. El sistema está programado para almacenar las lecturas en memoria EEPROM cuando las mediciones son hechas en campo y guardar esta información con propósitos de clasificación. De acuerdo con los resultados obtenidos podemos concluir que es factible medir confiablemente mediante este instrumento la concentración de compuestos pigmentantes, como el β -caroteno en tejido adiposo de bovinos en canal y relacionarla con la coloración que presenta la muestra.



ABSTRACT

A novel opto-electronic device was designed and built. This device is able to quantify the β -carotene concentration and relate this concentration to the color of different organic samples. β -carotene is an unsaturated chemical substance, the unsaturations produce energy absorption in visible light and therefore, β -carotene has a characteristic yellow-orange color. This carotene is present in carrots and others vegetables. Color is a very important factor in food appearance and on costumers acceptance; for that reason, the development of a system for automatic determination of colored organic substances has motivated this work. The system was employed to determine β -carotene content on fat samples from cattle.

The system designed has an white light source of tungsten-halogen which illuminates the sample through an integrating sphere. The light reflected from sample is captured by an organic-optical fiber, which leads the light to an optical system. One lens setup sends the light from the optical fiber to a scattering prism, which disperses the white light into color spectra. The spectra have the information of the intensity of absorption bands from β -carotene, which are captured by three different optical sensors placed in the suitable position. These sensors are monolithic circuits made of silicon with a sensibility pickup of 0.45 A/W at 655 nm. The sensors provide a linear voltage output, which is proportional to the intensity of each specific band of silicon. The three signals obtained are digitized and processed by a microcontroller PIC16F876 of 8 bits, where an programmed-mathematical algorithm is applied to display the final digital lecture of the β -carotene concentration or color in the sample. The system is programmed to store all the lectures in EEPROM memory when measures are made outdoor and keep the information for posterior classification.

According to the results obtained, it is possible to conclude that is relatively easy to determine the concentration of colored organic substances by using this device, with a high resolution and reproducibility and it is also possible to relate that concentration to the intensity color of fat samples.



CAPITULO 1. ANTECEDENTES

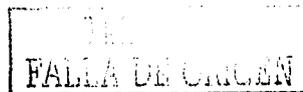
1.1 Propiedades ópticas de los materiales.

1.1.1 Naturaleza y propagación de la luz.

Hasta mediados del siglo XVII la creencia general era que la luz consistía en una corriente de alguna especie de partículas o corpúsculos que emitían las fuentes luminosas. Newton y muchos otros científicos de la época apoyaban la teoría corpuscular de la luz. Por esa misma época, Huygens y otros propusieron que la luz podía ser un fenómeno ondulatorio. A principios del siglo XIX, la evidencia de la teoría ondulatoria de la luz se hizo más patente. Los experimentos de Fresnel y Thomas Young sobre interferencia y difracción demostraron de forma concluyente que muchos fenómenos ópticos resultaban comprensibles en función de una teoría ondulatoria, pero cuya explicación resultaba inadecuada con una teoría corpuscular. Los experimentos de Young le permitieron medir la longitud de onda en el movimiento ondulatorio y Fresnel demostró la propagación rectilínea de la luz.

El siguiente gran avance en la teoría de la luz fue el trabajo de Maxwell, quien en 1783 demostró que un circuito oscilante debía radiar ondas electromagnéticas. La velocidad de propagación de las ondas podía calcularse a partir de mediciones puramente eléctricas y magnéticas. Esta resultó ser, dentro de los límites del error experimental, igual al valor medido de la velocidad de la luz. Parecía evidente que la luz consistía de ondas electromagnéticas de longitud de onda extremadamente corta. A finales de siglo XIX los científicos creían que muy poco o nada se podía añadir al conocimiento de la naturaleza de la luz, sin embargo, la teoría electromagnética clásica no podía explicar fenómenos asociados con la emisión y absorción de la luz. Un ejemplo es el fenómeno de la emisión fotoeléctrica, es decir, la expulsión de electrones de un conductor por la luz incidente sobre su superficie.

En 1905, Einstein amplió una idea propuesta cinco años antes por Planck y postuló que la energía de un haz luminoso se hallaba concentrada en paquetes o fotones. La definición ondulatoria se conservaba, porque se consideraba que cada fotón tenía una frecuencia y que su energía era proporcional a ella. En 1921, A.H. Compton logró determinar el movimiento de un fotón y un solo electrón, antes y después de una colisión entre ellos descubriendo que se



PAGINACION DISCONTINUA

comportaban como cuerpos materiales con energía cinética y cantidad de movimiento, conservándose ambos en el choque.

La unión de estos fenómenos aparentemente contradictorios no se dio sino hasta 1930 con el desarrollo de la electrodinámica cuántica, una amplia teoría que incluye tanto las propiedades de las ondas como de las partículas.

Los fenómenos de la propagación de la luz pueden explicarse mejor mediante la teoría de la onda electromagnética, mientras que la interacción de la luz con la materia es un fenómeno corpuscular.

1.1.2 Ondas Electromagnéticas.

Las ondas electromagnéticas consisten de campos magnéticos y eléctricos acoplados, que varían periódicamente mientras se propagan en el espacio. Los campos eléctricos E y magnéticos B son perpendiculares entre sí y a la dirección de la propagación de las ondas " c " (figura 1). De modo que las ondas son transversales y las variaciones en E y en B suceden simultáneamente [34].

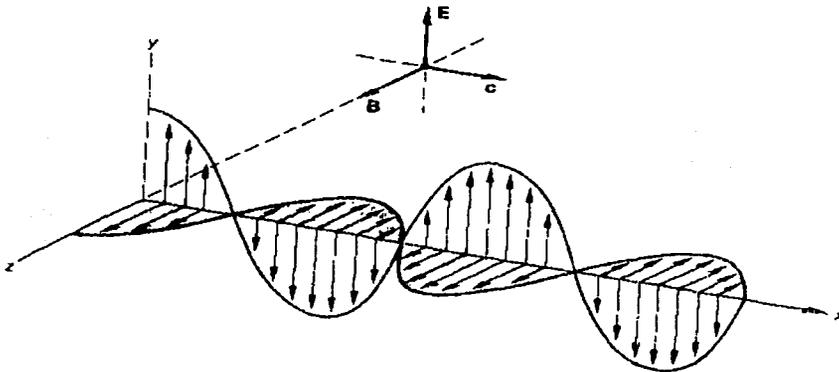


Figura 1.1 Representación una onda electromagnética.

Las ondas electromagnéticas transportan energía y no requieren un medio material para propagarse.

Cuando estas se propagan sinusoidalmente, en cualquier instante de tiempo y en medios homogéneos, la variación espacial de los campos es también sinusoidal. Cuando una onda tiene la propiedad de que en cualquier instante los campos son uniformes sobre cualquier plano perpendicular a la dirección de propagación se dice que es una onda plana y como los campos eléctrico y magnético son perpendiculares a la dirección de propagación se dice que la onda es transversal.

La frecuencia (f), la longitud de onda (λ) y la velocidad de propagación (c) de una onda electromagnética obedecen a la forma de propagación de cualquier movimiento ondulatorio y se relacionan por la ecuación:

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

La radiación electromagnética puede considerarse fundamentalmente como una onda que viaja a la velocidad de la luz, sin embargo algunas propiedades se explican mejor si se considera que está constituida por partículas discretas o fotones, que también viajan a la velocidad de la luz; pero es casi imposible medirlas simultáneamente las propiedades de onda y de partícula de un fotón. A menudo es conveniente considerar a los fotones como partículas de energía emitidas por una fuente con objeto de estudiar su interacción con la materia y caracterizarlas por una onda electromagnética. Esta radiación se propaga a través de la materia a velocidades inferiores a la de la luz debido a las interacciones entre el vector de campo eléctrico y los electrones ligados al medio donde se propaga.

La energía cinética asociada con un fotón de radiación electromagnética se expresa por la ecuación:

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (2)$$

Donde la longitud de onda (λ) y la frecuencia (ν) están relacionadas con la energía del fotón E , por la constante de Planck $h = 6,62 \times 10^{-34}$ J.s, y la velocidad de la luz en el vacío que es de: 3×10^8 m/s.

Es importante notar que la energía es directamente proporcional con la frecuencia e inversamente a la longitud de onda. Esto es, a mayor frecuencia, mayor energía.

Cuando una radiación con una longitud de onda en particular penetra en la materia, su velocidad de propagación disminuye, pero su frecuencia permanece constante.

1.1.3 Espectro Electromagnético.

El espectro electromagnético se ha definido como la disposición ordenada de la radiación de acuerdo a su longitud de onda; contiene un amplio rango de frecuencias (figura 1.2) y está dividido en 8 regiones principales: Ondas largas de radio, ondas cortas de radio, región infrarroja (IR), visible (VIS), región ultravioleta (UV), rayos X, rayos gamma y fotones cósmicos.

El espectro electromagnético es continuo y no hay separaciones entre las diferentes regiones; los límites establecidos son solamente una convención. La parte del espectro que nos interesa considerar en este trabajo es la región visible del espectro, ya que los efectos de color en una muestra orgánica están dados por la interacción de la radiación visible sobre el objeto y la manera en que la muestra reacciona cuando sus átomos o moléculas absorben esa radiación en forma de energía.

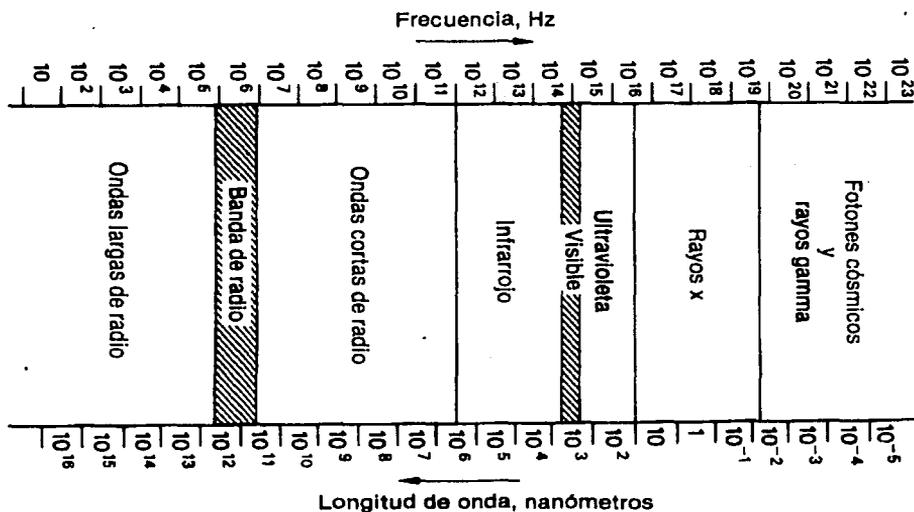


Figura 1.2 Regiones del espectro electromagnético.

En términos de longitud de onda, el segmento reducido del espectro electromagnético que se refiere a la región visible está comprendido entre 0,00004 y 0,00007 cm, es decir, entre los 400 y 700 nm.

A su vez la región visible está compuesta por los colores espectrales y sus respectivas longitudes de onda, mismas que se presentan en la siguiente tabla 1.1:

Color representativo	Longitud de onda, [nm]
Violeta	450
Azul	480
Verde	520
Amarillo	580
Naranja	600
Rojo	640

Tabla 1.1 Longitudes de onda representativas de los colores en el espectro visible.

1.1.4 Conceptos fundamentales en Óptica.

Muchos fenómenos ópticos conocidos implican el comportamiento de una onda que incide en la superficie que separa dos medios ópticos, por ejemplo: aire y vidrio o agua y vidrio. Cuando la superficie de separación es suave, es decir, cuando sus irregularidades son pequeñas comparadas con la longitud de onda, una parte de la onda es reflejada y otra parte es transmitida al segundo medio como se observa en la figura 1.3.

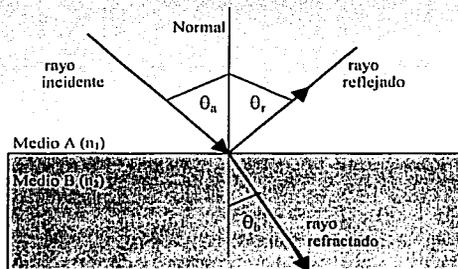


Figura 1.3 Fenómeno de reflexión y refracción de un haz luminoso.

Cuando se transmite luz de un medio a otro con diferente densidad óptica y cambia la dirección de propagación, se dice que la luz se refracta. Los rayos luminosos son desviados de su dirección original, esto se debe a que la velocidad de la luz no es igual en los diferentes medios, pero su frecuencia sí es la misma en los dos medios, de manera que las longitudes de onda son diferentes según el medio ($c = \lambda f$).

La velocidad de la luz en un medio se caracteriza por un índice de refracción n del medio y se define como:

$$n = c/c_m \quad (3)$$

donde: c es la velocidad de la luz en el vacío y c_m su velocidad en el medio.

La variación del índice de refracción con la longitud de onda $n = n(\lambda)$ da origen a la propiedad de dispersión en los prismas [19].

El ángulo de incidencia θ_a y el ángulo de refracción θ_b se relacionan por medio de la siguiente expresión llamada *Ley de Snell*:

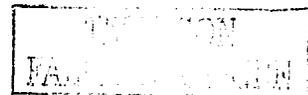
$$n_1 \text{ sen } \theta_a = n_2 \text{ sen } \theta_b \quad (4)$$

donde: n_1 es la velocidad en el medio A, n_2 es la velocidad en el medio B, θ_a y θ_b son los ángulos del rayo incidente y rayo refractado respectivamente, medidos desde la normal, que es una línea perpendicular a la superficie. El paso de un rayo de luz de un medio a otro es un fenómeno reversible. Sigue la misma trayectoria del medio A al medio B y viceversa.

El principio de *Fermat* en el cual se basa la óptica geométrica, plantea que un rayo luminoso que va de un punto a otro, a lo largo de la trayectoria óptica, le toma el menor tiempo posible, buscando la máxima velocidad y gastando la menor cantidad de energía.

Para un rayo reflejado en una superficie plana, como la de un espejo plano, el ángulo de reflexión θ_r es igual al ángulo de incidencia θ_a (ambos ángulos medidos desde la normal), para todos los colores y para cualquier par de medios. Así mismo se establece que los rayos incidente, reflejado y la normal a la superficie se encuentran en el mismo plano.

La reflexión desde una superficie espejo, recibe el nombre de reflexión regular o *especular*, es decir, la luz prácticamente no interactúa con el objeto, solo cambia su dirección de propagación.



Cuando la luz incide en superficies ásperas, la luz es reflejada en todas direcciones y se conoce como reflexión *difusa*, la cual es responsable de que podamos apreciar el color de una superficie. Ambos tipos de reflexión pueden observarse en la figura 1.4.

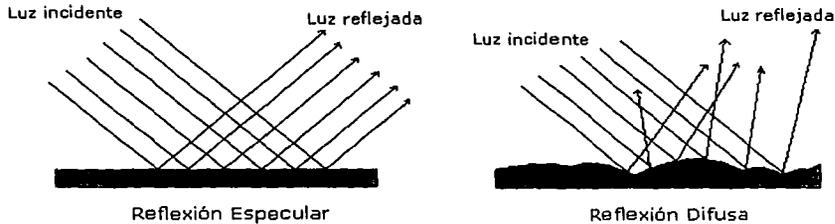


Figura 1.4 Reflexión especular y reflexión difusa.

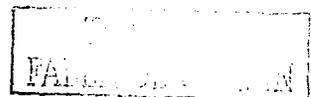
La reflexión y refracción se pueden explicar en función de la radiación que conduce un campo eléctrico oscilatorio asociado con un campo magnético en forma de ondas.

Al hacer incidir un rayo de luz sobre una muestra de una sustancia orgánica, se dan tres fenómenos básicos: reflexión, dispersión y absorción de luz. Ningún material es perfectamente transparente; cuando un haz de luz atraviesa cualquier medio óptico su energía es absorbida parcialmente incrementando la energía interna del material y por lo tanto, la intensidad o potencia del haz por unidad de área es atenuada.

1.2 Interacción de la luz con la materia.

1.2.1 Interacción energética relacionada con la frecuencia.

La interacción de la luz con la materia ocurre en todo el espectro electromagnético, los efectos físicos y químicos de los diferentes tipos de radiación pueden entenderse en términos de las diferencias de energía de sus fotones. En el intervalo de radiofrecuencias la energía fotónica es muy baja y las transiciones energéticas implican la reorientación de los estados de espín nuclear de las sustancias dentro de un campo magnético. En la región de las microondas la energía de los fotones es más grande y podrán producir cambios en los estados de espín



electrónico. En la región infrarroja la absorción de energía produce cambios en los estados energéticos puramente rotacionales y de tipo rotacional-vibracional, mientras que la absorción de radiación correspondiente a las regiones visible y ultravioleta provoca cambios en la energía de los electrones de valencia junto con (en el caso de moléculas) cambios de tipo rotacional-vibracional.

Los rayos X provocan emisión de los electrones internos de la materia y en los extremos de alta energía del espectro, los rayos gamma pueden causar cambios en el núcleo atómico. Las diferentes regiones que constituyen el espectro junto con la naturaleza de los cambios provocados por la radiación se presentan en la figura 1.5.

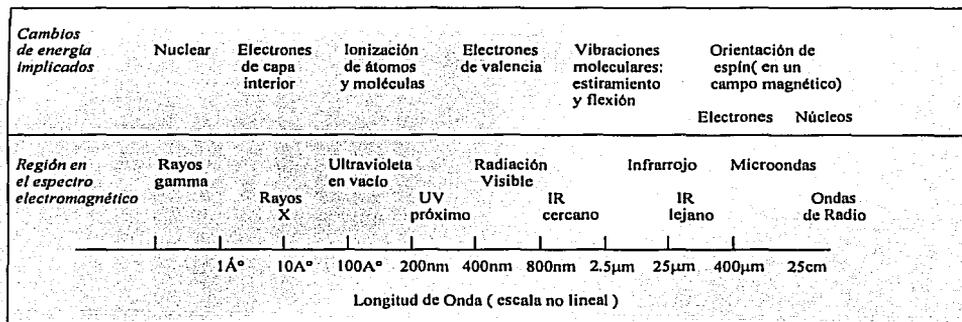


Figura 1.5 Cambios inducidos en la materia debido a la radiación electromagnética.

1.2.2 Absorción de la radiación electromagnética.

Cuando la luz interactúa con una sustancia semi-transparente la radiación se transmite parcialmente, la resultante es reflejada o absorbida, esto dependerá del tipo de sustancia y de la longitud de onda. La radiación absorbida es la de mayor interés espectroscópico, por lo tanto si la intensidad de la luz transmitida se grafica como una función de la longitud de onda se obtendría un espectro de absorción de la sustancia. Esta absorción selectiva forma las bases de aplicación de la espectroscopia para el análisis cualitativo y cuantitativo de muy diversos materiales.



Ya que la luz es una forma de energía, al absorber una molécula un fotón de luz, el resultado es un incremento en el contenido de energía en la molécula. La cantidad de este incremento es exactamente igual a la energía del fotón. Esto es, cuando la molécula se encuentra en su estado basal o normal, al interactuar con la luz hace que se eleve el contenido de energía de la molécula a estados superiores o excitados. Los experimentos demuestran que los cambios de energía producidos por la absorción de luz no son continuos sino que suceden en paquetes discretos llamados "Quantum", que es característico de cada especie absorbente. Por lo tanto, la energía de un fotón corresponde precisamente a la diferencia entre dos estados de energía característicos de la molécula.

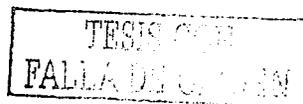
La energía potencial de una molécula se le puede considerar como la suma de sus energías electrónicas, vibratorias y rotatorias. La energía electrónica se asocia con las transiciones de electrones entre orbitales dentro de una molécula o átomo. Las energías vibratorias y rotatorias se asocian con las vibraciones y rotaciones de los átomos de la molécula.

La diferencia de energía entre los estados energéticos rotatorios de una molécula es mucho más pequeña que las diferencias entre los estados energéticos electrónicos. Las diferencias de energía de los estados vibratorios son intermedias entre los electrónicos y rotatorios. Consecuentemente, la absorción de luz asociada con las energías rotatorias es de longitud de onda larga en la región del IR lejano. La absorción asociada con diferencias en los estados energéticos electrónicos son de alta energía, con longitud de onda corta en la región UV-VIS. La absorción debida a diferencias vibratorias se encuentra intermedia y se localiza en la región IR cercana.

Cuando varios tipos de transiciones energéticas se interrelacionan, los estados de energía rotatorios se superponen con los vibratorios y a su vez con los electrónicos, lo que da origen a la estructura fina de los espectros.

Es importante notar que para que tenga lugar la absorción de luz, la energía de un fotón debe coincidir precisamente con una o varias combinaciones de estas transiciones.

La insaturación o enlaces múltiples han sido reconocidos como una característica de las moléculas que absorben en la región UV, mientras que los compuestos saturados son transparentes para este tipo de radiación.



En la teoría de orbitales moleculares, los electrones que forman enlaces únicos se les llama electrones *sigma* (σ) y los que forman dobles enlaces se les llama electrones *pi* (π).

1.3 Efectos del contenido de β -Caroteno en sustancias orgánicas.

1.3.1 El β -Caroteno como compuesto químico.

El β -Caroteno pertenece a la familia de los carotenoides, ampliamente distribuidos en plantas y animales que dan una pigmentación desde amarillo-naranja a rojo. Los carotenoides están formados por carbono, hidrógeno y oxígeno [2]. Sus funciones principales son: actuar como antioxidantes en tejidos orgánicos, así como ser precursores de la Vitamina A, además incrementan las defensas del sistema inmunológico. Estudios recientes indican que altas concentraciones de β -Caroteno en la sangre tienen efecto en la baja incidencia de algunos tipos de cáncer en humanos [9]. Son solubles en lípidos, por ejemplo en las grasas de bovino.

Cada carotenoide se caracteriza por su espectro de absorción. En general, los compuestos orgánicos que solo contienen enlaces sigma son incoloros, es decir, no absorben en la región visible. Por otra parte, los pigmentos muy coloridos, como el β -Caroteno, tienen una sucesión extendida de enlaces sencillos y dobles alternantes, llamado sistema conjugado, como se puede ver en la figura 1.6.

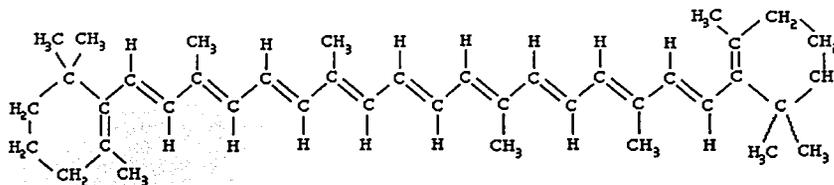


Figura 1.6 Estructura química de la molécula de β -caroteno.

La posición de las bandas de absorción, generalmente tres, está en función del número de enlaces conjugados. Al incrementarse el número de estos, los valores se desplazan a mayores longitudes de onda. Los carotenoides son muy sensibles a la radiación electromagnética, así como a la temperatura, dando como resultado el rompimiento molecular o la fotopolimerización de los pigmentos, cambiando con esto la concentración y por consecuencia la degradación del pigmento [17]. La absorción máxima está afectada por la longitud del cromóforo y para la mayoría de los carotenoides está en el intervalo de 300 a 500 nm.

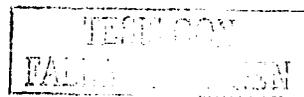
El β -Caroteno presenta una absorción máxima entre los 425 y 495 nm. Todos los miembros de una clase de compuestos que contienen un cromóforo normalmente tienen bandas de absorción de igual intensidad dentro de un rango espectral, la presencia o ausencia de un cromóforo en particular podría depender del espectro de absorción de un compuesto.

Un cromóforo es un grupo que al introducirse en un hidrocarburo saturado produce compuestos que tienen una absorción entre 185 y 1000 nm. La intensidad de la absorción de un cromóforo varía de un grupo a otro, por lo que la absorptividad molar es una medida de la intensidad de una banda de absorción.

En la espectroscopia UV/Vis los compuestos de interés son los que contienen más de un cromóforo y especialmente los cromóforos que se encuentran adyacentes, separados por un enlace C-C se dice que son *Conjugados*. En los sistemas conjugados, a medida que aumenta el número de cromóforos conjugados, hay un correspondiente corrimiento en la longitud de onda de la banda de absorción y su intensidad.

1.3.2 Influencia del contenido de β -Caroteno en el color de una sustancia.

El color de una sustancia orgánica es uno de los efectos que son alterados cuando uno o más carotenoides están contenidos en ella. Estos actúan como compuestos pigmentantes [8] ya que absorben parte de la luz visible y parte la reflejan, por eso proveen colores que van desde verdes como la clorofila hasta amarillos a rojos como el β -caroteno; pero cuando se encuentran contenidos en alimentos éstos tienen una enorme importancia ya que como colorante pueden ayudar a la presentación de un producto, sin embargo hay ocasiones en las que la coloración que presenta el producto va en perjuicio de su aceptación por parte del consumidor.



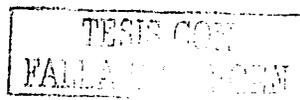
Por ejemplo, en México, la gran mayoría de los bovinos son engordados y finalizados bajo condiciones de pastoreo (CEA, 1999), sin embargo, se ha observado que bajo estas condiciones, el tejido adiposo de las canales de estos animales puede presentar coloración amarillenta debido a la deposición de carotenoides en dicho tejido, como consecuencia del consumo de forrajes verdes por el animal. Los forrajes verdes contienen altas concentraciones de carotenoides que prácticamente no sufren cambios a su paso por el rumen así que son absorbidos y depositados en tejido adiposo ocasionando la coloración amarillenta del mismo [18]. En bovinos, el principal pigmento responsable de la coloración amarillenta del tejido adiposo es el β -caroteno y en segundo grado la luteína.

Knight [13], encontró que la intensidad de color en la grasa de bovino está significativamente relacionada con el contenido de carotenoides. Si la grasa tiene un color amarillento debido a lo anterior, demerita la calidad de las canales, haciéndolas parecer al consumidor como provenientes de animales viejos.

Esto representa pérdidas monetarias enormes para el productor [1], debido a que no existe en los rastros un dispositivo que nos permita evaluar con precisión el color de la grasa en canal ni tampoco cuando los animales aún están en pastoreo, para llevar a tiempo cambios en la alimentación de los bovinos que no afecte la coloración o al menos saber el grado de pigmentación y su posible rechazo en la aduana ganadera.

Debido a que los procesos seguidos por el cerebro humano para percibir el color no están totalmente comprendidos y esto representa una fuerte subjetividad al percibir el color de una sustancia, la naturaleza física del mismo debe ser expresada con bases formales soportadas por resultados teóricos y experimentales.

El color es una propiedad de la materia directamente relacionada con el espectro de la luz visible y que por lo tanto se puede medir físicamente en términos de su energía radiante o intensidad y por su longitud de onda. El ojo humano solo puede percibir colores que se generan en el espectro correspondiente al intervalo aproximado de 380 a 700 nm de longitud de onda; de ahí que la definición de color sea "la parte de energía radiante que el humano percibe a través de las sensaciones visuales que se generan por la estimulación de la retina".



Generalmente el estímulo consiste en una luz reflejada o transmitida por el objeto, a partir de una iluminación incidente.

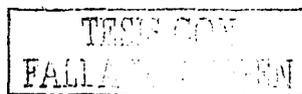
El color es un factor importante para valorar la calidad de un alimento [6], ya que está ligado a su maduración, presencia de impurezas, elaboración inapropiada o defectuosa de un producto, malas condiciones de almacenamiento, comienzo de una alteración por microorganismos etc., es por ello que varias normas oficiales se basan en el color para valorar la calidad de los alimentos. Con ayuda de instrumentos (como los espectrofotómetros o colorímetros), se ha buscado definir, medir y comparar los colores de tejido adiposo en animales de una manera objetiva [27].

Los fisiólogos y los psicólogos determinan los factores que influyen la visión de los colores estableciendo una escala de percepción y posteriormente una correlación entre las escalas de percepción sensorial y parámetros físicos; por otro lado los químicos se interesan por las propiedades[25] de los pigmentos tanto naturales como sintéticos que afectan la visión.

El color de un objeto depende de tres factores: la luz incidente (iluminación), el objeto que refleja o transmite luz y la visión del observador, por lo tanto para medir el color de un objeto se precisa establecer con exactitud las condiciones de iluminación.

La Comisión Internacional de Iluminación definió que un iluminante C corresponde a la luz blanca, este iluminante C posee un espectro bien definido, es decir, una luz blanca perfecta aportaría la misma cantidad de energía para cada longitud de onda, por lo tanto un objeto puede ser caracterizado por su espectro de reflexión. El espectro de luz reflejada por un objeto sometido a determinada iluminación incidente, puede obtenerse multiplicando para cada longitud de onda, la intensidad energética de la luz incidente $I(\lambda)$, por el poder de reflexión (o reflectancia) del objeto $R(\lambda)$ a la misma longitud de onda.

Cabe mencionar que en este caso el espectro de reflectancia puede obtenerse mediante dispositivos especiales para captar reflexión difusa [12], así mismo existen distintos fenómenos de naturaleza psicofisiológica que influyen nuestra visión: por una parte, la adaptación a la luz o a la obscuridad modifica los umbrales de percepción; por otro lado los efectos de contraste o de intensidad luminosa también afectan a nuestra percepción de los colores.



Debido a esta subjetividad en la percepción de los colores se estableció un espacio físico por la Comisión Internacional de Iluminación (CIE L, c, h), mediante el cual se puede saber el color de un objeto a base de tres parámetros que son: 1) el tono ("hue"), rojo, naranja, amarillo, etc. 2) la intensidad o saturación ("chroma") y 3) la claridad o brillantez (luminosidad), situada entre el blanco y el negro, como se observa en la figura 1.7.

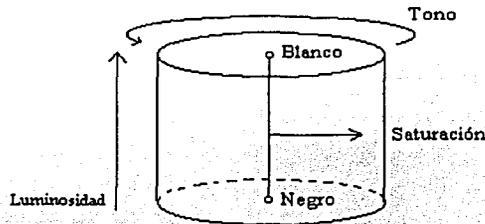


Figura 1.7 Espacio físico L, c, h definido por la comisión internacional de iluminación.

Existe otro sistema donde se seleccionaron como estímulos luminosos fundamentales tres funciones: X , Y y Z cuya suma permite reconstruir por el ojo el color de una cantidad energética unitaria de cada onda monocromática del espectro visible.

Los valores de X , Y y Z , se llaman valores triestímulos del color de un objeto sometido al iluminante C .

El estímulo fundamental Y , fue escogido por la C.I.E. de tal manera que el valor de Y corresponde exactamente a la curva de visibilidad del ojo, como se observa en la figura 1.8.

De esta manera, el valor Y de un color, proporciona directamente la intensidad luminosa fisiológica (para el ojo) con relación a un blanco perfecto.

Existe un sistema (CIE Lab) avalado también por la Comisión Internacional de Iluminación, el cual es utilizado en instrumentos para analizar el color de aquellos productos que son pigmentados [23], por ejemplo pinturas, textiles, plásticos etc... De este sistema se desprenden las coordenadas tridimensionales que son: L, a , y b donde:

L corresponde a Luminosidad, a es el valor promedio para el rango entre del rojo y el verde, b para el rango entre el amarillo y el azul.

Un equipo de colorimetría proporciona directamente estos valores. Desde luego este es un equipo de laboratorio y requiere una preparación especial de las muestras que serán

analizadas; sin embargo todas estas mediciones son puramente convencionales, ya que normalmente bajo condiciones de mediciones en campo los parámetros de iluminación pueden ser muy inestables.

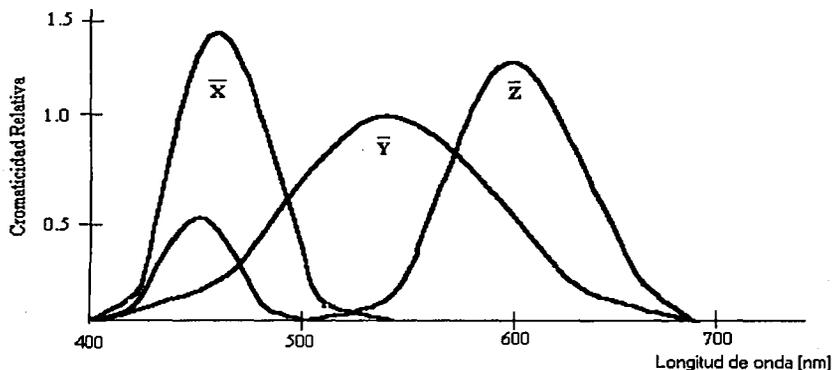


Figura 1.8 Curvas de reconstrucción visual de haces espectrales monocromáticos a partir de iluminaciones primarias de la C.I.E.

1.4 Técnicas de medición de propiedades ópticas en el visible.

1.4.1 Métodos espectrométricos de absorción en el visible.

Las aplicaciones analíticas de la absorción de radiación por la materia pueden ser tanto cualitativas como cuantitativas, la mayoría de las aplicaciones cualitativas de la espectrometría de absorción dependen del hecho de que una especie molecular absorbe radiación sólo en regiones específicas del espectro, en donde la radiación tiene la energía requerida para llevar las moléculas a un estado excitado. Una gráfica de absorción contra longitud de onda (o frecuencia) se llama espectro de absorción de esa especie molecular y sirve como "huella digital" para identificación de compuestos químicos en una sustancia.

El aspecto cuantitativo utilizado en este tipo de técnicas [21] utiliza, en general, la siguiente metodología para el diseño de instrumentos que proporcionan un espectro de absorción de para sustancia en particular:

La potencia radiante de un haz o rayo de radiación es proporcional al número de fotones detectados por unidad de tiempo, mientras que la absorción ocurre cuando un fotón interactúa con una molécula y la lleva a un estado de excitación. Cada molécula tiene un área de sección transversal para captura de fotones y éstos deben atravesar dicha área para interactuar con la molécula. La sección transversal depende de la longitud de onda y de hecho es una medida de la probabilidad de que los fotones sean capturados por una molécula dada.

La velocidad de absorción en el momento que un haz de fotones pasa a través de algún medio depende del número de colisiones por unidad de tiempo, de los fotones con los átomos o las moléculas capaces de absorberlos. Si se duplica el número de moléculas capaces de absorber fotones ya sea duplicando la longitud del trayecto de la radiación a través del medio (paso óptico) o la concentración de esa especie de moléculas, la rapidez o tasa de absorción de fotones se duplica.

De igual forma, al duplicar la potencia del haz se duplica el número de fotones que atraviesa el medio por unidad de tiempo y se duplica también el número de colisiones por unidad de tiempo con las moléculas absorbentes de radiación cuando el número de tales moléculas permanece constante.

Si un haz de radiación monocromática correspondiente a una onda plana de potencia radiante inicial P_0 recorre una distancia infinitesimal dx en un medio capaz de absorber radiación, el decremento en potencia $-dP$, está dado por la siguiente ecuación:

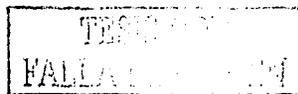
$$-dP = k' P dx \quad (5)$$

ya que el número de especies absorbentes de radiación es proporcional al espesor, pero es independiente de P . La constante de proporcionalidad k' depende de la longitud de onda de la radiación $k' = k'(\lambda)$. La concentración C se ha supuesto constante.

Separando variables en la ecuación 5 se tiene:

$$\frac{-dP}{P} = -d(\ln P) = k' dx \quad (6)$$

Este enunciado matemático se refiere al hecho de que la potencia radiante absorbida es proporcional al espesor que se atraviesa. Ahora bien, si se establece la potencia radiante en $x=0$ y que P representa la potencia radiante de la radiación transmitida (o no absorbida) que resulta del medio capaz de absorber radiación en $x=b$, la ecuación puede ser integrada en toda la trayectoria óptica y por lo tanto tenemos:



$$-\int_{P_0}^P d \ln P = k' \int_0^b dx \quad (7)$$

Obteniendo así:

$$\ln P_0 - \ln P = \ln \left(\frac{P_0}{P} \right) = k' b \quad (8)$$

la ecuación (8), que se conoce como *Ley de Lambert*, simplemente señala que para radiación monocromática proveniente de una onda plana que pasa a través de un medio capaz de absorber radiación, a una concentración constante, la potencia radiante disminuye logarítmicamente a medida que la longitud de paso óptico aumenta aritméticamente.

La dependencia de la potencia radiante respecto de la concentración de especie absorbente puede encontrarse de manera paralela si la longitud de onda y la distancia que atraviesa el rayo en la muestra permanecen constantes.

En este caso el número de moléculas capaces de absorber radiación y que chocan con fotones es proporcional a su concentración C . Entonces tenemos:

$$-dP = k'' P dC \quad (9)$$

y la separación de variables seguida por la integración de $C=0$ a $C=C$ produce:

$$\ln \frac{P_0}{P} = k'' C \quad (10)$$

Esta relación se conoce como *Ley de Beer*. Si tanto la concentración como el espesor son variables, la *Ley de Beer-Lambert* combinada (a veces conocida simplemente como ley de Beer) es:

$$\ln \frac{P_0}{P} = kbC \quad (11)$$

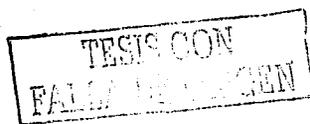
Reemplazando los logaritmos naturales por logaritmos decimales y definiendo una nueva constante a de acuerdo con la práctica aceptada resulta:

$$\log \frac{P_0}{P} = abC \quad (12)$$

La absorbancia "A" se define como:

$$A = \log \frac{P_0}{P} = abC \quad (13)$$

Así mismo la transmitancia "T" se define como:



$$T = \frac{P}{P_0} \quad (14)$$

De manera que:

$$A = \log \frac{1}{T} = -\log T \quad (15)$$

El porcentaje de transmitancia es simplemente igual a $100T$. La constante de proporcionalidad "a" en las ecuaciones (12) y (13) se conoce como *absortividad*.

Si C está dada en gramos de material absorbente de radiación por litro, y b en centímetros, a tiene unidades de $L \text{ g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Si la concentración se usa como molaridad y b está dada en centímetros, la constante de proporcionalidad se llama *absortividad molar* y se simboliza por "ε" Entonces la ley de Lambert-Beer puede ser escrita también como:

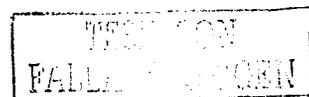
$$A = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon b C \quad (16)$$

donde "ε" tiene como unidades $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Conforme se propaga la radiación a través de una muestra, parte de ella se refleja en cada superficie donde hay cambios en el índice de refracción, así sean muy pequeños. Debido a esto dicha radiación da origen al espectro de reflectancia de la muestra $R = R(\lambda)$ [26], obedeciendo a un comportamiento que se asemeja a las ecuaciones (13) y (15).

Este método de análisis es el fundamento para todos los estudios cualitativos y cuantitativos de espectrofotometría, por lo que basados en este método fue posible establecer el algoritmo matemático para encontrar el comportamiento de la concentración de β-caroteno en muestras de tejido adiposo de bovino [4].

La absorción de radiación por moléculas a longitudes de onda específicas se usa frecuentemente para el análisis cuantitativo debido a la relación directa existente entre la absorbancia y la concentración, descrita anteriormente. La sensibilidad del análisis espectrométrico depende de la magnitud de la absortividad y de la absorbancia mínima que puede ser medida por un instrumento con el grado de precisión requerido.



En este trabajo se diseñó un instrumento que tiene un gran intervalo de medición y precisión a diferentes concentraciones del compuesto químico de interés.

Una gráfica de absorbancia contra concentración en general debe ser una recta que pasa por el origen, y que llega a un punto de saturación donde por más que tengamos un incremento de concentración de un compuesto en una muestra, no habrá cambios notables en la Absorción, como se muestra en la figura 1.9.

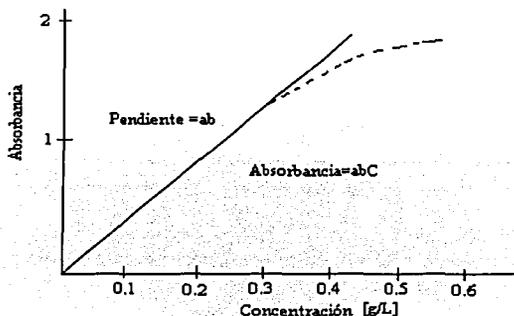


Figura 1.9 Relación entre la concentración de un compuesto y la absorbancia que presenta.

Las bandas de absorción en el visible se estudian generalmente mediante un instrumento de laboratorio denominado espectrofotómetro UV-VIS, que proporciona, la posición de las bandas y las intensidades relativas de éstas, cuyo estudio es importante en el análisis de la estructura molecular y atómica de muchas sustancias. Las escalas de medición de los espectrofotómetros se calibran usualmente para leer tanto absorbancia como transmitancia.

1.4.1.1 Instrumentos espectrofotométricos.

Los espectrofotómetros UV-VIS han resultado ser el instrumento más utilizado en los Laboratorios químicos de todo el mundo. En la práctica, proveen de lecturas de absorción, transmisión y algunos de reflexión. La información esencial para la caracterización de una sustancia química es cualitativa y cuantitativa [28].



Esencialmente, un espectrofotómetro provee una banda estrecha de radiación espectral, comúnmente llamada luz monocromática y mide el grado de interacción entre esta radiación y una muestra. Para cumplir esto se requiere que el espectrofotómetro contenga varios componentes esenciales, entre los componentes básicos se incluye una fuente de radiación, un monocromador, un detector, un amplificador de pequeña señal y un desplegador de lecturas. Los últimos tres integran el sistema fotométrico.

También se cuenta con un compartimiento para celdas; el lugar para esta unidad se encuentra entre el monocromador y el detector, la luz que proviene de la fuente entra al monocromador el cual aísla una banda espectral más o menos angosta que continúa hacia la muestra y dependiendo del grado de interacción (en el proceso de absorción) parte de la radiación es transmitida al detector donde se genera una señal eléctrica proporcional al nivel óptico. Esta señal será amplificada y registrada por un sistema electrónico para proporcionar la información requerida.

El primer componente que será discutido es la fuente luminosa. Idealmente la fuente debe proveer una radiación intensa y estable sobre un rango espectral amplio, debe ser dimensionalmente aceptable, de tamaño razonable, ligera y económica.

El monocromador acepta luz de la fuente, la dispersa y selectivamente la deja pasar a través de una abertura estrecha y de ahí a la muestra.

Idealmente la transmitancia del monocromador debe ser alta para todas las longitudes de onda de interés y debe de proveer bandas de alta pureza sobre un rango amplio de longitudes de onda. La banda transmitida debe ser fácilmente ajustada a cualquier valor deseado dentro del rango espectral deseado y finalmente el sistema monocromático debe ser robusto para resistir los efectos de vibración y otros factores que podrían causar desperfectos.

El corazón del monocromador es el elemento dispersante que separa la radiación de acuerdo a su longitud de onda. Para guiar la luz monocromática se emplean espejos, éstos dirigen la radiación de un punto a punto a otro y en algunos casos tienen la capacidad de enfocar y colimar.

El detector óptico más común en los espectrofotómetros es el fotomultiplicador, que tiene la capacidad de convertir en su fotocátodo la energía radiante en una señal eléctrica junto con 9 o más etapas de amplificación(dínodos), todos dentro del mismo tubo. La sensibilidad, esto es, el



nivel de señal eléctrica generada puede cambiarse simplemente cambiando el voltaje al cruzar los díodos; por lo tanto a un nivel de voltaje dado la señal es directamente proporcional a la intensidad de la luz que choca con el fotocátodo.

Una limitación en los fotomultiplicadores es su respuesta espectral no uniforme en el rango de 200 a 900 nm, su extremada sensibilidad a vibraciones mecánicas y su costo.

En la práctica el efecto neto de la combinación fuente-detector es de suma importancia ya que seleccionando la fuente apropiada uno mismo puede compensar los cambios en respuesta espectral debidos al material del fotocátodo del fotomultiplicador.

La mayoría de los espectrofotómetros están diseñados con rejillas de difracción, éstas se asemejan a un espejo rayado con líneas finas paralelas y cuando un haz de radiación choca con la superficie de la rejilla sucede la difracción.

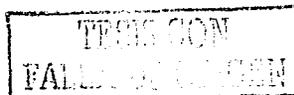
Para cada longitud de onda hay un ángulo de difracción donde los rayos se refuerzan; esto se conoce como interferencia constructiva. A otros ángulos donde los rayos se cancelan se conoce como interferencia destructiva.

La resolución del espectrofotómetro en función de la rejilla, depende de los siguientes factores: el número de orden (n) y número total de líneas (m). A mayor número de líneas por milímetro y a ordenes superiores se obtendrá mayor resolución.

Existen dos tipos de espectrofotómetros UV-VIS: de un solo haz y de doble haz. En el espectrofotómetro clásico en un sistema de un solo haz la medida de transmitancia (%T) o absorción (A) requiere ajuste inicial de la señal de referencia antes de medir la señal de la muestra. La señal de referencia se ajusta a cero de absorción ó 100%T para después colocar la muestra en el haz y efectuar la lectura.

Los sistemas de un solo haz requieren componentes estables dentro de la sección de la fuente y fotómetro.

Este sistema tiene varias ventajas: utiliza los mismos componentes ópticos para referencia y muestra, diseños simples y un precio bajo. Las desventajas son: ajustar continuamente la señal de referencia al medir a varias longitudes de onda, lento cuando se quiere hacer un barrido completo de longitud de onda y poca estabilidad conforme pasa el tiempo.



En un sistema de doble haz, se divide en dos el haz luminoso: uno para la muestra y el otro para la referencia, por lo tanto, los cambios en la fuente y el detector esencialmente se compensan automáticamente, estos sistemas tienen mayor estabilidad óptica.

Una operación común es medir a varias longitudes de onda (barrido); con el doble haz se pueden detectar diferencias espectrales que pueden presentarse durante la corrida entre la muestra y referencia.

La función primaria del espectrofotómetro es determinar el grado de interacción entre la muestra y la luz monocromática, por lo que es uno de los instrumentos más poderosos en el análisis de los compuestos que constituyen una sustancia orgánica. Sin embargo, cualquier cosa que degrade la pureza de la luz o su medida fotométrica afectará significativamente su funcionalidad.

Así mismo, existen otros métodos para el análisis de sustancias orgánicas en solución como la cromatografía de líquidos de alto rendimiento o HPLC (high-performance liquid chromatography), que es una técnica de purificación y separación de compuestos tales como los carotenoides y otros compuestos pigmentantes. También la espectrometría de masas es una técnica muy generalizada que aporta información cuantitativa y cualitativa de la composición atómica y molecular de materiales orgánicos e inorgánicos, es un equipo que produce partículas cargadas eléctricamente, constituidas por iones procedentes de una molécula original, capaz de separarlos de acuerdo con su relación de masa a carga.

Una técnica más es la espectrometría de infrarrojo, en donde parte de la radiación infrarroja incidente es absorbida a longitudes de onda específicas, la multiplicidad de vibraciones que ocurren simultáneamente produce un espectro de absorción muy complejo que es característico de los grupos funcionales que están presentes en la molécula.

Por otra parte, los compuestos orgánicos pigmentantes que dan el color a una sustancia o muestra se pueden estudiar en base a las características físicas del color: como la tonalidad, intensidad y luminosidad, para ello se utilizan técnicas basadas en la colorimetría [14], cuyo propósito es únicamente saber el color de una determinada superficie o muestra sin analizar los



compuestos que influyen en esta coloración y están diseñados para proporcionar básicamente las coordenadas cromáticas de acuerdo a la Comisión Internacional de Iluminación (CIE).

Se ha trabajado también en el reconocimiento y análisis de espectros de sustancias orgánicas a nivel laboratorio para evaluar por ejemplo, la calidad de la carne en animales vivos mediante elementos ópticos acoplados a sensores con fibra óptica [11].

Existen aún más técnicas que se usan en el análisis de sustancias orgánicas, sin embargo todas ellas son de propósito general y normalmente son equipos que se encuentran en Laboratorios[14], no son equipos construidos para mediciones en campo, ya que son muy susceptibles a vibraciones, ruido, contaminantes etc. y tienen un gran costo.

Por lo cual, una vez analizado el estado del arte relacionado con este problema, podemos establecer que hasta el momento no existe ningún instrumento comercial, ni algún otro, que tenga un diseño y construcción similar a este nuevo instrumento y que realice las funciones que se pretenden resolver en este trabajo. Por lo tanto se plantea como objetivos de este trabajo lo siguiente.

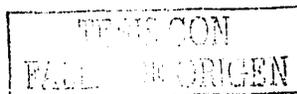
1.5 Objetivo General.

Desarrollar un instrumento electrónico automatizado que proporcione datos precisos de la coloración de una sustancia debida a la concentración de compuestos pigmentantes, que pueda ser utilizado en pruebas de campo, de fácil manejo y bajo costo.

1.5.1 Objetivos Particulares.

1.-Encontrar un algoritmo que relacione la coloración de una muestra de tejido adiposo de bovino en canal con la concentración del agente pigmentante en la muestra.

2.-Proponer el principio físico por medio del cual se medirá el contenido del compuesto químico responsable de la coloración en la muestra orgánica.



- 3.-Diseñar un sistema optoelectrónico que sea capaz de detectar y procesar información sobre el grado de color y proporcione lecturas precisas relacionadas con este parámetro.
- 4.-Construir el sistema de tal forma que sea capaz de realizar mediciones en campo.
- 5.-Realizar la curva de calibración del instrumento.
- 6.-Evaluar los resultados proporcionados aplicándolo a un problema específico.
- 7.-Señalar objetivamente la calidad de la medición dada por este sistema.
- 8.-Acotar sus características metrológicas en base a los resultados.

CAPITULO 2. DESARROLLO DEL SISTEMA DE MEDICION

2.1 Bloques del sistema.

2.1.1 Obtención del algoritmo para evaluar la concentración de β -caroteno.

El algoritmo con el cual es posible obtener la concentración de β -caroteno que contiene una muestra de tejido adiposo, se obtuvo mediante en análisis estadístico de una serie de 180 muestras de grasa cortadas de tres partes del cuerpo de bovinos (maslo, esternón y costilla) en canal, con diferentes tonalidades desde blanco hasta amarillo intenso con un peso promedio de 1 g. Se formaron grupos de 18 muestras desde las más blancas a las más amarillas y se obtuvo el porcentaje de carotenoides (principalmente β -caroteno y luteína) en cada muestra mediante un equipo de laboratorio HPLC(high-performance liquid chromatography) y se relacionó el contenido de estos compuestos con el color presentado por las muestras, se tomó el promedio de cada grupo y se graficaron estos valores, desde las más blancas (1) hasta las más amarillas (10), formando una escala de color arbitraria. Esta escala de color se presenta en la figura 2.1.

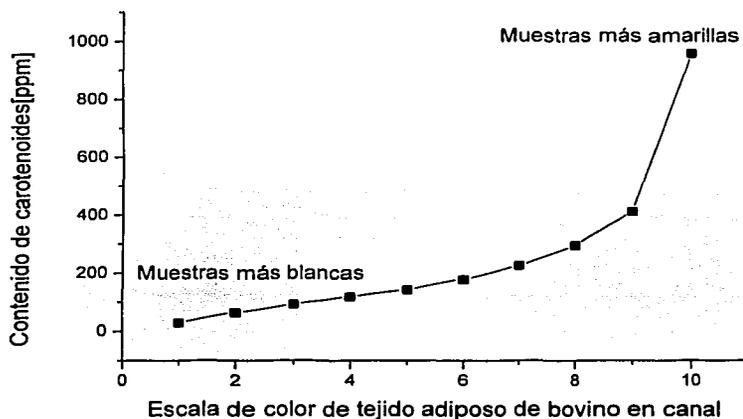


Figura 2.1 Datos de muestras de tejido adiposo que llevaron a la deducción de un algoritmo para establecer una escala de color de la muestra en base al contenido de β -caroteno.

Al mismo tiempo se estudiaron 60 de esas muestras con diferentes concentraciones de β -caroteno, sin contaminación de otros compuestos que pudiesen intervenir en el espectro de interés (como la sangre del bovino). Esto para identificar las bandas de absorción del compuesto. Se pudo identificar que existen tres picos característicos colocados en 417 nm, 480 nm y 540 nm. Los espectros de algunas de esas muestras (1m, 9m, 32m, 52m) con diferente concentración son los que se muestran en la figura 2.2, donde se puede observar que el pico de absorción máxima debido principalmente al β -caroteno en las diferentes muestras se encuentra en 417 nm.

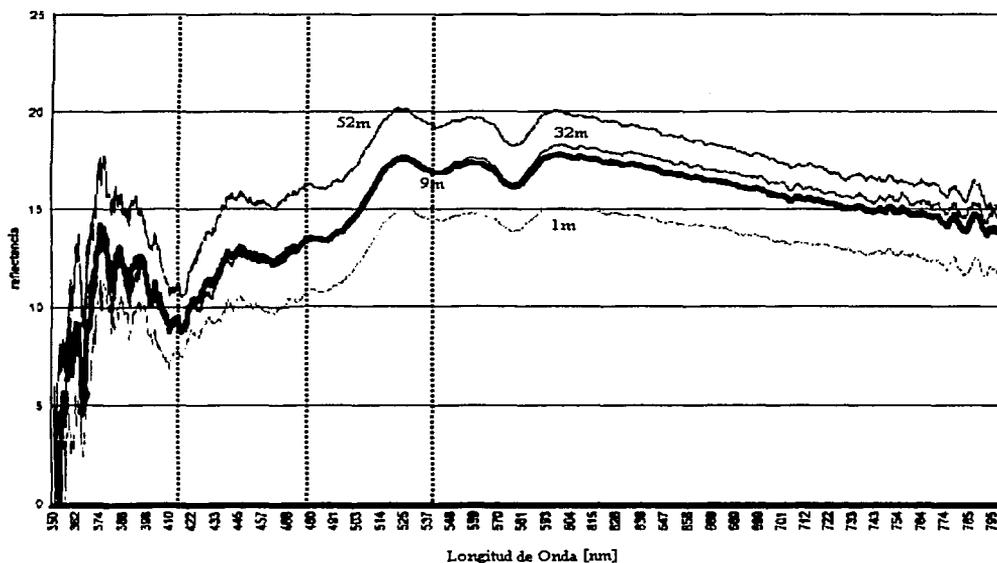


Figura 2.2 Espectro de reflexión de 4 muestras de tejido adiposo a diferentes concentraciones de β -caroteno donde se distingue la banda de absorción con cambios importantes en 480 nm.

También se observa otra banda que varía uniformemente conforme aumenta la concentración de pigmento en la muestra, dicha banda se encuentra justamente donde la reflexión se hace cada vez mayor conforme aumenta la tonalidad hacia el amarillo en la muestra, es decir se presupone que sea la intensidad de color reflejado de las muestras en el amarillo.

Así mismo otra banda espectral que siempre guarda proporción respecto a las anteriores está ubicada en 480 nm aproximadamente [22].

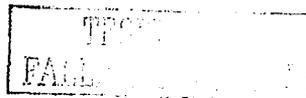
Prácticamente no existen otros valores notables en estos primeros espectros que sirvieron para identificar los picos más pronunciados y saber cual es la relación que guardan entre ellos. Estos espectros se obtuvieron con un espectrómetro UV-VIS marca Ocean Optics modelo S2000, que tiene un rango de detección entre 200-1100 nm. Este equipo provee espectros de absorción, emisión y reflexión en ese intervalo de longitudes de onda.

Así mismo se corroboraron estas mediciones en un equipo HPLC Hewlett Packard (Agilent Technologies) modelo 3100, donde las muestras requieren una preparación especial para que el pigmento sea separado y cuantificado adecuadamente por este equipo.

Las pruebas se hicieron con muestras obtenidas de animales muertos en rastro recién sacrificados. Las condiciones del medio fueron apropiadas, es decir, a una temperatura ambiente y con iluminación blanca de lámparas fluorescentes para evitar al máximo los efectos externos que pudiesen interferir en el análisis de los espectros de tejido adiposo y en la degradación del pigmento [10]. De ahí se dedujeron los primeros datos importantes que se resumen de la siguiente manera:

Se puede establecer que la banda con los cambios más notables en estos espectros de reflexión cuando cambia el color y la concentración del pigmento en las muestras y para fines del método empleado en la medición es la que se encuentra en 480 nm. Los incrementos que ahí se presentan se cuantificaron mediante un sensor óptico colocado en esta posición. Al mismo tiempo se percibe un incremento muy rápido en la salida dada por el sensor a altas concentraciones y mucho muy lento cuando la concentración es muy grande, en este caso cuando se ve una tonalidad muy amarillenta en la muestra.

En la figura 2.3 se muestran espectros de reflexión de 12 muestras de tejido adiposo de bovino escogidas aleatoriamente de las 180 muestras, obtenidos con el mismo espectrómetro S2000 de "Ocean Optics" y haciendo un barrido en el intervalo del visible, con muestras de diferentes tonalidades amarillentas y con diferentes concentraciones de β -caroteno.



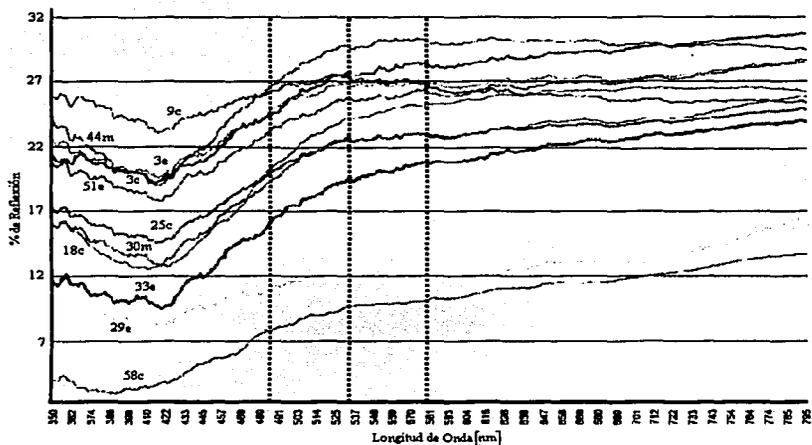
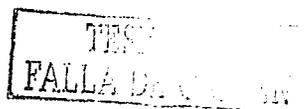


Figura 2.3 Espectros de reflexión de muestras de tejido adiposo que muestran una tendencia particular en cada uno de tres puntos del espectro que están en 480 nm, 540 nm y 580 nm.

Se nota a simple vista una relación inversa entre la banda de absorción debida al pigmento y la banda de reflexión debido al color de la muestra, es decir, cuando más amarilla es la muestra aumenta una de las bandas, mientras la otra disminuye prácticamente en la misma proporción. Para ver que tan significativa es la relación de proporción entre las diferentes bandas de los espectros obtenidos se tomaron los valores en los picos máximos y mínimos de las muestras. Los datos de la tabla 2.2 muestran los valores promedio máximos y mínimos que se presentaron en las 180 muestras que fueron obtenidas de tres diferentes partes del cuerpo de los bovinos (costilla, maslo y esternón).

Valores promedio del total de muestras	Costilla	Esternón	Maslo
Pico más alto del espectro [nm]	586.6	589.5	586.5
Pico más bajo del espectro [nm]	413.1	414.4	409.8

Tabla 2.2 ubicación de las bandas de los espectros de reflexión donde ocurre la máxima absorción y la máxima reflexión en las muestras.



Se pueden apreciar en los valores dados en la tabla anterior, que el pico de absorción mínimo se encuentra en un intervalo cuyo promedio está en 417 nm, mientras que el pico mas alto de reflexión se encuentra siempre en un valor promedio de 580 nm.

El análisis anterior nos lleva a establecer la siguiente **hipótesis**:

“Es posible realizar un instrumento de medición optoelectrónico, que permita evaluar objetivamente la coloración de una muestra de tejido adiposo de bovino en canal y relacionar esa coloración con la concentración del compuesto pigmentante contenido en la muestra, obtenida mediante este instrumento”

Para lo cual es necesario desarrollar un sistema de medición que pueda ser utilizado en pruebas de campo para medir la concentración de un compuesto en particular contenido en una sustancia orgánica y relacionar estos datos con la coloración que presenta la muestra.

Para encontrar un método con el cual se pudiera evaluar satisfactoriamente la coloración de una muestra se analizaron las relaciones entre esas bandas de absorción y reflexión de muestras de tejido adiposo con diferentes concentraciones de β -caroteno y se observó lo siguiente:

Si normalizamos los espectros de reflexión de las muestras al valor en la “banda central” que se encuentra en 540 nm, las bandas laterales, donde los picos de absorción son mínimos y máximos se van acentuando y se comportan de manera inversamente proporcional, es decir, mientras más absorción de la luz blanca tenga la muestra en la banda de 480 nm, la banda en 580 nm se incrementa casi en la misma proporción.

Por lo cual procedimos a aplicar diferentes algoritmos para ver la aproximación que nos daban las lecturas de concentración dada por los instrumentos como el HPLC.

Sin embargo el siguiente razonamiento nos llevó a elegir un algoritmo que tiene muy buena aproximación a las lecturas correspondientes con equipos de laboratorio y que se resume de la siguiente manera: Si trazamos líneas rectas que pasan por los tres puntos (V1,V2,V3), donde ocurren diferencias notables de absorción y reflexión para la mayoría de las muestras, nos dimos cuenta que si "normalizamos" los espectros en la "banda central", observamos que los valores de intensidad de cada banda lateral se mueven en proporción inversa alrededor del punto o banda central, es decir, es como si éstos puntos "rotaran" alrededor de esta banda central, cuando se incrementa la concentración o cuando ésta disminuye, como se observa en la figura 2.4.

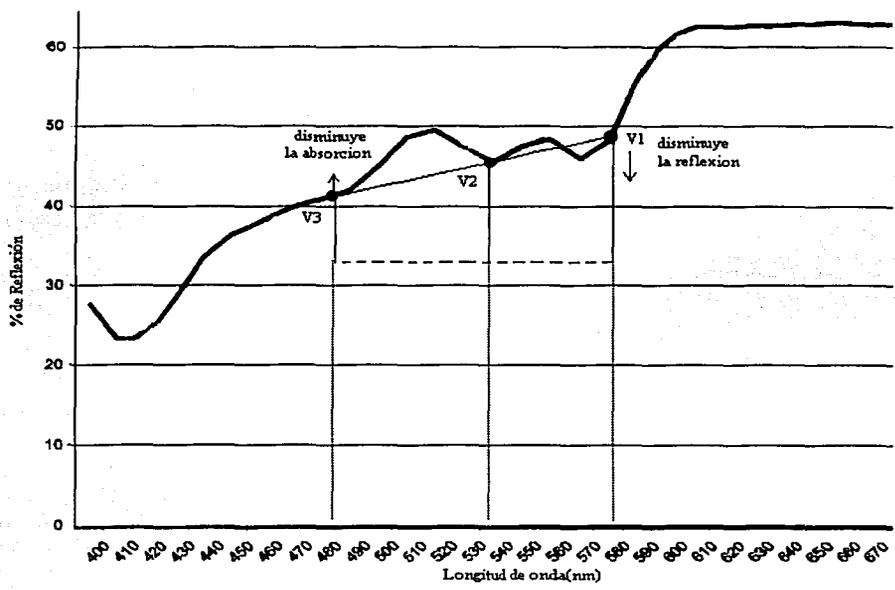
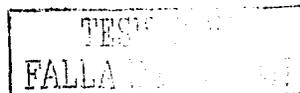


Figura 2.4 Representación de un espectro característico de reflexión de tejido adiposo y tres puntos donde existen cambios notables con el aumento de la concentración de β -caroteno.

Si analizamos los cambios sucedidos de otra manera, llegamos a la conclusión que en realidad lo que hacemos es ver como cambia la pendiente de la curva de cada espectro en esta banda central situada en 540 nm, en el intervalo comprendido que va desde 480 nm hasta 580 nm, es



decir, tomamos los puntos de variación entre 480 nm y 580 nm y valoramos la recta tangente en el punto o banda central; por lo tanto estamos verificando que tan pronunciada es la pendiente de la curva en ese intervalo de medición.

Visto de otra manera, es calcular la derivada de la curva formada por el espectro tomando como puntos en el eje de las ordenadas ($y_2 - y_1$) los valores de intensidad luminosa del espectro de reflexión de la curva en las bandas de 480 nm para y_1 y en valor de intensidad de la banda de 580 nm para y_2 ; tomando como una constante el valor normalizado de intensidad en la banda central situada en 540 nm, que es una banda que permanece constante durante la normalización, ya que no existen cambios significativos en este punto.

Esto lo podemos establecer de la siguiente manera en la ecuación 2.1:

$$m = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1} \approx \frac{V_{580nm} - V_{480nm}}{V_{540nm}} \quad (2.1)$$

En esta ecuación el valor del denominador es constante ya que siempre es normalizado el valor de la banda central a banda de referencia y esta no cambia durante el proceso de medición de diferentes muestras.

Así mismo se observó que los incrementos en las bandas de 480nm y 580nm no son constantes cuando tenemos mucha concentración del compuesto en la muestra, esto es, cuando tenemos poca concentración de β -caroteno en la muestra los incrementos se perciben adecuadamente, pero cuando la concentración llega a un estado de saturación los incrementos tanto de absorción como de reflexión tienen cambios casi imperceptibles.

Debido a este hecho nos propusimos encontrar una función que aproximara la no linealidad de este comportamiento cuando son muestras con alto contenido de β -caroteno. Después de aproximar varias funciones no lineales, como funciones hiperbólicas, funciones polinomiales, logarítmicas, esta última nos dio la mayor aproximación a los valores encontrados con equipo de laboratorio para evaluar la concentración del pigmento en cada muestra de tejido adiposo.

Por lo tanto la función que más se aproxima a los valores de concentración proporcionados por estos equipos y en función de los tres puntos o bandas características en los espectros se resume en la ecuación 2.2:

$$C = \text{Ln} \left(\frac{V_1 - V_3}{V_2} + 1 \right) \approx \text{Ln} \left(\frac{V_{580} - V_{480}}{V_{540}} + 1 \right) \quad (2.2)$$

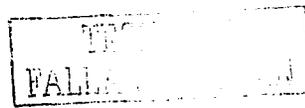
Para muestras con alto contenido de β -caroteno.

Para lograr esto se planteó el diseño de un sistema en el cual se midiera la intensidad luminosa en cada una de las tres bandas de características de los espectros de tejido adiposo conteniendo β -caroteno e implementar un sistema electrónico con el cual se pueda resolver el algoritmo que nos proporciona el contenido de β -caroteno contenido en una muestra.

Por lo que se plantearon diversas formas de resolver este problema. Se optó por desarrollar un sistema basado en un microcontrolador con el cual se pueda implementar la función logarítmica en aritmética de punto flotante para tener una mejor precisión en los resultados. Así mismo obtener tres señales de intensidad luminosa de muy buena calidad en cada banda de interés y hacer el procesamiento de las mismas para proporcionar la lectura de concentración o de color de una muestra o sustancia orgánica conteniendo un compuesto pigmentante.

Se estudiaron diversos microcontroladores, en los cuales se pudiera implementar las rutinas de punto flotante, así mismo, que contara con suficiente memoria de programa para poder incluir estas rutinas, así como los registros dentro del micro para este propósito, que tuvieran el suficiente número de puertos de entrada y salida, al mismo tiempo con un buen manejo de dispositivos periféricos y el costo de los mismos.

Por ejemplo se revisó el MC68HC11 de Motorola, algunos de Intel como el 80C51 de 8 bits y el SAB80C166 de Siemens de 16 bits, resultando con exceso de capacidad y resolución en este último caso, en el segundo con memoria insuficiente para la implementación de punto flotante y en el primero sobrado en la mayoría de sus recursos y falta de mayor resolución en la conversión A/D. Se optó por uno de la familia de Microchip, el PIC16F876 del cual se detallará más adelante su adecuación a este sistema, por los recursos disponibles y su costo.



2.1.2 Esquema general del sistema.

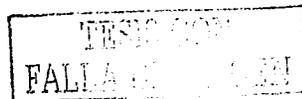
El sistema cuenta con una fuente de iluminación que es básicamente una lámpara de luz blanca de tungsteno-halógeno, la cual está acoplada a una esfera integradora de 3,81cm de diámetro. Esta fuente de luz ilumina uniformemente la muestra a través de una ventana de 1cm de diámetro. Una muestra de tejido adiposo de bovino que contiene cierta concentración de β -caroteno tendrá una tonalidad desde amarillo hasta naranja, esta coloración que toma la muestra está en función de la concentración de β -caroteno, por lo que dicha muestra se encuentra en estado natural, es decir, no necesita una preparación especial, ni tampoco debe estar necesariamente en un ambiente de laboratorio.

La luz reflejada difusamente por la muestra y que lleva la información de la intensidad de las bandas de absorción del β -caroteno, es captada por la esfera integradora. La luz proveniente de la muestra viaja en todas direcciones dentro de la esfera y mediante una lente la enfoca en un punto para introducirla en una fibra óptica de 200 μ m de diámetro con objeto de capturar la mayor cantidad de energía luminosa posible con la información de interés para llevarla hasta el sistema óptico.

La fibra óptica de 2 m de longitud sirve como conducto de luz proveniente de la muestra y está sujeta en ambos lados mediante conectores para fibra óptica del tipo SMA905.

El sistema óptico consta primeramente de una lente acromática doble, colocada a una distancia tal, que permita colimar la luz que entra al sistema óptico desde la fibra óptica, la cual está colocada justamente en el punto focal de la lente. La luz colimada llega a un prisma dispersor equilátero de 25 mm de lado en donde se utiliza una doble reflexión interna para aprovechar al máximo la desviación de la luz en el prisma y se tenga un ángulo de dispersión mayor a la salida del prisma.

Con este prisma se dispersa la luz que viene de la muestra y se obtiene el espectro característico de la muestra analizada. Este espectro es enfocado nuevamente mediante otra lente acromática doble para que cada banda de absorción llegue hasta las ventanas de tres detectores ópticos que tienen un área de detección de 2.09 x 2.09 mm y están colocados precisamente en las tres longitudes de onda que dan información de la variación de la concentración de caroteno en la muestra.



Los elementos del sistema óptico junto con los detectores ópticos se encuentran ensamblados dentro de un compartimiento metálico que les da robustez mecánica para el manejo del instrumento en campo y a la vez los aísla de la luz ambiental, ya que la mínima cantidad de luz externa que entre al sistema influirá en la medición y se tendrán datos erróneos en las lecturas. Los tres detectores ópticos son fotodiodos polarizados en forma fotoconductiva para garantizar una gran linealidad a la salida de cada fotodiodo, el cual está acoplado a un amplificador de transimpedancia que convierte la corriente en el fotodiodo en un voltaje de DC, que es proporcional a la luz incidente en su área sensible.

Estos componentes están integrados en un solo circuito monolítico para evitar en lo posible la corriente de fuga que podrían resultar de la implementación discreta de estos elementos, además del ruido intrínseco en cada uno de los dispositivos por separado. Los componentes principales de este diseño se observan en figura 2.5.

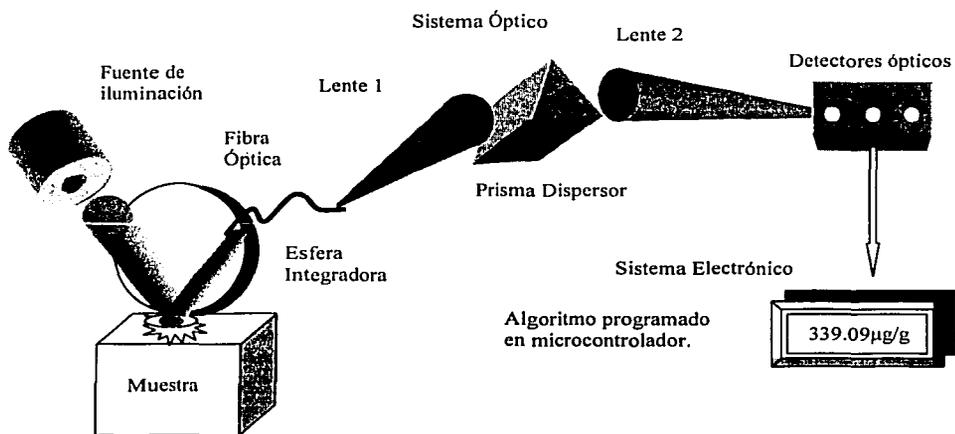


Figura 2.5 Componentes principales del instrumento optoelectrónico.

Cada una de las señales obtenidas son acondicionadas con un amplificador no inversor de bajo ruido OPA227 para darles ganancia suficiente de modo que puedan ser igualadas las tres

intensidades al momento de la calibración, que consiste en colocar una muestra blanca con cero concentración y ajustar las tres intensidades a un valor previamente establecido por la banda de referencia y a partir de ahí hacer las mediciones con valores relativos de cada una de las bandas.

Los valores de intensidad de cada banda son convertidos a su equivalente digital por el convertidor A/D del microcontrolador, con una resolución de 10 bits, suficiente para la precisión y el intervalo de medición requeridos por el sistema.

Los valores de intensidad de los tres canales son procesados mediante un algoritmo matemático implementado en aritmética de punto flotante en el microcontrolador. La función de absorción en la muestra es de tipo logarítmico, basada en la Ley de Beer y se lleva a cabo mediante sustracciones relativas entre los valores de las bandas de absorción y cocientes entre ellas para finalmente aplicar el logaritmo natural al resultado.

Se programó el sistema para el almacenamiento de las lecturas en una memoria EEPROM serial cuando éstas son hechas en campo, ya que los datos se guardarán organizadamente en 4 clases distintas, con información de 100 muestras en cada clase para propósitos posteriores de clasificación por parte de los Médicos Veterinarios.

El algoritmo está diseñado para proporcionar lecturas digitales en una escala de concentración de β -caroteno o de color directamente, apareciendo éstas en un desplegador digital alfanumérico de 16x2 caracteres, en el que se contempla un menú para ir guiando al usuario en la toma de las lecturas.

2.2 Elementos del sistema óptico.

2.2.1 Fuente de luz del sistema.

Todos los cuerpos emiten radiación electromagnética a causa de la agitación térmica de sus átomos y moléculas, esta radiación que es denominada radiación térmica, es una mezcla de diferentes longitudes de onda. A 300°C de temperatura, la más intensa de estas ondas tiene una longitud de onda de 5000 nm que corresponde a la región del infrarrojo; a 800°C un cuerpo emite suficiente energía radiante visible para ser autoluminoso y aparece como "caliente al rojo", sin embargo en este caso la mayor parte de la energía emitida es transportada por las ondas infrarrojas.

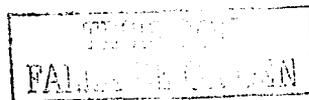
A 3000 K, que es aproximadamente la temperatura del filamento de una lámpara incandescente la energía radiante contiene suficientes longitudes de onda "visibles", entre 400 y 700 nm, para que el cuerpo aparezca como "caliente al blanco".

Las fuentes de radiación para la espectrofotometría de absorción poseen dos condiciones básicas: primero, deben proporcionar la suficiente energía radiante a lo largo de toda la región de longitudes de onda en la que se medirá la absorción, y segundo, deben mantener una intensidad constante por encima del intervalo de tiempo durante el que se realicen las medidas. Si la intensidad es baja en la región donde se determina la absorción, el intervalo de longitudes de onda que pasa a través de la muestra, debe ser relativamente amplio, a fin de obtener el rendimiento necesario de energía.

Esta amplia variedad de longitudes de onda puede producir errores en las mediciones de absorptividad [32]. Para consideraciones de diseño, se debe recordar que la densidad de flujo radiante (en J/cm^2) varía con el inverso del cuadrado de la distancia desde la fuente para haces no colimados y no enfocados.

2.2.1.1 Lámparas de filamento incandescente.

Las mediciones arriba de 350 nm hasta el infrarrojo cercano a 1000 nm, generalmente se realizan con lámparas de filamento incandescente que dan un espectro continuo en todo ese



intervalo. En esas lámparas se calienta un filamento de alambre, generalmente de tungsteno, hasta la incandescencia por medio de corriente eléctrica.

El filamento se encuentra en un bulbo 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 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 llenado. En la envoltura se utiliza el cuarzo para tolerar las altas temperaturas de operación de la lámpara (alrededor de 3500 K). El yodo se combina químicamente en las paredes del bulbo con el tungsteno sublimado desde el filamento. El diioduro de tungsteno (WI_2) resultante regresa al filamento caliente, en donde se descompone repositando tungsteno elemental; el ciclo es continuamente repetido manteniendo limpio el bulbo y grueso al filamento.

Estas lámparas conservan más del 90% de su intensidad inicial a lo largo de su vida útil. La distribución espectral de un filamento incandescente es básicamente la de un radiador de cuerpo negro. De aquí que las mediciones muy lejanas de la longitud de onda pico sean susceptibles a los efectos de la luz difusa debido a la gran intensidad de la radiación de otra longitud de onda.

En este diseño se emplea una fuente luminosa de halógeno-tungsteno que está encapsulada dentro de una esfera integradora de 3.81cm de diámetro y está recubierta con "spectralon" (dopado con sulfato de bario) para tener máxima reflectividad en el interior de la esfera. Ésta tiene una ventana de 1 cm de diámetro que se pone en contacto con la muestra al momento de la medición.

La construcción de esta cabeza sensora permite incluir en la medición tanto la componente de reflexión difusa, que es la responsable del color, así como la componente especular debida a la brillantez de la muestra. En la figura 2.6 se observa la forma del encapsulado de la esfera con los accesorios para la fuente de voltaje de la lámpara y el acoplamiento hacia la fibra óptica.

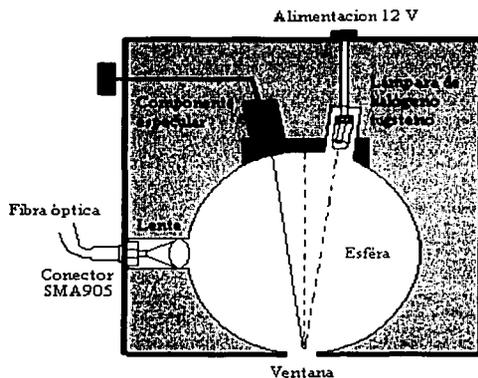


Figura 2.6 Esquema de la esfera integradora y la lámpara de tungsteno-halógeno.

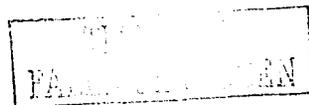
Cuando una muestra es iluminada por la lámpara, se reciben componentes de la reflexión en todas direcciones y son dirigidas a un punto donde está conectada una fibra óptica acoplada al encapsulado mediante conectores SMA 905, que lleva la luz reflejada por la muestra hasta el sistema óptico de detección.

En un segundo conector se recibe directamente la intensidad de la lámpara para utilizarla en los casos donde haya variaciones fuertes de luminosidad y usar esta señal como una referencia del sistema.

La lámpara de tungsteno emite mucha de su energía en el infrarrojo cercano, con un máximo en 900 nm, y cae rápidamente en la región ultravioleta a 1/100 de ese valor en 300 nm.

Sólo 30% de la energía radiante cae en la región visible cuando se utiliza una lámpara a la temperatura de color aparente (o sea aquella a la cual la radiación obtenida es igual a la de un cuerpo negro perfecto) de 2850 K. La temperatura de color de la lámpara utilizada en este diseño está a 3100 K y tiene una durabilidad de 900 horas-uso. La potencia de la lámpara es de aproximadamente 10 W y es proporcionada por una de las fuentes del sistema que de 12 V a 800 mA.

Las lámparas incandescentes son fuentes muy importantes para aplicaciones espectrométricas debido a su excelente estabilidad, más que por su radiancia espectral.



El espectro de emisión de la fuente luminosa usada en este diseño está en un intervalo de 360 a 1600 nm y es como el que se muestra en la figura 2.7.

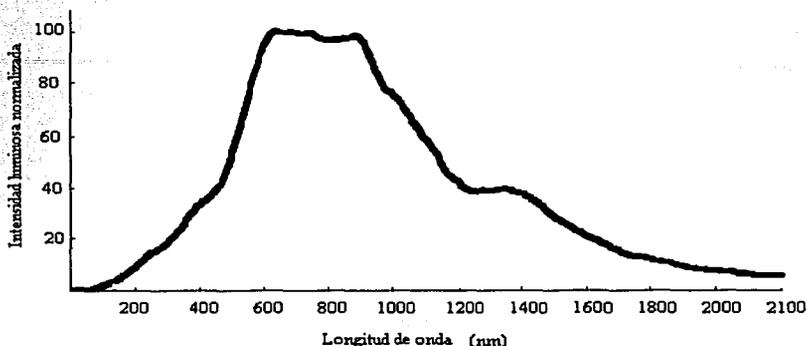


Figura 2.7 Espectro de emisión de la fuente luminosa del sistema.

2.2.1.2 Estabilidad de la fuente de iluminación.

Para estudios espectrofotométricos se requiere una gran estabilidad a corto plazo en la fuente de iluminación incandescente. La intensidad de la radiación de una fuente incandescente es proporcional al voltaje de la lámpara elevado a la cuarta potencia.

A fin de estabilizar la corriente fotoeléctrica dentro de 0.2%, que representa la precisión espectrofotométrica aceptable, el voltaje de las fuentes para las lámparas incandescentes se debe regular dentro de unos cuantos *milivolts*. La estabilidad de la fuente luminosa se logra manteniendo constante el voltaje de alimentación de la lámpara, utilizando reguladores de voltaje electrónicos.

Si se coloca un segundo detector en la ruta óptica y se muestrea una porción de la energía radiante, es posible corregir la salida de la lámpara. De esta forma reduciendo el voltaje de rizo de alimentación de la lámpara se reducen las ondulaciones ópticas hasta 0.1% de pico a pico casi de inmediato. La fuente de iluminación empleada en este caso requiere aproximadamente de 30 minutos para lograr una estabilidad del 99%. Sin embargo es recomendable dejarla encendida 1 hora antes de comenzar a tomar las lecturas.

2.2.2 Acoplamiento de la luz con fibra óptica.

Las fibras ópticas son guías de onda circulares que pueden transportar energía óptica e información. Están constituidas por un núcleo central rodeado por un forro concéntrico de bajo índice de refracción. Las fibras ópticas generalmente son hechas de óxido de silicio con dopantes que modifican el índice de refracción tales como GeO_2 , así mismo llevan un recubrimiento con una o dos capas de material flexible; por ejemplo, la fibra utilizada en este trabajo tiene núcleo de silicio de $200 \mu\text{m}$ de diámetro y está recubierta con PVC azul reforzada con "Kevlar". Para mayor protección ambiental las fibras son comúnmente introducidas en una envoltura de polietileno con un alma de acero.

Mientras el núcleo tenga mayor índice de refracción que el forro, la propagación de la luz será confinada al núcleo, siempre y cuando se cumpla la condición de reflexión total interna, como se observa en la figura 2.8.

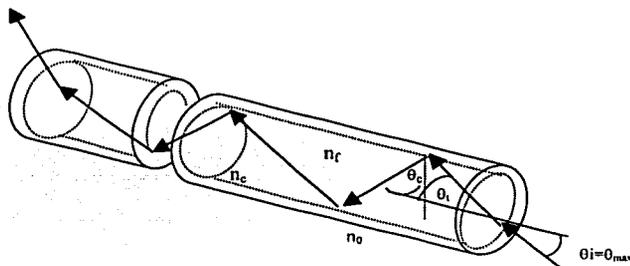


Figura 2.8 Ángulo crítico de entrada del haz luminoso en la fibra óptica.

La geometría de la fibra y su composición interna determinan el conjunto discreto de campos de oscilación electromagnética que se pueden propagar dentro de la fibra [3]. Estos campos son llamados: los modos de la fibra.

Existen dos modos de la fibra que son: modo de radiación y modo de guía. En el modo de radiación se lleva energía fuera del núcleo y esta energía es totalmente disipada, mientras que en el modo de guía se refiere al núcleo que propaga la energía a lo largo de la fibra, transportando información y potencia luminosa.

En el óxido de silicio, el índice de refracción depende de la longitud de onda, por lo que diferentes longitudes de onda viajarán en la fibra a diferentes velocidades. Para acoplar la luz que proviene de la esfera integradora se utilizó fibra óptica multimodo.

La apertura numérica (N.A.) de una fibra, está definida como el semi-ángulo " α " del cono máximo de aceptación de un haz luminoso de entrada capaz de lograr reflexión total interna dentro del núcleo de la fibra.

Dentro de ella, en ángulos menores a θ_c , la luz no se reflejará, sino que se transmitirá hacia fuera de la fibra y se tendrán mas pérdidas, como se observa en la figura 2.9.

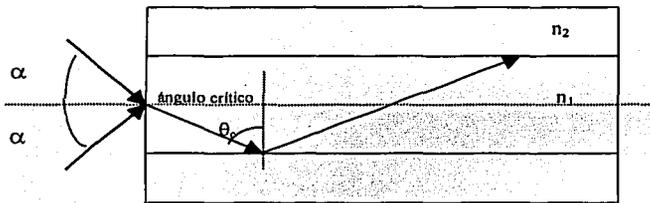


Figura 2.9 Vista lateral que muestra el ángulo crítico interno de un rayo incidente en la fibra.

En ocasiones la apertura numérica indica la facilidad para acoplar luz a una fibra óptica [31]. Ésta se puede calcular con la siguiente relación:

$$NA = \sin \alpha = \sqrt{n_1^2 - n_2^2} \quad (2.3)$$

Siendo 2α , el ángulo total de aceptación, n_1 y n_2 los índices de refracción del núcleo y del revestimiento de la fibra respectivamente.

La fibra óptica utilizada en este sistema tiene una apertura numérica de 0.22 y es para utilizarse en el rango de UV-VIS entre 200 a 800 nm, mide 2m de longitud y tiene un rango de trabajo de temperatura de -20°C a 80°C .

2.2.3 Componentes ópticas.

2.2.3.1 Lentes colimadora y enfocadora.

Las lentes que forman parte del sistema óptico son dobletes acromáticos que permiten trabajar en el todo el intervalo del visible e infrarrojo cercano, ya que eliminan problemas de aberración cromática y esférica. Un doblete acromático consta de dos lentes cementadas: una lente "crown" con bajo índice de refracción (entre 1.5 y 1.6) a una lente "flint" con alto índice de refracción (mayor de 1.75).

Los elementos son escogidos de tal forma que se cancela la aberración cromática, es decir, se empata la longitud focal del sistema para dos longitudes de onda distintas por ejemplo azul y rojo debido a que tienen diferentes índices de refracción y se desvían como se observa en la figura 2.10.

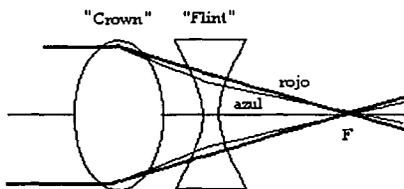


Figura 2.10 Representación de un doblete acromático para dos longitudes de onda.

Las lentes dobles acromáticas tienen significativamente mejor rendimiento que lentes sencillas en aplicaciones en el visible.

Así mismo se utilizó este tipo de lentes ya que es posible eliminar también la aberración esférica, lo que mejora la calidad de las imágenes y en este caso incrementa la eficiencia y resolución del sistema.

Estas lentes están diseñadas para minimizar aberración esférica cuando operan en relación de conjugación infinita. A diferencia de lentes simples, todo esto resulta en una longitud focal prácticamente constante independiente de la apertura y de la longitud de onda. Las lentes acromáticas son cubiertas con una capa antireflectora de MgF_2 para incrementar la transmisión en el visible.

Una característica constante de un medio óptico que describe la relación de su refractividad o capacidad dispersora se conoce como Número Abbe o número "V" y está dado por la siguiente relación:

$$V_d = \frac{n_d - 1}{n_F - n_C} \quad (2.4)$$

El cual se calcula obteniendo los índices de refracción del doblete en ciertas líneas espectrales conocidas como líneas de Fraunhofer que son: en el azul (F=486.1), en el rojo (C=656.3) y como referencia intermedia en (D=589.3). Las lentes "crown" deben tener un número $V \geq 55$, mientras que las lentes "flint" deben tener un $V < 50$.

Para conocer el punto focal del doblete basta con igualar los puntos focales de ambas lentes y calcular los índices del material de las lentes para saber cuales lentes son las complementarias y coincidan en el mismo punto focal.

El diseño del sistema óptico se inició tomando en cuenta el tamaño de la ventana de los detectores ópticos que es de 2.29 x 2.29 mm. Las dimensiones de la lente doble acromática que más se aproxima a las medidas de la cara del prisma dispersor que es de 25mm para aprovechar al máximo el área sensible de los detectores y el poder dispersivo del prisma respectivamente, es una lente doble acromática que es como la que se observa en la figura 2.11.

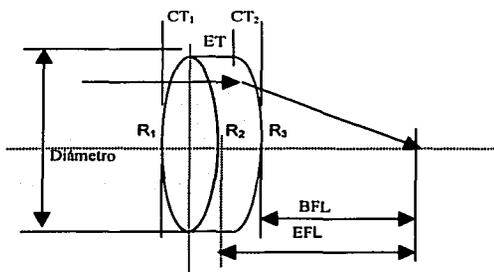


Figura 2.11 Lente doble acromática utilizada en sistema óptico del instrumento.

Dadas las características del tamaño de la ventana sensora de cada detector, fue necesario colocar la lente enfocadora a una distancia de 30cm, con lo cual se eligió una lente con una

distancia focal de 30 cm montada en una pieza hecha de teflón, quedando acorde con el tamaño de la cara del prisma dispersor equilátero que mide 25 mm.

Las características de esta lente están dadas en la tabla 2.3:

Diámetro [mm]	E.F.L. [mm]	Back F.L. [mm]	C.T.1 [mm]	C.T.2 [mm]	E.T. [mm]	Radio R ₁ [mm]	Radio R ₂ [mm]	Radio R ₃ [mm]	Tipo de Vidrio*	Recubrimiento
25	300	297.73	3	2.5	4.89	184.84	-136.06	-393.98	BK7-SF5	M ₀ F ₂

*Catálogo "Edmund Industrial Optics" [5]

Tabla 2.3 Características de la lente enfocadora del espectro dispersado hacia los detectores.

En el caso de la primera lente, es la que permite colimar la luz que proviene de la fibra óptica y acoplarla hasta el prisma dispersor.

Para seleccionar esta lente se utilizaron los datos de apertura numérica de la fibra óptica y las dimensiones del prisma, así mismo por sencillez y economía se eligió otro doblete acromático como en el caso de la primera lente.

La apertura numérica de una lente es similar a la de cualquier sistema óptico y es el ángulo máximo de cono de luz que puede pasar a través de un sistema y está dada por la siguiente fórmula:

$$NA = n_0 \operatorname{sen}\left(\frac{\phi_{\max}}{2}\right) \quad (2.5)$$

Donde n_0 es el índice de refracción del aire.

Una medida de la habilidad de una lente para concentrar luz es el llamado F/número, representada por $f/\#$ también llamada su "velocidad".

La relación de la longitud focal de la lente a su apertura efectiva está dada por:

$$f/\# = \frac{F}{D} \approx \frac{1}{2NA} \quad (2.6)$$

De acuerdo a estas relaciones podemos hacer la elección de la segunda lente con el cálculo siguiente:

$$\phi_{\max} = \operatorname{sen}^{-1}\left(\frac{2NA}{n_0}\right) \quad (2.7)$$

Como dato tenemos que: $N.A. = 0.22$ y $n_0=1$

$$\theta_{MAX} = \text{sen}^{-1} [(2)(0.22)] = 26.10^\circ \quad (2.8)$$

por otro lado:

$$f/\# = \frac{F}{D} \approx \frac{1}{2NA} \quad (2.9)$$

$$\text{entonces: } F = \frac{D}{2NA} = \frac{25\text{mm}}{0.44} = 56.81\text{mm} \approx 60\text{mm} \quad (2.10)$$

Si escogemos una lente con una longitud focal de 60mm, tenemos que:

$$D = \frac{F}{f/\#} = \frac{60}{1/2(0.22)} = 26.94 \text{ mm} \quad (2.11)$$

Una lente que cumple con las características más aproximadas se muestra en la tabla 2.4:

Diámetro [mm]	E.F.L. [mm]	B. F.L. [mm]	C.T.1 [mm]	C.T.2 [mm]	E.T. [mm]	Radio R ₁ [mm]	Radio R ₂ [mm]	Radio R ₃ [mm]	Tipo de Vidrio*	Recubrimiento
18	60	56.79	3.85	2	4.71	42.51	-26.24	-226.77	BaFN10-SF10	M ₀ F ₂

*Catálogo "Edmund Industrial Optics"

Tabla 2.4 Características de la lente que colima la luz que sale de la fibra óptica hacia el prisma dispersor.

2.2.3.2 Un prisma equilátero como dispositivo dispersor de luz.

El efecto de dispersión en un prisma depende en primer lugar del número Abbe del material con el cual está hecho el prisma y en segundo de los ángulos de entrada y salida del rayo central incidente. Debido a la ley de Snell, un haz de radiación que penetra en un prisma con un ángulo de incidencia i , es desviado hacia la normal (perpendicular a la cara del prisma) y en cara por donde sale ocurre el efecto inverso, alejándose de la vertical como se muestra en la figura 2.12.

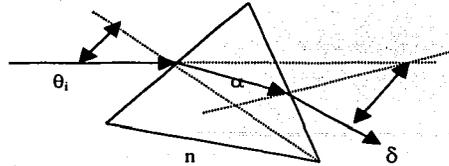


Figura 2.12 Ángulo incidente y emergente en un prisma dispersor equilátero.

El poder dispersivo depende de la variación del índice de refracción con la longitud de onda, en forma inversa al número Abbe, por lo que los prismas dispersores están hechos siempre de vidrios "flint", de bajo número Abbe y alto poder dispersor.

La desviación angular de un prisma depende del ángulo entre facetas α del prisma de la longitud de onda central, del índice de refracción y del ángulo de incidencia θ_i .

La desviación mínima ocurre cuando dentro del prisma el rayo es normal al bisector del ángulo del prisma. Para pequeños ángulos de prisma, la desviación es una constante sobre un rango amplio de ángulos alrededor de la incidencia normal. Para tales ángulos agudos la desviación es:

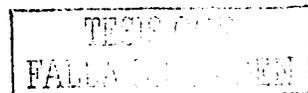
$$\delta \approx (n-1) \alpha \quad (2.12)$$

Por otro lado, el poder de resolución de un prisma está dado por:

$$R = t \left(\frac{dn}{d\lambda} \right) \quad (2.13)$$

Donde t es el ancho de la base del prisma. El poder de resolución está limitado por la anchura de la base del prisma así como por el poder dispersivo del material $dn/d\lambda$. Este último término no es un valor constante del prisma ya que se incrementa desde longitudes de onda grandes hasta longitudes de onda más cortas.

Se requiere el conocimiento del índice de refracción del material dispersante y su variación con respecto a la longitud de onda, o sea la dispersión lineal con la longitud de onda.



Enseguida, se procedió a seleccionar el prisma dispersor equilátero que es mostrado en la figura 2.13. En ella se muestra también el ángulo de incidencia del haz colimado entrando al prisma y la "representación" del espectro dispersado saliendo del prisma para ser enfocado a cada una de las ventanas de los tres detectores mediante la lente enfocadora.

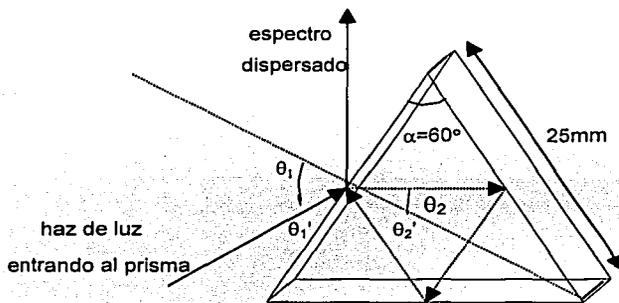


Figura 2.13 Vista del prisma dispersor equilátero utilizado.

Para tener un diseño óptimo, buscamos aprovechar al máximo el poder dispersor del prisma y se optó por un diseño en el que existe una doble reflexión interna dentro del prisma, es decir se aluminizaron dos caras de este y entonces la luz que entra al prisma se refleja en la primera cara, luego en la segunda cara aluminizada y después sale por la misma cara no aluminizada el espectro característico de la muestra analizada. Posteriormente se procedió a calcular la desviación que sufre el haz de luz que viene de la muestra analizada cuando este entra en el prisma y cuando sale ya como un espectro de absorción. Para este propósito se empleó la ley de Snell:

$$n_1 \text{sen} \theta_1 = n_2 \text{sen} \theta_2 \quad (2.14)$$

Si consideramos que el índice de refracción del aire es 1, tenemos entonces que el ángulo que experimenta el haz de luz que entra al prisma debido a la refracción debida al material del prisma que tiene un índice de refracción de 1.722 a 589.3nm es:

$$\theta_2 = \frac{(1) \text{sen} 55^\circ}{1.722} = 28.40^\circ \quad (2.15)$$

Una vez que la luz entra al prisma, las diferentes longitudes de onda del espectro se desviarán con diferentes índices de refracción, siendo para el azul 1.7378 a 486.1nm y para el rojo es de 1.7130 a 656.3nm. Se aluminizaron dos caras del prisma para aumentar el poder dispersivo del prisma en un 5%, ya que con la doble reflexión sufrida por las diferentes longitudes de onda se tiene este incremento en el ancho del espectro.

Las características completas del prisma dispersor utilizado en este diseño son las que se muestran en la siguiente tabla 2.5:

Tipo de Vidrio	Índice de refracción	Número Abbe (Vd)	Densidad (g/cm ³)	Coefficiente de expansión lineal[μm/m°C]	Tamaño de la cara lateral [mm ²]	Tolerancia Dimensional [mm]	Tipo de recubrimiento
SF-18*	1.722	29.3	4.49	8.10	25.0x25.0	±0.1	MgF ₂

*Catalogo "Edmund Industrial Optics"

Tabla 2.5 Características del prisma dispersor para obtener el espectro de absorción.

Una vez que se obtiene el espectro de absorción de la muestra, las longitudes de onda de interés son enfocadas a tres detectores ópticos colocados en la posición de las bandas de absorción del β-caroteno, como se observa en la figura 2.14.

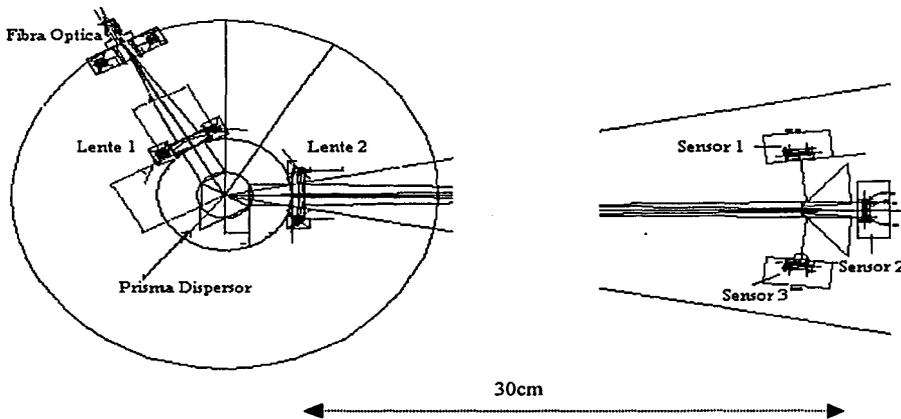
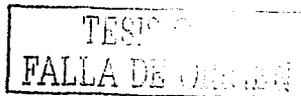


Figura 2.14 Esquema de la posición de los elementos del sistema óptico en el diseño.



2.3 Detección y acondicionamiento de señales.

2.3.1 Detectores Ópticos

Los detectores de radiación electromagnética en el rango espectral de ultravioleta a infrarrojo son llamados detectores de luz. La absorción de fotones por parte de un material sensor puede resultar en una respuesta cuántica o térmica, consecuentemente los detectores de luz se dividen en dos grupos llamados cuánticos o térmicos; los detectores cuánticos operan en el rango espectral del ultravioleta al infrarrojo medio, mientras los detectores térmicos son utilizados en el mediano y lejano infrarrojo donde su eficiencia a temperatura ambiente es mayor que los detectores cuánticos [7].

Los detectores cuánticos (dispositivos fotovoltaicos o fotoconductivos) reaccionan con la interacción de fotones individuales y con la estructura cristalina de materiales semiconductores. La energía de un fotón individual está dada por:

$$E = h\nu \quad (2.16)$$

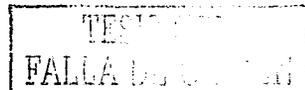
donde: h es la constante de Planck (6.63×10^{-34} J/s o 4.13×10^{-15} eV•s) y ν es la frecuencia de la luz, que para la región "visible" es de aproximadamente 4×10^{14} Hz.

Cuando un fotón alcanza la superficie de un conductor puede generar un electrón libre, parte de la energía E es usada para desprender el electrón de la superficie, mientras que la otra parte se convierte en energía cinética, por lo tanto el efecto fotoeléctrico puede ser descrito como:

$$h\nu = \phi + K_m \quad (2.17)$$

donde ϕ es llamada función de trabajo de la superficie emisora y K_m es la máxima energía cinética del electrón cuando sale a la superficie. La estructura periódica de materiales cristalinos permite establecer bandas de energía para electrones que existen en el material.

La energía de cualquier electrón en el material puro debe ser confinada a una de estas bandas de energía, las cuales pueden ser separadas por "gaps" o rangos de energías prohibidas.



Si un haz de luz de longitud de onda apropiada (con suficiente alta energía) choca con un material semiconductor, la concentración de portadores de carga (electrones y huecos) se incrementa, lo cual se manifiesta en el incremento de la conductividad del cristal, como se ve en la ecuación:

$$\sigma = e(\mu_e n + \mu_h p) \quad (2.18)$$

Donde e es la carga del electrón, μ_e es la movilidad del electrón, μ_h es la movilidad del hueco y n, p son las concentraciones de electrones y huecos respectivamente.

En la figura 2.15 se observan las bandas de energía de un material semiconductor, donde E_g es la magnitud de la energía en [eV] del espacio de la banda prohibida (gap). La banda inferior es la banda de valencia, en la cual se encuentran aquellos electrones en sitios específicos de la estructura del cristal. En el caso del silicio o germanio esos electrones son parte de los enlaces covalentes, que constituyen las fuerzas interatómicas en el cristal.

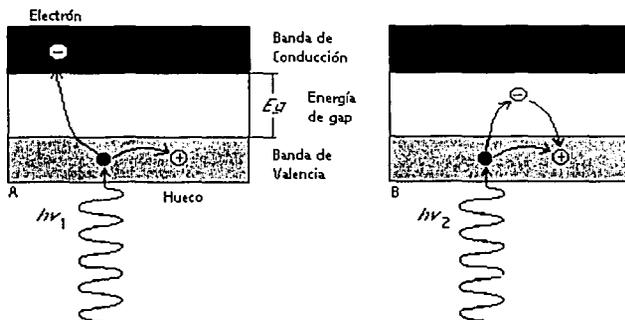
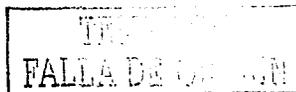


Figura 2.15 Efecto fotoeléctrico en un semiconductor: para alta (A) y baja (B) energía fotónica.

La banda superior es llamada banda de conducción, donde los electrones están libres para emigrar a través del cristal. Los electrones de esta banda contribuyen a la conductividad eléctrica del material.

Las dos bandas están separadas por una banda prohibida o "gap", el tamaño de esta banda determina si es clasificado como semiconductor o como aislador. Cuando el fotón de frecuencia ν_1 choca con el cristal, su energía es lo suficientemente alta para separar el electrón de su sitio de la banda de valencia y pasarlo a través de la banda prohibida hasta la banda de conducción en un nivel de alta energía.



La ausencia de un electrón de la banda de valencia crea un hueco que sirve también como portador de carga, lo cual se manifiesta en una reducción de la resistividad específica del material; por otro lado si la energía no es suficiente para llevar el electrón hasta la banda de conducción y solo alcanza a colocarlo en el "gap", esta energía es liberada sin crear portadores de carga; por lo tanto la energía de "gap" sirve como umbral para conocer la sensibilidad del material a la radiación visible.

Cuando se comparan las características de diferentes fotodetectores, deben ser consideradas las siguientes especificaciones:

a) NEP ("Noise Equivalent Power"): es la cantidad equivalente al nivel de ruido intrínseco del detector, es decir, es el nivel de luz requerido para obtener una señal a ruido igual a la unidad. Debido a que el nivel de ruido es proporcional a la raíz cuadrada del ancho de banda, el NEP se expresa en unidades de:

$$NEP = \frac{\text{corriente de ruido} [A/\sqrt{Hz}]}{\text{sensitividad radiante a } \lambda_p [A/W]} \quad (2.19)$$

b) D^* : se refiere a la detectividad, en un área sensible de 1 cm^2 y ruido en un ancho de banda de 1 Hz:

$$D^* = \frac{\sqrt{\text{área} [\text{cm}^2]}}{NEP} \quad (2.20)$$

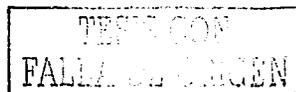
La detectividad es otra forma de medir la relación señal a ruido, no es uniforme en el rango espectral de frecuencias de operación, por lo tanto la frecuencia de muestreo y el contenido espectral deben ser especificados. Por tanto, si la detectividad es expresada en unidades de:

$\text{cm} \cdot \sqrt{\text{Hz}/W}$ entonces puede decirse que el detector con mayor D^* es el mejor detector.

c) Longitud de onda de corte (λ_c): representa la longitud de onda límite de respuesta espectral y frecuentemente indicada como la longitud de onda a la cual la detectividad disminuye en 10% del valor pico.

d) La máxima corriente: es especificada para detectores fotoconductorivos, los cuales operan a corrientes constantes. La corriente de operación nunca debe exceder el límite máximo.

e) El máximo voltaje en inversa: para fotodiodos debe tomarse en cuenta ya que si se excede este voltaje puede causar rompimiento y deterioro severo en el funcionamiento del sensor.



f) *Responsividad ó Sensibilidad Radiante* : es la relación de la fotocorriente de salida(o voltaje de salida) dividido por la potencia radiante incidente a una longitud de onda dada, expresada en A/W o en V/W .

g) *Campo de visión* : es la medición angular del volumen en el espacio donde el sensor puede responder a una fuente de radiación.

h) *Capacitancia de juntura (C_J)* : es similar a la de un capacitor de placas. Esto debe considerarse cuando se requiere alta velocidad de respuesta del detector. El valor de C_J es bajo cuando se tiene polarización en inversa y aumenta cuando se tienen grandes valores de área sensible.

2.3.1.1 Fundamentos básicos de un Fotodiodo.

Los fotodiodos son sensores ópticos semiconductores formados por una juntura np . Cuando son polarizados en modo directo y son expuestos a luz de una determinada longitud de onda, el incremento de la fotocorriente puede ser muy pequeño respecto a la corriente de oscuridad del fotodiodo, pero si es polarizado en inversa dicha fotocorriente se incrementará notablemente.

Los fotones que llegan crean pares electrón-hueco en ambos lados de la juntura; cuando los electrones entran en la banda de conducción inician el flujo hacia el lado positivo de la fuente de alimentación y como consecuencia crean huecos que fluyen a la terminal negativa, lo que significa que existe una fotocorriente I_p circulando por la red. Bajo condiciones de oscuridad, la corriente de fuga I_o es independiente del voltaje aplicado y principalmente es el resultado de la generación térmica de portadores de carga. Por lo tanto el circuito equivalente de un fotodiodo polarizado en inversa es como se observa en la figura 2.16, con dos fuentes de corriente y una red RC .

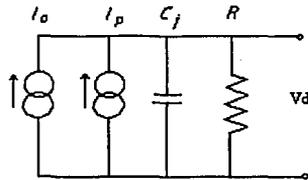


Figura 2.16 Circuito equivalente de un fotodiodo polarizado en inversa.

El proceso de detección óptica implica la conversión de energía electromagnética(en forma de fotones) a una señal eléctrica(en forma de electrones). Si la probabilidad de que un fotón de energía $h\nu$ sea detectado es η , entonces la razón promedio de producción de electrones $\langle r \rangle$ para un rayo incidente de potencia óptica P está dada por:

$$\langle r \rangle = \frac{\eta P}{h\nu} \quad (2.21)$$

La producción de electrones debido a los fotones incidentes a razón constante $\langle r \rangle$ es aleatoriamente distribuida en el tiempo y obedece a estadística de Poisson, ya que la probabilidad de producción de electrones m en algún intervalo de tiempo τ está dada por:

$$p(m, \tau) = \frac{\langle r \rangle \tau^m}{m!} e^{-\langle r \rangle \tau} \quad (2.22)$$

Las estadísticas involucradas con la detección óptica se convierten en importantes herramientas para la determinación del nivel de señal mínima detectable y el nivel máximo de trabajo del sensor. Por lo cual se observa que la corriente en el fotodiodo es entonces, directamente proporcional a la potencia óptica incidente sobre el detector:

$$i = \langle r \rangle e = \frac{\eta e P}{h\nu} \quad (2.23)$$

donde: e es la carga del electrón.

Un cambio en la potencia de entrada ΔP (debida a la modulación de intensidad luminosa sobre el sensor, por ejemplo) resulta en un cambio en la corriente de salida Δi .

2.3.1.2 Característica Voltaje-Corriente de un fotodiodo.

La respuesta Voltaje-Corriente de un fotodiodo se muestra en la figura 2.17.

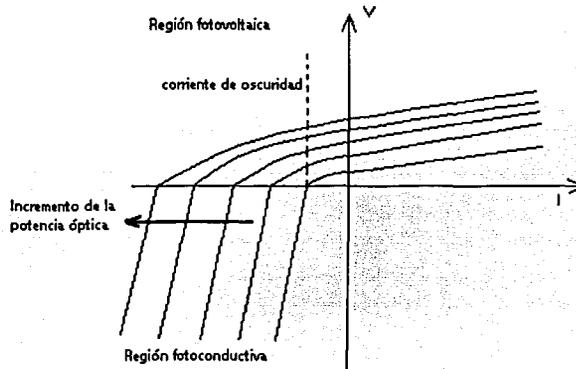


Figura 2.17 Característica Voltaje-Corriente de un fotodiodo

En esa gráfica podemos ver que mientras la potencia es proporcional a la raíz cuadrada de la corriente, la potencia de salida del fotodiodo varía cuadráticamente en relación a la potencia óptica de entrada. Esta curva Voltaje-Corriente del fotodiodo está dada por:

$$i = i_0 (e^{eV/k_b T} - 1) - i_s \quad (2.24)$$

donde i_0 es una corriente de oscuridad en inversa, la cual es atribuida a la generación térmica de pares electrón-hueco e i_s es la corriente debida a la detección de la señal óptica, k_b es la constante de Boltzman y T es la temperatura absoluta. Combinando las ecuaciones (2.21) y (2.22) nos queda:

$$i = i_0 (e^{eV/k_b T} - 1) - \frac{\eta e P}{h \nu} \quad (2.25)$$

la ecuación (2.23), que es la que representa la corriente total en un fotodiodo.

Por otro lado, la eficiencia de la conversión directa de potencia óptica en potencia eléctrica es muy baja; cuando un fotón alcanza la parte sensora del fotodiodo, este puede generar un par electrón-hueco dependiendo de la eficiencia cuántica del dispositivo.

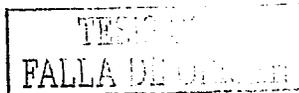
Esta eficiencia cuántica depende de muchos factores, pero en general si la energía del fotón $E=h\nu$, es menor que la energía de "gap" del dispositivo, entonces el fotón pasará a través del dispositivo sin ser absorbido. De otra manera si la energía del fotón es mayor que la energía de gap del dispositivo, esos fotones se absorberán muy cerca de la superficie donde la razón de combinación es alta y por lo tanto contribuye a una fotocorriente. Esta eficiencia cuántica es la responsable de la dependencia de la longitud de onda en la respuesta espectral de un fotodiodo.

Materiales semiconductores como el silicio o el InGaAs poseen diferentes energías de "gap"; consecuentemente ellos exhibirán diferentes eficiencias cuánticas a diferentes longitudes de onda, resultando en perfiles de respuesta espectral únicos para cada tipo específico de material.

Los fotodiodos semiconductores son ideales para hacer mediciones de bajo nivel de intensidad luminosa debido a su alta sensibilidad y características de bajo ruido. Se fabrican fotodiodos para ser usados en forma fotovoltaica (no polarizado), que es propia para detección de señal en altas frecuencias debido a su tiempo de respuesta rápido; o en fotoconductiva (polarización inversa) donde no se requiere polarización externa y el nivel de ruido es del orden del NEP ("*noise equivalent power*"), es decir, se cancela el ruido debido a la corriente de oscuridad y por lo tanto esta configuración es propia para detección de señales luminosas de baja intensidad y baja frecuencia.

2.3.1.3 Fuentes de ruido en un fotodiodo

Las dos fuentes primarias de ruido en el fotodiodo son: ruido "Johnson" y ruido "Shot" (ruido de golpeteo). En el modo fotovoltaico, cuando no llega luz sobre la superficie del fotodiodo, éste entra en equilibrio térmico produciendo ruido térmico aleatorio conocido como ruido "Johnson", que está dado por:



$$I_{Johnson} = \sqrt{\frac{4kTB}{R_{derivación}}} \quad (2.26)$$

Donde k es la constante de Boltzman, T es la temperatura en Kelvin, B es el ancho de banda del detector/amplificador, y R_{shunt} es la resistencia en derivación del fotodiodo. Lo que se puede hacer notar es que en un fotodiodo es deseable una alta resistencia en derivación para reducir el ruido "Johnson".

El ruido "Shot" se genera cuando los portadores de carga atraviesan la juntura del diodo y está dado por:

$$I_{Shot} = \sqrt{2qB(I_{Obscuridad} + I_{Fotodiodo})} \quad (2.27)$$

Donde q es la carga del electrón, $I_{Obscuridad}$ es la corriente de obscuridad ambiental, $I_{Fotodiodo}$ es la corriente debida a la luz incidente en el fotodiodo y B es el ancho de banda del detector/amplificador.

Cuando un fotodiodo es usado en modo fotovoltaico, el voltaje sobre el diodo es prácticamente cero. Consecuentemente, esto elimina también la corriente de oscuridad (dark), que es importante para la calibración del instrumento.

2.3.2 Detector óptico utilizado:

El detector óptico utilizado en este diseño es un OPT101, que es un fotodiodo monolítico de silicio acoplado a un amplificador de transimpedancia, los cuales están encapsulados en un solo circuito integrado, como se observa en la figura 2.18.

Esta integración elimina problemas que se pueden encontrar en un diseño discreto como son: errores por corrientes de fuga en los circuitos impresos, introducción de ruido y capacitancias parásitas.

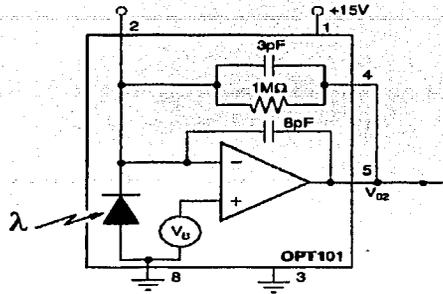


Figura 2.18 Elementos internos contenidos en el detector óptico integrado.

Este detector tiene una área sensible de 0.09x0.09 pulgadas y es operado en forma fotoconduktiva para contar con una buena linealidad a la salida y baja corriente de oscuridad, que es de apenas 2.5 pA. Tiene una curva de respuesta espectral típica de los detectores de silicio que se observa en la figura 2.19, con una sensibilidad de 0.45 A/W a 633 nm y con un pico máximo a 850 nm.

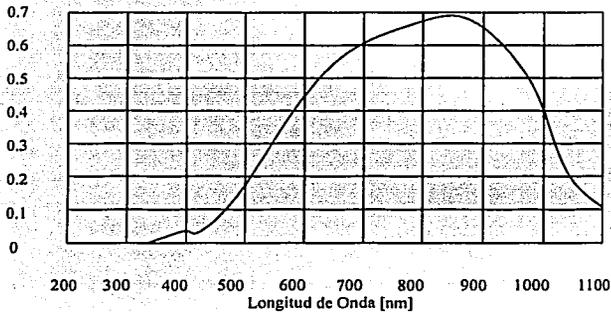


Figura 2.19 Respuesta espectral del detector óptico OPT101.

El ruido en este dispositivo está determinado por las características del amplificador operacional, los componentes en el lazo de retroalimentación y la capacitancia del fotodiodo.

Una condición para alcanzar una buena relación señal a ruido es tener grandes valores de la resistencia de retroalimentación R_F ; pues también se incrementa linealmente la salida, pero por otro lado tenemos que se presenta un incremento en el contenido de ruido, debido a que éste sube proporcionalmente a la raíz cuadrada de la resistencia de retroalimentación.

Así mismo es importante iluminar en su totalidad el área sensible del detector, ya que de no ser así se puede introducir radiación parásita y afectar la medición e incrementar el nivel de ruido ambiental.

La corriente de oscuridad en el fotodiodo OPT101 es de aproximadamente 2.5 pA, y no contribuye en el valor del "offset" en la salida a temperatura ambiente, sin embargo el offset que tenemos a la salida proviene principalmente del pedestal V_B aplicado internamente a la entrada no inversora del amplificador de transimpedancia. Por supuesto que este valor de offset puede ser ajustado a cero, conectando la pata 8 a un valor de tensión negativa y compensar ese valor hasta tener cero volts a la salida cuando no hay iluminación en el detector o cuando el dispositivo es calibrado en oscuridad total del sistema.

Esta tensión negativa debe tener una gran estabilidad pues de ello dependerá que las lecturas sean repetibles y precisas. Para lograr esto se implementó un arreglo con una fuente de corriente constante (REF200) con un valor de 100 μ A y ajustando el valor de tensión requerida con un potenciómetro polarizado con la fuente negativa. Enseguida se pasó a través de un amplificador seguidor de voltaje, el cual tiene como finalidad el acoplamiento de impedancias entre la referencia y el detector para garantizar buena estabilidad tanto de parte de la fuente de alimentación así como de las variaciones de temperatura. Este arreglo es el que se observa en la figura 2.20.

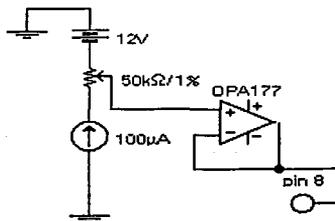


Figura 2.20 Referencia negativa para compensar el "offset" de salida.

La configuración en que se utiliza el fotodiodo OPT101 permite tener una no linealidad de tan solo 0.01% a plena escala, manteniendo uniforme y estable la iluminación sobre el área sensible y teniendo condiciones de temperatura ambiente hasta aproximadamente 50°C, después de este intervalo la no linealidad se incrementa en diferentes porcentajes.

Para obtener lecturas repetibles en el instrumento es importante mantener buena estabilidad en la fuente de luz hacia la muestra, ya que las variaciones de intensidad en cada una de las bandas de absorción cambiarán involuntariamente si existen fluctuaciones en la intensidad luminosa provocadas por la inestabilidad de esta fuente. En una gráfica de sensibilidad del detector (figura 2.21), observamos que la salida de voltaje con respecto a la potencia radiante tiene una buena linealidad, proporcionada en una escala logarítmica aplicada a ambas variables para diferentes resistencias de retroalimentación (a una longitud de onda de 650 nm).

Es importante para fines de diseño de este instrumento que los incrementos en la salida del detector con respecto a incrementos en la señal luminosa de entrada al detector sean proporcionales.

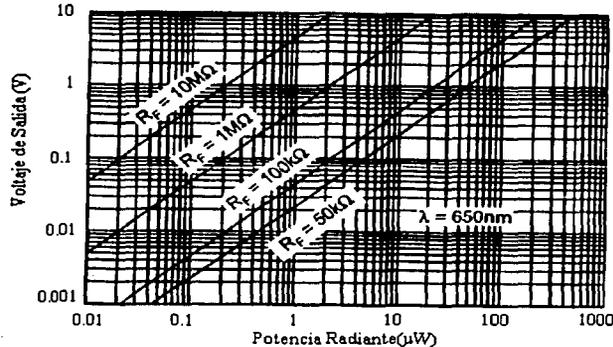
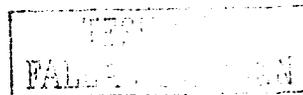


Figura 2.21 Comportamiento lineal de la salida respecto a la potencia radiante.

La salida del OPT101 es el producto de la corriente del fotodiodo I_D por la resistencia de retroalimentación R_F . Un resistor de retroalimentación interno está ajustado a 1MΩ, así mismo están integrados dos capacitores de 3 y 8 pF para proveer compensación de fase debido al



fenómeno inductivo que se presenta en la entrada del amplificador operacional, ya que puede traer consigo inestabilidad cuando se trabaja en alta frecuencia.

Usando el resistor interno de 1 MΩ, la respuesta dinámica de la combinación fotodiodo-amplificador puede ser modelada como un circuito RC con una frecuencia de corte de 14 KHz.

Con los capacitores en paralelo sumando 11pF, y con elementos externos (resistores y capacitores) se pueden alcanzar anchos de banda mayores.

La respuesta dinámica de este detector no está limitada por la velocidad de cambio (slew rate) del amplificador que es de 1 V/μs. El tiempo de levantamiento de 10% a 90% de la señal variará de acuerdo al ancho de banda producido por el valor del resistor de retroalimentación R_F. dado por la siguiente relación:

$$t_r = \frac{0.35}{f_c} \quad (2.28)$$

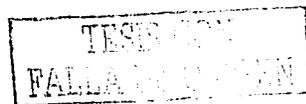
Donde:

t_r es el tiempo de levantamiento de 10% al 90% y f_c es el ancho de banda a -3dB.

La ganancia de la etapa de acondicionamiento de señal, así como la respuesta dinámica del detector dependen de los elementos externos conectados en serie-paralelo entre los pines 4 y 5 del circuito integrado OPT 101. Estos valores están dados por el fabricante y se observan en la tabla 2.6.

R _{EXT} [MΩ]	C _{EXT} [pF]	Ganancia en DC [x10 ⁶ V/A]	Ancho de Banda [KHz]
1	50	2	8
2	25	3	6
5	10	6	2.5
10	5	11	1.3
50	---	51	0.33

Tabla 2.6 Valores de R_{EXT} y C_{EXT} en el detector para el acondicionamiento de la señal óptica.



El presente diseño contempla tres detectores ópticos de este tipo, los cuales son colocados en la posición de las tres bandas de absorción del compuesto analizado, la ganancia que cada uno de los detectores exige está dada por el valor en la curva de sensibilidad del detector óptico a determinada longitud de onda, correspondiente a cada una de las bandas de absorción de este compuesto multiplicado por el valor en la curva del espectro de emisión de la fuente de luz en ese mismo punto.

2.3.3 Etapa adicional de Ganancia

La etapa adicional de ganancia se introdujo por la necesidad de tener valores más grandes de señal a ruido y para poder igualar los valores de intensidad de salida de cada una de las bandas a un valor mínimo al momento de hacer la calibración del instrumento en un patrón blanco. Es decir, tener intensidades iguales en cero concentración de β -caroteno y posteriormente al hacer la medición en una muestra con contenido de β -caroteno, cuantificar las diferencias relativas entre las tres bandas para obtener el valor de concentración del compuesto químico en esa muestra.

Esta etapa se diseñó en base a un amplificador operacional OPA227, este es un amplificador con una densidad de ruido de apenas $3nV\sqrt{Hz}$, adecuado para acondicionamiento de señales ya que tiene una razón de rechazo en modo común de 138 dB, con voltaje máximo de offset de apenas $75\mu V$. Es polarizable desde $\pm 2.5V$ a $\pm 18V$ y tiene un requerimiento de corriente de ± 3.8 mA, lo cual lo hace muy apropiado para uso con baterías en instrumentos portátiles de campo. Se recomienda que el amplificador esté aislado para evitar interferencia electromagnética y protegido de corrientes de aire para no tener corrimientos en la salida por temperatura de operación.

Este amplificador tiene una protección en la entrada de señal con cuatro diodos encontrados que lo protegen de cambios o transitorios extremadamente rápidos, por ejemplo: en una condición de pulso, debido al umbral de encendido de estos diodos, se cortocircuitará en la entrada cualquier transitorio que rebase este umbral de encendido.

Cuando se utiliza este amplificador como seguidor de voltaje o de ganancia unitaria la corriente de entrada debe ser limitada a 20 mA, Esto se logra insertando una resistencia en serie con la fuente de señal, el valor de ésta se calcula con la siguiente ecuación:

$$R_X = V_F / 20mA - R_{Fuente} \quad (2.29)$$

Donde R_X está en serie con la resistencia de la fuente de señal R_{Fuente} y V_F es el valor de intensidad de la señal de entrada.

Se debe tener cuidado especial con el resistor de retroalimentación de esta etapa ya que de su magnitud dependerá en gran medida el ruido que pueda sumarse a la señal principal, la porción resistiva de la impedancia de la fuente de señal produce también ruido térmico que es proporcional a la raíz cuadrada de su resistencia de salida.

En sí mismo el amplificador contribuye tanto al voltaje de ruido como a la corriente de ruido, este voltaje de ruido es comúnmente modelado como una componente de "offset" variante con el tiempo, mientras que la corriente de ruido es modelada como una componente de la corriente de polarización("bias"), que en conjunto con la resistencia de salida de la fuente de señal produce un voltaje de ruido a la salida.

El comportamiento del voltaje de ruido de entrada en el amplificador en función del tiempo se observa en la figura 2.22 y tiene un valor aproximadamente de 90 nV_{p-p}.

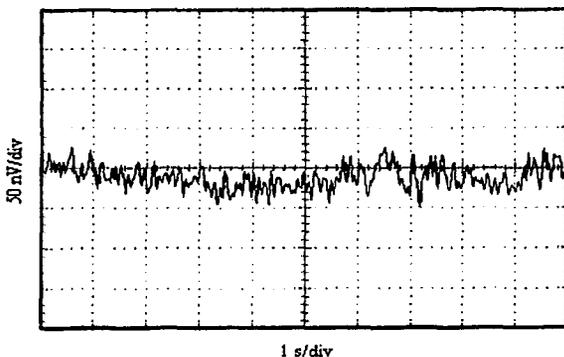


Figura 2.22 Voltaje de ruido de entrada al amplificador de ganancia en función del tiempo.

Este amplificador tiene muy baja contribución de voltaje de ruido, y es ideal para fuentes de señal con bajas impedancias de salida(entre 10 KΩ y 100KΩ). Así mismo en las configuraciones de amplificador inversor y no inversor se presenta diferente contribución de ruido ya que la resistencia de retroalimentación está dispuesta en forma diferente en ambos casos. Para el caso de este diseño se utilizó la configuración no inversora mostrada en la figura 2.23.

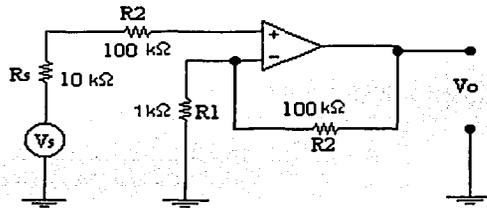


Figura 2.23 Configuración no inversora de la etapa de ganancia y la fuente de señal.

Por lo tanto tenemos una contribución de ruido debido al acoplamiento entre la impedancia de salida de la fuente de señal con la etapa de ganancia adicional [20].

Esta densidad de voltaje de ruido espectral E_o es introducido a esta etapa de amplificación y se evalúa mediante la siguiente relación:

$$E_o^2 = \left(1 + \frac{R_2}{R_1}\right)^2 e_n^2 + e_1^2 + e_2^2 + (i_n R_2)^2 + e_s^2 + (i_n R_s)^2 \left(1 + \frac{R_2}{R_1}\right)^2 \quad (2.30)$$

donde:

$$e_s = \sqrt{4kTR_s} \cdot \left(1 + \frac{R_2}{R_1}\right) \quad (2.31)$$

es el ruido térmico debido a R_s

$$e_1 = \sqrt{4kTR_1} \cdot \left(\frac{R_2}{R_1}\right) \quad (2.32)$$

Es el ruido térmico debido a R_1 .

$$e_2 = \sqrt{4kTR_2} \quad (2.33)$$

es el ruido térmico debido a R_2 .

Donde:

e_n = voltaje de ruido ($3nV/\sqrt{Hz}$)*

i_n = corriente de ruido ($0.4pA/\sqrt{Hz}$)*

* Datos del fabricante (Burr-Brown)

k = constante de Boltzman ($1.38 \times 10^{-23} J/K$)

T = temperatura en °K

Empleando y sustituyendo en las ecuaciones anteriores los valores de cada parámetro en el diseño tenemos que:

$$e_1 = 3.7164 \times 10^{-7}, e_2 = 3.7148 \times 10^{-8}, e_3 = 1.1890 \times 10^{-6}$$

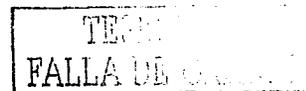
$$E_o = \sqrt{(91.88 \times 10^{-15} + 138.45 \times 10^{-15} + 1.37 \times 10^{-15} + 1.65 \times 10^{-15} + 1396.03 \times 10^{-15} + 16300.28 \times 10^{-15})}$$

$$E_o = \sqrt{1.7928 \times 10^{-11}} = 4.23 \times 10^{-6} = 4.23 \mu V / \sqrt{Hz}$$

Por lo tanto tenemos una contribución total en la densidad de voltaje de ruido espectral a la salida del amplificador no inversor de tan solo $4.23 \mu V / \sqrt{Hz}$ en cada una de las tres señales provenientes de los tres detectores ópticos debida a las resistencias en el lazo de retroalimentación y por la impedancia de la fuente de señal.

También es importante mencionar que para evitar introducción de ruido a través del bus de polarización positivo se colocaron capacitores de "bypass" para desacoplar la impedancia de las fuentes y mantener una impedancia baja cerca de los amplificadores. Cualquier transitorio o ruido de alta frecuencia será atenuado por dichos capacitores, aunque este sea de corta duración. Se recomienda utilizar valores de $0.1 \mu F$ en promedio, de tantalio de preferencia.

Se tuvo especial cuidado en el diseño del circuito impreso para la colocación de los componentes y la geometría de las pistas. Además se introdujo el circuito impreso en un compartimiento metálico para evitar interferencia electromagnética.



2.4 Procesamiento y despliegue de la información.

El procesamiento de la información y control del sistema se lleva cabo mediante un microcontrolador PIC16F876 de la familia de Microchip Systems, el cual cumple con la tarea de la conversión analógica a digital de las señales que se obtienen de los tres detectores ópticos con 10 bits de resolución y posteriormente aplicar un algoritmo matemático implementado en aritmética de punto flotante para obtener los valores de concentración de β -caroteno contenido en las muestras de tejido adiposo de bovino.

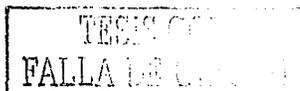
Así mismo, en el microcontrolador se tienen programadas las funciones básicas que realiza el sistema como son: la toma de las lecturas, el guardar o borrar un dato en la memoria, la utilización de la escala adecuada, etc.; estas funciones son ejecutadas desde un teclado de membrana acoplado al microcontrolador.

Una vez que se calcula el valor de concentración, éste se muestra en un desplegador alfanumérico de 16x2 caracteres en la escala pertinente de color o de concentración. Los datos de las muestras tomadas en campo pueden ser almacenados en la memoria EEPROM del sistema.

2.4.1 Características del Microcontrolador

El microcontrolador utilizado en este sistema entra en el campo de los procesadores de 8 bits. Debido a que la característica principal de este sistema de medición es la de ser un instrumento portátil para mediciones de color de grasa de animales en campo, fue necesario elegir un dispositivo que sirviera tanto para control de las señales de entrada/salida, como encargarse del procesamiento de los datos, ya que la función matemática que representa el contenido de β -caroteno en una muestra de tejido adiposo es una función de tipo logarítmico y es necesario manejar aritmética de punto flotante para una mayor precisión.

Por lo que es de suma importancia la capacidad de procesamiento del sistema y también el soporte para el acondicionamiento de dispositivos periféricos al microcontrolador para realizar las funciones de control, adquisición de señales analógicas y/o digitales, el despliegue de la información en un LCD("liquid crystal display"), y el almacenamiento de datos muestreados en memoria.



Las principales características que hacen muy versátil a este microcontrolador son las que se observan en la tabla 2.7 [16].

Frecuencia de Operación	20 Mhz
"Resets"	POR, BOR, (PWRT, OST)
Memoria de programa Flash (palabras de 14 bits)	8 K
Memoria de datos en RAM (bytes)	368
Memoria de datos en EEPROM (bytes)	256
Interrupciones	13
Puertos de Entrada/Salida	A,B,C
Temporizadores(Timers)	3
Módulos de captura, compara y PWM	2
Comunicación serial	MSSP, USART
Puerto paralelo esclavo	-----
Módulo de conversión A/D	5 canales
Conjunto de instrucciones	35 instrucciones

Tabla 2.7. Principales características del Microcontrolador PIC 16F876

2.4.1.1 La arquitectura Harvard en los microcontroladores PIC

El alto desempeño de esta familia de microcontroladores puede ser atribuida a las características avanzadas de su arquitectura comúnmente encontrada en los microprocesadores RISC ("Reduced Instrucción Set Computer"). El PIC16F876 utiliza una arquitectura Harvard, en la cual las instrucciones de programa y los datos son accedidos desde y hacia la memoria utilizando "buses" separados. La arquitectura Harvard también es caracterizada por la ejecución de instrucciones en paralelo mediante la técnica "pipe-line", que ejecuta una, mientras busca la siguiente instrucción y utiliza un ancho de palabra de ocho bits.

Existen otras arquitecturas de microcontroladores que se basan en el esquema tradicional de Von Neumann, el cual tiene las siguientes características:

Una simple disponibilidad de elementos de direccionamiento conteniendo información para ser operada e instrucciones, especificando las operaciones para ser ejecutadas.

Un puntero llamado contador de programa, designando el comienzo de instrucción actual a ejecutar.

Un tipo de arquitectura, la cual repetidamente cambiará el lugar de datos a un registro o campo especificado para ejecutar la instrucción y entonces modificará el contador de programa para otra nueva instrucción, por lo que los datos e instrucciones son accedidos a la misma memoria usando el mismo bus.

2.4.1.2 Organización de la memoria y arquitectura del microcontrolador.

Este microcontrolador contiene tres bloques de memoria, los cuales son: El bloque para memoria de programa, que se observa en la figura 2.24, el bloque para memoria de datos y registros de funciones especiales en RAM; y el bloque para memoria de datos en EEPROM.

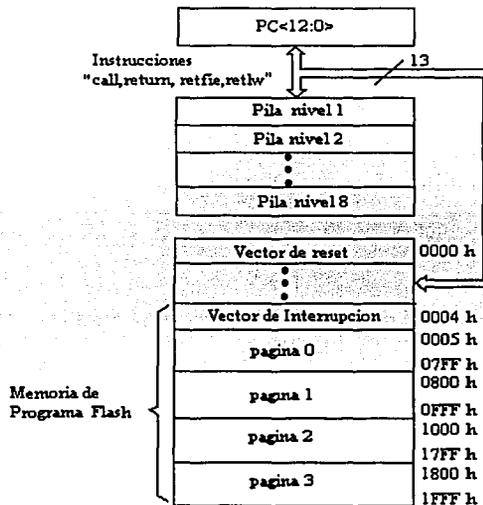


Figura 2.24 Mapeo de la memoria de programa "FLASH" del microcontrolador 16F876

La arquitectura del microcontrolador, así como la interconexión entre los diferentes módulos pueden observarse en la figura 2.25.

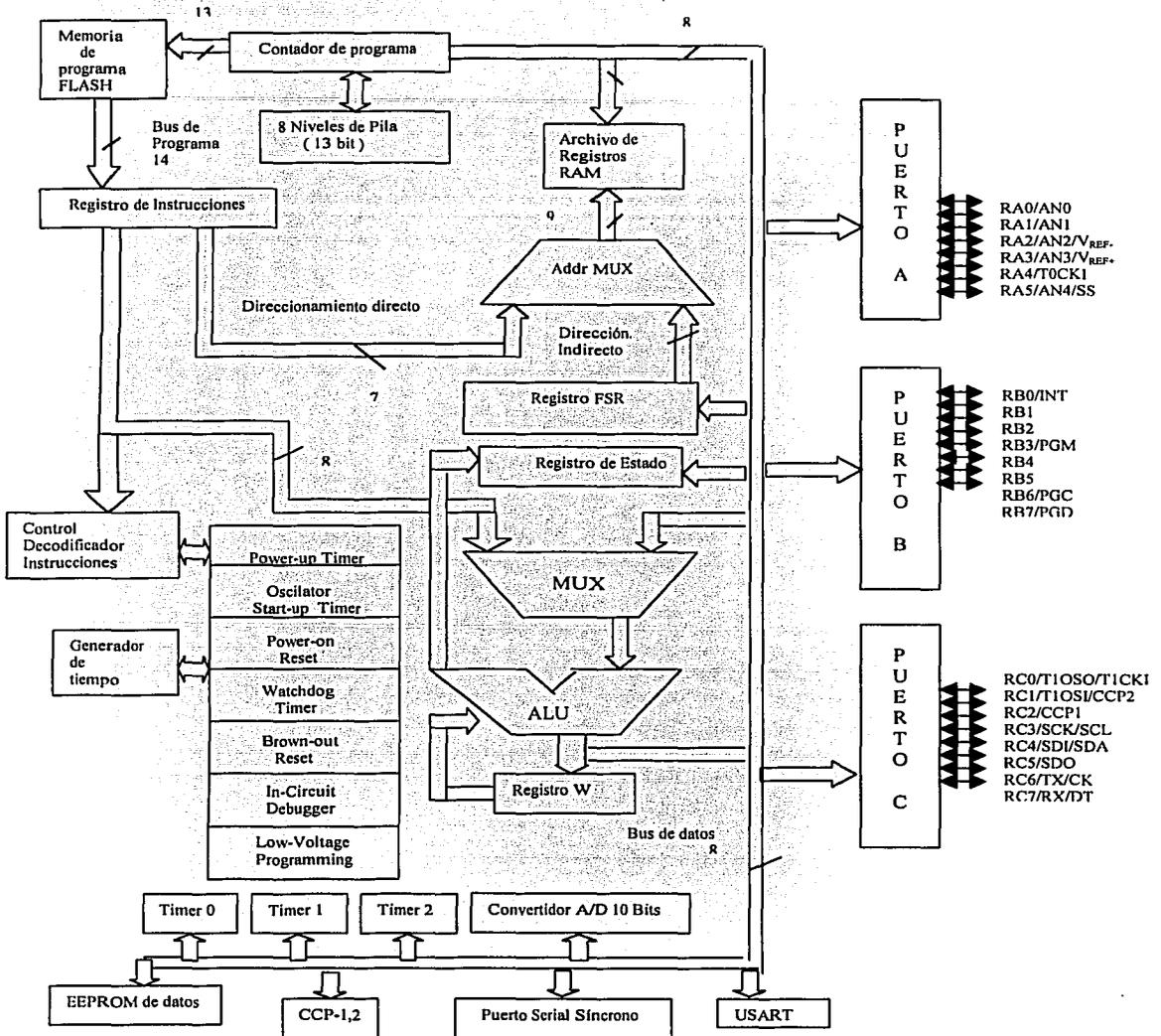


Figura 2.25 Esquema de la arquitectura del microcontrolador PIC16F876

2.4.2 Acondicionamiento de Periféricos

Se acondicionaron algunos periféricos al sistema para hacerlo manejable por el usuario, entre estos periféricos se encuentran un "display" alfanumérico para la presentación de los resultados, el teclado para la programación de las funciones del sistema y memoria EEPROM para el almacenamiento de datos en forma temporal.

2.4.2.1 Pantalla alfanumérica

La operación de la pantalla de cristal liquido se lleva a cabo de la siguiente manera: se conecta paralelamente al Puerto B del microcontrolador y a través de éste se envían los datos que han de exhibirse; con tres bits del Puerto C se controla la escritura del PIC sobre la pantalla, el modelo del desplegador alfanumérico de 16x2 caracteres es TM202ABC6. En la figura 2.26 se muestra un diagrama a bloques sobre el funcionamiento del módulo LDC.

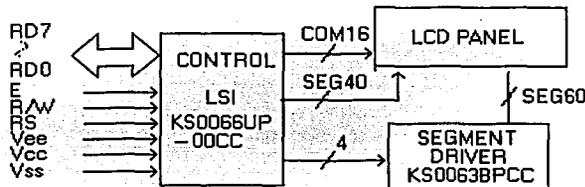


Figura 2.26 Bloques internos de funcionamiento del desplegador alfanumérico.

En la parte izquierda del diagrama ingresan los datos $RD0-RD7$ e instrucciones para su manejo y van directamente a la unidad de control. La descripción de las patillas o pines se muestra en tabla 2.8.

El "bus" de entrada o salida de datos conectado al controlador del "display" KS0066UP-00CC es el único al que el usuario tiene acceso; COM16, SEG40, SEG60 y MANEJADOR DE SEGMENTO KS0063BPCC, son "buses" para controlar el encendido y apagado de los pixeles y segmentos de la pantalla, son operados por controladores propios del módulo LCD y no es

posible escribir directamente sobre ellos desde el exterior. Tiene oscilador interno para ejecución y coordinación de instrucciones de 270 Khz.

El PIC16F876 envía las instrucciones de encendido de la pantalla, movimiento del cursor, borrado de pantalla etc., así como los caracteres enviados en código ASCII, por lo que todos deben cumplir un tiempo de duración mínimo para que el módulo LCD los entienda correctamente.

No. de pata	Símbolo	Nivel de tensión	Descripción
1	Vss	0.0V	Conexión a tierra
2	Vcc	5.0V	Alimentación
3	Vee	0.7V	Tensión de contraste
4	RS	H/L	Selector de registro
5	R/W	H/L	Selector de lectura o escritura
6	E	H/L	Habilitador de instrucción
7	DB0	H/L	Bit0 de datos
8	DB1	H/L	Bit1 de datos
9	DB2	H/L	Bit2 de datos
10	DB3	H/L	Bit3 de datos
11	DB4	H/L	Bit4 de datos
12	DB5	H/L	Bit5 de datos
13	DB6	H/L	Bit6 de datos
14	DB7	H/L	Bit7 de datos
15	LED+	4.2V	Iluminación de fondo (+)
16	LED-	0.0V	Iluminación de fondo (-)

Tabla 2.8 Descripción de los pines del "display" alfanumérico

Se programaron rutinas de lectura y de escritura con los tiempos de entrada y salida de datos compatibles con los tiempos de adquisición proporcionados por el fabricante. Estos tiempos se pueden obtener de las hojas de datos del fabricante. Así mismo la secuencia para las condiciones de escritura o lectura están dadas en estas hojas.

En la figura 2.27 se ve la interconexión entre el microcontrolador con el puerto "B" como salida de 8 bits de datos hacia el desplegador y tres pines de puerto "C" como bits de control de selección de registro, habilitador de instrucción y selección de lectura/escritura.

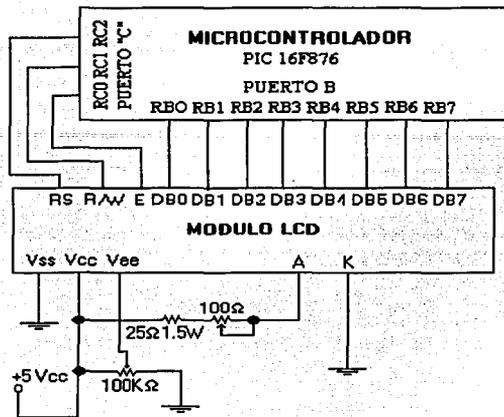
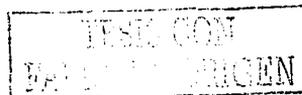


Figura 2.27 Interconexión de datos y control del microcontrolador a la pantalla alfanumérica.

2.4.2.2 Teclado de Membrana

Las funciones principales del sistema como la toma de lecturas de concentración o de color, así como la calibración del instrumento son programadas desde un teclado matricial de membrana, con el cual es posible manejar un menú presentado en la pantalla alfanumérica e ir realizando la toma de lecturas adecuadamente. Se trata de un teclado matricial de membrana al tacto de cuatro filas y cuatro columnas modelo 1600, de la marca RAPID CIRCUIT el cual resulta indispensable para la interfaz con el usuario.

Como se tienen dieciséis números binarios distintos, después de la tecla nueve, las literales de la A a la F son usadas para almacenar datos en la EEPROM, así como ordenar los datos en clases para propósitos de clasificación y realizar los pasos necesarios para la calibración. Para acondicionar este elemento al microcontrolador es necesario codificar cada una de las teclas e instrucciones que serán interpretadas por el sistema.



En este caso se utilizó un circuito integrado que convierte cada pulso de las teclas a su número equivalente binario y así el microcontrolador puede leer datos e instrucciones y las ejecuta.

El circuito integrado MM74C922 de National Semiconductor es ideal para un teclado matricial de 4 columnas y 4 renglones. De esta manera el programa en el PIC, para lectura, se cambia por un código de conversión de números decimales a valores hexadecimales con los que trabaja el microcontrolador. El teclado y el codificador se encuentran conectados al microcontrolador como muestra la figura 2.28.

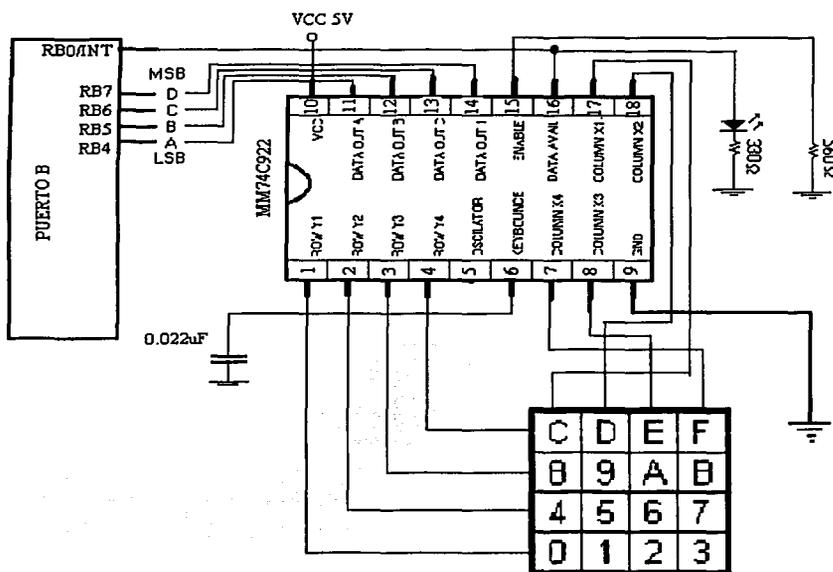
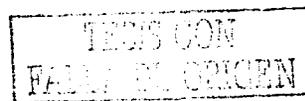


Figura 2.28 Acondicionamiento de un teclado matricial para el manejo del instrumento.

Es conveniente poner un led que indique si hay alguna tecla activada en el teclado, una resistencia de 560 Ω conectada a tierra pone siempre habilitada la operación del decodificador de teclado.



Una vez que funciona el teclado con su codificador, el cual entrega 16 valores binarios y el cero, estos serán convertidos internamente a valores en hexadecimal para que sean procesados por el microcontrolador.

El led indicador sólo se enciende mientras una tecla permanece presionada, al mismo tiempo a través del resto de pines es entregado el valor correspondiente de la tecla; una vez soltada la tecla y apagado el led, el valor binario permanece todavía en las entradas del PIC.

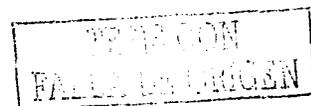
Al encender el led también se indica al microcontrolador que es el momento en que debe leerse el valor. Ya conectado, los números del 0_b al 15_b abarcan los cuatro bits más significativos del Puerto B en el microcontrolador.

También este PIC tiene pines que pueden atender interrupción externa, en este caso se localiza en la Puerto B. Por el RB0/INT (pin 0 del Puerto B) se pide petición de interrupción externa al oprimir una tecla, lo que habilita el valor ingresado por los bits más significativos del puerto. Los datos codificados del teclado ingresan al microcontrolador y se comparan con valores previamente establecidos para identificar la tecla presionada y entonces ir a la rutina que realice la tarea indicada por la tecla.

Las teclas marcadas como A, B, C, D, son utilizadas como teclas de selección y clasificación de datos dentro de la EEPROM, van acompañadas de un número para reconocer la lectura de cada muestra que van de 0a 99 en cuatro diferentes clases que son A,B,C,D.

2.4.2.3 Memoria EEPROM

Una de las maneras de almacenar los datos de las lecturas hechas en campo es acondicionando memoria EEPROM al microcontrolador. Como la información de la lectura de concentración de pigmento se encuentra en formato de punto flotante de 24 bits necesitamos 3 registros de 8 bits por dato. Para ello se utilizó el módulo MSSP(módulo del puerto serial síncrono) del microcontrolador, con el cual se puede transmitir información a memoria, programando la comunicación serial de dos o tres hilos y acondicionando memorias EEPROM seriales. Los pines de entrada y salida de la memoria utilizada corresponden a la figura 2.29.



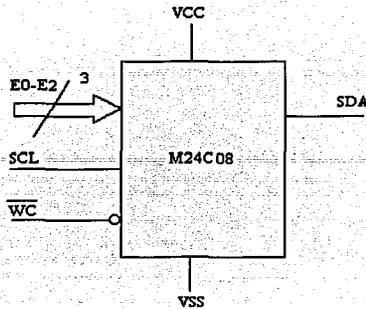


Figura 2.29 Entrada de datos, reloj y de control en la memoria EEPROM serial.

Los pines E0-E2 corresponden a las entradas de selección del dispositivo y depende de la capacidad de este dispositivo, al cual en este caso por ser de 8K le corresponde un código E0=1 ó 0; y los Bits E1 Y E2 no se conectan, con lo cual los dos dispositivos pueden ser seleccionados, uno a la vez, para escribir sobre una determinada memoria o leer la misma.

La comunicación llevada a cabo entre la memoria y el microcontrolador es de tipo síncrono, es decir, el maestro genera una señal de reloj de 100 KHz misma que comparte con la memoria para ejecutar sincronizadamente acciones de lectura y escritura sobre ésta. La forma en que se sincroniza el maestro con las dos memorias esclavas debe corresponder a los intervalos de tiempo de las señales de reloj con las señales de transferencia de datos, como lo indica la figura 2.30, en la que se detalla los tiempos en que transcurren las señales y los tiempos en que éstas cambian de un estado lógico a otro.

En este diseño se configuró la transmisión serial I²C("inter integrated circuit") que es parte del módulo serial síncrono del PIC16F876 y se programó el microcontrolador como maestro y dos memorias seriales como esclavos. Cada una de esas memorias tienen una capacidad de almacenamiento de 1024 x 8 bits.

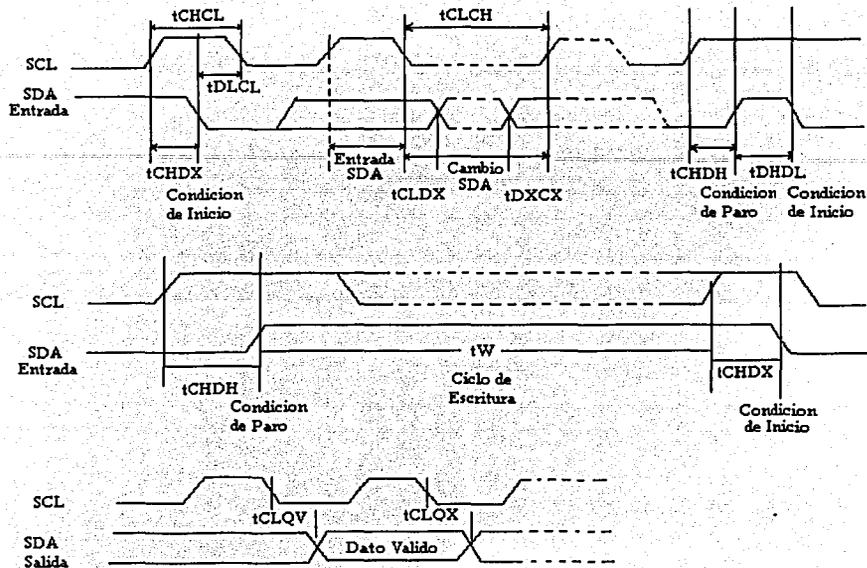
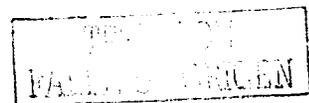


Figura 2.30 Secuencia de tiempos en los ciclos de lectura y escritura en la memoria EEPROM.

Una vez establecidos los tiempos de ejecución entre el microcontrolador y la memoria en los ciclos de lectura y escritura se procedió a entablar el protocolo de comunicación serial de dos hilos (I²C) entre los dos dispositivos.

La transferencia comienza con la condición de inicio y termina con la condición de paro, ambas condiciones las genera el maestro y la primera consiste en un flanco descendente en SDA, mientras SCL tiene un nivel alto; la condición de paro es un flanco ascendente mientras SCL tiene un nivel alto. Los datos que se colocan en la línea SDA son de 8 bits, que comienzan con el MSB y terminan con el bit de menos peso, al cual le sigue el noveno bit que es el de reconocimiento (ACK), que es generado cada vez que el esclavo reconoce o identifica la información que le corresponde sobre el bus. Para el caso del transmisor SDA=1 y en el caso del receptor SDA=0 en dicho impulso de reloj, prevaleciendo sobre la línea el nivel bajo.



El primer "byte" que envía el maestro tras la condición de inicio contiene la dirección del esclavo con el que se desea realizar la comunicación, pero en realidad la dirección sólo contiene 7 bits y el octavo "bit" se utiliza para indicar la operación a realizar, ya sea lectura o escritura R/W. Esto puede verse en la figura 2.31.

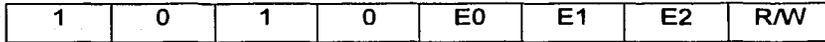


Figura 2.31 "Byte" de selección y control para una memoria EEPROM de 8K.

Una vez que el microcontrolador ha mandado este código sobre el bus, cada una de las memoria lo compara con el propio, activandose la comunicación con este elemento. La memoria responde con un bit de reconocimiento(ACK). El siguiente "byte" es de la dirección en la memoria donde se escribirá o se leerá el dato. Se manda primero el MSB y al final el LSB, respondiendo el dispositivo nuevamente con un bit ACK.

En la secuencia siguen los "bytes" de datos, en el caso de escritura, que puede ser "por byte" o "por página". En el caso de esto último, una vez que es llenada toda la memoria, si se siguen enviando datos se reescribirán al inicio de la misma nuevamente. Cada vez que se envía un "byte", por cada dato se recibe un bit de reconocimiento como se muestra en la figura 2.32.

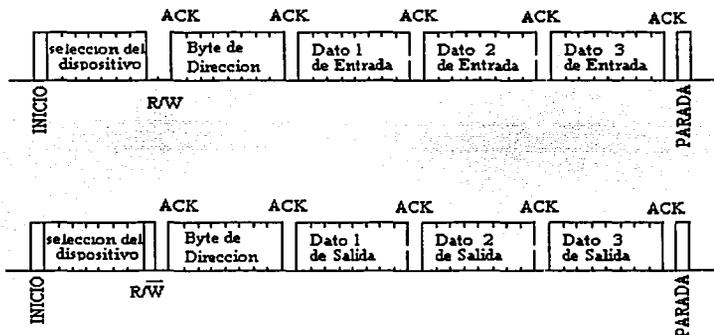
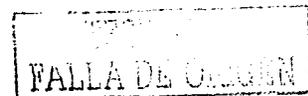


Figura 2.32 Secuencia de transmisión y recepción de datos del microcontrolador a la memoria.

Por último se envía un "bit" de paro para indicarle a la memoria que ya se terminó la comunicación y que el bus queda libre para cualquier otro dispositivo.



El acondicionamiento de estos periféricos al microcontrolador se realizó mediante la configuración de los registros necesarios para el manejo de los módulos con los que cuenta el PIC16F876, la capacidad de memoria y programando las rutinas e interrupciones necesarias en cada caso. El programa en lenguaje ensamblador es mostrado en el anexo A. En él también se implementó la utilización de las rutinas de punto flotante para realizar el cálculo de la concentración de la concentración de β -caroteno en la muestra y mostrar en la pantalla alfanumérica este valor o un número en una escala de color arbitraria. La forma en que se realizan las operaciones en aritmética de punto flotante se explica a continuación.

2.4.3 Operaciones aritméticas de punto flotante

Muchos lenguajes de programación de alto nivel tienen una opción para especificar números de punto flotante. La manera más común es especificarlos mediante un enunciado de declaración *real*, en oposición a números de punto fijo, los cuales se especifican mediante un enunciado de declaración *entero*.

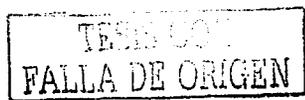
Cualquier computadora que tenga un compilador para el lenguaje de programación de alto nivel debe tener la posibilidad de manejar operaciones aritméticas de punto flotante [15]. Con mucha frecuencia se incluyen las operaciones en la circuitería interna. Si no hay circuitería disponible para las operaciones, el compilador debe diseñarse con un paquete de subrutinas de punto flotante. Aunque el método de circuitería interna es más caro, el que se incluye en la mayoría de las computadoras es mucho más eficiente que el método de programas y la circuitería de punto flotante solo se omite en las muy pequeñas.

2.4.3.1 Consideraciones básicas

Los registros utilizados en un procesador para el manejo de aritmética de punto flotante constan básicamente de dos partes: una mantisa m y exponente e . Las dos partes representan un número obtenido de multiplicar m veces una raíz r elevada al valor de e ; por lo tanto:

$$m * r^e \quad (2.34)$$

La mantisa puede ser de fracción o un entero.



La posición del punto de base y el valor de la base r se asumen y no se incluyen en los registros. Por ejemplo, si consideramos una representación fracción y una raíz de 10, el número decimal 537.25 se representa en un registro con $m=53725$ y $e=3$ y se interpreta para representar el número de punto flotante: 0.53725×10^3

Un número de punto flotante se normaliza si el primer número más significativo de la mantisa es diferente de cero. De esta manera, la mantisa contiene la cantidad máxima posible de dígitos significativos. Un cero no puede normalizarse porque no tiene un dígito diferente de cero. Se representa en punto flotante mediante todos ceros en la mantisa y en el exponente.

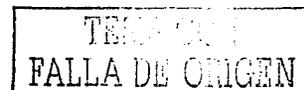
La representación de punto flotante aumenta el intervalo de números que pueden alojarse en un registro dado. Consideremos un procesador con palabras de 48 bits. Como debe reservarse un bit para el signo, el rango de los números enteros de punto flotante será $\pm (2^{47} - 1)$, lo cual es aproximadamente $\pm 10^{14}$. Los 48 bits pueden usarse para representar un número de punto flotante con 36 bits para la mantisa y 12 para el exponente.

Al considerar la representación de fracción para la mantisa y al tomar los dos bits de signo en consideración, el rango de números que pueden alojarse es: $\pm (1 - 2^{-35}) * 2^{2047}$

Este número se deriva de una fracción que contiene 35 "números 1", un exponente de 11 bits (excluyendo su signo) y el hecho de que $2^{11} - 1 = 2047$. El número más grande que puede alojarse es aproximadamente 10^{615} , el cual es un número muy grande. La mantisa puede alojar 35 bits (excluyendo el signo) y si se considera como un entero puede almacenar un número tan grande como $(2^{35} - 1)$. Esto es aproximadamente igual a 10^{10} , el cual es equivalente a un número decimal de diez dígitos.

Los procesadores con longitudes de palabras más cortas utilizan dos o más palabras para representar un número de punto flotante. Una microcomputadora de 8 bits puede utilizar cuatro palabras para representar un número de punto flotante. Se reserva una palabra de ocho bits para el exponente y los 24 bits de las otras tres palabras se utilizan para la mantisa.

Las operaciones aritméticas con números de punto flotante son más complicadas que con números de punto fijo, y su ejecución requiere más tiempo y un "hardware" más complejo.



Para sumar o restar dos números en punto flotante, primero es necesario alinear el punto de base, porque la base de los exponentes deben volverse iguales antes de sumar o restar las mantisas.

El alineamiento consiste en alinear una mantisa mientras se ajusta su exponente, hasta que es igual al otro exponente. Por ejemplo, en la suma de los siguientes números de punto flotante dados:

$$\begin{array}{r} .5372400 * 10^2 \\ + .1580000 * 10^{-1} \end{array}$$

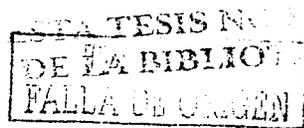
Es necesario que los dos exponentes sean iguales antes de que puedan sumarse las mantisas. Podemos recorrer el primer número de tres posiciones a la izquierda o el segundo número tres posiciones a la derecha.

Cuando se almacenan las mantisas en registros, el corrimiento a la izquierda produce una pérdida de los dígitos más significativos y el corrimiento a la derecha produce una pérdida de los dígitos menos significativos. El segundo método es preferible porque solo se reduce la exactitud, en tanto que el primer método puede producir un error.

El procedimiento de alineamiento usual es recorrer a la derecha la mantisa que tiene el exponente más pequeño una cantidad de lugares igual a la diferencia de los exponentes. Después que se hace esto, puede sumarse la mantisa.

$$\begin{array}{r} .5372400 * 10^2 \\ + .0001580 * 10^2 \\ \hline .5373980 * 10^2 \end{array}$$

Cuando se suman dos mantisas normalizadas, la suma puede contener un dígito de sobreflujo. Este sobreflujo puede corregirse con facilidad al recorrer la suma una vez a la derecha e incrementar el exponente. Cuando se restan dos números, el resultado puede contener una mayoría de números 0 significativos, como se muestra en el siguiente ejemplo:



$$\begin{array}{r}
 .56780 * 10^5 \\
 - .56430 * 10^5 \\
 \hline
 .00350 * 10^5
 \end{array}$$

Se dice que un número de punto flotante que tiene un 0 en la posición más significativa de la mantisa, tiene un *sobreflujo inverso*. Para normalizar un número que contiene un sobreflujo inverso, es necesario recorrer la mantisa a la izquierda y decrementar el exponente hasta que aparezca un dígito diferente de cero en la primera posición. En el ejemplo anterior, es necesario recorrer a la derecha dos veces para obtener $0.35000 * 10^3$. En la mayoría de los procesadores, se ejecuta un procedimiento de normalización después de cada operación para asegurar que todos los resultados están en su forma normalizada.

La multiplicación y la división de punto flotante no necesitan un alineamiento de las mantisas, puede formarse el producto al multiplicar las dos mantisas y sumar los exponentes. La división se realiza al dividir las mantisas y restar los exponentes.

Las operaciones ejecutadas en las mantisas son las mismas que con los números de punto fijo, por lo que los dos tipos pueden compartir los mismos registros y circuitos. Las operaciones ejecutadas con los exponentes son comparar e incrementar (para alinear las mantisas), sumar y restar (para multiplicar y dividir) y decrementar (para normalizar el resultado). El exponente puede representarse en cualquiera de las tres formas siguientes: magnitud de signo, magnitud de complemento a 2 con signo ó de complemento a 1 con signo.

Un cuarto tipo de representación que se utiliza en muchas computadoras se conoce como exponente polarizado, en esta representación, se evita que el bit de signo sea una entidad separada. La polarización es un número positivo que se suma a cada exponente mientras se forma el número de punto flotante para que internamente todos los exponentes sean positivos. La ventaja de los exponentes polarizados es que sólo contienen números positivos, por lo que es más sencillo comparar su magnitud relativa sin preocuparse de los signos.



Como consecuencia, puede utilizarse un comparador de magnitud para apreciar la magnitud relativa durante el alineamiento de la mantisa.

2.4.3.2 Representación de números en punto flotante

La representación en punto flotante está basada en la notación científica, donde el punto decimal no se halla en una posición fija dentro de la secuencia de "bits", sino que su posición se indica como una potencia de la base.

En la figura 2.33 se observa la forma en que se representa un número en forma decimal y en forma de punto flotante.

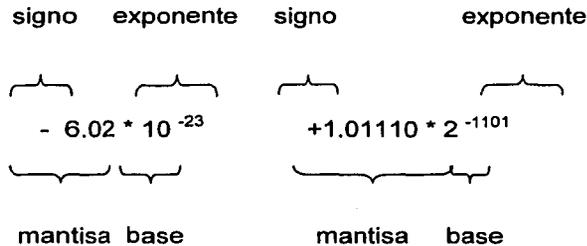


Figura 2.33 Representación de un número en forma decimal y en forma de punto flotante.

En todo número en punto flotante se distinguen tres componentes:

- (a) Signo: indica el signo del número (0 = positivo, 1 = negativo)
- (b) Mantisa: contiene la magnitud del número (en binario puro)
- (c) Exponente: contiene el valor de la potencia de la base (polarizado)

La base queda implícita y es común a todos los números, la más usada es 2.

El valor de la secuencia de "bits" ($s, e_{p-1}, \dots, e_0, m_{q-1}, \dots, m_0$) es: $(-1)^s \cdot V(m) \cdot 2^{V(e)}$

Dado que un mismo número puede tener varias representaciones:

$0.110 \cdot 2^5 = 110 \cdot 2^2 = 0.0110 \cdot 2^6$, los números suelen estar normalizados. Un número está normalizado si tiene la forma $1.xx \dots \cdot 2^{xx}$ ó $0.1xx \dots \cdot 2^{xx}$.

Dado que los números normalizados en base 2 tienen siempre un 1 a la izquierda, éste suele quedar implícito (pero debe ser tenido en cuenta al calcular el valor de la secuencia).

El formato de punto flotante de 32 bits (base 2, normalizado) se muestra en la figura 2.34

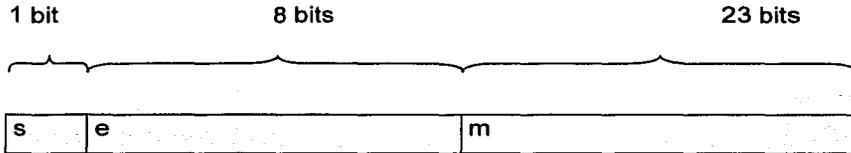


Figura 2.34 Formato de punto flotante de 32 bits, base 2 normalizado.

2.4.4 Fundamentos matemáticos de punto flotante basados en el estándar IEEE 754.

Las rutinas matemáticas para los microcontroladores PIC de microchip son modificaciones del estándar IEEE 734 que está en formato de 32 bits a formato reducido de 24 bits. Los formatos y métodos de aproximación atienden los conflictos usualmente encontrados en la velocidad de ejecución contra consumo de memoria para alcanzar la precisión estimada. Así mismo las rutinas aritméticas en formato de 32 bits están disponibles y constituyen precisión extendida para las versiones de 24 bits.

2.4.4.1 Evaluación en forma binaria de una función matemática.

La evaluación de funciones elementales y funciones matemáticas complejas son parte importante del cálculo computacional en la ciencia y la tecnología. Así mismo la solución por series de Taylor de muchas funciones de interés son totalmente conocidas y por lo general no son el método más óptimo para resolver con alta eficiencia la evaluación de la función.

Muchas otras soluciones están disponibles, pero el escoger la más adecuada dependerá de la velocidad relativa al realizar las operaciones en aritmética de punto fijo o de punto flotante implementada en el sistema.

Por otro lado la precisión en aritmética de punto fijo es usualmente discutida en términos de error absoluto, mientras que los cálculos en punto flotante son analizados usando error relativo. Dada una función f y la aproximación p de esa función, el error absoluto y error relativo están definidos por:

$$\text{error absoluto} \equiv |p - f| \quad (2.35)$$

$$\text{error relativo} \equiv \left| \frac{p - f}{p} \right| \quad (2.36)$$

En aritmética binaria, el criterio de error absoluto refleja el número de "bits" correctos a la derecha del punto binario, mientras que un error relativo estándar determina el número de "bits" significativos en una representación binaria y está dado en forma de un porcentaje.

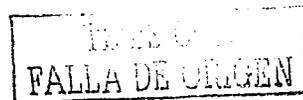
En el formato reducido de 24 "bits", la disponibilidad de rutinas aritméticas de precisión extendida permite una exactitud de 0.5 "ulp" (un medio de la unidad en la última posición), que refleja un error relativo estándar que es típico de muchas operaciones en punto flotante.

Las versiones de 32 "bits" no pueden cumplir con esto en todos los casos, la ausencia de aritmética de precisión extendida requiere de pseudo técnicas para aplicar este estándar. Aunque esto es muy poco notable en la mayoría de los casos, el peor caso de error relativo es usualmente menor que 1 ("ulp") para el formato de 32 "bits".

Muchas de las aproximaciones en punto flotante en la familia de microcontroladores PIC16FXXX, utilizan aproximación polinomial minimax o racional minimax con reducción de rango y alguna segmentación del intervalo sobre el argumento transformado. Tal segmentación es empleada solo cuando ocurre naturalmente de la reducción de rango o cuando se gana en rendimiento de consumo de memoria de programa.

2.4.4.2 Reducción de rango.

Mientras muchas funciones de interés científico tienen grandes dominios, funciones idénticas son usadas típicamente para mapear el argumento a una región considerablemente más pequeña donde aproximaciones exactas requieren un esfuerzo razonable. En la mayoría de los



casos la reducción de rango debe ser realizada con precaución para prevenir la introducción de error a la aproximación.

El intervalo resultante del argumento transformado algunas veces sugiere una representación segmentada donde las aproximaciones hechas son empleadas en cada subintervalo.

2.4.4.3 Aproximación MINIMAX.

Si bien, la expansión en series para las funciones elementales son totalmente conocidas, su convergencia es frecuentemente lenta y usualmente no constituyen el método computacional de aproximación más eficiente.

Por ejemplo para la función exponencial la expansión en series de Maclaurin está dada por:

$$e^x = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{x^j}{j!} = 1 + x + \frac{x^2}{2!} + \frac{x^3}{3!} + \dots \quad (2.37)$$

Para estimar la función sobre el intervalo [0,1], la truncación de la serie en los primeros dos términos permite la aproximación lineal:

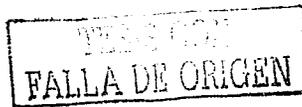
$$e^x \approx 1 + x \quad (2.38)$$

Que corresponde a una línea recta tangente a la gráfica de la función exponencial sobre $x=0$. En el intervalo [0,1] esta aproximación tiene un mínimo error relativo de cero para $x=0$ y un error relativo máximo de:

$$\frac{|2 - e|}{e} = 0.26424 \quad (2.39)$$

sobre $x=1$, subestimando la función alrededor del intervalo. Reconociendo que esto es una situación indeseable en parte causada por la aproximación de una línea tangente sobre uno de los puntos finales, puede ser hecha una improvisación por una aproximación de una línea tangente sobre $x=0.5$ dando lugar a la función lineal:

$$e^x \approx e^{1/2} (x + 0.5) \quad (2.40)$$



con error relativo mínimo de 0.17564 sobre $x=0$ y error relativo de 0.09020 sobre $x=1$, nuevamente subestimando la función alrededor del intervalo.

Se puede reducir el error máximo ajustando la intersección de la línea de aproximación, produciendo subintervalos de error positivo y error negativo, a la vez con la posibilidad de igualar el valor de error máximo sobre cada ocurrencia manipulando la rampa e intersección de la aproximación lineal. Esto es lo que se conoce como aproximación "minimax".

Por lo tanto una aproximación polinomial de grado n a una función continua puede ser siempre encontrada tal que el error máximo ocurra en al menos $n+2$ puntos con signo alternado dentro del intervalo de aproximación. Es importante notar que el resultado de la aproximación "minimax" depende de elegir el criterio de error relativo o error absoluto.

La evaluación de los coeficientes "minimax" es en ocasiones complicada, usualmente requiere de un procedimiento iterativo conocido como "Método de Remes". Con los avances de la computación este método viene a ser mucho más versátil ya que se convierte en un procedimiento iterativo para la evaluación de los coeficientes "minimax". Cabe mencionar que esta teoría puede ser generalizada a funciones racionales, ofreciendo un conjunto de métodos de aproximaciones en casos donde la división no es tan lenta.

La gran ventaja de usar aproximaciones "minimax" es que permite, en efecto, que minimizando el error máximo permita tener el número de términos requeridos para tener la precisión requerida. El número de términos es afectado fuertemente por el tamaño del intervalo de aproximación [29], permitiendo el concepto de "representaciones segmentadas", donde el intervalo de aproximación es dividido en subintervalos cada uno con su propia aproximación minimax. Por ejemplo, el intervalo $[0,1]$, puede ser dividido en subintervalos $[0,0.5]$ y $[0.5,1]$, con las aproximaciones "minimax" dadas por:

$$e^x \approx \begin{aligned} &1.29744x + 0.97980, [0,0.5], \text{máximo error} = 0.02020 \\ &2.13912x + 0.54585, [0.5,1], \text{máximo error} = 0.03331 \end{aligned}$$

Mientras tanto, en el subintervalo que fue seleccionado por conveniencia, el error relativo máximo es diferente para los dos subintervalos, pero no representa una ventaja respecto a una simple aproximación en el intervalo $[0,1]$, con el máximo error reducido por un factor de mas de



tres. Así mismo un mejor criterio para dividir el subintervalo, que iguala el error máximo sobre el subintervalo, puede ser encontrado.

Las aproximaciones "minimax" usadas por este microcontrolador se han hecho aplicando el método Remes a los intervalos específicos en cuestión.

2.4.4.4 Uso de las aproximaciones MINIMAX en el PIC16F876

Para las operaciones rutinarias, el argumento de entrada y el resultado se encuentran en el registro AARG. Las funciones de potencias requieren argumentos de entrada en AARG y BARG, produciendo el resultado en AARG. Al mismo tiempo las rutinas de verificación lógica también requieren de argumentos de entrada en AARG y BARG, por lo que el resultado retornará al registro W.

2.4.4.5 Evaluación de funciones logarítmicas en el microcontrolador PIC16F876

El dominio efectivo para la función logaritmo natural es $(0, \text{MAXNUM}]$, donde MAXNUM es el número más grande en la representación de punto flotante dada.

Todas las rutinas comienzan con una verificación del dominio sobre el argumento, retornando un error de dominio si el intervalo sale fuera del dominio.

Para el formato reducido de 24 bits, dada la disponibilidad de rutinas de precisión extendida, el dominio natural de la función logaritmo natural es evaluada usando la siguiente identidad:

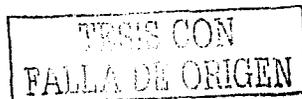
$$\ln = \ln 2 \cdot \log_2 x = \ln 2 \cdot (n + \log_2 f) \quad (2.41)$$

Donde n es un entero y f esta en el intervalo:

$$0.5 \leq f < 1$$

donde el argumento final de z se obtiene a través de la transformación adicional:

$$z \equiv \begin{cases} 2f - 1, n = n - 1, f < 1/\sqrt{2} \\ \end{cases}$$



$f - 1$, en cualquier otro caso

que naturalmente permite una representación segmentada de:

$$\log_2 f = \log_2(1+z) \quad (2.42)$$

sobre el subintervalo $[1/\sqrt{2} - 1, 0]$ y $[0, \sqrt{2} - 1]$, utilizando aproximaciones racionales "minimax" en la forma:

$$\log_2(1+z) \approx z \frac{p(z)}{q(z)} \quad (2.43)$$

donde la función $p(z)$ es lineal y $q(z)$ es cuadrática en z .

Para el formato de 32 bits, el cálculo de la función logaritmo natural se realiza con la expresión alterna:

$$\ln x = \ln f + \ln 2^n = \ln f + n \cdot \ln 2 \quad (2.44)$$

donde: n es un entero y f está en un intervalo $0.5 \leq f < 1$.

El argumento final z es obtenido a través de la transformación adicional:

$$z \equiv \begin{cases} 2f - 1, n = n - 1, f < 1/\sqrt{2} \\ f - 1, \text{en cualquier otro caso} \end{cases}$$

Esto naturalmente permite una representación segmentada de: $\ln f = \ln(1+z)$ dentro de los subintervalos $[1/\sqrt{2} - 1, 0]$ y $[0, \sqrt{2} - 1]$, usando la forma "minimax" dada por:

$$\log_2(1+z) \approx z - 0.5 \cdot z^2 + z \left(z^2 \cdot \frac{p(z)}{q(z)} \right) \quad (2.45)$$

donde $p(z)$ es lineal y $q(z)$ es cuadrática en z .

La razón para utilizar esta forma es que el argumento z es exacto; el primer término no tiene error y el segundo solo tiene error de redondeo, por lo tanto permite mas control sobre la propagación de redondeo que es posible en la forma simple que es el caso de "24 bits".

El paso final en la evaluación del logaritmo natural es realizar nuevamente en aritmética de pseudo precisión extendida de la forma:

$$\ln f + n \cdot \ln 2 = (\ln f - n \cdot c_2) + n \cdot c_1 \quad (2.46)$$

donde: $\ln 2$ es descompuesto en un número cercano a $\ln 2$ pero conteniendo ligeramente mas de la mitad de sus bits "cero" menos significativos y un número residual mucho más pequeño. Específicamente la descomposición está dada por:

$$\ln 2 = c_1 - c_2 \quad (2.47)$$

donde: $c_1 \equiv 0.693359375$ y $c_2 \equiv 0.00021219444005469$, que produce la evaluación de z en la forma:

$$z = (x - n \cdot c_1) + n \cdot c_2 \quad (2.48)$$

Donde el término entre paréntesis es usualmente calculado con mucha exactitud, con error de redondeo presente solo en el segundo término.

La rutina para la evaluación del logaritmo decimal en formato reducido de 24 bits es análoga a la del logaritmo natural solamente reemplazando la base 10 por la base e . Para el caso de 32 bits el logaritmo base 10 es obtenido del logaritmo natural a través de una conversión vía multiplicación de punto fijo mediante el logaritmo natural de e en precisión extendida.

2.4.5 Implementación y uso de rutinas en aritmética de punto flotante en el PIC16F876

La aritmética de punto fijo puede ser empleada para resolver muchos problemas numéricos mediante el uso de técnicas de escalamiento adecuadas, sin embargo en algunos casos puede complicarse y en ocasiones resulta en códigos menos eficientes, para lo cual entonces es posible usar métodos en aritmética de punto flotante.

Punto flotante es esencialmente equivalente a la aritmética en notación científica relativa a una base en particular o radix. La base usada en la implementación en aritmética de punto flotante es distinta a la utilizada a la base con el sistema de computo o cálculo en particular: por ejemplo, la IBM/360 es una computadora binaria con una representación o base hexadecimal en punto flotante, mientras que la VAX junto con las microcomputadoras más contemporáneas son máquinas binarias con implementaciones binarias en base 2.

Antes del establecimiento del estándar en punto flotante IEEE 754, los números en punto flotante base 2 se representaban típicamente en la forma:

$$A = (-1)^s f \cdot 2^e \quad (2.49)$$

con :

$$f = \sum_{k=0}^{n-1} a(k) \cdot 2^{-(k+1)} \quad (2.50)$$

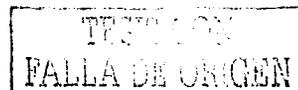
Donde f es la fracción o mantisa, e el exponente o característica, n es el número de "bits" en f y $a(k)$ es el valor del "bit" donde: $k=0, \dots, n-1$, números con $a(0) = \text{MSB}$ y s es el "bit" de signo.

La fracción era normalizada en representación de magnitud con signo, con el MSb implícito igual a 1 y e era almacenado en forma parcial debido a que a la magnitud del exponente posible más negativo permite un exponente parcial eb en la forma:

$$eb = e + 2^{m-1} \quad (2.51)$$

donde: m es el número de "bits" en el exponente. La fracción f entonces satisface la inequidad:

$$0.5 \leq f < 1 \quad (2.52)$$



La versión final del estándar IEEE 754 difirió de estas convenciones en diferentes puntos: Primero, el punto radix era localizado a la derecha del MSb, permitiendo la representación:

$$A = (-1)^s f \cdot 2^e \quad (2.53)$$

con:

$$f = \sum_{k=0}^{n-1} a(k) \cdot 2^{-k} \quad (2.54)$$

donde: f satisface los límites dados por: $1 \leq f < 2$

Para permitir un espacio en el formato del exponente parcial en representaciones de infinito, al momento de implementar aritmética infinita exacta, el exponente fue reducido por uno, permitiendo al exponente parcial eb ser de la forma:

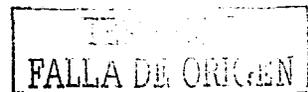
$$eb = e + 2^{m-1} - 1 \quad (2.55)$$

En el caso de simple precisión con $m=8$, este resulta en un exponente de 127. El uso de exponentes parciales permite comparación de exponentes a través de un simple "comparador no signado" y todo esto resulta en una única representación de cero dado por: $f = eb = 0$.

Esta implementación en punto flotante no incluye aritmética exacta infinita, pero el exponente en el estándar IEEE 754 permite la representación del exponente a formato extendido dentro de este espacio final, resultando el rango para el exponente de: $-126 \leq e \leq 128$

Así mismo se pueden utilizar algoritmos para realizar conversiones de base para producir la representación binaria en punto flotante dado un número decimal.

Es importante notar que solo los números que pueden ser representados exactamente en aritmética binaria son aquellos, los cuales son sumas de potencias de dos, resultando en representaciones no terminadas de algunos números decimales simples como por ejemplo: 0.1, debido a errores de truncación, sin importar el valor de n (número de "bits").



Los cálculos en punto flotante involucran siempre números que admiten una representación binaria exacta, usualmente hay pérdida de información después de la truncación cuando se obtiene un resultado de n-bits y por lo tanto requiere de algún esquema de redondeo para minimizar tal error.

2.4.5.1 Métodos de redondeo en el microcontrolador PIC16F876

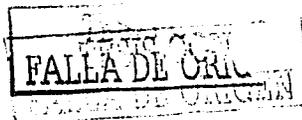
La truncación de una representación binaria de n-bits resulta en ocasiones perjudicial, desde el momento en que permite que un número cuyo valor absoluto sea menor o igual a su valor exacto, causando error significativo durante una larga secuencia de cálculos.

Un método simple consiste en adicionar el MSb al LSb excepto cuando el valor a ser redondeado es equidistante de los dos valores de n-bits mas cercanos [30], este pequeño pero indeseable incremento puede ser cambiado estipulando que en el caso equidistante el valor de n-bit con el LSb=0 es seleccionado, comúnmente referido como el método de redondeo mas cercano, que es método empleado en el estándar IEEE754.

El número de "bits" de protección o bits extras de precisión es relacionado con la sensibilidad del método de redondeo. En el microcontrolador PIC16F876 la implementación del método de redondeo utiliza el menor caso de bits de protección, llevando a cabo el procedimiento de aproximación por redondeo visto la siguiente tabla 2.9.

Valor del n-bit	"Bits" de protección	Resultado
A	0	Redondear a A
A	1	Si en A, LSb=0, redondear a A
		Si en A, LSb=0, redondear a A+1
A+1	0	Redondear a A+1

Tabla 2.9 Método de redondeo aplicado en el PIC16F876



Actualmente, como un compromiso entre el rendimiento y precisión por redondeo, un bit inherente al método no se usa en la implementación. Otro método de redondeo utilizado es el método Von Neuman [24].

2.4.5.2 Formatos en punto flotante manejados por Microchip Systems.

Los formatos en punto flotante para el estándar IEEE754 y para la familia de microcontroladores de Microchip en formato de 32-bits y en formato de 24-bits, de acuerdo al número de "bits" necesarios utilizados para implantar las rutinas, son los que se observan en la tabla 2.10.

	<i>eb</i>	<i>f0</i>	<i>f1</i>	<i>f2</i>
IEEE754 32-bit	xxxx xxxx	y · xxx xxxx	xxxx xxxx	xxxx xxxx
Microchip 32-bit	xxxx xxxx	s · xxx xxxx	xxxx xxxx	xxxx xxxx
Microchip 24-bit	xxxx xxxx	s · xxx · xxxx	xxxx xxxx	

Tabla 2.10. Formatos de punto flotante del estándar IEEE754 y la familia de Microchip.

Donde: *s* es el bit de signo, *y*=LSb del registro *eb*, y (•) =punto radix.

En estos formatos *eb* es el exponente de 8-bit con límite de 127, *s* es el "bit" de signo y los "bytes" *f0*, *f1*, *f2* constituyen la fracción con *f0* como el byte más significativo y el MSb=1 implícito.

Es importante notar que el formato estándar IEEE754 el bit de signo es el MSb de *f0*. Debido al byte inherente en las familias de los microcontroladores de Microchip, un código más eficiente fue posible adaptando las condiciones mas apegadas al formato IEE754.

La diferencia con este formato radica en una rotación del noveno bit de la representación, con una rotación a la izquierda de IEEE754 a PIC16F876 y una rotación a la derecha de PIC6F876 a IEEE754. Esto es posible mediante el siguiente código:



IEEE754 a PIC16F876

RLCF AARGB0,F
RLCF AEXP,F
RRCF AARGB0,F

PIC16F876 a IEEE754

RLCF AARGB0,F
RRCF AEXP,F
RRCF AARGB0,F

La conversión al formato de 24-bits se obtiene por redondeo a la representación más cercana del estándar IEEE754

El valor absoluto límite de los formatos para cualquier número representado en punto flotante están dados en la tabla 2.11.

	<i>eb</i>	<i>e</i>	$ A $ <i>f</i>	<i>decimal</i>
<i>MAX</i>	0xFF	128	7FFFFFF	6.80564693E + 38
<i>MIN</i>	0x01	-126	000000	1.17549435E - 38

Tabla 2.11. Intervalo de valores de los números representados en punto flotante.

Donde el MSb es implícitamente igual a uno y su localidad es ocupada por el "bit" de signo.

Las fronteras para el formato de 24-bits son obtenidas simplemente truncando *f* a 16 "bits" y volviendo a calcular su equivalente decimal.

2.4.5.3 Excepciones en la conversión a punto flotante.

En ocasiones el rango dinámico de cálculos matemáticos es incrementado mediante la aritmética de punto flotante, pero puede ocurrir sobreflujo o subflujo cuando los límites de la representación son excedidos.

Tal es el caso de la multiplicación cuando se suman los exponentes o en el caso de la división, la diferencia entre ellos. En estas operaciones una apropiada normalización y modificación de exponentes pueden permitir sobreflujo o subflujo sólo en casos especiales.

2.4.5.4 Requerimientos de RAM de Datos para la conversión.

Las siguientes localidades contiguas de la memoria de datos RAM son usadas por la rutina de punto flotante durante la conversión:

AARGB7 = ACCB7 = REMB3	bits LSb a MSb
AARGB6 = ACCB6 = REMB2	
AARGB5 = ACCB5 = REMB1	
AARGB4 = ACCB4 = REMB0	RESTO
AARGB3 = ACCB3	
AARGB2 = ACCB2	
AARGB1 = ACCB1	
AARGB0 = ACCB0 = ACC	fracción de AARG y ACC
AEXP = EXP	exponente de AARG y ACC
SIGN	signo en MSb
FPFLAGS	bits opcionales, banderas de excepción
BARGB3	bits LSb a MSb
BARGB2	
BARGB1	
BARGB0	fracción de BARG
BEXP	exponente de BARG
TEMPB3	
TEMPB2	
TEMPB1	
TEMPB0 = TEMP	almacenamiento temporal

Los "bits" de opción y banderas de excepción en FPFLAGS son definidos de la siguiente manera:

FPFLAGS:

SAT	RND	DOM	NAN	FDZ	FUN	FOV	IOV
7	6	5	4	3	2	1	0

SAT: bit de habilitador de saturación

RND: bit habilitador de redondeo

DOM: bandera de error de dominio

NAN: bandera de Not-A-number

FDZ: bandera cuando hay división entre cero

FUN: bandera cuando hay subflujo

FOV: bandera cuando hay sobreflujo

IOV: sobreflujo entero.

2.4.5.5 Uso de las rutinas de punto flotante en el diseño con el PIC16F876.

Para operaciones unitarias el argumento de entrada y el resultado están en AARG. Las operaciones binarias requieren argumentos de entrada en AARG y BARG, produciendo el resultado en AARG, simplificando con esto la secuencia de operaciones.

2.4.5.5.1 Manejo de las excepciones en la conversión a flotante.

Todas las rutinas retornan con WREG=0x00 al término de una conversión completada y WREG=0xFF, así mismo con la bandera apropiada FPFLAGS establecida en 1 hasta la excepción. Si el bit SAT=0, la saturación es deshabilitada y resultados erróneos son obtenidos en AARG sobre una excepción.

Si el bit SAT=1, la saturación es habilitada y todas las excepciones por sobreflujo o subflujo producen resultados saturados en AARG.

2.4.5.5.2 Rutina de redondeo

Con el bit RND=0 el redondeo es deshabilitado y es utilizada una simple truncación, resultando en un aumento de velocidad de procesamiento. Si RND=1, el redondeo es habilitado y hay un redondeo al bit LSb mas cercano.

2.4.5.5.3 Rutina de conversión de entero a flotante

La rutina FLOxyyy convierte el complemento a dos del entero xx-bit que se encuentra en AARG, a la representación en punto flotante yy-bit., produciendo un resultado en AEXP y AARG.

Las rutinas inicializan el exponente para mover el punto radix a la derecha del MSb y entoces llamar la rutina de normalización como sigue:

```
FLO1624(12106)=  
FLO1624(0x2F4A)=  
0x8C3D28=  
12106.0
```

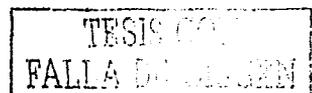
2.4.5.5.4 Rutina de normalización

La rutina de normalización toma un número no normalizado en punto flotante xx-bit que se encuentra en AEXP Y AARG y corre a la derecha la fracción, ajustando el exponente hasta que el resultado tenga un 1 en el MSb, produciendo un resultado en AEXP y en AARG. Esta rutina es llamada por FLOxyyy, FPAyy y FPSyy. Usualmente no es necesario explícitamente, mientras se esté utilizando normalización implícita.

2.4.5.5.5 Conversión de flotante a entero

La rutina INTxyyy convierte el número en punto flotante normalizado xx-bit, que se encuentra en AEXP y en AARG, a un entero en complemento a dos que se encuentra en AARG. Después de remover el exponente parcial de AEXP y excluyendo un resultado de cero o sobreflujo entero, la fracción en AARG es corrida a la derecha por AEXP y convertida a la representación complemento a dos como se observa:

```
INT2416(123.45)=
```



INT2416(0x8576E6)=

0x7B=

123

2.4.5.5.6 Rutina de suma y sustracción en punto flotante

La rutina de la suma en punto flotante FPAxx, toma el argumento en AEXP, AARG y BEXP, BARG y pone el resultado de la suma en AEXP, AARG. Si es necesario los argumentos se pueden intercambiar para asegurar que $AEXP \geq BEXP$ y entonces es alineado mediante corrimiento a la derecha de AEXP-BEXP. Las fracciones son entonces sumadas el resultado es normalizado llamando NRMxx. La rutina de sustracción FPSxx simplemente cambia el bit de signo en BARG y llama la rutina FPAxx, como se ilustra en la forma siguiente:

FPA24(-0.32212E+5, 0.1120E+4)=

FPA24(0x8DFBA8, 0x890C00)=

0x8DF2E8=

-0.31092E+5

2.4.5.5.7 Rutina de multiplicación en punto flotante

La rutina de multiplicación en punto flotante FPMxx toma los argumentos ubicados en AEXP, AARG y retorna el resultado del producto en AEXP, AARG. Después de encontrar un argumento "cero", el signo y el exponente son calculados al mismo tiempo para verificar el sobreflujo y enseguida se lleva a cabo un proceso de postnormalización. La manera en que se aplica esta rutina es la siguiente:

FPM32(-8.246268E+6, 6.327233E+6)=

FPM32(0x95FBA7F8, 95411782)=

0xACBDD0BD=

-5.217606E+13

2.4.5.5.8 Rutina de la división en punto flotante

La rutina de la división en punto flotante FPDxx, toma el numerador que se encuentra en AEXP,AARG y el denominador en BEXP, BARG y regresa el cociente a AEXP, AARG. Después de checar un denominador "cero", el signo y el exponente del resultado son calculados junto con la alineación del dividendo.

Si las fracciones del argumento satisfacen la iniquidad $AARG \geq BARG$, el dividendo en AARG es corrido a la derecha en un bit y el exponente es ajustado, de ese modo el resultado en $AARG < BARG$ y el dividendo son alineados. El alineamiento permite una secuencia de la división válida y elimina la necesidad de la postnormalización. Después de checar el sobreflujo o subflujo apropiado, las fracciones son entonces divididas usando un método estándar de corrimiento-substracción dado de la siguiente manera:

FPD24(-0.16106E+5, 0.24715E+5)=

FPD24(0x8CFBA8, 0x8D4116)=

0x7EA6D3

-0.65167E+0

2.5 Calibración del sistema.

2.5.1 Calibración de los sensores ópticos.

La calibración de los sensores ópticos es parte fundamental en este sistema de medición, ya que la precisión en las lecturas depende en gran parte de la estabilidad en intensidad luminosa captada por los sensores ópticos en cada una de las tres bandas de interés antes mencionadas.

Cada uno de los sensores se encuentra montado en un dispositivo mecánico que permite el ajuste en dos grados de libertad, siendo los ajustes tanto en sentido vertical como horizontal. En el eje horizontal se ajusta la posición de la banda espectral de cada sensor, los cuales se encuentran ubicados en 480 nm, 540 nm y 580 nm respectivamente.

Para realizar dicho ajuste fue necesario incidir al sistema luz monocromática en cada una de las bandas espectrales y ajustar a la máxima intensidad captada por el sensor óptico. Esto se logró utilizando un monocromador Marca "Edmund Optics" modelo Mini-Chrom L37-598 Tipo "C", el cual se compone básicamente de una rejilla de difracción móvil, que se hace rotar mediante un mecanismo de precisión para seleccionar la banda espectral deseada, esta banda es colimada por un espejo y enviada a la salida del monocromador a través de espejos dobladores que permiten obtener la banda con una resolución de 2nm. El esquema interno del monocromador se observa en la figura 2.34.

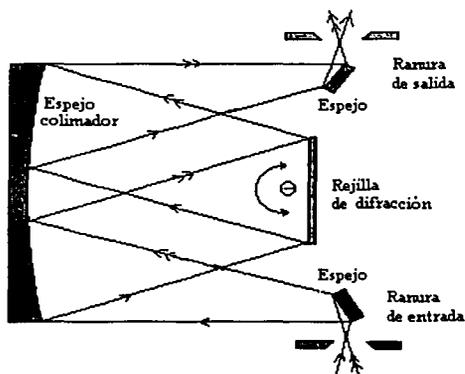


Figura 2.34. Esquema del monocromador utilizado en la calibración de los sensores ópticos.

Las principales características del monocromador se ilustran en la tabla 2.12.

Apertura efectiva(f/#)	f 3.9
Longitud focal	74mm
Rejilla	Cuadrada 20mm x lado
Ranura	300 μ m ancho x4mm de largo
Dispersión de luz	$\leq 0.003\%$
Reproducibilidad de Longitud de Onda	$\pm 0.15 \%$
Precisión de Longitud de Onda	$\pm 0.2\%$ de la longitud de onda
Resolución	2nm
Rango de longitud de onda	300-800 nm

Tabla 2.12. Características del monocromador para ajuste de las tres longitudes de onda del sistema.

2.5.2 Curva de calibración del instrumento.

Para cotejar los datos proporcionados por el instrumento fue imprescindible realizar una curva de calibración consistente en muestras de grasa con diferentes concentraciones conocidas de β -caroteno en condiciones normales, es decir con grasa natural blanca y mezclada con distintas concentraciones de β -caroteno disuelto en acetona, para dar distintas tonalidades en color y distintas concentraciones, a una temperatura de 10°C y con baja iluminación para evitar la degradación del compuesto.

El valor de concentración en cada muestra se calculó como sigue:

1.-Se pesó en una báscula de precisión Marca Scientech, modelo SA210D una pequeña cantidad de β -caroteno puro que fue de: 0.0014 g de este compuesto.

2.-Esta cantidad se diluyó en 25 ml de acetona, con lo cual nos da una concentración de $0.56 \times 10^{-4} \frac{g(\beta C)}{ml(\text{acetona})}$. La dilución debe ser mantenida a una temperatura cercana a 0°C mientras se mezcla con la grasa.

3.-Una vez disuelto el pigmento se pesaron 8 muestras de grasa natural. Se les mezcló con diferentes concentraciones de β -caroteno, dando lugar a 8 muestras con concentraciones conocidas del pigmento. La forma en que se calculó esta concentración es la misma en todos los casos y es como se indica a continuación:

$$C = \frac{\left(0.56 \times 10^{-4} \frac{g(\beta C)}{ml(\text{acetona})} \right) (x \text{ ml de mezcla Acetona con } \beta C)}{x \text{ gramos de grasa natural}} \quad (2.56)$$

Los valores calculados para cada muestra se muestran en la tabla 2.13.

Número de muestra	Peso[g]	Concentración $\times 10^{-6} \left[\frac{g(\beta C)}{g(\text{grasa})} \right]$
1	5.0505	0
2	5.0763	1.103
3	5.0911	2.199
4	5.0075	8.946
5	5.0359	17.790
6	5.0129	35.747
7	5.0892	70.423
8	5.0077	143.139

Tabla 2.13. Valores de concentraciones conocidas en las muestras para realizar la curva de calibración del sistema.

La concentración de las muestras fue propuesta por los Médicos Veterinarios que se encargan de evaluar el color de la grasa en los bovinos y de acuerdo a la experiencia que tienen en la coloración que presenta el tejido adiposo de estos animales en las zonas tropicales del país. Los incrementos son no lineales para poder abarcar un buen intervalo de coloración con el incremento de la concentración.

Una gráfica que muestra los incrementos de la concentración respecto a cada muestra es la que se observa en la figura 2.35.

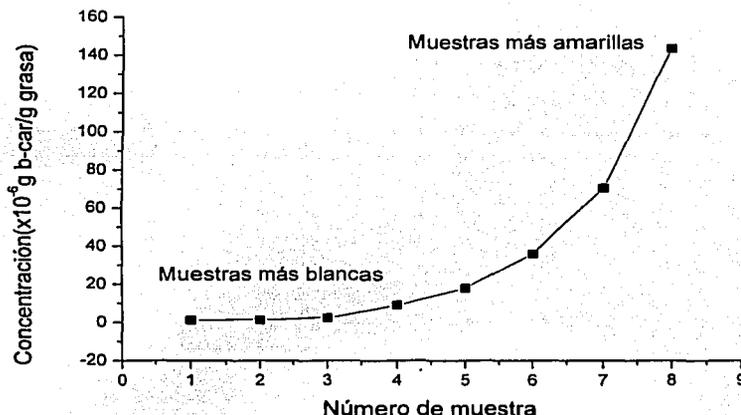


Figura 2.35. Incremento no lineal de la concentración en las muestras de referencia.

La coloración de estas 8 muestras se presenta en la figura 2.36, en la que se observa el incremento de la tonalidad amarillenta conforme aumenta la concentración en la muestra. Se llenaron 8 recipientes de plástico con capacidad de 5 g cada uno, con dimensiones 2.5 cm de diámetro y 1 cm de altura. Estos recipientes se cubrieron con una envoltura reflejante para evitar la transmisión de luz a través de la muestra y asegurar que no hay pérdidas de luz hacia afuera de la muestra. Se colocó el sensor sobre cada una de ellas con un tiempo de integración de 3 segundos para obtener la lectura en el sistema de cada muestra. Las mediciones fueron hechas en laboratorio con condiciones controladas de temperatura y radiación, a fin de que las mediciones fueran en condiciones estables y posteriormente a la interperie, simulando ahora las condiciones de campo en que trabajará el sistema.



La coloración que presentan las muestras permite visualizar la coloración en función de la concentración, por lo que fue necesario disponer tanto de valores con poca concentración como de alta concentración, de tal manera que se asemejen a la coloración de tejido en animales que son afectados por este pigmento.

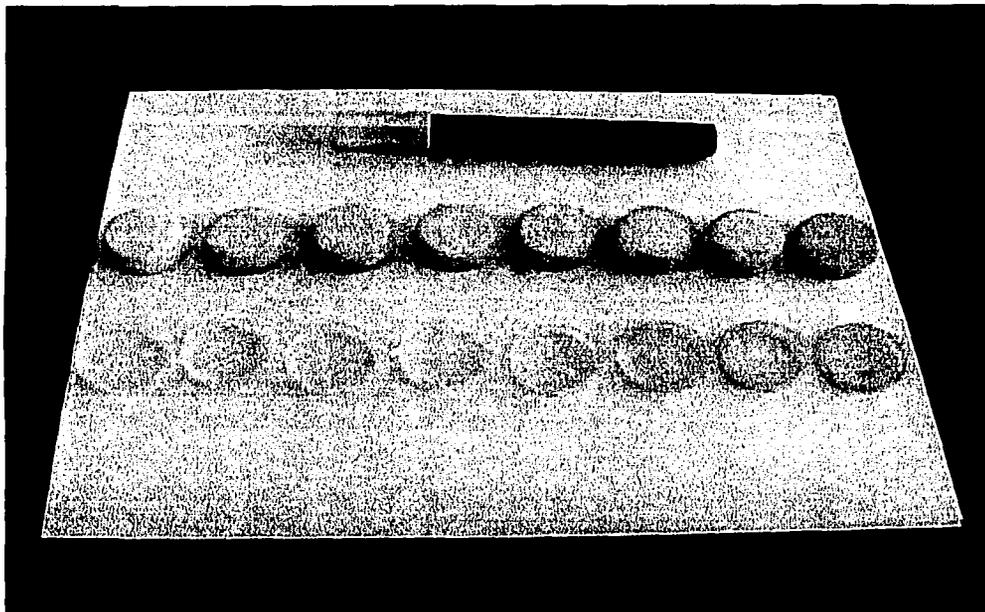


Figura 2.36. Muestras de grasa natural con diferentes concentraciones de β -caroteno.

La relación que guardan los datos de concentración con la coloración que presenta la muestra se hicieron de tal forma que pudiesen abarcar un gran intervalo de coloración en una escala adecuada. Para hacer esto se duplicó en cada caso la concentración en la muestra comparada con la anterior con lo cual es posible obtener tonalidades de amarillo intenso en 6 o 7 muestras continuas.

El valor de Absorción que se obtiene de aplicar el algoritmo en punto flotante está dado por:

$$A = \frac{V_{580} - V_{480}}{V_{540}} \quad (2.57)$$

Para calcular los valores de Absorción en el sistema se tienen que incluir en el algoritmo los valores de intensidad luminosa convertida proporcionalmente a milivolts en cada una de las bandas de interés. Estos valores se presentan en la tabla 2.14.

Valor de la banda en 480nm [mV]	Valor de la banda en 540nm [mV]	Valor de la banda en 580nm [mV]	Concentración $\times 10^{-6} \left[\frac{g(\beta C)}{g(\text{grasa})} \right]$	Absorción U.A
70	73.62	73.76	0	0.051
54.23	73.62	73.28	1	0.258
45.15	73.62	73.86	2	0.389
37.81	73.62	73.94	9	0.49
30.3	73.62	73.93	17	0.592
22.44	73.62	74.29	35	0.704
18.47	73.62	74.25	70	0.757
18.16	73.62	76.92	143	0.798

Tabla 2.14. Absorción de cada muestra en función de la intensidad en cada banda de interés.

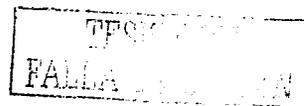
Si graficamos los datos de absorción con los datos de concentración de las muestras podemos relacionarlos de manera que con el incremento de absorción se observe un incremento en la concentración y coloración en la muestra.

Una vez dada la absorción obtenida por el sistema en U.A. le aplicamos nuevamente un factor de 2 a la $A \times 10$ para compensar la no linealidad dada a la concentración de las muestras preparadas para fines de la calibración y abarcar un amplio intervalo de coloración de tejido adiposo que se encuentra frecuentemente en animales aún en pastoreo.

Esto nos permite establecer una curva de calibración para concentraciones por debajo de

$100.0 \times 10^{-6} \frac{g \beta C}{g \text{grasa}}$, en la cual la concentración es proporcional a la absorción, manteniendo

constante la absorptividad de la muestra en un amplio rango de longitudes de onda del espectro visible.



La gráfica que nos muestra la relación de concentración dada por el instrumento diseñado contra la concentración dada teóricamente y cotejada con HPLC en laboratorio, se observa en la figura 2.37.

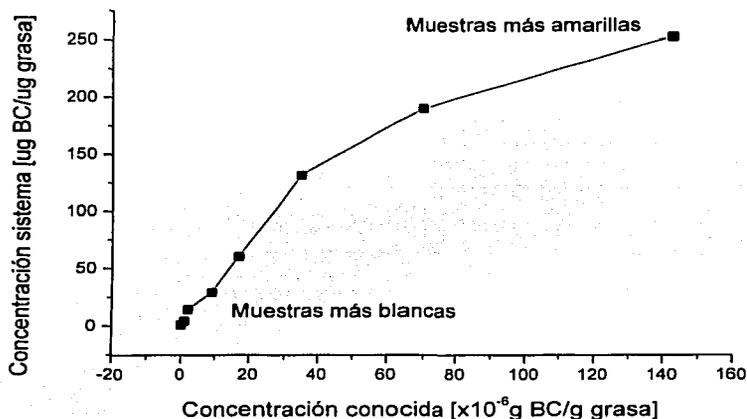


Figura 2.37 Curva de calibración del sistema para cuantificar el contenido de β -caroteno en muestras de tejido adiposo de bovinos en canal.

Si realizamos un análisis de correlación lineal de los datos anteriores, es decir, de la concentración de β -caroteno dada por el sistema contra los datos de concentración obtenidos teóricamente podemos establecer que tenemos un coeficiente de correlación positivo de $R=0.9540$ y una ordenada al origen de 1.82089 . Este último se considera un error de "offset" debido a que la muestra que se utiliza como blanco de referencia tiene un porcentaje de absorción intrínseco en la banda de 480nm con lo cual obtenemos un pequeño valor de concentración sin agregar pigmento a la muestra.

Observamos también una tendencia a la saturación del sistema de medición una vez que se llega al límite de detección y los cambios observados en la absorción son casi imperceptibles, por lo que se emplea entonces la función logaritmo natural implementada en el sistema para compactar la escala y poder realizar mediciones con altas concentraciones de pigmento en una muestra.

CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Aplicación a un problema específico.

La aplicación de este instrumento fue principalmente para evaluar el color de sustancias orgánicas relacionado con la concentración de algún agente pigmentante en una muestra. Particularmente se aplicó para evaluar la coloración presentada por muestras de tejido adiposo de bovinos en canal. Al mismo tiempo aplicó para cuantificar el contenido de β -caroteno en la muestra.

Para esto se colectaron 10 muestras en orden aleatorio de tejido adiposo de bovinos en canal, de Rastro tipo TIF (Tipo Inspección Federal) en la Ciudad de Querétaro, Qro., las cuales se tomaron de animales recién sacrificados y de la parte más representativa del animal en cuanto al color de la grasa, que es el maslo (parte trasera encima del rabo). Las 5 primeras muestras se observan en la figura 3.1. Se acomodaron en orden de color creciente visualmente.

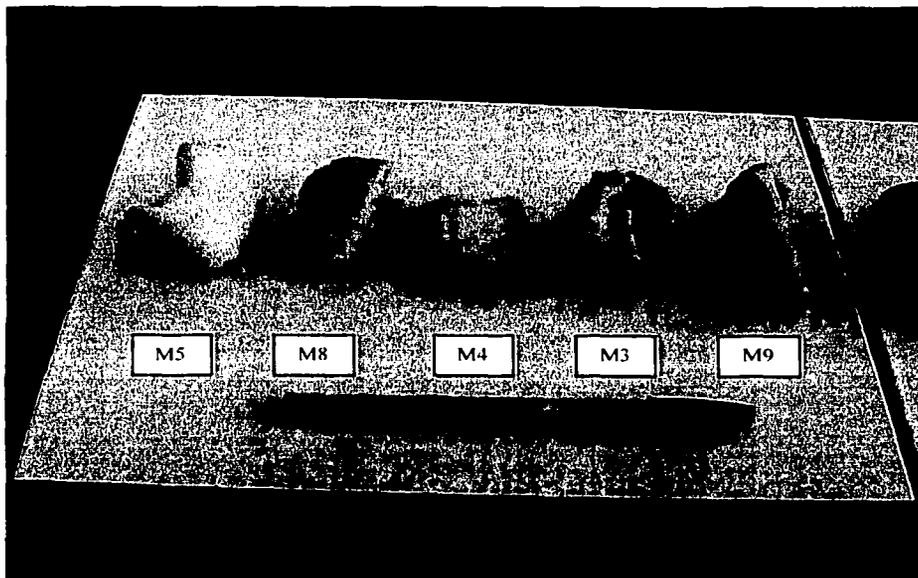


Figura 3.1 Cinco muestras de tejido adiposo de bovino con bajo contenido de β -caroteno.

Las muestras de la figura 3.2 tienen un alto contenido del compuesto pigmentante distribuido en la grasa. Así mismo observamos que la última muestra es prácticamente amarilla y es de las tonalidades extremas encontradas en animales vivos aún en pastoreo.

Todas estas muestras deben ser almacenadas con rigurosa hermeticidad para evitar que el pigmento sea degradado.

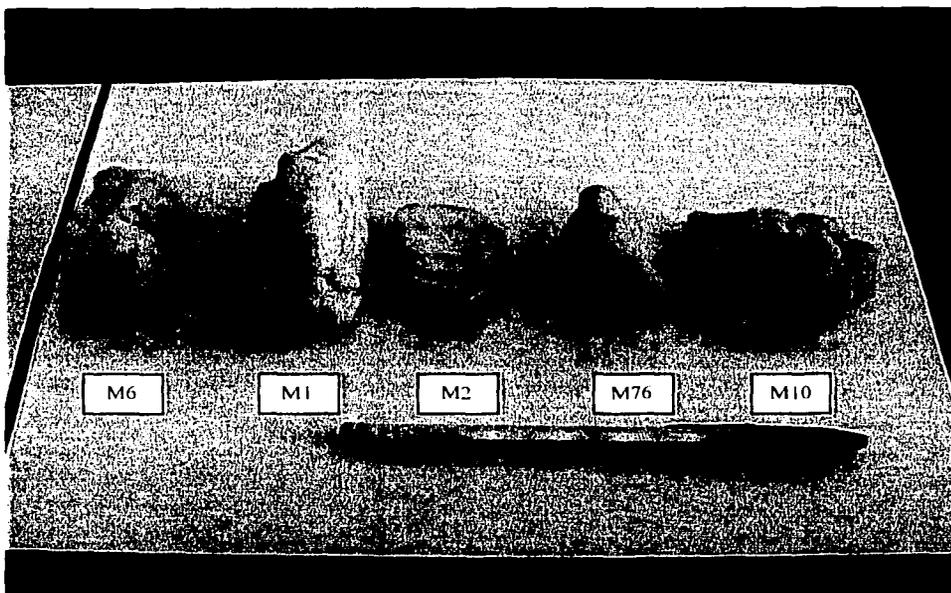


Figura 3.2 Muestras de tejido adiposo de bovino con alto contenido de β -caroteno

A simple vista y en condiciones de iluminación natural y temperatura de 10°C no se ven incrementos graduales notables de color de muestra a muestra, sólo en la muestra 10 se nota un color amarillo intenso, el cual se puede presentar comúnmente en animales de las zonas tropicales y quizá un poco más que eso.

Esta apreciación resulta muy subjetiva debido a que para evaluar la coloración, las condiciones ambientales de iluminación deben ser muy estables y controlables; lo cual es casi imposible en condiciones de la medición en campo. Además depende mucho también de la capacidad y habilidad de la persona para distinguir un color más que otro.

3.2 Análisis de los datos proporcionados por el instrumento.

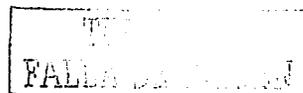
Se realizaron mediciones de los parámetros de color (Lab) en un colorímetro Minolta Modelo CM2002 para ver la relación que guardan las muestras respecto a los parámetros de color como lo es: el contenido de verdes a rojos (a^*), el contenido de amarillos a azules (b^*), la luminosidad (L^*) o brillantez, la cromaticidad o intensidad del color y el tono de ese color o "hue" (h) de las muestras analizadas. Estos valores se muestran en la tabla 3.1.

Parámetro Muestra	L^* luminosidad	a^* contenido verde-rojo	b^* contenido amarillo-azul	C^* Cromaticidad	h^* tono
Blanco	82.2759	0.9172	17.1539	17.1784	86.9393
M1	79.8144	3.3467	20.8507	21.1176	80.8814
M2	80.71	4.7598	19.8227	20.3861	76.4977
M3	82.6078	0.8763	16.9429	16.9655	87.0391
M4	82.5186	3.5455	17.0028	17.3685	78.2212
M5	77.8339	4.4781	16.2029	16.8103	74.5506
M6	77.482	6.6008	20.6486	21.678	72.2722
M7	76.2605	6.0417	21.5948	22.424	74.3697
M8	77.1202	4.7133	18.3852	18.9797	75.6211
M9	79.4021	5.4491	26.726	27.2759	78.4761
M10	77.4091	10.2154	44.6828	45.8357	77.1223

Tabla 3.1 Parámetros de color del sistema CIE-Lab obtenidos en un colorímetro.

Los datos muestran variaciones importantes en los parámetros a^* y b^* y en la cromaticidad C^* , en tanto que la luminosidad se mantiene prácticamente constante y la tonalidad también.

Las muestras fueron ordenadas en función de los parámetros a^* y b^* para analizar la relación de las muestras en comparación a los parámetros de color del sistema CIE-Lab con la concentración de β -caroteno en cada muestra y comprobar que el color está directamente relacionado con la concentración del pigmento en la muestra.



Por lo que se ordenaron las muestras en orden ascendente en función del contenido de amarillos a azules(b^*), que es el parámetro que incide directamente sobre el color amarillento de las muestras y por lo tanto tienen el orden establecido en la tabla 3.2.

Muestras	Parámetro b^* (contenido de amarillo-azul)
M5	16.2029
M3	16.9429
M4	17.0028
M8	18.3852
M2	19.8227
M6	20.6486
M1	20.8507
M7	21.5948
M9	26.726
M10	44.6828

Tabla 3.2 Muestras ordenadas respecto al parámetro b^* del sistema CIE-Lab.

La tendencia que tienen las muestras respecto a b^* se presenta en la gráfica de la figura 3.3.

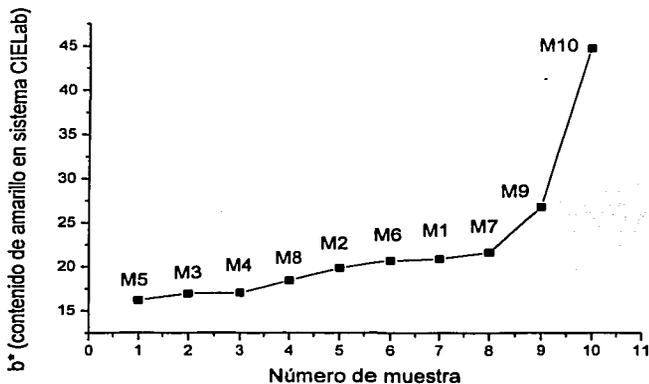


Figura 3.3 Relación de color en las muestras con el parámetro b^* (CIE Lab).

Notamos en las primeras 8 muestras incrementos proporcionales en función de este parámetro, pero en las 2 últimas muestras se nota un cambio notable en b^* , que indica claramente que hay un "incremento no lineal" en la coloración, es decir sube el amarillo rápidamente en estas muestras, lo cual nos indica que es conveniente aplicar una relación no lineal como lo es el logaritmo natural en la función que realiza el sistema, para calcular la concentración de β -caroteno en muestras muy amarillas.

También se obtuvieron los espectros de reflexión de las 10 muestras en un espectrofotometro marca Ocean Optics modelo S2000 el cual proporciona tanto el espectro de reflexión como de absorción. Se obtuvieron en condiciones de Laboratorio con luminosidad y temperatura controladas colocando la cabeza sensora del instrumento en la misma parte donde se tomo la lectura con el colorímetro, obteniendo los espectros mostrados en la figura 3.4.

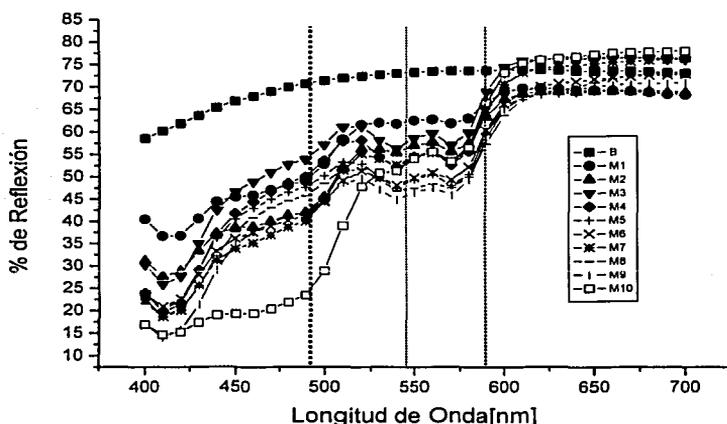
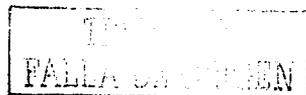


Figura 3.4 Espectros de las muestras analizadas tomadas en un espectrofotometro UV-VIS

En estos espectros se incluyó un blanco de referencia para que a partir de ahí se hicieran las mediciones relativas a una muestra de grasa con cero concentración. Esta muestra(B) se realizó con grasa natural libre de contaminantes y de hemoglobina para evitar al máximo la absorción de la muestra en otras longitudes de onda.



Si hacemos que todas las curvas de los espectros de reflexión pasen por el valor del blanco de referencia en la banda de 540nm, veremos los espectros "normalizados" en este punto, lo cual nos dió la pauta para señalar la banda de referencia y nos dará la colocación de los espectros respecto a la banda especificada por el algoritmo programado en 480nm. Los espectros se muestran en la figura 3.5.

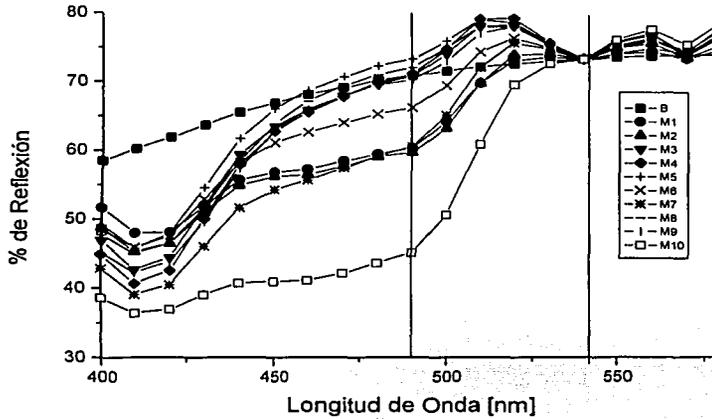


Figura 3.5 Espectros de muestras normalizadas en 540nm que contienen β -caroteno.

De estos espectros normalizados notamos que en la banda de 480nm existen incrementos sustanciales en el patrón de reflexión y mediante el análisis gráfico establecemos que en esta banda existen los cambios más notables en la absorción de cada muestra, podemos ver sobre la gráfica que las primeras 9 muestras se encuentran dentro de cierto intervalo de absorción en la banda del β -caroteno, mientras que en la última muestra, el cambio en reflectancia es muy notable. Esto nos dió una idea clara del rango de absorción de las muestras y por consiguiente los rangos de concentración que manejamos en el sistema diseñado.

Los datos de contenido de β -caroteno en las muestras proporcionados por el instrumento optoelectrónico se llevaron a cabo en un ambiente de campo, donde las condiciones de luminosidad así como de interferencia electromagnética no son controlables. Se colocó muestra por muestra debajo de la cabeza sensora en un portamuestra, que permite se mantenga la misma cantidad de muestra, expuesta a la radiación emitida en la esfera integradora, en un tiempo de 3 segundos, a una temperatura promedio de 27°C y humedad relativa del 40%. Se evitó a toda costa la intromisión de polvo y otros contaminantes así como de hemoglobina que pudiera afectar la medición.

Se tomaron los valores de intensidad en D.C. en los tres sensores colocados justo en la posición de las bandas de absorción del compuesto pigmentante. La lectura medida en cada uno de los sensores ópticos, aplicada la ganancia respectiva y una vez hecha la calibración y en cada muestra se observa en la tabla 3.3.

Muestra	Salida sensor 580nm[mV]	Salida sensor 540nm[mV]	Salida sensor 480nm[mV]
Blanco	73.76	73.62	70
1	80.13	73.64	58.7
2	85.24	73.61	57.64
3	89.92	73.61	66.48
4	94.22	73.62	66.59
5	91.55	73.63	69.63
6	92.21	73.65	61.63
7	92.05	73.62	56.19
8	92.82	73.64	68.23
9	93.35	73.62	65.47
10	93.51	73.60	38.99

Tabla 3.3 Valor de intensidad medida en cada uno de los detectores ópticos del sistema.

Si obtenemos el valor de absorción en U.A. mediante: $A = \frac{V_{580} - V_{480}}{V_{540}}$

y aplicando el algoritmo programado para esta determinación mediante el microcontrolador en aritmética de punto flotante con dos enteros y tres cifras decimales, podemos ordenarlos en la tabla 3.4 de la siguiente forma:

Muestra	Absorción[u.a]
Blanco	0.051
3	0.291
4	0.297
1	0.318
8	0.333
2	0.374
5	0.375
6	0.378
7	0.415
9	0.487
10	0.740

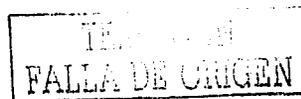
Tabla 3.4 Valores de absorción de las muestras ordenadas de las más blancas(absorben menos) a las más amarillas(absorben más).

Lo que observamos en la tabla anterior es que en las variaciones de absorción en algunas muestras cambia sólo un pequeño incremento que se ve hasta el tercer dígito del valor de absorción, es decir, esto nos muestra que es más conveniente dar los valores de Concentración del pigmento en la muestra aplicando el factor de 2^{A*10} .

Se graficaron los valores de la tabla anterior para observar la tendencia de estos valores de absorción en las muestras una vez aplicada la función que calcula este valor en el microcontrolador tomando los valores en los detectores ópticos cada cien veces cada uno y aplicando promediado por grupos.

Con esto hacemos que la lectura en cada sensor sea más representativa del valor convertido de intensidad luminosa a salida de voltaje lineal en cada banda de interés.

El comportamiento una vez ordenadas las muestras de las que más absorben a las que menos absorben lo graficamos en la figura 3.6.



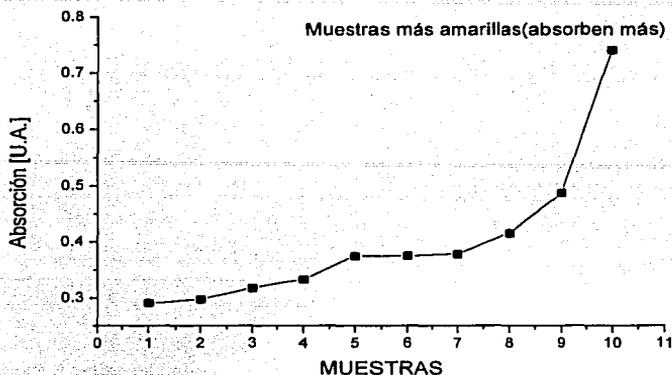


Figura 3.6 Tendencia de las muestras ordenadas y medidas en el sistema desarrollado.

Si aplicamos el algoritmo para que el sistema desarrollado nos calcule el valor de concentración, mediante la programación de rutinas de punto flotante, en la cual se realiza la siguiente operación:

$$C = 2^{A*10}$$

Donde C es igual al valor de concentración en $\mu g \beta$ Caroteno / g grasa, A es el valor de absorción dado por el sistema, por lo tanto tendremos los valores dados en la tabla 3.5.

Muestra	Concentración $\left[\frac{\mu g \beta \text{Caroteno}}{g \text{grasa}} \right]$
Blanco	1.41
3	7.46
4	7.83
1	8.57
8	9.84
2	12.99
5	13
6	13.01
7	17.14
9	27.85
10	168.89

Tabla 3.5 Valores de concentración de las muestras obtenidas por el sistema de medición.

Graficando los valores de Concentración en la figura 3.7, notamos claramente que existe la misma tendencia que en el caso del colorímetro y prácticamente con el mismo orden de las muestras excepto dos de ellas.

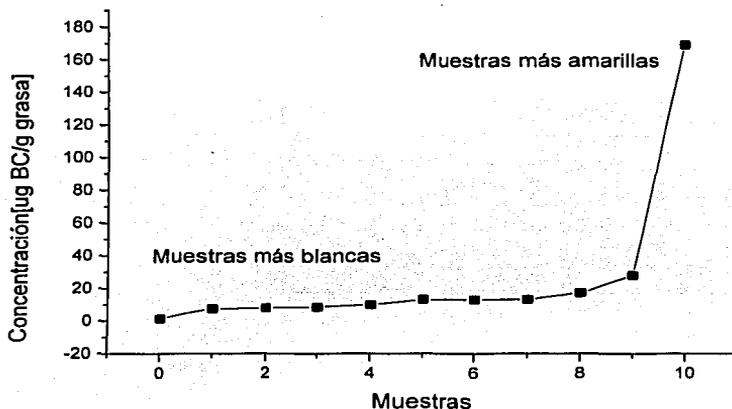


Figura 3.7 Tendencia de las muestras con diferente concentración calculada en el sistema.

La tendencia de los datos denota que se puede realizar una aproximación a una curva exponencial para el rango de altas concentraciones, sin embargo cuando se trata de concentraciones por debajo de $100 \frac{\mu\text{g } \beta\text{car}}{\text{g grasa}}$, la respuesta del sistema puede considerarse que

tiene un comportamiento lineal, es decir, si quitamos la última muestra que es la más colorida y sólo consideramos el resto de las muestras, podemos ver que el comportamiento de las lecturas de absorción en función de las lecturas de concentración es directamente proporcional con lo cual es posible obtener valores aproximados de concentración en función de la absorción de la muestra, siempre y cuando el coeficiente de absorción (α) no cambie en el intervalo de longitudes de onda de trabajo.

Una vez establecido el intervalo de medición lineal de concentración se puede graficar en una nueva escala la relación de absorción con la concentración de β -caroteno para concentraciones bajas es decir menor de $100 \frac{\mu\text{g } \beta\text{car}}{\text{g grasa}}$.

Si tomamos en cuenta los valores proporcionados por el instrumento de todas las muestras de aplicación, en el intervalo de color desde la más blanca a la más amarilla podemos graficar los resultados para estas cantidades, dando la variación dada en la figura 3.8.

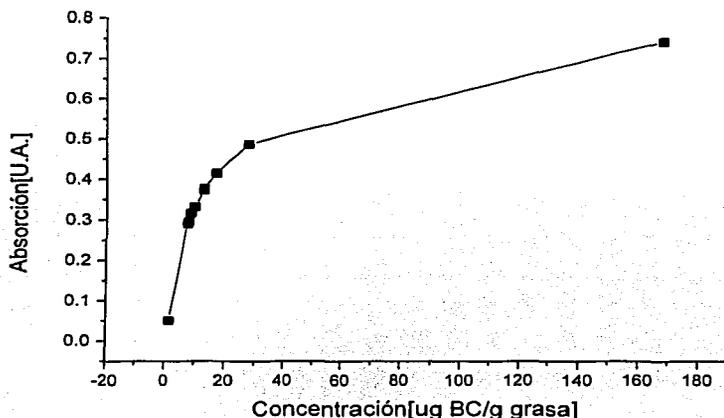


Figura 3.8 Relación de Absorción contra Concentración en la muestra dados por el sistema de medición.

Claramente se observa que existe una relación no lineal en general, pero también notamos que hay una región donde la relación se mantiene lineal, es decir antes de que el sistema se sature por falta de sensibilidad de los detectores ópticos para discernir entre valores altos de concentración o muy bajo poder de reflexión a partir de las muestras más amarillas.

Por lo tanto es factible acotar el intervalo de medición haciendo a un lado la primer muestra que es la más blanca ya que el patrón puede ser cualquier muestra a partir de la cual se tomará la referencia al momento de hacer mediciones de otras muestras con pigmento.

Así mismo si se dejan a un lado las últimas dos muestras con más contenido de β -caroteno podemos graficar los datos y ver que el resto de los datos sigue una relación casi perfecta, es decir que con esto se corrobora que la relación de absorción con la concentración en una muestra de este compuesto es una línea recta que pasa por el origen y que tiende a la saturación por grandes incrementos en la concentración en las muestras subsecuentes.

Por tal motivo si graficamos para 8 muestras podemos acotar el rango de medición del sistema que depende de la capacidad de los detectores ópticos, observamos el comportamiento visto en la figura 3.9.

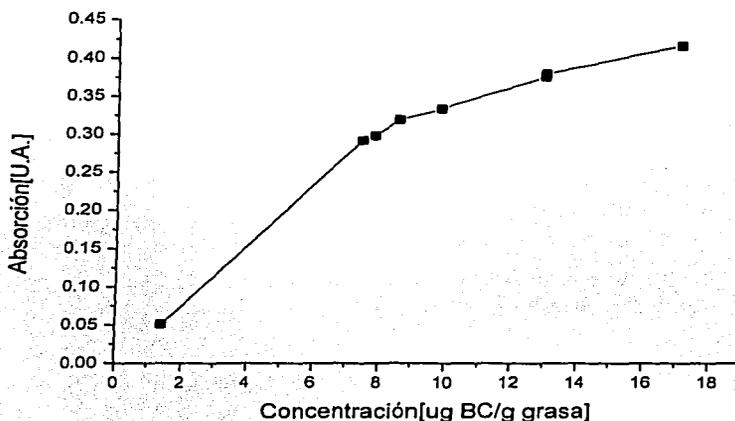


Figura 3.9 Gráfica donde se muestran los datos para los cuales los valores de absorción son proporcionales a la concentración.

El análisis de correlación mediante regresión lineal de la gráfica anterior nos dice que tenemos un coeficiente de correlación entre los datos de concentración de 0.93 con una desviación estándar de 0.04213 a base de 8 muestras, con un offset de 0.02197 en el valor de absorción de la muestra más blanca que representa un error en la medición de 0.00328. La pendiente de la aproximación lineal por regresión lineal que es de 0.09192 está ligado al coeficiente de absorción del β -caroteno.

Notamos que si tomamos valores con más concentración es posible que se comience a saturar el sistema y se tenga que utilizar la función logarítmica implementada para muestras con alto contenido de este compuesto químico. Esto sería en casos excepcionales, que si es posible encontrar, pero la mayoría de los casos de bovinos con tejido adiposo pigmentado amarillento se encuentra en el intervalo lineal del sistema de medición.

Los resultados de las muestras de aplicación también fueron cotejados con un equipo HPLC de laboratorio marca Hewlett Packard (Agilent Technologies) modelo 3100, en el cual se hizo la extracción de β -caroteno en cada muestra a una temperatura de 30°C, con una fase móvil de acetona, obteniéndose los valores que se muestran en la tabla 3.6,

Datos de Concentración de β -caroteno en HPLC [μ Molar]	Datos de Concentración de β -caroteno en HPLC [$\frac{\mu\text{g } \beta\text{caroteno}}{\text{g gra sa}}$]	Datos de Concentración obtenidos con el sistema de medición diseñado y calibrado [$\frac{\mu\text{g } \beta\text{caroteno}}{\text{g gra sa}}$]	# de Muestra
0.00274	1.46	0.48	M4
0.00275	1.31	0.52	M3
0.008315	4.45	3.04	M8
0.011	5.9	4.32	M7
0.01625	8.67	7.5	M6
0.01873	9.95	10.58	M9
0.1385	71.15	63.25	M10

Tabla 3.6 Datos de muestras de tejido adiposo analizadas y cotejadas con equipo de análisis HPLC comparadas con las obtenidas mediante el sistema diseñado y calibrado.

La conversión de la Concentración en μ Molar proporcionada por el equipo HPLC fue necesaria para cotejar los resultados proporcionados por el instrumento optoelectrónico, la forma en que se hizo es la siguiente:

$$x \mu\text{Molar} = \left(\frac{x \mu\text{mol}}{x \text{ g gra sa}} \right) \left(\frac{537 \mu\text{g } \beta\text{caroteno}}{1 \mu\text{mol}} \right) \quad \text{siendo el peso molecular del } \beta\text{-caroteno}=536.9 \text{ g}$$

debido a que la fórmula molecular del β -caroteno es $\text{C}_{40} \text{H}_{56}$.

Las muestras faltantes que no aparecen en la tabla anterior fue porque el sistema HPLC no detectó el contenido de pigmento en estas muestras por estar por debajo del mínimo detectable del sistema. En la parte derecha de la tabla se enumeran en orden las muestras cotejadas.

Se graficó la tendencia de las muestras de aplicación cotejadas con el equipo HPLC en función de la concentración. Esta tendencia es observada en la figura 3.10.

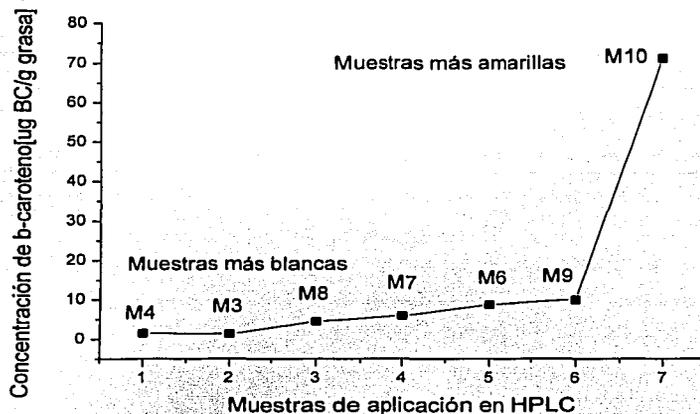


Figura 3.10 Tendencia de los valores de concentración obtenidos en HPLC en las muestras de aplicación siguiendo el mismo comportamiento de los valores obtenidos por el sistema diseñado.

Observamos una tendencia de los resultados proporcionados por el equipo HPLC similar a la que obtenemos por el sistema de medición diseñado. Observamos que el orden de las muestras es prácticamente el mismo que en nuestro sistema de acuerdo al valor de concentración.

Se nota así mismo una relación no lineal debido a la última muestra como en el caso del sistema construido, es decir, también hay un incremento notable registrado por el sistema HPLC en el caso de la última muestra que indica que para muestras con más concentración antes de este valor, la relación se simplifica en un comportamiento prácticamente lineal en este intervalo, pero más arriba de esto la relación tiene una no linealidad que se hace patente con muestra muy amarillas, casi llegando al color naranja. Por lo que en este caso se tiene la función logarítmica para evaluar el color, aunque el error se incrementa en el valor de la concentración debido a la compactación de la escala de la magnitud que afecta a la medición.

Se graficó también la relación entre los valores de concentración obtenidos en HPLC con los valores obtenidos mediante el sistema desarrollado y calibrado.

Estos valores son mostrados en la tabla 3.6 y se observa su correlación en la figura 3.11.

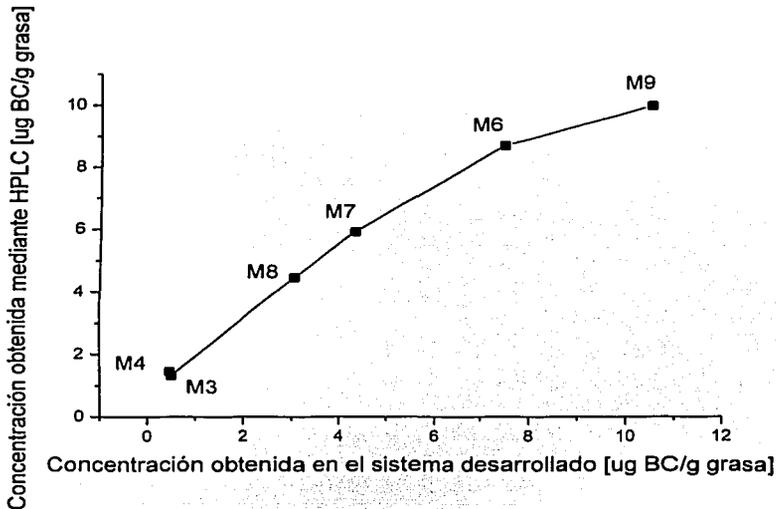


Figura 3.11 Datos obtenidos mediante un equipo HPLC de laboratorio cotejados con los obtenidos mediante el sistema de medición desarrollado y calibrado.

Se hizo la comparación de ambos sistemas para cotejar los resultados obtenidos del sistema diseñado con un sistema de Cromatografía de Líquidos de Alto Rendimiento, que es un equipo de laboratorio el cual tiene certificado de calibración vigente, de 6 muestras con tonalidades propias de terrenos tropicales y se pudo comprobar que existe una correlación de 0.98 con una desviación estándar para este conjunto de muestras de 0.72; lo que indica una muy buena correlación en este intervalo de concentración para muestras que tengan tonalidades similares a las muestras utilizadas en esta aplicación.

3.3 Calidad de la medición.

Para hacer un análisis de la calidad de la medición de este instrumento optoelectrónico es necesario referirse a las características técnicas del instrumento para proporcionar una forma satisfactoria de evaluar el color de una sustancia orgánica relacionada con la concentración de un agente pigmentante en la muestra.

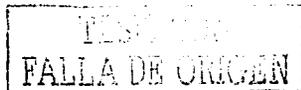
La forma objetiva de evaluar la calidad de la medición proporcionada por el sistema es mediante la revisión y consideración de las fuentes de error sistemáticas y aleatorias que dan un valor de incertidumbre a la medición, de tal manera que ésta cumpla con los requerimientos y tolerancias aceptadas para los fines que de este trabajo se persiguen.

Básicamente las desviaciones de las lecturas caen en tres diferentes campos: las desviaciones reales, químicas e instrumentales.

Las primeras derivan de considerar siempre uniforme la superficie para todas las muestras de tejido adiposo, es decir la forma en que se hace la medición sobre un dispositivo mecánico que garantiza que siempre se toma la misma cantidad de grasa y la colocación de la cabeza sensora sobre la muestra permiten asegurar que en las mediciones siempre se mantuvo un volumen constante en el cual la incidencia de luz hacia capas más profundas se considera uniforme.

Se realizó considerando un índice de refracción constante sin considerar espacios o grumos, ya que se considera la medición por reflexión de manera superficial. Para esto se realizaron pruebas de repetibilidad tomando 10 veces la lectura de la misma muestra y arrojando un error de repetibilidad de tan solo 0.3% sobre todas las mediciones. Esto permitió así mismo establecer la precisión del instrumento.

Las desviaciones químicas se refieren al hecho de considerar una banda de absorción muy estrecha que implica que la absorptividad se mantiene constante en esa longitud de onda, sin embargo el ancho de la banda es de ± 2.5 nm, debido al tamaño de la ventana detectora y al poder dispersante del prisma. Esto se nota en la correlación de los datos de absorción contra concentración, donde la pendiente tiene variaciones antes de hacer la regresión lineal que permite considerar la absorptividad como una constante en esa longitud de onda.



Los errores instrumentales parten principalmente de errores sistemáticos y errores aleatorios, en la medición del contenido de β -caroteno como compuesto pigmentante en una sustancia orgánica como se realizó en este trabajo, es una medición que depende fuertemente de la estabilidad de la señal óptica convertida en señal eléctrica. La figura 3.12 muestra la estabilidad de la señal de oscuridad (señal que se obtiene en condiciones de cero iluminación sobre el sensor), una vez que se ha ajustado el cero a la salida del sensor, en estas condiciones durante un tiempo de 2 horas.

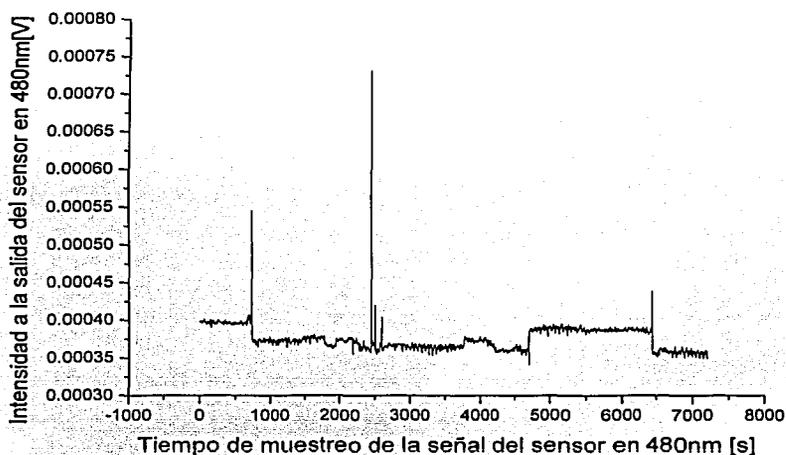


Figura 3.12. Estabilidad de sensor en 480 nm en condiciones de cero iluminación.

Observamos que la estabilidad en este sensor es muy buena, ya que tiene variaciones de tan solo $\pm 15 \mu\text{V}$ alrededor de un valor medio de $374 \mu\text{V}$. Esto significa que si tenemos una resolución en las lecturas de $\frac{1\text{Volt}}{1024 \text{ bit}} = 0.000976 \frac{\text{Volt}}{\text{bit}}$, es decir $976 \mu\text{V}$, entonces el margen del valor máximo por voltaje de oscuridad no afecta la lectura, ya que este valor es tres veces menor que el mínimo que se requiere para cambiar en una cuenta en convertidor A/D del microcontrolador e indicar un incremento en la escala mínima de concentración, sólo en el caso de que surja un transitorio en la salida de detector debido a una situación aleatoria por agentes

del medio no controlables podría afectar la lectura, pero en tal caso esta lectura puede repetirse nuevamente.

El caso de la estabilidad de la señal que sirve como referencia en 540 nm es de suma importancia ya que de esta dependerá la exactitud y la precisión de la medición. Se monitoreo la intensidad a la salida del sensor en la toma de lecturas de concentración por un lapso de 2 horas para ver que tanto se mueve la señal de referencia durante este tiempo. En la figura 3.13 podemos observar el comportamiento de la señal de referencia durante una sesión de toma de lecturas.

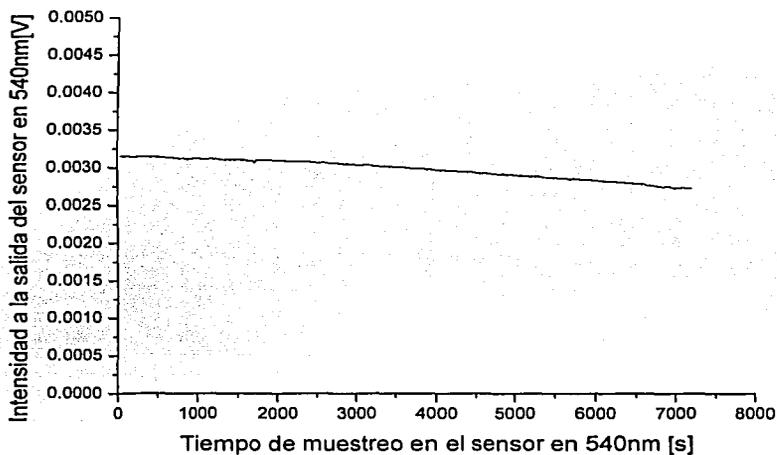


Figura 3.13 Estabilidad del sensor en 540 nm durante la toma de lecturas.

En este caso tenemos que la variación de la señal de referencia es tiene un valor promedio de $2.98 \text{ mV} \pm 0.170$ con una desviación estándar de los valores de 1.28×10^{-4} y notamos una deriva muy lenta, lo cual significa que si hacemos las lecturas en este intervalo de tiempo tendremos buena estabilidad de la señal de referencia.

Este monitoreo presupone tomar las lecturas con la lámpara encendida durante todo en intervalo de tiempo de las mediciones, pero si hacemos que la lámpara sólo esté activa cuando se hace la lectura para subir su vida media de uso, tendremos que considerar el tiempo que necesita la misma para alcanzar la temperatura de color adecuada.

Al analizar la respuesta del sensor colocado en 580nm durante la toma de una lectura en un lapso de tiempo de 1 minuto, nos damos cuenta de la estabilidad de las lecturas en condiciones de medición. En la figura 3.14 se muestra las variaciones de la señal en 580nm durante la toma de una medición.

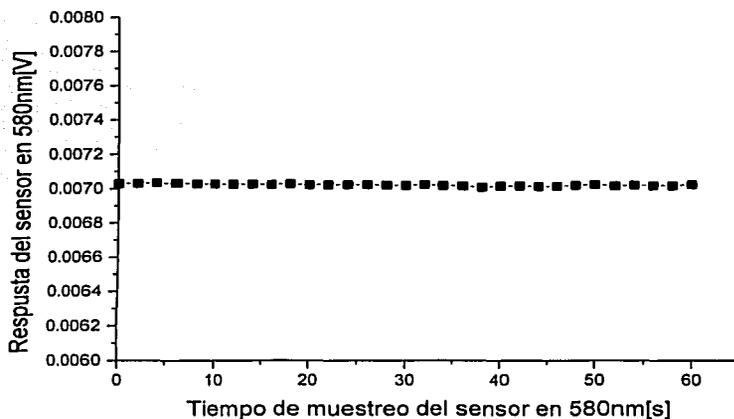


Figura 3.14 Acercamiento de la variación ocurrida en 580nm durante la toma de una lectura.

Las variaciones están alrededor de un valor promedio de $7.02 \text{ mV} \pm 0.015$, notamos que las variaciones se encuentran en un rango de $30 \text{ } \mu\text{V}$, lo cual nos da una idea que tenemos muy baja contribución a la incertidumbre total de la medición debido a la estabilidad de la señal en 580 nm al momento de la medición.

Por lo tanto tenemos muy buenas condiciones de estabilidad de nuestros detectores ópticos durante la secuencia de una medición.

Todo el monitoreo de la estabilidad de las lecturas se llevó a cabo mediante una interfaz electrónica Tektronix modelo TX3 mediante una computadora Pentium II a través del estándar RS232.

La radiación parásita que pueda infiltrarse hacia el sistema óptico del instrumento si es de suma importancia ya que de ello dependerá la concentración mínima que el sistema pueda detectar sin confundir la señal de interés con la señal proveniente de radiación parásita. Es decir si el ruido debido a este efecto es menor que el mínimo detectable por cada sensor no habrá problemas de esta índole, por lo que tendremos una buena relación señal a ruido.

La temperatura de color de la fuente de iluminación es de suma importancia para mantener una buena reproducibilidad en la medición, ya que de esta manera se garantiza que la intensidad sobre las bandas de interés que son amplificadas por un factor de emisión-detección no sean alteradas. Debe mantenerse siempre el mismo espectro de emisión asegurando que no cambie la temperatura de color regulando la energía entregada a la lámpara.

Para minimizar todas estas fuentes de incertidumbre se logró en primer lugar haciendo robustos los soportes mecánicos de los componentes ópticos y ajustando con mucha precisión la banda espectral con el monocromador. También se resguardó herméticamente el módulo óptico para evitar radiación parásita y se acondicionó herméticamente la parte del sistema electrónico para evitar corrimientos de las lecturas debido a los cambios en la temperatura ambiente.

CAPITULO 4. CONCLUSIONES

4.1 Conclusiones del capítulo 1.

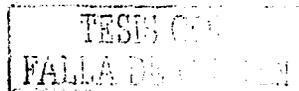
Las conclusiones de este capítulo se pueden enumerar de la siguiente forma:

1.-Se planteó la problemática de poder evaluar el color de muestras de tejido adiposo de bovinos en canal que son afectadas por el contenido de un agente pigmentante como lo es el β -caroteno, dándole una coloración amarillenta a la grasa ya que esto causa rechazo por parte del consumidor provocando pérdidas millonarias a los ganaderos de las zonas del país donde se presenta este problema.

2.-Se propuso como hipótesis el desarrollo de un instrumento optoelectrónico de campo con el cual se pudiera evaluar de manera objetiva el color que presenta una sustancia orgánica debido al contenido de un agente pigmentante en la muestra. Para lo cual se revisó el estado del arte en este campo y se llegó a la conclusión de que no existe ningún aparato comercial, patente o instrumento en la literatura científica que pudiese cuantificar el color de una muestra orgánica en condiciones de campo relacionado con la concentración de un agente pigmentante y poder establecer una escala de color que permita eliminar la subjetividad debido a las condiciones ambientales para apreciar el color.

3.-Se recomendó realizar una introducción sistemática al fenómeno en estudio, comenzando por el aspecto conceptual del fenómeno físico de la medición de color y cómo interactúa la radiación electromagnética con la materia, hasta la forma en que afecta el contenido de un agente pigmentante en este caso el β -caroteno como compuesto químico en una sustancia orgánica, pasando por la revisión de instrumentos de laboratorio que pueden cuantificar color por un lado, y otros que permiten calcular la concentración de un compuesto en una solución pero en ambiente de laboratorio, concluyendo que generalmente son equipos sumamente delicados y de gran costo.

4.,Se concluyó al final de este capítulo que es factible realizar un instrumento optoelectrónico con el cual se puede cuantificar el color, mediante la relación que existe con la concentración de



un compuesto pigmentante en la muestra empleando principios fotométricos, asociados con un sistema electrónico de alta calidad y gran rendimiento, que cumpla los requerimientos de diferenciación del color en el rango natural de tonalidades de tejido adiposo de bovino en muestra reales.

4.2 Conclusiones del capítulo 2.

En el capítulo 2 se realizó el desarrollo del sistema de medición, con lo cual podemos establecer varias conclusiones:

1.-La primera se refiere a que se observó primero el comportamiento espectral que presentaba una serie de muestras de tejido adiposo. Al hacer el análisis estadístico de esto se obtuvo un algoritmo que basado en la experimentación relaciona la concentración de un compuesto pigmentante en una muestra con la absorción o reflexión que presenta la muestra. Tal deducción está basada en la ley de Lambert y Beer pues la muestra absorbe en el visible debido al cromóforo que está presente y al número de moléculas capaces de absorber radiación en relación a la concentración de la muestra en un volumen determinado.

Por lo que si una muestra tiene una determinada concentración homogénea, cuando la luz pasa de una capa a otra en la grasa, la luz se va absorbiendo capa por capa hasta donde el espesor extinga o absorba completamente la radiación que interactúa con la grasa. La luz que no es absorbida se reflejará al final del paso óptico y regresará al sistema óptico llevando información de cuanto disminuyó la potencia radiante y en que proporción lo hizo en cada una de las bandas específicas para este compuesto.

2.-La siguiente conclusión es que la alineación de los componentes ópticos es de suma importancia ya que de esto depende en gran medida la eficiencia de la intensidad de luz que llega hasta los detectores ópticos y las pérdidas que se dan durante su recorrido. Se colocaron elementos ópticos de buena calidad para minimizar este efecto; así mismo de la fuente de luz se aprovechó al máximo la potencia radiante siempre manteniendo estable su espectro de emisión para tener una buena relación señal a ruido en la etapa de amplificación de la señal.

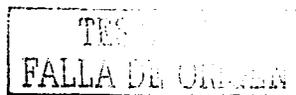


3.-El acondicionamiento de la señal óptica a una señal eléctrica fue un paso muy importante debido a que el criterio de selección del tipo de detector óptico dispuso que tuviera una curva de sensibilidad en el visible con un pico máximo de 0.45 A/W, una corriente de oscuridad 2.5 pA y la sensibilidad a efectos de temperatura fuera del orden de microvolts.

Debido a que la precisión fotométrica depende principalmente de la probabilidad de la cantidad de fotones que caen sobre el detector y el ruido de golpeteo, esto constituye fuentes de incertidumbre en la lectura de la concentración. El sistema de acondicionamiento incluye la parte de conversión de la fotocorriente a través del fotodiodo sensor a un voltaje proporcional a potencia radiante sobre la ventana del detector óptico. El acoplamiento mediante un amplificador de transimpedancia permitió la conversión de esta fotocorriente a una salida de voltaje lineal y proporcional. La integración de este acoplamiento en un solo circuito permite evitar las corrientes de fuga o capacitancias parásitas que afectan directamente sobre el tiempo de integración de la fotocorriente al momento de la amplificación.

4.-La etapa de amplificación es fundamental para el correcto funcionamiento del sistema ya que de la correcta amplificación y eliminación de ruido se pudo obtener una gran relación señal a ruido en esta etapa. Se escogió un amplificador con alta razón de rechazo común por arriba de 120 dB, al cual se agregó un filtro paso bajas tipo Bessel de tercer orden con una frecuencia de corte a -3dB de 1 KHz, que nos elimina frecuencias altas que pudieran afectar la medición. El acoplamiento de impedancias entre estas etapas es de vital importancia pues de ello depende que se transfiera la máxima potencia de las señales a etapas subsecuentes.

5.-La elección de un microcontrolador como sistema de procesamiento de las señales se hizo en base a la disposición de rutinas en aritmética de punto flotante, que nos permite el manejo de conversión de entero a flotante en formato de 24 bits, además de rutinas para resolver el logaritmo natural de la función para altas concentraciones de β -caroteno y la función exponencial para obtener el valor de la concentración directamente en el sistema en pruebas de campo, con tan sólo 1% de error debido a este manejo en 24 bits. Se eligió un microcontrolador con suficiente memoria de programa de 8Kx8 para manejar este tipo de rutinas, además se le conectó memoria EEPROM para el almacenamiento de datos para hacer más versátil el instrumento. Este dispositivo hace que el rendimiento entre la velocidad de procesamiento y consumo de memoria sea alto.



Así mismo permite que los datos y el manejo del instrumento se hagan de forma organizada, mediante el uso de un teclado que programa las funciones a realizar y el despliegue de lecturas se haga digitalmente.

El precio de este microcontrolador hace que el sistema de medición pueda competir en costo con instrumentos similares y también en cuanto a calidad.

4.3 Conclusiones del capítulo 3.

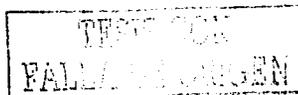
Las conclusiones de este capítulo van dirigidas a establecer si los resultados son los que se esperaban y cuál es el alcance de los mismos.

1.-Se pudo comprobar que efectivamente existe una relación entre el color que presenta una muestra de tejido adiposo de bovino en canal y la concentración de un compuesto pigmentante como lo es en este caso el β -caroteno, dicha relación jugó un papel definitivo para implementar el algoritmo de evaluación del color empleada en este sistema.

2.-La medición de la concentración por un lado y la evaluación de color por el otro nos permitieron conjuntar aspectos particulares para darle forma a este instrumento. Los instrumentos para la medición de estos parámetros son instrumentos de laboratorio que exigen mucho cuidado tanto en su uso como en su mantenimiento y por lo regular son manejados por personal altamente especializado.

3.-Los datos proporcionados por instrumentos análogos a este, como los espectrofotómetros, colorímetros y equipo HPLC indican que los resultados obtenidos mediante este sistema son coherentes, es decir, están basados en principios físicos y químicos concordantes con los principios teóricos del fenómeno.

Los datos son repetibles teniendo las mismas condiciones de medición y la exactitud depende en gran parte de la estabilidad de la señal fotométrica y del factor de incertidumbre global que es del 3% dado principalmente por la influencia de agentes externos sobre la muestra, que impiden medir la muestra libre de impurezas. Así mismo la alineación y robustez de los elementos ópticos y el acoplamiento óptico nos permitieron hacer ajustes más precisos de las bandas de absorción y reflexión.



4.-La tendencia del orden de las muestras por el método visual difirió del orden presentado en comparación con los otros sistemas de medición utilizados para comparar el color con los datos del sistema diseñado. Se comprobó la subjetividad que tiene la evaluación del color por técnicas meramente visuales.

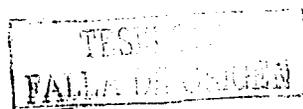
4.4 Conclusiones Generales.

El desarrollo y aplicación de un instrumento optoelectrónico para evaluar el color en muestras orgánicas relacionado con el contenido de un agente pigmentante nos permitió obtener las siguientes conclusiones generales:

1.-Se logró diseñar y construir un sistema de medición automática del color que presenta una sustancia orgánica en función de la concentración de un compuesto pigmentante contenido en la muestra, con una sensibilidad de $1 \times 10^{-6} \frac{g \beta\text{caroteno}}{g \text{grasa}}$ por cada cambio de lectura del dígito menos significativo de la lectura proporcionada por el sistema es decir por cada 1.9 mV y un rango en escala lineal de $100 \times 10^{-6} \frac{g \beta\text{caroteno}}{g \text{grasa}}$ y hasta de $1000 \times 10^{-6} \frac{\mu g \beta\text{caroteno}}{g \text{grasa}}$ en escala logarítmica. Lográndose con esto establecer una escala de color en base a la concentración del pigmento en muestras de grasa de bovino en canal.

2.-Se puso de manifiesto que para cuantificar una variable cualquiera que esta sea, es necesario conocer el fenómeno a fondo y las implicaciones que generan las fuentes de error sobre la medición, que nos dan el grado de incertidumbre y por lo tanto de la tolerancia permitida para valorar la calidad de un instrumento. El diseño y análisis de los datos proporcionados por este instrumento nos permite indicar que es un instrumento confiable con los márgenes de error establecidos para esta aplicación.

3.-El diseño optoelectrónico depende en gran medida de manejar un amplio criterio para la selección de los componentes que conformarán el sistema, estableciendo en su caso los rangos de trabajo, la tolerancia permitida, el costo etc. En este diseño se logró conjuntar y



acoplar un sistema de detección óptica a un sistema de medición y procesamiento electrónico de gran calidad y rendimiento.

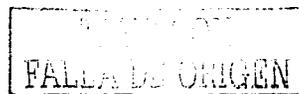
La aplicación en campo orientó la construcción para prever las posibles fuentes de error externo y manejarlas de tal manera que produjeran el mínimo efecto sobre el sistema.

4.-La calibración del sistema y corroboración de los datos proporcionados por el instrumento indican que es factible establecer un método más adecuado de calibración, es decir que se tenga un patrón de medición estandarizado, que contenga especificaciones y condiciones que puedan ser reproducibles por cualquier usuario. Hasta el momento se consiguió establecer una nueva forma de cuantificar aceptablemente este fenómeno con este desarrollo tecnológico de vanguardia.

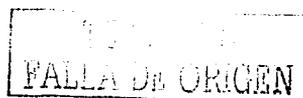
5.-Existe un área enorme de investigación científica en el campo de la instrumentación electrónica de campo que pueda competir en calidad y costo con otros desarrollos, lo cual nos indica que tenemos que realizar proyectos de desarrollo tecnológico interdisciplinarios y conjuntar esfuerzos para que estos desarrollos estén al alcance de los sectores productivos y sociales que los demandan.

REFERENCIAS

- 1.-Barron G.S. *Variación estacional de la coloración de tejido adiposo de bovino: Su Impacto en la Ganadería Tropical* (Tesis de Maestría en Salud y Producción Animal, FES-Cuahuatitlán UNAM), 125.2000.
- 2.-Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H., *Carotenoids Volume 1B Spectroscopy* (Birkhauser Verlag, Basel Switzerland), 360(1995).
- 3.-Christiansen D. *Electronics Engineer's Handbook* (4th edition, Mc Graw Hill, Ney York U.S.A.), 800.(1996).
- 4.-Denoyelle C., Bery F.,1999. Objective measurement of veal color for classification purposes. *Journal of Meat Science.*, 53:203-209.
- 5.-Edmund Industrial Optics(Edition 2002 Tucson AZ 85715 U.S.A.).Optical and Optical Instruments Catalog.
- 6.-Fergus M. Clydesdale. 1993. Color as a factor in food choice. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 33(1): 83-101.
- 7.-Friden J., *Handbook on inteligent sensors.*(Third edition Wiley Interscience, Ney York U.S.A.), 548(1994).
- 8.-Hart N.S., Partridge J.C., Cuthill I.C. 1999. Visual pigments cone oil droplets, ocular media and predicted spectral sensitivity in the domestic turkey. *Visión Research.* 39:3321-3328.
- 9.-Hata R. Tissa, Scholz A. Theresa 2000. Non-invasive Raman Spectroscopy detection of carotenoids in human skin. *The Journal of Investigative Dermatology.* 115:441-448.
- 10.-Honikel K.O. 1998. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Journal of Meat Science.* 49:447-457.
- 11.-Irie, M 1999. Evaluation of porcine fat with fiber-optic spectroscopy. *Journal of Animal Science.* 77:2680-2683.
- 12.-Kaihara Mikio, Sato Yoshihumi 2000.Extraction of diffuse reflection spectrum on reflectance spectroscopy for solid or powder surfaces. *Acta Spectrochimica*, part A.56:897-900.
- 13.-Knight T.W., Ridland M., Hill F., Death A. & Wyeth, T. 1993. Effects of stress and nutritional changes on the ranking of cattke on plasma carotene concentrations. *Proceedings of the New Zeland Society of Animal Production.* 53:455-456.
- 14.-Kronberg W.J.,1990. Universal Fiber-optic C.I.E. colorimeter. (U.S. Patent , US5157465, Beech Island SC 29841U.S.A.) US1990000596130.



- 15.-Mano M. M., *Arquitectura de Computadoras* (Tercera edición. Prentice Hall Hispanoamericana, México D.F.), 563: 1994.
- 16.-Microchip Technology Inc. Data Sheet and Reference Manual, Microcontrollers PIC16F8XX. (2355 West Chandler Blvd., Chandler AZ. U.S.A.), 210:2001.
- 17.-Minguez-Mosquera Isabel, Jaren-Galan, Manuel 1995. Kinetics of the decolouring of carotenoid pigments. *Journal of Science Food Agriculture*. 67:153-161.
- 18.-Mora Ofelia, Romano L. José, 1999. In vitro and in situ disappearance of β -carotene and lutein from lucerne(*Medicago sativa*) hay in bovine and caprine ruminal fluids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.79:273-276.
- 19.-O'Shea Donald C., *Elements of Modern Optical Design* (Second Edition, Wiley Interscience, New York, U.S.A.), 416, (1985).
- 20.-Ott W. H. *Noise Reduction Techniques in Electronic Systems*. (Second Edition, Wiley Interscience, New York, U.S.A.), 426(1988).
- 21.-Peñuelas Joseph, Filella Iolanda 1998.Visible and near infrared reflectance techniques for diagnostic plants physiological status. *Trends in Plants Science*.3:151-156.
- 22.-Ramirez N.J., Mendoza D., Castaño V.M. 1998. A comparative study on effect of gamma and UV irradiation on the optical properties of chlorophyll and carotene. *Journal of Optical Materials*.
- 23.-Rich, C. Dany, Martin Denis 1999. Improved model for improved the inter-instrument agreement of spectrophotometers. *Analytica Chimica Acta*.380:263-276.
- 24.-Scott N.R. *Computer Number Systems And Arithmetic*(Third Edition, Prentice Hall, Ney York U.S.A.) 478(1985).
- 25.-Springsteen A., 1999. Standars for the measurement of diffuse reflectance- an overview of available materials and measurement laboratories. *Analytica Chimica Acta*. 380(379-390).
- 26.-Swatland, H. J.1997. Internal Fresnel reflectance from meat microstructure in relation to pork paleness and PH. *Journal of Food Research International*. 30:565-570.
- 27.-Swatland, H. J.1998. Recognition of spectra in the automated assessment of pork quality through single optical fibers. *Journal of Food Research International*. 31:65-71.
- 28.-Swatland, H. J., Barbut S. 1999. Sodium chloride levels in comminuted chicken muscle in relation to processing characteristics and Fresnel reflectance detected with a polarimetric probes. *Journal of Meat Science*. 51:377-381.



- 29.-Testa J. F. Floating Point Math Routines "AN 660" (Embedded Control Handbook, Microchip Technologies Inc.) 1995.
- 30.-Testa J .F. IEEE 754 Compliant Floating Point Routines"AN 575"(Embedded Control Handbook, Microchip Technologies Inc.) 1995.
- 31.-The Newport Resource. Guide of standar products and applications notes. Tutorials.(2002).
- 32.-Van Oecled M.J., Warnants N., Boucqué.1999. Measurement and prediction of pork color. Journal of Meat Science. 52:347-354.
- 33.-Willard H., Merrit L., Dean J., Settle F., *Métodos Instrumentales de Análisis* (Séptima Edición, Grupo Editorial Iberoamericana, México D.F.), 879(1991).
- 34.-Zayac A., Hetch E. *Optics* (Third Edition, Addison-Wesley Publishing Company, Massachusetts, U.S.A.), 649,(1999).

APENDICE "A"

;Programa para evaluar el color de una sustancia orgánica, relacionado con la concentración de β -caroteno en la muestra, aplicando un algoritmo que da la concentración en una escala lineal para bajas concentraciones y una escala logarítmica para altas concentraciones.
 ;Para esto utiliza la implementación de rutinas de punto flotante basadas en el estándar IEEE 754. También incluye el acondicionamiento de elementos periféricos para hacer más versátil el sistema de medición.

```
List      p=pic16f876      ;Especifica que el modelo de microcontrolador

#include  "p16f876.inc"    ;Librería que contiene los registros correspondientes
                          ;al modelo que se utiliza.

#include  "dev_fam.inc"    ;Librería que selecciona las variables a utilizar en
                          ;las rutinas matemáticas

#include  "math16.inc"     ;Librería que contiene la dirección de los registros
                          ;que se utilizan para las rutinas de punto flotante.

#include  "math16.mac"     ;Librería que contiene macros para la correcta ejecución
                          ;de algunas ecuaciones matemáticas.

cblock  0x40              ;Inicio de bloque
cnt1
cnt2
cnt3
V1EXP                      ;Registros que guardaran los valores de V1, V2 y V3 temporalmente
V1ARGB0
V1ARGB1
V1ARGB2
V1ARGB3
V2EXP
V2ARGB0
V2ARGB1
V2ARGB2
V2ARGB3
V3EXP
V3ARGB0
V3ARGB1
V3ARGB2
V3ARGB3
LCD_TEMP_1
LCD_TEMP_2
TEM_DATO
VALOR_TECLA
temp
endc                        ;fin de variables

org      0x00

bsf      PCLATH,3
goto     INICIO

org      0x05
```

;-----Subrutinas

```
#include "LOG24.A16"      ;Contiene las rutinas para realizar la función ln (x)

#include "FP32.A16"       ;Contiene las rutinas matemáticas de 32 bits

#include "FXD26.A16"      ;Contiene una multiplicación

#include "FP24.A16"       ;Contiene las rutinas matemáticas de 24 bits

#include "FXM44.A16"      ;Contiene una multiplicación

#include "RND3224.A16"    ;Contiene rutinas de redondeo

#include "fioasc.inc"     ;Librería que contiene las rutinas necesarias para convertir
                          ;el formato flotante a código ASCII
```

135

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

```

#include "lcd_con.inc" ;Libreria que contiene las rutinas de control para una
                        ;pantalla de Lcd de comunicaci3n paralela.

#include "lcd_pan.inc" ;Libreria que contiene las pantallas a exhibirse por el
                        ;LCD

;----- Delay X aprox.... 647.77 msec
;--Equacion del tiempo
;-- 1c(3XYZ + 5XY + 5X + 5) = t. (mSEC)
;-- donde: X=CNT1, Y=CNT2 y Z=CNT3; 1c=Ciclo de m3quina (1uSEC) y t=tiempo de espera
;
;--- El valor de CNT1 est3 en W como un par3metro          255-253= 2
delay movwf cnt1 ; 1c...
lop1 movlw D'85' ; 1c... x CNT1(5) 255-85= '170'
    movwf cnt2 ; 1c... x CNT1(5)
lop2 movlw D'10' ; 1c... x CNT2(250) x CNT1(5) 255-10= '145'
    movwf cnt3 ; 1c... x CNT2(250) x CNT1(5)
;lop3 incfsz cnt3,1 ; 1c... x CNT3(250) x CNT2(250) x CNT1(5)
;      goto lop3 ; 2c... x CNT3(250) x CNT2(250) x CNT1(5) ciclo interno
;      incfsz cnt2,1 ; 1c... x CNT2(250) x CNT1(5)
;      goto lop2 ; 2c... x CNT2(250) x CNT1(5) ciclo externo
;      incfsz cnt1,1 ; 1c... x CNT1(5)
;      goto lop1 ; 2c... x CNT1(5)
;      return ; 2c...

;-----Inicia una nueva conversi3n
CONV_NEW bsf ADCON0,2 ;inicia una nueva conversi3n utilizando el ADC
espera btfsc ADCON0,2 ;verifica que se haya terminado la conversi3n
        goto espera ;no ha terminado la conversi3n
        return ;termino la conversi3n

;-----Guarda el dato binario obtenido de la conversi3n
EXIHIBIRbsf STATUS,5 ;cambio de banco 1
        movf ADRESL,0 ;mueve la parte baja del resultado del ADC a w
        bcf STATUS,5 ;cambio de banco 0
        movwf AARGB3 ;w se guarda en el registro AARGB3
        movf ADRESH,0 ;mueve la parte alta del resultado del ADC a w
        movwf AARGB2 ;w se guarda en el registro AARGB2
        return

;-----Conversi3n del dato binario del ADC a un valor de punto flotante.
;-----El numero obtenido del ADC es multiplicado por X=4.8828125x10-3
CON_ADC bcf PCLATH,3
        clrf AEXP
        clrf AARGB0
        clrf AARGB1
        call FLO3232
        movlw 0x77
        movwf BEXP
        movlw 0x20
        movwf BARGB0
        movlw 0x00
        movwf BARGB1
        movlw 0x00
        movwf BARGB2
        clrf BARGB3
        call FPM32
        bsf PCLATH,3
        return

;-----Realiza el proceso de conversi3n de un dato
ADC_CON movwf ADCON0
        movlw d'253'

```

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

```

call          delayx
call          CONV_NEW
call          EXHIBIR
call          CON_ADC
return

```

```

;-----Configura el microcontrolador para trabajar adecuadamente
CONG_PIC      bsf          STATUS,5
              movlw       b'00101111'
              movwf       TRISA
              clrf        TRISB
              clrf        TRISC
              movlw       b'10000000'
              movwf       ADCON1
              bcf         STATUS,5
              bsf         PCLATH,3
              call        LCD_INI
              return

```

```

;-----Limpia los registros utilizados en el programa

```

```

CLEAR  clrf    VIEXP
              clrf    V1ARGB0
              clrf    V1ARGB1
              clrf    V1ARGB2
              clrf    V1ARGB3
              clrf    V2EXP
              clrf    V2ARGB0
              clrf    V2ARGB1
              clrf    V2ARGB2
              clrf    V2ARGB3
              clrf    V3EXP
              clrf    V3ARGB0
              clrf    V3ARGB1
              clrf    V3ARGB2
              clrf    V3ARGB3
              clrf    AEXP
              clrf    BEXP
              clrf    AARGB0
              clrf    AARGB1
              clrf    AARGB2
              clrf    AARGB3
              clrf    BARGB0
              clrf    BARGB1
              clrf    BARGB2
              clrf    BARGB3
              return

```

```

;-----Activa el bus de datos del teclado
AC_BUS  bsf    PORTA,4
              bcf    PORTC,5
              nop
              nop
              return

```

```

;-----Transporta el valor del puerto b a una variable

```

```

B_TECLA  movwf   PORTB,0
              movwf  VALOR_TECLA
              bcf    VALOR_TECLA,0
              bcf    VALOR_TECLA,1
              bcf    VALOR_TECLA,2
              bcf    VALOR_TECLA,3
              return

```

```

;-----Obtiene los valores de los canales 0, 1 y 2 del adc, guardando sus valores en
;-----formato de punto flotante en las variables de V1, V2 y V3
DATOS_ADC  movlw   b'01000001' ;selecciona el canal 0 del A/D
              call   ADC_CON

```

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

```

movf          AEXP,0
movwf        V1EXP
movf          AARGB0,0
movwf        V1ARGB0
movf          AARGB1,0
movwf        V1ARGB1
movf          AARGB2,0
movwf        V1ARGB2
movf          AARGB3,0
movwf        V1ARGB3
movlw        b'01001001' ;selecciona el canal 1 del A/D
call         ADC_CON
movf          AEXP,0
movwf        V2EXP
movf          AARGB0,0
movwf        V2ARGB0
movf          AARGB1,0
movwf        V2ARGB1
movf          AARGB2,0
movwf        V2ARGB2
movf          AARGB3,0
movwf        V2ARGB3
movlw        b'01010001' ;selecciona el canal 2 del A/D
call         ADC_CON
movf          AEXP,0
movwf        V3EXP
movf          AARGB0,0
movwf        V3ARGB0
movf          AARGB1,0
movwf        V3ARGB1
movf          AARGB2,0
movwf        V3ARGB2
movf          AARGB3,0
movwf        V3ARGB3
return

```

-----Coloca el valor de V1 en los registros adecuados para llevar a cabo la suma

```

VOLTAJE1     movf          V1EXP,0
movwf        AEXP
movf          V1ARGB0,0
movwf        AARGB0
movf          V1ARGB1,0
movwf        AARGB1
movf          V1ARGB2,0
movwf        AARGB2
movf          V1ARGB3,0
movwf        AARGB3
return

```

-----Coloca el valor de V2 en los registros adecuados para llevar a cabo la suma

```

VOLTAJE2     movf          V2EXP,0
movwf        BEXP
movf          V2ARGB0,0
movwf        BARGB0
movf          V2ARGB1,0
movwf        BARGB1
movf          V2ARGB2,0
movwf        BARGB2
movf          V2ARGB3,0
movwf        BARGB3
return

```

-----Coloca el valor de V3 en los registros adecuados para llevar a cabo la división

```

VOLTAJE3     movf          V3EXP,0
movwf        BEXP

```

TESTE CON
FALLA DE ORIGEN

```

movf    V3ARGB0,0
movwf   BARGB0
movf    V3ARGB1,0
movwf   BARGB1
movf    V3ARGB2,0
movwf   BARGB2
movf    V3ARGB3,0
movwf   BARGB3

return

```

;------Coloca el valor de una constante para ser sumada al resultado obtenido del ln (x)

```

CONSTANTE    movlw   0x7f
movwf        BEXP
movlw        0x00
movwf        BARGB0
movlw        0x00
movwf        BARGB1
movlw        0x00
movwf        BARGB2
movlw        0x00
movwf        BARGB3

return

```

;------Obtiene los valores de los canales 0, 1 y 2 del adc, transformandolos
;------valores de punto flotante, que seran exhibidos en la pantalla de calibracion

;------manual

DATOS_ADC_MANcall

```

CAN_0
clr      PORTB
call    AC_BUS
bsf     STATUS,5
movlw   0xff
movwf   TRISB
bcf     STATUS,5
nop
nop
btfsc  PORTB,0 ;verica si alguna tecla fue presionada
goto   enter_man
call   CAN_1
clr    PORTB
call  AC_BUS
bsf   STATUS,5
movlw 0xff
movwf TRISB
bcf   STATUS,5
nop
nop
btfsc PORTB,0 ;verica si alguna tecla fue presionada
goto  enter_man
call  CAN_2
clr   PORTB
call  AC_BUS
bsf   STATUS,5
movlw 0xff
movwf TRISB
bcf   STATUS,5
nop
nop
btfsc PORTB,0 ;verica si alguna tecla fue presionada
goto  enter_man
goto  DATOS_ADC_MAN

```

enter_man call

```

B_TECLA ;si alguna tecla fue presiona guarda su valor
movlw 0xF0 ;verifica que la tecla presionada sea "enter"
subwf VALOR_TECLA,0
btfs  STATUS,2
goto  DATOS_ADC_MAN ;se presiono una tecla pero no fue la correcta
return

```

TECNOLOGIA CON
FALLA DE ORIGEN

;------Rutina que obtiene y muestra el valor del canal 0 para su calibracion

```
CAN_0  bsf          STATUS,5
        clr         TRISB
        bcf         STATUS,5
        movlw      b'01000001' ;selecciona el canal 0 del A/D
        call       ADC_CON
        call       FLOAT_ASCII
        call       PANTALLA_10
        return
```

;------Rutina que obtiene y muestra el valor del canal 1 para su calibracion

```
CAN_1  bsf          STATUS,5
        clr         TRISB
        bcf         STATUS,5
        movlw      b'01001001' ;selecciona el canal 1 del A/D
        call       ADC_CON
        call       FLOAT_ASCII
        call       PANTALLA_11
        return
```

;------Rutina que obtiene y muestra el valor del canal 2 para su calibracion

```
CAN_2  bsf          STATUS,5
        clr         TRISB
        bcf         STATUS,5
        movlw      b'01010001' ;selecciona el canal 2 del A/D
        call       ADC_CON
        call       FLOAT_ASCII
        call       PANTALLA_12
        return
```

;------Escribe, lee y guarda el dato denominado clase que puede
;------ser "A,B,C,D"

```
ESC_LEC_CLASE  bsf          PCLATH,3
                call        ESC_CLASE ; verifica que tecla fue presionada
                clr         PORTB
                call        AC_BUS
                movlw      0xFF
                movwf     TRISB
                bcf         STATUS,5
                p4         bitss    PORTB,0
                goto       p4
                call       B_TECLA ;si alguna tecla fue presiona guarda su valos
                movlw      0xF0 ;verifica que la tecla presionada se "enter"
                subwf     VALOR_TECLA,0
                bitss    STATUS,2
                goto       p4 ;se presiono una tecla pero no fue la correcta
                return
```

```
ESC_CLASE      clr         PORTB ;activa comunicacion con el teclado y espera
                call        AC_BUS ;respuesta
                bsf         STATUS,5
                movlw      0xFF
                movwf     TRISB
                bcf         STATUS,5
                p3         bitss    PORTB,0
                goto       p3
                call       B_TECLA
                movlw      0x90
                subwf     VALOR_TECLA,0
                bitss    STATUS,2
                goto       lt_b1
                bsf         STATUS,5
                clr         TRISB
                bcf         STATUS,5
                movlw      'A' ;la tecla pulsada fue A
```

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

```

movwf PORTB
call LCD_DATO
call DISPLAY_ON_CUR_OFF
return

lt_b1 movlw 0xD0
subwf VALOR_TECLA,0
btfs STATUS,2
goto lt_c1
bsf STATUS,5
clrf TRISB
bcf STATUS,5
movlw 'B' ;la tecla pulsada fue B
movwf PORTB
call LCD_DATO
call DISPLAY_ON_CUR_OFF
return

lt_c1 movlw 0x30
subwf VALOR_TECLA,0
btfs STATUS,2
goto lt_d1
bsf STATUS,5
clrf TRISB
bcf STATUS,5
movlw 'C' ;la tecla pulsada fue C
movwf PORTB
call LCD_DATO
call DISPLAY_ON_CUR_OFF
return

lt_d1 movlw 0x70
subwf VALOR_TECLA,0
btfs STATUS,2
goto p3
bsf STATUS,5
clrf TRISB
bcf STATUS,5
movlw 'D' ;la tecla pulsada fue D
movwf PORTB
call LCD_DATO
call DISPLAY_ON_CUR_OFF
return

```

-----Realiza las lecturas de los datos obtenidos de los sensores.

```

LEC_DATOS nop
p5 call DATOS_ADC ;obtiene lecturas
call VOLTAJE1
call VOLTAJE2
bcf PCLATH,3
call FPS32 ;realiza la operacion de resta
bsf PCLATH,3
btfs AARGB0,7 ;verifica si el resultado es negativo
goto loop ;o positivo
call VOLTAJE3
bcf PCLATH,3
call FPD32 ;realiza la operacion de division
bsf PCLATH,3
sublw 0x1f
btfs STATUS,2 ;verifica que la division no se haya efectuado
goto loop ;entre cero
call CONSTANTE
bcf PCLATH,3
call FPA32 ;se suma el resultado por una constante
bsf PCLATH,3
clrf BEXP
clrf BARGB0
clrf BARGB1
clrf BARGB2

```

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

```

clrf    BARGB3
bcf    PCLATH,3
call   LOG24           ;se calcula el logaritmo del resultado obtenido
bsf    PCLATH,3
bitfsc AARGB0,7       ; verifica que el resultado no sea negativo
goto   loop
bcf    AARGB0,7
call   FLOAT_ASCII    ;convierte los datos a ASCII
call   PANTALLA_7
clrf   PORTB          ;verifica que se presione la tecla enter
call   AC_BUS
movlw  0xff
movwf  TRISB
bcf    STATUS,5
bitfss PORTB,0
goto   p5
call   B_TECLA        ;si alguna tecla fue presiona guarda su valos
movlw  0xf0           ;verifica que la tecla presionada se "enter"
subwf  VALOR_TECLA,0
bitfss STATUS,2
goto   p5             ;se presiono una tecla pero no fue la correcta
return

```

```

;-----Rutina cuando surge un error
loop   call   PANTALLA_ERROR
      movlw  d'240'
      call   delayx
      bsf    temp,7
      return

```

```

;-----Sub-control para la rutina correspondiente ala actividad
;-----de medir

```

```

MEDIR  bsf    STATUS,5
      clrf   TRISB
      bcf    STATUS,5
p6     call   PANTALLA_3   ;muestra la pantalla de calibracion manual
      movlw d'240'
      call   delayx       ;retardo de 5s aproximadamente
p8     call   PANTALLA_4   ;muestra los voltages provenientes del ADC
      call   DATOS_ADC_MAN
      bsf    STATUS,5
      clrf   TRISB
      bcf    STATUS,5
      call   PANTALLA_13  ;pantalla de seleccion de clase
      call   ESC_LEC_CLASE ;guarda la clase y numero de muestra en la EEPROM
      call   LEC_DATOS   ;comienza rutina para la medicion de los valores
                        ;que adquiere del dispositivo
      call   PANTALLA_14
      bsf    PCLATH,3
      clrf   PORTB
      call   AC_BUS      ;activa el bus de datos para el teclado
      bsf    STATUS,5
      movlw  0xff
      movwf  TRISB
p7     bcf    STATUS,5
      bitfss PORTB,0     ;espera a que una tecla sea presionada en el teclado
      goto   p7
      bcf    PCLATH,3
      call   B_TECLA     ;guarda el valor de la tecla presionada
      bsf    PCLATH,3
      movlw  0x40        ;verifica que la tecla presionada sea 1
      subwf  VALOR_TECLA,0
      bitfss STATUS,2
      goto   dos
      goto   p8
dos    movlw  0x80        ;verifica que la tecla presionada sea 2
      subwf  VALOR_TECLA,0

```

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

```

btfss STATUS,2
goto p7
return

```

```

;-----Sub-control para la rutina correspondiente ala actividad
;-----de mostrar algun dato guardado en la EEPROM

```

```

MOS_DATO    bsf     STATUS,5
            clrf    TRISB
            bcf     STATUS,5
            call   PANTALLA_8
            movlw  d'240'
            bcf     PCLATH,3
            call   delayx
            bsf     PCLATH,3
            return

```

```

;-----Sub-control para la rutina correspondiente ala actividad
;-----de transmitir los datos atraves del USART a una PC

```

```

DES_PC     bsf     STATUS,5
            clrf    TRISB
            bcf     STATUS,5
            call   PANTALLA_9
            movlw  d'240'
            bcf     PCLATH,3
            call   delayx
            bsf     PCLATH,3
            return

```

```

;-----Programa principal

```

```

INICIO     bsf     PCLATH,3
            call   CONG_PIC           ;configura en uC
            call   BORRA_Y_HOME
            call   DISPLAY_ON_CUR_OFF
            call   PANTALLA_1       ;muestra la pantalla de presentacion
            movlw  d'240'
            delayx                    ;retardo de 5s aproximadamente
p1         call   PANTALLA_2       ;muestra la pantalla del menu general
            clrf    PORTB
            call   AC_BUS           ;activa el bus de datos para el teclado
            movlw  0xf7
            bsf     STATUS,5
            movwf  TRISB
p2         bcf     STATUS,5
            btfss  PORTB,0         ;espera a que una tecla sea presionada en el teclado
            goto  p2
            call   B_TECLA         ;guarda el valor de la tecla presionada
            movlw  0x40
            subwf  VALOR_TECLA,0     ;verifica que la tecla presionada sea 1
            btfss  STATUS,2
            goto  sel_dos
            call   MEDIR           ;llama a la rutina encargada de realiza la actividad de
            ;medir
            goto  p1
sel_dos    movlw  0x80
            subwf  VALOR_TECLA,0     ;verifica que la tecla presionada sea 2
            btfss  STATUS,2
            goto  sel_tres
            call   MOS_DATO         ;llama a la rutina encargada de abrir un dato
            ;guardado en la memoria EPROM
            goto  p1
sel_tres   movlw  0xC0
            subwf  VALOR_TECLA,0     ;verifica que la tecla presionada sea 3
            btfss  STATUS,2
            goto  p2

```

143

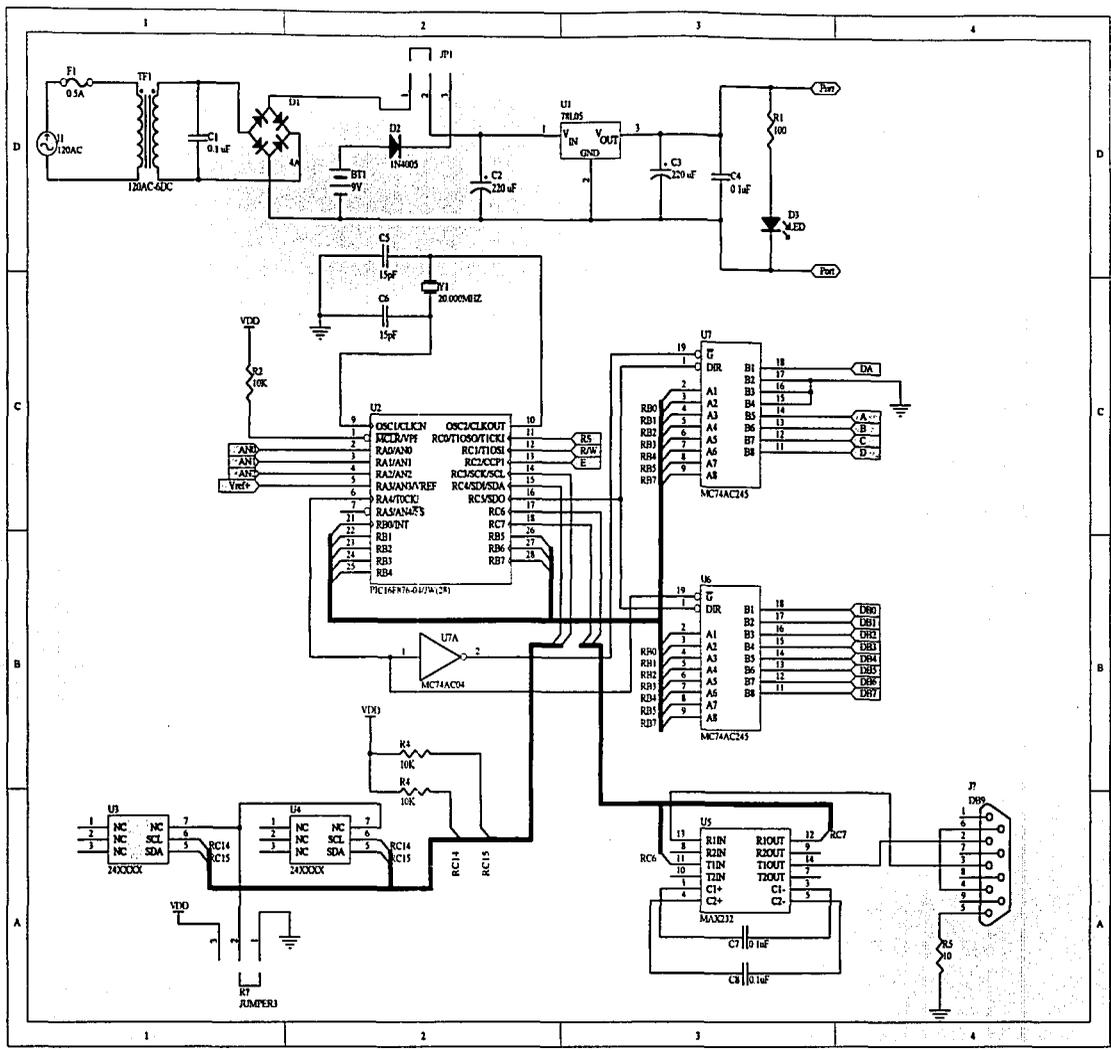
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

goto DES_PC ;llama a la rutina encargada de llevar a cabo la
;comunicacion con la PC
goto pl

end

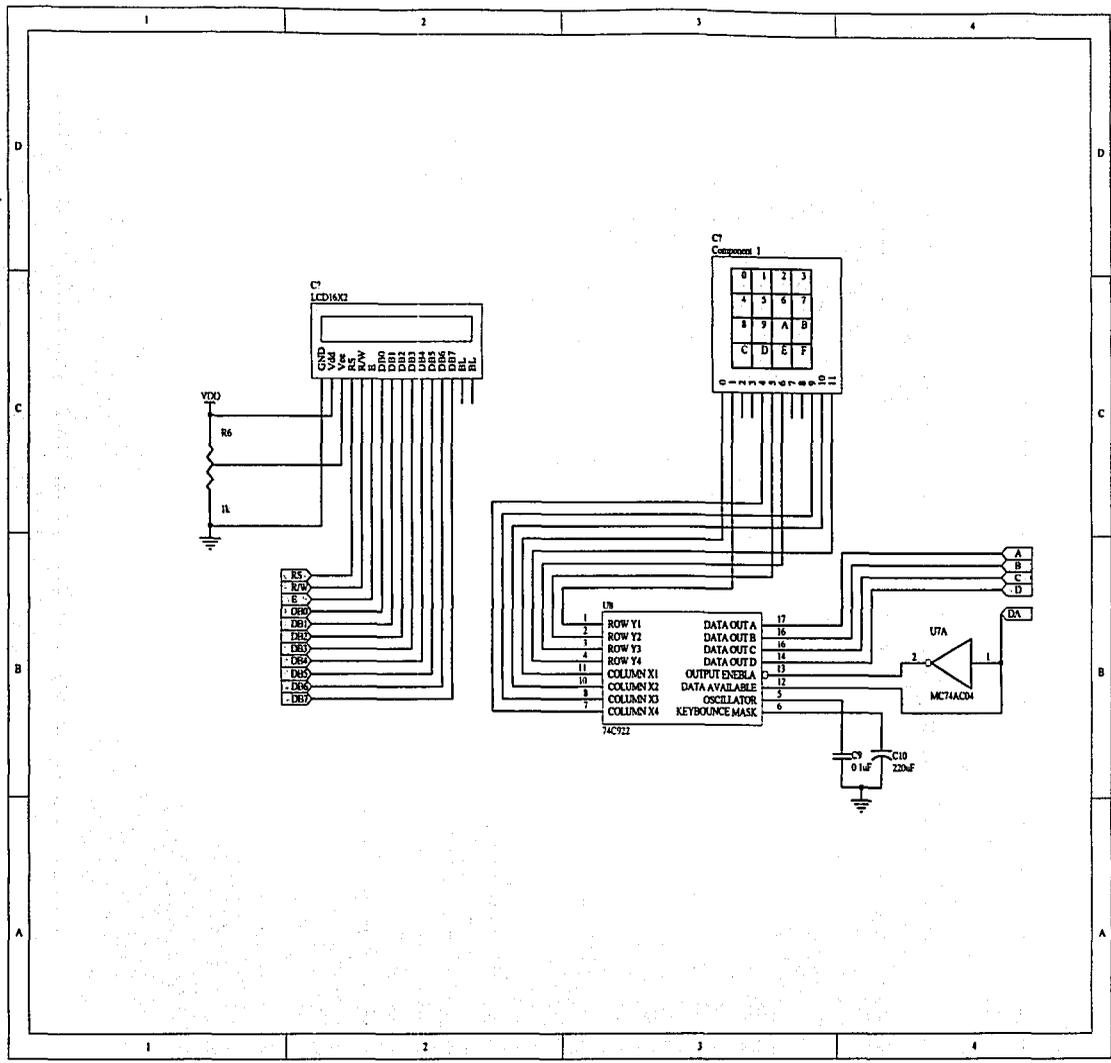
144

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



145

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN



146

THESIS CON
FALL IN ORIGIN

APENDICE "C"

Instrucciones de uso

La calibración y uso del sistema antes de una medición se lleva a cabo en una serie de pasos que permiten ajustar el sistema para que las lecturas sean normalizadas a un valor de intensidad luminosa que no sature la lectura de concentración de pigmento máxima que es capaz de medir el instrumento.

Los pasos para realizar la calibración son los siguientes:

1.-Antes de comenzar a utilizar el sistema, se deja calentando la fuente de iluminación(lámpara de tungsteno-halógeno), por lo menos media hora antes de comenzar a realizar las mediciones de concentración en una muestra. Esto es para que la lámpara tenga la temperatura de color adecuada a 3100 K sin fluctuaciones. En este intervalo de tiempo la fuente de luz alcanza una estabilidad del 99%.

2.-Es importante llevar a cabo una limpieza constante en la ventana de la esfera integradora que está en contacto con la muestra, ya que de lo contrario se tendrán atenuaciones en la iluminación colectada por la fibra óptica, esta ventana consta de un vidrio óptico que protege la esfera de contaminantes como polvo así como del contacto directo con la muestra analizada. Se recomienda que esta limpieza se haga con papel óptico y un poco de alcohol etílico con 95% de pureza.

3.-Una vez que se han realizado los puntos anteriores será necesario medir el estado de las baterías que suministran la energía para polarizar los circuitos electrónicos, así como de la batería que alimenta la fuente de luz. Si están por debajo del nivel de tolerancia que es de 95% de su valor nominal, se dispone de un cargador para recargar cada una de las baterías que suministran 12 volts a 1.2 A/h. Se cuenta con dos de ellas para polarizar los circuitos electrónicos y una exclusivamente para la fuente de iluminación que proporciona una potencia de 10 Watts a la lámpara en un lapso de tiempo de 8 Horas continuas en mediciones de campo.

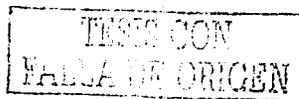
4.-Este paso consiste en colocar el "blanco de referencia"(una pastilla de Óxido de Magnesio MgO_2 de preferencia) en la ventana sensora de la esfera integradora e iluminarla para ajustar los valores de las tres bandas a un valor de intensidad luminosa equivalente a la banda intermedia en 540 nm.

También es factible colocar una muestra de grasa blanca como "blanco de referencia" y normalizar todas las medidas a este valor.

5.-Una vez calibrado el instrumento se procederá a realizar la medición de las muestras con contenido de β -caroteno. Si el sistema detecta un nivel alto de concentración deberá seleccionarse la escala logarítmica, si no marca saturación se dejará en la escala lineal.

6.-La muestra debe colocarse en el portamuestra hecho para este propósito, tratando de mantener presionada la muestra, para que el contacto con ella sea máximo sobre la superficie. Se deberá tener cuidado que la muestra esté libre de contaminantes que puedan alterar la medición como es el polvo, agua condensada en la superficie de la muestra etc.

7.-Al momento de validar la medición, el usuario encontrará en la pantalla indicadora un menú que lo guiará para que los resultados de las mediciones se vayan almacenando ordenadamente en la memoria del sistema en forma de clase y por número de muestra. Así mismo se podrá leer el valor de concentración o de color de una muestra pasada y ver sus valores.



8.-Se recomienda que el remplazo de los componentes ópticos sea con el proveedor original, ya que las características de las lentes y del resto de los componentes puede cambiar las características del espectro dispersado y modificar la posición de las bandas de absorción ajustadas previamente.

9.-Los componentes electrónicos de remplazo deben seguir las características originales, cuando se reemplacen los detectores ópticos deberá hacerse una alineación muy precisa de los mismos. Así mismo se puede actualizar la información del programa contenido en el microcontrolador cada vez que surgan nuevas aplicaciones de campo

10.-Se requiere que se tenga una calibración periódica del instrumento con el fin de garantizar su buen funcionamiento y se tenga un mantenimiento periódico para que las mediciones mantengan la calidad requerida.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN