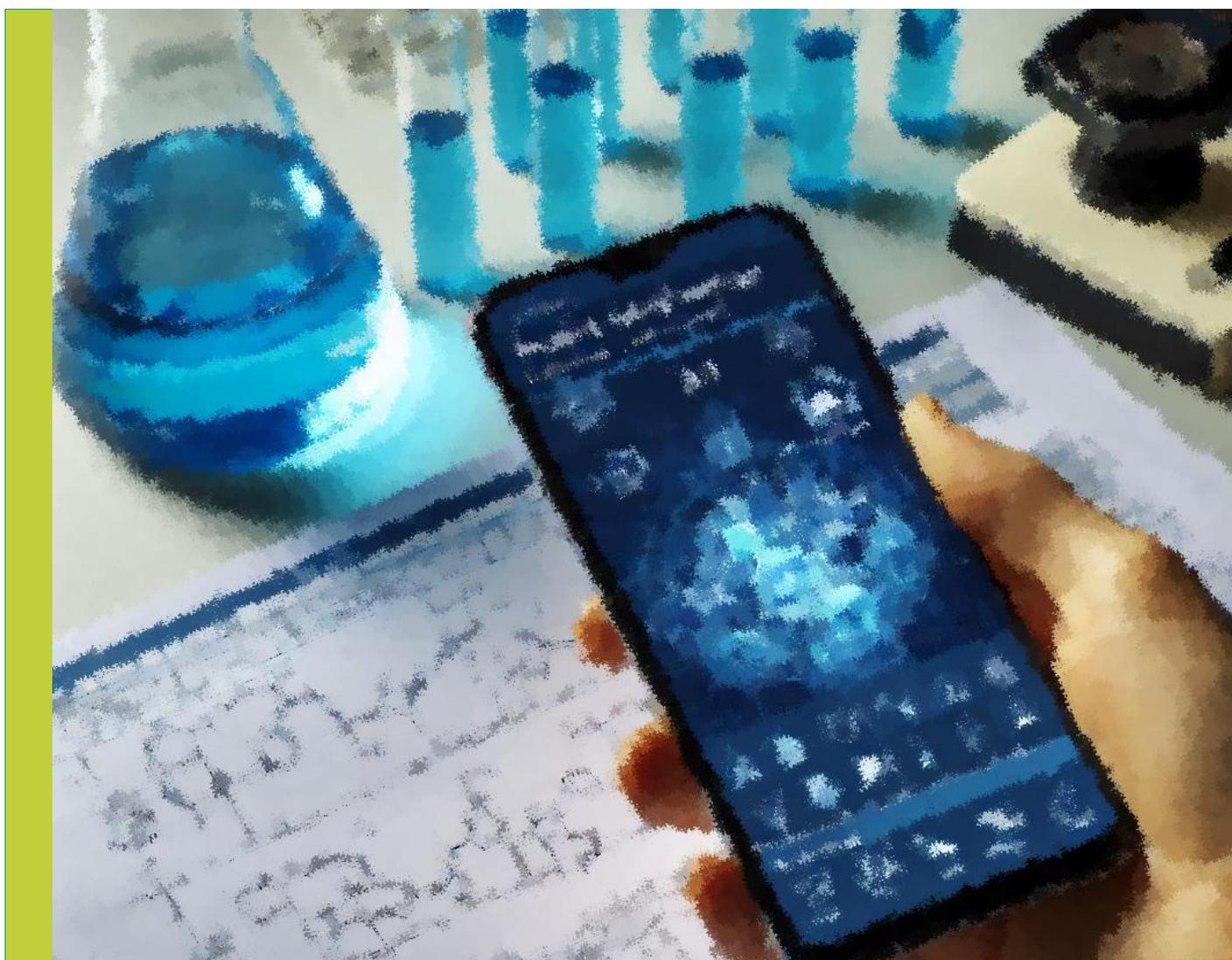


DETERMINACIÓN IMAGENOCOLORIMÉTRICA DE SURFACTANTES ANIÓNICOS EN MUESTRAS DE AGUAS MEDIANTE LA PRUEBA DE SUSTANCIAS ACTIVAS AL AZUL DE METILENO (MBAS)



Tesina de Licenciatura en Química

Brisa Anahí Budareto

Área III (Química Analítica), Departamento de Química — UNS



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
ÁREA (III), QUÍMICA ANALÍTICA

TESINA DE
LICENCIATURA EN QUÍMICA

**DETERMINACIÓN IMAGENO-COLORIMÉTRICA DE SURFACTANTES
ANIÓNICOS EN MUESTRAS DE AGUAS MEDIANTE LA PRUEBA DE
SUSTANCIAS ACTIVAS AL AZUL DE METILENO (MBAS)**

ALUMNO
TÉC. BRISA ANAHÍ BUDARETO

DIRECTOR
Dr. Francisco D. Ávila Orozco

DIRECTORA ASISTENTE
Dra. Claudia E. Domini

BAHÍA BLANCA, ARGENTINA

2025

Agradecimientos

A mis directores, gracias por creer en mí desde el principio, por su guía constante, sus consejos y su paciencia. Gracias por acompañarme en este proceso, por cada discusión enriquecedora y por brindarme las herramientas necesarias para que este trabajo salga adelante.

Gracias a todas y todos en “Cluster”, por integrarme y hacerme parte, como si siempre hubiera estado en el grupo.

Gracias a la Universidad Nacional del Sur y, en especial, al Departamento de Química, por enseñarme mucho más que una carrera y hacerme parte del día a día universitario. Sin la universidad pública y gratuita no sé si me hubiera permitido soñar con estudiar más allá de la secundaria.

Mamá y papá, gracias por dejarme ser y darme la mano en cada pasito de mi vida, sin importar cuán pequeño o grande haya sido; sin ustedes no habría llegado hasta acá.

Lara y Camila, gracias por cada abrazo y el apoyo incondicional en esta vida tan desafiante.

Abus, gracias por verme siempre con los ojos llenos de amor y entusiasmarse igual que yo por mis sueños.

Franco, mi amor, gracias por ser mi coequiper en este tramo final; la universidad me deja, además de una carrera, al mejor compañero para lo que viene

Amigas, amigos y/o futuros colegas, gracias por ir codo a codo conmigo todos estos años, por ser el lugar seguro en el que contar mis frustraciones y creer más en mí de lo que yo creo siempre.

A Dios, por acompañarme y sostenerme en el camino, y a la comunidad de la Iglesia Evangélica Valdense. Porque en mi vida, la Fe y la Ciencia, lejos de ser opuestas, se complementan como parte de un mismo todo: una nos inspira a buscar sentido, mientras la otra nos guía a descubrir las verdades del universo que nos rodea.

Contenido

Agradecimientos	0
Contenido	0
1. Introducción	1
1.1. Surfactantes	1
1.1.1. Definición, clasificación y uso de los surfactantes	1
1.2. Surfactantes aniónicos	2
1.2.1. Impacto ambiental y efectos en la salud	3
1.3. Determinación de surfactantes aniónicos	3
1.3.1. Prueba de sustancias activas al azul de metileno (MBAS)	4
1.3.2. Desafíos en la determinación de AS	5
1.4. Tecnologías emergentes en análisis químico	6
1.4.1. Espectroscopía de imágenes SI	6
1.4.2. Impresión 3D en química analítica	10
2. Objetivos	11
2.1. Objetivo general	11
2.2. Objetivos específicos	11
3. Metodología	12
3.1. Materiales, instrumentos y software	12
3.1.1. Material de laboratorio y otros	12
3.1.2. Equipos e instrumentos	12
3.1.3. Software	12
3.2. Reactivos, soluciones, y muestras	13
3.2.1. Reactivos	13
3.2.2. Soluciones	13
3.2.3. Muestras	13
3.3. Procedimientos	14
3.3.1. Desarrollo y aplicación del método propuesto	14
3.3.2. Calibración metodológica y análisis de muestras reales	15
3.3.3. Aplicación de la norma APHA 5540 C	17
4. Resultados y discusión	18
4.1.1. Desarrollo del método propuesto	18
4.1.2. Calibración metodológica	20
4.1.3. Análisis de muestras ambientales	20
5. Conclusiones	21
Bibliografía	22

1. Introducción

Los contaminantes de preocupación emergente (CEC),^a son un grupo de compuestos que, por lo general, no están regulados, no se monitorean, son difíciles de eliminar y representan riesgos potenciales para la salud humana, de otras especies y los ecosistemas. Además, en muchas ocasiones no se cuenta con métodos estandarizados para su determinación. Este grupo incluye productos para el cuidado personal, cosméticos, productos de limpieza, detergentes y desinfectantes, que se liberan al medioambiente principalmente a través de las plantas de tratamiento de aguas residuales.¹

Según el Banco Interamericano de Desarrollo (BID), las descargas provenientes de estas plantas constituyen uno de los principales problemas medioambientales en América Latina. En esta región, una fracción considerable de las aguas residuales industriales no recibe tratamiento antes de su vertido al medioambiente. Además, en América del Sur, la mayor parte de las aguas residuales sin tratar se descarga en cuerpos de agua junto con las aguas residuales domésticas tratadas.² Estas aguas contienen residuos de productos antropogénicos que incluyen diversos compuestos considerados como CECs, entre ellos los surfactantes sintéticos.



1.1. Surfactantes

1.1.1. Definición, clasificación y uso de los surfactantes

Los surfactantes, también llamados agentes tensioactivos, pueden tener origen sintético o natural. Estos compuestos presentan una estructura molecular anfifílica, con una región hidrofóbica, que repele el agua, y una región hidrofílica, que la atrae. Gracias a esta dualidad, los surfactantes reducen la tensión superficial entre dos líquidos o entre un líquido y un sólido, favoreciendo procesos como la emulsificación, la detergencia y la dispersión.

Generalmente, la parte hidrofóbica de los surfactantes suele estar formada por un radical hidrocarbonado (R) con entre 10 y 20 átomos de carbono, mientras que la hidrofílica puede incluir

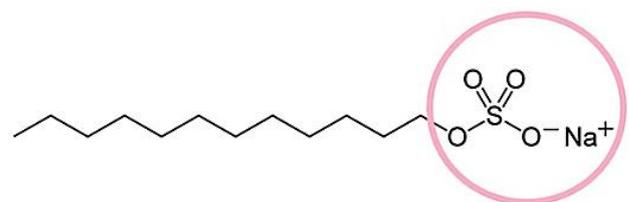


Figura 1. Estructura de la molécula del surfactante aniónico lauril sulfato de sodio (SLS). El grupo aniónico, sulfato y el catión sodio están destacados dentro del círculo rosa.

^a En adelante, todas las siglas y acrónimos se referirán a la denominación en inglés de la organización, institución, norma, concepto o similares, salvo que se indique lo contrario.

grupos que se ionizan en agua y otros de naturaleza no iónica. Según la carga eléctrica de su grupo hidrofílico, se clasifican en aniónicos, catiónicos, anfóteros y no iónicos.³

Los surfactantes no iónicos se caracterizan por la ausencia de carga neta en su región hidrofílica. Dentro de este grupo se incluyen los alcoholes grasos etoxilados (FAEO), alcoholes grasos propoxilados (FAPO), ésteres de sorbitano, polisorbatos, alquilpoliglucósidos (APG), alcanolamidas, ésteres de glicerol y sus derivados, entre otros. Son conocidos por su baja toxicidad y alta compatibilidad con otros tipos de surfactantes.⁴



Por otro lado, los surfactantes aniónicos (AS) contienen un grupo funcional con carga negativa. Este grupo incluye carboxilatos, como el estearato de sodio; fosfatos, como los alquil-aril éteres fosfatos o los alquil éter fosfatos; sulfatos, como el laurilsulfato de sodio (SLS) (Fig. 1) o el dodecilsulfato de sodio (SDS); y sulfonatos, como los bencenosulfonatos de alquilo de cadena lineal o el sulfonato de perfluorooctano (PFOS). Su alta eficacia en la eliminación de grasas y suciedad los hace ampliamente utilizados en productos de limpieza.⁵

En contraste, los surfactantes catiónicos poseen un grupo con carga positiva. Entre ellos se encuentran los cloruros de benzalconio, bencetonio, cetilpiridinio y hexadeciltrimetilamonio. Gracias a su afinidad con superficies cargadas negativamente, se emplean comúnmente como desinfectantes y suavizantes textiles, además de ser utilizados en productos cosméticos.⁶

Finalmente, los surfactantes anfóteros pueden actuar como aniónicos o catiónicos según el pH del medio. Este grupo incluye betaínas, sultaínas, aciletilenodiaminas, N-alquil aminoácidos y alquilsulfobetainas. Son apreciados en productos cosméticos y de cuidado personal debido a sus propiedades humectantes y estabilizantes.⁷

1.2. Surfactantes aniónicos

Los AS, como los carboxilatos, sulfatos, sulfonatos y fosfatos antes mencionados, son los más comunes en la industria de limpieza y cuidado personal debido a su potente acción espumante y detergente, y su relación eficacia-precio. Durante la primera década de los años 2000, la producción de AS constituyó el 70 – 75 % del total de surfactantes producidos a nivel mundial.⁸ Entre los AS más comunes se encuentran los ya mencionados SLS, SDS y PFOS, presentes en productos como detergentes para ropa, jabones líquidos, champús y pastas dentales. Además, estos surfactantes son utilizados en procesos industriales como la flotación de minerales y en la formulación de pesticidas y herbicidas. No obstante, su capacidad para emulsificar grasas y aceites los hace esenciales en la industria alimentaria y farmacéutica por su capacidad humectante y dispersante.⁹



Los AS son también altamente eficientes en la remoción de contaminantes catiónicos, ya que, al disolverse en agua, se ionizan y adquieren carga negativa. Esto les permite interactuar fácilmente con materiales o sustancias con carga positiva, como las arcillas, ciertos colorantes, y otro tipo de cationes de interés ambiental.¹⁰

1.2.1. Impacto ambiental y efectos en la salud

El uso extensivo de AS ha generado preocupación debido a su impacto ambiental y en la salud humana. Estos compuestos pueden persistir en el ambiente, afectando la calidad del agua y alterando la vida acuática al disminuir la tensión superficial y afectar procesos biológicos esenciales.¹¹ Aunque algunos AS son biodegradables, su degradación aeróbica en plantas de tratamiento de aguas residuales suele ser parcial, lo que permite que



una fracción significativa se adsorba en los lodos de depuración. Cuando estos lodos son vertidos en suelos, ríos o cuerpos de agua, pueden liberar surfactantes residuales, afectando la salud de diversas especies y alterando el equilibrio de los ecosistemas. Además, algunos de estos surfactantes pueden ser potencialmente perjudiciales por sí mismos o generar subproductos tóxicos al degradarse, contribuyendo a la contaminación de ecosistemas acuáticos y terrestres.¹²

La exposición a estas sustancias también puede tener efectos adversos en la salud humana. El contacto prolongado con la piel, especialmente en altas concentraciones, puede causar irritación y sequedad, como sucede con el SLS y los alquil bencensulfonatos. La inhalación de aerosoles que contienen estos compuestos puede irritar las vías respiratorias, mientras que la ingestión accidental puede provocar trastornos gastrointestinales. Aunque muchos de estos surfactantes se consideran seguros en concentraciones controladas, su uso indiscriminado y la exposición continua pueden derivar en consecuencias a largo plazo, como alergias o sensibilización cutánea.⁵

Por estas razones, el control y monitoreo de estos surfactantes se vuelve cada vez más necesario; y para ello, es imprescindible desarrollar metodologías analíticas eficaces, sencillas y de fácil implementación, que además sean de bajo costo y tengan un impacto ecológico reducido.

1.3. Determinación de surfactantes aniónicos

La determinación de AS puede realizarse mediante diversos métodos analíticos, cuya elección depende de factores como la naturaleza y tipo de muestra, los requisitos analíticos específicos, las limitaciones operativas y los recursos disponibles. En este contexto, la implementación de técnicas avanzadas o su combinación con métodos simplificados, como la espectroscopía y la conductimetría,¹³ suele representar un enfoque integral y eficiente para obtener un análisis preciso y confiable de estos compuestos en diferentes matrices.

En estudios ambientales y de control de calidad de AS, se emplean métodos potenciométricos¹⁴ o conductimétricos,¹⁵ mientras que para lograr una mayor precisión y selectividad se recurren a técnicas avanzadas, como la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC),¹⁶ la isotacoforesis con detección conductimétrica¹⁷ o cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas.¹⁸ Estas

técnicas permiten la separación y cuantificación precisa de los AS en matrices complejas. Además, la extracción en fase sólida, combinada con métodos espectroscópicos¹⁹ o cromatográficos,²⁰ mejora la detección al facilitar la concentración de estos compuestos antes del análisis. Por otra parte, para la evaluación de biodegradabilidad y toxicidad de este tipo de surfactantes se utilizan ensayos con microorganismos y mediciones de la tensión superficial.²¹⁻²³



Figura 2. Sistemas de análisis comercial de surfactantes aniónicos (AS): Hach® LCK432 (izq.) y Metrohm® Surfactrode Refill (der.).

Existen también métodos comerciales para la determinación precisa y rápida de AS. Uno de ellos es la titulación potenciométrica bifásica, conforme a la norma EN 14480,²⁴ que emplea un titulante catiónico como la Hyamina (cloruro de bencetonio) y un electrodo especializado, como el Surfactrode Refill de Metrohm^{®25} (ver Fig. 2. der.). Este método es aplicable tanto en medios acuosos como en mezclas con disolventes orgánicos. Otra alternativa es el test de cubetas de Hach® (Ref. LCK432)^b (ver Fig. 2. izq.), basado en la prueba de sustancias activas al azul de metileno (MBAS), el cual combina la extracción líquido-líquido (LLE) y la medición fotométrica para determinar concentraciones de AS en el intervalo de 0,1 – 0,4 mg/L.

Si bien estos sistemas comerciales están diseñados para ser fáciles de usar, seguros y capaces de proporcionar resultados exactos y reproducibles, su implementación puede verse limitada por su costo y disponibilidad. Además, la dependencia de un sistema de detección auxiliar con alimentación eléctrica externa limita su portabilidad y dificulta su uso en aplicaciones de campo donde no se dispone de este recurso.

1.3.1. Prueba de sustancias activas al azul de metileno (MBAS)

Uno de los métodos comúnmente usados en el análisis de AS en aguas potables, superficiales y residuales domésticas e industriales es la prueba MBAS. Este método se basa en la extracción secuencial y medición fotométrica de estos compuestos combinados con el azul de metileno. Descrito por primera vez en 1945 por J. H. Jones,²⁶ ha sido ampliamente adoptado en distintas normativas como la ASTM D2330-02,²⁷ la ISO 7875-1:1996²⁸ y la APHA 5540 C,²⁹ así como en regulaciones que incluyen el libro de “Métodos para el análisis químico de aguas y aguas residuales” del Centro Nacional de Servicios para Publicaciones Ambientales (NSCEP) de la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos, entre otras. Su simplicidad, precisión, alta sensibilidad (hasta 0,025 mg/L) y amplio rango de aplicación han consolidado la prueba MBAS como una herramienta eficaz para la detección y cuantificación de AS.

1.3.1.1. Fundamentos de la prueba MBAS

Esta prueba se basa en la formación de un par iónico entre el azul de metileno (MB⁺), un colorante catiónico, y los AS presentes en la muestra (ver Fig. 3). El compuesto resultante se transfiere de la fase acuosa a un solvente orgánico, generalmente cloroformo, mediante un proceso de extracción

^b [Surfactantes aniónicos, cubeta test de 0,1 a 4,0 mg/L | Hach España - Aspectos Generales | Hach](#)

líquido-líquido (LLE). Para asegurar una transferencia eficiente, se realizan tres extracciones sucesivas bajo condiciones experimentales controladas hasta alcanzar el equilibrio. La intensidad del color azul en el extracto orgánico se mide espectrofotométricamente a 652 nm, lo que permite la cuantificación de los AS en términos de MBAS.



Figura 3. Representación esquemática de la formación del par iónico RSO_3MB . Donde RSO_3^- representa el anión sulfonado de un AS y MB^+ representa el azul de metileno catiónico.

1.3.1.2. Limitaciones de la prueba MBAS

Dentro de las limitaciones de la prueba MBAS se incluyen las interferencias positivas y negativas, su falta de especificidad y los problemas de adsorción. Las interferencias positivas pueden derivar en una sobreestimación de la concentración de AS en la muestra y son causadas por la presencia de otras sustancias activas al azul de metileno, como sulfonatos orgánicos, sulfatos, carboxilatos, fenoles y ciertos compuestos inorgánicos. Por otro lado, las interferencias negativas pueden subestimar la cantidad de AS debido a la presencia de surfactantes catiónicos y sustancias de carga positiva, como las aminas.

Además, la prueba MBAS carece de especificidad, ya que no distingue entre diferentes tipos de AS y otras sustancias activas al azul de metileno, lo que puede llevar a una cuantificación errónea del contenido total de estos compuestos. Asimismo, la presencia de material particulado en la muestra puede provocar la adsorción de las MBAS, lo que genera una extracción incompleta y variable de los AS, afectando negativamente la precisión del análisis. Adicionalmente, en concentraciones ≤ 1 mg/L, los AS pueden adsorberse en las paredes de los recipientes de almacenamiento, reduciendo su disponibilidad en la fase acuosa y afectando la eficiencia de la extracción.

No obstante, todas estas limitaciones pueden superarse mediante el uso de resinas de intercambio iónico para la eliminación de interferentes catiónicos o aniónicos, filtrando la muestra para eliminar material particulado, aplicando sublimación para aislar los surfactantes no iónicos, o añadiendo peróxidos para eliminar ciertos interferentes como los sulfitos. También se pueden emplear fosfatos alcalinos para reducir la adsorción de los AS en las paredes de los recipientes.

1.3.2. Desafíos en la determinación de AS

Si bien la implementación de técnicas avanzadas ya sea en combinación con métodos simplificados o de forma independiente (véase la Sección 1.3), ofrece un enfoque integral y eficiente para el análisis preciso y confiable de AS en diversas matrices, su aplicabilidad puede estar limitada por restricciones presupuestarias o por la disponibilidad de equipos e insumos, como se mencionó anteriormente. No obstante, estas limitaciones, aunque representan desafíos a considerar, no siempre impiden la adopción de esta estrategia analítica.

En contraste, los métodos colorimétricos tradicionales, como la prueba MBAS, constituyen una alternativa económica y de fácil implementación, capaz de proporcionar resultados satisfactorios en muchos escenarios analíticos. Sin embargo, a pesar de su accesibilidad y eficacia en condiciones controladas, la prueba MBAS presenta limitaciones inherentes, como la interferencia de compuestos no relacionados con los AS y una sensibilidad reducida en muestras con bajas concentraciones de estos analitos o alta carga orgánica y material particulado.

Afortunadamente, estas limitaciones pueden mitigarse mediante el uso de técnicas complementarias, como la sublimación, la filtración, la eliminación de interferentes con resinas de intercambio iónico o el empleo de reactivos especializados. De este modo, la prueba MBAS sigue siendo una opción viable y eficaz en múltiples aplicaciones. No obstante, su dependencia de sistemas de detección, como los espectrofotómetros UV-VIS convencionales, sigue siendo un aspecto susceptible de mejora, especialmente en lo que respecta a la portabilidad y versatilidad de la prueba para su implementación en campo, así como también de su sostenibilidad y potencial uso en sistemas portátiles de análisis.

En este contexto, la espectroscopía de imágenes surge como una alternativa prometedora para reemplazar la espectrofotometría UV-VIS convencional, utilizada tradicionalmente como técnica determinativa en la prueba MBAS. La elección de esta técnica instrumental no convencional permite lograr un equilibrio entre costo y viabilidad operativa, al tiempo que garantiza portabilidad y versatilidad sin comprometer la precisión ni la eficacia del análisis, adaptándose a las necesidades específicas de cada aplicación.

1.4. Tecnologías emergentes en análisis químico

El análisis químico ha experimentado una notable evolución en la última década con la incorporación de tecnologías emergentes que han facilitado el desarrollo de sistemas de análisis más accesibles, portátiles y eficientes. Entre estas innovaciones se destaca la espectroscopía y procesamiento de imágenes, una técnica basada en la captura, procesamiento y análisis de imágenes digitales. Comúnmente, en esta técnica suelen emplearse las cámaras modernas de dispositivos móviles (smartphones, y tablets) u otros, así como la tecnología de impresión 3D para la fabricación de módulos ensamblables y acoplables a los sistemas de detección. Esta técnica ha permitido la creación de sistemas de análisis personalizados y adaptables a las necesidades experimentales, posibilitando el diseño y ensamblaje de imageno-espectrofotómetros compactos que integran portaceldas y distintos elementos ópticos. Un ejemplo de esto es el portaceldas dual (PCD) impreso en PLA, diseñado como parte de un sistema modular portátil para la determinación imageno-colorimétrica de fósforo total en bebidas cola, desarrollado por Pecini et al. en 2024 (ver Fig. 4).³⁰

En este contexto, la integración de la espectroscopía de imágenes, la tecnología móvil, y la impresión 3D representa un avance significativo en el desarrollo de sistemas portátiles de análisis químico. Esta combinación proporciona soluciones versátiles para aplicaciones en investigación, monitoreo ambiental y seguridad alimentaria, entre otras, al permitir obtener información analítica relevante a partir de muestras de interés en diferentes entornos.

1.4.1. Espectroscopía de imágenes SI

La espectroscopía de imágenes (SI)^o aprovecha la capacidad de las cámaras modernas de smartphones y otros dispositivos de captura, para obtener información analítica relevante a partir de la interacción de la luz con el analito en la muestra. Mediante el uso de algoritmos avanzados de procesamiento de imágenes y calibraciones específicas, se puede transformar los sensores de las cámaras de smartphones en herramientas analíticas de bajo costo, permitiendo la determinación

^o En adelante, nos referiremos a la captura, procesamiento y análisis de imágenes digitales como espectroscopía de imágenes (SI –de Spectral-imaging– o espectroscopía SI), dado que estos son componentes esenciales de dicha técnica.

del contenido de compuestos de interés en distintas matrices sin necesidad de equipos voluminosos y costosos, como los espectrofotómetros convencionales.

La espectroscopía SI, integra los principios de la espectroscopía y la tecnología de imágenes, permitiendo obtener datos espectrales de manera parcial o completa a partir de los píxeles de una imagen. Dependiendo de las bandas o intervalos de longitudes de onda capturados en la imagen, se pueden distinguir tres tipos principales: imagen a color (RGB), imagen multiespectral e imagen hiperespectral o de espectro completo (Fig. 5).

Una imagen a color o multiespectral se genera a partir de un número limitado de bandas del espectro electromagnético (3 o más), con variaciones en su anchura y continuidad. Por otro lado, la hiperespectral o de espectro completo abarca regiones específicas del espectro o la totalidad del mismo, y se destaca por su alta resolución espectral. Además de la resolución espectral, otra característica importante de la imagen espectral es la resolución espacial, que está directamente relacionada con el número de píxeles del sensor utilizado para capturarlas.

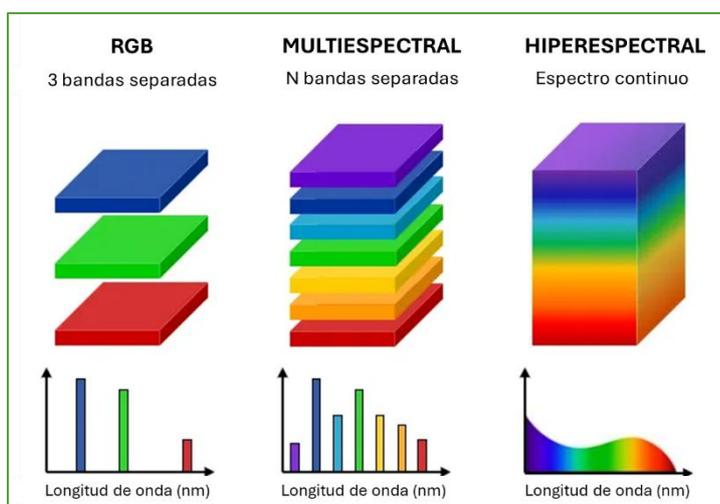


Figura 4. Tipos de imágenes espectrales. De izq. a der.: imágenes a color o RGB, multiespectrales, hiperespectrales o de espectro continuo.

1.4.1.1. Formación de imágenes

La formación de imágenes es fundamental para comprender la respuesta de los sensores en cámaras de smartphones y otros dispositivos, como los sensores CMOS, a la radiación. Al igual que los conos y bastones en la retina humana, estos sensores son especialmente sensibles a la luz visible, que abarca longitudes de onda entre 380 y 700 nm en el espectro electromagnético.^{31,32}

Estos sensores están formados por arreglos lineales o matriciales de fotositios o píxeles, que capturan los electrones generados por la incidencia de fotones sobre estos. La cantidad de luz recibida por ellos, medida en términos de luminancia, depende del tiempo de exposición. Así, una imagen representa gráficamente la luminancia, y su calidad también está influida por factores como el tamaño y capacidad de los fotositios, la disposición de los filtros en el sensor, el ruido y la cuantización, entre otros.^{33,34}

Estos sensores, además, pueden incluir filtros o canales con sensibilidades específicas. En imágenes tricromáticas, la respuesta de color se expresa como un vector de tres componentes. Los sensores con filtros RGB responden a longitudes de onda largas (R, rojo), medias (G, verde) y cortas (B, azul) del espectro visible. Alternativamente, en sistemas basados en colorimetría CIE,^d las designaciones XYZ corresponden a las funciones de ajuste de color del espacio CIE XYZ (1931), donde Y representa la luminancia y X y Z describen la cromaticidad.^{34,35}

^d La CIE (del francés, Commission Internationale de l'Eclairage) define el gamut como el rango de colores que un sistema puede reproducir dentro de un espacio de color determinado, tales como el RGB, el CMYK o el CIE 1931.

1.4.1.2. Captura de imágenes

Las cámaras de los smartphones capturan imágenes mediante un proceso en el que la luz atraviesa la lente y la apertura del diafragma, llega al sensor (generalmente CMOS) y es convertida en señales eléctricas proporcionales a su intensidad. Estas señales son digitalizadas y optimizadas por el procesador de señales de imagen (ISP) del smartphone, aplicando correcciones de color y mejorando su calidad. Finalmente, la imagen procesada se almacena en la memoria del dispositivo, usualmente en formato JPEG, y se visualiza en la pantalla de este.³⁶

La corrección de color implica ajustar los colores capturados por el sensor para asegurar su precisión y consistencia en diversas condiciones, como cambios de iluminación o configuraciones de la cámara. Los smartphones aplican algoritmos que incluyen el balance de blancos (WB) para mantener los tonos neutros, y técnicas como la corrección gamma, el mapeo de colores y el ajuste de saturación, contraste y tonos, con el fin de obtener imágenes visualmente atractivas y fieles a la realidad.³⁷

Después de la captura y procesamiento de la imagen por el sensor y el ISP, un sistema estructurado gestiona la representación, codificación y almacenamiento del color. Esto implica el uso de espacios de color, como RGB o XYZ, para definir el gamut^e y asignar valores numéricos a los colores, como en sRGB. La codificación del color se integra en el archivo de imagen, especificando el formato (JPEG, PNG, etc.), el espacio de color y el método de codificación, por ejemplo, sRGB con 8 bits por canal en imágenes JPEG.^{34,35}

1.4.1.3. Parámetros de captura

Las cámaras de los smartphones permiten ajustar diversos parámetros de exposición, como ISO, velocidad de obturación, apertura, balance de blancos y modos de medición. Entre ellos, ISO, apertura y velocidad de obturación conforman el triángulo de exposición (Fig. 6), un concepto clave en fotografía e imagenología digital que define el nivel de exposición de una imagen.³⁸

La sensibilidad ISO, la velocidad de obturación y la apertura conforman el triángulo de exposición, donde cualquier ajuste implica compensaciones para equilibrar el brillo, el ruido y la reproducción del color. Además, el balance de blancos (WB) ajusta la temperatura del color, y el modo de medición determina cómo la cámara evalúa la luz. Estos parámetros, registrados en los metadatos de la imagen, influyen en el resultado final de la exposición.^{39,40}

El ajuste adecuado de los parámetros de captura es esencial para evitar problemas de exposición, como la pérdida de detalle en sombras o realces, la subexposición (imágenes oscuras) o la

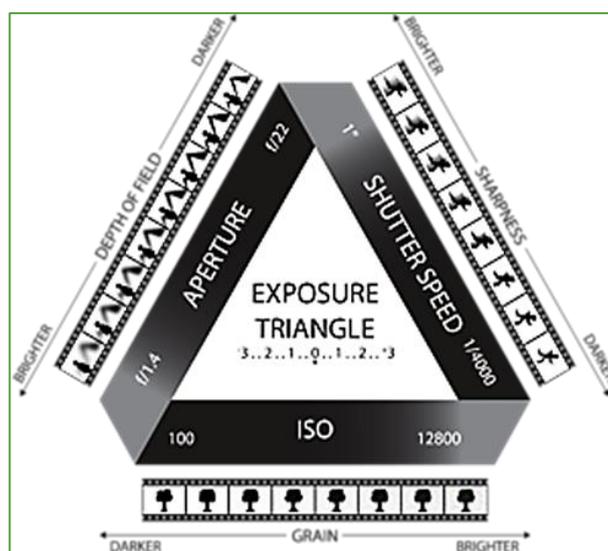


Figura 5. Triángulo de exposición descrito por Bryan Peterson en 1990 en "Understanding Exposure".

^e La colorimetría CIE estudia y estandariza la percepción del color en sistemas visuales, desarrollando modelos y métodos para su medición y descripción precisa. Además, facilita la comunicación estructurada del color en diversas aplicaciones, como la imageno-espectroscopía.⁴⁴

sobreexposición (imágenes demasiado brillantes). Una correcta configuración no solo mejora la calidad de las imágenes, sino que también garantiza una medición precisa del color.³⁸

1.4.1.4. Procesamiento de imágenes

Las técnicas de análisis basadas en imágenes espectrales ya sean tricromáticas (RGB), multispectrales o hiperespectrales, generan datos multivariados a partir de cada píxel o conjunto de píxeles de la imagen. Estos datos se asocian a un espectro de colores e intensidades de luz que reflejan la presencia de distintos compuestos químicos en la muestra.⁴¹ En este contexto, el procesamiento de imágenes desempeña un papel fundamental en el análisis químico basado en imágenes digitales, ya que, mediante la aplicación de algoritmos y operaciones matemáticas, permite mejorar la calidad de la imagen y extraer información espectroquímica relevante. Esta información puede servir como base para análisis estadísticos o quimiométricos posteriores.⁴²

Dentro de los procedimientos más comunes en el procesamiento de imágenes se incluyen técnicas como el ajuste de contraste, la ecualización de histograma, la reducción de ruido, la segmentación y el análisis de regiones de interés (ROI), entre otros. Estas herramientas permiten optimizar la interpretación del color y mejorar la resolución de datos importantes en zonas específicas de la imagen. En este sentido, estos procedimientos permiten realizar análisis químicos más detallados y precisos.^{34,43}

El ajuste de contraste o ajuste lineal de niveles⁴³ (Ec. 1) se aplica generalmente cuando una imagen tiene bajo contraste o cuando se necesita expandir el rango dinámico de la imagen para utilizar todo el intervalo de valores de los píxeles en ella. Este procedimiento también permite aumentar la diferencia entre las áreas oscuras y claras de una imagen. En la Ec. 1, *sRGB* representa los datos de color medidos en una ROI de una solución blanco de reactivos, solución estándar o muestra en cada imagen, y *sRGB_m* y *sRGB_M* denotan los valores RGB mínimo y máximo medidos en las ROI usadas como valores negro y blanco de referencia, respectivamente.

$$\text{Valor } sRGB \text{ ajustado} = 0 + ((sRGB - sRGB_m)/(sRGB_M - sRGB_m)) \times (255 - 0) \quad \text{Ecuación 1}$$

La normalización de datos (Ec. 2) se aplica para escalar los valores RGB medidos, típicamente en un intervalo entre 0 y 255, a un intervalo entre 0 y 1 al dividirlos por 255. Esta operación convierte los valores RGB originales, representados como enteros de 8 bits, a una representación normalizada en punto flotante. En la Ec. 2, *A-sRGB* representa el valor RGB ajustado usando la Ec. 1.

$$\text{Valor } sRGB \text{ normalizado} = (A - RGB \text{ data})/255 \quad \text{Ecuación 2}$$

En imágenes digitales, la información de color se codifica comúnmente en el espacio *sRGB*, donde los valores RGB están sujetos a una corrección gamma (con un exponente de 1/2,4)³⁴ para ajustar la respuesta no lineal del sensor a la luz. Esta transformación optimiza la distribución tonal, mejorando contraste, saturación y la coherencia cromática entre distintos dispositivos. Sin embargo, en aplicaciones de análisis químico basadas en datos RGB, es fundamental revertir esta corrección para recuperar la relación lineal entre la intensidad de luz y los valores de color, asegurando mediciones precisas (Ec. 3). En la Ec. 3, *N-sRGB* es el dato *sRGB* medido y normalizado usando la Ec. 2.

$$\text{Valor } RGB \text{ linealizado} = \begin{cases} ((\text{Valor } N - sRGB + 0,055)/1,055)^{2,4}; & \text{si valor } sRGB > 0.04045 \\ N - sRGB \text{ value}/12,92; & \text{caso contrario} \end{cases} \quad \text{Ecuación 3}$$

Dado que el espacio de color *sRGB* es no lineal, los valores RGB obtenidos de imágenes digitales deben convertirse a un espacio de color lineal adecuado, como CIE XYZ, tras aplicar la inversión de

la corrección gamma.⁴⁴ Este procedimiento, que se realiza aplicando las Ecs. 2, 3 y 4, garantiza una representación precisa del color y un análisis colorimétrico riguroso de las imágenes estudiadas. En la Ec. 4, LN-R,G, o B representa los valores RGB linealizados y normalizados, mientras que Y denota la luminancia medida dentro del espacio de color CIE XYZ.

$$\text{Valor CIE XYZ} = \begin{cases} X = LN-R * 0.4124564 + LN-G * 0.3575761 + LN-B * 0.1804375 \\ Y = LN-R * 0.2126729 + LN-G * 0.7151522 + LN-B * 0.0721750 \\ Z = LN-R * 0.0193339 + LN-G * 0.1191920 + LN-B * 0.9503041 \end{cases} \quad \text{Ecuación 4}$$

1.4.2. Impresión 3D en química analítica

La impresión 3D ha transformado la química analítica al facilitar la fabricación rápida y económica de dispositivos personalizados, superando las limitaciones de la manufactura tradicional y la disponibilidad de módulos diseñados a medida. Su integración en el laboratorio permite desarrollar prototipos funcionales adaptados a necesidades específicas, optimizando métodos analíticos con geometrías y materiales ajustables. Esta tecnología ha impactado diversas áreas, como el muestreo, el tratamiento de muestras, la ciencia de la separación, los sensores y las técnicas de bioanálisis y detección, ampliando las posibilidades de innovación en estos campos.⁴⁵

La viabilidad de una invención impresa en 3D depende de su aplicación, los recursos disponibles y la experiencia del usuario. Para evitar inversiones innecesarias, es recomendable comenzar con diseños simples y materiales fáciles de imprimir, como el ácido poliláctico (PLA), y realizar pruebas preliminares antes de recurrir a técnicas avanzadas. La fabricación de equipos complejos o instrumentos comerciales debe evaluarse cuidadosamente, considerando la implementación de un flujo de trabajo que incluya medidas precisas mediante diseño asistido por computadora (CAD), tolerancias y verificaciones de ajuste, con el fin de minimizar la pérdida de material y optimizar los recursos. En casos que involucren diseños preexistentes y documentación adecuada (archivos STL, BOM e instrucciones), la impresión será más viable y garantizará la reproducibilidad científica.⁴⁶

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

En esta tesina se propone el desarrollo de un método imageno-colorimetría^f para la cuantificación de surfactantes aniónicos en muestras de aguas ambientales mediante la prueba de sustancias activas al azul de metileno (MBAS). El método involucra la extracción con cloroformo del par iónico LAS-MB formado por la combinación de dodecibencenosulfonato de sodio (LAS) y azul de metileno catiónico (MB⁺). La determinación colorimétrica se hará mediante espectroscopía SI, empleando imágenes a color capturadas con una cámara de smartphone como detector y un sistema modular portátil impreso en 3D constituido por un portaceldas múltiple (MCH) y una luz LED.

Hipótesis de trabajo: El uso de un sistema imageno-colorimétrico basado en la combinación de tecnología de smartphones, dispositivos portátiles impresos en 3D y la técnica MBAS permitirá la cuantificación precisa, económica y portátil de SA en muestras de aguas ambientales, con resultados comparables a los obtenidos con el método de referencia APHA 5540 C.

2.2. Objetivos específicos

- **Optimización del proceso de extracción:** Escalar y optimizar el proceso de extracción del par iónico LAS-MB, evaluando el volumen de extractante y el número de extracciones, y la forma de realizarlas.
- **Desarrollo del sistema imageno-colorimétrico:** Diseñar un sistema modular portátil impreso en 3D que incorpore un MCH impreso en PLA, una pantalla retroiluminada con luz LED blanca cálida, y un smartphone como sistema de detección.
- **Calibración del sistema imageno-colorimétrico:** Implementar el sistema modular imageno-colorimétrico en la detección y cuantificación de AS en muestras de aguas ambientales, mediante la prueba MBAS. Ajustar los parámetros de captura (ISO, apertura, balance de blancos, entre otros) para obtener imágenes correctamente expuestas, y construir la curva de calibración de LAS-MB a partir de ellas.
- **Análisis de muestras reales y validación del método:** Se analizarán muestras reales de aguas superficiales y residuales domésticas aplicando el método desarrollado. Se compararán los resultados obtenidos con el método imageno-colorimétrico propuesto frente al método de referencia APHA 5540 C. También se realizarán estudios de recuperación para evaluar la precisión y exactitud del método.

^f En adelante, utilizaremos el término imageno-colorimetría para hacer referencia a la aplicación de la espectroscopía de infrarrojo cercano (SI) basada en el uso de imágenes digitales en color, que permiten medir el color mediante modelos como sRGB o CIEXYZ.

3. Metodología

3.1. Materiales, instrumentos y software

3.1.1. Material de laboratorio y otros

Se utilizaron matraces aforados Glassco Clase A, (Glassco Laboratory Equipments, India) de 100,00 mL; 50,00 mL y 25,00 mL; y tubos de vidrio óptico de 10 mL Hach® (Hach Co., Colorado, EE.UU.). Se utilizó un filamento PLA negro con un diámetro de 1,75 mm (NHT, Chivilcoy, Argentina) para la fabricación de las piezas del MCH. Además, se empleó una lámina comercial de poliestireno translúcido blanco de 91 x 70 x 4 mm como pantalla difusora. También se utilizó una lámina de cartulina negra de 91 x 70 mm, en la cual se cortaron tres rendijas de 4,7 x 1,0 cm de forma transversal, separadas por 1,0 cm, para la adquisición de imágenes retroiluminadas. Como iluminantes se usaron una tableta de luz LED blanca (6500 K) ajustable (Plante SA, Buenos Aires, Argentina) y una tira de luz LED blanca cálida de 5 W.

3.1.2. Equipos e instrumentos

Se utilizó una balanza de precisión Ohaus TS 120S (Ohaus Europe GmbH, Nänikon, Suiza), micropipetas Dragon Lab MicroPette (Dragon Laboratory Instruments Limited, Beijing, China) con intervalos de volúmenes que incluyen: 100 – 1000 µL y 1000 – 5000 µL. Se usaron también, pipetas graduadas tipo Mohr de borosilicato y vaciado parcial (IVA SA, Buenos Aires, Argentina) de 1,00 mL y 5,00 mL. Además, se empleó un agitador Vortex Velp Scientifica ZX3 (Velp Scientifica SRL, Milán, Italia) y una impresora 3D Creality Ender 3 (Shenzhen Creality 3D Technology Co., Shenzhen, China).

Se usó un espectrofotómetro UV-VIS con arreglo de diodos Hewlett Packard 8452 A (Agilent Technologies, Avondale, PA, EE.UU.) para obtener los espectros del par iónico LAS-MB. Se empleó una celda espectrométrica de vidrio óptico de 4 mL con un camino óptico de 1 cm (Agilent Technologies, Avondale, PA, EE.UU.). El espectrofotómetro se operó en modo estándar utilizando el software HP 89532A UV-Vis(Rev. A.00.00, Agilent Technologies, Avondale, PA, EE.UU.). Para capturar imágenes digitales a color (sRGB), se usó la cámara trasera principal de un smartphone Samsung Galaxy A52 con sensor CMOS BSI, Sony IMX682, de 12 MP (F/1,8, 27 mm, 1/1,72", 0,8 µm, OIS) (Samsung Electronics Limited, Seúl, Corea).

3.1.3. Software

Se uso el software de diseño asistido por computadora (CAD, por sus siglas en inglés) SolidWorks® Premium 2019 (versión SP 0.0, Dassault Systèmes SolidWorks Corp., Velizy-Villacoublay, Francia) y el software de impresión 3D UltiMaker Cura (versión 4.13.1, Ultimaker B.V., Utrecht, Países Bajos) para el diseño y fabricación de todos los componentes que conforman el PCD. Las imágenes digitales fueron analizadas con el software de dominio público ImageJ® (versión 1.54e, ImageJ, National Institutes of Health, Maryland, Estados Unidos). Los datos RGB y espectrales fueron analizados y graficados utilizando el software Microsoft Excel® (versión Microsoft 365, Microsoft Corporation, Redmond, Washington, Estados Unidos). Para realizar los cálculos estadísticos en la calibración y validación del método propuesto se utilizó el software de análisis de datos ULC 2.0 (versión ULC 2.0.1 Build 20080117, final/lanzamiento, Oleguer Huguet Ibars y Ricard Boqué Martí, QAQO, Universitat Rovira I Virgili, Cataluña, España).

3.2. Reactivos, soluciones, y muestras

Para la preparación de las soluciones utilizadas en este trabajo, se emplearon reactivos de grado analítico y agua ultrapura ($18,3 \Omega \cdot \text{cm}^{-1}$). El material de laboratorio fue lavado previamente con una solución al 10 % v/v de ácido nítrico (HNO_3), evitando el uso de detergentes. Posteriormente, se enjuagó con agua destilada desionizada y, finalmente, con agua ultrapura antes de su uso.

3.2.1. Reactivos

Se emplearon los siguientes reactivos: dodecilmecenosulfonato de sodio (LAS, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na}$, CAS 25155-30-0) de Fluka AG (Buchs, Suiza); azul de metileno para microscopía (MB, $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, C.I. N.º 52015) de Cicarelli® (Santa Fe, Argentina); cloroformo (CHCl_3 , CAS 67-66-3) de Dorwil SA (Grand Bourg, Provincia de Buenos Aires, Argentina), ácido sulfúrico al 98 % (H_2SO_4 , 1,84 g/mL, CAS 7664-93-9) de J.T. Baker® (Avantor, EE. UU.), hidróxido de sodio (NaOH , CAS 1310-73-2) de Anedra® (Research-AG S.A., Argentina), fenolftaleína ($\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$, CAS 77-09-8) de Merck (Darmstadt, Alemania), y fosfato de sodio monobásico dihidratado ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CAS 13472-35-0) de Anedra® (Research-AG S.A., Argentina).

3.2.2. Soluciones

Las soluciones de trabajo de LAS y MB^+ se prepararon el mismo día de su uso a partir de soluciones stock de 1000 mg/L de cada compuesto. Para evitar su degradación, las soluciones se almacenaron a 5 °C. La preparación se realizó disolviendo en agua ultrapura una cantidad perfectamente pesada de LAS y MB^+ , utilizando una balanza de precisión.

Para la preparación de la curva de calibración del par iónico LAS-MB en un intervalo de concentraciones de 1,0 a 6,7 mg de LAS por litro de solución, se empleó: una solución estándar de trabajo de LAS de 10 mg/L y una solución de trabajo de MB^+ de 30 mg/L preparada en H_2SO_4 0,1 M. Además, se utilizó una solución de NaH_2PO_4 al 5,0 % p/v.

Para el ajuste de pH se utilizó una solución alcohólica de fenolftaleína al 1 % p/v, y soluciones 0,5 M de NaOH y H_2SO_4 .

3.2.3. Muestras

Se tomaron tres muestras diferentes de aguas ambientales: dos muestras de agua superficial, una en la entrada y otra en la salida del Arroyo Napostá, ubicado en la ciudad de Bahía Blanca (Buenos Aires, Argentina), y una muestra de la salida de la planta depuradora de aguas residuales de esta misma localidad, conocida como Primera Cuenca (Tabla 1).

Tabla 1. Nomenclatura utilizada para etiquetar las muestras reales de aguas naturales

Rótulo	Muestra	Coordenadas del punto de toma
Nar	Entrada de arroyo Napostá	38°41'44.8"S 62°15'50.6"W
Nab	Salida de arroyo Napostá	38°46'13.2"S 62°13'57.7"W
Cpri	Salida de la primera cuenca	38°47'52.7"S 62°13'17.8"W

3.3. Procedimientos

3.3.1. Desarrollo y aplicación del método propuesto

3.3.1.1. Desarrollo del sistema imageno-colorimétrico portátil

El sistema modular portátil de análisis imageno-colorimétrico (en adelante, "sistema IC") (Fig. 7) está compuesto por la cámara principal posterior (de ángulo normal) de un smartphone Samsung Galaxy A52, que actúa como detector, y un portaceldas múltiple (MCH) de tres ranuras (dos laterales y una central), impreso en 3D y acoplado a una caja de luz. El MCH incluye una lámina traslúcida de poliestireno blanco como pantalla difusora, sobre la cual se superpone una cartulina negra con tres rendijas alineadas con cada ranura. La caja de luz, fabricada en plástico (130 × 106 × 43 mm), alberga una tira LED de luz blanca cálida (5 W) de 1,0 m de longitud, dispuesta en espiral a lo largo de sus paredes internas.



Figura 6. Sistema modular portátil de análisis imageno-colorimétrico impreso en 3D (Sistema IC) basado en el uso de un smartphone acoplado al portaceldas múltiple (MCH). De izq. a der.: vista superior del sistema IC; vista en perspectiva del sistema IC; vista del interior de la caja de luz, la interfase de acoplamiento MCH-Caja de luz, y de la pantalla difusora.

3.3.1.1.1. Modelado 3D del MCH

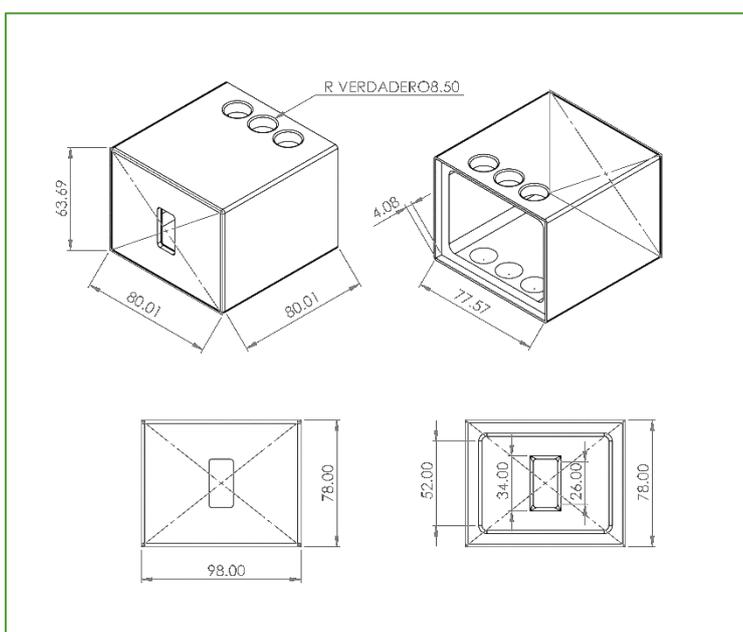


Figura 7. Croquis del portaceldas múltiple (MCH) realizado con el software SolidWorks®. Todas las dimensiones se encuentran dadas en milímetros.

El diseño 3D del MCH modular se realizó utilizando el software SolidWorks® CAD, mientras que su impresión se llevó a cabo mediante el software UltiMaker® Cura. La estructura del MCH fue modelada con precisión empleando herramientas de esbozo y extrusión en SolidWorks®. Las dimensiones del módulo se presentan en la Fig. 7.

Para la fabricación de los componentes del MCH modular, que incluyen el portaceldas, los soportes y la interfaz de acoplamiento con la caja de luz, se utilizó filamento de PLA negro mate y una impresora 3D Creality Ender 3, mediante la técnica de deposición de material fundido (FDM). Los parámetros de impresión se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros de impresión utilizados en la fabricación del MCH

Parámetros de impresión	Valor
Altura de la capa (mm)	0,2
Grosor de la pared (mm)	0,8
Densidad de relleno (%)	20
Temperatura de la boquilla (°C)	200
Temperatura de la cama caliente (°C)	60
Enfriamiento	Activado
Velocidad de impresión (mm/s)	50,0

3.3.2. Calibración metodológica y análisis de muestras reales

La calibración del método propuesto se llevó a cabo siguiendo el procedimiento descrito en la norma APHA 5540 C, con la diferencia de que la detección espectrofotométrica UV-VIS fue reemplazada por espectroscopía SI. Para ello, se preparó por cuadruplicado una curva de calibración del par iónico LAS-MB en un intervalo de concentraciones de 1,0 a 6,7 mg de LAS por litro de solución.

3.3.2.1. Procedimiento

Con el fin de preparar la curva de calibración de LAS en un intervalo de concentraciones de 1,0 a 6,7 mg/L de este compuesto, se añadieron en tubos de vidrio óptico Hach® de 10 mL, volúmenes crecientes (300 – 2000 µL) de una solución estándar de trabajo de LAS (10 mg/L) y se diluyeron con agua destilada hasta un volumen de 3,00 mL. Luego, se ajustó el pH de cada solución en un intervalo entre 7 y 8 mediante la adición de una solución alcohólica de fenolftaleína al 1 % p/v como indicador de pH, y la dosificación de NaOH 0,5 M o H₂SO₄ 0,5 M según fuera necesario. Una vez ajustado el pH, se añadieron 2,50 mL de solución de trabajo de MB⁺ para favorecer la formación del par iónico LAS-MB. Finalmente, en cada tubo se alcanzó un volumen de ≈5,50 mL de solución acuosa.

La extracción del complejo LAS-MB se realizó de forma discontinua y acumulativa hasta alcanzar 3 mL de CHCl₃, adicionando fracciones de 1 mL por vez. Tras cada adición, la mezcla se agitó en un vortex durante 30 segundos y se dejó en reposo por 2 minutos para permitir la separación de fases. Finalmente, los 3 mL del extracto clorofórmico acumulado de LAS-MB se reservaron en los tubos de vidrio óptico para su medición. La solución blanco de reactivos se preparó y trató siguiendo el procedimiento antes descrito, pero sin agregar solución estándar de LAS.

Los tubos de vidrio con los extractos clorofórmicos acumulados de LAS-MB se colocaron por duplicado, según el orden en el que fueron preparados, en las ranuras laterales del MCH, dejando vacía la ranura central (ver Fig. 7, Sección 3.3.1.1.). Una vez ubicados los tubos y encendida la caja de luz del sistema IC, se capturaron imágenes digitales con la cámara de ángulo normal de un smartphone Galaxy A52, utilizando los parámetros de captura especificados en la Tabla 3, Sección 3.3.2.2.1.

Las imágenes fueron transferidas a un ordenador para su procesamiento secuencial, siguiendo el orden de preparación de las soluciones estándar de LAS para optimizar el análisis. A partir de los valores de luminancia en el espacio de color CIE XYZ, se construyó la curva de calibración en función de la concentración de LAS en mg/L. La señal analítica, expresada como $-\ln(Y_i / Y_0)$, se definió como

el logaritmo natural negativo de la razón de la luminancia (Y) de cada solución testigo Y_i y la luminancia del blanco Y_0 en el espacio de color CIE XYZ.

Las muestras de aguas ambientales (ver Tabla 1, Sección 3.2.3) se procesaron y analizaron siguiendo el mismo procedimiento que la solución de calibración de LAS, pero reemplazando su volumen por 3000 μL de cada muestra. El análisis se realizó por cuadruplicado y sin tratamiento previo.

3.3.2.2. Captura y procesamiento de imágenes

3.3.2.2.1. Captura de imágenes

Las imágenes digitales a color del sistema químico en estudio fueron adquiridas utilizando el modo Pro de la aplicación de la cámara principal del Samsung Galaxy A52. Los parámetros de captura se muestran en la Tabla 3. Las mismas tienen 2604 por 4624 píxeles de alto y ancho, respectivamente; y una relación de aspecto de 9:16. Las imágenes son almacenadas en el formato JPG, y el color mostrado en estas está representado en el espacio de color sRGB. Además, las imágenes fueron tomadas con un retraso de 2 s sin el uso de flash. La longitud focal de captura fue de 24 mm, con una compensación automática de exposición y una apertura de -2,0 EV y f/1,8, respectivamente.

Tabla 3. Parámetros de captura de la cámara principal del Samsung Galaxy A52 en modo Pro.

Parámetro	Valor
ISO	100
Velocidad de captura	1/350 s
Modo de enfoque	Automático
Balance de blanco	6500 K
Modo de medición	Matricial

3.3.2.2.2. Procesamiento de imágenes

El procesamiento de las imágenes digitales se realizó en un ordenador utilizando el software de código abierto ImageJ®. Para la medición de los valores RGB en las imágenes, se empleó una función Macro diseñada para el procesamiento por lotes, en la cual se integró el plugin de medición RGB. Para más información sobre la programación de la función Macro en ImageJ®, [haga clic aquí](#).

Este procedimiento incluyó la importación de la secuencia de imágenes correspondientes a las soluciones de calibración y muestras (obtenidas según el procedimiento descrito en la Sección 3.3.2.1). Posteriormente, se seleccionaron y duplicaron cinco ROI de 200 × 250 píxeles (Fig. 8, Pág. 17), que luego fueron almacenadas y procesadas.

Después de medir los valores RGB en las imágenes de color sRGB, estos fueron procesados y convertidos a la colorimetría CIE mediante las ecuaciones 1, 2, 3 y 4 de la Sección 1.4.1.4., utilizando el software Microsoft Excel®. La conversión de los valores sRGB no lineales a datos RGB lineales requirió la aplicación del ajuste lineal de niveles, la normalización y la inversión de la corrección gamma (ver Ecs. 1, 2 y 3). Finalmente, los datos normalizados y linealizados se transformaron en valores CIE XYZ empleando la Ec. 4.

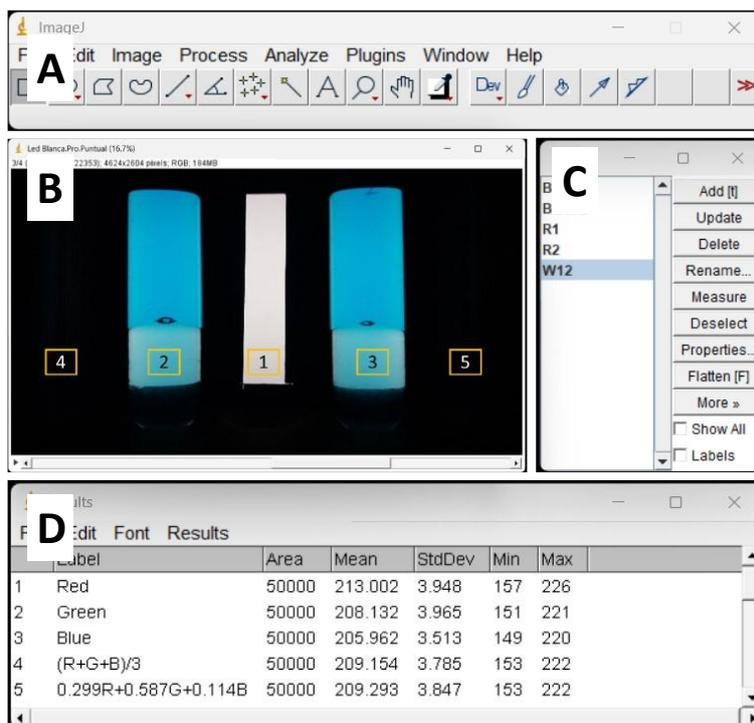


Figura 8. Flujo de trabajo de ImageJ® para medir valores RGB en imágenes digitales a color en formato sRGB. A: interfaz del software ImageJ®, B: ventana de secuencia de imágenes sRGB, C: ventana del administrador de ROI (1: blanco de referencia; 2 y 3: solución estándar/muestra; 4 y 5: negro de referencia), D: ventana de valores RGB medidos.

3.3.3. Aplicación de la norma APHA 5540 C

Para comparar los resultados obtenidos en el análisis de las muestras de aguas ambientales (ver Tabla 1, Sección 3.2.3.) mediante el método propuesto, se aplicó el procedimiento descrito en la Sección 3.3.2.1., empleando detección espectrofotométrica UV-VIS, conforme a la norma APHA 5540 C. Los espectros UV-VIS de los extractos clorofórmicos obtenidos tras la extracción de LAS-MB de las soluciones estándar y de las muestras fueron medidos con un espectrofotómetro Hewlett Packard 8452 A. Para la construcción de la curva de calibración, se utilizó como señal analítica la absorbancia de LAS-MB a 652 nm.

4. Resultados y discusión

4.1.1. Desarrollo del método propuesto

En esta tesina se planteó el desarrollo de un método imageno-colorimétrico para la cuantificación de AS en muestras de aguas ambientales mediante la prueba de sustancias activas al azul de metileno (MBAS). Este desarrollo implicó, en primera instancia, la adaptación del procedimiento recomendado por la Asociación Americana de Salud Pública (APHA) para la extracción y determinación de AS mediante la prueba MBAS con detección espectrofotométrica UV-VIS, descrito en la norma APHA 5540 C. En segundo lugar, se diseñó y fabricó un sistema modular portátil impreso en 3D para la implementación de la detección de MBAS por espectroscopía SI usando la cámara de un smartphone.

4.1.1.1. Adaptación de la norma APHA 5540 C

La adaptación del procedimiento descrito en la norma APHA 5540 C consistió en reducir el volumen de CHCl_3 utilizado en la extracción de LAS-MB de 100 mL a 3 mL. Como consecuencia, se sustituyeron las ampollas de decantación de 250 mL por tubos de vidrio óptico Hach® de 10 mL, en los cuales se llevó a cabo tanto la extracción de LAS-MB como su detección imageno-colorimétrica.

Para la cuantificación de AS mediante esta adaptación metodológica, se usaron como sistema de prueba, muestras de productos de limpieza comerciales: un limpiador líquido de superficies (MP1) y un jabón líquido (MP2). Para esto, se preparó una curva de calibración de LAS en un intervalo de concentraciones de 1,0 a 6,7 mg/L siguiendo el procedimiento descrito en la Sección 3.3.2.1. No obstante, la extracción de LAS-MB se realizó de manera discontinua y secuencial (SQE), conforme a la metodología original de la norma APHA 5540 C, en lugar de la extracción acumulativa (CE) propuesta en este trabajo. Esto implicó separar cada mililitro de CHCl_3 agregado tras la mezcla y la separación de fases.

Adicionalmente, con el objetivo de simplificar el procedimiento de extracción de LAS-MB, se evaluó también la posibilidad de realizar una única extracción utilizando 3 mL de CHCl_3 (SE) a un nivel de concentración medio de LAS (3,7 mg/L de LAS); además, de la CE antes descrita. Para ello, la mezcla se agitó en un vórtex durante 90 segundos, permitiendo posteriormente la separación de fases antes de proceder con la medición. Sin embargo, como se muestra en la Fig. 10, la extracción CE logró recuperar una mayor cantidad de LAS en comparación con las alternativas SE y SQE, ambas realizadas al mismo nivel de concentración de LAS (3,7 mg/L de LAS).

En esta etapa del desarrollo del método propuesto, se empleó un sistema IC más rudimentario y simple en comparación con el sistema modular impreso en 3D. Este sistema preliminar estaba constituido por una tableta de luz LED ajustable Plantec (6500 K) como fuente de iluminación y la cámara principal de ángulo normal de un Samsung Galaxy A52 usada en modo Pro como detector (Fig. 9). El smartphone se encontraba montado sobre un trípode para evitar movimientos involuntarios. Además, para sostener los tubos de vidrio frente a la cámara y garantizar una distancia de enfoque óptima, se utilizaron soportes universales y pinzas de laboratorio.

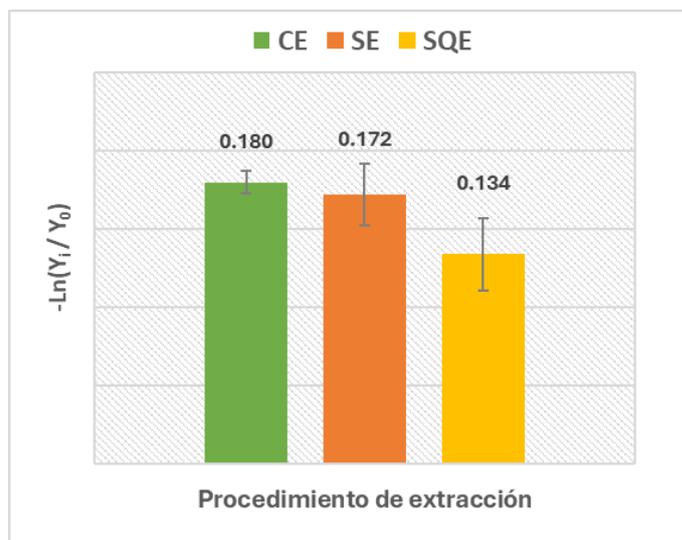


Figura 9. Comparación de los resultados obtenidos mediante los procedimientos de extracción CE, SE, y SQE.



Figura 10. Sistema IC usado en los ensayos preliminares.

Las imágenes digitales fueron capturadas en formato vertical con el Galaxy A52, con una resolución de 2604 x 4624 píxeles y una relación de aspecto de 9:16. Para asegurar una exposición adecuada, se configuraron los siguientes parámetros de captura en la cámara del smartphone: ISO 64, velocidad de obturación 1/90 s, modo de enfoque automático, balance de blancos 5300 K, modo de medición puntual y zoom x2.

La medición de la luminancia en las imágenes adquiridas usando el sistema en la Fig. 10, se realizó siguiendo un procedimiento similar al descrito en la Sección 3.3.2.2.2. Sin embargo, en este caso, se utilizaron únicamente tres ROI en lugar de cinco, debido a la distribución de los elementos en el encuadre de la imagen, el cual está delimitado por el campo visual de la cámara. Estas regiones fueron seleccionadas estratégicamente e incluyeron: una para medir la luminancia en la fase clorofórmica, otra para el blanco de referencia y una tercera para el negro. Estas últimas fueron seleccionadas estratégicamente en función de las zonas más clara y más oscura de las imágenes.

Una vez obtenidos los valores de luminancia, estos se correlacionaron con el contenido de LAS en las soluciones estándar, en un intervalo de concentración de 1,0 a 6,7 mg/L. Utilizando el método de regresión lineal por mínimos cuadrados ordinarios (OLS), aplicado con el software Microsoft Excel®, se obtuvo la ecuación $Y = 0,0510 \times C_{LAS} \text{ (mg/L)} - 0,0383$ ($R^2 = 0,990$). La cuantificación del contenido de AS en las muestras MP1 y MP2 fue de $(149,5 \pm 6,1)$ mg LAS por g de muestra y $(178,1 \pm 1,5)$ mg LAS por g de muestra o $4,8 \pm 0,5$ mg/L y $2,68 \pm 0,02$ mg/L de solución de LAS, respectivamente. Estos resultados se compararon estadísticamente mediante la prueba t-Student para la comparación de medias con los obtenidos mediante detección espectrofotométrica UV-VIS, y no se encontraron diferencias significativas para un nivel de confianza del 95 %.

4.1.1.2. Diseño y fabricación del sistema modular impreso en 3D

Tras seleccionar la estrategia de extracción CE para recuperar LAS-MB y confirmar su detección mediante espectroscopía SI asistida por smartphones con el sistema IC (Fig. 10), se diseñó y fabricó un sistema modular portátil impreso en 3D: el portaceldas múltiple MCH y su interfaz de acoplamiento a la caja de luz (Fig. 7, ver Sección 3.3.1.1). Este sistema se desarrolló con el objetivo de simplificar y agilizar el proceso de medición imagen-colorimétrica de MBAS en tubos de vidrio, permitiendo la medición simultánea del color en múltiples soluciones/muestras.

La caja de luz se construyó reutilizando una caja plástica de tips para micropipetas, a la que se incorporó una tira de LED de luz blanca cálida (5 W) de 1 m de longitud, adherida helicoidalmente a las paredes internas. Además, la interfaz de acoplamiento incluyó una pantalla difusora para lograr una iluminación uniforme y un sistema de rendijas para restringir y direccionar la luz emitida por la fuente de iluminación (ver Sección 3.3.1).

El MCH y la interfaz de acoplamiento fueron diseñados en SolidWorks® Premium 2019 (Fig. 8, Sección 3.3.1.1.1), definiendo sus dimensiones y forma mediante herramientas de esbozo y extrusión. Estos módulos fueron diseñados a medida para garantizar portabilidad, versatilidad y robustez, considerando la distancia mínima de enfoque del objetivo de ángulo normal de la cámara principal del

smartphone Galaxy A52 (≈ 7 cm). Gracias a este diseño preciso, se logró una adquisición de imágenes siempre enfocadas de los tubos de vidrio óptico y demás elementos dentro del encuadre.

Una vez diseñado el sistema IC modular, se procedió con su fabricación siguiendo el procedimiento descrito en la Sección 3.3.1.1. Tras la impresión, el sistema fue ensamblado correctamente y dispuesto para su uso sobre una mesada de laboratorio.

4.1.2. Calibración metodológica

Una vez seleccionada la estrategia de extracción CE para la recuperación de LAS-MB y fabricado el sistema IC modular portátil, se procedió a realizar la calibración metodológica siguiendo el procedimiento descrito en la Sección 3.3.2.1. Para ello, se midieron los valores de luminancia en las soluciones clorofórmicas de LAS-MB, conforme a lo indicado en la Sección 3.3.2.2.2., y se correlacionaron con la concentración de LAS en las soluciones estándar de calibración. Mediante el método de regresión lineal por mínimos cuadrados ordinarios (OLS), aplicado con el software Microsoft Excel®, se obtuvo la ecuación de calibración: $Y = 0,0509 \times \text{CLAS (mg/L)} + 0,0013$ ($R^2 = 0,990$). A partir de la calibración, se obtuvo un método con un intervalo lineal de 1,0 – 6,7 mg/L de LAS, y límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) de 0,032 y 0,097 mg/L de LAS, respectivamente. Estos valores son más bajos que los obtenidos mediante la aplicación de la norma APHA 5540 C usando detección espectrofotométrica UV-VIS, cuyos LOD y LOQ fueron 0,052 y 0,156 mg/L de LAS. El LOD y LOQ se calcularon como 3,3 y 10 veces, correspondientemente, la desviación estándar de 10 mediciones repetidas del blanco.⁴⁷

4.1.3. Análisis de muestras ambientales

a ecuación de la recta presentada en la Sección 4.1.2 se utilizó para cuantificar el contenido de AS en las muestras de aguas ambientales (ver Tabla 1, Sección 3.2.3) mediante el método propuesto (ver Sección 3.3.2.2.2). El análisis reveló que el contenido de AS en todas las muestras superó el LOQ del método (ver Tabla 4). Además, el análisis de las muestras

Tabla 4. Resultados obtenidos mediante el método propuesto y el método de referencia APHA 5540 C.

Muestra	Cont.AS (mg/L)	
	Método propuesto	Norma APHA 5540 C
Nar	0,300 ± 0,067	0,344 ± 0,104
Nab	0,422 ± 0,041	0,423 ± 0,042
Cpri	1,460 ± 0,080	1,020 ± 0,020
LOQ	0,097	0,156

también se llevó a cabo siguiendo el procedimiento descrito en la norma APHA 5540 C, que emplea extracción secuencial (SE) y detección espectrofotométrica UV-VIS. Se encontró que el contenido de AS en todas las muestras también fue superior al LOQ del método (ver Tabla 4). Finalmente, los resultados obtenidos con el método propuesto se compararon estadísticamente con los de la norma APHA 5540 C mediante la prueba t de Student para la comparación de medias, sin encontrarse diferencias significativas a un nivel de confianza del 95 %.

5. Conclusiones

El método imagen-colorimétrico desarrollado en esta tesina permitió la cuantificación de AS en muestras de aguas ambientales mediante la prueba MBAS, utilizando espectroscopía SI y tecnología de smartphones. La comparación con el método de referencia APHA 5540 C, aplicando detección espectrofotométrica UV-VIS, mostró que los resultados obtenidos con la nueva metodología no presentaron diferencias significativas a un nivel de confianza del 95 %, lo que confirma su fiabilidad.

La implementación de un sistema modular portátil impreso en 3D, junto con la captura y procesamiento de imágenes digitales a color y la medición de la luminancia en el espacio de color CIE XYZ, demostró ser una alternativa viable a la espectrofotometría UV-VIS convencional, proporcionando una solución de bajo costo, accesible y de fácil aplicación en campo. La reducción del volumen de solvente requerido (CHCl_3) y la optimización del procedimiento de extracción contribuyen a la sostenibilidad del método y minimizan su impacto ambiental.

Si bien la metodología propuesta presenta ventajas en términos de portabilidad y costos, es necesario realizar estudios adicionales para evaluar su desempeño en matrices más complejas y explorar mejoras en la calibración del sistema IC. La integración de algoritmos de análisis de imágenes más avanzados podría potenciar aún más su precisión, eficacia y aplicabilidad.

Bibliografía

1. Gaviria, M. I., Arango, J. P., Barrientos, K. & Jaramillo, M. Optical Biosensors for Environmental Analysis. in *Encyclopedia of Sensors and Biosensors* 528–548 (Elsevier, 2023). doi:10.1016/B978-0-12-822548-6.00156-4.
2. Souza, M. C. O. *et al.* Legacy and emerging pollutants in Latin America: A critical review of occurrence and levels in environmental and food samples. *Science of The Total Environment* **848**, 157774 (2022).
3. Nakama, Y. Surfactants. in *Cosmetic Science and Technology* 231–244 (Elsevier, 2017). doi:10.1016/B978-0-12-802005-0.00015-X.
4. Jiang, C. & Ma, J. DE-INKING OF WASTE PAPER: FLOTATION. in *Encyclopedia of Separation Science* 2537–2544 (Elsevier, 2000). doi:10.1016/B0-12-226770-2/05881-6.
5. Sumpter, S. R. ENVIRONMENTAL APPLICATIONS | Pressurized Fluid Extraction. in *Encyclopedia of Separation Science* 2687–2695 (Elsevier, 2000). doi:10.1016/B0-12-226770-2/02131-1.
6. Rapp, B. E. Surface Tension. in *Microfluidics: Modelling, Mechanics and Mathematics* 421–444 (Elsevier, 2017). doi:10.1016/B978-1-4557-3141-1.50020-4.
7. Carini, M. M. & Facino, R. M. COSMETICS AND TOILETRIES: CHROMATOGRAPHY. in *Encyclopedia of Separation Science* 2511–2526 (Elsevier, 2000). doi:10.1016/B0-12-226770-2/07711-5.
8. Tamjidi, S. *et al.* Improving the surface properties of adsorbents by surfactants and their role in the removal of toxic metals from wastewater: A review study. *Process Safety and Environmental Protection* **148**, 775–795 (2021).
9. Hayes, D. G. & Smith, G. A. Biobased Surfactants: Overview and Industrial State of the Art. in *Biobased Surfactants* 3–38 (Elsevier, 2019). doi:10.1016/B978-0-12-812705-6.00001-0.
10. Williams, J. J. Formulation of Carpet Cleaners. in *Handbook for Cleaning/Decontamination of Surfaces* 103–123 (Elsevier, 2007). doi:10.1016/B978-044451664-0/50004-8.
11. Mustapha, D. S. & Bawa-Allah, K. A. Differential toxicities of anionic and nonionic surfactants in fish. *Environmental Science and Pollution Research* **27**, 16754–16762 (2020).
12. Byrne, L., Barker, J., Pennarun-Thomas, G., Diamond, D. & Edwards, S. Digital imaging as a detector for generic analytical measurements. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **19**, 517–522 (2000).
13. Younas, N. *et al.* Spectroscopic and conductometric study of interaction of anionic surfactants with [Co(phen) 3]F 2 ·2H 2 O complex. *J Mol Liq* **240**, 351–360 (2017).
14. Matesic-Puac, R., Sak-Bosnar, M., Bilic, M. & Grabaric, B. S. Potentiometric determination of anionic surfactants using a new ion-pair-based all-solid-state surfactant sensitive electrode. *Sens Actuators B Chem* **106**, 221–228 (2005).
15. Bazel, Ya. R., Antal, I. P., Lavra, V. M. & Kormosh, Zh. A. Methods for the determination of anionic surfactants. *Journal of Analytical Chemistry* **69**, 211–236 (2014).
16. Kudoh, M. & Tsuji, K. Improved high-performance liquid chromatographic analysis of anionic surfactants by derivatization. *J Chromatogr A* **294**, 456–459 (1984).

17. Tribet, C., Gaboriaud, R. & Gareil, P. Determination of C8C20 saturated anionic and cationic surfactant mixtures by capillary isotachopheresis with conductivity detection. *J Chromatogr A* **609**, 381–390 (1992).
18. Lara-Martín, P. A., Gómez-Parra, A. & González-Mazo, E. Development of a method for the simultaneous analysis of anionic and non-ionic surfactants and their carboxylated metabolites in environmental samples by mixed-mode liquid chromatography–mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1137**, 188–197 (2006).
19. Bramblett, R. L. & Frossard, A. A. Evaluating the Extraction and Quantification of Marine Surfactants from Seawater through Solid Phase Extraction and Subsequent Colorimetric Analyses. *ACS ES&T Water* **4**, 4836–4846 (2024).
20. Olkowska, E., Polkowska, Ż. & Namieśnik, J. A solid phase extraction–ion chromatography with conductivity detection procedure for determining cationic surfactants in surface water samples. *Talanta* **116**, 210–216 (2013).
21. Steber, J. & Berger, H. Biodegradability of anionic surfactants. in *Biodegradability of Surfactants* 134–182 (Springer Netherlands, Dordrecht, 1995). doi:10.1007/978-94-011-1348-9_5.
22. Lechuga, M., Fernández-Serrano, M., Jurado, E., Núñez-Olea, J. & Ríos, F. Acute toxicity of anionic and non-ionic surfactants to aquatic organisms. *Ecotoxicol Environ Saf* **125**, 1–8 (2016).
23. Bazel, Ya. R., Antal, I. P., Lavra, V. M. & Kormosh, Zh. A. Methods for the determination of anionic surfactants. *Journal of Analytical Chemistry* **69**, 211–236 (2014).
24. British Standards Institution. BS EN 14480:2004 Surface active agents. Determination of anionic surface active agents. Potentiometric two-phase titration method. *BSI Preprint at* (2004).
25. Metrohm AG. Titration Application Note T-198. Determination of anionic surface active agents by potentiometric two-phase titration according to EN 14480. 1–3 Preprint at https://www.metrohm.com/es_ar/applications/application-notes/aa-t-001-100/an-t-198.html (2018).
26. Jones, J. H. General Colorimetric Method for Determination of Small Quantities of Sulfonated or Sulfated Surface Active Compounds. *J AOAC Int* **28**, 398–409 (1945).
27. ASTM International. ASTM D2330-02: Standard Test Method for Methylene Blue Active Substances. *ASTM International Preprint at* (2002).
28. International Organization for Standardization. ISO 7875-1:1996: Water quality—Determination of surfactants—Part 1: Determination of anionic surfactants by measurement of the methylene blue index (MBAS). *International Organization for Standardization Preprint at* (1996).
29. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (23rd ed.). *American Public Health Association Preprint at* (2017).
30. Pecini Assef, F., Ávila Orozco, F. D. & Domini, C. E. Determinación de fósforo total en bebidas analcohólicas gasificadas tipo cola mediante espectroscopía de imágenes . (Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, 2024).
31. Distante, A. & Distante, C. Image Formation Process. in *Handbook of Image Processing and Computer Vision* 1–56 (Springer International Publishing, Cham, 2020). doi:10.1007/978-3-030-38148-6_1.

32. Padeste, R. Imaging Systems. in *The Focal Encyclopedia of Photography* 364–370 (Elsevier, 2007). doi:10.1016/B978-0-240-80740-9.50058-1.
33. Bull, D. R. & Zhang, F. The human visual system. in *Intelligent Image and Video Compression* 17–58 (Elsevier, 2021). doi:10.1016/B978-0-12-820353-8.00011-6.
34. Sússtrunk, S. Color Spaces, Color Encodings, and Color Image Encodings. in *The Focal Encyclopedia of Photography* 394–398 (Elsevier, 2007). doi:10.1016/B978-0-240-80740-9.50064-7.
35. Sússtrunk, S. Colorimetry. in *The Focal Encyclopedia of Photography* 388–393 (Elsevier, 2007). doi:10.1016/B978-0-240-80740-9.50063-5.
36. Tang, Y., Chang, K., Huang, M. & Li, B. BMISP: Bidirectional mapping of image signal processing pipeline. *Signal Processing* **212**, 109135 (2023).
37. Zhang, G. *et al.* A novel systems solution for accurate colorimetric measurement through smartphone-based augmented reality. *PLoS One* **18**, e0287099 (2023).
38. Peterson, B. *Understanding Exposure*. (Amphoto Books, 2016).
39. Wüller, D. Digital Camera Testing. in *The Focal Encyclopedia of Photography* 377–382 (Elsevier, 2007). doi:10.1016/B978-0-240-80740-9.50061-1.
40. Barnett, G. Digital Camera Raw. in *The Focal Encyclopedia of Photography* 401–403 (Elsevier, 2007). doi:10.1016/B978-0-240-80740-9.50067-2.
41. Geladi, P., Wold, S. & Esbensen, K. Image analysis and chemical information in images. *Anal Chim Acta* **191**, 473–480 (1986).
42. Dempster, J. Image Analysis. in *The Laboratory Computer* 261–298 (Elsevier, 2001). doi:10.1016/B978-012209551-1/50042-8.
43. Tan, L. & Jiang, J. Image Processing Basics. in *Digital Signal Processing* 649–726 (Elsevier, 2019). doi:10.1016/B978-0-12-815071-9.00013-0.
44. Shanda, J. *Colorimetry*. (Wiley, 2007). doi:10.1002/9780470175637.
45. Carrasco-Correa, E. J., Vergara-Barberán, M., Miró, M. & Herrero-Martínez, J. M. Introduction to 3D printing from the analytical chemistry viewpoint. in *3D Printing in Analytical Chemistry* 3–15 (Elsevier, 2025). doi:10.1016/B978-0-443-15675-5.00001-X.
46. Pamidi, A. S., Spano, M. B. & Weiss, G. A. A Practical Guide to 3D Printing for Chemistry and Biology Laboratories. *Curr Protoc* **4**, (2024).
47. Olivieri, A. C. & Goicoechea, H. C. *La Calibración En Química Analítica*. (Ediciones UNL, Santa Fe, Argentina, 2007).