

Prototipo de un fotocolorímetro didáctico de fuente abierta



Colaboración

Nabor Lagunes Amaury Isai; Candanedo Candanedo Elva Esther; De la Cruz Díaz Itzelth; Eduardo Enrique Salazar, Juan Pablo Salazar; Cabrera Hernández Arturo, Instituto Tecnológico Superior de Mianilla.

RESUMEN: En el presente trabajo se propone una alternativa para solucionar una problemática actual en instituciones educativas de nivel superior, el equipamiento de laboratorios de docencia e investigación, por ello se diseñó, construyó y validó un fotocolorímetro didáctico, a bajo costo, construido con materiales accesibles y plataformas libres de código abierto, que permite al estudiante y al docente aplicar metodologías y competencias de técnicas dependientes de la lectura de color.

Un análisis comparativo entre el desempeño del espectrofotómetro comercial GENESYS 10S y el fotocolorímetro didáctico desarrollado, señala que el intervalo de trabajo y los valores de linealidad y repetitividad fueron menores que los obtenidos por el equipo comercial, sin embargo cubren bien las necesidades requeridas en el área docente, además de tener un costo veinte veces menor que el espectrofotómetro GENESYS 10S.

PALABRAS CLAVE: Arduino, Auto-ensamblaje, Fotocolorímetro, LED-RGB.

ABSTRACT: In this paper an alternative is proposed to solve an actual problem present in universities and institutes of technology, the lack of equipment in laboratories of teaching and research. For this reason, it was designed, constructed and validated a didactic photocolorimeter, at low cost, built with accessible materials and based on a free open source platforms, which allows students and teachers to apply methodologies and skills dependent about the reading color techniques.

A performance comparative analysis between the comercial Spectrophotometer GENESYS 10S and didactic photocolorimeter developed, points out that the working range and values of linearity and repeatability were lower than those obtained by the commercial equipment, however well they cover the needs required in the education area, besides having a cost less than twenty times the Spectrophotometer GENESYS 10S.

KEYWORDS: Arduino, Self-assembly, Photocolorimeter, RGB-LED.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a un análisis de la UNESCO, los desafíos para los sistemas de educación superior en el tercer mundo es asegurar la equidad de su expansión así como responder a las nuevas exigencias que la globalización y la sociedad de la información imponen. Este último punto implica mejorar la productividad científica básica, promover la investigación aplicada, aumentar la inscripción de patentes [1], en resumen, apoyar el desarrollo de la investigación y la ciencia. Estos rubros han estado ligados a la experimentación, en particular en el área biológica [2], sin embargo, el alto costo de los equipos empleados en el laboratorio de docencia e investigación han provocado que el acceso a ellos así como sus accesorios y mantenimiento, se limite a escuelas y centros de investigación con alta solvencia económica [3] limitando la aplicación de tales prácticas experimentales en laboratorios de investigación y docencia de instituciones con bajos presupuestos [4].

En los últimos años se ha propuesto una alternativa para enmendar la insuficiencia y carencia de equipos en el laboratorio al promover la autoconstrucción de equipos con materiales de bajo costo, fácil adquisición y diseños de sencilla construcción [5,6], alternativa viable que al involucrar a alumnos en su realización promueve el aprendizaje en base al diseño de prototipos, una estrategia holística en donde los estudiantes planean, implementan y evalúan proyectos que tienen aplicación en el mundo real más allá del aula de clase desarrollando capacidades cognitivas tales como el razonamiento, la capacidad de síntesis y análisis, así como la toma de decisiones [7,8].

El fotocolorímetro es un instrumento usado en el análisis cuantitativo en laboratorios de investigación, producción y control de calidad. El principio de su funcionamiento es la interacción de la luz a una particular longitud de onda con la materia, dependiendo de la sustancia, la luz es parcialmente absorbida. La intensidad de luz saliente que no se absorbió por la muestra es transmitida, detectada y convertida a una señal eléctrica por un detector. La relación entre la luz transmitida y la luz incidente se denomina transmitancia, mientras su logaritmo negativo se conoce como absorbancia.

La relación establecida por la ley de Lambert-Beer entre absorbancia y concentración a un paso de luz constante ha permitido a esta técnica su aplicación en el análisis cuantitativo en base a la comparación de la intensidad de color de un problema con disoluciones patrón de concentración conocida. La estructura de un colorímetro es relativamente sencillo, consta de seis componentes básicos, una fuente luminosa, un elemento monocromador, un colimador, un compartimento de la muestra, un sensor de intensidad de luz así como un elemento de análisis y visualización de la intensidad de luz transmitida (controlador). La extensa aplicación de esta técnica, su flexibilidad, exactitud y precisión, ha promovido su empleo como pieza fundamental en el laboratorio, surgiendo la necesidad de su aprendizaje teórico-práctico para el futuro profesionalista [9], por estas razones en el presente trabajo se propone el diseño, la construcción y la validación de un fotocolorímetro didáctico de acceso libre y aplicación en docencia, el cual puede ser estudiado, copiado, modificado y redistribuido sin restricción.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Investigación Avanzada de Veracruz (LIAV) dentro del Instituto Tecnológico Superior de Misantla (ITSM), Veracruz, México.

Las características de los componentes empleados para la construcción del fotocolorímetro fueron las siguientes:

La fuente de luz es un LED RGB (red, green, blue) marca Optosupply®, número de catálogo OSTA5131A-C, con salida de alta luminosidad. La longitud de onda que emite en el rojo abarca de 635 a 645 nm con un máximo a 640 nm (luminosidad de 2180 milicandelas), para el color verde emite en un intervalo de 520 a 530 nm con un máximo de 525 nm (luminosidad de 5800 milicandelas), mientras el color azul emite en un intervalo de 465 a 475 nm con un máximo de 470 nm (luminosidad de 3000 milicandelas) [10]. Se seleccionó esta fuente de luz debido a su bajo costo, consumo mínimo de electricidad, alta luminosidad, configuración flexible, pureza espectral alta, tamaño pequeño y generación mínima de calor, ideal para aplicaciones optoelectrónicas [11].

El LED RGB y el detector GY-31 modelo TCS3200 se conectó al controlador Arduino como se muestra en la figura 1.

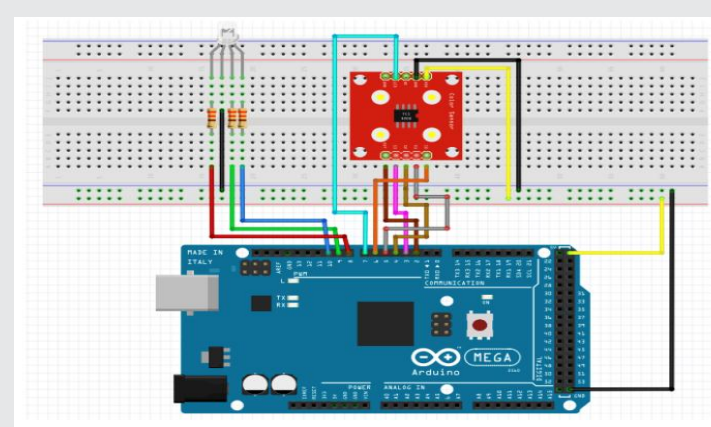


Figura 1. Diagrama de los componentes electrónicos interconectados del fotocolorímetro didáctico, se presentan las conexiones del LED RGB, el sensor de color TCS3200 y la plataforma de prototipos electrónica de código abierto "Arduino".

El Colimador fue construido a partir de una lente de enfoque fijo de cámara compacta simple, desechable marca Kodak® de 5 mm de diámetro. Los colimadores son dispositivos que sirven para delimitar el haz del rayo, evitando de este modo irradiar zonas no necesarias para el estudio [12]. Considerando la distancia focal, el colimador se ajustó en simetría con la fuente de luz, el compartimento de la muestra y el detector. La lente de cámara destaca por poseer una calidad óptica adecuada, ligera y compacta.

La cubeta es de plástico comercial marca Brand®, con trayectoria óptica de 10 mm y volumen de 1.5 a 3 ml., el compartimento de la muestra se elaboró con madera, y se alineó para permitir que el haz de luz atraviese la muestra perpendicularmente [13].

Para detectar la intensidad de luz transmitida por la muestra se empleó como detector el conversor genérico de intensidad de luz a frecuencia GY-31 modelo TCS3200. El flujo de corriente generado

cuando el sensor capta un fotón depende de la intensidad de la luz incidente a la longitud de onda de trabajo. La señal generada por la luz transmitida se dirigió para su procesamiento y visualización a un controlador Arduino mega R32560. El controlador es una plataforma de prototipos electrónica de código abierto, basada en el microcontrolador Atmega 168, de bajo costo y fácilmente programable en lenguaje C/C++ (14).

Para programar la placa Arduino, el software empleado fue Arduino IDE, el cual es de acceso libre y código abierto. La programación se desarrolló en un ambiente de Windows y permitió sincronizar el tiempo de emisión de color por el LED RGB con la cantidad de luz transmitida capturada por el sensor, así como su conversión a señal digital para ser transmitida y visualizada en una computadora personal.

Las partes internas de prototipo didáctico se muestran en la figura 2.

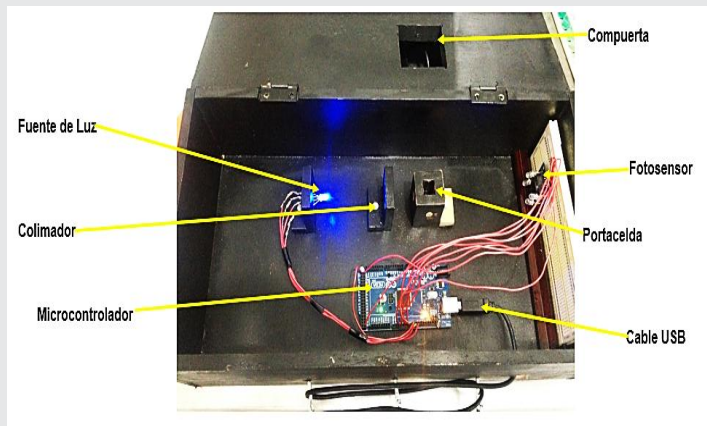


Figura 2. Diagrama de los componentes internos del fotocolorímetro didáctico y complementos, ensamblados y señalados con su nombre respectivamente.

La validación del fotocolorímetro se efectuó por análisis comparativo de las lecturas de absorbancia obtenidas en el prototipo didáctico así como en un espectrofotómetro comercial UV-vis Thermo Scientific® GENESYS 10S utilizando una cubeta de plástico de 1 cm de paso de luz y agua destilada como blanco de reactivos. El modelo de trabajo fue una dilución seriada de tres colorantes vegetales comerciales grado alimenticio marca Demian®, amarillo-naranja 270, rojo-grosella 270 y verde-esmeralda 270, concentraciones de 2.0, 1.8, 1.6, 1.4, 1.2, 1.0, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.15, 0.10 y 0.05 mg/ml. Las diluciones se prepararon previamente a su empleo y se tomó la lectura de absorbancia, cada solución de la curva de calibración se leyó por triplicado.

El color del LED RGB empleado se eligió en base al color complementario del pigmento a utilizar (15), así, el pigmento amarillo-naranja 270 empleó la luz azul del LED RGB, la lectura del color rojo-grosella 270 se em-

pleó la luz verde, mientras el pigmento verde-esmeralda 270 se empleó la luz roja. En el espectrofotómetro GENESYS 10S se leyeron a las longitudes de onda de 470, 525 y 640 nm, respectivamente.

El análisis de datos así como su visualización grafica se efectuó empleando el programa Microsoft office Excel 2007.

1. Ensamblaje y construcción del fotocolorímetro

El fotocolorímetro se construyó bajo el esquema de trabajo que se muestra en el figura 3 y se describe su instalación más adelante:

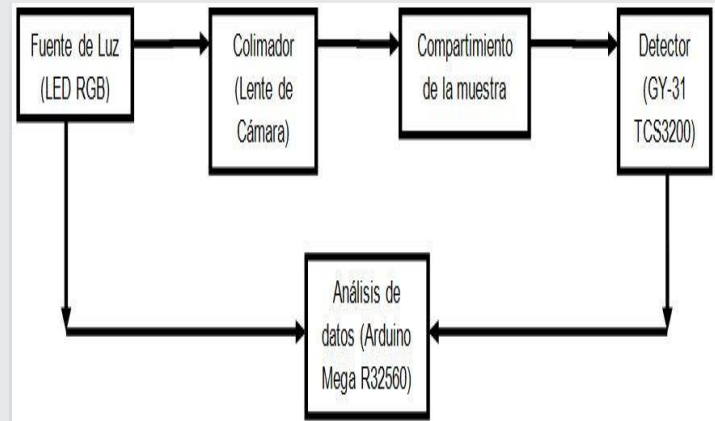


Figura 3. Esquema de trabajo que señala los componentes básicos los cuales está constituido el prototipo didáctico.

- 1.- El Led RGB se colocó en una base de madera a 2.5 cm de la superficie, ajustando la trayectoria del rayo de luz paralela a ésta. La luminosidad del LED RGB, presenta suficiente intensidad luminosa para obtener un valor alto en la relación señal/ruido.
- 2.- La lente del colimador se ajustó al paso de la luz emitida por el LED RGB, ubicándolo a una distancia de 9 cm del LED, distancia correspondiente al punto focal del colimador.
- 3.- El compartimiento de la muestra se elaboró con madera con dos aberturas para permitir el paso de luz. Se ubicó a 4 cm del colimador, ajustando la trayectoria lineal del paso de luz a través de la muestra hacia el detector.
- 4.- El detector, el cual recibe la luz que atravesó la muestra, se colocó en una base a 14 cm de distancia de la muestra, alineando el eje central del fotosensor al haz de luz proveniente de la muestra.
- 5.- El circuito eléctrico que conecta el LED RGB y el detector al Arduino se muestra en la figura 1.
- 6.- Para la programación del fotocolorímetro se empleó el software Arduino de acceso libre.

7.- La cubierta externa se construyó con madera de 1 cm. de espesor y dimensiones de 40 x 21 cm con una altura de 12 cm. A fin de disminuir el reflejo interno de la luz, el interior del equipo se cubrió con pintura negra mate.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2. Validación del fotocolorímetro

Para asegurar la confiabilidad del sistema propuesto, el equipo se validó comparando los parámetros de linealidad y precisión, obtenidos con el prototipo a los obtenidos con un equipo comercial mediante un análisis comparativo de colorantes vegetales, los cuales presentan baja toxicidad, bajo costo, fácil accesibilidad y alta estabilidad [16].

Las lecturas obtenidas en el fotocolorímetro didáctico (unidades arbitrarias) fueron corregidas a absorbancia aplicando la siguiente fórmula:

$$Abs = -\text{Log} 10 \frac{\text{Lectura de dilución}}{\text{Lectura de blanco}} \quad \text{Ec. (1)}$$

En la figura 4, 5 y 6 se presentan las gráficas para las curvas de calibración del pigmento amarillo, rojo y verde, respectivamente. Se expresa la absorbancia en función de la concentración de cada dilución. Dado que el análisis se realizó por triplicado, se presenta el promedio y la desviación estándar para cada punto, para los datos del espectrofotómetro GENESYS 10S no se observó variación, por lo que no se presenta la desviación estándar.

La linealidad de un método analítico es la capacidad de obtener resultados directamente proporcionales a la concentración en un rango definido de concentraciones. En las gráficas 4, 5 y 6 se observa una buena linealidad para el espectrofotómetro GENESYS 10S, dentro del rango de concentraciones evaluado comportándose de acuerdo a la ley de Lambert-Beer, sin embargo para el fotocolorímetro didáctico, el rango de concentración donde se obtiene un comportamiento lineal es menor, de 0 a 1.6 mg/ml para el color amarillo, de 0 a 1.8 mg/ml para el color rojo y de 0.1 a 0.8 mg/ml para el color verde. Lo anterior está relacionado con la dispersión lumínica que presenta la fuente luminosa empleada, el LED RGB, ya que este emite en un ancho de banda de ± 10 nm sobre la longitud de onda principal, comparada con los máximos recomendados de ± 1 nm de equipos comerciales. Dado que la precisión de la longitud de onda es baja y además el efecto de dispersión luminosa (stray light) es alto, se explica la menor linealidad observada en la curva de calibración [17].

Sin embargo, para los propósitos de docencia los parámetros obtenidos son aceptables, y en los rangos donde la absorbancia y la concentración son lineales,

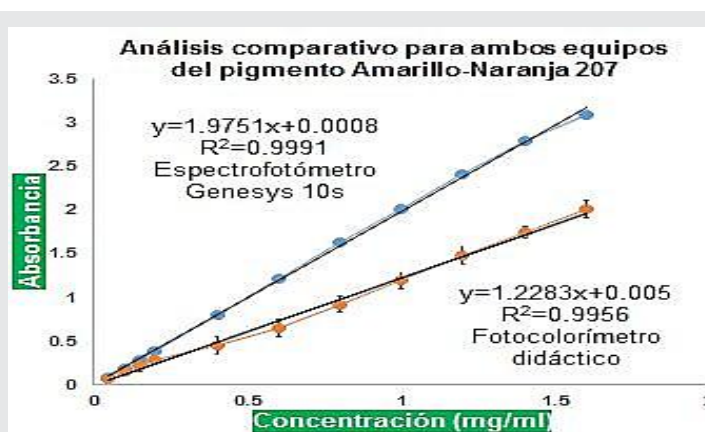


Figura 4. Análisis comparativo entre el espectrofotómetro GENESYS 10S y el fotocolorímetro didáctico del pigmento Amarillo-Naranja 207.

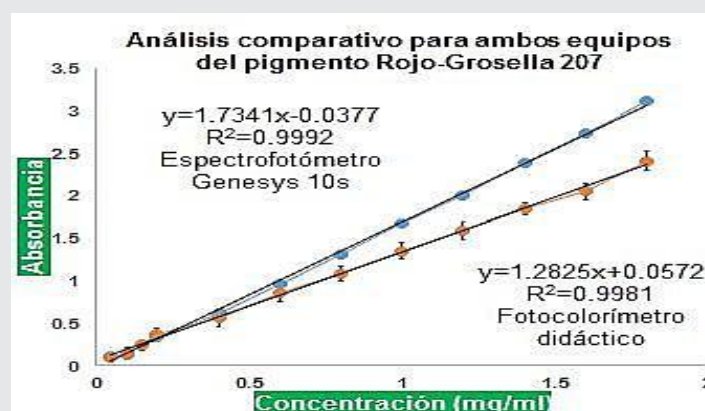


Figura 5. Análisis comparativo entre el espectrofotómetro GENESYS 10S y el fotocolorímetro didáctico del pigmento Rojo-Grosella 207.

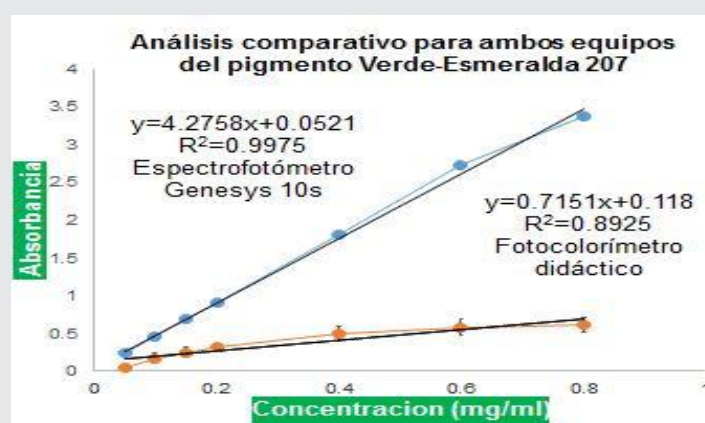


Figura 6. Análisis comparativo entre el espectrofotómetro GENESYS 10S y el fotocolorímetro didáctico del pigmento Verde-Esmeralda 207.

los coeficientes de correlación obtenidos cumplen con los estándares para considerar la curva de calibración lineal ($r > 0.999$) [18]. El espectrofotómetro GENESYS 10S presentó coeficientes de linealidad por encima de 0.999 para intervalos de concentración por arriba de 2 mg/ml de colorante, en todos los casos; se refiere que la calidad óptica y los componentes electrónicos son de calidad superior a los del prototipo didáctico.

La repetitividad del método está caracterizada por la desviación estándar de la curva de calibración para cada uno de los puntos, en el presente trabajo se obtuvo realizando varias lecturas a cada solución de color homogénea. La desviación estándar de los valores de absorbancia obtenidos en el fotocolorímetro didáctico sugiere una menor repetitividad que el equipo comercial, el cual no presentó desviación estándar en sus valores de absorbancia. Se observa también una variación en la pendiente obtenida al comparar ambas curvas en los tres colores. Se considera que a mayor pendiente mayor sensibilidad, en particular, para el color verde los valores de la pendiente y la linealidad son muy bajos, lo anterior se relaciona con los diferentes ángulos en que se emite cada color por el LED RGB, lo cual permite enfocar solo dos colores de los tres que emite, quedando el tercero (verde) fuera de enfoque y por ello, proporciona valores de incidencia y transmisión de luz muy bajos, incapaces de ser detectados por el sensor de luz.

3. Aplicación didáctica del fotocolorímetro

Para ejemplificar la aplicación didáctica del fotocolorímetro se realizó la determinación de proteínas por el método de Biuret, metodología común en planes de estudio del área médico-biológica. Como proteína modelo para la elaboración de una curva de calibración se empleó una solución de albúmina humana a concentraciones de 0, 1.25, 1.875, 2.5, 3.125, 3.75 y 6.25 mg/ml, las cuales se hicieron reaccionar con el reactivo de Biuret. (19). Como blanco de reactivos se empleó el reactivo de Biuret libre de proteína. Una vez desarrollado el color, las diferentes concentraciones se leyeron en el fotocolorímetro didáctico y en el espectrofotómetro GENESYS 10S, se efectuaron tres ensayos independientes. En la figura 7, se presenta la absorbancia obtenida por el prototipo didáctico en función de la obtenida por el equipo comercial.

Se observa una excelente correlación entre cada grupo de valores, aunque los valores de absorbancia obtenidos fueron menores para el fotocolorímetro didáctico, además de presentar cierto grado de dispersión. Las diferencias observadas reflejan una mayor imprecisión en el ancho de banda de la longitud de onda del equipo didáctico, con la presencia

constante de luz parásita [20]; la linealidad observada es suficiente para aplicaciones didáctica en docencia. Considerando que el equipo GENESYS 10S presenta una calidad de lectura superior y al margen de los errores experimentales, la correlación observada permite sugerir que el equipo desarrollado en el presente trabajo podrá ser utilizado en prácticas experimentales didácticas. Si bien existe una menor calidad óptica y electrónica que en los equipos comerciales, la disminución del costo en alrededor de veinte veces el precio de un equipo sofisticado permite sugerirlo como una alternativa viable para aquellos laboratorios con fondos insuficientes. Adicionalmente, al involucrar a los alumnos de las asignaturas enfocadas al análisis instrumental, la construcción de un prototipo de estas características, refuerza el aprendizaje de estos temas, además de entender en forma profunda los principios que rigen el funcionamiento interno de estos equipos (fotocolorímetro, espectrofotómetro).

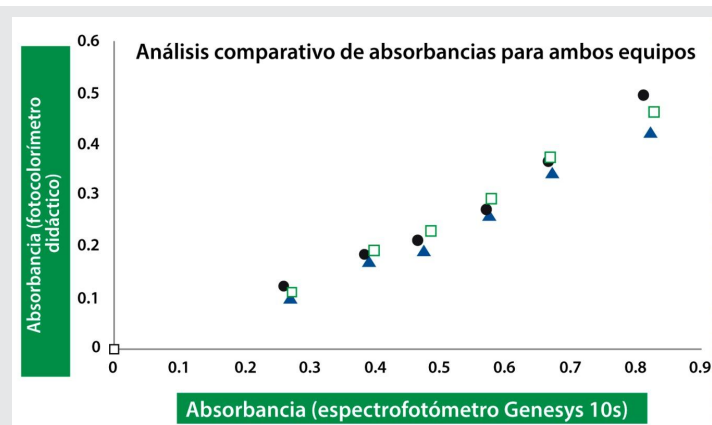


Figura 7. Análisis comparativo entre las absorbancias del fotocolorímetro didáctico en función del espectrofotómetro GENESYS 10S para la determinación de proteína mediante el método de Biuret.

CONCLUSIONES

Se construyó un fotocolorímetro didáctico a partir de materiales de bajo costo y de fácil adquisición en el mercado. Su funcionamiento se comparó con el espectrofotómetro GENESYS 10S. El intervalo de trabajo, los valores de linealidad y reproducibilidad fueron menores que los obtenidos por el equipo comercial, sin embargo cubren bien las necesidades requeridas en el área docente, además de tener un costo veinte veces menor que el espectrofotómetro GENESYS 10S, considerando que las plataformas libres de código abierto sirven como alternativa viable en apoyo a instituciones que no cuentan con el presupuesto suficiente para adquirir un equipo comercial.

RECONOCIMIENTOS

Los autores agradecen al personal administrativo del ITSM y a los alumnos del grupo 605 de Ing. Bioquímica por el apoyo brindado para la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Bellei C., Poblete X., Sepúlveda P., Orellana V. y Abarca G. (2013). *Situación Educativa de América Latina y el Caribe: Hacia la educación de calidad para todos al 2015*. Place de Fontenoy, 75352 París 07 SP Francia.: Ediciones UNESCO.
- [2] Golombek D. A. (2008). *Aprender y enseñar ciencias: del laboratorio al aula y viceversa*. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, República Argentina: Fundación Santillana.
- [3] Anzalone G.C., Glover G.A y Pearce J.M. (2013). *Open-Source Colorimeter*. *Sensors* 13(4): 5338-5346
- [4] Calderón-Alzati E. (2008). "Los problemas de la educación media superior". *La Jornada*. <http://www.jornada.unam.mx/2008/06/21/index.php?section=opinion&article=020a2pol>
- [5] DIYbio. (2008). *An Institution for the Do-It-Yourself Biologist*. <https://diybio.org/>
- [6] Pearce J. M. (2012). *Building Building Research Equipment with Free, Open-Source Hardware*. *Science* ,337 (6100): 1303-1304.
- [7] González C. (2014). *Strategies to Work on Creativity in Higer Education: Design Thinking, Game and Project Based Learning*. *Revista de Educación a Distancia*. Vol. 40: 1-15.
- [8] Pérez-Lozada E, Falcón N. y Alcalá C. (2010). *Prototipos Experimentales Orientados al Aprendizaje de la Óptica*. *Ciencias de la Educación* 20(36): 34-45.
- [9] Howard M. (1990). *Métodos Instrumentales de Análisis*. España: CECSA.
- [10] OptoSupply. (2005). *5 mm Red & Blue & Pure Green Light*. Micropik. <http://www.micropik.com/PDF/osta5131a-c.pdf>
- [11] O'Toole M. y Diamond D (2008). *Absorbance Based Light Emitting Diode Optical Sensors and Sensing Devices*. *Sensors*, 8: 2453-2479.
- [12] Ramos G. J. M. (2006). *Técnico Especialista en Radiodiagnóstico de Osakidetza, Servicio Vasco de Salud*. Segunda Edición. Ed. MAD, S.L.
- [13] Vilanova G. E. y Sogorb Sánchez, M. A. (2015). *Técnicas analíticas de contaminantes químicos: Aplicaciones toxicológica, medioambientales y alimentarias*. Ediciones Díaz de Santos.
- [14] Arduino, USA. *Arduino MEGA 2560 (USA only) & Genuino MEGA 2560 (2016)*, <https://www.arduino.cc/en/Main/arduinoBoardMega2560>
- [15] Duymovich C, Acheme R., Sesini S. y Mazziotta D. (2005). *Espectrofotómetros y Fotocolorímetros. Guía práctica de actualización*. *Acta Bioquimi. Clin. Latinoam*. 39(4): 529-539.
- [16] Calpena AC, Escribano E, Fernández C. (1991). *Validación de los métodos analíticos*. *Farm. Clin*. 7(9): 749-758.
- [17] Shimadzu. (2016). *Instrument Validation and Inspection Methods.*, de Shimadzu, excellence in science. <http://www.shimadzu.com/an/uv/support/fundamentals/validation.html>
- [18] Castillo Aguilar B. y González Hernández R. (1996). *Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos*. *Revista Cubana de Farmacia*. 30(1): 1561-2988.
- [19] Valencia - López E., Cuéllar Ramos I., Aguilar Rodríguez I., Salmerón Alcocer A. y Rodríguez Casasola F. (2012). *Implementación del Método de Biuret para la Determinación de Proteína Residual en Lactosuero*. *Revista sistemas ambientales* 5(1): 21-24
- [20] Market Support Group AnaChem. (2015). *UV/VIS Spectrophotometry. Fundamentals and Applications*. Schwerzenbach, Switzerland: Ed. Mettler-Toledo AG.

