

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

SEDE RODRIGO FACIO

**TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE LICENCIATURA
EN QUÍMICA**

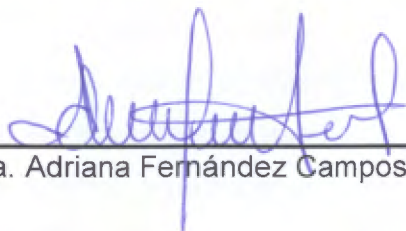
*“Determinación colorimétrica de hierro en agua potable
mediante la utilización de imágenes obtenidas con el teléfono
celular”*

Alejandro Pérez Blanco

Año 2023

HOJA DE APROBACIÓN

Esta tesis fue aceptada por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Química.



Dra. Adriana Fernández Campos

Directora de Tesis



Dr. Eddy Gómez Ramírez

Miembro del Tribunal



Dr. Javier Quesada Espinoza

Miembro del Tribunal



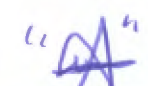
Lcdo. Adrián González García

Miembro del Tribunal



Dr. Juan José Araya Barrantes

Director de la Escuela



Alejandro Pérez Blanco

Sustentante

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

Esta tesis se la dedico a mi hermano César, que ya no se encuentra con nosotros.

Deseo agradecer a mis padres la oportunidad que tuve de estudiar una carrera en la Universidad de Costa Rica. También, a mis hermanos que en más de una ocasión han mostrado su apoyo.

Asimismo, quiero agradecer a la Dra. Adriana Fernández Campos, quien me presentó la idea para este trabajo de investigación.

Por último, agradecer a todas aquellas personas cuya colaboración hizo posible finalizar esta tesis.

ÍNDICE GENERAL

HOJA DE APROBACIÓN	iii
DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
INDICE DE FIGURAS	ix
INDICE DE CUADROS	xiii
INDICE DE ABREVIATURAS	xv
RESUMEN	xvii
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	2
1.1. A cerca de la colorimetría de imágenes digitales y el teléfono celular.....	2
1.2. Situación en Costa Rica	8
JUSTIFICACIÓN	9
OBJETIVOS	9
CAPÍTULO II	11
MARCO TEÓRICO	11
2.1. Agua potable y el hierro.....	11
2.2. Conceptos básicos de colorimetría.....	16
2.3. Utilización de teléfono celular en análisis químico.....	22
2.4. Colorimetría mediante análisis de imágenes digitales.....	24
CAPÍTULO III	38
METODOLOGÍA	38

3.1. Materiales generales, equipos y reactivos.....	38
3.2. Procedimientos generales	44
3.3. Tratamiento de datos.....	56
CAPÍTULO IV	60
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	60
4.1. Fabricación y verificación del dispositivo para el control de iluminación	60
4.2. Optimización de las condiciones de operación del dispositivo MDF 2.1	89
4.3. Validación del método propuesto	94
CAPÍTULO V	103
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	103
REFERENCIAS	105
ANEXOS	115

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Espectro de radiación electromagnética	17
Figura 2. Círculo cromático	17
Figura 3. Anatomía del ojo humano, se indica la localización de los batones y conos	19
Figura 4. Absorción de la radiación	21
Figura 5. Representación del espacio de color RGB.....	25
Figura 6. Espacio de color CMY/CMYK	27
Figura 7. Espacios de color HSB (izquierda) y HSL (derecha).....	28
Figura 8. Espacio de color CIE XYZ.....	29
Figura 9. Espacio de color CIE L*a*b*	30
Figura 10. Estructura de un sensor CMOS de una cámara, con filtro RGB	31
Figura 11. Mosaico de Bayer.....	32
Figura 12. Interpolación de color de una imagen en formato RAW.....	32
Figura 13. Distribución de potencias espectrales de los iluminantes más comunes del CII.....	34
Figura 14. Relación entre temperatura de color(K) y su correspondiente tono de blanco	35
Figura 15. Ejemplificación de las posiciones recta e invertida del teléfono celular Samsung A51.....	47
Figura 16. Resumen del proceso de verificación de los prototipos hechos en cartón de presentación.....	51
Figura 17. Caja de luz utilizada en la determinación de Fe(III) en biodiesel mediante el uso de un teléfono celular	61

Figura 18. Primer prototipo del dispositivo diseñado para controlar la iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono celular LG K4	62
Figura 19. Primeros prototipos del dispositivo diseñado para controlar la iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51.....	65
Figura 20. Interior de los prototipos 1.1.1 y 2.1.1 del dispositivo diseñado para controlar la iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51.....	65
Figura 21. Interior de los prototipos 3.1.1 y 4.1.1 del dispositivo diseñado para controlar la iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51.....	66
Figura 22. Curva de calibración obtenida durante la verificación del prototipo 1.1.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación. Señal normalizada; rango de concentración = $((220 \pm 6) - (1098 \pm 6)) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	68
Figura 23. Curva de calibración obtenida durante la verificación del prototipo 1.1.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación. Conversión logarítmica; rango de concentración = $((220 \pm 6) - (1098 \pm 6)) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	68
Figura 24. Variación en los valores de la pendiente y coeficiente de determinación para los prototipos iniciales del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación. Valores del canal B normalizados; rango de concentración = $((220 \pm 6) - (1098 \pm 6)) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	69
Figura 25. Variación en los valores de la pendiente y coeficiente de determinación de los prototipos iniciales del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación. Valores del canal B convertidos logarítmicamente; rango de concentración = $((220 \pm 6) - (1098 \pm 6)) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	70
Figura 26. Espectro de absorción molecular obtenido para una disolución de colorante naranja utilizada durante la fase de verificación de los prototipos iniciales. Concentración colorante = $(549 \pm 6) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	71

Figura 27. Exterior del prototipo 3.2.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51	72
Figura 28. Complemento del prototipo 4.1.1 para aumentar en 2.5 cm la distancia entre la celda de medición y la cámara del teléfono Samsung A51	73
Figura 29. Curva de calibración obtenida para la verificación del prototipo 3.2.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación; Resta de coordenadas Cie L*a*b*. Rango de concentración = ((221 ± 6) – (1105 ± 7)) mg·L ⁻¹	74
Figura 30. Configuración básica de cuatro fuentes de luz utilizadas en el dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51. Fuentes representadas: 36, 48 y 60 luces Led y luces Led extraídas de televisores viejos	77
Figura 31. Configuración básica de cuatro fuentes de luz utilizadas en el dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51. Fuentes representadas: paneles Led de 3 y 6 W y módulos Led interconectados	78
Figura 32. Comparación entre dos patrones de colorante naranja y Fe (II)-ortofenantrolina; valores similares de B (extraídos con Color Grab). Concentración colorante = (1109 ± 7) mg·L ⁻¹ y Concentración Fe = (1.712 ± 0.008) mg·L ⁻¹	80
Figura 33. Variación en los valores de la pendiente y coeficiente de determinación, para el prototipo 3.2.1, al variar la intensidad del brillo en la aplicación Color Grab. Rango de concentración = ((0.152 ± 0.006) - 2.03 ± 0.02) mg·L ⁻¹ ; Sistema Fe (II)-ortofenantrolina	82
Figura 34. Prototipo MDF 1.0 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51.....	85

Figura 35. Prototipo MDF 2.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51. Vista frontal y lateral	87
Figura 36. Prototipo MDF 2.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51. Vista interior y del lado de la puerta.....	88
Figura 37. Curva de calibración obtenida para verificar el funcionamiento del prototipo final del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación. Señales normalizadas; rango de concentración = ($(0.403 \pm 0.003) - (1.611 \pm 0.008)$) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	89
Figura 38. Ejemplo de la herramienta de blanco de referencia, de la aplicación Color Grab, en acción. Imagen tomada de: https://play.google.com	90
Figura 39. Comparación entre las imágenes de la celda de medición rotada y no rotada, prototipo MDF 2.1, la celda contiene agua destilada	91
Figura 40. Variación en los valores de la pendiente y coeficiente de determinación al cambiar la intensidad de brillo; Prototipo MDF 2.1	94
Figura 41. Curva de calibración obtenida para definir el rango lineal y de trabajo de la determinación de hierro (II) en agua potable mediante el uso del teléfono Samsung A51. Rango de concentración = ($(0.612 \pm 0.007) - (10.20 \pm 0.03)$) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	95
Figura 42. Curva de calibración obtenida durante la determinación de hierro (II) en agua potable mediante el uso del teléfono Samsung A51, rango de trabajo = ($(0.612 \pm 0.007) - (2.55 \pm 0.02)$) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	96

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características del teléfono celular Samsung A51	39
Cuadro 2. Preparación de las disoluciones incógnita utilizadas para validar la determinación de hierro en agua potable mediante el uso del teléfono Samsung A51	45
Cuadro 3. Características de los cuatro prototipos originales del dispositivo diseñado controlar la iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51.	47
Cuadro 4. Comparación de los valores de la pendiente y coeficiente de determinación obtenidos para el prototipo 3.2.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación; Canal B normalizado y resta señal b^* de Cie $L^*a^*b^*$. Rango de concentración de colorante = ($(221 \pm 6) - (1105 \pm 7)$) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	75
Cuadro 5. Variación en la pendiente y el coeficiente de determinación al cambiar la fuente de luz acoplada al prototipo 3.2.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación. Rango de concentración de colorante = ($(197 \pm 6) - (986 \pm 6)$) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	79
Cuadro 6. Valores experimentales de pendiente y coeficiente de determinación obtenidos al analizar una curva de calibración de hierro (II) con el prototipo 3.2.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación. Rango de concentración = ($(0.152 \pm 0.006) - 2.03 \pm 0.02$) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; tres conversiones de señal	81
Cuadro 7. Valores experimentales de pendiente y coeficiente de determinación obtenidos al variar la fuente de luz acoplada al prototipo 3.2.1. Rango de concentración = ($(0.152 \pm 0.006) - 2.03 \pm 0.02$) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; sistema Fe (II) - ortofenantrolina	83

Cuadro 8. Valores experimentales de pendiente y coeficiente de determinación obtenidos al variar la fuente de luz acoplada al dispositivo MDF 2.1	92
Cuadro 9. Resultados parciales del proceso de validación de la determinación de hierro (II) en agua potable mediante el uso del teléfono Samsung A51	97
Cuadro 10. Sesgo obtenido durante la validación de la determinación de hierro (II) en agua potable mediante el uso del teléfono Samsung A51	99
Cuadro 11. Porcentaje de recuperación obtenido durante la validación de la determinación de hierro (II) en agua potable mediante el uso del teléfono Samsung A51.....	100

INDICE DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
3D	Tres dimensiones
A y A	Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados
A/D	analógico/ digital
ASADAs	Asociaciones administradoras de los Sistemas de Acueductos y Alcantarillados comunales
BR	Blanco de referencia
CIE	Commission internationale de l'éclairage
CII	Comisión Internacional en Iluminación
CMO	Complementary metal oxide semiconductor
CMY	Cian, Magenta, Yellow
CMYK	Cian, Magenta, Yellow, Key
GB	Gigabyte
HSI	Hue, Saturation, Intensity
HSV	Hue, Saturation, Value
JPEG	Joint Photographic Experts Group
JPG	JPEG
LC	Límite de detección
LD	Límite de cuantificación
LED	Light-emitting diode
MDF	Medium-density fiberboard
OLED	Organic light-emitting diode
μPAD	Microfluidic paper-based analytical devices
pH	Potencial de hidrógeno
RGB	Red, Green, Blue
USB	<i>Universal Serial Bus</i>
WLED	White light-emitting diode

RESUMEN

La colorimetría de imágenes digitales se basa en la extracción de coordenadas de color de imágenes captadas con dispositivos como: escáneres, cámaras digitales y teléfonos celulares. El hierro es uno de los elementos más abundantes en el planeta Tierra y el control de los niveles presentes en agua potable se debe, principalmente, a un aspecto estético.

El objetivo principal de este trabajo fue desarrollar una metodología novedosa para la cuantificación de hierro en agua potable mediante la utilización del teléfono celular. Esto se logró mediante la fabricación y verificación de un dispositivo para controlar las condiciones de iluminación durante la obtención de coordenadas de color de disoluciones de Fe (II)-ortofenantrolina con el teléfono celular Samsung A51 y la aplicación Color Grab.

El diseño final del dispositivo se hizo a base de madera MDF de 10 mm y su desempeño se valoró con la pendiente y coeficiente de determinación de curvas de calibración. Adicionalmente, se usó los valores del canal B (sistema RGB) normalizados como señales analíticas. Las condiciones óptimas de operación fueron: uso de blanco de referencia, celda rotada, fuente de 60 luces Led, distancia cámara-celda de 10.6 cm, segundo objetivo y brillo + 0.1.

Durante la validación de la metodología, la sensibilidad y coeficiente de determinación promedio fueron: $0.183 \text{ L}\cdot\text{mg}^{-1}$ y 0.9998 , respectivamente. Los límites de detección y de cuantificación fueron, según Eurachem, $(0.04 \pm 0.02) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y $(0.013 \pm 0.02) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, en el orden dado. Aplicando lo establecido por Miller y Miller, se obtuvo: $\text{LD} = (0.04 \pm 0.02) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y $\text{LC} = (0.012 \pm 0.02) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. De forma similar, se determinó la precisión intradía y interdía, cuyos valores fueron: $0.055 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (1.1 %) y $0.058 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (1.2 %), respectivamente.

Se calculó el sesgo del método, tomando el análisis espectrofotométrico como estándar. Se obtuvo para las muestras artificiales: A, B y C, respectivamente, un sesgo de 0.19 %, 0.61 % y 1.19 %. Se estableció, mediante una prueba t de student

de comparación de medias, que no hubo diferencias significativas entre las medias obtenidas con ambas metodologías.

Además, para la muestra A, se obtuvo una recuperación entre 99.8 y 100.8 %, para los tres niveles evaluados. Para la muestra C, la recuperación estuvo entre 97.8 y 100.9 %. Durante el estudio de interferentes, se evaluó el efecto de agregar 10 y 50 veces la concentración del analito de: CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , Cl^- , Zn^{2+} y Mg^{2+} , a dos niveles de concentración. Solo en las disoluciones a las cuales se les agregó zinc hubo un efecto en la señal transformada.

Por otro lado, se determinó, por triplicado, el contenido de hierro en tres muestras de agua potable recolectadas en la Clínica Dr. Solón Nuñez Frutos y una tomada en el Laboratorio 0219 de la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica. En la segunda ubicación se logró detectar el analito mas no cuantificarlo, en el resto no se detectó.

En conclusión, se logró validar exitosamente la metodología propuesta.

Palabras clave: Colorimetría, digitales, hierro, validación, agua, RGB, teléfono celular.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Desde su creación en 1973, el teléfono celular ha experimentado muchas transformaciones, tanto física como funcionalmente. Ha pasado de ser una herramienta para comunicarse, ya sea mediante mensajes de texto o por llamadas telefónicas, a convertirse en una computadora de bolsillo. Dicha evolución ha sido tal, que hoy en día es posible mediante estos dispositivos extraer coordenadas de color de imágenes captadas con la cámara que muchos modelos tienen incorporada.

El hierro es uno de los elementos más abundantes en el planeta Tierra y es importante tanto a nivel biológico como industrial. El control de los niveles de este elemento en cuerpos acuosos se debe, principalmente, a razones estéticas. La cuantificación de hierro en agua potable se lleva a cabo por métodos colorimétricos o espectrometría de absorción atómica. No obstante, en los últimos años, la colorimetría de imágenes digitales se ha postulado como otra opción para la determinación de este analito.

Es así como, para el presente trabajo, se busca explorar el uso de la colorimetría de imágenes digitales para cuantificar hierro en agua potable y, en última instancia, desarrollar una metodología novedosa para determinar este analito mediante la utilización del teléfono celular. Entonces, esta tesis representa una crónica del proceso de creación de un dispositivo funcional con el cual fue posible cuantificar hierro utilizando un teléfono inteligente.

Se incluirá la información y resultados más relevantes a lo largo de cinco capítulos. Primero, se realizará una reseña de algunas investigaciones llevadas a cabo en el campo de la colorimetría de imágenes digitales. Adicionalmente, se justificará la escogencia de este tema y se enlistará los objetivos asociados a la presente investigación. El segundo capítulo se centrará en los conceptos teóricos

necesarios para el adecuado entendimiento de la temática tratada. En el Capítulo III se detallará la metodología realizada para conseguir las metas propuestas. Luego, serán presentados y discutidos los resultados más relevantes. Por último, se formularán las conclusiones y recomendaciones con base en todo lo experimentado durante la ejecución de este trabajo.

ANTECEDENTES

Es esta sección se recabó información sobre algunos estudios realizados en el área de colorimetría de imágenes digitales, usando el teléfono celular para registrar la señal analítica.

1.1. A cerca de la colorimetría de imágenes digitales y el teléfono celular

El análisis de imágenes es la extracción de información significativa a partir de documentos digitales, esto mediante diferentes técnicas de procesamiento. Se ha utilizado este tipo de análisis para diferentes propósitos y las imágenes se pueden obtener mediante dispositivos como cámaras digitales, escáneres y celulares (Sorouraddin et al., 2015). El desarrollo de nuevos procedimientos basados en el análisis de imágenes ha atraído mucha atención en la última década debido al bajo costo, simplicidad y velocidad de este tipo de análisis (Coutinho et al., 2017). En el caso de los teléfonos móviles, su constante mejora tecnológica ha permitido el desarrollo de métodos colorimétricos, monitoreo, electrocardiógrafos, entre otros. Se debe agregar que los celulares son relativamente fáciles de manejar, ya que no se requiere de mayor entrenamiento para su operación (Hernández et al., 2017).

En las investigaciones enfocadas en la colorimetría de imágenes digitales se recurre a aplicaciones o software que procese las imágenes y extraiga las coordenadas de color de estas. Existen diferentes sistemas para expresarlas, tales como: RGB (Red, Green y Blue), Cie $L^*a^*b^*$, CMYK (cian, magenta, amarillo y negro), entre otros. Estos valores son empleados como señales, para construir curvas de calibración y así cuantificar el analito de interés. Por lo general, cuando

se utiliza coordenadas de color se escoge un solo canal para trabajar, logrando una mayor sensibilidad y mejores resultados (Grudpan et al., 2015).

Las investigaciones existentes incluyen, entre otras, determinaciones analíticas de: metales, aniones, herbicidas y pesticidas, antibióticos, indicadores bioquímicos y productos naturales. A continuación, se ahondará en cada una de las categorías mencionadas.

1.1.1. Metales

En esta línea de trabajo ha sido reportada una cantidad importante de estudios. Uno de ellos es la cuantificación de Hg (II) mediante el uso de membranas e imágenes digitales obtenidas con un teléfono celular convencional. Esta metodología permitió determinar la presencia de Hg (II) a un nivel milimolar-nanomolar en las membranas después de haberlas sumergido en una disolución que contenía el analito (el Kaoutit et al., 2013).

En otro estudio, se llevaron a cabo análisis colorimétricos de: cobalto, níquel, cobre, plata y hierro. En el caso del hierro, se usó la ortofenantrolina como agente cromogénico. Los autores desarrollaron su propia aplicación, con la cual fueron analizadas las imágenes de pequeñas placas de metacrilato que contenían diferentes reactivos para la generación de color. El método mostró linealidad en el rango de $0.01-3.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y buena selectividad hacia los analitos examinados (Urazov et al., 2018).

También, se ha reportado la cuantificación de calcio a niveles traza en agua y alimentos, esto se alcanzó combinando una extracción líquido-líquido y la medición de color con un teléfono celular. Se trabajó con la aplicación Color Grab para monitorear la formación de un complejo rojo entre el glioxal-bis (2-hidroxianilo) y el calcio, en medio básico. Los autores obtuvieron un rango lineal de $0.06-1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Los límites de detección y cuantificación fueron 0.017 y $0.056 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente (Peng et al., 2019).

1.1.2. Aniones

El primer ejemplo en esta categoría es la determinación de sulfitos en vino. Esto por medio de un dispositivo microfluídico basado en un aplicador de algodón. En el proceso se convirtió el sulfito en dióxido de azufre por acidificación, este a su vez redujo Fe (III) a Fe (II), el cual formó un complejo anaranjado-rojizo con ortofenantrolina. Estas dos últimas reacciones ocurrieron en el aplicador que estaba encima de un vial que contenía la disolución. Posteriormente, se colocó el aplicador en un dispositivo que estaba acoplado al teléfono celular y fueron obtenidas imágenes (con su propia fuente Led), que fueron posteriormente analizadas con la aplicación "Colorimetric sensor". Fueron obtenidos dos rangos lineales: 0.30-2.25 mg·L⁻¹ (como SO₂), con R² = 0.9931 y 2.25-18.75 mg·L⁻¹, con R² = 0.9956. El límite de detección fue de 100 µg·L⁻¹. No hubo diferencias significativas con respecto al método estándar (Khamkhajorn et al., 2022).

También, se pudo estimar la cantidad de fósforo (como fosfato) en suelo y agua. El principio de detección se apoyó en el método de azul de molibdeno, con ácido ascórbico como agente reductor. Para este estudio se creó un sistema con control de iluminación y un soporte para la celda que contenía la disolución. Se aprovechó la cámara del celular y dos aplicaciones de Android para obtener las coordenadas de color. Fue seleccionado el canal V del espacio HSV para realizar la cuantificación. Se consiguió rangos lineales de 0-1 mg·L⁻¹ y de 1-5 mg·L⁻¹ y límites de detección de 0.01 y de 0.03 mg·L⁻¹, para agua y suelo respectivamente. El sesgo experimental fue menor a 1 % y la precisión menor a 2% (Das et al., 2022).

1.1.3. Herbicidas y pesticidas

Se ha reportado la construcción de un biosensor que contenía un homogeneizado bacteriano único con alta actividad de lipasa que fue utilizado en un ensayo colorimétrico con un teléfono inteligente como detector. El sensor se construyó como una herramienta basada en inhibidores de lipasa, se aprovechó que el paraoxón es un inhibidor de la actividad de la lipasa y se eligió el indoxilacetato como sustrato para la generación de color. Se trabajó con los canales R, G y B. Se

logró un límite de detección de $3.72 \times 10^{-8} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ y una muestra de $5 \mu\text{L}$ fue suficiente para la medición (Pohanka et al., 2018).

Asimismo, se ha diseñado una plataforma de análisis que constaba de una placa con una única hilera de pocillos y se hizo una calibración (canales R y B) con disoluciones de azul de metileno y rodamina B. En este estudio se utilizó la aplicación Yamera para obtener las imágenes y se creó un programa en Matlab para procesarlas. El ácido 2,4-diclorofenoxiacético fue detectado en un rango de 1 a $80 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en muestras enriquecidas de agua de tubo, plasma y suero humano. Además, el porcentaje de recuperación fue de 93.7-106.9 % (Wang et al., 2017).

Otro caso es la determinación cualitativa de residuos de metil paratión. Esto a través de códigos de barras, que podían ser leídos con el teléfono celular. Con la acetilcolinesterasa se hidrolizó el yoduro de acetiltiocolina, obteniéndose la forma desprotonada de tionitrobenzoato (amarillo). La aplicación móvil escogida para la lectura del canal Y del espacio de color CMYK fue QuickMark. Con este método se logró un límite de cuantificación $0.2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el metil paratión (Guo et al., 2015).

1.1.4. Antibióticos

En cuanto al análisis de antibióticos utilizando el teléfono celular, se ha establecido la concentración de tetraciclina en leche de vaca, luego de una extracción de fase sólida. Los autores crearon una aplicación para iPhone llamada ColorConc, la cual recurre a un algoritmo de coincidencia de imágenes para realizar la cuantificación. Se trabajó con diferentes espacios de color: RGB, HSV y escala de grises. Se alcanzó un rango lineal de $0.5\text{-}10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y límites de detección y cuantificación de 0.5 y $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente (Masawat et al., 2015).

En otra publicación, se determinó el nivel de sulfonamidas en formulaciones farmacéuticas y veterinarias. Para conseguir este propósito fue desarrollado un programa especial, pero primero el sistema fue optimizado. En este caso, se aprovechó el canal B del espacio RGB y se obtuvo: un rango de trabajo de $0.5\text{-}2.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $R^2= 0.996$, un límite de detección de $0.11 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, recuperaciones entre 98.7 y 102 % y una precisión menor o igual al 7 % (Ait Errayess et al., 2018).

Otro ejemplo es la determinación de carbamazepina, ciprofloxacina y norfloxacina en formulaciones farmacéuticas. Se tomó como base la realización de pruebas en placas (“spot test”) y se ejerció control de las condiciones de iluminación con una caja de luz. Es importante mencionar que estas estructuras fueron construidas en una impresora 3D. Se utilizó el programa Image J para extraer las coordenadas RGB de las fotografías generadas con el celular. En este estudio se alcanzó límites de detección de: 3.0, 1.0 y 1.0 mg·L⁻¹ y límites de cuantificación de: 5.0, 3.0 y 3.0 mg·L⁻¹, para la carbamazepina, ciprofloxacina y norfloxacina, respectivamente. Otro punto a favor para este método fue que el tiempo total invertido es menor a un minuto. Además, el volumen necesario de muestra fue 8 µl y tuvo un costo por prueba de 2 USD (Lamarca & Lima Gomes, 2020).

1.1.5. Indicadores bioquímicos

En este tema, destaca el aprovechamiento de los sensores de imagen incorporados en las cámaras de los teléfonos inteligentes para el monitoreo de los niveles de glucosa en sangre total de ratones. Esto gracias a la creación de un chip de tereftalato de polietileno con un agente generador de color, el cual estaba inmovilizado en nanopartículas de sílice aminofuncionalizado. En este dispositivo se llevó a cabo una reacción enzimática a varias concentraciones de glucosa (110-586 mg·dL⁻¹). El analito oxidado generaba una coloración verde y el celular se utilizó como un contador de fotones, los cuales disminuyen conforme aumenta la cantidad de glucosa presente (Devadhasan et al., 2015).

Otro indicador importante es la fosfatasa alcalina, la cual es una metaloproteína que se encuentra naturalmente en la leche cruda. Está relacionada con la calidad de ésta y permite diferenciar un producto pasteurizado de uno crudo. Por este motivo, fue desarrollado un biosensor a base de papel, para la detección a simple vista de fosfatasa alcalina en leche. Esto fue posible con la inmovilización de un anticuerpo anti-fosfatasa alcalina en la superficie funcionalizada del papel. La acción enzimática del analito sobre el sustrato cromogénico fosfato de 5-bromo-4-cloro-3-indolilo, generó un precipitado verde-azulado. El canal R (espacio RGB) fue

la respuesta analítica seleccionada. De esta manera se obtuvo un rango dinámico de 10-1000 UI·mL⁻¹ y un límite de detección de 0.87 UI·mL⁻¹ (Mahato & Chandra, 2019).

También, se ha estudiado el desempeño de la aplicación “Albumin Smart Test” (Android), para medir niveles de albumina en orina. Se aprovechó la reacción entre la albumina y 3',3'',5',5''-tetrabromofenoltaleínato de etilo, en presencia de Triton X-100, para producir un compuesto de color verde. Se recurrió a tiras reactivas para autocalibrar el sistema, lo que eliminó la necesidad de controlar las condiciones de iluminación. Se captó imágenes de las tiras junto a las muestras que contenían albúmina. Con la metodología propuesta se consiguió un análisis rápido (3 min), con una precisión menor al 2.5 % y una recuperación de 98.7 % (Mathaweesansurn et al., 2017).

1.1.6. Compuestos naturales

Se pudo determinar el contenido de ácido ascórbico en jugos naturales de fruta. Esto se logró monitoreando el cambio en la intensidad de coloración del complejo Fe (II)-ortofenantrolina (anaranjado), debido al efecto del compuesto estudiado. Las imágenes tomadas fueron almacenadas en formato JPEG y la región de interés (ROI) fue analizada para extraer las coordenadas RGB, se seleccionó el canal B para trabajar. Se obtuvo límites de detección y cuantificación de 0.005 y de 0.015 mg·L⁻¹, respectivamente. La precisión fue 1.2 %. Además, fueron evaluados jugos de: limón, naranja, uva, marañón, lima, piña, mandarina y mango. Las concentraciones variaron entre 45 y 1825 mg·kg⁻¹. Mediante una prueba t de student, se estableció que no hubo diferencias significativas con respecto al método espectrofotométrico (Porto et al., 2019).

Otro ejemplo es la medición de niveles de furfural en destilados de jugo de caña. La importancia de este compuesto radica en que es considerado un contaminante que devalúa la calidad y precio del producto. Para la generación de color se tomó como base la reacción del furfural y la anilina, en medio ácido. Fue llevada a cabo en los pocillos de una placa de porcelana (“spot test”) y las imágenes

tomadas con el teléfono celular fueron analizadas con el programa libre Image J. Se trabajó con el sistema RGB, fue escogido el canal G como señal analítica. El rango lineal fue de 16.7-100 mg·L⁻¹ (alcohol anhidro; r = 0.998), con límites de detección y cuantificación de 3.4 y 11.5 mg·L⁻¹, respectivamente. Se logró una recuperación de 85.7 - 106 % y un volumen necesario para el análisis muy pequeño (600 µL por prueba) (de Oliveira Krambeck Franco et al., 2017).

De manera similar, se analizó el contenido de azúcar total en bebidas no alcohólicas. Esto mediante un dispositivo generado con una impresora 3D, el cual tenía acoplada una cámara USB que estaba conectada directamente a un teléfono inteligente. Se monitoreó la generación de color debida a la reacción de monosacáridos con el reactivo de Benedict. Para el control del dispositivo y procesamiento de las imágenes se usó la aplicación Photometrix UVC y las imágenes fueron evaluadas antes y después de centrifugar. Se recurrió a una calibración de mínimos cuadrados parciales para realizar los cálculos. Se obtuvo: un coeficiente de determinación superior a 0.99 y errores de raíz cuadrada media de calibración y validación cruzada menores a 0.07 y 0.23 mg·L⁻¹, respectivamente. La metodología propuesta presentó una concordancia de 95.3-108.7 % con respecto al método oficial (Schlesner et al., 2022).

1.2. Situación en Costa Rica

A nivel internacional, la colorimetría de imágenes digitales ha sido bastante estudiada y que el uso de teléfonos celulares para cuantificar diferentes analitos es muy común. Por el contrario, en Costa Rica esta rama de investigación no ha sido explorada como si se ha hecho fuera de nuestro país.

Solo se encontró un trabajo final de graduación de un estudiante del Instituto Tecnológico de Costa Rica. El título de esta tesis es: “ *Diseño de un prototipo de dispositivo de iluminación acoplable a una cámara fotográfica para el análisis de manchas de piel mediante procesamiento de imágenes digitales*”. Este trabajo describió el proceso de diseño de un dispositivo para controlar la iluminación a la hora de tomar fotografías de manchas de piel y su potencial implementación en el

diagnóstico de melanoma. Se evaluó la calidad de la iluminación obtenida e incluso fue creado un algoritmo para el tratamiento de las imágenes y la sustracción de las coordenadas de color. También, se llevó a cabo una comparación contra una base de datos de manchas de piel (Zumbado-Ruiz, 2021).

JUSTIFICACIÓN

Considerando la gran variedad de literatura relacionada con la colorimetría de imágenes digitales y el uso del teléfono celular, una investigación en esta línea tendría un importante respaldo científico para sustentarse. Se debe recalcar, que en Costa Rica este tema ha sido poco explorado. Por lo que ejecutar un proyecto, orientado en esta línea de estudio, es atractivo y novedoso.

Se escogió el sistema Fe (II) - ortofenantrolina, porque es muy conocido, ya que ha sido estudiado de forma exhaustiva. Así como por su metodología fácil de implementar y su alta sensibilidad. Otra ventaja de un método basado en colorimetría de imágenes digitales es que el equipo necesario para ponerlo en práctica es relativamente accesible, comparándolo contra el costo de un espectrofotómetro o un espectrómetro de masas.

Considerando lo señalado anteriormente, se plantean los objetivos de la presente investigación, los cuales se detallan en seguida.

OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo principal

Desarrollar una metodología novedosa para la cuantificación de hierro en agua potable mediante la utilización del teléfono celular.

1.3.2. Objetivos secundarios

1. Construir una caja de luz que permita controlar las condiciones de iluminación para obtener imágenes fotográficas de calidad adecuada.

2. Obtener coordenadas de color utilizando el teléfono celular, mediante el uso de una aplicación gratuita.
3. Utilizar una aplicación del celular para obtener las coordenadas de color (de preferencia Color Grab) y tomar fotografías para analizarlas con esta misma aplicación. Comparar los resultados obtenidos por ambas metodologías.
4. Optimizar las condiciones con las cuales se obtendrá la respuesta analítica relacionada con el analito de interés.
5. Obtener coordenadas de color de las disoluciones patrón de hierro y muestras de agua potable, posterior al desarrollo de color.
6. Cuantificar hierro en muestras de agua mediante los datos obtenidos con la aplicación escogida.
7. Validar la metodología propuesta, utilizando los parámetros establecidos por EURACHEM.
8. Comparar los resultados obtenidos con la metodología propuesta contra un método estándar.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Agua potable y el hierro

En este apartado serán discutidos aspectos como: definición de agua potable, algunos datos sobre el hierro, la presencia de hierro en cuerpos de agua, determinación cuantitativa de hierro en agua y el análisis espectrofotométrico de hierro.

2.1.1. Definición de agua potable

El agua potable se define como toda aquella agua que ha sido tratada para cumplir con los valores recomendables o máximos establecidos de acuerdo con parámetros: estéticos, organolépticos, físicos, químicos, biológicos y microbiológicos y que al ser consumida por la población no causa daño a la salud (A y A, 2016). Aunque, en algunos países se suele usar este concepto para definir el agua que ha sido desinfectada solo con cloro y que proviene de fuentes mejoradas (pública o conexión intradomiciliar). Este tipo de agua podría contener sustancias contaminantes que son un riesgo para la salud (Poder Ejecutivo de Costa Rica, 2015).

En Costa Rica, el proceso de potabilización se da gracias a las labores realizadas por el Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados (A y A) y las Asociaciones Administradoras de los Sistemas de Acueductos y Alcantarillados comunales (ASADAS). Adicionalmente, el A y A se rige por la Ley general de Aguas, Ley General de Agua Potable, Reglamento para la Calidad del Agua Potable, entre otros. A través del Laboratorio Nacional de Agua, este instituto lleva el control de la calidad del agua potable que es consumida en Costa Rica (A y A, 2016).

2.1.2. Datos sobre el hierro

El hierro pertenece al grupo de los metales de transición. Es el segundo elemento más abundante en la corteza terrestre y el cuarto a nivel general. En la industria, principalmente, es materia prima en la fabricación de acero, que es utilizado en ingeniería civil y manufactura. Además, es aprovechado en la síntesis de catalizadores. Otro dato importante es que el hierro es un elemento no tóxico y esencial para todas las formas de vida. Un humano en promedio contiene 4 g de hierro en su cuerpo, en su mayoría formando parte de la hemoglobina. Esta se encarga del transporte de oxígeno hacia las células. La necesidad diaria de este elemento es de 10-18 mg (Royal Society of Chemistry, 2022; Ward & Crichton, 2015).

2.1.3. Presencia de hierro en cuerpos de agua

El agua actúa como una importante fuente de metales para el organismo. Estos materiales se incorporan a los cuerpos acuosos cuando la lluvia se infiltra en las rocas, disolviendo muy pequeñas cantidades de metales. Otra posible fuente de hierro se debe al descarte de desechos domésticos o de afluentes industriales (Khatri et al., 2017).

La presencia de hierro en aguas superficiales se deriva, sobre todo, de la contaminación generada por industrias de acero y hierro, minería y la corrosión. En el caso de los mantos acuíferos, la causa se relaciona al desgaste provocado por este fluido en piedras y minerales. La concentración de hierro en estos cuerpos acuosos varía de 0 a 50 mg·L⁻¹. A nivel nacional e internacional, para agua potable, se ha establecido 0.3 mg·L⁻¹ como límite máximo permitido para este elemento (Chaturvedi & Dave, 2012; Colter & Mahler, 2006).

En los cuerpos acuosos, el hierro existe en diferentes formas minerales. Estas se clasifican en 4 categorías básicas: óxidos, silicatos, carbonatos y sulfuros. También, se dividen en: orgánico e inorgánico, tomando como base la naturaleza química del compuesto derivado de hierro que esté presente. La forma inorgánica se encuentra disuelta en aguas subterráneas, esto debido a la baja concentración

de oxígeno, lo que previene su precipitación. En su forma orgánica, el hierro forma complejos con especies orgánicas como: ácidos y taninos. Esta se halla en aguas superficiales y subterráneas (Khatri et al., 2017).

Con respecto a los efectos sobre la salud de este elemento, su consumo excesivo favorece la aparición de problemas en el proceso de síntesis de la hemoglobina y los glóbulos rojos. En algunas ocasiones, la acumulación de hierro podría derivar en una condición médica llamada hemocromatosis. Los efectos potenciales de esta enfermedad van desde la aparición de cáncer hasta daños en diferentes órganos y tejidos. Por el contrario, una baja ingesta favorece el desarrollo de anemia, que es una condición que afecta de forma directa el adecuado funcionamiento de las células (Royal Society of Chemistry, 2022; Ward & Crichton, 2015).

Además, este metal imparte un sabor metálico y un color rojizo, en altas concentraciones. Puede manchar la ropa y otras superficies, así como formar coágulos por la precipitación del hierro en las líneas del acueducto. Y altas concentraciones de este elemento contribuyen en la proliferación de bacterias en tuberías, lo que podría derivar en su bloqueo y/o corrosión (Khatri et al., 2017).

Por lo tanto, durante el proceso de potabilización, se debe considerar la remoción del hierro para alcanzar niveles aceptables de este elemento y evitar los problemas asociados a una concentración alta. El método más utilizado para lograr este objetivo es la oxidación-precipitación-filtración. Este tratamiento consiste en oxidar el hierro (con un agente como el hipoclorito de sodio), obteniéndose $\text{Fe}(\text{OH})_3$ el cual precipita y posteriormente se elimina mediante una microfiltración (Chaturvedi & Dave, 2012).

2.1.4. Determinación cuantitativa de hierro en aguas

Dependiendo de la concentración de hierro que se espere encontrar en una muestra de agua, hay diferentes opciones para determinar los niveles de este metal. Para el agua potable el método de referencia es la espectrometría de absorción atómica. Sin embargo, para realizar esta cuantificación se puede recurrir a varias

técnicas: espectrofotometría, potenciometría, voltamperometría, volumetría, entre otras (Ward & Crichton, 2015).

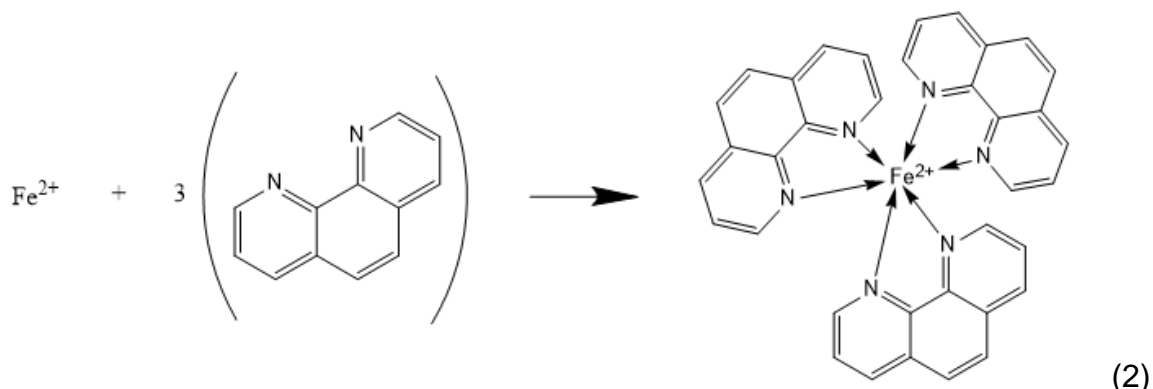
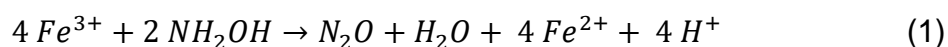
En el caso de la espectrometría, los métodos más comunes son los colorimétricos en los cuales se aprovecha la formación de un complejo entre el hierro (II/III) y un agente cromogénico como: ferrozina u ortofenantrolina (Ward & Crichton, 2015). También, dentro de este grupo se encuentra la determinación por espectrometría por absorción atómica, en la cual se mide la cantidad de radiación absorbida por átomos en estado elemental, formados en una llama u horno de grafito (Christian, 2009; Holler et al., 2015).

En las valoraciones potenciométricas se mide el potencial de electrodo indicador contra un electrodo de referencia adecuado y se grafica la variación en el potencial contra el volumen de titulante. Para el análisis de hierro se usa $ZnCl_2$ como agente reductor (convierte Fe(III) a Fe(II)), electrodo de platino y dicromato de potasio como titulante. En el caso de la volumetría redox, se trabaja de forma similar a la determinación potenciométrica, pero se utiliza un indicador visual para definir el punto final de la valoración, para este analito se usa difenilamina-4-sulfonato de bario (Christian, 2009)

Por otro lado, la voltamperometría es básicamente una electrolisis a microescala. Es una técnica de corriente-voltaje, en la cual el potencial de un microelectrodo de trabajo se varía (barre lentamente) y se registra la corriente resultante como una función del voltaje aplicado(voltamperograma). Entonces, la presencia de una especie reducible u oxidable influye en la cantidad de corriente utilizada en la electrolisis, lo que se relaciona con la concentración del analito en estudio. Un ejemplo de este tipo de metodología es la determinación voltamperométrica del complejo de trietanolamina y hierro en el electrodo de gota de bismuto. Con esta aplicación se puede alcanzar un límite de detección de $0.005 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y trabajar en concentraciones de $10\text{-}500 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Metrohm, 2020).

2.1.5. Análisis espectrofotométrico de hierro

Este es el procedimiento estándar preferido para medir hierro en agua potable y superficial, así como en aguas de desecho domésticas e industriales, en concentraciones de 0.5 a 5 mg·L⁻¹ (Kafle, 2020). En este método el analito experimenta una reducción por la acción de una disolución de hidroxilamina (por lo general de 10 % m/m), de esta forma los iones de Fe(II) forman un complejo estable anaranjado con 1,10-fenantrolina. El pH se debe mantener entre 4 y 7, ya que una acidez menor a 3 provoca un desvanecimiento del color y a valores de pH por encima de 7, se forma hidróxido de hierro (Agustina et al., 2015a). A continuación, se muestra las principales reacciones químicas que ocurren durante la formación del complejo Fe(II)-ortofenantrolina:



La disolución coloreada obedece la ley de Beer, por lo tanto, hay una relación proporcional entre la concentración de hierro en la disolución y la absorbancia medida. De esta manera es posible cuantificar los niveles de analito, a través de la interpolación en una curva de calibración. Además, el color desarrollado es estable hasta por 6 meses (Christian, 2009).

Agentes oxidantes fuertes, cianuro, nitrito y fosfato interfieren en la determinación. Para evitar este problema se recomienda hervir la muestra en medio

ácido. Con este paso extra, el polifosfato se convierte a ortofosfato y se remueve el cianuro y nitrito de la disolución. Aunque, lo más común es agregar hidroxilamina en exceso, para eliminar errores potenciales asociados a una alta concentración de compuestos oxidantes (Kafle, 2020).

De igual forma, metales como: cromo, zinc, cobre y níquel, pueden provocar interferencias en este análisis, una manera de remediar esta situación es agregando un exceso de ortofenantrolina. Si es muy alta la concentración de interferentes, es necesario realizar una extracción con éter isopropílico para eliminar estos metales. Además, si en la muestra hay una alta cantidad de materia orgánica o coloreada, se debe llevar a cabo un proceso de evaporación y redisolución o inclusive una digestión-redisolución (Kafle, 2020).

2.2. Conceptos básicos de colorimetría

En esta sección se hará un recuento de conceptos básicos de colorimetría. Primero, se dará una definición de qué es color y colorimetría, para luego discutir el papel de esta técnica en análisis químico. Además, se comentará la importancia de la ley de Beer en este tipo de análisis.

2.2.1. ¿Qué es el color?

El espectro electromagnético incluye: ondas de radio, microondas, radiación infrarroja, luz visible, luz ultravioleta, rayos X y gamma (ver Figura 1). De todos estos tipos de radiación, el ojo humano es capaz de percibir la luz visible. Esta consiste en un grupo de ondas de diferentes longitudes de onda, entre 400 y 780 nm aproximadamente (Christian, 2009).

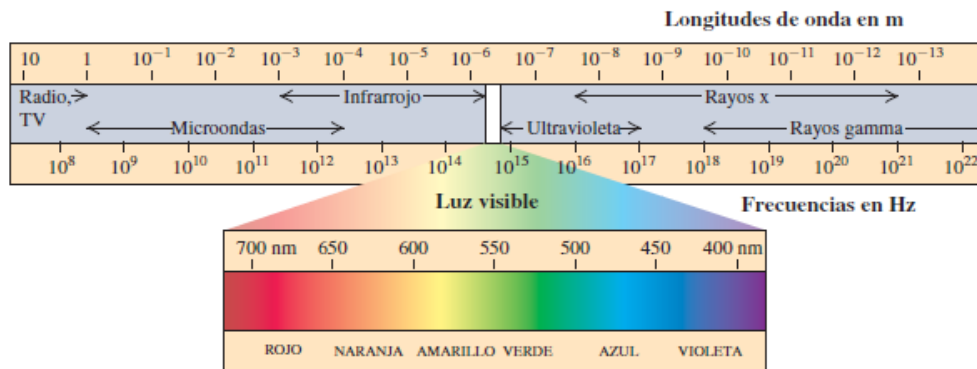


Figura 1. Espectro de radiación electromagnética. Tomada de: “*Física Universitaria con Física Moderna*” (12va ed., Vol. 2, p.1095), por R. Freedman, y H. Young, 2009, Ciudad de México: Pearson Educación.

Estas ondas electromagnéticas se perciben como una variedad de colores. El color observado se debe a que moléculas coloreadas absorben determinadas longitudes de onda de luz y reflejan las ondas complementarias a la misma. La Figura 2 es una representación del círculo cromático, en el cual el color complementario se opone al de referencia (Grzybowski & Kupidura-Majewski, 2019).



Figura 2. Círculo cromático. Tomada de: “*Conceptos básicos de diseño gráfico: Teoría del color*”, por GCF Global, n.d., GCF, Global, <https://edu.gcfglobal.org/es/conceptos-basicos-de-diseno-grafico/teoria-del-color/1/>

Cuando se trata de un objeto blanco, no se absorbe ninguna longitud de onda y se reflejan todas. En cambio, en los objetos negros, son absorbidos todos los colores, sin luz siendo reflejada (Ly et al., 2020). Se debe añadir que el color no es una propiedad intrínseca de un objeto, sino que su percepción involucra tres factores importantes: la fuente de luz utilizada, el modo de detección de la radiación luego de su interacción con el objeto y el observador (Fernandes et al., 2020).

En los mamíferos existen tres tipos de células fotorreceptoras: bastones, conos y las células ganglionares fotosensibles de la retina. Los bastones posibilitan la percepción en blanco, negro y escala de grises. Los conos permiten la detección de colores y funcionan óptimamente cuando hay una cantidad adecuada de luz ($0.035 \text{ cd}\cdot\text{m}^{-2}$). Estos últimos se agrupan dependiendo del tipo de fotorreceptor presente, cada uno es sensible a una longitud de onda de la luz distinta, el cerebro las interpreta como rojo, verde y azul. La combinación de estos tres colores en diferentes proporciones genera todos los colores que se puede observar (Grzybowski & Kupidura-Majewski, 2019).

Las células ganglionares fotosensibles se encargan de: proveer información acerca de la duración del día y la noche, contribuyen en el ajuste del tamaño de la pupila dependiendo de las condiciones de luz ambiental y también regulan la liberación de la hormona melatonina (sueño) (Choudhury, 2014a; Grzybowski & Kupidura-Majewski, 2019). En la Figura 3 se muestra un diagrama de los fotorreceptores presentes en el ojo humano:

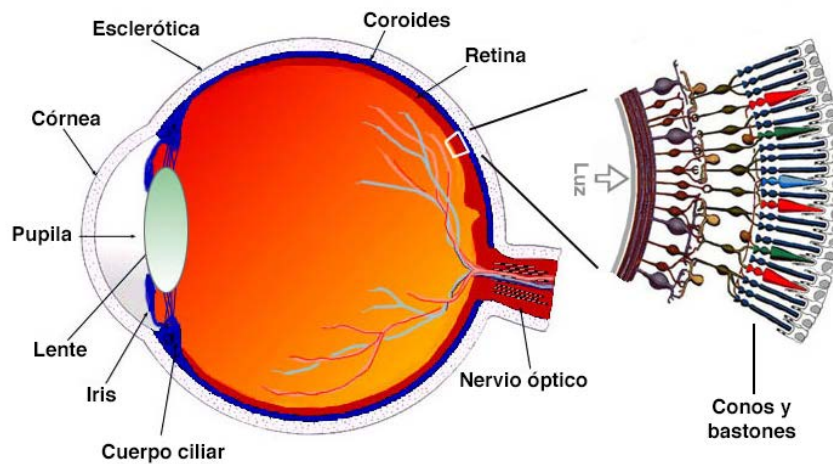


Figura 3. Anatomía del ojo humano, se indica la localización de los batones y conos. Tomada de: “*Ella es la costarricense detrás del primer método mundial para restaurar la visión. II Conferencia Inaugural de Farmacia 2019*”, por J. Jiménez-Córdoba, 2019, Universidad de Costa Rica, <https://www.ucr.ac.cr/noticias/2019/08/23/ella-es-la-costarricense-detras-del-primer-metodo-mundial-para-restaurar-la-vision.html>.

El ojo humano, aparte de los fotorreceptores mencionados, está equipado con una variedad de componentes ópticos que incluyen: la córnea, retina, iris, pupila, humores acuoso y vítreo, lentes y la retina. Además, el primer paso en el proceso sensorial es la estimulación de los receptores de luz en los ojos. Luego se da la conversión del estímulo de la luz o imagen en señales, para la posterior transmisión de impulsos eléctricos que contienen la información de la visión proveniente de ambos ojos, esto a través de los nervios ópticos. Como paso final se da el procesamiento, en las cortezas visuales del cerebro, de la información transmitida (Choudhury, 2014a; Grzybowski & Kupidura-Majewski, 2019).

2.2.2. Definición de colorimetría

La colorimetría es la unión de ciencia y tecnología utilizada para describir y cuantificar la percepción que los humanos tienen del color. Esta disciplina se puede dividir en dos ramas: visual y fotoeléctrica. En la colorimetría visual se mide una

concentración mediante la observación de un cambio de color en la disolución estudiada, utilizando solamente la vista. En cambio, la colorimetría fotoeléctrica se vale del uso de aparatos como colorímetros o espectrofotómetros, los cuales permiten una mejor resolución para percibir cambios de color y un proceso de cuantificación más exacto (Choudhury, 2014b).

2.2.3. Colorimetría en análisis químico

El color ha sido una herramienta muy explotada en la química. Desde una etapa temprana en el desarrollo de esta rama del saber, los científicos notaron que los cambios de color en una disolución indican una reacción química, así como que la intensidad del color se puede relacionar con la concentración de los productos involucrados en dicha reacción. Esta percepción fue descrita mucho antes del establecimiento de cualquier teoría de visión del color (Fernandes et al., 2020).

Uno de los primeros reportes de una determinación colorimétrica cuantitativa fue realizado por W.A. Lampadius en 1838, quien estimó los niveles de hierro y níquel en un mineral de cobalto, esto comparando el color del filtrado contra disoluciones estándar preparadas en tubos cilíndricos, con diferentes porcentajes de estos metales. Más adelante, se llevaron a cabo análisis de otros compuestos inorgánicos como el bromo. Lamentablemente, la detección se basaba en observación y comparación de intensidad de color, lo cual conducía a errores debido a la evaluación del analista (Fernandes et al., 2020).

Otro hito importante fue la formulación de la ley de Beer en 1852, la cual es un pilar de las determinaciones espectrofotométricas. Además, en 1864 surgió el primer sistema para análisis colorimétrico comercialmente disponible, producido por Siemens-Halske. Y para el año 1925, el sistema fotométrico se hizo popular. Pero fue hasta 1940 que se fabricó el primer espectrofotómetro funcional y con alto rendimiento y precisión (García, 2018).

Luego de la aparición del espectrofotómetro, la colorimetría se convirtió en una técnica de suma importancia en el análisis químico cuantitativo. Su aplicación se extiende a: análisis de aguas y suelos, bioquímica, toxicología, medicina, ciencias

forenses, industria petrolera, farmacéutica y alimenticia, entre muchos otros (García, 2018).

2.2.4. La importancia de la ley de Beer

La cantidad de radiación monocromática que absorbe una muestra obedece la ley de Beer – Bouguer- Lambert, conocida como ley de Beer. En la figura 4 se muestra el principio básico de la absorción de luz monocromática (Christian, 2009).



Figura 4. Absorción de la radiación. Tomada de: “*Química Analítica*” (6ta ed., p.474), por G.D. Christian, 2009, McGraw Hill.

La radiación incidente, con potencia P_0 , atraviesa una disolución de una sustancia absorbente con concentración c recorriendo una trayectoria b (longitud de la celda donde está contenida la muestra). De la celda sale como radiación emergente, con una potencia radiante P (Skoog et al., 2008). Esta relación se expresa matemáticamente de la siguiente forma:

$$A = \log_{10} \frac{P_0}{P} = \epsilon bc \quad (3)$$

En la ecuación anterior, ϵ corresponde a la absorptividad molar. Esta depende de la longitud de onda, de la naturaleza del material absorbente y el peso molecular de la sustancia absorbente (Holler et al., 2015).

En métodos colorimétricos se aprovecha de forma implícita la ley de Beer, esto mediante el uso de curvas de calibración. En estas se mide la respuesta de un instrumento para una serie de disoluciones de concentración conocida. Por lo

general, en un intervalo establecido, se obtiene una respuesta lineal y de esta manera es posible determinar la cantidad de analito en una disolución incógnita (Worsfold, 2005).

2.3. Utilización de teléfono celular en análisis químico

En abril de 1973 se realizó la primera llamada utilizando un teléfono sin cable. En la actualidad se calcula que en el planeta hay más de 3 500 millones de teléfonos, aproximadamente. Su uso está afianzado en la vida diaria de las personas a nivel mundial. Esto gracias a la miniaturización de estos dispositivos (en comparación con los primeros aparatos de este tipo) y a la mejora en: las cámaras, audio, plataformas y la calidad de sus componentes (de Jesus et al., 2021).

Es debido a: la simplicidad en el manejo de este tipo de dispositivos, su costo (comparado con un espectrofotómetro) y portabilidad, que su uso no sólo se limita a mantener comunicada a la población, sino que se puede implementar, a través de distintas aplicaciones, en múltiples áreas de la ciencia. Estos dispositivos han sido utilizados como: microscopios y endoscopios (Anderson et al., 2016), acoplados a drones se han aprovechado para la detección remota en análisis agrícolas (de Jesus et al., 2021), herramientas de aprendizaje en aulas, entre otros. Además, el teléfono celular es ideal para análisis in situ y gracias a esto ha ganado relevancia en áreas como: cuidado de la salud, agricultura, ambiente, química, entre otras (Rezazadeh et al., 2019).

2.3.1. Técnicas utilizadas en las aplicaciones del teléfono celular

Los teléfonos celulares pueden actuar como un sistema de detección, pero también se tiene la opción de acoplarlos a sistemas externos que operan bajo distintos principios. Actualmente, en química analítica es posible encontrar diferentes sistemas de detección con el celular, basados en: óptica, electroquímica, electroquimioluminiscencia, microscopía de fluorescencia, entre otros (Rezazadeh et al., 2019).

2.3.1.1. Detección óptica

Se logra mediante la cámara que el teléfono celular trae incorporada. Esta es capaz de tomar imágenes digitales, las cuales podrían ser posteriormente procesadas con la ayuda de aplicaciones instaladas. La detección y cuantificación son factibles gracias a la medición de una característica de la imagen digital que es dependiente de la concentración del analito incógnita. Algunas de estas características son: color, fluorescencia, conteo de píxeles, entre otras (Rezazadeh et al., 2019).

En el caso de la detección colorimétrica, esta se basa en la utilización del color para cuantificar. Como más adelante se discutirá, para este tipo de detección se recurre a aplicaciones que brinden información del color en forma de coordenadas, perfilándose el sistema RGB como el más importante y común (Sivakumar & Lee, 2021).

Por otro lado, la pixelación permite la conversión del color, iluminación y otras características visuales de la muestra en dígitos. Si la obtención de datos de color no es factible, una opción es convertir la imagen a una escala de grises y con software especial se puede contabilizar la cantidad de píxeles (unidad más pequeña con información de color) y emplear este valor como señal analítica (Lee et al., 2013; Yu et al., 2016).

2.3.1.2. Detección electroquímica

En la mayoría de los casos en los que se ha implementado este tipo de detección, ha sido acoplada una celda electroquímica al celular. Se puede utilizar como señal analítica datos de: impedancia, amperometría o voltametría. Este tipo de análisis ha ganado adeptos en la detección in situ de analitos. Esto debido a la portabilidad, alta sensibilidad y capacidad de realizar mediciones analíticas en áreas remotas (Liao et al., 2020).

2.3.1.3. Detección por electroquimioluminiscencia

Esta es una combinación de electroquímica y procesos de luminiscencia. Por lo general, en esta técnica se emplea luminóforos, que son átomos o grupos funcionales de un compuesto responsables de la luminiscencia, algunos ejemplos son: complejos de rutenio, ésteres de acridinio, luminol y compuestos derivados. La luz producida en el proceso es capturada por la cámara del celular y posteriormente se analizan los datos por medio de aplicaciones móviles. Con este recurso se logra una alta sensibilidad, eficiente emisión de luz, baja señal de fondo y análisis rápidos (Hu & Xu, 2010; Li et al., 2019).

2.3.1.4. Detección por imágenes microscópicas

La potencia de la cámara del teléfono móvil puede mejorarse cuando se integran lentes desmontables, los cuales funcionan como un microscopio portable. Este tipo de aditamentos permite conseguir una resolución espacial de un micrómetro. Lo más común es usar la fluorescencia para obtener una señal analítica. Este método de detección ha sido muy implementado en determinaciones bioquímicas (Nguyen et al., 2018).

2.4. Colorimetría mediante análisis de imágenes digitales

La medición de color mediante imágenes digitales se ve influenciada por variables como: espacios de color, herramientas para la captura de imágenes, condiciones de iluminación y las aplicaciones utilizadas para el análisis y cuantificación del color (Fan et al., 2021).

2.4.1. Espacios de color

Un espacio de color es una representación matemática, que permite la especificación de los colores a través de tres componentes numéricos (por lo general). Los primeros modelos (espacios) que fueron propuestos se basaron en experimentos de la percepción humana, diseñados para desarrollar clasificaciones

de colores. Los más usados proponen una métrica para medir la distancia entre colores (Busin et al., 2009).

2.4.1.1. Modelo RGB (Rojo, Verde, Azul)

Este es el espacio de color con el que trabajan la mayoría de los sistemas computarizados de visualización y es bastante utilizado en producción industrial, a menudo se representa como un cubo. Cada color (rojo, verde y azul) es asignado a uno de los tres ejes de las coordenadas ortogonales en el espacio tridimensional (ver Figura 5). A lo largo de cada eje del cubo, la gama de colores varía desde ninguna contribución de ese componente (0) hasta la saturación total del mismo (1) (Gonzalez et al., 2008; Tiuftiakov et al., 2021). En esta representación cualquier punto (color) se identifica con tres números (coordenadas RGB). Además, la línea diagonal del cubo que va desde negro (0, 0, 0) hasta blanco (1, 1, 1) corresponde a toda la escala de grises (Choudhury, 2014b). El cubo RGB representa una cantidad de colores menor a la que un ser humano promedio puede ver (Tiuftiakov et al., 2021).

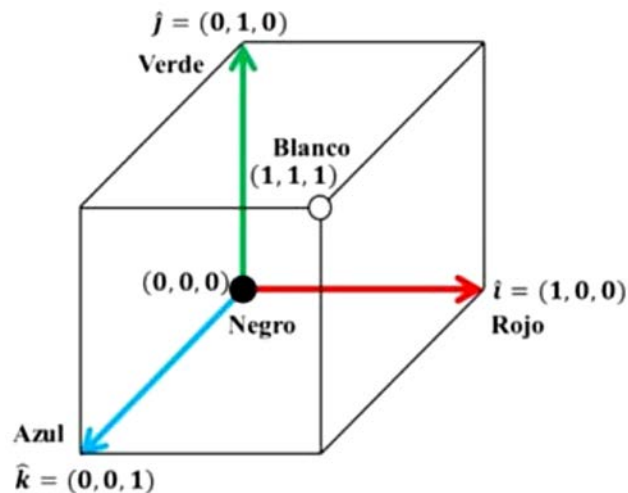


Figura 5. Representación del espacio de color RGB. Tomada de: “Fruit Classification by Extracting Color Chromaticity, Shape and Texture Features:

Towards an Application for Supermarkets” (p.4), Por F. García, J. Cervantes, A. López & M. Alvarado, 2016, *IEEE Latin America Transactions*,14 (7).

Con respecto a las imágenes digitales, la expresión matemática con la cual trabajan los dispositivos modernos es:

$$A(RGB) = rR + gG + bB \quad (4)$$

Donde: $A(RGB)$ es el color final obtenido; r , g y b son las intensidades correspondientes a cada coordenada. Se trabaja con una escala que va de 0 a 255, obteniéndose hasta 16 777 216 posibles iteraciones. La combinación (0,0,0) corresponde al negro y (255, 255, 255) al blanco (Apyari et al., 2017).

2.4.1.2. Modelo CMYK (Cian, Magenta, Amarillo, Negro)

Los espacios CMY y CMYK son muy usados en la impresión a color (ver Figura 6). Los colores primarios en CMY son el cian, magenta y amarillo, respectivamente. El rojo, el verde y el azul se obtienen por la combinación de estos. Al contrario del sistema RGB, que es un modelo de color aditivo, CMY es clasificado como uno sustractivo. Entonces, las coordenadas del blanco son (0,0,0) y las del negro (1,1,1). CMYK es una variación del anterior, en éste se adiciona el componente negro (Key). En teoría, el componente extra no es necesario. Pero en la práctica se ha observado que al mezclar iguales cantidades de cian, magenta y amarillo no se obtiene negro, sino un color café oscuro. Con la adición de este componente extra en la mezcla se consigue solucionar dicho problema (Zajc et al., 2003).

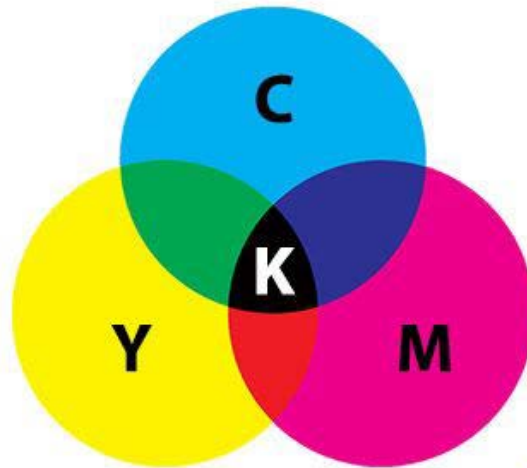


Figura 6. Espacio de color CMY/CMYK. Tomado de: “*The Difference Between CMYK and RGB in Digital Printing*”, Decal Impressions, 2018, Decal Impressions, <https://www.decalimpressions.com/company-info/blog.html/article/2018/06/05/the-difference-between-cmyk-and-rgb-in-digital-printing>.

2.4.1.3. Modelo HSB/HSL (Matiz, Saturación, Brillo/ Luminosidad)

Este modelo define el espacio de color en términos de tres componentes: matiz, saturación y brillo o valor (H, S, B/V). El matiz se refiere al tipo de color (como rojo, azul o amarillo) y varía de 0° a 360° en la mayoría de las aplicaciones. Cada valor corresponde a un color: 0° es rojo, 45° es una sombra de anaranjado y 55° es una sombra de amarillo. La saturación es la intensidad del color, varía de 0 a 100 %, 0% significa ausencia de color y 100 % es un color intenso. El brillo o valor es la luminosidad u oscuridad relativa del color y se expresa en términos de porcentaje entre 0 %(negro) y 100 % (blanco o un color menos saturado, dependiendo de la saturación)(Woelk et al., 2005).

En el caso del modelo HSL o HSI, el parámetro matiz tiene la misma definición dada anteriormente. La saturación es la variación del color, dependiendo de la luminosidad, de 0 a 100 % (desde el centro de los ejes blanco y negro). La luminosidad controla que tan claro u oscuro es el color, siendo 0 % negro y 100 % blanco. HSL es una aproximación más exacta del color, por esta razón es más

implementado en trabajos de fotografía (Woelk et al., 2005). En la Figura 7 se muestra los dos espacios explicados.

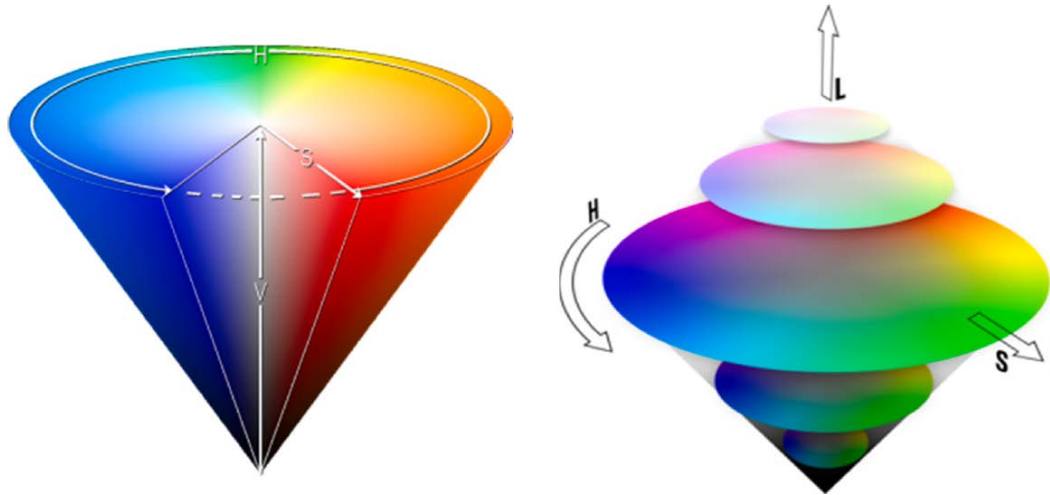


Figura 7. Espacios de color HSB (izquierda) y HSL (derecha). Tomada de: “Digital image colorimetry on smartphone for chemical analysis: A review. Measurement” (p.3), por Y. Fan, J. Li, Y. Guo, L. Xie & G. Zang, 2021, *Journal of the International Measurement Confederation*, 171.

2.4.1.4. Modelo CIE 1931-XYZ

En 1931, la Comisión Internacional de Iluminación (CII) estableció el espacio de color CIE XYZ, que está definido matemáticamente a partir de la percepción psicológica de la luz. En éste, un conjunto de tres funciones de combinación de colores, llamado colectivamente “el Estándar del Observador”, se relaciona a los conos presentes en el ojo que perciben los colores: rojo, verde y azul (Wu & Sun, 2013).

Los valores X, Y, Z, por lo general, varían entre 0 y 100 %. En este modelo el valor de Y se usa para medir la luminosidad de un color, también brinda información relacionada a la respuesta del cono “M” del ojo (amarillo-verde). En cambio, los parámetros X y Z son dos componentes virtuales que actúan como indicadores de

la respuesta de los conos en el ojo humano hacia ondas de luz de frecuencia variada (Fan et al., 2021). En la Figura 8 se puede apreciar el espacio XYZ.

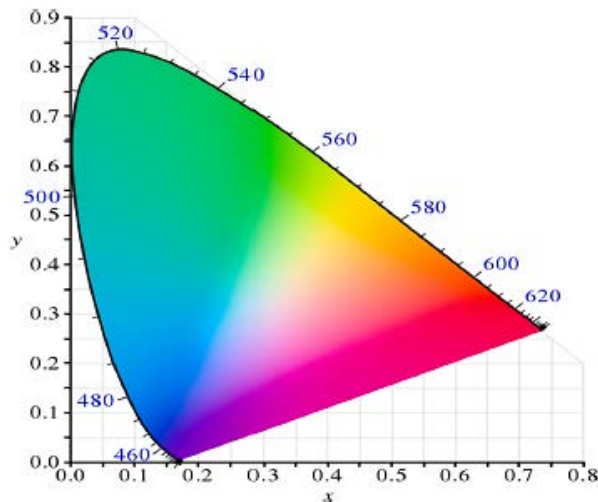


Figura 8. Espacio de color CIE XYZ. Tomada de: “Digital image colorimetry on smartphone for chemical analysis: A review. Measurement” (p.3), por Y. Fan, J. Li, Y. Guo, L. Xie & G. Zang, 2021, *Journal of the International Measurement Confederation*, 171.

2.4.1.5. Modelo $L^* a^* b^*$

El modelo $L^* a^* b^*$ es, usualmente, empleado en la caracterización de alimentos. Fue adoptado por la CII en 1976 como estándar internacional en la medición de color y es una transformación lineal del sistema XYZ. El parámetro L^* corresponde a la luminosidad, que varía entre 0 y 100 (negro a blanco). Además, a^* (de verde a rojo) y b^* (de azul a amarillo) son dos componentes cromáticos cuyos valores están en un rango de -120 a 120 (Yam & Papadakis, 2004). Otro detalle importante es que este espacio es perceptualmente uniforme, ya que la distancia euclidiana entre dos colores distintos corresponde, aproximadamente, a la diferencia percibida por los ojos humanos. La Figura 9 es una representación del espacio CIE $L^* a^* b^*$.

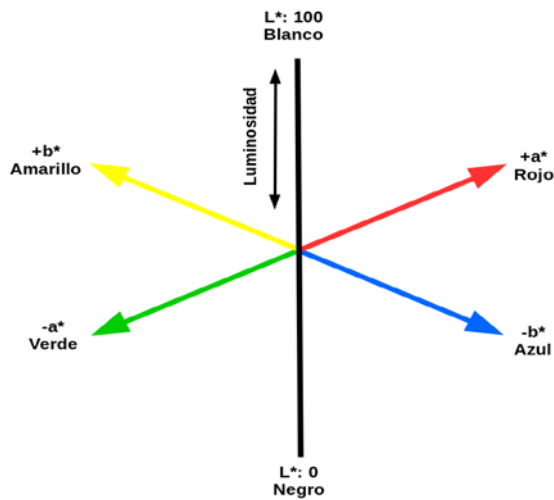


Figura 9. Espacio de color CIE $L^* a^* b^*$. Tomada de “Clasificación automática de naranjas por tamaño y por defectos utilizando técnicas de visión por computadora” (p.12), por J.C. Miranda, 2018, Universidad Nacional de Asunción.

2.4.2. Herramientas para la captura de imágenes

A menudo, los datos de imágenes digitales se extraen de dispositivos como: escáneres, cámaras digitales, cámaras web y teléfono celulares (Fernandes et al., 2020). Independientemente del equipo utilizado, la captura del color procede de forma similar. En el caso de los teléfonos inteligentes, estos tienen cámaras incorporadas a su estructura. En su interior, durante el proceso de captura de imágenes, la luz pasa a través de unos lentes e incide en un sensor especial (Lu et al., 2019).

En el sensor de imagen, la luz es recolectada por una matriz de pequeños pozos potenciales, llamados píxeles, que generalmente tienen forma cuadrada. Su función es registrar la cantidad de luz que incide sobre ellos. Posteriormente, esta magnitud se transforma en el correspondiente número de electrones, mientras más fuerte sea la luz incidente mayor es el número de electrones generado. Luego, estos son convertidos en voltaje y en seguida a datos numéricos, mediante un convertidor A/D. Esta información es procesada por circuitos dentro de la cámara. Los sensores

más utilizados en teléfonos celulares son los semiconductores complementarios de oxido metálico (CMOS, por sus siglas en inglés) (Axis Communications, 2010).

Es necesario aclarar que los sensores de imagen registran la cantidad de luz, de brillante a oscuro, sin información del color. Entonces, la presencia de un filtro frente al sensor permite la asignación de tonos de color a cada píxel. Los filtros habitualmente se basan en los espacios RGB y CMYG (cian, magenta, amarillo y verde) (ver Figura 10) (Axis Communications, 2010). El filtro RGB más común es el mosaico de Bayer, el cual contiene filas alternativas de filtros rojo-verde y verde-azul. Además, debido a que el ojo humano es más sensible al color verde, en este mosaico hay el doble de estos bloques en comparación con el resto (Figura 11). Con esto se consigue una detección más detallada de los colores que si se usara la misma cantidad de filtros de cada color (Lu et al., 2019).

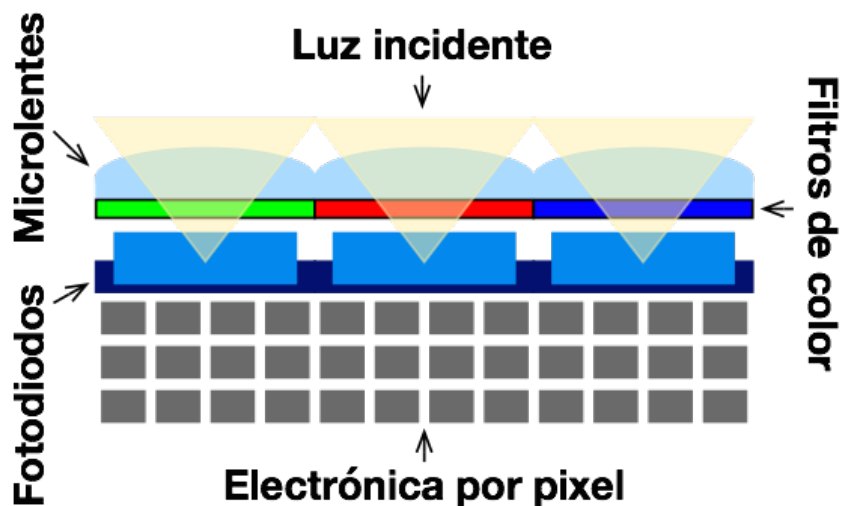


Figura 10. Estructura de un sensor CMOS de una cámara, con filtro RGB. Tomada de: “*Sensores digitales de nuestras cámaras fotográficas: CCD y CMOS*”, por D. García-Pérez, 2015, David García Pérez Fotografía, <https://dgpfotografia.com/tag/cmos/>.

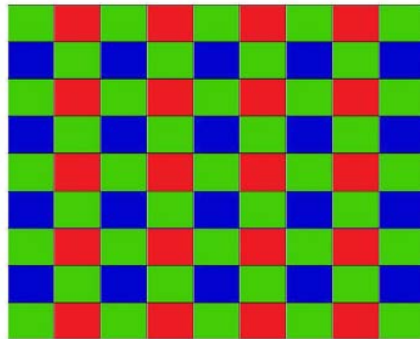


Figura 11. Mosaico de Bayer. Tomada de: “*CCD and CMOS sensor technology: Technical white paper*”, por Axis Communications, 2010, Axis Communications.

Además, con los datos de intensidad de color para cada píxel como resultado final se genera una imagen “Raw”, la cual tiene muy poco procesamiento. En este formato, los píxeles sólo tienen información de alguno uno de los canales R, G y B, pero se necesita conocer los tres valores para cada píxel. Entonces, se aplica la interpolación de color para determinar las otras dos coordenadas que faltan (ver Figura 12). Esto se consigue basándose en píxeles cercanos en los cuales los valores son conocidos. Luego de la fase anterior, se aplican otros procesos como: balance de blancos, corrección gamma, corrección del espacio de color y compresión, para convertir la imagen de formato Raw a JPEG (Kılıç et al., 2020).

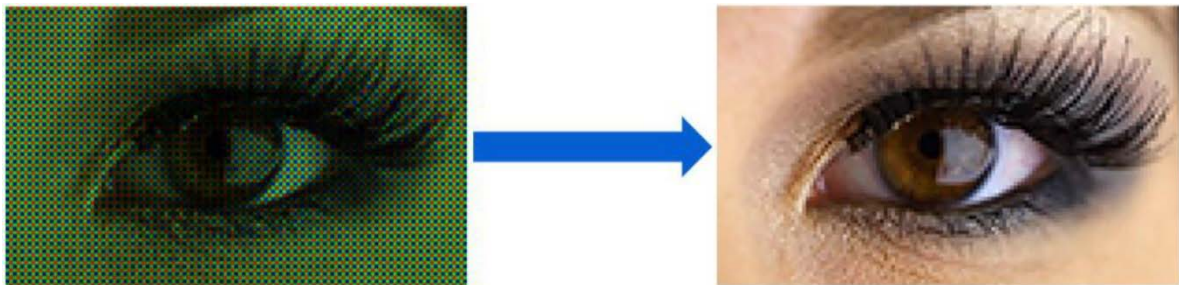


Figura 12. Interpolación de color de una imagen en formato RAW. Tomada de: “*From Sophisticated Analysis to Colorimetric Determination: Smartphone Spectrometers and Colorimetry*”, por V. Kılıç, N. Horzum & M. Ertugrul Solmaz, 2020, IntechOpen.

2.4.3. La iluminación

Dependiendo de las condiciones, el color aparente de las imágenes puede ser influenciado por varios factores, tales como: una composición homogénea de las ondas de luz proveniente de la fuente de iluminación, intensidad y geometría de emisión de la fuente de luz, rugosidad de la superficie del objeto, homogeneidad e intensidad de la coloración. Por lo tanto, trabajar con mejores condiciones de iluminación no implica que se obtendrá una calidad de imagen mejor. Lo ideal es que se fotografíe las muestras siempre con estos parámetros técnicos bajo control (Fan et al., 2021). Aunado a esto, un sistema de iluminación bien diseñado permite aumentar la exactitud de la determinación, reducir el tiempo invertido y la complejidad de los pasos subsecuentes en el procesamiento de las imágenes. Esto al final da como producto un exitoso análisis de imágenes y se reducen los costos asociados a dicho proceso (Gunasekaran, 1996).

En el caso de la colorimetría de imágenes digitales, se prefiere fuentes de iluminación que brinden una luz blanca fría. Se recomienda colocarlas arriba de la muestra, para evitar la formación de sombras o distorsión de la imagen y así se previene interferencias en la señal debido a la reflexión de la luz proveniente de la fuente. Además, la implementación de una caja de luz brinda resultados todavía más satisfactorios. Ya que se mantiene una iluminación uniforme y la posición de la cámara con respecto a la muestra permanece constante (Fan et al., 2021).

2.4.3.1. Iluminantes y fuentes de iluminación

Una fuente de luz se define como un objeto que produce luz u otro flujo de radiación. En cambio, un iluminante es una tabla de valores (potencia espectral relativa versus longitud de onda) usada en computación colorimétrica. También, el iluminante A corresponde a una lámpara incandescente de filamento de tungsteno (temperatura de color= 2856 K); los iluminantes B y C se pueden obtener filtrando la luz proveniente de una fuente A, para emular la luz del sol al mediodía. En la actualidad, estas dos clases escasean o ya cayeron en desuso, como es el caso del

tipo C (Gilchrist & Nobbs, 2016). En la Figura 13 se indica la distribución de potencias espectrales de los iluminantes CII más comunes.

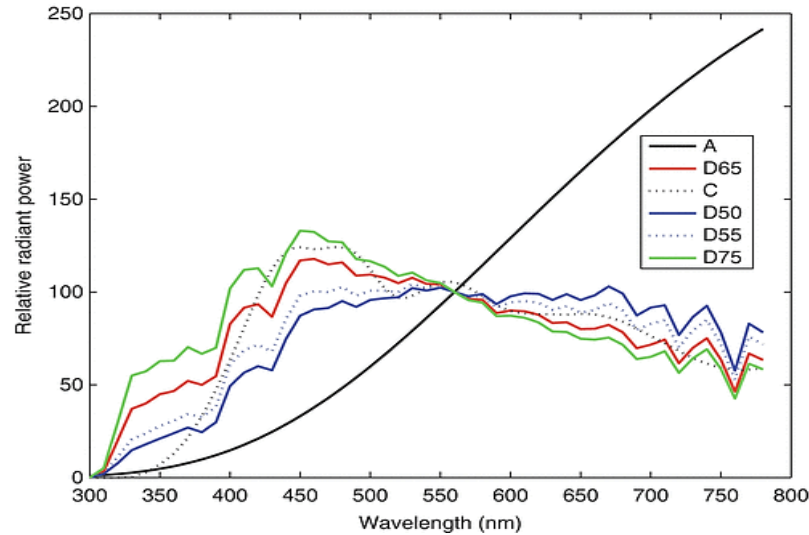


Figura 13. Distribución de potencias espectrales de los iluminantes más comunes del CII. Tomada de: *Standard Illuminants*, por R. Ramanath & M. S. Drew, 2014, Springer US.

Más recientemente la CII ha recomendado el uso exclusivo de iluminantes de la serie D, estos emulan la luz de día en varias fases. D75 (temperatura de color de 7 500 K) corresponde la luz de día del cielo norte, D65 (6 500 K) representa la luz de día promedio y D55 sería la luz de día a través de un tragaluz. Hay que resaltar que D65 es el iluminante referente para uso en colorimetría. Desafortunadamente, éste no es realizable en la práctica, por lo que se recurre a simular dicha fuente (luz fluorescente con un filtro) (Gilchrist & Nobbs, 2016).

También, ha sido definida una serie de lámparas fluorescentes (serie F), aunque ninguna de estas se considera un iluminante estándar. Estas fuentes tienen mayor eficiencia luminosa ($\text{lumen}\cdot\text{watt}^{-1}$), en comparación con los bombillos de tungsteno. Están constituidas básicamente por una lámpara de descarga de gas que contiene mercurio a baja presión y que usa la fluorescencia para producir luz visible. Hay tres tipos: normal, banda amplia y tres bandas. Las más importantes

son: F2 (normal, conocido como “blanco frío”), F7 (banda amplia, conocida como “luz de día artificial” y usada comúnmente para combinación de colores) y F12 (tres bandas, con una eficiencia energética alta y usada frecuentemente en tiendas) (Gilchrist & Nobbs, 2016).

En lo que respecta a los diodos emisores de luz (LED), se rigen por el principio de electroluminiscencia, presentado por semiconductores inorgánicos y orgánicos (OLED). Los más comunes en iluminación son los que generan luz blanca de alta intensidad (WLED). El tipo más popular es el blanco frío, cuya temperatura de color oscila entre 6 000 y 7 000 K (Oleari, 2016).

En la Figura 14 se puede apreciar los tipos de WLEDs y su correspondiente temperatura de color.

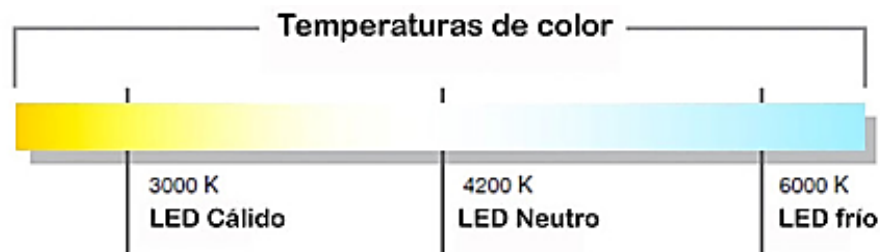


Figura 14. Relación entre temperatura de color(K) y su correspondiente tono de blanco. Tomada de: "El color como factor de calidad en la iluminación y su influencia sobre el estado de ánimo humano" (p.19), por L. Acosta-Martínez, 2019, *De los métodos y las maneras*, 4.

2.4.4. Programas y aplicaciones para colorimetría de imágenes digitales y cuantificación de color

En la cuantificación de color se recurre a programas de análisis de imágenes para conseguir datos en formato digital (bajo un espacio de color definido), con el objetivo de correlacionar la señal analítica extraída de la imagen y la concentración del analito de interés. Algunos ejemplos de estas herramientas son: Adobe

Photoshop CC, Matlab, Pantone Studio, Digital Colorimeter, Image J, Color Pilot y otras personalizadas por los fabricantes (Fan et al., 2021).

Adobe Photoshop es un programa de procesamiento de imagen multisistema que convierte información del color en valores de R, G y B. Matlab, desarrollado por MathWorks, es un ambiente de programación para: el desarrollo de algoritmos, análisis de datos, visualización y computación numérica. Pantone Studio es una aplicación de iOS, la cual tiene una colección de más de 10 000 colores de referencia, necesaria para la extracción del color de una imagen desde el teléfono inteligente. Además, Digital Colorimeter, que pertenece a la plataforma de MacOS (Apple), facilita la visualización de diferentes espacios de color como: RGB, sRGB, Adobe RGB, $L^*a^*b^*$, entre otros. En éste, al mover el cursor se obtiene coordenadas de color del punto de la imagen en valoración (Fan et al., 2021).

Otro programa es Image J, que trabaja en lenguaje Java y fue creado por el Instituto Nacional de Salud Mental de los Estados Unidos. Este es un sistema de análisis multiplataforma que permite manejar y editar imágenes en una variedad de formatos. En una línea similar, Color Pilot, que pertenece al ambiente Windows, posibilita corregir aberraciones de color y extrae valores de R, G y B (Fan et al., 2021).

Es posible, a través de cualquiera de las herramientas mencionadas, extraer los valores cromáticos de una fotografía tomada con un teléfono móvil y establecer la relación entre la respuesta analítica y la concentración de un analito. Por supuesto, basándose en curvas de calibración preparadas a partir de materiales de referencia o estándar (de Jesus et al., 2021b).

En comparación, aplicaciones en el teléfono ayudan en la obtención de coordenadas de color, ya sea con el procesamiento posterior de las imágenes captadas con la cámara o en vivo. Por lo general, se busca que tengan las siguientes funciones: modelo establecido de respuesta ante concentración, lecturas directas de los niveles de analito, preservación y almacenaje de los datos obtenidos, entre otras (Fan et al., 2021).

Algunas de las aplicaciones para teléfonos inteligentes más utilizadas son: Photometrix, Color Grab, Color Meter Free, ColorAssist, RGB Colour Detector, RGBCam, Color Picker, Color Analyzer y RGB Colour Reader. Photometrix es gratuita, dentro de sus funciones más atractivas están: quimiometría de mínimos cuadrados parciales y el análisis exploratorio utilizando agrupamiento jerárquico o curva de calibración univariada. En el caso de Color Analyzer y Color Picker, estas facilitan la detección de color en una imagen captada en vivo o partiendo de fotografías almacenadas. También hay diferentes espacios de color para trabajar como: RGB, HSL, HSV, CMYK, $L^* a^* b^*$, entre otros. La aplicación Color Grab es muy similar a las dos anteriores, pero posee una mayor cantidad de funciones, por ejemplo: blanco de referencia, cambio en el tamaño de muestra de píxeles, indicación de enfoque, uso de la linterna del celular, variación del brillo, interpretación del color y la facilidad de compartir información sobre el color captado (Fernandes et al., 2020).

En una categoría aparte están las aplicaciones personalizadas que han sido desarrolladas para metodologías específicas. Una de ellas es Albumin Tester, desarrollada para Android para la cuantificación de albumina en orina. Otro ejemplo es SPAQ, creada para la determinación de alcohol en saliva, valiéndose de un histograma de distribución. Además, Colorimeter Test Reader permite medir pH, proteínas y glucosa en orina. En otro estudio, se mensuró el contenido de peróxido con ChemTrainer, que es una aplicación que ejecuta un algoritmo de aprendizaje automático en un servidor remoto y empleó tiras reactivas para este propósito (Kılıç et al., 2020b).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

Este capítulo se dividirá en tres secciones: fabricación y verificación del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación, optimización de las condiciones de operación del diseño final y finalmente la validación de la metodología propuesta.

Se enlistará los materiales, equipos y reactivos usados en cada una de las etapas y luego se procederá a explicar el procedimiento general llevado a cabo en cada parte del proceso. Adicional a esto se incluirá una sección de tratamiento de datos.

3.1. Materiales generales, equipos y reactivos

3.1.1. Equipo de cómputo, teléfono celular, programas y aplicaciones

Durante las tres etapas se utilizó una computadora de escritorio con las siguientes características: Sistema Operativo Windows 10, Procesador AMD FX (tm)-6300 de 6 núcleos, 3500 MHz y Memoria RAM de 16 GB. Además, para el trabajo en el laboratorio 0219 de la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica, se usó una tableta RCA W101SA23T1P Cambio 2 en 1 con: Procesador Intel Atom Z8350, disco duro de 32 GB SSD, 2GB de memoria RAM, WIFI, Bluetooth, y sistema operativo Windows 10. En ambos casos para el procesamiento de datos se empleó el programa Office del ambiente Microsoft 365 (Microsoft 365, 2023).

El teléfono móvil escogido para la obtención de las coordenadas de color fue Samsung A51, cuyas características están indicadas en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Características del teléfono celular Samsung A51

Característica	Valor
Pantalla	Super AMOLED 6.5" Resolución de 1080 x 2400 px
Dimensiones y peso	158,5 x 73,6 x 7,9 mm ³ 172 g
Procesador	Octa-Core
Memoria RAM	4 GB
Almacenamiento	128 GB
Cámara frontal	32 MP
Cámara principal	Cuádruple, 48MP+5MP+12MP+5MP
Batería	4000 mAh, Carga rápida hasta 15W
Sistema operativo	Android 10 Samsung One UI 2.0
Conectividad	4G, Wi-Fi /Bluetooth USB-C, NFC y Minijack
Otros	Sensor de huella bajo la pantalla

La obtención de coordenadas de color se logró con la aplicación para Android OS, Color Grab, creada por Loomatix. Algunas de sus funciones son: control de brillo, escogencia del tamaño de muestra de píxeles, blanco de referencia, balance de blancos, iluminación mediante la linterna incorporada, hasta dos espacios de color para trabajar simultáneamente, entre otras (Color Grab, 2021).

3.1.2. Fabricación y verificación del dispositivo para el control de iluminación

Por efectos prácticos, sólo se incluirá listas parciales de materiales y equipos. En Anexos se puede verificar el listado completo.

3.1.2.1. Equipos y materiales usados en la fabricación de los prototipos

- Cartón de presentación blanco y negro.
- Madera MDF de 5 y 10 mm.
- Cartulina Opalina blanca, 225 G/M2 21.5 x 28.0 cm.
- Papel adhesivo de vinilo imprimible, marca: Limia' s Care, blanco mate.
- Foamy moldeable blanco, marca Krear.
- Foamy 10 mm de color verde.
- Foamy blanco de 2 mm.
- Lámina difusora blanca de plástico, 2 mm de grosor.
- Resina de mesa, Decore S.A.
- Herramientas varias para: corte, dimensionado y unión.
- Materiales varios para unión de piezas.
- Barniz Tinte Comex, base de agua, acabado brillante.
- Barniz Aquavar de Lanco, 3 en 1, satinado Wengue.
- Pintura en aerosol Harris, negro y blanco mate.
- Impresora Epson L210.
- Soporte universal para teléfono celular, marca Phicant, con tornillo estándar de 1/4 pulgadas, rotación vertical y horizontal.
- Cuchara de medida de 15 mL.

3.1.2.2. Equipos y materiales usados en la fabricación de las fuentes de luz

- Cartón de presentación blanco y negro.
- Madera MDF de 10 mm de grosor
- Herramientas varias para: corte, dimensionado y unión.
- Tira Led blanca 5050 de 12 V, 6000 K, marca no especificada en el empaque.

- Adaptador de 12 V, 2 A, marca JCM, modelo 250-SA12V2A.
- Eliminador regulado 12 V, marca Steren, modelo: ELI-1250, 3 A.
- Módulos Led 3M IP-67, 12 V y 1.2 Watts, para interiores y exteriores.
- Luminario de Leds super brillante, Marca: Good Will AZ-Energy, modelo: 20365. 85-265 V, 60 Hz y 3 W.
- Panel de luces Led Blanco Frío de 6500 K, marca: Wellmax, 480 lúmenes, 120-240 V, 50-60 Hz y 6 W.

3.1.2.3. Equipos y materiales usados en la verificación de los prototipos

- Balanza analítica Sartorius, modelo: ENTRIS224I-1S.
- Espectrofotómetro Genesys UV/Vis 10 s.
- Back- UPS 425, marca: APC, modelo: BE425M-LM.
- Celda de cuarzo UV para espectrofotómetro, marca AMTAST, camino óptico de 10 mm y 3.5 mL de capacidad.
- Balones y pipetas aforadas de diferentes volúmenes.
- Pipetas graduadas de 10.0 y 5.0 mL.
- Equipo volumétrico variado.
- Pipeta automática de 1-10 mL, marca, Eppendorf Research.
- Botellas de plástico y vidrio de: 125, 200, 500 y 1000 mL.

3.1.2.4. Reactivos usados en la verificación de los prototipos diseñados

- Colorante vegetal amarillo y rojo, marca desconocida.
- Acetato de sodio anhidro, marca Amresco, grado ACS.
- Clorhidrato de hidroxilamina, marca Sigma Aldrich, pureza 99 %.
- Sal de Mohr, marca Fermont, pureza de 100.3 %.
- 1,10-fenantrolina, marca Sigma Aldrich, pureza 99 %.
- Ácido sulfúrico concentrado, grado reactivo, marca EM.
- Ácido nítrico 70 %, grado reactivo A.C.S, marca Spectaum.

- Disoluciones de 1,10-fenantrolina de 0.1 y 0.3 %, elaboradas por la Proveduría de la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica.
- Agua destilada.

Con base en los reactivos incluidos en la lista anterior se preparó las siguientes disoluciones acuosas:

- Disolución de Fe(II): Se trabajó con disoluciones madre de: 250 -1000 mg·L⁻¹. A partir de estas se obtuvo una disolución intermedia de 100 y 250 mg·L⁻¹ y de trabajo de 10 mg·L⁻¹.
- Colorante naranja: Se preparó una disolución de trabajo de: 2000 – 10000 mg·L⁻¹.
- Disolución de clorhidrato de hidroxilamina al 10 % (m/v).
- Disolución de acetato de sodio al 10 % (m/v).
- Disolución de 1,10-fenantrolina al 0.1 - 0.3 % (m/v).

3.1.3. Optimización de las condiciones de operación

3.1.3.1. Materiales y equipo usados para optimizar las condiciones de operación

- Fuentes de luz variadas y prototipo MDF 2.1.
- Eliminador regulado 12 V, marca Steren, modelo: ELI-1250, 3 A.
- Teléfono celular Samsung A51.
- Balanza analítica Sartorius, modelo: ENTRIS224I-1S.
- Espectrofotómetro Genesys UV/Vis 10 s.
- Celda de cuarzo UV para espectrofotómetro (ver punto 2.1.2.3)
- Balones y pipetas aforadas de diferentes volúmenes.
- Pipeta automática de 1-10 mL, marca: Eppendorf Research.
- Equipo volumétrico variado.

3.1.3.2. Reactivos usados para optimizar las condiciones de operación

- Disoluciones: $(251.8 \pm 0.4) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y $(10.07 \pm 0.04) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de hierro a partir de sal de Mohr (P= 100.3 %), clorhidrato de hidroxilamina al 10 % (m/v), ortofenantrolina al 0.1 - 0.3 % (m/v) y acetato de sodio al 10 % (m/v). Así como agua destilada.
- Patrón para absorción atómica de 1000 mg/L de Fe (II), marca Perkin Elmer Pure.
- Muestras acidificadas de agua potable tomadas en la Clínica Dr. Solón Nuñez Frutos y el Laboratorio 0219 de la Escuela de Química de Universidad de Costa Rica.
- Muestras artificiales de agua, enriquecidas con disoluciones concentradas de hierro (II).

3.1.4. Validación del método propuesto

En este caso, los reactivos y materiales son similares a los utilizados en la optimización de condiciones, con algunos cambios:

- Se seleccionó la fuente de 60 luces Led interconectadas
- El espectrofotómetro utilizado fue: Shimadzu Pherma Spec UV-1700.

Para el análisis de interferencias fueron empleados:

- Patrones para absorción atómica de 1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de: Zn y Mg, marcas variadas. Se preparó disoluciones de 300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de cada metal y un cóctel de ambos, concentración individual de 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.
- Sulfato de sodio anhidro, marca Merck, Pureza= 99%; carbonato de sodio, marca Laboratorios Meyerk S.A., Pureza= 99.5 %; cloruro de sodio, no especifica marca ni pureza. Con estas sales se preparó disoluciones de 300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de cada metal y un cóctel de todas, concentración individual de 2500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

3.2. Procedimientos generales

3.2.1. Preparación de los reactivos utilizados y muestras

En la presente sección se explicará, de forma general, como fueron preparados los reactivos utilizados durante los diferentes procesos llevados a cabo.

3.2.1.1. Disolución de hierro (II)

Fue preparada a partir de sal de Mohr, la cual había sido morterizada y almacenada en un recipiente adecuado el cual se mantuvo en un desecadora con sílica gel activa. Para hacer una disolución de $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ se pesó 0.35 g de sal de Mohr. Luego, se disolvió en una pequeña cantidad de agua y se trasvasó cuantitativamente a un balón aforado de 200.0 mL. Se agregó 2 mL de ácido sulfúrico concentrado, se aforó con agua destilada y se mezcló bien. La disolución fue almacenada en una botella plástica ámbar de 250 mL, la cual se enjuagó tres veces con la disolución antes de ser llenada.

3.2.1.2. Disolución de colorante naranja

Se mezcló partes iguales de colorantes vegetales amarillo y rojo, consiguiéndose un colorante naranja. Este fue morterizado y almacenado en un recipiente adecuado, el cual se mantuvo en una desecadora con sílica gel activa. Se hizo una disolución de trabajo de $2000 - 10\ 000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, pesando 0.2 – 1.0 g del colorante y se disolvió en una pequeña cantidad de agua. La disolución se trasvasó cuantitativamente a un balón aforado de 100.0 mL. Después, se aforó con agua destilada y se mezcló bien.

3.2.1.3. Disolución de clorhidrato de hidroxilamina (10 % m/v)

Para preparar 200 mL, se pesó 20 g de clorhidrato de hidroxilamina y se añadió agua destilada hasta la marca de 200 mL, se agitó hasta disolver. Se guardó la disolución en una botella de vidrio ámbar de 250 mL.

3.2.1.4. Disolución de acetato de sodio (10 % m/v)

Para preparar 1 L, se pesó 100 g de acetato de sodio anhidro y se agregó agua destilada hasta la marca de 1000 mL, se agitó hasta disolver. Se almacenó la disolución en una botella de vidrio ámbar de 1000 mL.

3.2.1.5. Disolución de ortofenantrolina (0.1 – 0.3 % m/v)

Para preparar 1 L, se pesó 1-3 g de ortofenantrolina y se agregó agua destilada hasta la marca de 1000 mL, se agitó hasta disolver. Se guardó la disolución en una botella de vidrio de 1000 mL.

3.2.1.6. Muestras artificiales de agua

Previo a la validación del método, se preparó tres muestras artificiales, que consistían en agua destilada o potable del grifo a la cual se le agregó una pequeña cantidad de hierro. En el Cuadro 2 se detalla la elaboración de estas disoluciones.

Cuadro 2. Preparación de las disoluciones incógnita utilizadas para validar la determinación de hierro en agua potable mediante el uso del teléfono Samsung A51.

Designación	Alícuota para análisis (mL)	Preparación
A	6.50	4 mL de disolución de Fe (II) ($250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), más agua destilada hasta $V_{\text{Final}} = 200 \text{ mL}$.
B	6.50	1 mL de disolución de Fe (II) ($1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), más agua destilada hasta $V_{\text{Final}} = 200 \text{ mL}$.
C	10.00	200 mL de agua de tubo más 0.6 mL de disolución de Fe (II) ($1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

3.2.1.7. Proceso de muestreo

Previamente, se alistó botellas plásticas de 125 mL, fue añadido 1 mL de HNO_3 concentrado a cada una. Se tomó una muestra de agua de grifo del

Laboratorio 0209, para su posterior análisis. Esto se logró, dejando correr el agua (flujo intermedio) por un minuto y llenando el contenedor hasta el nivel marcado previamente (100 mL).

En el próximo paso, se ejecutó un muestreo en tres puntos de la Clínica Dr. Solón Nuñez Frutos: baño de mujeres y pila de la Sección de Serología, ambos ubicados en el Laboratorio Clínico. Así como en la pila central izquierda del comedor. Se dejó correr el agua (flujo intermedio) por 1 minuto y se llenó la botella hasta el nivel marcado previamente (100 mL). Las muestras fueron refrigeradas a 4 °C hasta su posterior análisis. Para cuantificar, se midió una alícuota de 10.00 mL con una pipeta automática de 1-10 mL, en un balón aforado de 25.00 mL.

3.2.2. Desarrollo y verificación de funcionamiento de los prototipos

3.2.2.1. Fabricación de prototipos en cartón de presentación

Tomando como base el trabajo realizado por João y otros (2019). Se construyó 4 cajas hechas a partir de cartón de presentación. Las mismas tenían una abertura para la cámara del celular, una base para celda de medición y el teléfono era fijado a la caja mediante ligas de hule. En el caso de los prototipos 1.1.0 y 3.1.0, estos tenían un fondo blanco. Su principal diferencia era que en el primero el celular estaba en posición invertida y en el segundo estaba recto, con respecto a la celda (ver Figura 15). Para la caja 2.1.0, el fondo era negro y el celular estaba en posición invertida. Para la caja 4.1.0, el celular se encontraba por encima de la celda, esta consistía en una cuchara de medida de 15 mL modificada. Además, a las cajas 1.1.0, 2.1.0 y 3.1.0, se les acopló una fuente de luz, que consistía en 12 tiras Led interconectadas y pegadas en un cartón de presentación (36 luces en total). En el caso del prototipo 4.1.0, la fuente tenía 14 tiras Led interconectadas (42 luces en total) y estaba incorporada a la estructura de la caja. Las especificaciones de estos prototipos se indican en el Cuadro 3.



Figura 15. Ejemplificación de las posiciones recta e invertida del teléfono celular Samsung A51. Figura tomada de: <https://www.amazon.com/-/es/Samsung-Galaxy-128GB-desbloqueado-renovado/dp/B09598JR5G>.

Cuadro 3. Características de los cuatro prototipos originales del dispositivo diseñado controlar la iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51.

Característica	Prototipo			
	1.1.0	2.1.0	3.1.0	4.1.0
Altura (cm)	19.0	19.0	27.0	10.0
Ancho (cm)	12.5	12.5	12.5	14.0
Fondo (cm)	16.0	16.0	16.0	24.0
Abertura para cámara (cm x cm)	4.5 x 3.5	4.5 x 3.5	4.5 x 3.5	5.0 x 3.5
Color interior	Blanco	Negro	Blanco	Blanco
Posición del celular	Invertida	Invertida	Recta	Desde arriba

3.2.2.2. Fase 1 de la verificación de los prototipos hechos en cartón de presentación

3.2.2.2.1. Curva de calibración

En la primera etapa de pruebas, se procedió a preparar, a partir de una disolución madre de colorante naranja de $10000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, una curva de calibración de 3 a 7 patrones, midiendo alícuotas de 2.00-10.00 mL con una pipeta graduada de 10.00 mL en balones aforados de 100.0 mL, rango de concentración = $(200 - 1000) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, se usó agua destilada como blanco y para aforar los balones. Se extrajo las coordenadas de color con la aplicación Color Grab, las condiciones de operación de esta se ajustaron sobre la marcha.

3.2.2.2.2. Lectura de coordenadas de color

Para obtener las coordenadas de color: se enjuagó tres veces la cubeta y se llenó con la disolución a analizar. Entre cada lectura, se perturbó el sistema y se permitió que la aplicación volviera a enfocar la imagen. Esta perturbación se logró sacando y metiendo la base con la celda (gaveta) o abriendo y cerrando la puerta o tapa de la caja. Entre cada muestra se trató de desconectar la fuente de luz. Al finalizar las mediciones, las celdas se enjuagaban con agua destilada y se guardaban adecuadamente.

3.2.2.2.3. Procesamiento de datos

Posterior a la extracción de las coordenadas de color (RGB y Cie $L^* a^* b^*$), estos valores fueron transformados, utilizando las conversiones indicadas en la sección "Tratamiento de datos". Con las señales transformadas y las concentraciones de los patrones se elaboró una curva de calibración. El desempeño de los prototipos fue evaluado mediante los valores de pendiente y coeficiente de determinación de dicha curva. Otros parámetros para la toma de decisiones fueron: facilidad para la manipulación del dispositivo móvil, toma de datos, calentamiento de las fuentes de luz y estabilidad de la lectura. Además, con las curvas de calibración se estudió, de manera preliminar, la mejor manera de tratar los datos

obtenidos. Así como el espacio de color y el canal que daban la mejor respuesta analítica.

3.2.2.2.4. Otros aspectos importantes

Como punto adicional, se analizó una serie de patrones de colorante naranja mediante un espectrofotómetro UV-visible, incluyendo un espectro de absorción molecular. En el caso de realizar modificaciones a los prototipos estudiados, debía medirse la curva de calibración nuevamente, para evaluar por medio de la pendiente y coeficiente de determinación el impacto de dicho cambio.

Esta fase se culminó evaluando 4 fuentes de luz. Dos estaban hechas a partir de tiras Led 5050 interconectadas, 12 en una y 20 en la otra para un total de 36 y 60 luces, respectivamente. Las otras dos eran paneles Led de 3 y 6 W, modificados para acoplarse al prototipo con el cual se estuviera trabajando. De igual forma se midió la curva de calibración de colorante naranja y la comparación de desempeño se dio mediante los valores de pendiente y coeficiente de determinación.

3.2.2.3. Fase 2 de la verificación de los prototipos hechos en cartón de presentación

Se escogió uno de los cuatro prototipos modificados y se continuó con la segunda etapa de pruebas. En esta fase, se procedió a trabajar con el sistema Fe (II)-ortofenantrolina.

3.2.2.3.1. Curva de calibración y desarrollo de color

A partir de una disolución de hierro (II) de $(10.14 \pm 0.05) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, se preparó una curva de calibración de 6 patrones más blanco, con concentraciones entre $0.152 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y $2.03 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, midiendo alícuotas de 1.50 – 10.00 mL con una pipeta graduada de 10.00 mL en balones aforados de 50.00 mL. Para el blanco se añadió todos los reactivos menos el analito.

Para el desarrollo de color, se procedió de la siguiente manera: en el balón aforado de 50 mL, a la alícuota de la disolución de hierro se le agregó 2 mL de clorhidrato de hidroxilamina al 10 %, se agitó ligeramente y se dejó en reposo por 5

min. En seguida, se añadió: 10 mL de ortofenantrolina al 0.1 % y 10 mL de acetato de sodio al 10 %. Se aforó con agua destilada, se mezcló y se dejó reposar por 10 min (Christian, 2009).

3.2.2.3.2. Evaluación de desempeño

Como ya se indicó, fueron realizadas pruebas de desempeño del prototipo y con base en los hallazgos se iba modificando la caja y probando el efecto del cambio efectuado. Además, con la versión final de la caja hecha con cartón de presentación se volvió a probar las fuentes de luz y se evaluó el efecto de variar la intensidad de brillo en la aplicación Color Grab. También, se comprobó otra vez cual transformación matemática de coordenadas era mejor.

3.2.2.4. Fase 3 de la verificación de los prototipos hechos en cartón de presentación

Con base en los hallazgos realizados con el prototipo definitivo fabricado a partir de cartón de presentación, se creó una caja hecha de madera MDF de 10 mm de grosor. El buen funcionamiento de este diseño final se verificó midiendo una curva de calibración, hecha a partir de una disolución de trabajo de Fe (II), $C = (10.07 \pm 0.04) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, de 7 patrones más blanco, rango de concentración = $(0.403 - 1.611) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, midiendo alícuotas de 1.50 a 10.00 mL con una pipeta automática de 1-10 mL y en balones aforados de 25.00 mL. Como se redujo el volumen del balón usado, la cantidad de reactivos necesarios se disminuyó a la mitad de lo indicado con anterioridad. Se desarrollo color (ver punto 3.2.2.3.1) y se analizó la curva de calibración, se obtuvo las señales transformadas y se comparó los tres tipos de conversión. Después, se siguió con el proceso de optimización de las condiciones de operación.

3.2.2.5. Resumen del proceso de verificación de los prototipos hechos de cartón de presentación

A continuación, se presenta un diagrama que resume los pasos realizados durante el proceso de verificación de los prototipos hechos de cartón de presentación.

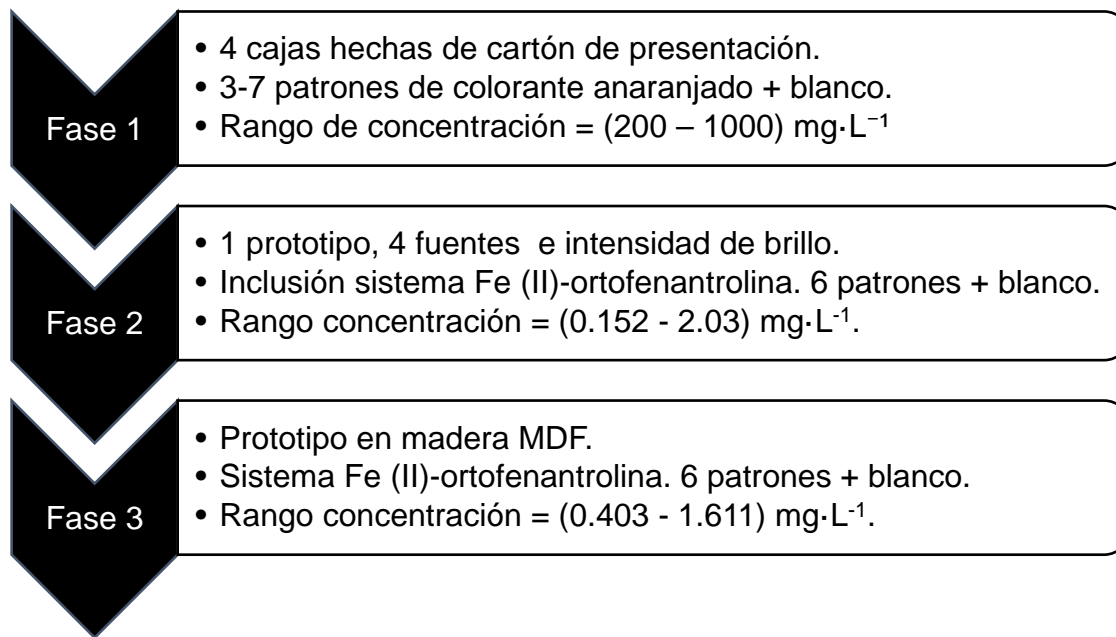


Figura 16. Resumen del proceso de verificación de los prototipos hechos en cartón de presentación.

3.2.3. Optimización de las condiciones de operación

Habiendo seleccionado la versión final del prototipo fabricada en madera MDF, se escogieron condiciones preestablecidas de operación. Para la optimización fueron evaluadas las siguientes variables: fuente de luz, posición de la celda con respecto a la cámara (10.6 o 11.6 cm), grado de rotación de la celda (no rotada y ligeramente rotada en sentido antihorario), brillo (desde + 0.0 hasta + 0.6), tamaño de la muestra de píxeles (objetivo, 4 en total), uso de blanco de referencia y

comparación entre la obtención en vivo de las coordenadas de color y su extracción a partir imágenes almacenadas.

3.2.3.1. Curva de calibración y medición de coordenadas de color

Se elaboró una curva de calibración de Fe (II) de 8 patrones más blanco, a partir de una disolución de trabajo de $(10.07 \pm 0.04) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, tomando alícuotas de 0.60 a 5.00 mL con una pipeta automática de 1-10 mL, rango de concentración = $(0.242 - 2.01) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Luego del desarrollo de color (ver punto 3.2.2.3.1), se determinó las coordenadas de color en los espacios RGB y Cie L* a* b*, las cuales fueron transformadas antes de ser usadas en la curva de calibración. Los valores de la pendiente y coeficiente de determinación sirvieron como criterio para seleccionar las condiciones óptimas.

3.2.3.2. Determinación de las condiciones óptimas de operación

Los parámetros preestablecidos fueron fijados, entonces se comenzó por probar el efecto de utilizar la función de blanco de referencia (BR). Luego, se procedió a rotar la celda, en dos posiciones (con y sin rotación). Para esta parte las demás condiciones se mantuvieron igual y se escogió la función BR. Para los demás factores se procedió de forma similar, en cada etapa se variaba el parámetro en estudio y era seleccionado el que daba mejores resultados. En la próxima etapa se fijaba al valor preestablecido y se continuaba con otra variable.

El siguiente factor estudiado fue la fuente de luz, se probó 6 diferentes: 36, 48 y 60 luces Led interconectadas, así como los paneles de 3 y 6 W y 10 módulos Led interconectados. Después, se continuó comparando: 2 distancias celda-cámara, diferentes niveles de brillo (en incrementos de 0.1) y por último se valoró el efecto de cambiar el tamaño del objetivo utilizado.

3.2.3.3. Comparación entre la obtención de coordenadas de color en vivo y con extracción posterior

Adicionalmente, se comparó los datos tomados en vivo y con extracción posterior. Para este propósito, a partir de una disolución de trabajo de Fe (II),

$C = (10.19 \pm 0.04) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, se preparó una curva de calibración de 10 patrones más blanco, rango de concentración = $(0.245 - 2.53) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, balones aforados de 25.00 mL y midiendo volúmenes de 0.60 a 6.20 mL con una pipeta automática de 1-10 mL. Se capturó tres fotografías de cada uno de los patrones, con la aplicación Color Grab se extrajo las coordenadas de color (del canal y conversión elegidos) y se contrastó contra los datos obtenidos en vivo (con base en R^2 y pendiente de la curva de calibración).

3.2.4. Validación del método propuesto

Después de optimizar las condiciones de operación de la caja de luz, se procedió a validar la metodología propuesta. Trabajando con las condiciones óptimas definidas en la sección anterior. Para todo el protocolo de validación se siguió lo establecido por Eurachem en “La adecuación al uso de los Métodos Analíticos”. Los parámetros evaluados en esta parte fueron: rango lineal y de trabajo, sensibilidad del método, precisión interdía e intradía, veracidad y estudio de interferentes (P.P. Morillas et col, 2016).

3.2.4.1. Rango lineal y de trabajo

Se logró preparando 14 patrones más blanco, a partir de una disolución de Fe (II), $C = (25.1 \pm 0.1) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Con la pipeta automática de 1-10 mL se tomó alícuotas de: 0.60, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50, 3.00, 3.50, 4.00, 5.00, 6.00, 7.00, 8.00, 9.00 y 10.00 mL, en balones de 25.00 mL, rango de concentración = $(0.612-10.20) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Posterior a desarrollar color (ver punto 3.2.2.3.1) y aforar con agua destilada, se extrajo los valores del canal escogido, se transformó la señal analítica y se graficó contra los datos de concentración. Se valoró de forma visual la gráfica y se definió el rango lineal. Esto fue confirmado a través del coeficiente de determinación asociado al rango de datos escogido.

Ya con el ámbito de trabajo definido, se hizo una curva de calibración de 10 patrones más blanco, partiendo de una disolución de trabajo de Fe(II), $C = (10.19 \pm 0.04) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Con una pipeta automática de 1-10 mL, se midió alícuotas de: 0.60,

1.20, 1.80, 2.40, 3.00, 3.60, 4.20, 4.80, 5.60 y 6.20 mL en balones de 25.00 mL, rango de concentración = (0.245 – 2.53) mg·L⁻¹. Para el resto del proceso de validación se preparó de la misma forma la curva de calibración. Luego del desarrollo de color, para cada muestra o patrón se realizó tres lecturas.

3.2.4.2. Sensibilidad del método

Esta variable corresponde a la pendiente de la curva de calibración, el procedimiento seguido es similar al indicado en el párrafo anterior. Empleando hojas de cálculo creadas con el programa Excel se calculó el valor de esta.

3.2.4.3. Límites de detección y cuantificación

Para definir los límites de detección y cuantificación se midió 10 veces un patrón de baja concentración ($C_{Fe} = (0.326 \pm 0.003) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Además, se procedió según lo indicado por Miller y Miller (2002), empleando la curva de calibración para este propósito. Se realizó una comparación entre estas dos formas. En la sección de Tratamiento de datos se mostrará con detalle los cálculos relacionados.

3.2.4.4. Veracidad

3.2.4.4.1. Sesgo

Para establecer el sesgo, las muestras: artificiales, del Laboratorio 0209 y las obtenidas en la Clínica Dr. Solón Nuñez fueron analizadas por triplicado y tres lecturas por cada réplica. Esto por medio de la metodología propuesta y utilizando el espectrofotómetro Shimadzu Pharma Spec UV-1700 (método estándar). También, con este equipo se hizo un barrido para definir la longitud de onda de trabajo, usando el quinto patrón de la curva de calibración ($C_{Fe} = (1.223 \pm 0.006) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Se calculó un porcentaje de diferencia entre las medias experimentales para cada técnica y se aplicó una prueba t de student de dos colas, para definir si hubo diferencias significativas con respecto al valor obtenido con el método estándar.

3.2.4.4.2. Recuperación

Se determinó el porcentaje de recuperación para muestras enriquecidas. Se evaluó tres niveles (50, 100 y 120 %) y las incógnitas A y C. De cada muestra se midió alícuotas de 4.30 y 4.70 mL, en el orden dado. De la disolución de Fe (II), $C = (10.19 \pm 0.04) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, se tomó 1.00, 2.00 y 2.50 mL, para 50, 100 y 120 %, respectivamente. Se trabajó con balones aforados de 25.00 mL y una pipeta automática de 1-10 mL y por triplicado. Se desarrolló color y se extrajo las coordenadas del canal y conversión escogidos previamente. Conociendo la cantidad de hierro en la muestra no enriquecida, se calculó la recuperación para los tres niveles.

3.2.4.5. Precisión intradía e interdía

Para averiguar el valor de la precisión intradía se montó siete réplicas independientes de la incógnita B. Esto midiendo una alícuota de 6.50 mL con una pipeta automática de 1-10 mL y vertiendo la misma en un balón aforado de 25.00 mL. Después del desarrollo de color, se hizo tres lecturas de cada muestra. La concentración de hierro se interpoló en la curva de calibración y se calculó la media y desviación estándar para poder expresar el resultado final.

En el caso de la precisión interdía, durante siete días se preparó tres réplicas independientes de la incógnita B, se usó una alícuota de 6.50 mL, balones aforados de 25.00 mL y pipeta automática de 1-10 mL. El último día solo se pudo montar dos réplicas. Se procedió de forma similar que con la precisión intradía.

3.2.4.6. Estudio de interferencias

Para completar esta parte del estudio de validación, se añadió de los interferentes 10 y 50 veces la concentración presente del analito. Los interferentes investigados fueron: Cl^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , Mg^{2+} y Zn^{2+} . Para la prueba 1:10, se preparó disoluciones de $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de cada uno de los iones. Se pesó por separado: 0.1 g de Na_2SO_4 anhidro, 0.12 g de Na_2CO_3 y 0.11 g de NaCl , el volumen final fue 200

mL. Para el Mg^{2+} y Zn^{2+} se tomó 3 mL de una disolución patrón $1\ 000\ mg\cdot L^{-1}$ de cada metal y se diluyó a un volumen final de 10 mL con agua destilada.

Para la determinación se midió alícuotas de 2.40 mL (nivel 1) y 4.80 mL (nivel 2), con una pipeta automática de 1-10 mL, de la disolución de Fe (II) ($C = (10.19 \pm 0.04)\ mg\cdot L^{-1}$). De cada disolución de interferente se agregó 0.8 y 1.7 mL, por separado y en la última preparación fueron añadidos todos en un mismo balón aforado de 25.00 mL(cóctel). Se obtuvo las coordenadas de color para todas las muestras con interferentes añadidos y se comparó contra los valores de referencia (sin interferentes).

En la prueba de 1:50, se usó disoluciones cóctel de: Cl^- , SO_4^{2-} y CO_3^{2-} ($2\ 500\ mg\cdot L^{-1}$ de cada uno); Mg^{2+} y Zn^{2+} ($500\ mg\cdot L^{-1}$ de cada uno). Para la primera mezcla se pesó: 0.18 g de Na_2SO_4 anhidro, 0.22 g de Na_2CO_3 y 0.20 g de NaCl, el volumen final fue 50 mL. Para el segundo cóctel se mezcló 5 mL de Zn^{2+} ($1000\ mg\cdot L^{-1}$) y 5 mL de Mg^{2+} ($1000\ mg\cdot L^{-1}$). De la mezcla de aniones se tomó 0.5 y 1 mL para los niveles 1 y 2, respectivamente. En el caso del cóctel de cationes, los volúmenes medidos fueron 2.5 y 5 mL (niveles 1 y 2) y en una tercera muestra se combinó las dos mezclas de interferentes.

3.3. Tratamiento de datos

Como primer punto, los datos de la señal analítica deben ser transformados para poder incluir el valor del blanco. Además, se debe probar dos tipos de función: normalización y conversión logarítmica. Adicionalmente, se verificó la idoneidad de usar coordenadas de color del modelo $Cie\ L^* a^* b^*$, transformadas mediante una resta (blanco y muestra).

Es importante indicar que se escogió la mediana para definir el valor central de la variable dependiente, ésta fue transformada mediante las siguientes fórmulas:

$$y_{RGB\ 1} = \frac{(Coordenada_{blanco} - Coordenada_{muestra})}{255} \quad (5)$$

$$y_{RGB\ 2} = \log_{10}\left(\frac{\text{Coordenada}_{blanco}}{\text{Coordenada}_{muestra}}\right) \quad (6)$$

$$y_{Lab} = \text{Coordenada}_{blanco} - \text{Coordenada}_{muestra} \quad (7)$$

Con base en los datos de la señal analítica transformada, se graficó una curva de calibración y se aplicó el modelo de regresión lineal por mínimos cuadrados. Los parámetros más importantes que fueron calculados son: pendiente (m), intercepto (b) y coeficiente de determinación (R^2). Las expresiones matemáticas para la obtención de estos se muestran a continuación:

$$y = mx + b \quad (8)$$

$$m = \frac{\sum(x-\bar{x})(y-\bar{y})}{\sum(x-\bar{x})^2} \quad (9)$$

$$b = \bar{y} - m\bar{x} \quad (10)$$

$$R^2 = \frac{(\sum(x-\bar{x})(y-\bar{y}))^2}{\sum(x-\bar{x})^2 \cdot \sum(y-\bar{y})^2} \quad (11)$$

Donde \bar{x} y \bar{y} corresponden a los promedios de las variables. Cuando ya se conoce la recta de mejor ajuste (Ecuación 8), para el set de datos se puede calcular la concentración de hierro (II) en una muestra incógnita. Esto se consigue despejando el término que se quiere averiguar:

$$x = \frac{y-b}{m} \quad (12)$$

Por otra parte, los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) pueden ser calculados empleando la desviación estándar de la regresión ($s_{y/x}$), como se muestra más abajo (Miller & Miller, 2002):

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i(y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} \quad (13)$$

$$LD = b + 3 s_{y/x} \quad (14)$$

$$LC = b + 10 s_{y/x} \quad (15)$$

$$C_{LD} = \frac{3 s_{y/x}}{m} \quad (16)$$

$$C_{LC} = \frac{10 s_{y/x}}{m} \quad (17)$$

Donde, \hat{y} corresponde a los valores estimados de la variable dependiente. Como ya se mencionó, es posible obtener estos límites según lo indicado por Eurachem. Para esto, se debe medir varias réplicas (10 en este caso) de una muestra con baja concentración de analito e interpolar las concentraciones y calcular la desviación estándar de estos resultados (s_0). Lo anterior se logra con la Ecuación 18.

$$s'_0 = s_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{m}} \quad (18)$$

Los valores n y m son las observaciones realizadas de la muestra y del blanco, respectivamente.

Por otro lado, la veracidad del método se valoró por dos vías: comparando contra un método estándar y por recuperación. A continuación, se muestra las fórmulas necesarias.

$$Sesgo(\%) = \frac{\bar{x}_{Método} - \bar{x}_{Estándar}}{\bar{x}_{Estándar}} \quad (19)$$

$$Recuperación(\%) = \frac{\bar{c}_{muestra\ enriquecida} - \bar{c}_{muestra}}{c_{añadida}} \quad (20)$$

Se hizo una comparación de la concentración de Fe (II) en las incógnitas artificiales, determinada con el método estudiado contra los valores reportados con el método estándar (espectrofotométrico). Esto mediante una prueba t student de dos colas.

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} \quad (21)$$

$$t_c = \left| \frac{\sqrt{n}(\bar{x}-\mu)}{s} \right| \quad (22)$$

Donde μ es el promedio obtenido con espectrofotometría. En esta prueba, t calculado (t_c) se compara contra t tabulado ($n-1$ grados de libertad, $\alpha= 0.05$ y dos colas). Si el valor calculado absoluto es mayor al tabulado, se rechazaría la hipótesis nula, que en este caso indica que no hay diferencias significativas entre el valor de referencia y el promedio experimental. Por lo tanto, se aceptaría la hipótesis alternativa, que si existen diferencias significativas entre ambos valores.

Como último punto de esta sección, para el cálculo de la precisión interdía e intradía, se puede aplicar la Ecuación 21 y para expresarlo como un porcentaje se usa la siguiente formula:

$$DER = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (23)$$

El cálculo de la incertidumbre asociada a la concentración del analito en las disoluciones madre e intermedia y de los patrones fue incluido en los Anexos.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este capítulo, al igual que el anterior, será dividido en tres secciones principales: la fabricación y la verificación del funcionamiento del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación, optimización de las condiciones de operación del diseño final de este dispositivo y la validación de la metodología propuesta.

4.1. Fabricación y verificación del dispositivo para el control de iluminación

En este punto se discutirá el proceso de fabricación y verificación de los prototipos iniciales hechos en cartón de presentación, así como de la versión final fabricada en MDF de 10 mm. También, se discutirá sobre la fabricación de las fuentes de luz utilizadas durante la ejecución del presente proyecto.

4.1.1. Fabricación de prototipo base

Originalmente, se tomó como base una caja de luz que fue creada para determinar hierro (III) en bioetanol (ver Figura 17) (João et al., 2019).



Figura 17. Caja de luz utilizada en la determinación de Fe (III) en biodiesel mediante el uso de un teléfono celular. Tomada de: "Iron (III) determination in bioethanol fuel using a smartphone-based device", por A.F. João, et al., 2019, *Microchemical Journal*, 146.

Entonces, con este modelo se creó el dispositivo mostrado en la Figura 18, cuyo diseño se logró con las aplicaciones MakerCase e Inkscape. Las piezas individuales fueron cortadas con un Router CNC, el servicio fue brindado por la Universidad Vértas. Esto a partir de una lámina de PVC blanco de 1 m² y 10 mm de grosor. El interior fue forrado con cartulina blanca Bristol y se instaló un plafón, para poder conectar una bombilla de 5 W (6000 K). El sistema contaba con un interruptor para apagar y prender la fuente de luz. Asimismo, se forró los bordes de la caja con cinta aislante eléctrica blanca. Otro detalle importante es que la caja disponía de una pequeña puerta para poder introducir la celda y colocarla en la base ubicada dentro del dispositivo para dicho propósito.



Vista frontal



Vista lateral



Interior

Figura 18. Primer prototipo del dispositivo diseñado para controlar la iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono celular LG K40.

Lamentablemente, se debió descartar este diseño, ya que no podía adaptarse fácilmente para funcionar con otros teléfonos móviles. Aunado a su tamaño y peso.

4.1.2. Fabricación y verificación de los primeros prototipos

4.1.2.1. Fabricación de los primeros prototipos

El control de las condiciones de iluminación es uno de los parámetros de mayor relevancia en la colorimetría de imágenes digitales, ya que influye directamente en la percepción y cuantificación del color (Fan et al., 2021). Por lo tanto, se buscó diseñar un dispositivo, con el cual se pudiera controlar las condiciones de iluminación, que fuera sencillo de usar, que tuviera un tamaño adecuado y brindara una lectura estable. Para cumplir estas metas, a partir de la caja de luz descrita en la sección anterior se crearon cuatro prototipos a base de cartón de presentación (ver Figura 19).

Para la elaboración de los prototipos se dimensionó las piezas y luego se realizó un corte a poca profundidad, de esta forma se podía doblar el cartón y formar las paredes de la caja. Luego, se hicieron huecos en los puntos de unión y se utilizó una remachadora para unir y formar la estructura primaria de la caja. Como parte del diseño del prototipo se confeccionó una tapa, para poder cerrar la misma y controlar la entrada de luz proveniente del exterior. También, en la cara frontal de la caja se cortó una abertura para la cámara del teléfono celular. En el caso del prototipo 4.1.0, este orificio se encontraba en la cara superior.

El dispositivo móvil se mantuvo (al inicio) en su lugar mediante unas ligas de hule. Además, se instaló una base, donde se colocó la celda de medición. Esta consistía en un rectángulo de cartón de presentación con un hueco circular en su centro. En este orificio se insertaba una tapa plástica en la cual se había moldeado, con resina de mesa, una base para la celda del espectrofotómetro (ver Figuras 20 y 21).

En el caso de los prototipos 1.1.0 y 3.1.0, se tapizó el interior con cartulina blanco mate y se incluyó, detrás de la base para la celda, un fondo de este material. En el caso del prototipo 2.1.0 (fondo negro), se usó cartón de presentación de dicho color y para colorear el interior se aplicó pintura en aerosol negro mate. Para el fondo, se imprimió un cuadro negro, el cual fue dibujado con el programa Word, se

cortó y colocó de tal manera que la lámina formara una curva a lo largo de la unión de la pieza de la base y la cara posterior (ver Figuras 20 y 21). El celular en los dispositivos 1.1.0 y 2.1.0 estaba en posición invertida con respecto a la celda de medición y en la caja 3.1.0 el celular estaba en posición recta.

Con respecto al prototipo 4.1.0, la cámara del celular enfocaba desde arriba y en vez de una cubeta para espectrofotómetro se modificó una cuchara medidora de 15 mL, para que sirviera como celda de medición. Además, se le pegó un imán para poder fijar la cuchara en una posición establecida. La fuente de luz estaba incorporada en la estructura del dispositivo (ver Figura 21).

Se probó estos primeros diseños con disoluciones de colorante anaranjado, pero hubo problemas para mantener el celular en una posición fija. Debido a que se había inmovilizado el teléfono a la caja con ligas de hule. Por lo que se decidió para las cajas 1.1.0, 2.1.0 y 3.1.0: añadir extensiones a ambos lados de la caja, para hacerlas más anchas (1.5 cm de cada lado) y cortar un orificio en la parte inferior de la cara frontal. Para todas las cajas: se creó dos piezas para sostener y fijar el celular y dentro se incluyó una pieza para disminuir la entrada de luz por la abertura para la cámara. En las Figuras 19, 20 y 21 se muestra la apariencia exterior e interior de los prototipos con estas modificaciones (Versión 1.1).

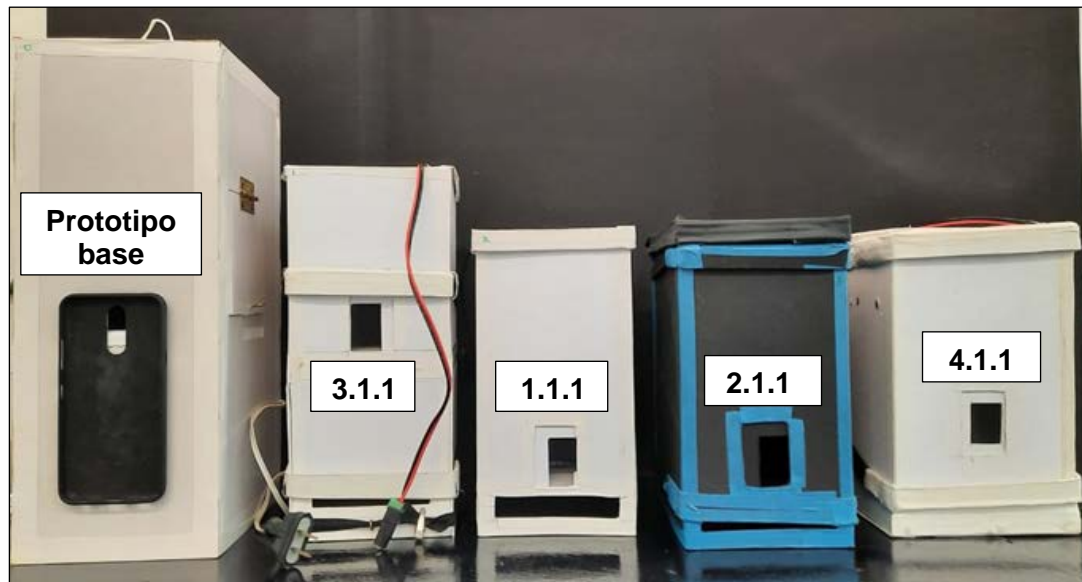


Figura 19. Primeros prototipos del dispositivo diseñado para controlar la iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51.



Prototipo 1.1.1

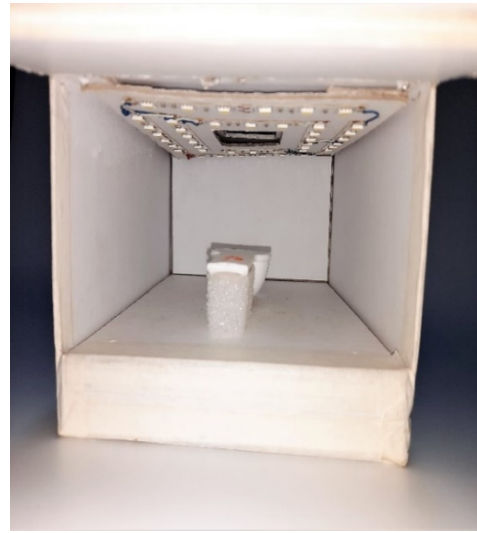


Prototipo 2.1.1

Figura 20. Interior de los prototipos 1.1.1 y 2.1.1 del dispositivo diseñado para controlar la iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51.



Prototipo 3.1.1



Prototipo 4.1.1

Figura 21. Interior de los prototipos 3.1.1 y 4.1.1 del dispositivo diseñado para controlar la iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51.

4.1.2.2. Verificación de los primeros prototipos

Las versiones 1.1 de todos los prototipos fueron probadas. Para esto, se preparó una curva de calibración de colorante naranja de 3 puntos más blanco, rango de concentración = $(220 \pm 6) - (1098 \pm 6)$ mg·L⁻¹. Además, se trabajó con: brillo + 0.0, muestra de píxeles (objetivo) más pequeña, celda rotada levemente, blanco de referencia, fuente de 36 luces Led y enfoque con una celda (vacía) de espectrofotómetro cubierta con cinta para enmascarar y con una marca negra en su centro. Para la caja 4.1.1, no se usó blanco de referencia, se ajustó el brillo a + 1.0 y el objetivo más grande, se enfocó con el imán ubicado en la base. Para todas se realizó tres lecturas de cada muestra, perturbando el sistema entre cada una. Para lograr esto se levantaba la tapa o se abría y cerraba una puerta.

Las coordenadas de color, de los tres canales del espacio RGB, fueron transformadas usando las Ecuaciones 5 y 6, el sistema Cie L* a* b* fue incorporado más adelante. Ya con las señales convertidas se obtuvo las tres rectas de mejor

ajuste para las parejas de datos, para ambos tipos de conversión. Con base en la pendiente y el coeficiente de determinación, se eligió el canal del espacio de color más apto y se descartó o modificó los prototipos estudiados.

Relacionado a lo anterior, mientras más grande sea la magnitud de la pendiente, mejor es la sensibilidad del método (cambio presentado en la señal cuando se varía la concentración) y se escoge, por lo general, las rectas con mayor pendiente (Miller & Miller, 2002). Asimismo, el coeficiente de determinación es una indicación del grado de relación entre dos variables cuantitativas y continuas y mientras más cercano a 1 el valor, la relación entre ambas variables es más directa (Christian, 2009).

En la Figura 22, se muestra las rectas de mejor ajuste obtenidas con los datos normalizados (ajustados a una norma o modelo) y el prototipo 1.1.1. Se aprecia que con el canal B (sistema RGB), se logró la pendiente con mayor magnitud y el coeficiente de determinación más cercano a 1. Tanto para los datos que fueron normalizados como para los que se les aplicó una transformación logarítmica (Figura 23). Por lo tanto, se seleccionó la normalización de los valores y usar el canal B (RGB).

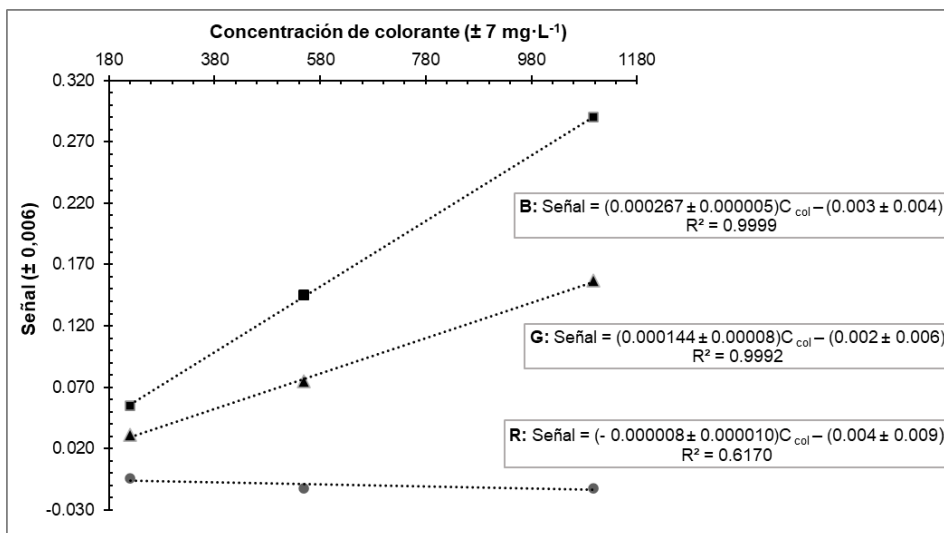


Figura 22. Curva de calibración obtenida durante la verificación del prototipo 1.1.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación. Señal normalizada; rango de concentración = $(220 \pm 6) - (1098 \pm 6)$ mg·L⁻¹.

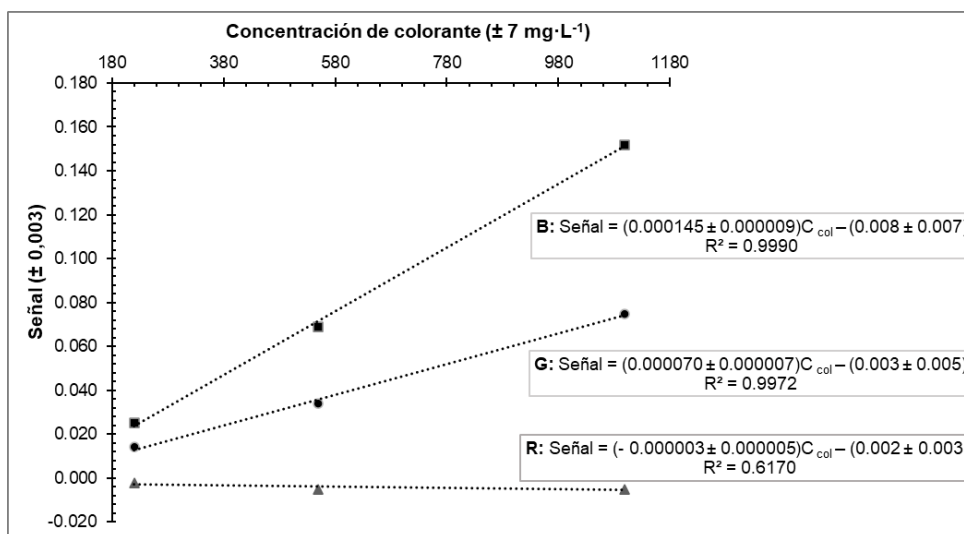


Figura 23. Curva de calibración obtenida durante la verificación del prototipo 1.1.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación. Conversión logarítmica; rango de concentración = $(220 \pm 6) - (1098 \pm 6)$ mg·L⁻¹.

Aprovechando la curva de calibración analizada con el prototipo 1.1.1., se evaluó el desempeño del resto de las cajas. Se procedió de forma similar, pero en el caso de la caja 4.1.1, se varió el volumen de muestra que se agregaba en la celda de medición (4 o 11 mL) y se estudió el efecto asociado. Estas pruebas fueron designadas como: 4-1 y 4-2, respectivamente.

Por lo explicado anteriormente, para el resto de las cajas se seleccionó el canal B. Ya que se dio un comportamiento similar en todas, es decir, valores de pendiente y coeficiente de determinación más altos que los otros dos componentes (R y G), para ambos tipos de conversión. En las Figuras 24 y 25 se muestra la tendencia de los valores de la pendiente y el coeficiente de determinación para todos los prototipos, usando exclusivamente la señal del canal B.

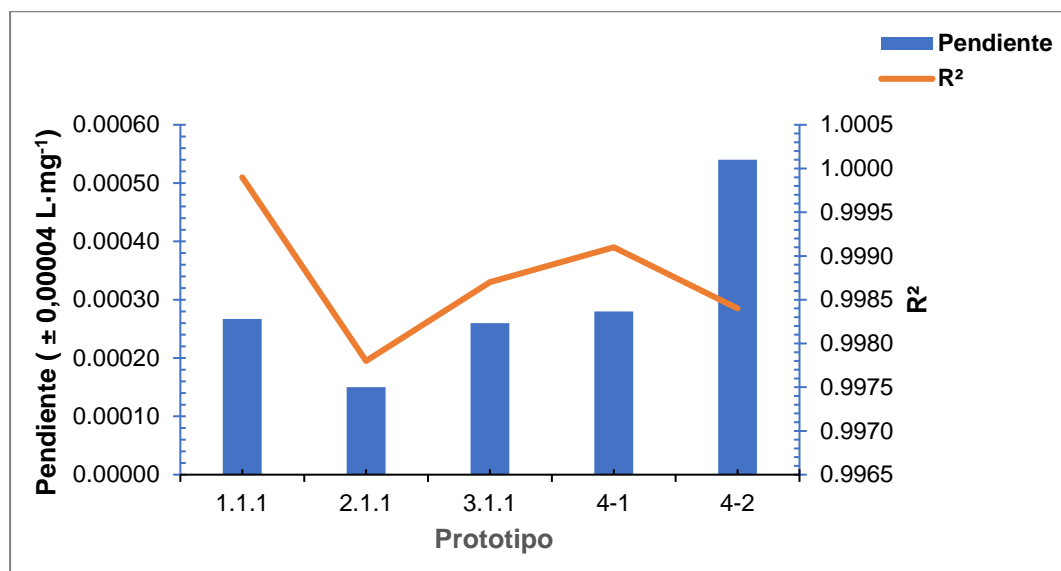


Figura 24. Variación en los valores de la pendiente y coeficiente de determinación para los prototipos iniciales del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación. Valores del canal B normalizados; rango de concentración = $(220 \pm 6) - (1098 \pm 6) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

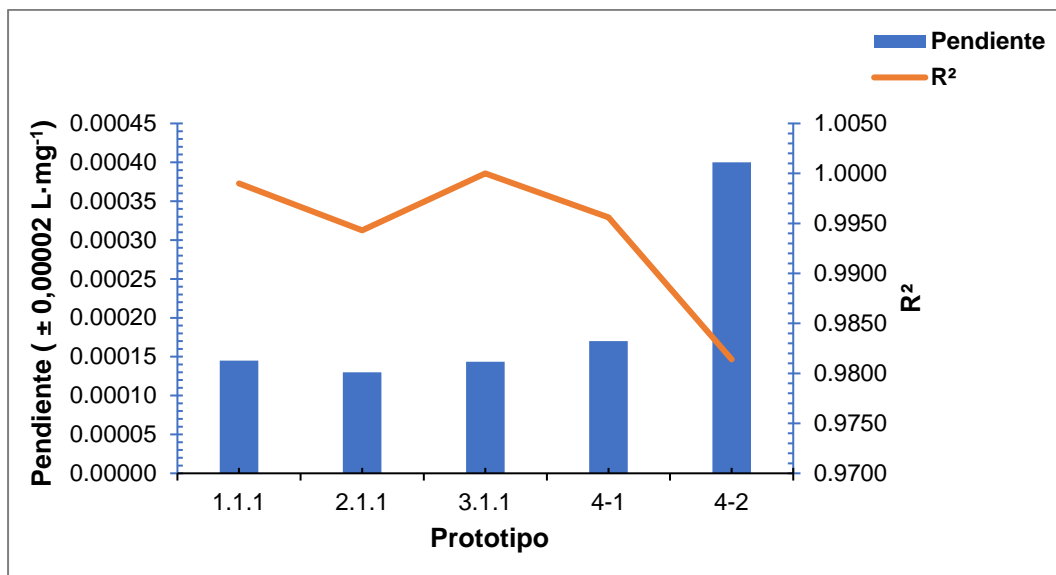


Figura 25. Variación en los valores de la pendiente y coeficiente de determinación de los prototipos iniciales del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación. Valores del canal B convertidos logarítmicamente; rango de concentración = $((220 \pm 6) - (1098 \pm 6)) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Analizando las figuras anteriores, se aprecia que, para los valores normalizados, los prototipos 1.1.1, 3.1.1 y 4-1 presentaron pendientes similares. Pero para 2.1.1 este valor fue menor y para 4-2 fue mayor al resto. Además, el mejor coeficiente de determinación se logró con el prototipo 1.1.1, pero era difícil manipular el teléfono celular con este diseño. De igual forma con el 2.1.1, por lo que se decidió descartarlos para futuras pruebas, sólo se continuó con las cajas 3.1.1 y 4.1.1. También, con los datos convertidos logarítmicamente, para el prototipo 3.1.1 se obtuvo un mayor coeficiente de determinación (1.000), en comparación a la señal normalizada, lo que indica un ajuste lineal perfecto (Navidi, 2014). No obstante, esta situación fue una excepción, por lo general, la normalización brindaba mejores resultados.

Por otra parte, se analizó una curva de calibración de tres puntos (mismo rango de concentración anterior) con un espectrofotómetro. La recta de mejor ajuste fue: $A = (0.000223 \pm 0.000001) C_{\text{col}} - (0.001 \pm 0.001)$, con $R^2 = 1.0000$. Se midió a una

longitud de onda de 428.0 nm, este valor se definió previamente a partir de un barrido espectral (ver Figura 26).

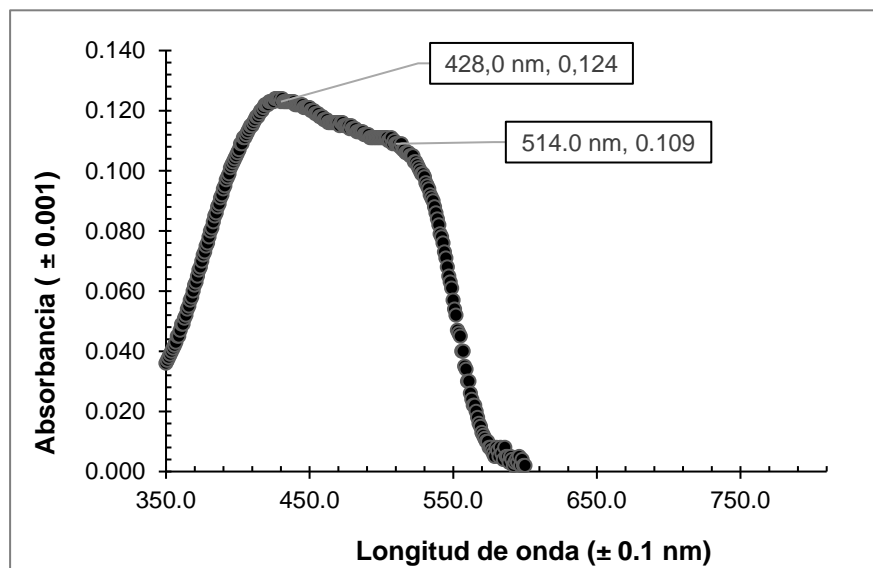


Figura 26. Espectro de absorción molecular obtenido para una disolución de colorante naranja utilizada durante la fase de verificación de los prototipos iniciales. Concentración colorante = $(549 \pm 6) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Con la figura anterior, se confirmó que el colorante anaranjado está conformado por dos moléculas. Ya que a $(428.0 \pm 0.1) \text{ nm}$ se da la absorción del color azul índigo, pero se observa amarillo y a $(510.0 \pm 0.1) \text{ nm}$ es absorbido el color verde y reflejado el púrpura (próximo al rojo). Se debe señalar que el color observado por el ojo humano es producto de la interacción de un rango de longitudes de ondas con moléculas de un compuesto coloreado dando como resultado un color diferente al que podría indicar la longitud de onda de máxima absorción (*Physics in the Arts*, 2022). Adicionalmente, la disminución de los valores del canal B (aumento de la señal normalizada) con respecto a la señal del blanco (255 por defecto), al aumentar la concentración de colorante, se debe a que el azul es el color complementario del naranja. Aunque, el verde es el color complementario del rojo, la pendiente con esta coordenada es mucho menor (Camuffo, 2019).

4.1.3. Prototipos 3.2.0, 3.2.1, 4.1.1 y 4.1.2

De los cuatro prototipos iniciales se continuó realizando pruebas con dos de ellos. A la caja de luz 3.1.1 se le realizó estas modificaciones: se eliminó las piezas para hacer más ancha la caja y se creó una cavidad en la parte inferior para colocar un soporte para teléfono celular. Adicionalmente, se modificó la tapa de la caja para que fuera intercambiable. Estos cambios dieron como resultado la versión 3.2.0, más adelante su altura fue reducida en 2 cm, lo que generó la versión 3.2.1. La Figura 27 muestra el exterior de la caja 3.2.1.



Figura 27. Exterior del prototipo 3.2.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51.

Para medir potenciales efectos relacionados a estas modificaciones, se preparó una curva de calibración de 7 patrones más blanco, cuyo rango de concentración de colorante fue: $(221 \pm 6) - (1105 \pm 7) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y las mismas condiciones indicadas previamente. Se observó que al añadir el soporte no hubo efectos negativos, la pendiente y coeficiente de determinación obtenidos fueron: $(0.000261 \pm 0.000005) \text{ L}\cdot\text{mg}^{-1}$ y 0.9995, respectivamente. En cambio, al reducir 2

cm en la altura de la caja la pendiente fue $(0.000252 \pm 0.000007) \text{ L}\cdot\text{mg}^{-1}$, lo que es una disminución con respecto al valor obtenido al incluir el soporte, pero es aceptable. La linealidad no varió.

Con respecto al prototipo 4.1.1, se continuó trabajando con este diseño al mismo tiempo que se probaba la caja 3.2.1. Sin embargo, se empezó a notar un parpadeo en la pantalla del celular, este efecto no permitía la estabilización de la señal e impedía el registro de las coordenadas de color. Se aumentó 2.5 cm la altura a la cual se encontraba el celular con respecto a la celda de medición con el aditamento mostrado en la Figura 28 (versión 4.1.2). Lamentablemente, no hubo mejora alguna y se resolvió continuar solo con el prototipo 3.2.1.



Figura 28. Complemento del prototipo 4.1.1 para aumentar en 2.5 cm la distancia entre la celda de medición y la cámara del teléfono Samsung A51.

4.1.3.1. Implementación del modelo CIE L*a*b* y extracción de coordenadas de color de fotografías

Se implementó el uso del espacio CIE L*a*b*. Esto, para establecer si había una mejora en términos de la pendiente y linealidad, se midió la misma curva citada con anterioridad. En la Figura 29 se muestra la tendencia para los valores transformados de cada uno de los canales, que es inverso a lo que sucedería si se trabajara directamente con las coordenadas de color.

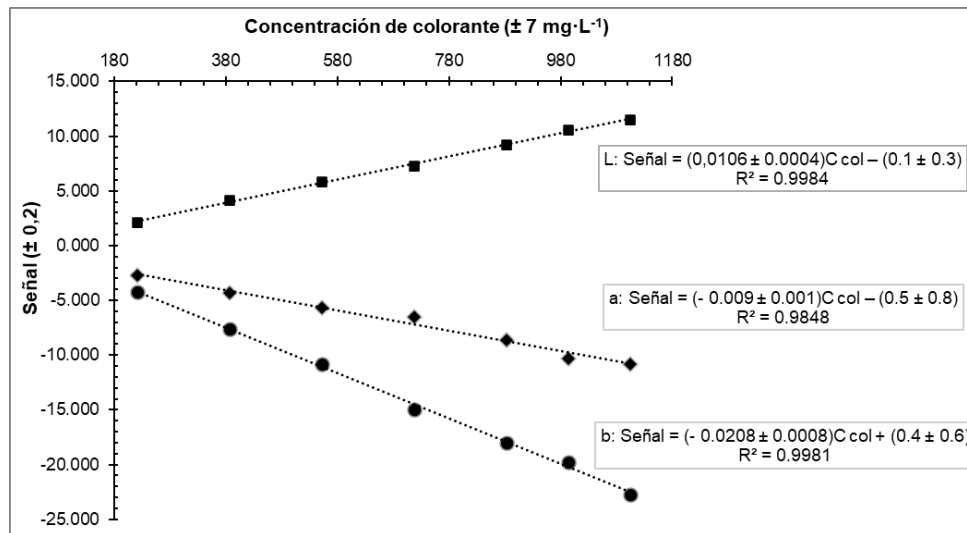


Figura 29. Curva de calibración obtenida para la verificación del prototipo 3.2.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación; Resta de coordenadas Cie L* a* b*. Rango de concentración = $(221 \pm 6) - (1105 \pm 7) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

La tendencia observada al trabajar con el espacio Cie L*a*b* se debe a que al incrementar la intensidad de la coloración de una disolución la luminosidad (L*) disminuye, pasando de blanco a negro. El parámetro a* se relaciona al componente verde-rojo de un color, por ende, mientras más positivo sea este valor la contribución del componente rojo al color observado será mayor. Algo similar sucede con el parámetro b*, que corresponde a la variación azul-amarillo en el color medido. Se debe recordar que el color anaranjado es el resultado de combinar amarillo y rojo, lo que corresponde con el efecto en a* y b* (Gilchrist & Nobbs, 2016). Al final, por la transformación aplicada en los datos, lo que se observa es una disminución en las señales a* y b* y un aumento en L*.

En el Cuadro 4 se presenta una comparación de las pendientes obtenidas utilizando las señales transformadas de los canales B y b*. Esto para los resultados conseguidos con la caja de luz 3.2.1, se utilizó el mismo rango de concentraciones de la curva de calibración presentada en la Figura 29. Además, se analizó las

coordenadas de color extraídas a partir de fotografías captadas de los patrones y el blanco.

Cuadro 4. Comparación de los valores de la pendiente y coeficiente de determinación obtenidos para el prototipo 3.2.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación; Canal B normalizado y resta señal b^* de Cie $L^* a^* b^*$. Rango de concentración de colorante = $(221 \pm 6) - (1105 \pm 7)$ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Canal	Señal	Pendiente ($\text{L}\cdot\text{mg}^{-1}$)	R^2
B (RGB)	Normalizada	0.000269 ± 0.000003	0.9998
B (RGB)	Logarítmica	0.000147 ± 0.000005	0.9987
b^* ($L^* a^* b^*$)	Resta	-0.0208 ± 0.0008	0.9981
B (RGB-Fotos)	Normalizada	0.00021 ± 0.00001	0.9958

Con los resultados incluidos en el Cuadro 4 se confirma que, entre la señal normalizada y la señal convertida logarítmicamente, se obtiene una mejor sensibilidad del método y linealidad trabajando con los datos normalizados. Además, al usar las coordenadas del canal b^* , la magnitud de la pendiente es mayor a la lograda con los datos normalizados, pero el coeficiente de determinación es el más bajo de todos, por lo que no es conveniente emplear este canal para cuantificar.

Aunado a lo anterior, al extraer las coordenadas de color de fotografías y utilizar los valores normalizados del canal B, se presentó una disminución del coeficiente de determinación y la pendiente. Esto se debe a que la cámara del dispositivo móvil convierte las imágenes de un formato RAW a JPEG/JPG. Al hacer esto no solo se comprime el archivo (disminuye su tamaño en gigabytes), sino que la información contenida también se reduce, esto incluye datos relacionados con el color de la imagen. Lo cual afecta de manera directa la relación lineal que pudiera

existir entre el color y la concentración de la sustancia analizada (Fernandes et al., 2020).

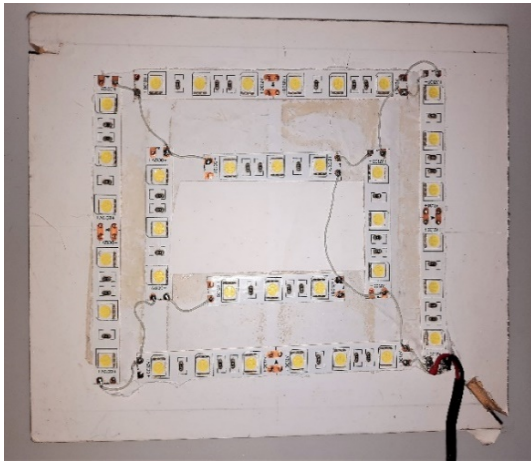
4.1.4. Fabricación y valoración de las fuentes de luz

4.1.4.1. Fabricación de las fuentes de luz

Estas fuentes en un principio fueron colocadas en cartón de presentación. Luego, se incluyó un velcro para poder intercambiarlas. Al avanzar con el diseño de las cajas de luz, fueron adaptadas a tapas hechas de madera MDF de 10 mm.

Para dos fuentes, se pegó 12 y 20 unidades de tiras Led (cada unidad constaba de 3 luces) en un panel de cartón, para dar como resultado 36 y 60 luces en total. Se usó un adaptador de 12 V para alimentar dichas fuentes. También, fue armado un panel con 48 luces Led en total, pero las tiras se unieron a través de conectores para tiras led. Se elaboró una fuente que consistió en 10 módulos Led pegados en forma consecutiva a una tapa de madera y otra fue hecha de Leds extraídos de televisores (fue ensamblada por un técnico en reparación de electrodomésticos).

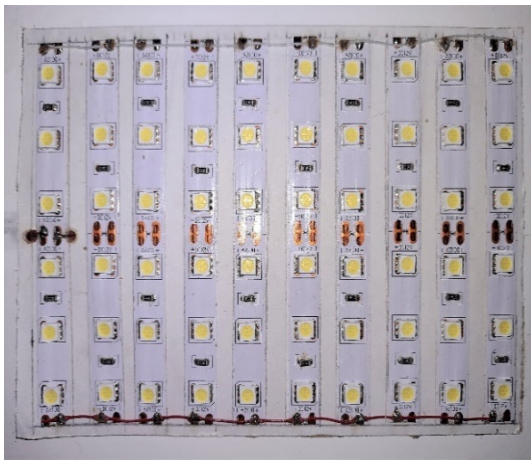
En el caso de los paneles Led de 3 y 6 W, se fabricaron tapas de cartón que se podían montar y desmontar con relativa facilidad, algunas tenían tuercas para poder fijar la tapa a la caja. Más adelante, las tapas de cartón fueron modificadas para calzar en las cajas de madera y así poder realizar las pruebas. También, estos paneles tenían incorporado su propio transformador de corriente eléctrica. Al igual que las fuentes basadas en tiras Led, fueron conectadas a una UPS, para controlar variaciones en el potencial eléctrico. En las Figuras 30 y 31 se puede apreciar la configuración básica de las fuentes mencionadas.



36 luces Led



48 luces Led, con conectores



60 luces Led



Luces Led extraídas de televisores

Figura 30. Configuración básica de cuatro fuentes de luz utilizadas en el dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51. Fuentes representadas: 36, 48 y 60 luces Led y luces Led extraídas de televisores viejos.



Panel Led de 3 W



Panel Led de 6 W



Módulos Led

Figura 31. Configuración básica de cuatro fuentes de luz utilizadas en el dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51. Fuentes representadas: paneles Led de 3 y 6 W y módulos Led interconectados.

En esta parte se evaluó cuatro fuentes de luz: 36 y 60 luces Led y los paneles adaptados de 3 y 6 W. Todas estas fuentes emitían una luz blanca fría. Se valoró su desempeño mediante la medición de una curva de calibración de 5 patrones más blanco, cuyo rango de concentración fue: $(197 \pm 6) - (986 \pm 6) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. En cuanto

a las condiciones solo se cambió el tamaño de la muestra de pixeles, se seleccionó el segundo objetivo. En el Cuadro 5 se resume los resultados más relevantes obtenidos al evaluar cada una de las fuentes indicadas.

Cuadro 5. Variación en la pendiente y el coeficiente de determinación al cambiar la fuente de luz acoplada al prototipo 3.2.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación. Rango de concentración de colorante = (197 ± 6) - (986 ± 6) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Fuente	Pendiente ($\text{L}\cdot\text{mg}^{-1}$)	R^2
36 luces Led	0.000266 ± 0.000006	0.9996
60 luces Led	0.000260 ± 0.000006	0.9996
3 W	0.000242 ± 0.000009	0.9989
6 W	0.00025 ± 0.00001	0.9988

Como se puede apreciar en el cuadro anterior, se consiguió los mejores resultados, en cuanto a pendiente y coeficiente de determinación, con las fuentes construidas a partir de tiras led blancas. Debido a que estas presentan una mejor distribución de las unidades generadoras de luz, en cambio en los paneles de 3 y 6 W las luces se ubican en el centro de la fuente. Se decidió continuar los experimentos con la fuente de 60 luces Led, porque era más compacta y por su mejor distribución de las unidades Led.

4.1.5. Pruebas con el sistema Fe(II)-ortofenantrolina

Debido a la similitud visual, en cuanto a coloración, entre las disoluciones de colorante naranja y el complejo formado por Fe (II) y ortofenantrolina, se decidió comenzar los ensayos de desempeño con este colorante. De esta forma se redujo el consumo de reactivos durante las etapas iniciales de diseño y verificación. Además de simplificar la preparación de la curva de calibración. En la Figura 32, se

compara una disolución de colorante y de complejo colorimétrico con coordenadas de color similares.

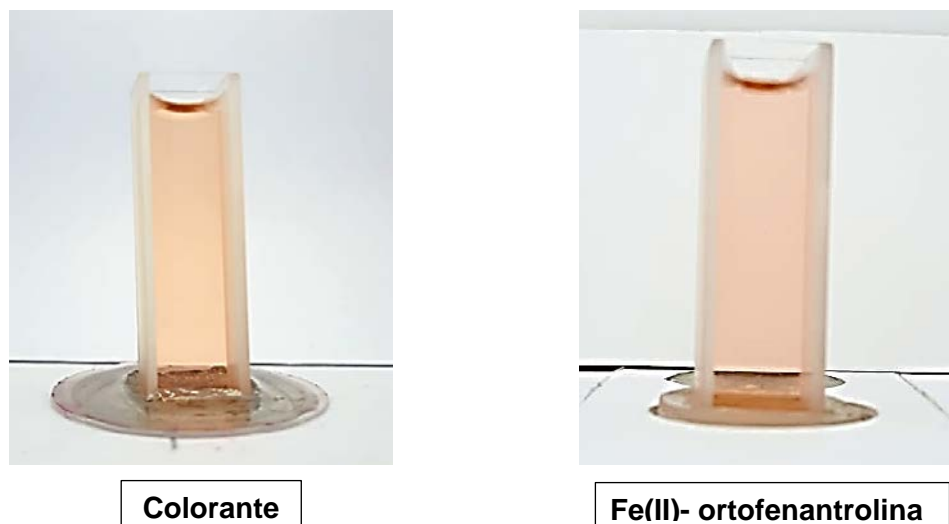


Figura 32. Comparación entre dos patrones de colorante naranja y Fe (II)-ortofenantrolina; valores similares de B (extraídos con Color Grab). Concentración colorante = $(1109 \pm 7) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y Concentración $\text{Fe} = (1.712 \pm 0.008) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Es importante mencionar que antes de iniciar las pruebas con disoluciones de hierro se intentó medir patrones de colorante con concentraciones más altas, pero no se tuvo éxito, se debía aumentar el brillo hasta + 1.0 y desactivar la función blanco de referencia. Por lo que no se prosiguió con estos ensayos.

Para las primeras pruebas, se utilizó una curva de calibración de Fe (II), 6 patrones más blanco, rango de concentración = $((0.152 \pm 0.006) - 2.03 \pm 0.02) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Además, se aumentó el brillo a + 0.2, se usó el objetivo 2 y la fuente de luz empleada fue la de 60 luces Led, no fue alterado el resto de las condiciones. Se obtuvo las coordenadas de color en los sistemas RGB y CIE $L^* a^* b^*$, aplicando las mismas conversiones que en la etapa anterior. En el Cuadro 6 se incluye los resultados.

Cuadro 6. Valores experimentales de pendiente y coeficiente de determinación obtenidos al analizar una curva de calibración de hierro (II) con el prototipo 3.2.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación. Rango de concentración = $(0.152 \pm 0.006) - 2.03 \pm 0.02$) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; tres conversiones de señal.

Canal	Señal	Pendiente ($\text{L}\cdot\text{mg}^{-1}$)	R^2
R (RGB)	Normalizada	0	0.0000
G (RGB)	Normalizada	0.112 ± 0.003	0.9994
B (RGB)	Normalizada	0.176 ± 0.002	0.9998
R (RGB)	Logarítmica	0	0.0000
G (RGB)	Logarítmica	0.055 ± 0.002	0.9985
B (RGB)	Logarítmica	0.098 ± 0.006	0.9969
L^* ($L^* a^* b^*$)	Resta	7.9 ± 0.2	0.9995
a^* ($L^* a^* b^*$)	Resta	$- 8.3 \pm 0.6$	0.9955
b^* ($L^* a^* b^*$)	Resta	$- 12.3 \pm 0.3$	0.9994

En esta etapa sucedió lo mismo que con el colorante naranja. Los mejores resultados, en cuanto a linealidad y sensibilidad del método, fueron conseguidos con las coordenadas del canal B del espacio RGB. Además, se corroboró que la normalización es la mejor manera de tratar los datos. Se debe aclarar que, aunque, la magnitud de la pendiente obtenida con las coordenadas b^* , es mayor al resto y el valor experimental de R^2 es uno de los más altos, este comportamiento no se mantuvo en otras pruebas realizadas con la ortofenantrolina como agente cromogénico. Por lo tanto, en este punto quedó en firme la decisión de no emplear el espacio CIE $L^* a^* b^*$.

4.1.5.1. Efecto al variar la intensidad del brillo en la aplicación Color Grab

Midiendo la curva de calibración descrita en el punto 4.1.5, se estudió el efecto de aumentar la intensidad del brillo en la aplicación Color Grab. Los hallazgos experimentales están plasmados en la Figura 33.

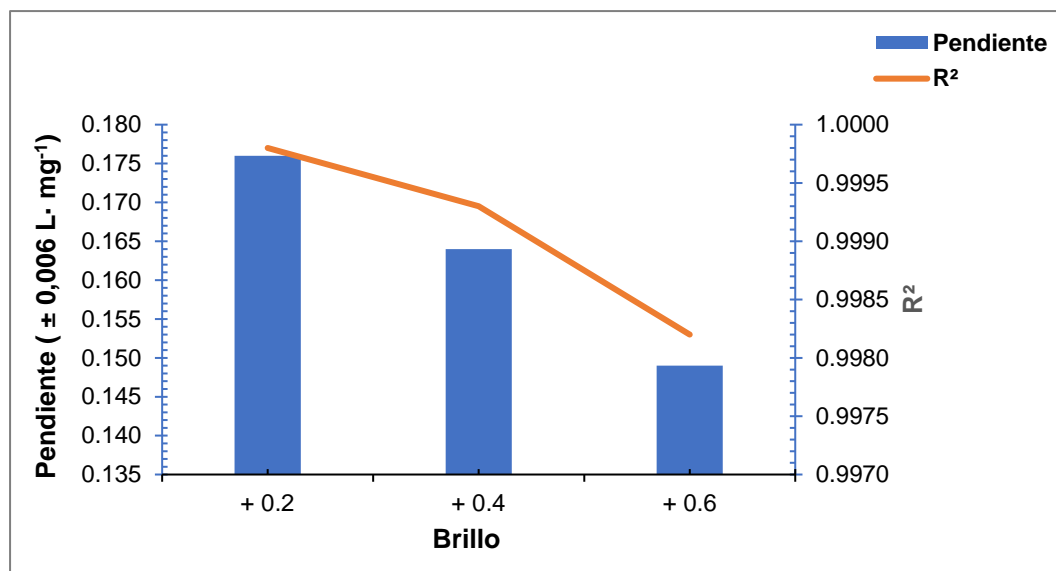


Figura 33. Variación en los valores de la pendiente y coeficiente de determinación, para el prototipo 3.2.1, al variar la intensidad del brillo en la aplicación Color Grab. Rango de concentración = $(0.152 \pm 0.006) - 2.03 \pm 0.02$) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Sistema Fe(II)-ortofenantrolina.

Se puede afirmar, con base en esta figura, que al aumentar la intensidad del brillo hay una disminución marcada tanto de la pendiente como del coeficiente de determinación. En consecuencia, es mejor usar las intensidades de brillo más bajas para no afectar estos parámetros de forma significativa. Por lo que se continuó usando un brillo de + 0.2.

Esta tendencia puede deberse a que existen diferentes vías para ajustar el brillo en una imagen digital. Dos de estas opciones son: la modificación de la apertura del lente de la cámara o por ganancia. En la primera se aumenta o disminuye la cantidad de luz que llega al sensor de la cámara, en la segunda se

realiza un ajuste del brillo para todos los pixeles en la imagen (Su et al., 2016). En el primer caso, si se incrementa mucho la cantidad de luz que llega al sensor este puede saturarse, lo que afecta de manera directa las coordenadas de color registradas. En el segundo escenario, podría darse, eventualmente, una degradación en la imagen obtenida (Su et al., 2016).

4.1.5.2. Valoración de las fuentes de luz

Se volvió verificar las fuentes de luz y se agregó una nueva, la cual fue ensamblada aprovechando luces Led extraídas de pantallas viejas. Se empleó la curva de calibración y las condiciones mencionadas en el punto anterior. La información experimental más relevante está incluida en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Valores experimentales de pendiente y coeficiente de determinación obtenidos al variar la fuente de luz acoplada al prototipo 3.2.1. Rango de concentración = ($(0.152 \pm 0.006) - 2.03 \pm 0.02$) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; sistema Fe (II) - ortofenantrolina.

Fuente	Pendiente ($\text{L}\cdot\text{mg}^{-1}$)	R^2
36 luces Led	0.178 ± 0.006	0.9990
60 luces Led	0.176 ± 0.002	0.9998
Panel 3 W	0.174 ± 0.005	0.9991
Panel 6 W	0.186 ± 0.003	0.9997
Creado	Luz azul, no se procedió	NA

En esta ocasión la fuente con 60 luces tuvo el mejor coeficiente de determinación, pero no la pendiente con mayor magnitud, para este experimento fue el panel de 6 W. Sin embargo, se decidió continuar trabajando con la fuente de 60 luces, debido a su tamaño y también a la estabilidad de las lecturas que se obtuvieron. Para el resto de las fuentes, en algún momento hubo inestabilidad

durante la medición, lo que dificultó el registro de los datos, solo con la fuente escogida no se presentó dicha situación. La fuente creada con luces Led de televisores brindó una luz azul intenso y por este motivo se descartó.

4.1.6. Diseño y verificación del prototipo final

4.1.6.1. Diseño del prototipo final

Basándose en los hallazgos encontrados con el prototipo 3.2.1, se construyó en madera MDF de 10 mm, la caja MDF 1.0. En esta caja, la base para colocar la cubeta fue incluida en una pieza extraíble (gaveta en el lado derecho), a la cual se le hizo un orificio donde encajaba la base moldeada en resina y creada a partir de la cubeta para espectrofotómetro. La tapa tenía incorporada la fuente de luz. Las dimensiones de la caja fueron: 28.0 cm de alto, 14.0 cm de ancho, 17.8 cm de fondo y un orificio de 3.5 cm x 5.0 cm para la cámara del celular. Se creó un complemento para evitar que ingresara luz por esta abertura (ver Anexo 8, para más claridad), esto sumado al soporte para el teléfono móvil. Fue pintada en su totalidad en blanco. También, se tapizó el interior con vinilo adhesivo blanco mate y el fondo detrás de la celda era del mismo material. En la Figura 34 se aprecia las características físicas del prototipo MDF 1.0.



Vista frontal



Vista lateral



Interior



Gaveta fuera

Figura 34. Prototipo MDF 1.0 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51.

Se probó esta caja de luz midiendo una curva de calibración de hierro (II), usando ortofenantrolina como agente cromogénico. Desafortunadamente, casi

desde el inicio de estos ensayos, hubo problemas con el enfoque (parpadeo), más que todo con disoluciones concentradas de hierro. Así como errores a la hora de usar la funcionalidad Blanco de Referencia de Color Grab y una disminución considerable de los valores de R^2 y de la pendiente, en comparación con el rendimiento logrado con el diseño anterior.

Para remediar la situación descrita en el párrafo anterior, se ejecutó varias acciones como: aumentar el brillo a + 0.5, incrementar en 2 cm la distancia entre la fuente y la celda, cambiar el fondo interno de la caja, usar la fuente de 36 luces Led, intercambiar el adaptador por uno con voltaje regulado, entre otras. Incluso se llegó a pensar que la causa se relacionaba con la preparación de la curva de calibración y se usó un espectrofotómetro para medirla. Pero se concluyó que ese no era el motivo de las fallas.

Al final, se estableció una posible causa del problema. En fotografía, el enfoque es el proceso por el cual se hacen ajustes en la lente de la cámara para encontrar la máxima resolución, nitidez y contraste en una escena u objeto. Aunado a esto, existe una distancia mínima de enfoque, por lo que si se intenta captar la imagen de un objeto que se encuentre a una distancia menor a esta, puede ocurrir errores a la hora de enfocar, como el parpadeo que se estuvo observando (Su et al., 2016).

Con esta información, se diseñó la versión MDF 2.0. A este prototipo se le incluyó una puerta, hecha de MDF de 10 mm, al lado derecho para introducir la cubeta. Además, se fabricó una pieza que permitía variar la distancia entre la cámara del celular y la celda. Las dimensiones finales fueron: 29.3 cm de alto, 14.0 cm de ancho, 17.7 cm de fondo y un orificio de 3.5 cm x 5.0 cm para la cámara del celular. Fue barnizada en su totalidad y recubierta en su interior con vinilo adhesivo blanco mate. Adicionalmente, el fondo ubicado detrás de la celda de medición se colocó de forma inclinada. Se siguió usando el accesorio que no permitía el ingreso de luz a través de la abertura para la cámara del celular.

Se puso a prueba el prototipo, utilizando una disolución muy concentrada de colorante naranja, para comprobar si había parpadeo durante la lectura de color.

Se probó a 4 distancias cámara-celda: 6.4 cm, 9.0 cm, 11.6 cm y 14.2 cm, en todas hubo problemas de enfoque. También, se varió la inclinación del fondo ubicado detrás de la celda, sin resultados adecuados.

Finalmente, se notó que al cerrar la puerta se desencadenaba el parpadeo. En respuesta a esto, se cambió la puerta de MDF por una que consistía en una base de madera y una lámina difusora pegada al lado externo de dicha estructura, encima de esta se colocó una cartulina blanca para disminuir la cantidad de luz que ingresaba del exterior (versión 2.1, ver Figuras 35 y 36). Con esto se aumentó la distancia entre la cámara del celular y la pared interna derecha. Además, se creó una nueva base para la celda, cuya primera posición daba una distancia cámara – celda de 10.6 cm. Se verificó el adecuado funcionamiento con una disolución concentrada de colorante y brillo bajo y no hubo problemas de parpadeo.

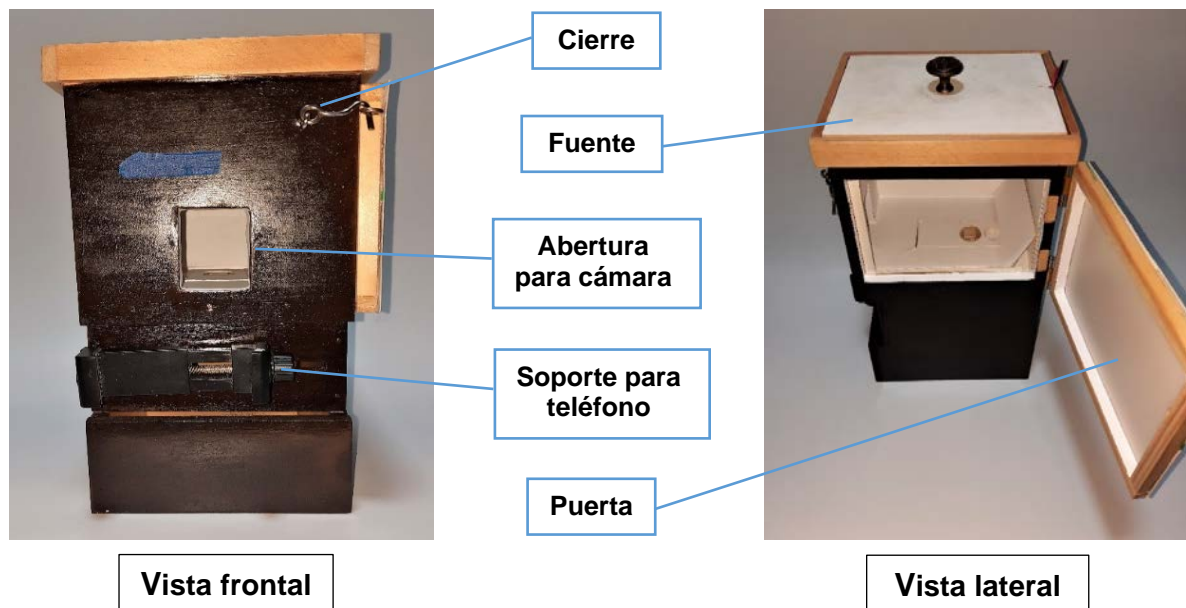


Figura 35. Prototipo MDF 2.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51. Vista frontal y lateral.

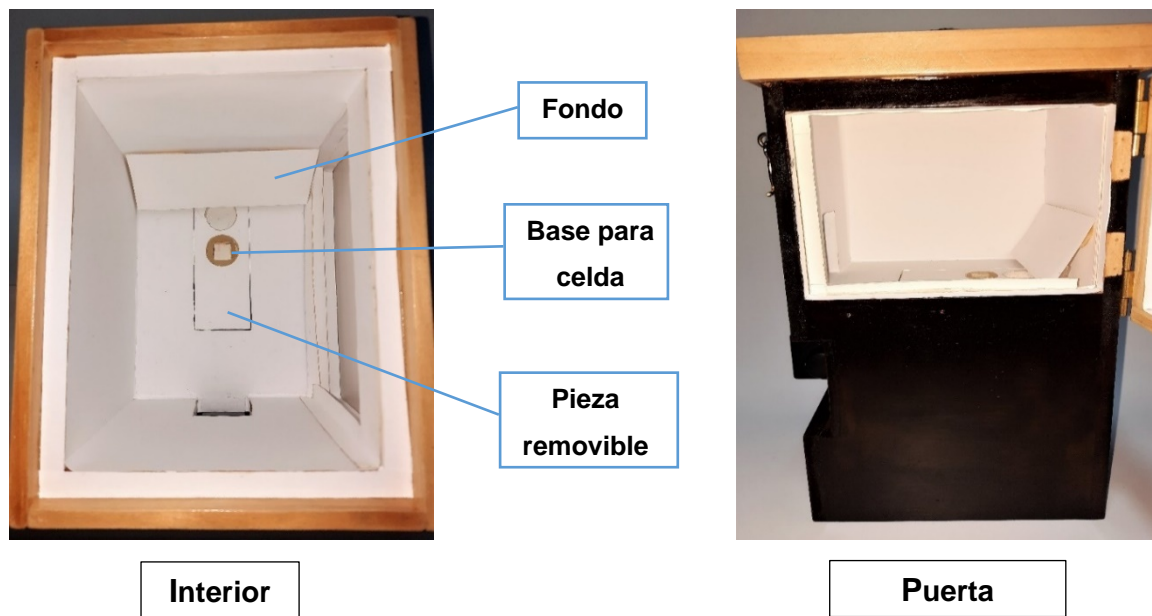


Figura 36. Prototipo MDF 2.1 del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación durante la obtención de coordenadas de color con el teléfono Samsung A51. Vista interior y del lado de la puerta.

En resumen, las principales características físicas del prototipo final son: puerta del lado derecho para introducir la celda, pieza removible para variar la distancia celda- celular, interior tapizado con vinilo adhesivo blanco mate, fondo detrás de la celda inclinado, accesorio para el celular que bloquea la luz que ingrese por la abertura para la cámara y un soporte para el teléfono móvil. Las dimensiones finales fueron: 29.3 cm de alto, 14.0 cm de ancho, 17.7 cm de fondo y una abertura de 3.5 cm x 5.0 cm para la cámara del celular.

4.1.6.2. Verificación de funcionamiento del prototipo final

Para verificar el funcionamiento del prototipo final se preparó una curva de calibración de hierro (II) de 7 puntos más blanco, rango de concentración = $(0.403 \pm 0.003) - (1.611 \pm 0.008) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Las condiciones de trabajo fueron: objetivo más pequeño, fuente de 60 luces, celda rotada, distancia cámara-celda de 10.6 cm y brillo + 0.2. Así como el uso de: un adaptador de voltaje regulado, enfoque con celda marcada, aire acondicionado ($T = 23 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$) y UPS.

Se midió la curva de calibración, tres lecturas de cada patrón y del blanco. Asimismo, se corroboró que se mantuviera la tendencia, observada con anterioridad, al aplicar las tres formas de conversión y las coordenadas del espacio Cie L* a* b*. En términos generales, no hubo cambios con respecto al último dispositivo diseñado a base de cartón. Para los datos del canal B normalizados, se obtuvo una pendiente y coeficiente de determinación de: $(0.0178 \pm 0.003) \text{ L}\cdot\text{mg}^{-1}$ y 0.9997, en el orden dado. En la Figura 37 han sido graficados los datos de los tres canales del espacio RGB.

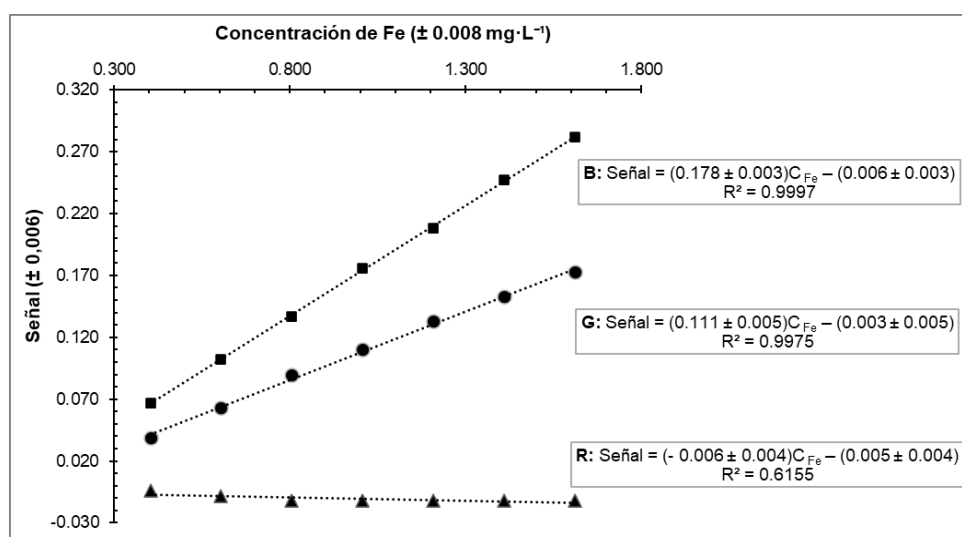


Figura 37. Curva de calibración obtenida para verificar el funcionamiento del prototipo final del dispositivo diseñado para controlar las condiciones de iluminación. Señales normalizadas; rango de concentración = $(0.403 \pm 0.003) - (1.611 \pm 0.008) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

4.2. Optimización de las condiciones de operación del dispositivo MDF 2.1

Con la versión MDF 2.1 establecida como diseño final del prototipo, se procedió a definir cuáles eran las condiciones óptimas de operación. Para cumplir este propósito se valoró el efecto de: fuentes de luz, rotación de la celda de medición, uso del blanco de referencia, tamaño de la muestra de pixeles (objetivo),

distancia cámara-celda e intensidad de brillo. Se trabajó con una curva de calibración de hierro (II) de 8 puntos más blanco, rango de concentración = $(0.242 \pm 0.003) - (2.01 \pm 0.01)$ mg·L⁻¹. Durante todo el proceso de optimización las condiciones de trabajo por defecto fueron: objetivo más pequeño, fuente de 60 luces, celda rotada, distancia cámara-celda de 10.6 cm, brillo + 0.2 y blanco de referencia. Así como el uso de: un adaptador de voltaje regulado, enfoque con celda marcada, aire acondicionado ($T = 23 \pm 3$ °C) y UPS.

4.2.1. Blanco de referencia

Para estudiar este parámetro se fijó las variables establecidas por defecto menos el blanco de referencia, esta fue probada y se continuó con la siguiente. Se midió la curva de calibración con y sin blanco de referencia. Se debe mencionar que esta herramienta de la aplicación Color Grab consta de una comparación contra un objeto “blanco”, en este caso el fondo, y una corrección de las coordenadas de color con base en este. Los creadores lo definen como “calibración en tiempo real”. En la Figura 38 se muestra esta funcionalidad en acción.

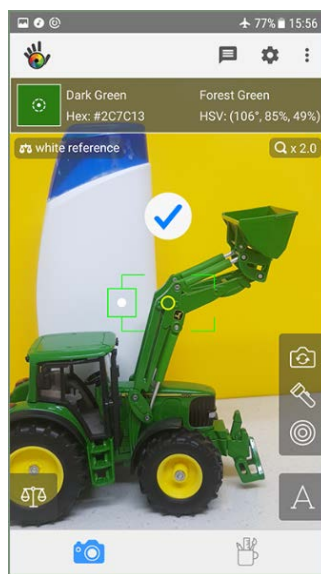


Figura 38. Ejemplo de la herramienta de blanco de referencia, de la aplicación Color Grab, en acción. Imagen tomada de: <https://play.google.com>.

Al aprovechar esta herramienta, la pendiente de la curva de calibración que se obtuvo fue $(0.179 \pm 0.002) \text{ L}\cdot\text{mg}^{-1}$ y $R^2 = 0.9998$. En cambio, sin aplicar esta funcionalidad estos parámetros disminuyeron hasta: $(0.140 \pm 0.002) \text{ L}\cdot\text{mg}^{-1}$ y 0.9995, respectivamente. Es pertinente aclarar que desde el inicio se trabajó con el blanco de referencia, pero con esta prueba se evidenció el beneficio de utilizarlo. Se siguió empleando esta funcionalidad.

4.2.2. Rotación de la celda de medición

La segunda variable evaluada fue la rotación de la celda. Desde un principio, de forma cualitativa se definió que se rotaría la celda ligeramente. Esto para eliminar una sombra que se formaba en la superficie de la cubeta, producto del reflejo del teléfono celular y que afectaba negativamente la medición de las coordenadas de color (ver Figura 39).



Figura 39. Comparación entre las imágenes de la celda de medición rotada y no rotada, prototipo MDF 2.1, la celda contiene agua destilada.

Para la celda no rotada la pendiente pasó de (0.179 ± 0.002) L·mg⁻¹ a (0.182 ± 0.004) L·mg⁻¹. El coeficiente de determinación se redujo levemente hasta 0.9993, siendo 0.9998 la base de comparación. Si bien la diferencia entre rotar y no rotar la celda es leve, se decidió seguir rotando la misma. En la Figura 39 se puede apreciar una disminución en los valores de las coordenadas de color al no rotar la celda de medición, rotándola el efecto se corrige.

4.2.3. Fuentes de luz

La siguiente variable bajo la lupa fue la fuente de luz. Se estudió 6 diferentes: con 36, 60 y 48 luces led, paneles de 3 y 6 W y 10 módulos Led interconectados. En el Cuadro 8 se presenta los resultados más relevantes. En el caso de la fuente hecha con módulos Led, esta emitía una luz azul, por lo que fue descartada.

Cuadro 8. Valores experimentales de pendiente y coeficiente de determinación obtenidos al variar la fuente de luz acoplada al dispositivo MDF 2.1.

Fuente	Pendiente (L· mg ⁻¹)	R ²
36 luces Led	0.182 ± 0.003	0.9996
60 luces Led	0.177 ± 0.003	0.9995
48 luces Led	0.175 ± 0.005	0.9990
Panel 3 W	0.175 ± 0.003	0.9996
Panel 6 W	0.194 ± 0.003	0.9997

Se aprecia que, en esta ocasión, la fuente de 60 luces Led no brindó el mejor desempeño. Sino que fue el panel de 6 W, seguido de la fuente de 36 luces y de últimos el panel de 3 W y la fuente de 48 luces. No obstante, se eligió la fuente de 60 luces, porque fue la única que no presentó inestabilidad durante la lectura de las coordenadas de color, el resto sí en mayor o menor grado.

4.2.4. Variación de la distancia celda - cámara

Para evaluar este parámetro se midió la curva de calibración, colocando la celda en la posición 1 (10.6 cm) y 2 (11.6 cm). Para la primera distancia se obtuvo una pendiente de $(0.180 \pm 0.003) \text{ L} \cdot \text{mg}^{-1}$ y un coeficiente de determinación de 0.9997; en cambio, para la segunda los valores fueron: $(0.181 \pm 0.004) \text{ L} \cdot \text{mg}^{-1}$ y 0.9993, respectivamente. Al brindar una mejor linealidad (levemente) se escogió la primera posición.

4.2.5. Variación del tamaño de la muestra de pixeles(objetivo)

En la aplicación Color Grab es posible seleccionar entre cuatro tamaños de muestra de pixeles (objetivos), a los que se les extrae las coordenadas de color. Se determinó que la variación en el valor de la pendiente de la curva de calibración debido al cambio en el tamaño de la muestra de pixeles (objetivo) fue de 0.48%. Experimentalmente, se notó que las lecturas al cambiar el objetivo variaban en un dígito o no había efecto alguno. Entonces, se escogió un objetivo de tamaño intermedio, para tener una mayor cantidad de pixeles en la muestra. Además, se buscó que, visualmente, se mantuviera una proporcionalidad adecuada con respecto a la celda de medición .

4.2.6. Modificación de la intensidad del brillo en la aplicación Color Grab

Como último punto de la optimización de condiciones, se determinó el impacto de modificar la intensidad del brillo en los datos obtenidos. Fueron considerados siete niveles de brillo, desde + 0.0 hasta + 0.6 con incrementos de 0.1. En la Figura 40 se indica la variación en los valores de la pendiente y el coeficiente de determinación al aumentar la intensidad del brillo.

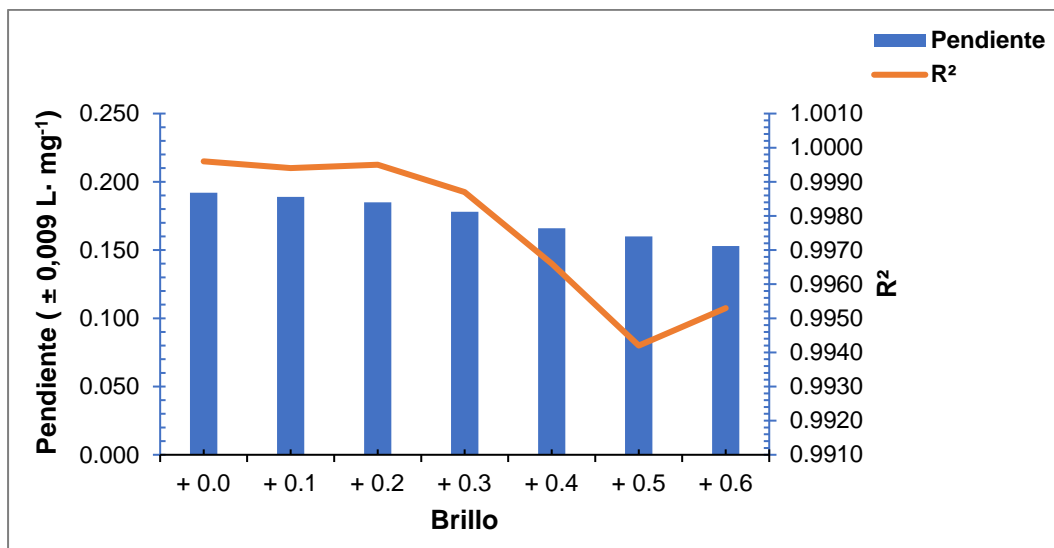


Figura 40. Variación en los valores de la pendiente y coeficiente de determinación al cambiar la intensidad de brillo; Prototipo MDF 2.1.

Los hallazgos fueron similares a los encontrados con el prototipo 3.2.1. Al aumentar el brillo por encima de + 0.3, la sensibilidad y linealidad del método se reducen drásticamente. Por esta razón se optó por usar + 0.1 de brillo.

4.2.7. Condiciones finales de operación

Haciendo un recuento, las condiciones finales elegidas fueron: uso de blanco de referencia, celda rotada, fuente de 60 luces led, distancia cámara-celda de 10.6 cm, segundo objetivo y brillo + 0.1.

4.3. Validación del método propuesto

A lo largo de la validación de este método, las condiciones de operación fueron: segundo objetivo, fuente de 60 luces, celda rotada, distancia cámara-celda de 10.6 cm, brillo + 0.1 y blanco de referencia. Así como el uso de: un adaptador de voltaje regulado, enfoque con celda marcada, aire acondicionado ($T = 23 \pm 3 \text{ } ^\circ\text{C}$) y UPS.

4.3.1. Rango lineal y de trabajo

Este paso se completó midiendo una curva de calibración de hierro (II) de 14 puntos más blanco, rango de concentración = $(0.612 \pm 0.007) - (10.20 \pm 0.03)$ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. La gráfica resultante se presenta en la Figura 41.

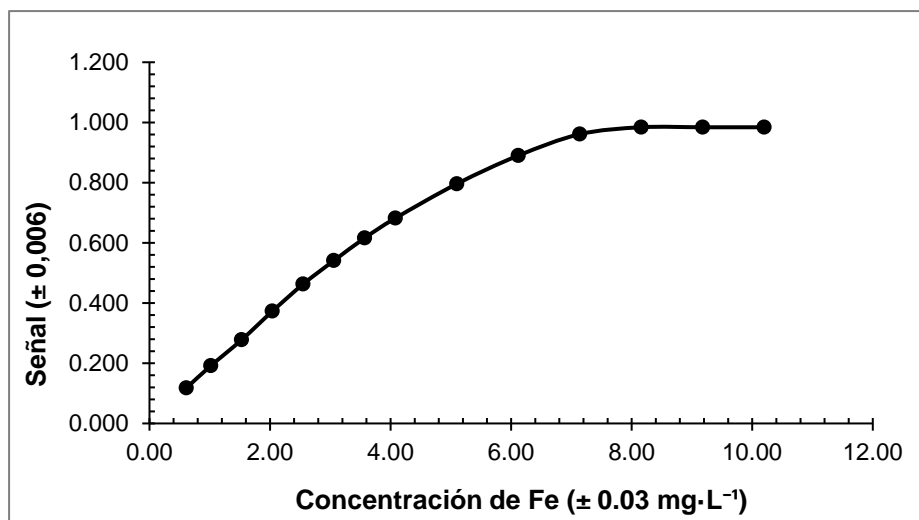


Figura 41. Curva de calibración obtenida para definir el rango lineal y de trabajo de la determinación de hierro (II) en agua potable mediante el uso del teléfono Samsung A51. Rango de concentración = $(0.612 \pm 0.007) - (10.20 \pm 0.03)$ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Se aprecia que después de los $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, la señal tiende a 1. En este punto la coordenada del canal B es cero, indicando ausencia de ese componente. Además, considerando solo los patrones 1 al 8 ($4.08 \pm 0.02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), el coeficiente de determinación asociado es 0.9971. Mas allá de este punto la linealidad disminuye considerablemente. Por ende, el rango lineal seleccionado fue: $(0.612 \pm 0.007) - (4.08 \pm 0.02)$ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Para el rango de trabajo el límite superior escogido fue $(2.55 \pm 0.02) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. En la figura 42 se muestra la curva de calibración obtenida al utilizar este rango.

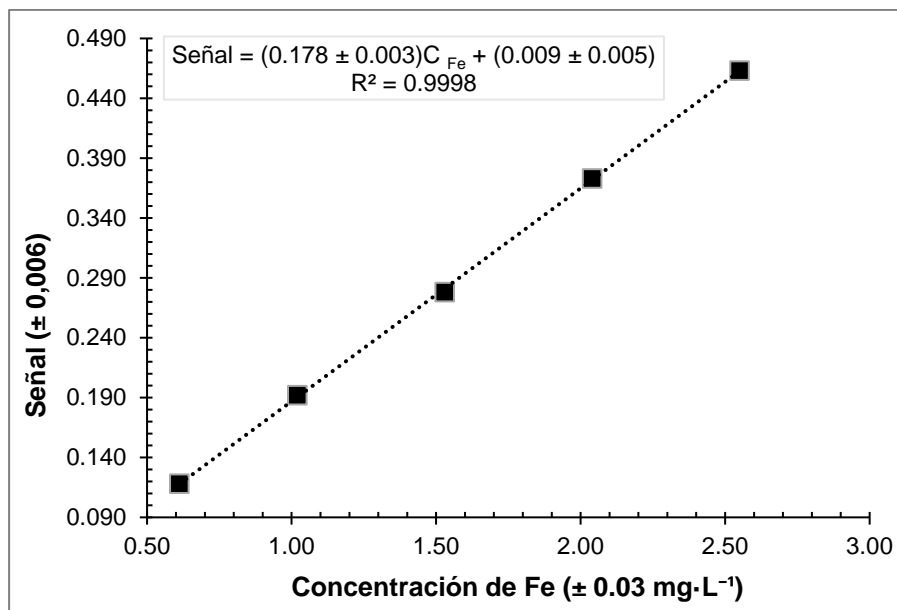


Figura 42. Curva de calibración obtenida durante la determinación de hierro (II) en agua potable mediante el uso del teléfono Samsung A51, rango de trabajo= (0.612 ± 0.007) – (2.55 ± 0.02) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Se debe mencionar que, para las demás partes de la validación, se decidió que la concentración del primer patrón fuera menor a lo establecido. Esto con el objetivo de trabajar a niveles más bajos de hierro (II), y así poder cuantificar el analito en las muestras de agua potable. Por lo que se preparó una curva de calibración con un rango de concentración = (0.245 ± 0.003) – (2.53 ± 0.01) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y 10 patrones más blanco.

4.3.2. Sensibilidad del método, límites de detección y cuantificación y precisión

Adicional al rango lineal y de trabajo, para la validación de la metodología se tomó en cuenta otros parámetros como: sensibilidad del método, límites de detección y de cuantificación, precisión intradía e interdía, sesgo, recuperación y estudio de interferentes. En el Cuadro 9 se resume parte de los resultados.

Cuadro 9. Resultados parciales del proceso de validación de la determinación de hierro (II) en agua potable mediante el uso del teléfono Samsung A51.

Parámetro	Resultado
Patrones	10
Rango lineal	$(0.612 \pm 0.007) - (4.08 \pm 0.02) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Rango de trabajo	$(0.612 \pm 0.007) - (2.55 \pm 0.02) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Sensibilidad del método	$(0.183 \pm 0.001) \text{ L}\cdot\text{mg}^{-1}$
R² promedio	0.9998
Límite de detección Miller y Miller	$(0.04 \pm 0.02) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Límite de detección Eurachem	$(0.04 \pm 0.02) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Límite de cuantificación Miller y Miller	$(0.012 \pm 0.02) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Límite de cuantificación Eurachem	$(0.013 \pm 0.02) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Precisión intradía	$0.055 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} (1.1 \%)$
Precisión interdía	$0.58 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} (1.2 \%)$

4.3.2.1. Sensibilidad del método

La sensibilidad del método reportada es un promedio de todas las pendientes obtenidas a lo largo de la validación. La variación interdía de este parámetro fue 0.67 %, lo cual se considera aceptable. Lo recomendable es construir una gráfica de control durante varios días, para definir el valor promedio y desviación estándar.

Después, se evalúa la variabilidad a lo largo del tiempo con respecto al valor promedio (Holler et al., 2015).

4.3.2.2. Límites de detección y cuantificación

Los límites de detección y de cuantificación fueron calculados según lo establecido por Eurachem y también por Miller y Miller. Es notable que por ambas vías se llegó a resultados muy similares, no obstante, la metodología de Miller y Miller es más simple. También, se debe señalar que para los límites de detección y de cuantificación los valores de coordenadas de color correspondientes fueron: 247 y 243 (señal transformada = 0.014 y 0.029), respectivamente. Se menciona esto, ya que es más sencillo usar estos datos para definir de forma rápida si es posible cuantificar el contenido de hierro en una muestra o no.

4.3.2.3. Precisión intradía y interdía

Las precisiones intradía e interdía fueron producto de analizar, de la Incógnita B, siete réplicas en un día y veinte a lo largo de siete días, respectivamente. La magnitud de ambos parámetros es muy similar y es menor a lo establecido, que puede variar entre 7 y 11 % e inclusive algunos autores establecen un máximo de 2%, pero aceptable hasta 5 % (Rao, 2018).

4.3.3. Veracidad

4.3.3.1. Sesgo

Otra parte crucial de una validación es definir el sesgo del método. En el Cuadro 10 se encuentran los valores de sesgo al analizar tres muestras artificiales (A, B y C) por triplicado mediante espectrofotometría ($\lambda_{\text{máxima}} = (510.0 \pm 0.1) \text{ nm}$) y por la metodología propuesta.

Cuadro 10. Sesgo obtenido durante la validación de la determinación de hierro (II) en agua potable mediante el uso del teléfono Samsung A51.

Muestra	C _{Fe} UV- visible (mg·L ⁻¹)	C _{Fe} método propuesto (mg·L ⁻¹)	Sesgo (%)	Valor t calculado
A	5.19 ± 0.03	5.2 ± 0.1	0.19	0.30
B	4.93 ± 0.04	4.94 ± 0.09	0.61	1.53
C	4.20 ± 0.05	4.25 ± 0.06	1.19	2.89

Hay que recordar que el sesgo se relaciona con los errores sistemáticos presentes en el método y algunos autores solo recomiendan que sea lo más pequeño posible (Miller & Miller, 2002). Por este motivo, se comparó estadísticamente los promedios experimentales de cada metodología. Esto a través de una prueba t de student de dos colas y a un nivel de confianza del 95 %. Si se considera que:

- **H₀:** No existen diferencias significativas entre las medias obtenidas por ambos métodos.
- **H₁:** Sí existen diferencias significativas entre las medias obtenidas por ambos métodos.

Como el valor crítico para las tres muestras (4.30 para 2 grados de libertad) es mayor a todos los valores de t_{calculado}, en los tres casos se retiene la hipótesis nula. Por tanto, a un nivel de confianza del 95 %, no existen diferencias significativas entre las medias obtenidas por ambos métodos.

4.3.3.2. Recuperación

Otra forma de examinar la veracidad de la metodología es determinando la recuperación en muestras que han sido enriquecidas con cantidades definidas del analito. A continuación, se presenta los resultados del estudio de recuperación a

tres niveles, para 2 muestras diferentes (A y C) y por triplicado. Los cálculos fueron realizados en términos de concentración añadida y recuperada. En este caso, a 0.80 mg·L⁻¹ se agregaron: 0.40, 0.80 y 0.96 mg·L⁻¹, para los tres niveles evaluados, respectivamente.

Cuadro 11. Porcentaje de recuperación obtenido durante la validación de la determinación de hierro (II) en agua potable mediante el uso del teléfono Samsung A51.

Muestra	Recuperación		
	50 %	100 %	120 %
A	99.8	100.2	100.8
C	97.8	98.3	100.9

Si se considera que, para los niveles de concentración de analito que se espera hallar, la recuperación debe encontrarse entre 80-110 %, se puede afirmar que el método propuesto cumple con esta especificación (Rao, 2018).

4.3.4. Estudio de interferencias

Para el estudio de interferencias, se valoró el efecto de los iones: CO₃²⁻, SO₄²⁻, Cl⁻, Zn²⁺ y Mg²⁺, en la señal analítica. Al evaluar el efecto de una concentración de interferentes 10 veces mayor al analito, solamente con el Zn²⁺ y el cóctel con todos los iones estudiados se dio una variación del 2.3 %, para los dos niveles evaluados. Para el resto de interferentes no hubo cambios en la señal. Para 50 veces la concentración del analito se decidió trabajar con un cóctel de interferentes en los dos niveles. Se registró un aumento en los valores de la señal transformada de 1.7 % y 1.1 %, para los niveles 1 y 2, respectivamente. En ambos casos, la variación presentada fue de 1 dígito en la magnitud de las coordenadas del canal B y este efecto es más probable que se debiera a la variación propia de la metodología.

4.3.5. Análisis de muestras de agua potable

Para las muestras tomadas en la clínica Dr. Solón Núñez Frutos y el agua potable del grifo muestreada en el Laboratorio 0209 de la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica, con el método estándar las lecturas de absorbancia estuvieron por debajo del límite de cuantificación (0.070 unidades de absorbancia) y por encima del de detección (0.020 unidades de absorbancia). Por lo tanto, el analito pudo ser detectado, pero no cuantificado.

Con la metodología propuesta sólo se logró detectar hierro en la muestra del Laboratorio 0209. Para las que fueron tomadas en la Clínica se obtuvo señales transformadas inferiores al límite de detección (0.008). A pesar de que no fue posible cuantificar los niveles de hierro con el método propuesto, posiblemente, la concentración es menor a lo establecido nacional e internacionalmente ($0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (Chaturvedi & Dave, 2012).

4.3.6. Resumen del proceso de validación

En síntesis, se completó de manera exitosa la validación del método. Por lo tanto, es posible cuantificar hierro en muestras de agua, pero con concentraciones lo suficientemente altas, para que al diluir las muestras la lectura obtenida sea mayor o igual al límite de cuantificación.

4.3.7. Comparación entre el método estándar y el propuesto

Es importante, discutir las ventajas y desventajas que presenta este método como respecto a la determinación espectrofotométrica. Como primer punto, el costo de fabricar la caja de luz es aproximadamente 65 000 colones y el precio de un teléfono celular Samsung A51 nuevo ronda los 170 000 colones. Por lo tanto, la inversión inicial estimada es de 235 000 colones. No obstante, si se aprovechara un servicio de corte láser, podría reducirse los costos de mano de obra, ya que el ensamblaje del dispositivo sería más rápido. Si se compara contra un espectrofotómetro (precio entre 3.8 y 4.6 millones de colones), el costo no es tan

elevado. Otra ventaja es que, haciendo unas modificaciones en el diseño, sería posible medir en campo. Además, su manejo es relativamente sencillo.

Entre las desventajas, se encuentra el hecho que sólo se puede trabajar con analitos que al reaccionar con un compuesto generen color o que la molécula sea coloreada. También, el rango de trabajo es menor al que se puede lograr con el método estándar ($0 - 9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (Agustina et al., 2015b). Otro punto en contra es que no fue posible cuantificar y en algunos casos detectar el hierro en muestras de agua potable. Se podría optar por añadir un paso extra como preconcentrar la muestra, pero eso agregaría mayor complejidad a un análisis que podría hacerse con otra metodología. Adicionalmente, los métodos basados en colorimetría de imágenes digitales deben ser ajustados al dispositivo elegido. En cambio, muchas determinaciones espectrofotométricas ya están ampliamente documentadas y estandarizadas, por lo que sería cuestión de verificar el método.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

A partir de los hallazgos experimentales generados durante la ejecución de este trabajo de investigación, se concluye que:

- Se construyó de forma exitosa un dispositivo para controlar las condiciones de iluminación durante la medición de coordenadas de color de disoluciones de hierro (II), con el uso de ortofenantrolina como agente cromogénico.
- Se logró obtener coordenadas de color con la aplicación, para Android OS, Color Grab, acoplado el teléfono Samsung A51 a la caja de luz creada para este propósito.
- Se comparó los resultados obtenidos al extraer las coordenadas de color del canal B (espacio RGB) directamente y con un procesamiento posterior de las imágenes. La extracción en vivo brinda un mejor rendimiento, en términos de sensibilidad del método y linealidad.
- La normalización de las coordenadas de color da un mejor rendimiento, en términos de sensibilidad del método y linealidad.
- Se optimizó las condiciones de operación del dispositivo final para controlar las condiciones de iluminación acoplado al teléfono Samsung A51.
- Fue posible extraer coordenadas de color de disoluciones patrón de hierro y de muestras de agua potable, después de haber generado color. No obstante, con la metodología propuesta no se pudo cuantificar este analito, solo se detectó en una de las muestras analizadas.
- Se validó la metodología propuesta con éxito, según lo especificado por Eurachem. Es posible cuantificar hierro en agua potable, pero con concentraciones lo suficientemente altas, para que al diluir las muestras la lectura obtenida sea mayor o igual al límite de cuantificación.

- Al comparar la metodología propuesta y el método estándar, no hubo diferencias significativas entre las medias obtenidas por ambos métodos, a un nivel de confianza del 95 %.

También, se recomienda lo siguiente:

- Se sugiere a futuros investigadores: aumentar el ancho de la caja, ajustar la distribución de las luces Led en la fuente, crear un accesorio para el celular para bloquear la luz externa que pueda adaptarse a cualquier teléfono móvil, incorporar una fuente de energía externa (batería) para que la caja sea portátil, cambiar el material (MDF) por uno más resistente y a prueba de agua y abaratar costos.
- Con los cambios señalados se espera que esta caja de luz pueda ser implementada en el trabajo de campo. Por supuesto, se debe examinar como estos cambios afectan el desempeño del prototipo.

REFERENCIAS

- A y A. (2016). *Política Nacional de Agua Potable de Costa Rica, 2017-2030*. <https://www.aya.go.cr>
- Agustina, E., Goak, J., Lee, S., Seo, Y., Park, J.-Y., & Lee, N. (2015a). Simple and Precise Quantification of Iron Catalyst Content in Carbon Nanotubes Using UV/Visible Spectroscopy. *ChemistryOpen*, 4(5), 613–619. <https://doi.org/10.1002/open.201500096>
- Agustina, E., Goak, J., Lee, S., Seo, Y., Park, J.-Y., & Lee, N. (2015b). Simple and Precise Quantification of Iron Catalyst Content in Carbon Nanotubes Using UV/Visible Spectroscopy. *ChemistryOpen*, 4(5), 613–619. <https://doi.org/10.1002/open.201500096>
- Ait Errayess, S., Idrissi, L., & Amine, A. (2018). Smartphone-based colorimetric determination of sulfadiazine and sulfasalazine in pharmaceutical and veterinary formulations. *Instrumentation Science & Technology*, 46(6), 656–675. <https://doi.org/10.1080/10739149.2018.1443943>
- Anderson, K., Griffiths, D., DeBell, L., Hancock, S., Duffy, J. P., Shutler, J. D., Reinhardt, W. J., & Griffiths, A. (2016). A grassroots remote sensing toolkit using live coding, smartphones, kites and lightweight drones. *PLoS ONE*, 11(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151564>
- Apyari, V. v., Gorbunova, M. v., Isachenko, A. I., Dmitrienko, S. G., & Zolotov, Y. A. (2017). Use of household color-recording devices in quantitative chemical analysis. *Journal of Analytical Chemistry*, 72(11), 1127–1137. <https://doi.org/10.1134/S106193481711003X>
- Axis Communications. (2010). *CCD and CMOS sensor technology: Technical white paper*. Axis Communications.
- Busin, L., Vandenbroucke, N., & Macaire, L. (2009). Color Spaces and Image Segmentation. En *Advances in Imaging and Electron Physics* (Vol. 151, pp. 65–168). Academic Press Inc. [https://doi.org/10.1016/S1076-5670\(07\)00402-8](https://doi.org/10.1016/S1076-5670(07)00402-8)

- Camuffo, D. (2019). Photometric Aspects of Visible Light and Colours. En *Microclimate for Cultural Heritage* (pp. 273–299). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64106-9.00013-4>
- Chaturvedi, S., & Dave, P. N. (2012). Removal of iron for safe drinking water. En *Desalination* (Vol. 303, pp. 1–11). <https://doi.org/10.1016/j.desal.2012.07.003>
- Choudhury, A. K. R. (2014a). Principles of colour perception. En *Principles of Colour and Appearance Measurement* (pp. 144–184). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9780857099242.144>
- Choudhury, A. K. R. (2014b). Using instruments to quantify colour. En *Principles of Colour and Appearance Measurement* (pp. 270–317). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9780857099242.270>
- Christian, G. D. (2009). *Química Analítica* (6a ed.). Mc Graw Hill.
- Colter, A., & Mahler, R. L. (2006). Iron in Drinking Water. *University of Idaho*.
- Coutinho, M., Morais, C., Neves, A., Menezes, F., & Lima, K. (2017). Colorimetric Determination of Ascorbic Acid Based on Its Interfering Effect in the Enzymatic Analysis of Glucose: An Approach Using Smartphone Image Analysis. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170086>
- Das, P., Chetry, B., Paul, S., Bhattacharya, S. S., & Nath, P. (2022). Detection and quantification of phosphate in water and soil using a smartphone. *Microchemical Journal*, 172, 106949. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106949>
- de Jesus, J. R., Ferrão, M. F., da Costa, A. ben, Helfer, G. A., & Arruda, M. A. Z. (2021a). Applications of smartphones in analysis: Challenges and solutions. En *Smartphone-Based Detection Devices: Emerging Trends in Analytical Techniques* (pp. 199–248). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823696-3.00009-X>
- de Jesus, J. R., Ferrão, M. F., da Costa, A. ben, Helfer, G. A., & Arruda, M. A. Z. (2021b). Applications of smartphones in analysis: Challenges and solutions. En *Smartphone-Based Detection Devices: Emerging Trends in Analytical*

Techniques (pp. 199–248). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823696-3.00009-X>

- de Oliveira Krambeck Franco, M., Suarez, W. T., & Santos, V. B. dos. (2017). Digital Image Method Smartphone-Based for Furfural Determination in Sugarcane Spirits. *Food Analytical Methods*, 10(2), 508–515. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0605-4>

- Devadhasan, J. P., Oh, H., Choi, C. S., & Kim, S. (2015). Whole blood glucose analysis based on smartphone camera module. *Journal of Biomedical Optics*, 20(11), 117001. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.11.117001>

- el Kaoutit, H., Estévez, P., García, F. C., Serna, F., & García, J. M. (2013). Sub-ppm quantification of Hg (II) in aqueous media using both the naked eye and digital information from pictures of a colorimetric sensory polymer membrane taken with the digital camera of a conventional mobile phone. *Anal. Methods*, 5(1), 54–58. <https://doi.org/10.1039/C2AY26307F>

- Fan, Y., Li, J., Guo, Y., Xie, L., & Zhang, G. (2021). Digital image colorimetry on smartphone for chemical analysis: A review. *Measurement: Journal of the International Measurement Confederation*, 171. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2020.108829>

- Fernandes, G. M., Silva, W. R., Barreto, D. N., Lamarca, R. S., Lima Gomes, P. C. F., Flávio da S Petrucci, J., & Batista, A. D. (2020). Novel approaches for colorimetric measurements in analytical chemistry – A review. En *Analytica Chimica Acta* (Vol. 1135, pp. 187–203). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.07.030>

- García, R. (2018). Instrumentos que revolucionaron la química: La historia del espectrofotómetro. *Avances en Química*, 13(3), 79–82. www.saber.ula.ve/avancesenquimicaAvancesenQuímica,13

- Gilchrist, A., & Nobbs, J. (2016). Colorimetry, theory. En *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry* (pp. 328–333). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803224-4.00124-2>

- Gonzalez, R. C., Woods, R. E., & Prentice Hall, P. (2008). *Digital Image Processing* (3a ed.). Pearson Education.
- Grudpan, K., Kolev, S. D., Lapanantnopakhun, S., & Mckelvie, I. D. (2015). Talanta Applications of everyday IT and communications devices in modern analytical chemistry: A review. *Talanta*, 136, 84–94. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.12.042>
- Grzybowski, A., & Kupidura-Majewski, K. (2019). What is color and how it is perceived? *Clinics in Dermatology*, 37(5), 392–401. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2019.07.008>
- Gunasekaran, S. (1996). Computer vision technology for food quality assurance. *Trends in Food Science & Technology*, 7(8), 245–256. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(96\)10028-5](https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)10028-5)
- Guo, J., Wong, J. X. H., Cui, C., Li, X., & Yu, H.-Z. (2015). A smartphone-readable barcode assay for the detection and quantitation of pesticide residues. *The Analyst*, 140(16), 5518–5525. <https://doi.org/10.1039/C5AN00874C>
- Hernández, D. B., Marty, J. L., & Guerrero, R. M. (2017). Smartphone as a Portable Detector, Analytical Device, or Instrument Interface. En *Smartphones from an Applied Research Perspective*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.69678>
- Holler, J., Crouch, S. R., West, D., & Skoog, D. (2015). *Fundamentos de Química Analítica* (9a ed.). Cengage Learning.
- Hu, L., & Xu, G. (2010). Applications and trends in electrochemiluminescence. *Chemical Society Reviews*, 39(8), 3275–3304. <https://doi.org/10.1039/b923679c>
- João, A. F., Squissato, A. L., Fernandes, G. M., Cardoso, R. M., Batista, A. D., & Muñoz, R. A. A. (2019). Iron (III) determination in bioethanol fuel using a smartphone-based device. *Microchemical Journal*, 146(February), 1134–1139. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.02.053>
- Kafle, B. P. (2020). Application of UV–VIS spectrophotometry for chemical analysis. En *Chemical Analysis and Material Characterization by*

Spectrophotometry (pp. 79–145). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814866-2.00005-1>

- Khamkhajorn, C., Pencharee, S., Jakmunee, J., & Youngvises, N. (2022). Smartphone-based colorimetric method for determining sulfites in wine using a universal clamp sample holder and microfluidic cotton swab-based analytical device. *Microchemical Journal*, 174. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.107055>
- Khatri, N., Tyagi, S., & Rawtani, D. (2017). Recent strategies for the removal of iron from water: A review. En *Journal of Water Process Engineering* (Vol. 19, pp. 291–304). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.08.015>
- Kılıç, V., Horzum, N., & Ertugrul Solmaz, M. (2020a). From Sophisticated Analysis to Colorimetric Determination: Smartphone Spectrometers and Colorimetry. En *Color Detection*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.82227>
- Kılıç, V., Horzum, N., & Ertugrul Solmaz, M. (2020b). From Sophisticated Analysis to Colorimetric Determination: Smartphone Spectrometers and Colorimetry. En *Color Detection*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.82227>
- Lamarca, R. S., & Lima Gomes, P. C. F. de. (2020). A low-cost method for carbamazepine, ciprofloxacin and norfloxacin determination in pharmaceutical formulations based on spot-test and smartphone images. *Microchemical Journal*, 152, 104297. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104297>
- Lee, S., Kim, G., & Moon, J. (2013). Performance improvement of the one-dot lateral flow immunoassay for aflatoxin b1 by using a smartphone-based reading system. *Sensors (Switzerland)*, 13(4), 5109–5116. <https://doi.org/10.3390/s130405109>
- Li, S., Liu, J., Chen, Z., Lu, Y., Low, S. S., Zhu, L., Cheng, C., He, Y., Chen, Q., Su, B., & Liu, Q. (2019). Electrogenated chemiluminescence on smartphone with graphene quantum dots nanocomposites for Escherichia Coli detection. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 297. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126811>

- Liao, J., Chang, F., Han, X., Ge, C., & Lin, S. (2020). Wireless water quality monitoring and spatial mapping with disposable whole-copper electrochemical sensors and a smartphone. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 306. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127557>
- Lu, X., Ren, J., Wang, D., Deng, D., & Shi, W. (2019). Image reconstruction for color contact image sensor (CIS). *Signal, Image and Video Processing*, 13(1), 95–101. <https://doi.org/10.1007/s11760-018-1333-6>
- Ly, B. C. K., Dyer, E. B., Feig, J. L., Chien, A. L., & del Bino, S. (2020). Research Techniques Made Simple: Cutaneous Colorimetry: A Reliable Technique for Objective Skin Color Measurement. En *Journal of Investigative Dermatology* (Vol. 140, Número 1, pp. 3-12.e1). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.11.003>
- Mahato, K., & Chandra, P. (2019). Paper-based miniaturized immunosensor for naked eye ALP detection based on digital image colorimetry integrated with smartphone. *Biosensors and Bioelectronics*, 128, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.12.006>
- Masawat, P., Harfield, A., & Namwong, A. (2015). An iPhone-based digital image colorimeter for detecting tetracycline in milk. *Food Chemistry*, 184, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.089>
- Mathaweesansurn, A., Maneerat, N., & Choengchan, N. (2017). A mobile phone-based analyzer for quantitative determination of urinary albumin using self-calibration approach. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 242, 476–483. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.11.057>
- Metrohm. (2020). *Voltammetric determination of iron in water samples with a Bi drop electrode*.
- Meyer, V. R., Pfohl, J., & Winter, B. (2010). Calibration, handling repeatability, and the Maximum Permissible Error of single-volume glass instruments. *Accreditation and Quality Assurance*, 15(12), 705–708. <https://doi.org/10.1007/s00769-010-0693-6>

- Miller, J., & Miller, J. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica* (4a ed.). Person Educación.
- Navidi, W. (2014). *Statistics for Engineers and Scientists* (4a ed.). McGraw Hill.
- Nguyen, H., Sung, Y., O'Shaughnessy, K., Shan, X., & Shih, W. C. (2018). Smartphone Nanocolorimetry for On-Demand Lead Detection and Quantitation in Drinking Water. *Analytical Chemistry*, 90(19), 11517–11522. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b02808>
- Oleari, C. (2016). *Standard Colorimetry: Definitions, Algorithms and Software*.
- Peng, B., Zhou, J., Xu, J., Fan, M., Ma, Y., Zhou, M., Li, T., & Zhao, S. (2019). A smartphone-based colorimetry after dispersive liquid–liquid microextraction for rapid quantification of calcium in water and food samples. *Microchemical Journal*, 149. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104072>
- *Physics in the Arts*. (2022). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2020-0-02281-4>
- Poder Ejecutivo de Costa Rica. (2015, septiembre 1). *Decretos N°s. 39144-S, 38924-S, 39136-S-MINAE*.
- Pohanka, M., Zakova, J., & Sedlacek, I. (2018). Digital camera-based lipase biosensor for the determination of paraoxon. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 273, 610–615. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.06.084>
- Porto, I. S. A., Santos Neto, J. H., dos Santos, L. O., Gomes, A. A., & Ferreira, S. L. C. (2019). Determination of ascorbic acid in natural fruit juices using digital image colorimetry. *Microchemical Journal*, 149, 104031. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104031>
- P.P. Morillas et col. (2016). La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos: Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados. En *EURACHEM* (1a ed.). EuroLab España.

- Rao, T. N. (2018). Validation of Analytical Methods. En *Calibration and Validation of Analytical Methods - A Sampling of Current Approaches*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.72087>
- Rezazadeh, M., Seidi, S., Lid, M., Pedersen-Bjergaard, S., & Yamini, Y. (2019). The modern role of smartphones in analytical chemistry. En *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* (Vol. 118, pp. 548–555). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.06.019>
- Royal Society of Chemistry. (2022). *Iron*. <https://www.rsc.org/periodic-table/element/26/iron>
- Schlesner, S. K., Voss, M., Helfer, G. A., Costa, A. B., Cichoski, A. J., Wagner, R., & Barin, J. S. (2022). Smartphone-based miniaturized, green and rapid methods for the colorimetric determination of sugar in soft drinks. *Green Analytical Chemistry*, 1, 100003. <https://doi.org/10.1016/j.greeac.2022.100003>
- Sivakumar, R., & Lee, N. Y. (2021). Recent progress in smartphone-based techniques for food safety and the detection of heavy metal ions in environmental water. *Chemosphere*, 275. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130096>
- Skoog, D., Holler, J., & Crouch, S. R. (2008). *Principios de Análisis Instrumental* (6a ed.). Cengage Learning Editores.
- Sorouraddin, M., Saadati, M., & Mirabi, F. (2015). *ScienceDirect Simultaneous determination of some common food dyes in commercial products by digital image analysis*. 3(Lc), 5–10.
- Su, Y., Lin, J. Y., & Kuo, C.-C. J. (2016). A model-based approach to camera's auto exposure control. *Journal of Visual Communication and Image Representation*, 36, 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.jvcir.2016.01.011>
- Tiuftiakov, N. Y., Kalinichev, A. v., Pokhvishcheva, N. v., & Peshkova, M. A. (2021). Digital color analysis for colorimetric signal processing: Towards an analytically justified choice of acquisition technique and color space. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 344. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130274>

- Urazov, E. v., Gavrilenko, M. A., & Belikov, M. K. (2018). Colorimetric determination of metal ions using smartphone. *Key Engineering Materials*, 769 KEM, 235–241. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.769.235>
- Wang, Y., Zeinhom, M. M. A., Yang, M., Sun, R., Wang, S., Smith, J. N., Timchalk, C., Li, L., Lin, Y., & Du, D. (2017). A 3D-Printed, Portable, Optical-Sensing Platform for Smartphones Capable of Detecting the Herbicide 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid. *Analytical Chemistry*, 89(17), 9339–9346. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b02139>
- Ward, R. J., & Crichton, R. R. (2015). Iron: Properties and Determination. En *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 468–475). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00403-7>
- Woelk, F., Schiller, I., & Koch, R. (2005). An airborne Bayesian color tracking system. *IEEE Proceedings. Intelligent Vehicles Symposium, 2005.*, 67–72. <https://doi.org/10.1109/IVS.2005.1505079>
- Worsfold, P. J. (2005). SPECTROPHOTOMETRY | Overview. En *Encyclopedia of Analytical Science* (pp. 318–321). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-12-369397-7/00714-7>
- Wu, D., & Sun, D. W. (2013). Colour measurements by computer vision for food quality control - A review. En *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 29, Número 1, pp. 5–20). <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.08.004>
- Yam, K. L., & Papadakis, S. E. (2004). A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering*, 61(1 SPEC.), 137–142. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00195-X](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00195-X)
- Yu, H., Le, H. M., Kaale, E., Long, K. D., Layloff, T., Lumetta, S. S., & Cunningham, B. T. (2016). Characterization of drug authenticity using thin-layer chromatography imaging with a mobile phone. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 125, 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.03.018>
- Zajc, Baldomir., Tkalčič, Marko., Institute of Electrical and Electronics Engineers., & Institute of Electrical and Electronics Engineers. Region 8. (2003). *The IEEE Region 8 EUROCON 2003: computer as a tool: proceedings: 22-24*

September 2003, Faculty of Electrical Engineering, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia. IEEE.

- Zumbado-Ruiz, M. (2021). *Diseño de un prototipo de dispositivo de iluminación acoplable a una cámara fotográfica para el análisis de manchas de piel mediante procesamiento de imágenes digitales.* Instituto Tecnológico de Costa Rica.

ANEXOS

Anexo 1. Lista de materiales y equipos usados en la fabricación de los primeros prototipos.

- Cartón de presentación blanco y negro.
- Cutter, marca Stanley con cuchilla de 1 pulgada.
- Cartulina Opalina blanca, 225 G/M2 21.5 x 28.0 cm.
- Remachadora, marca Toolcraft
- Remache Pop 1/8 x 1/4, marca las Gravilias.
- Grapadora ToolCraft de acero T-21, para grapas de 4- 8 mm.
- Cinta doble cara VHB 4910, 19 mm x 5 mm.
- Pistola de silicón, marca Mae, modelo GGP-40 de 25 W.
- Escuadra para carpintero Truper, 30 cm.
- Escuadra para carpintero Truper, 40 cm x 60 cm.
- Tapete para corte, Barrilito 1972, 30 cm x 22 cm.
- Velcro blanco de 1 pulgada.
- Elástico negro y blanco de ½ y ¾ pulgada.
- Masking tape blanco, de 1 pulgada.
- Cinta aislante eléctrica de vinilo Super 33+, blanco y negro.
- Mototool Dremel 4000.
- Broca para madera de 1/8 pulgada.
- Compás, marca no indicada.
- Resina de mesa, Decore S.A.
- Pintura en aerosol Harris, negro mate.
- Impresora Epson L210.

Anexo 2. Lista de materiales y equipos usados en la fabricación de las fuentes de luz.

- Cartón de presentación blanco y negro.
- Madera MDF de 10 mm de grosor
- Velcro blanco de 1 pulgada.
- Cinta doble cara VHB 4910, 19 mm x 5 mm.
- Pistola de silicón, marca Mae, modelo GGP-40 de 25 W.
- Tira Led blanca 5050 de 12 V, 6000 k, marca no especificada en el empaque.
- Conector macho y hembra para tiras led.
- Adaptador de 12 V, 2 A, marca JCM, modelo 250-SA12V2A.
- Eliminador regulado 12 V, marca Steren, modelo: ELI-1250, 3 A.
- Módulos Led 3M IP-67, 12 V y 1.2 Watts, para interiores y exteriores, a prueba de agua.
- Prolongador de cable de 2 clavijas EvZ, 12 V.
- Luminario de Leds super brillante, Marca: Good Will AZ-Energy, modelo: 20365. 85-265 V, 60 Hz y 3W.
- Panel de luces Led Blanco Frío de 6500 K, marca: Wellmax, 480 lúmenes, 120-240 V, 50-60 Hz y 6 W.

Anexo 3. Lista de materiales, equipos y reactivos usados en la verificación de los prototipos.

- Balanza analítica Sartorius, modelo: ENTRIS224I-1S.
- Espectrofotómetro Genesys UV/Vis 10 s.
- Agitador magnético IKA con placa calefactora de cerámica, 50-500 °C.
- Soporte universal para teléfono celular, marca Phicant, con tornillo estándar de 1/4 pulgadas, rotación vertical y horizontal.
- Celda de vidrio UV para espectrofotómetro, marca AMTAST, camino óptico de 10 mm y 3.5 mL de capacidad.
- Cuchara de medida de 15 mL.

- Imán de 0.5 cm de diámetro.
- Colorante vegetal amarillo y rojo, marca desconocida.
- Acetato de sodio anhidro, marca Amresco, grado ACS.
- Clorhidrato de hidroxilamina, marca Sigma Aldrich, pureza 99 %.
- Sal de Mohr, marca Fermont, pureza de 100.3 %.
- 1,10- fenantrolina, marca Sigma Aldrich, pureza 99 %.
- Disolución de 1,10-fenantrolina de 0.1 y 0.3 %, elaboradas por la Proveduría de la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica.
- Agua destilada.
- Balones aforados de: 25.00, 50.00, 100.0, 200.0, 500.0 y 1000 mL.
- Pipetas graduadas de 10 y 5 mL.
- Pipetas aforadas de: 1.00, 2.00, 4.00, 5.00, 10.00, 20.00 y 25.00 mL.
- Beaker de 50, 100, 200 y 1 000 mL.
- Pipeta automática de 1-10 mL, marca, Eppendorf Research.
- Puntas de plástico descartables para pipeta automática de 1-10 mL.
- Piseta de 500 mL.
- Gotero de plástico.
- Botellas de plástico y vidrio de: 125, 200, 500 y 1 000 mL.
- Papel encerado para pesaje.
- Agitador de vidrio.

Anexo 4. Lista de materiales y equipos usados en la fabricación del prototipo final.

- Madera MDF de 5 y 10 mm.
- Barniz Tinte Comex, base de agua, acabado brillante.
- Barniz Aquavar de Lanco, 3 en 1, satinado Wengue.
- Pegamento para carpintero Grip³ Bond, marca Lanco.
- Lijas de grano variado.
- Papel adhesivo de vinilo imprimible, marca: Limia's Care, blanco mate.
- Foamy moldeable blanco, marca Krear.

- Foamy 10 mm de color verde.
- Foamy blanco de 2 mm.
- Cinta doble cara VHB 4910, 19 mm x 5 mm.
- Pistola de silicón, marca Mae, modelo GGP-40 de 25 W.
- Escuadra para carpintero Truper, 30 cm.
- Escuadra para carpintero Truper, 40 cm x 60 cm.
- Tapete para corte, Barrilito 1972, 30 cm x 22 cm.
- Elástico blanco de ¼ pulgada.
- Compás, marca no indicada.
- Resina de mesa, Decore S.A.
- Cuchillo para pasatiempos 10-401, marca Stanley.
- Ingletadora, Incco UBMS18001.
- Taladro percutor, marca Einhell, modelo: TH-ID 550/1.
- Caladora Einhell, modelo: BT-JS400E.
- Broca paleta de 7/8, marca Trupper.
- Soporte universal para teléfono celular, marca Phicant, con tornillo estándar de 1/4 pulgadas, rotación vertical y horizontal.
- Lamina difusora blanca de plástico, 2 mm de grosor.
- Bisagras pequeñas para cofres.
- Gancho para cierre de puerta.
- Fuentes de luz.
- Adaptador Steren.
- Back- UPS 425, marca: APC, modelo:BE425M-LM.

Anexo 5. Lista de materiales, equipos y reactivos usados para definir las condiciones óptimas de operación.

- Prototipo final del dispositivo para controlar las condiciones de iluminación.
- Fuentes de luz variadas.
- Adaptador Steren.

- Teléfono celular Samsung A51.
- Celda de cuarzo UV para espectrofotómetro.
- Espectrofotómetro Genesys UV/Vis 10 s.
- Balones aforados de 25.00, 100.0, 200.0 y 500.0 mL.
- Pipeta automática de 1-10 mL, marca: Eppendorf Research.
- Puntas de plástico descartables para pipeta automática de 1-10 mL.
- Beaker de 50, 100 y 200 mL.
- Piseta de 500 mL, con agua destilada.
- Gotero de plástico.
- Balanza analítica Sartorius, modelo: ENTRIS224I-1S.
- Papel encerado para pesaje.
- Disoluciones: (251.8 ± 0.4) y (10.07 ± 0.04) mg·L⁻¹ de hierro de Fe(II), clorhidrato de hidroxilamina al 10 %, ortofenantrolina 0.1-0.3 % y acetato de sodio al 10 %.

Anexo 6. Lista de materiales, equipos y reactivos usados para la validación de método (son similares a los usados en la optimización, se indica los cambios).

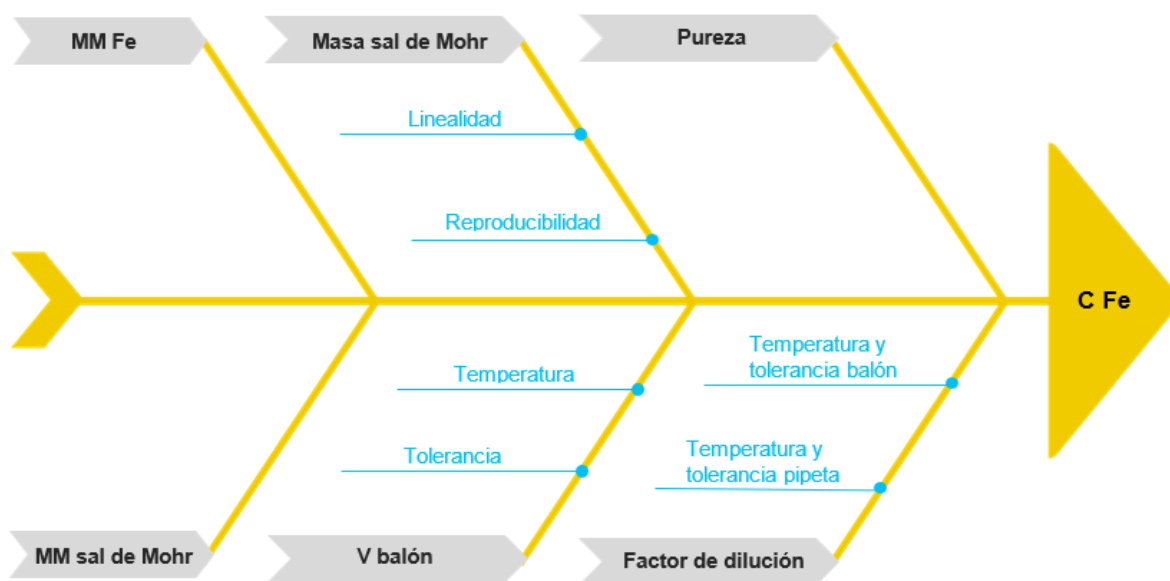
- Fuente de luz: tiras Led interconectadas, 60 luces en total.
- El espectrofotómetro utilizado fue: Shimadzu Pherma Spec UV-1700.
- Para el proceso de muestreo en la Clínica Dr. Solón Nuñez Frutos se empleó botellas de 125 ml. Las cuales fueron previamente lavadas y se agregó 1 mL de HNO₃ concentrado y se señaló un nivel de aforo correspondiente a los 100 mL, para facilitar su llenado.
- Patrones para absorción atómica de 1000 mg/L de: Fe, Zn y Mg. Marcas variadas.

Anexo 7. Cálculo de la incertidumbre expandida

$$C Fe_{madre} = \frac{masa_{sal\ de\ Mohr} * MM_{Fe} * Pureza_{sal\ de\ Mohr} * 10^6}{V_{balón} * MM_{sal\ de\ Mohr}} \quad \text{(A.1)}$$

$$C Fe_{patrón} = C Fe_{madre} * \frac{V_{alícuota\ 1}}{V_{balón_1}} * \frac{V_{alícuota\ 2}}{V_{balón_2}} \quad (A.2)$$

Basándose en el cálculo de la concentración de Fe(II) en los patrones (ver Ecuaciones A.1 y A.2), se debe establecer las contribuciones más importantes a la incertidumbre relacionada a dicha magnitud. Esto se consigue a través de un diagrama de Ishikawa:



Anexo 7.1. Diagrama de Ishikawa empleado para establecer las principales contribuciones a la incertidumbre asociada a la concentración de Fe(II) en una disolución patrón.

Para definir la incertidumbre del volumen de los balones y pipetas empleadas, en vez de usar una distribución triangular para la tolerancia se recurrió a una distribución rectangular (Meyer et al., 2010). Además, para la incertidumbre de la masa medida con la balanza analítica, se trabajó con la reproducibilidad del equipo y no la repetibilidad. Acto seguido, se muestra como averiguar la incertidumbre combinada expandida de un patrón de Fe:

$$U(C_{Fe}) = 2 * C_{Fe} \sqrt{\left(\frac{u(MM_{Fe})}{MM_{Fe}}\right)^2 + \left(\frac{u(MM_{sal})}{MM_{sal}}\right)^2 + \left(\frac{u(m_{sal})}{m_{sal}}\right)^2 + \left(\frac{u(Pureza)}{Pureza}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{balón})}{V_{balón}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{balón_1})}{V_{balón_1}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{balón_2})}{V_{balón_2}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{pipeta_1})}{V_{pipeta_1}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{pipeta_2})}{V_{pipeta_2}}\right)^2} \quad (\text{A.3})$$

Con respecto a la incertidumbre asociada a la señal analítica, la misma se calculó según la operación matemática aplicada.

$$U(y_{RGB_1}) = 2 * \frac{\sqrt{2(u(\text{coordenada}))^2}}{255} \quad (\text{A.4})$$

$$U(y_{RGB_2}) = \frac{2}{\ln 10} \sqrt{\left(\frac{u(\text{coordenada}_{blanco})}{\text{coordenada}_{blanco}}\right)^2 + \left(\frac{u(\text{coordenada}_{RGB})}{\text{coordenada}_{RGB}}\right)^2} \quad (\text{A.5})$$

$$U(y_{Lab}) = 2 * \sqrt{2 * (u(\text{coordenada}))^2} \quad (\text{A.6})$$

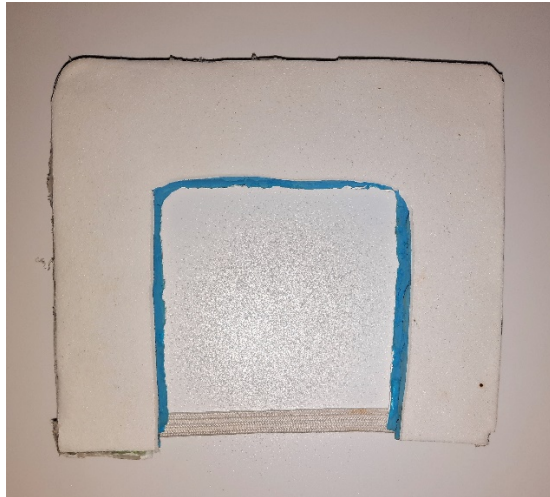
Por otra parte, para reportar los datos de concentración extrapolados se aplicó la expresión A.7 y la incertidumbre expandida se obtiene multiplicando el valor por 2, esto para un nivel de confianza del 95 % (como en el resto de las operaciones). Para esta ecuación la pendiente se identifica como b y m corresponde al número de lecturas realizadas de la señal.

$$S_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{b} * \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2(\sum_i(x_i - \bar{x})^2)}} \quad (\text{A.7})$$

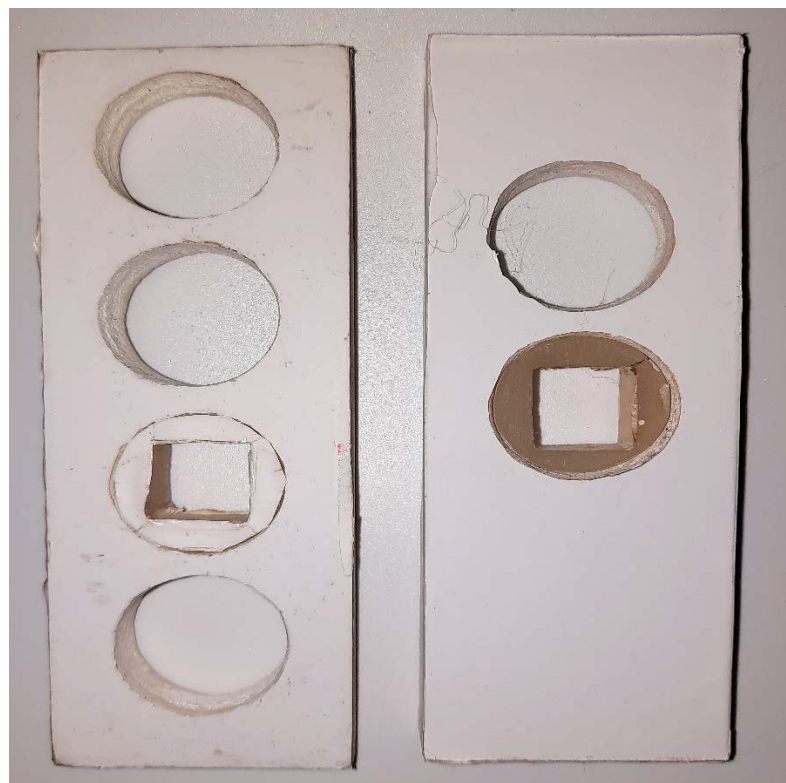
Como último punto, para la precisión se recurrió al uso de un intervalo de confianza ($\alpha=0.05$, dos colas y un nivel de confianza del 95 %), cuya ecuación es:

$$IC = \bar{x} \pm t_{\left(\frac{\alpha}{2}, n-1 \text{ g.l.}\right)} * \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (\text{A.8})$$

Anexo 8. Accesorio utilizado para bloquear la luz que entraba por la abertura para la cámara.



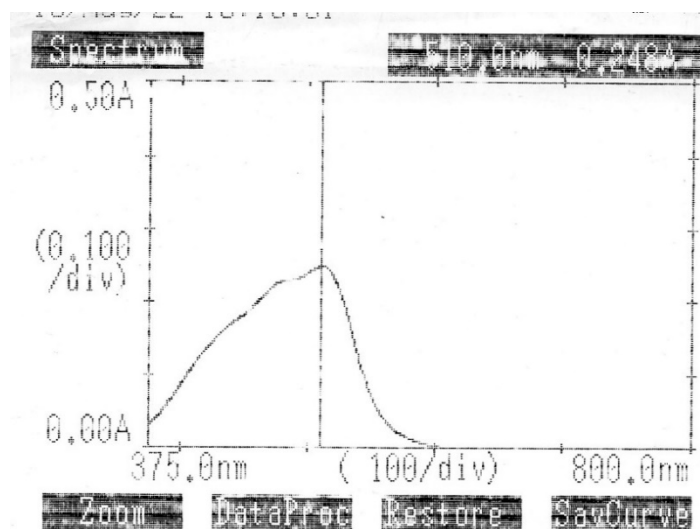
Anexo 9. Piezas removibles para variar la distancia celda – celular, para el dispositivo MDF 2.0.



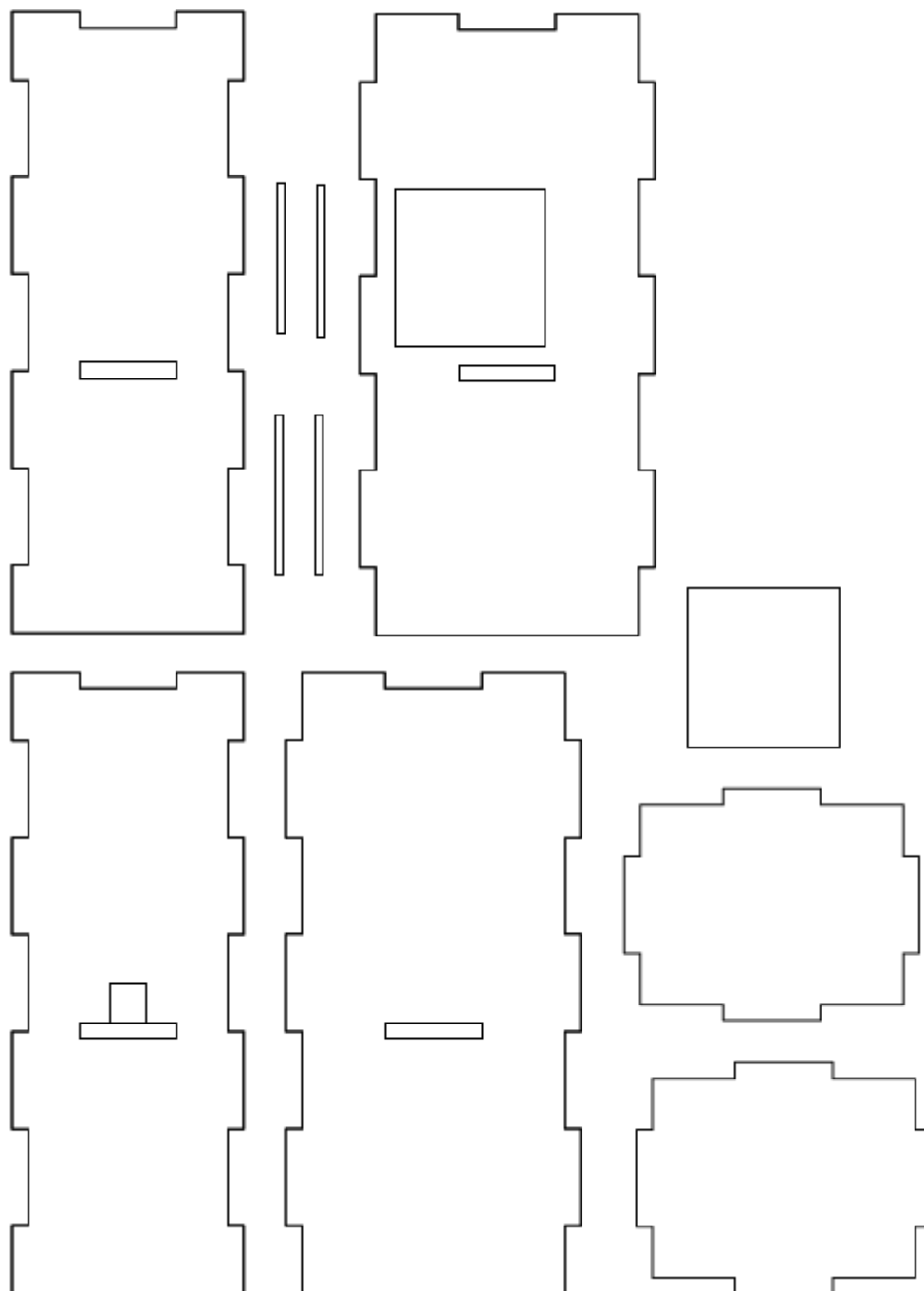
Anexo 10. Estimación de los gastos asociados a la construcción de la caja MDF 2.0

Artículo o servicio	Costo(colones)
Tiras Led	3000
Adaptador 12 V	12000
Resina de mesa	5000
Vinilo adherible blanco mate	1200
Celda de cuarzo	5500
Soporte para celular	10000
Otros materiales y barniz	2000
Madera MDF 10 mm	5780
Mano de obra	15000
Servicio de corte MDF	2500
Cableado eléctrico	7500
Total	63400

Anexo 11. Espectro de absorción sistema Fe(II)-o-fenantrolina. Espectrofotómetro Shimadzu Pharma Spec UV-1700, Concentración de Fe= (1.223 ± 0.006) mg·L⁻¹.



Anexo 12. Diseño utilizado para cortar las piezas del dispositivo base hecho a base de PVC de 10 mm.



Anexo 13. Diagrama de corte de las piezas de MDF 10 mm usadas en la construcción del prototipo MDF 2.0, servicio brindado por El Lagar.

6071-2480 @ 2022

Material 0				Diagrama - MDF 09MM MATERIAL DEL CLIENTE		
Tamaño del tablero : 1780 mm X 430 mm				Diagrama 1 de 1 (x1) - 0 (1780 x 430)		
Lista de elementos ingresados				Referencia :	Nombre del cliente :	
Referencia	Largo	Ancho	Cant	Fecha requerida : 6/7/2022	Tableros de este material : 1	Tableros : 1
A	50 mm	120 mm	1	Número de teléfono :	Piezas del tablero : 10	Piezas : 10
B	65 mm	140 mm	1	Número de fax :	Desperdicio : 62,71%	Desperdicio : 62,71%
C	155 mm	140 mm	1	Teléfono móvil :	Longitud de corte tablero : 4502 mm / longitud total de cortes : 4502 mm	
D	160 mm	80 mm	1			
E	160 mm	120 mm	1			
F	285 mm	140 mm	2			
G	285 mm	160 mm	3			
Repeticiones						
Dirección de la veta						
Generado con MaxCut - Visite www.MaxCut.co.za para obtener una copia gratuita del programa.				6/7/2022		