# IMPLEMENTACIÓN DE LOS PRINCIPIOS DE LA QUÍMICA VERDE A UN TRABAJO PRÁCTICO DE LABORATORIO PARA ALUMNOS DE CARRERAS RELACIONADAS CON ALIMENTOS: DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE DISTRIBUCIÓN DE CAFEÍNA EN EL SISTEMA 1-OCTANOL/AGUA.

**Mariano Acosta*, María Cristina Abello, María Paulina Montaña**

Área de Química Física, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia,
Universidad Nacional de San Luis, San Luis, Argentina
e-mail: macosta@unsl.edu.ar

**Abstract**

Since the beginnings the Green Chemistry's principles have outlined a set of actions that allows the chemists to develop and implement alternative products and safe processes for humans and the environment. In this context, the aim of this work was to carry out a laboratory experiment for the Nernst's distribution coefficient determination using an environmental-friendly system, which is of interest for careers related to food. For this purpose, the distribution of caffeine in the 1-octanol/water system was studied and the experimental variables were optimized. The experiments with different stirring times (1 and 2 hours) were performed, using small volumes of solutions and solvents. The absorbances at 274 nm were measured once the phases were separated. The average value of the distribution coefficient was 0.8452, with an error of 0.7% regarding the bibliographical value. The new practical work was incorporated in the series of laboratory experiments of Thermodynamic course for the Food Engineering career. The students had an adequate agreement between their results and literature data. Thus, the present methodology follows the guidelines of green chemistry, being suitable for use in university teaching.

**Resumen**

Desde sus inicios, los principios de la Química Verde han delineado un conjunto de medidas que les permiten a los químicos desarrollar e implementar productos y procesos alternativos inocuos para el hombre y el medio ambiente. En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue desarrollar un práctico de laboratorio para la determinación del coeficiente de distribución de Nernst utilizando un sistema amigable con el medioambiente, el cual puede ser de interés para carreras vinculadas con los alimentos. Para ello se estudió la distribución de cafeína en el sistema 1-octanol/agua y se optimizaron las variables experimentales pertinentes. Se realizaron las experiencias con tiempos de agitación diferentes (1 y 2 horas) usando pequeños volúmenes de las soluciones y solventes. Una vez separadas las fases se midieron las absorbancias a 274 nm. El valor promedio de la constante de distribución para el sistema bajo estudio fue 0,8452, con un error del 0,7 % respecto del valor de bibliografía. El nuevo trabajo práctico fue incorporado en la serie de experimentos de laboratorio de la asignatura Termodinámica para la carrera Ingeniería en Alimentos. Los alumnos obtuvieron una adecuada concordancia entre sus resultados y los datos de bibliografía. Así, la presente metodología cumple con los lineamientos de la química verde, siendo adecuada para su uso en docencia universitaria.

**Palabras claves:** Absorciometría UV-VIS; Cafeína; Coeficiente de Distribución; 1-octanol-agua.

## Introducción

El desarrollo saludable de la sociedad depende de proporcionar recursos y servicios a una población en constante crecimiento, procurando el cuidado del medio ambiente. Como una alternativa para promover y alcanzar este objetivo surge la Química Verde, cuyos principios han delineado un conjunto de medidas que les permiten a los Químicos desarrollar e implementar productos y procesos alternativos inocuos para el hombre y el medio ambiente. Entre estos se pueden citar (DE LA GUARDIA, 2012, 3; WILSON, 2009, 1202): • el uso de sustancias auxiliares (solventes, adsorbentes, entre otros) debe ser mínimo e inocuo; • los productos químicos deben diseñarse y elegirse de modo tal que al final de su función no persistan en el medio ambiente y se degraden a productos inocuos y • las sustancias a utilizar deben elegirse de forma tal de minimizar su potencial riesgo de accidentes.

Asimismo, existen en la práctica docente diaria numerosas experiencias de laboratorio que perduran por la sencillez de su determinación, la accesibilidad y costo de los reactivos utilizados. Sin embargo, algunos de estos reactivos presentan riesgos concretos y/o potenciales para la salud de quienes los manipulan. Tal es el caso del tetracloruro de carbono, el cual presenta numerosos efectos adversos sobre la salud humana, principalmente a nivel hepático (BLAIR, 1998, 161; NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM - REPORT ON CARCINOGENS – TWELFTH EDITION, 2011, 86; IARC MONOGRAPHS ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS, 1999, 401; MC DUFFIE, 2001, 1155; WANG, 2009, 176), y es un conocido contaminante ambiental (MAIONET, 2013, 155). Este solvente, junto con el agua, es usado comúnmente en el estudio de la distribución de una sustancia entre dos fases inmiscibles. Por lo antes expuesto, se buscó cambiar el solvente orgánico por uno inocuo.

Además, la determinación precisa de los componentes o residuos de los alimentos es esencial para garantizar su calidad y sanidad para los consumidores, existiendo diferentes métodos que deben ser robustos, rápidos y precisos. Sin embargo, existe en la actualidad la necesidad de que los métodos aplicados al análisis de alimentos sean respetuosos del medioambiente y utilicen pequeños volúmenes de solventes orgánicos.

Por otro lado, uno de los contenidos que se estudian durante el dictado de la asignatura Termodinámica es la distribución o reparto de un soluto entre dos solventes inmiscibles entre sí. Este concepto tiene gran importancia dentro de la Ingeniería en Alimentos pues permite a los alumnos entender el principio teórico que rige diferentes métodos de análisis de los alimentos, extracción de componentes de interés para la industria alimentaria, entre otros. La distribución de un soluto entre dos solventes inmiscibles está gobernada por el potencial químico del soluto ($\mu_i$) en cada fase. Así, un sistema formado por dos solventes inmiscibles entre sí que contienen un soluto disuelto, a una dada temperatura (T) y presión (P), se encuentra en equilibrio cuando el potencial químico ($\mu_i$) de la especie *i* tiene el mismo valor en cualquiera de las fases del sistema. Por ende, en un sistema en equilibrio formado por dos fases inmiscibles α y β

$$\mu_{i(\alpha)}(T, P) = \mu_{i(\beta)}(T, P) \qquad (1)$$

siendo $\mu_{i(\alpha)}$ el potencial químico de la especie i en la fase α y $\mu_{i(\beta)}$ el potencial químico de la especie i en la fase β. De la relación entre la actividad ($a_i$) y el potencial químico para cada especie en cada fase ($\mu_i(T,P) = \mu_i^{\circ}(T) + R\,T \ln a_i$, siendo $\mu_i^{\circ}$ el potencial químico de la especie *i* en estado estándar) podemos escribir:

$$\mu_{i(\alpha)}^{\circ}(T) + R\,T \ln a_{i(\alpha)} = \mu_{i(\beta)}^{\circ}(T) + R\,T \ln a_{i(\beta)} \qquad (2)$$

Esta expresión puede ser reordenada de modo tal de despejar la relación de las actividades del soluto en cada fase:

$$\frac{\mu_{i(\alpha)}^{\circ}(T) - \mu_{i(\beta)}^{\circ}(T)}{R\,T} = \ln \frac{a_{i(\beta)}}{a_{i(\alpha)}} \qquad (3)$$

$$K = \exp\left(\frac{\mu_{i(\alpha)}^{\circ} - \mu_{i(\beta)}^{\circ}}{R\,T}\right) = \frac{a_{i(\beta)}}{a_{i(\alpha)}} \qquad (4)$$

donde K es la constante de distribución o de reparto de Nernst. Para poder evaluar esta constante es necesario reemplazar la actividad por su expresión en función de la concentración: $a = \gamma_i \,.\, [\,i\,]$, siendo $\gamma_i$ el coeficiente de actividad y [i], la concentración de la especie *i*. El coeficiente de actividad es aproximadamente igual a la unidad en soluciones diluidas, por lo que la expresión anterior se puede escribir de la siguiente manera:

$$K_{Nernst} = \frac{i\ \beta}{i\ \alpha} \qquad (5)$$

La magnitud $K_{Nernst}$ es el Coeficiente de Distribución de Nernst (o Coeficiente de Reparto o Partición) del soluto i para los disolventes β y α, a la temperatura T.

Cafeína (1,3,7-trimetilxantina) es un alcaloide perteneciente a la familia de las metilxantinas que se encuentra presente en diferentes bebidas naturales (café, té, cacao, chocolate, entre otras) y adicionalmente en suplementos dietarios y gran variedad de fármacos (PARDO-LOZANO, 2007, 225). Actualmente hay un creciente interés en su estudio y el de sus metabolitos debido a las numerosas aplicaciones que presenta en la industria alimentaria y cosmética. Cafeína es una sustancia soluble tanto en agua como en solventes orgánicos no acuosos como 1-octanol. El solvente 1-octanol, inmiscible en agua, es un alcohol de baja toxicidad para los humanos, el cual además no presenta efectos perjudiciales para el medio ambiente y es prácticamente biodegradable (RORIJE, 1998, 1943). Por esta razón es que se trabaja con el sistema cafeína / 1-octanol / agua para estudiar el reparto de esta metilxantina entre ambos solventes inmiscibles.

Por lo antes expuesto, se desarrolló un nuevo Trabajo Práctico de Laboratorio para determinar la constante de distribución de Nernst de cafeína entre 1-octanol y agua, destinado a los alumnos de Ingeniería en Alimentos, en primer lugar: para que los alumnos estudien y trabajen con un sistema más afín a los contenidos de su Carrera; y en segundo lugar: para implementar gradualmente metodologías amigables con el medioambiente. Para ello se optimizaron las variables que influencian la distribución de cafeína en el sistema 1-octanol/agua para su posterior determinación mediante absorciometría UV-Vis (SKOOG, 2013, 658). Luego este nuevo Trabajo Práctico de Laboratorio fue incorporado en el dictado de la Materia "Termodinámica" correspondiente al 2º año de la Carrera Ingeniería en Alimentos en la Universidad Nacional de San Luis.

## Materiales y Métodos

Fueron utilizados los siguientes reactivos: cafeína (Purest, USA), 1-octanol (Merck, Alemania), agua Mili-Q (EASY pure RF; Barnsted, Iowa, USA). Todo el material de vidrio utilizado fue previamente lavado con una solución acuosa de $HNO_3$ (10% v/v) y luego con agua ultrapura. En el análisis espectrofotométrico se utilizaron soluciones de cafeína ($1 \times 10^{-4}$ mol $L^{-1}$) en agua y en 1-octanol.

Los espectros de absorción de cafeína fueron registrados en un espectrofotómetro Genesys 10 UV-Vis entre 200-450 nm. Luego se realizaron las curvas de calibración de cafeína en agua y 1-octanol. La determinación del coeficiente de distribución de Nernst para cafeína se realizó por duplicado utilizando dos esquemas de trabajo, de 1 y 2 hs de agitación cada uno. Se colocaron 10 mL de una solución acuosa de cafeína ($1 \times 10^{-3}$ mol $L^{-1}$) en una ampolla de decantación, sobre los que se incorporaron 10 mL de 1-octanol saturado en agua. Posteriormente, se tapó la ampolla y se inició la etapa de agitación, dejando escapar los gases producidos durante el procedimiento cada cinco minutos. Una vez completados ambos procedimientos (1 y 2 hs de agitación), las ampollas fueron colocadas sobre soportes adecuados y se las dejó reposar 10 min, a 25 ºC en baño termostático. Transcurrido ese tiempo se separaron las fases. Para la medición de las absorbancias de las fases se tomó una alícuota de 1 mL de cada una de las fases de ambas experiencias y se llevó a 3 mL con el solvente correspondiente. Este paso fue necesario para adecuar los

valores de la concentración de cafeína en las fases a los valores de las curvas de calibración. Finalmente se procedió a la medición de las absorbancias de las fases obtenidas en ambas experiencias, luego se extrapoló el valor de la concentración de cafeína de las curvas de calibración y estos valores fueron corregidos de acuerdo al factor de dilución.

## Resultados

A partir de los espectros de cafeína en agua y en 1-octanol pueden observarse dos picos de absorbancia a con máximos a 212 y a 274 nm (Figura 1). Se seleccionó como longitud de onda de trabajo el máximo a 274 nm. Para poder evaluar las concentraciones de cafeína en ambos solventes, se construyeron las respectivas curvas de calibración que se muestran en la Figura 2.

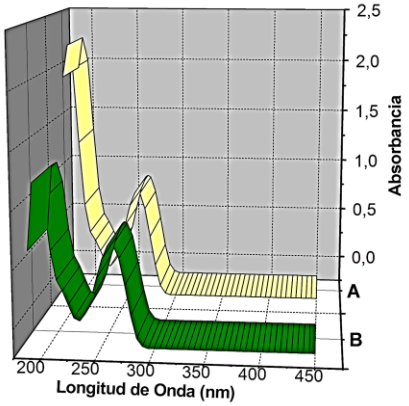



**Figura 1**: Espectros de absorción de cafeína en solución acuosa (**A**) y octanólica (**B**).

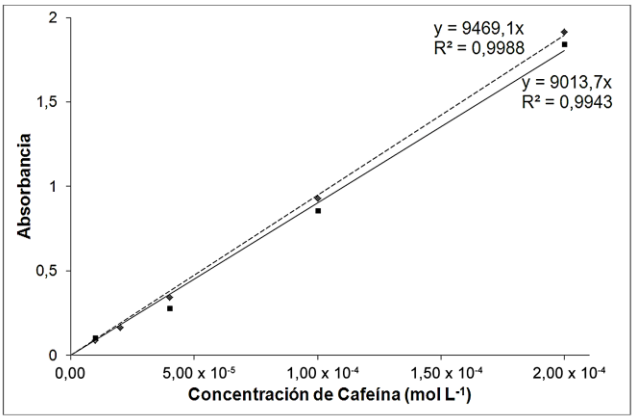



**Figura 2**: Curvas de calibración de cafeína en solución acuosa (–◆–) y octanólica (–■–), a $\lambda = 274$ nm.

**Tabla 1**: Resultados de los experimentos con diferentes tiempos de agitación.

| | **Experimento con 1h de agitación** | **Experimento con 2 h de agitación** |
|---|---|---|
| **Concentración de cafeína en fase acuosa/ mol $L^{-1}$** | $5{,}99 \times 10^{-4}$ | $6{,}03 \times 10^{-4}$ |
| **Concentración de cafeína en fase octanólica/ mol $L^{-1}$** | $5{,}07 \times 10^{-4}$ | $5{,}09 \times 10^{-4}$ |
| **Valor experimental de $K_{Nernst}$** | 0,8464 | 0,8441 |
| **Valor teórico de $K_{Nernst}$** (HANSCH, 1995, 44) | 0,8511 | |
| **Error Relativo Porcentual (%)** | 0,55 | 0,82 |

Una vez que se ha realizado el procedimiento descripto en la sección *Materiales y Métodos* para la distribución de cafeína entre 1-octanol y agua, se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla 1).

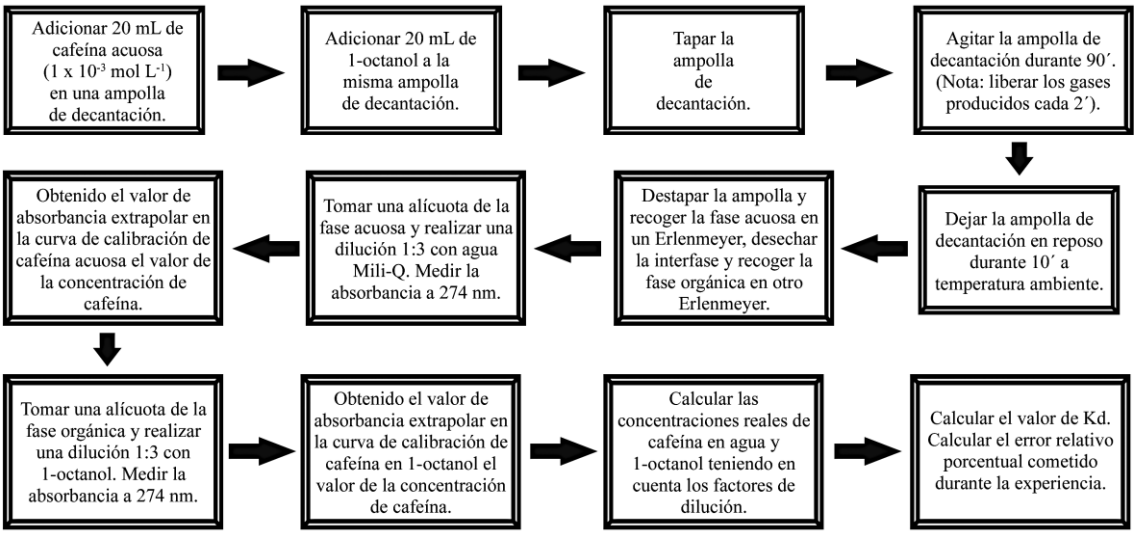
Con los datos de concentraciones obtenidos se calcula la $K_{Nernst}$ de acuerdo a la ecuación (5). Los valores experimentales de la constante de distribución se consignan en Tabla 1, donde además se comparan con los valores informados en bibliografía. Cabe destacar que incrementar el tiempo de

agitación en una hora no produjo cambios significativos de manera que se puede considerar que se ha alcanzado el estado de equilibrio. El valor de $K_{Nernst}$ tabulado en la literatura corresponde a disoluciones muy diluidas de cafeína en las fases acuosa y orgánica, donde los coeficientes de actividad son muy próximos a 1. De esta manera se obtiene un valor medio de la constante de distribución de cafeína entre dos solventes inmiscibles 1-octanol y agua de 0,8452, con un error del 0,7 % respecto del valor de bibliografía.

**Implementación en Docencia**

Durante el segundo semestre del año 2013 los alumnos de 2º año de Ingeniería en Alimentos realizaron como experiencia de Laboratorio la "Determinación del Coeficiente de Distribución de Nernst para Cafeína en el Sistema 1-Octanol/Agua". Los alumnos se distribuyeron en tres comisiones y realizaron la experiencia según el siguiente protocolo de trabajo (Esquema 1). La implementación del mencionado protocolo ha permitido que los alumnos desarrollen adecuadamente el trabajo práctico de Laboratorio en no más de 3 horas, sin producir un error apreciable durante la experiencia. Además, ellos han comprendido y aplicado los conceptos de equilibrio químico, potencial químico y coeficiente de distribución de Nernst a un sistema concreto, el cual se encuentra estrechamente relacionado con los contenidos de la Carrera que cursan.

**Esquema 1**: Protocolo del trabajo práctico de Laboratorio "Determinación del Coeficiente de Distribución de Nernst para Cafeína en el Sistema 1-Octanol/Agua".




## Conclusiones

A partir del experimento de distribución de cafeína entre dos solventes inmiscibles 1-octanol y agua, se determinó un valor medio de constante de reparto de 0,8452, el cual difiere del valor de literatura en un 0,7 % Por otro lado, y en base a los resultados obtenidos para los dos esquemas de trabajo donde se modificó el tiempo de agitación, no se observaron diferencias significativas, lo cual indica que la realización de la experiencia con 1 h de agitación es tiempo suficiente para que el sistema alcance el equilibrio. Los alumnos desarrollaron el presente Trabajo de Laboratorio en una jornada no mayor a 3 h, utilizando un tiempo de agitación intermedio (90 min) a los ensayados durante la optimización para garantizar que el sistema alcance el equilibrio. Además, este trabajo experimental requiere materiales de fácil manipulación, inocuos, accesibles y de bajo costo. La implementación de la metodología aquí

propuesta incorpora el uso de reactivos y solventes inofensivos en pequeñas cantidades para los estudiantes y no contaminantes. De este modo, la aplicación de los Principios de la Química Verde a la práctica docente cotidiana permite mejorar las condiciones de trabajo de docentes y alumnos como así también minimizar el impacto que los reactivos utilizados tienen sobre el medio ambiente, integrando también estos mismos principios a la formación académica de grado de los Ingenieros en Alimentos.

**Referencias**


Blair, A.; Hartge, P.; Stewart, P.A.; McAdams, M.; Lubin, J. **Mortality and cancer incidence of aircraft maintenance workers exposed to trichloroethylene and other organic solvents and chemicals: extended follow up**. Occup. Environ. Med. 55(3): 161-171. 1998.

De la Guardia, M.; Garrigues S. **Handbook of green analytical chemistry**. Wiley. Pp 3-15. 2012.

National Toxicology Program. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. **Report on carcinogens – Twelfth edition**. Pp 86-88. 2011.

IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. **Carbon tetrachloride**. 71 Pt 2:401-432. 1999.

Hansch, C.; Leo, A.; Hoekman, D.H. **Exploring QSAR, Hydrophobic, Electronic and Steric Constants**. ACS Profesional Reference Books, p. 44. American Chemical Society. Washington, DC, USA, 1995.

Maionet, M.; Giostra, U.; Arduini, J.; Furlani, F.; Graziosi, F.; Lo Vullo, E.; Bonasonni, P. **Ten years of continuous observations of stratospheric ozone depleting gases at Monte Cimone (Italy) — Comments on the effectiveness of the Montreal Protocol from a regional perspective**. Sci. Total Environ. 445-446: 155-164. 2013.

McDuffie, H.H.; Pahwa, P.; McLaughlin, J.R.; Spinelli, J.J.; Fincham, S.; Dosman, J.A.; Robson, D.; Skinnider, L.F.; Choi, N.W. **Non-Hodgkin's lymphoma and specific pesticide exposures in men: cross-Canada study of pesticides and health**. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10(11): 1155-1163. 2001.

Pardo-Lozano, R.; Alvarez García, Y.; Barral Tafalla, D.; Farré Albaladejo, M. **Cafeína: un nutriente, un fármaco, o una droga de abuso**. Adicciones. 19(3):225-238. 2007.

Rorije, E.; Peijnenburg, W.J.G.M.; Klopman, G. **Structural requirements for anaerobic biodegradation of organic chemicals – A fragment model analysis**. Environ Toxicol Chem 17: 1943-1950. 1998.

Skoog, D.A.; West, D.M.; Holler, F.J.; Crouch, S.R. **Fundamentals of analytical chemistry – Ninth Edition**. Brooks/Cole, Cengage Learning. p 658-674, Belmont, USA, 2013.

Wang, R.; Zhang, Y.; Lan, Q.; Holford, T.R.; Leaderer, B.; Zahm, S.H. **Occupational exposure to solvents and risk of non-Hodgkin's lymphoma in Connecticut women**. Am. J. Epidemiol. 169(2): 176-185. 2009.

Wilson M.P.; Schawarzman M.R. **Toward a New U.S. Chemicals Policy: Rebuilding the Foundation to Advance New Science, Green Chemistry, and Environmental Health**. Environ. Health Perspect. 117(8):1202-1209. 2009.