

PRUEBA COLORIMÉTRICA DE ABSORCIÓN USANDO IMÁGENES DIGITALES.

Absorption Colorimetric Test Using Digital Images.

ANGEL E. RIVAS M., AARÓN A. MUÑOZ M. y RAFAEL A. MUÑOZ A.
Universidad de Carabobo. Facultad Experimental de Ciencia y Tecnología.
Departamento de Física. Carabobo. Venezuela.
{aerivas1, amunoz, rmunoz}@uc.edu.ve

Fecha de Recepción: 11/07/2007, **Fecha de Revisión:** 06/11/2008, **Fecha de Aceptación:** 11/11/2008

Resumen

Se presenta una metodología sencilla para el estudio de la absorción de la luz por sustancias diluidas, que permite la comprobación de la ley de Lambert-Beer a través del procesamiento de imágenes. Se toman fotografías de disoluciones de colorante comercial de cocina en agua a diferentes concentraciones, de tal manera de observar una degradación del color. De la fotografía se recortan imágenes para cada valor de la concentración y se analizan mediante un programa en MATLAB®, para obtener las intensidades (rojo, verde y azul) de los píxeles que la conforman, a partir de las cuales se determina la absorbancia. Se calculan también las coordenadas cromáticas del color observado. La metodología implementada nos permite contar con una nueva práctica de laboratorio avanzado de física en nuestro Departamento, fundamentada en el tratamiento de imágenes para el estudio del color a través de la absorción de la luz por muestras de sustancias en disolución.

Palabras clave: Absorbancia, colorimetría, cromaticidad, imágenes digitales, ley de Lambert-Beer.

Abstract

The relationship between light absorption and concentration of diluted substances was studied using image processing and designing a simple methodology to prove the Lambert- Beer Law. Digital photographs of dissolutions of kitchen commercial colorants of different concentrations were obtained and the color degradation was observed. The absorbance was derived measuring the pixels intensities (red, green, blue) for each concentration using MATLAB®. The chromatic coordinates of each color were calculated. These results shows that image processing methodology can be used in undergraduates Advanced Physics Laboratory to demonstrate the optical properties of absorption.

Key words: Absorbance, colorimetric, chromaticity, digital images, Lambert- Beer Law.

1. Introducción

En la actualidad, el desarrollo de las técnicas de procesamiento y análisis de imágenes digitales en el estudio del color para ser utilizado como herramienta de caracterización espectroscópica de un material, está siendo motivo de estudio a nivel científico, pues comprende una serie de técnicas que involucran a la ciencia como fuente principal de soluciones. Anteriormente, el estudio del color de un material se limitaba a la apariencia del mismo, y si se deseaba hacer un estudio más profundo se debía acudir a equipos sofisticados para el estudio espectral de dicha muestra. Es aquí donde el procesamiento y análisis de imágenes digitales nos proporciona una poderosa herramienta, relativamente económica, para el análisis espectral de una muestra a través del cambio de las intensidades y tonalidades de los píxeles que conforma la imagen. Esto ha sido posible gracias a la aparición de instrumentos cada vez más sofisticados para la captura y procesamiento de las imágenes, entre los que se incluyen cámaras fotográficas y la implementación de programas informáticos especializados.

Unas de las propiedades de las sustancias que se puede estudiar con estas técnicas es el fenómeno de absorción de la luz por una muestra en disolución (Kohl *et al.*, 2006), proceso que depende de la estructura molecular de la sustancia. Se puede corroborar así la ley de Lambert-Beer, que es una función exponencial que rige la absorción de la luz visible o ultravioleta cuando ésta atraviesa una capa de líquido de un espesor determinado. La técnica de absorbancia es ampliamente usada para determinar la concentración de sustancias en disolución.

En este trabajo se presenta una metodología experimental sencilla para ser implementada como práctica en el Laboratorio Avanzado en la carrera de Licenciatura en Física, la cual permite demostrar la ley de Lambert-Beer, a través de la degradación de colores obtenidos diluyendo un colorante comercial en agua destilada, haciendo

luego el procesamiento y análisis de las imágenes digitales con el desarrollo de un algoritmo computacional. Esto permitirá fortalecer la formación de los egresados en física, y sentará las bases para llevar esta experiencia a una prueba óptica certificada que permita ofrecer servicio de caracterización colorimétrica tanto a la comunidad científica como industrial.

2. Fundamento teórico

2.1. Ley de Lambert-Beer

La fotometría o “medida de la luz” es un método óptico de análisis dentro del cual se encuentran la colorimetría y la espectrofotometría, que miden la cantidad de luz absorbida por sustancias coloreadas o incoloras, respectivamente. Las medidas de absorción de luz se basan en dos leyes, la ley de Lambert y la ley de Beer (Requena & Zúñiga, 2003).

La ley de Lambert se refiere al paso de un rayo de luz a través de un medio absorbente. Establece que la intensidad disminuye exponencialmente a medida que la longitud del medio absorbente aumenta.

$$\log \left(\frac{I_0}{I} \right) = KL, \quad (1)$$

donde I es la intensidad de luz transmitida, I_0 la intensidad de luz incidente, K el coeficiente de extinción y L corresponde al espesor de la capa del medio absorbente.

Por otro lado, la ley de Beer se refiere a la disminución exponencial de la intensidad a medida que aumenta la concentración de la sustancia absorbente en el medio.

$$\log \left(\frac{I_0}{I} \right) = K'C, \quad (2)$$

donde C es la concentración de la sustancia absorbente. La combinación de las dos leyes es conocida como ley de Lambert-Beer

$$\log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon CL, \quad (3)$$

donde ε es el coeficiente de extinción cuando la solución contiene un mol por litro. El cociente de las intensidades se conoce como transmitancia (T) y se suele expresar como un porcentaje

$$T = \frac{I}{I_0} \times 100 \quad (4)$$

La expresión $\log(I_0/I)$ se conoce como absorbancia ($A = \varepsilon CL$) o densidad óptica (DO).

2.1.1. Limitaciones de la Ley de Lambert-Beer

Se encuentran pocas excepciones a la generalización que la absorbancia está relacionada linealmente a la longitud del camino óptico. En cambio, las desviaciones de la proporcionalidad directa entre la absorbancia medida y la concentración, para L constante, son más frecuentes. Estas desviaciones son fundamentales y representan limitaciones reales de la ley. Algunas ocurren como una consecuencia de la manera en que las mediciones de absorbancia se hacen, o como un resultado de cambios químicos asociados con cambios en la concentración. Otras ocurren a veces como desviaciones instrumentales.

La ley de Beer describe muy bien el comportamiento de absorción de soluciones diluidas; a concentraciones altas (generalmente mayores que 0,01 M), la distancia promedio entre las especies responsables de la absorción está disminuida hasta el punto que cada una afecta la distribución de cargas de sus vecinas. Esta interacción, a su vez, puede alterar la habilidad de las otras especies para absorber en una longitud de onda de radiación. Debido a que la extensión de la interacción depende de la concentración, la ocurrencia de este fenómeno provoca desviaciones de la relación lineal entre absorbancia y concentración.

Desviaciones de la ley de Beer también surgen debido a la dependencia de ε del índice de refracción de la solución. Al cambiar la concentración se altera el índice de refracción de la solución, y se observan desviaciones de la ley.

2.2. Cromaticidad

La colorimetría (Berns, 2000) es el área de la óptica que estudia el color, el cual puede ser representado por dos caminos básicos, dependiendo del medio en que se produce.

Sistemas aditivos

Se logra añadiendo colores al negro para crear nuevos colores. Cuantos más colores sean mezclados se obtendrá un color más parecido al blanco. La presencia de todos los colores primarios es suficiente para crear un blanco puro, mientras que la ausencia de los colores primarios crea un negro puro. Los colores primarios de luz o colores primarios aditivos son el rojo, verde y azul. La suma de los tres colores primarios da lugar al blanco (la luz blanca está compuesta por luz roja, verde y azul a partes iguales). Los colores secundarios de luz son cualquier combinación de dos colores primarios: rojo más azul nos da el magenta; verde más azul nos da el cian; rojo más verde nos da el amarillo.

Sistemas sustractivos

En éstos, los colores primarios son sustraídos del blanco para formar nuevos colores. Cuantos más colores se mezclen se obtendrá algo más parecido al negro. Teóricamente, la presencia de todos los colores primarios sustractivos nos da negro y, su total ausencia, blanco. Se define un color primario de pigmento a aquel que absorbe un color primario de luz y refleja los otros dos, por tanto, son el cian, el magenta y el amarillo. Cuando la luz incide sobre un color primario de pigmento lo que vemos es la combinación de dos colores primarios de luz. Colores secundarios de pigmento: rojo, verde y azul.

2.2.1. Colores complementarios

Los colores complementarios son aquellos que en el diagrama cromático están situados diametralmente opuestos, por lo que el complementario de un primario será un secundario, y viceversa, el de un secundario será un primario. Como se observa en el círculo cromático mostrado en la Fig. 1 (Romero, 2007), el color complementario del amarillo es el violeta, y del anaranjado el azul.

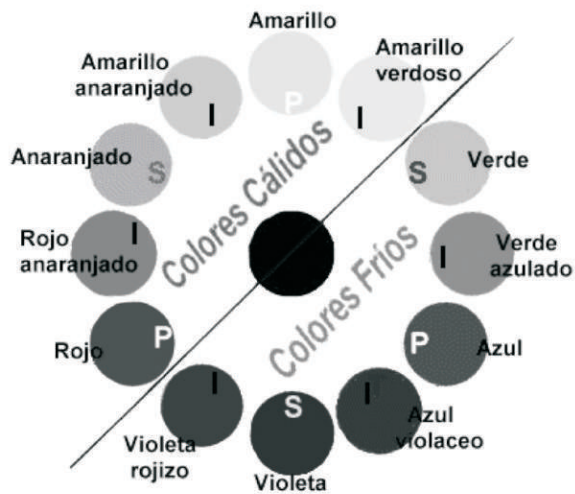


Fig. 1. Círculo cromático.

2.3. Modelos del color

La idea de la utilización de modelos del color surge para facilitar la especificación de objetos en colores de una forma estándar. Buscamos un sistema de coordenadas tridimensional (XYZ) en el cual se defina un subespacio donde cada color quede definido por un punto único.

2.3.1. Modelo CIE XYZ (1931)

La necesidad de que al especificar un color pudiéramos evaluar su luminosidad sin llevar a cabo cálculos extra y el hecho de que los valores R, G y B (intensidad de rojo, verde y azul, por sus iniciales en inglés: red, green, blue) muestren valores negativos, llevó a la CIE (Comisión Internacional de Iluminación) a realizar una nueva recomendación donde se usan colores primarios genéricos supersaturados (irreales), lo cual evitará tener valores trístímulo negativos.

La combinación de X , Y y Z permite representar todos los colores posibles. Así $C=X+Y+Z$, donde X , Y y Z son las luminancias de las nuevas fuentes consideradas como primarias. Donde Y lleva toda la información de la luminancia del color; por otro lado X , Z codifican la información del color. Se puede llevar a cabo la siguiente normalización:

$$\begin{aligned} x &= X/(X + Y + Z), \\ y &= Y/(X + Y + Z), \\ z &= Z/(X + Y + Z). \end{aligned} \quad (5)$$

La expresión de la luminancia de un color será $x + y + z = 1$. A x , y , z se le conoce como coordenadas cromáticas. Normalmente, para describir un color nos darán (x, y) e Y , donde (x, y) es la cromaticidad.

La cromaticidad se representa en un plano conocido como diagrama cromático Fig. 2 para un observador patrón CIE-1931, el cual fue desarrollado por la Comisión Internacional de Iluminación (CIE) (Smith & Guild, 1931). Es un diagrama donde queda estipulada la cromaticidad de un estímulo bajo un iluminante definido (Y).

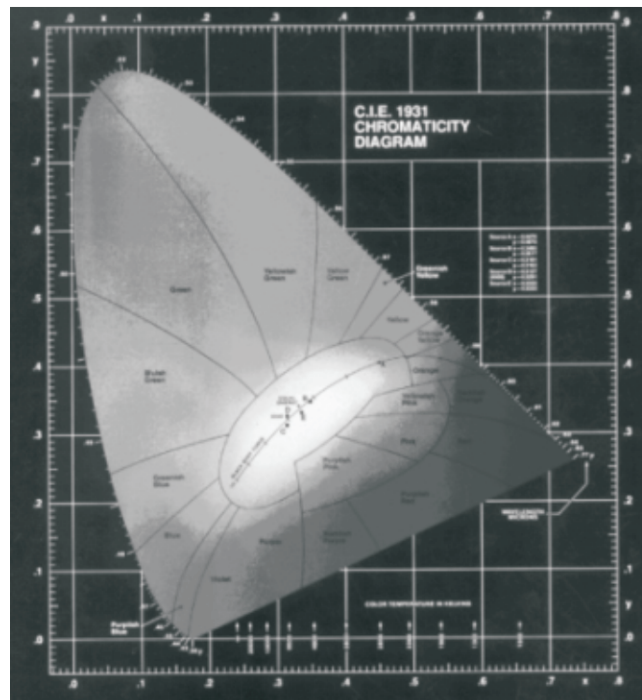


Fig. 2. Diagrama cromático (x, y) para un observador patrón CIE-1931.

3. Metodología Experimental y Resultados

Para el estudio de la absorbancia mediante el análisis de imágenes digitales, se prepararon soluciones diluidas de colorante comercial de cocina color amarillo en agua desionizada. Se preparó una solución de 1 gota (0,05 ml) de colorante en 50 ml de agua, para tenerla como solución patrón al 100 %V/V de concentración (Kohl *et al.*, 2006). Por diluciones sucesivas se obtuvo soluciones al 11,11 %V/V (0,4 ml de solución y 3,2 ml de agua), 22,22 %V/V, 33,33 %V/V, 44,44 %V/V, 55,55 %V/V, 72,72 %V/V y 77,77 %V/V. Las soluciones fueron colocadas en cubetas de plástico transparente e iluminadas con una lámpara comercial de luz verde (9W, 4000 K, 480 Lúmenes) en una cámara de luz Fig. 3. La concentración de 0% V/V corresponde a la cubeta llena solo con agua. El conjunto de soluciones fue fotografiado con una cámara digital Panasonic, modelo DMC-TZ1, en configuración automática. La configuración usada para tomar las fotos fue 45/0. La Fig. 4 muestra la fotografía de la serie de soluciones, con el incremento de la concentración de izquierda a derecha. De la fotografía original en colores se extrajeron imágenes de mapa de bit para cada solución, así como de la imagen invertida (colores complementarios), las cuales fueron analizadas mediante un programa desarrollado en MATLAB® para obtener los datos de la intensidad espectral (en enteros de 0-255, 8 bits) de las componentes rojo, verde y azul para las diferentes concentraciones.

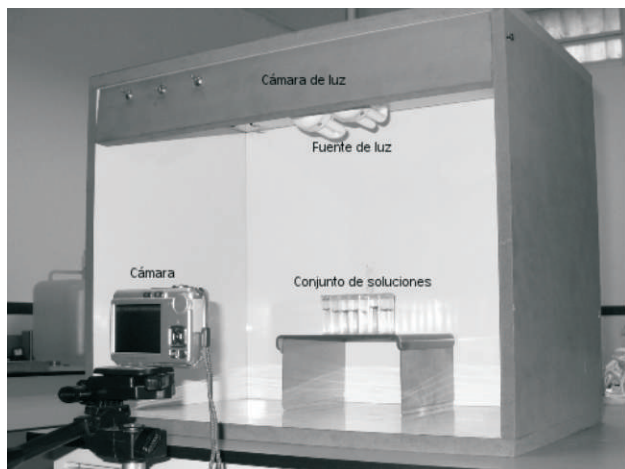


Fig. 3. Arreglo experimental para el estudio de la absorbancia.

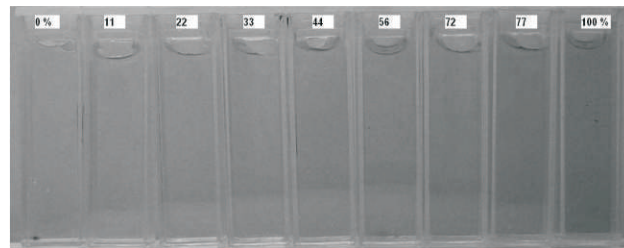


Fig. 4. Fotografía del conjunto de soluciones estudiadas.

3.1. Estudio de la absorbancia

A diferencia de lo reportado por (Kohl *et al.*, 2006), quienes analizan solo la imagen original (la fotografía) tomada a las soluciones, nosotros analizamos primero la imagen invertida (en colores complementarios) y buscamos las componentes R, G o B que aumenta de manera más pronunciada al incrementarse la concentración (C). Esto nos permite identificar sin ambigüedad la componente de la luz incidente que está siendo absorbida por la solución. Esto se corrobora al analizar luego la imagen original. Las siguientes tablas contienen los datos de la intensidad de las componentes rojo, verde y azul correspondientes a cada solución, tanto para la imagen invertida (colores complementarios) (Tabla 1), como para la imagen original (Tabla 2).

C (%)	Rojo	Verde	Azul
0	119	131	140
11,11	110	122	151
22,22	110	123	174
33,33	111	125	192
44,44	115	131	213
55,55	118	134	226
72,72	121	138	243
77,77	132	149	253
100	140	159	255

Tabla 1. Valores promedio de la intensidad de rojo, verde y azul de los píxeles de la imagen invertida.

De estos datos se tomaron los valores de la intensidad correspondientes al color azul, complementario del color naranja hacia el amarillo, y que representa una medida de la luz absorbida por cada solución. En la Fig. 5 se representa la intensidad del color azul de la imagen original (curva a) y de la imagen invertida (curva b), donde se observa un decrecimiento de la intensidad de azul original con el aumento de la concentración.

C (%V/V)	Rojo	Verde	Azul
0	136	124	115
11,11	139	123	92
22,22	140	122	70
33,33	138	120	51
44,44	135	116	31
55,55	137	116	22
72,72	128	107	4
77,77	119	97	3
100	110	87	2

Tabla 2. Valores promedio de la intensidad de rojo, verde y azul de los píxeles de la imagen original.

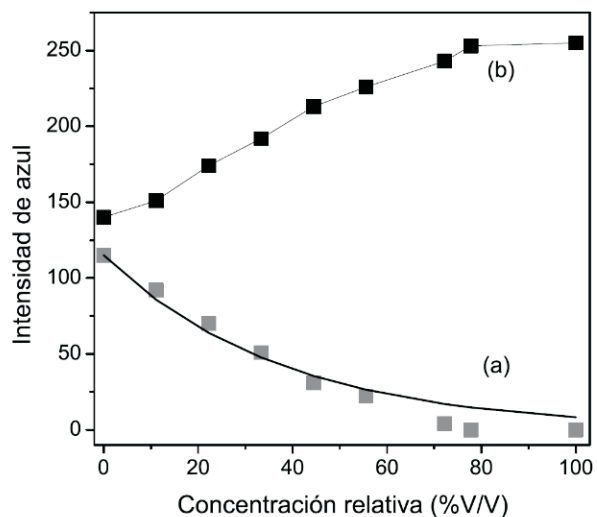


Fig. 5. Intensidad del color azul como función de la concentración.

De los datos de la Tabla 2 (color azul) se calculó la absorbancia de acuerdo a la relación

$A = \log(I_0/I)$, donde I_0 es la intensidad de pixel para concentración 0 %V/V e I es la intensidad de pixel para la serie de soluciones. Los datos de la absorbancia se muestran en la tabla 3. La curva de la absorbancia como función de la concentración se representa en la Fig. 6. Dentro de la precisión experimental se puede ver un comportamiento lineal, acorde con la ley de Lambert-Beer (Ec. 3).

C (%V/V)	Azul	Absorbancia
0	115	0
11,11	92	0,0970
22,22	70	0,2156
33,33	51	0,3531
44,44	31	0,5693
55,55	22	0,7183

Tabla 3. Valores de la intensidad de azul y de la absorbancia.

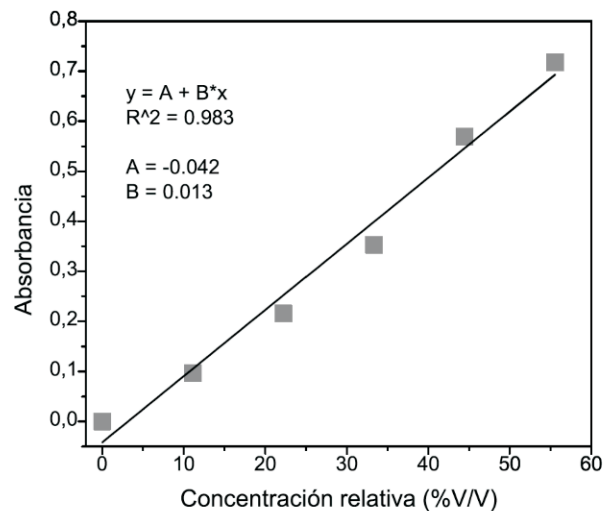


Fig. 6. Absorbancia a partir del análisis de la imagen original para las soluciones coloreadas.

3.2. Estudio de la cromaticidad

Como hemos visto en la sección 3.2.1, el estudio de la cromaticidad nos proporciona las coordenadas (x, y) del color (Ec. 5) de una imagen particular. Para cada imagen correspondiente a cada valor de concentración, se hizo el cálculo de las coordenadas cromáticas (valores promedio),

tanto para la imagen original, como para la imagen invertida. Los resultados se presentan en la Fig. 7. Los valores de las coordenadas cromáticas para la imagen original aparecen en la parte superior (amarillo-naranja), y para la imagen invertida en el lado opuesto (azulvioleta, colores complementarios), para cada valor de concentración. La concentración aumenta en el sentido del amarillo al naranja. La línea sobre la cual se distribuyen los puntos coloreados en el diagrama cromático, constituye una línea de igual energía o temperatura.

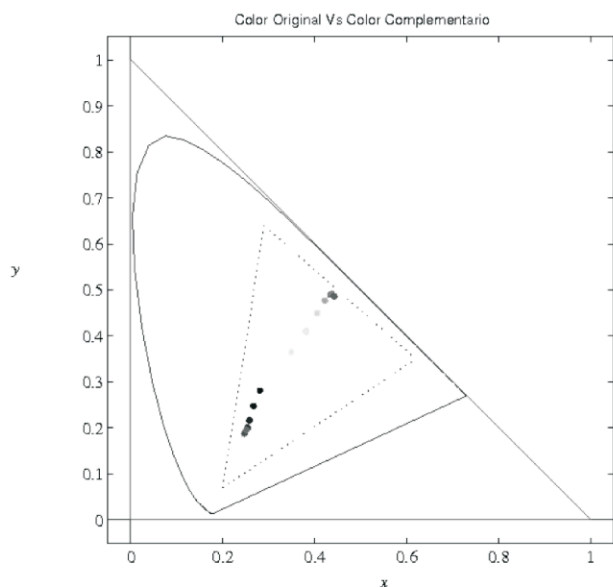


Fig. 7. Diagrama de cromaticidad para la serie de soluciones estudiadas.

Finalmente, con la realización de esta experiencia se han sentado las bases para la implementación a futuro de una prueba óptica que permitirá ofrecer servicio de caracterización colorimétrica a la comunidad científica e industrial, específicamente en estudios de absorbancia en soluciones diluídas. Para lograr esto es necesario preparar soluciones patrón y medir la absorbancia por los métodos tradicionales de espectrofotometría, y luego comparar con los resultados obtenidos del procesamiento y análisis de las imágenes digitales para propósito de calibración. Igualmente es de suma importancia poner a punto la técnica fotográfica para la obtención de imágenes de excelente calidad, que reflejen lo más fielmente posible el color de las soluciones bajo estudio.

4. Conclusión

Mediante la implementación de esta práctica a nivel del laboratorio avanzado de física, ha sido posible verificar la factibilidad de la aplicación de técnicas colorimétricas para el estudio de la absorbancia de la luz por sustancias en disolución, haciendo uso del procesamiento y análisis de imágenes digitales tomadas a muestras de colorante comercial de cocina.

5. Agradecimientos

Queremos agradecer la participación de los estudiantes de la asignatura Laboratorio Avanzado en la realización de esta experiencia.

6. Bibliografía

Berns, R. S. (2000). *Billmeyer and Saltzman's Principles of Color Technology*, 3rd Edition, Wiley-Interscience, New York.

Kohl, S. K., J. D. Landmark & D. F. Stickle. (2006). Demonstration of absorbance using digital color image analysis and colored solutions. *J. Chem. Educ.* (83): 644-647.

Requena, A. & J. Zúñiga. (2003) *Espectroscopía*, Pearson-Pentice Hall, Madrid.

Romero, A. Colores complementarios. <http://www.xtec.es/aromero8/acuarelas/complementarios.htm>. (13/06/2007).

Smith, T. & J. Guild. (1931). The C.I.E. colorimetric standards and their use. *Trans. Opt. Soc.* (33): 73-134.