

UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA

SEDE CONCEPCIÓN – REY BALDUINO DE BÉLGICA

DETERMINACIÓN DE CAFEÍNA EN CAFÉ DE GRANO
COMERCIAL

Trabajo de Titulación para optar al Título de
Técnico Universitario en QUÍMICA,
MENCIÓN QUÍMICA INDUSTRIAL

Alumna:
Jennifer Fernanda Moncada Cares

Profesor Guía:
Rafael Solar Arcos

2018

“La raza humana necesita un desafío intelectual. Debe ser aburrido ser Dios y no tener nada que descubrir”

Stephen Hawking

RESUMEN

El café es una de las bebidas de mayor consumo a nivel mundial, por altos efectos estimulantes. Debido que la cafeína es el principal principio activo del café y es un compuesto alcaloide, esta causa efectos fisiológicos en el cuerpo. Tiene muchos efectos positivos si se toma con moderación, que son aproximadamente entre 200 mg a 300 mg diario, pero si se excede en el consumo de cafeína que son más de 400 mg tiene efectos adversos que pueden ser muy dañinos para la salud.

La cafeína se puede cuantificar por varios métodos analíticos, el método que se utilizó fue el de espectroscopia UV. Para llevar a cabo la extracción de cafeína se utilizaron varios métodos, uno de ellos fue la extracción líquido – sólido, para luego llevar a filtración y evaporación y así separar las fases. Luego se llevó a cabo la extracción líquido – líquido.

Se realizó una extracción por duplicado de 3 muestras diferentes y se preparó una curva de concentración patrón.

Luego de que las muestras y la curva estén listas para leer se llevaron a cuantificar al espectrofotómetro UV, primero se leyó la curva de calibración para ver si cumplió la ley de Lambert Beer y después se procedió a leer cada muestra por duplicado.

Los resultados de las absorbancias de las muestras problemas, la mayoría dio negativo y la curva de calibración no cumplió con la ley de Beer, debido que ocurrieron muchas interferencias en el procedimiento y en el laboratorio no se encontraron los reactivos necesarios para llevar a cabo el análisis.

ÍNDICE TEMÁTICO

CAPITULO 1: ORIGEN, COMPOSICIÓN Y EFECTOS DE LA CAFEÍNA..... 3

1.1 ORIGEN DE LA CAFEÍNA 4

1.2 COMPOSICIÓN DE LA CAFEÍNA 5

 1.2.1 Mecanismo de acción 6

1.3 EFECTOS DE LA CAFEÍNA..... 7

 1.3.1 Metabolización de la cafeína en el cuerpo 7

 1.3.2 Efectos beneficiosos de la cafeína 8

 1.3.3 Efectos adversos de la cafeína..... 10

1.4 APLICACIONES 12

 1.4.1 Pesticidas 12

 1.4.2 Farmacéutico 12

 1.4.3 Bebidas energéticas 13

CAPITULO 2: METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE CAFEÍNA 15

2.1 TÉCNICAS DE SEPARACIÓN 16

 2.1.1 Extracción sólido – líquido 16

 2.1.2 Filtración 18

 2.1.3 Evaporación 19

 2.1.4 Extracción líquido – líquido..... 20

2.2 MÉTODO ESPECTROSCÓPICO 22

 2.2.1 Radiación electromagnética 23

2.3 ESPECTROSCOPIA UV 24

 2.3.1 Ley de Beer 25

 2.3.2 Limitaciones de la Ley de Beer 25

 2.3.3 Curva de calibración 26

CAPITULO 3: PARTE EXPERIMENTAL Y NORMAS APLICABLES DE LA CAFEÍNA 27

3.1 MATERIALES DE LABORATORIO 28

3.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PATRÓN PARA ELABORAR LA CURVA DE CALIBRACIÓN 29

 3.2.1 Instrumentación 29

 3.2.2 Preparación de las muestras patrón 29

3.3 PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE LA CAFEÍNA EN EL CAFÉ 31

 3.3.1 Instrumentación 31

 3.3.2 Preparación de las muestras de café 32

3.4 PARTE EXPERIMENTAL DEL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO 35

3.5 NORMAS APLICABLES DE LA CAFEÍNA	36
3.5.1 Normas internacionales.....	37
3.5.2 Comparación del contenido de cafeína	37
CAPITULO 4: PREPARACIÓN DE LA MUESTRA Y RESULTADOS	38
EXPERIMENTALES.....	38
4.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	39
4.2 RESULTADOS EXPERIMENTALES.....	43
4.3 INTERFERENTES	46
CONCLUSIONES	47
BIBLIOGRAFÍA	48

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1: Friedrich Ferdinand Runge	5
Imagen 2: Estructura de la cafeína.....	6
Imagen 3: Cafeína en estado puro.....	6
Imagen 4: Metabolitos de la cafeína	8
Imagen 5: Efectos sobre el consumo del café sobre la mortalidad por enfermedades cardiovasculares.....	11
Imagen 6: Sevedol.....	13
Imagen 7: Bebida energética	14
Imagen 8: Esquema de antes y después de la extracción	17
Imagen 9: Sistema de extracción sólido - líquido mediante reflujo.....	18
Imagen 10: Filtración en caliente.....	19
Imagen 11: Evaporación de la solución acuosa en una manta calefactora.....	20
Imagen 12: Extracción líquido – líquido.....	21
Imagen 13: Extracción en embudo de decantación.....	22
Imagen 14: Representación de onda electromagnética	23
Imagen 15: Curva de calibración teórica.....	26
Imagen 16: Verificación de balanza.....	30
Imagen 17: Matraces con concentraciones de la curva de calibración	31
Imagen 18: Sistema de reflujo	32
Imagen 19: Filtración en caliente.....	32
Imagen 20: Separación líquido - líquido	33
Imagen 21: Filtración de la fase clorofórmica	33
Imagen 22: Matraces a sequedad	34

Imagen 23: Muestras listas para leer 34

Imagen 24: Espectrograma de la curva de calibración..... 35

Imagen 25: Espectrofotómetro 36

Imagen 26: Cubeta de cuarzo 36

Imagen 27: Muestra 1..... 39

Imagen 28: Muestra 2..... 40

Imagen 29: Muestra 3..... 41

Imagen 30: Muestras aislada de la temperatura..... 41

SIGLA Y SIMBOLOGÍA

nm: nanometro

UV: Ultra

violeta

Ppm: partes por

millón mg:

miligramos

ml: mililitros

gr: gramos

INTRODUCCIÓN

El café es una de las bebidas más apetecidas y consumidas a nivel mundial. Se obtiene de manera natural producto de la siembra del arbusto o árbol de café, este arbusto es una planta tropical, cuya semilla es el calificado grano de café, el cual genera su primera producción entre los 3 o 4 años de haber sido sembrado, para así hacer una mezcla de agua caliente con granos tostados de la planta de cafeto.

El café contiene más de 1000 sustancias químicas distintas, así como los compuestos nitrogenados, azúcares, aminoácidos, sustancias volátiles, carbohidratos, pero una de las más importantes donde se encuentra el principio activo del café es la cafeína.

La cafeína (1,3,7 – trimetilxantina) es un compuesto químico alcaloide, que generan efectos fisiológicos, pertenecientes al grupo de las metilxantina, su fórmula química es $C_8H_{10}N_4O_2$, con una masa molecular de 194,19 g/mol. Es un polvo incoloro y amargo. Una de sus propiedades, es un sólido cristalino y profundamente amargo.

El cuerpo humano absorbe la cafeína rápida y completamente a partir del tracto gastrointestinal, aumenta su concentración cuando entra al plasma sanguíneo, luego se introduce muy rápido en todos los tejidos corporales. Los efectos estimulantes comienzan desde los 15 y 30 minutos una vez consumida, este efecto puede durar horas. Es una sustancia ergogénica, que interactúa principalmente con la adenosina, donde se destacan algunos efectos positivos y negativos sobre la salud.

La cafeína usada con moderación (2 tazas de café al día) tienen muchos beneficios, lo cual estimula el sistema nervioso central, mejora la concentración, aumenta la energía, proporciona antioxidantes, reduce la sensación de sueño, relaja los músculos lisos, disminuye el riesgo de desarrollar cáncer y diabetes, previene la formación de cálculos. Pero si se consume más 400 mg de cafeína, que equivale a 3 o 4 tazas de café es perjudicial para la salud, ya que, a corto plazo en el sistema nervioso central, el sueño es interrumpido, acelera la ansiedad y hay cambios en el comportamiento, causa intoxicación que se manifiesta con nerviosismo, insomnio, hiperacidez gástrica, contracciones musculares, agitación psicomotriz, diarrea, tensión muscular, palpitaciones cardíacas. Los cafés procesados no pueden pasar de un rango determinado de cafeína. Por eso es importante la determinación de cafeína, ya que el exceso de esta tiende a producir múltiples complicaciones al cuerpo humano de manera fisiológica, causando un problema permanente en nuestras vidas.

OBJETIVOS

Determinar el contenido de cafeína en muestras de café de origen nacional.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Dar a conocer el origen, composición y efectos de la cafeína.
2. Describir la metodología de cuantificación de la cafeína.
3. Identificar las normas aplicables en la determinación de cafeína.
4. Comparar los resultados experimentales con la normativa aplicable.

CAPITULO 1: ORIGEN, COMPOSICIÓN Y EFECTOS DE LA
CAFEÍNA

1.1 ORIGEN DE LA CAFEÍNA

La cafeína está presente desde la edad de piedra, descubrieron que masticar la corteza y hojas de ciertas plantas de cafeto, tenía el efecto de aliviar la fatiga, estimular el estado de alerta y elevar el estado de ánimo. Luego de muchos años se descubrió que el efecto de la cafeína se incrementaba al remojar tales plantas en aguas caliente. Muchos pueblos tienen leyendas que atribuyen el descubrimiento de tales plantas.

El fruto del café tiene orígenes antiguos, es masticada en varias culturas africanas y occidentales, de forma individual o en formación social, para restaurar la vitalidad y aplacar la sensación de hambre.

Una leyenda popular atribuye el descubrimiento a un cuidador de cabras llamado Kaldi, él observaba a sus cabras y veía cambio de comportamiento, se volvían eufóricas y perdían el sueño en las noches después de haber pastado junto a los arbustos de cafeto. Esta leyenda fue registrada en el siglo IX en Etiopía. Llevó las ramas y frutos de éste arbusto a un monasterio, donde se descubrió una nueva, estimulante y deliciosa infusión hecha con los granos tostados del arbusto del café.

En 1819, el químico Alemán Friedrich Ferdinand Runge descubrió la cafeína, acuñó el término Kaffein, compuesto químico del café. Este químico logró aislar el alcaloide del café y sus efectos pudieron ser mejores estudiados, se descubrió que no sólo se encuentra el principio activo en el café, sino en las hojas, semillas y frutos de té, cacao, nueces de cola y en otras 60 plantas. (1)

La cafeína actúa sobre los receptores de adenosina localizados en el cerebro, tiene un efecto inhibidor de la actividad neural y la cafeína que contrarresta sus efectos, produce una activación en el sistema nervioso.



Imagen 1: Friedrich Ferdinand Runge

A finales del siglo XVI, el uso del café fue registrado por un europeo residente en Egipto, debido a eso se introduce su uso general en el oriente próximo. En el siglo XVII en Europa, el café era conocido como “vino árabe”. Durante ese período se establecieron “casas de café” donde se abrieron las primeras casas en Constantinopla y Venecia. Pronto se volvieron populares en toda Europa Oriental.

1.2 COMPOSICIÓN DE LA CAFEÍNA

La cafeína es la sustancia psicoactiva más popular del mundo, ya que ninguna otra puede igualar su alcance y su grado de aceptación. Probablemente la mayoría de las personas se encuentra bajo la influencia de la cafeína la mayor parte del tiempo.

Este principio activo está clasificado como una sustancia alcaloide, eso quiere decir que genera efectos fisiológicos en el cuerpo, se encuentra naturalmente en los granos del café, son pertenecientes al grupo de las metilxantinas (1,3,7 – trimetilxantina), en estado puro es un sólido cristalino blanco. Las bases xánticas son sustancias caracterizadas por tener poco carácter básico solubles en agua y disolventes de tipo orgánicos clorados. Es un sólido cristalino con sabor amargo. Su fórmula química es $C_8H_{10}N_4O_2$. Es una molécula aquiral, lo que quiere decir es que no posee ningún enantiómero u otros estereoisómeros y en su estructura están presente calcio, magnesio y potasio.

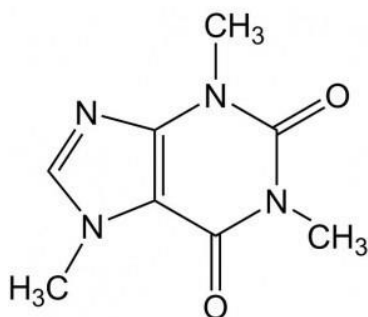


Imagen 2: Estructura de la cafeína

En estado puro, la cafeína es un polvo de color blanco de sabor amargo. La solubilidad de ésta a 25°C es 21 mg/ml y aumenta con la temperatura. Su peso molecular es de 194,19 g/mol. El carácter aromático se debe a que los átomos de nitrógeno están prácticamente en un mismo plano.

Su punto de fusión es de 238°C y su punto de ebullición de 178°C, su densidad es de 1,23 g/cm³. Es eflorescente en contacto del aire. A presión atmosférica sublima a 176 °C, sin descomposición. También, puede cristalizar en forma de prismas hexagonales. Esta sustancia es muy soluble en agua. Puede formar combinaciones estables con sales alcalinas de ácidos débiles, pero su reacción con ácidos da lugar a compuestos muy inestables. Se descompone fácilmente por acción de álcalis calientes y por cloro.



Imagen 3: Cafeína en estado puro

1.2.1 Mecanismo de acción

La cafeína bloquea los receptores de la adenosina que se encuentran en el cerebro. Cruza la barrera hematoencefálica, que es un sistema de protección contra la

entrada de sustancia extrañas formada por células endoteliales que recubre los capilares del cerebro, esta separa los vasos sanguíneos del encéfalo. Luego en el cerebro, el principal modo de acción es como antagonista no selectivo del receptor de adenosina. La cafeína se une a los receptores de adenosina en la superficie de las células sin activarlos, debido a que sus moléculas son similares a la adenosina. Lo cual tenemos a la cafeína que actúa como inhibidor competitivo.

La adenosina se encuentra en casi todo el cuerpo, ya que desempeña un papel fundamental en el metabolismo energético relacionado al ATP, pero en el cerebro, tiene funciones distintas, ya que las concentraciones de adenosina cerebral se ven aumentadas por varios tipos de estrés metabólico, una de ellas son la Hipoxia, cuando el cerebro no recibe suficiente oxígeno y otra es la isquemia que produce una disminución del flujo de la sangre rica en oxígeno.

La cafeína reduce el flujo cerebral de reposo en 22% a 30%. También posee un efecto desinhibitorio general sobre la actividad neural.

Otro mecanismo de acción, aumenta el rendimiento sobre el sistema nervioso Central, la cafeína puede afectar a la utilización de sustratos energéticos durante el ejercicio, ya que el consumo de cafeína antes y durante el ejercicio actúa reduciendo la dependencia de la utilización de glucógeno y aumentando el uso de grasa como fuente de energía.

También las endorfinas son capaces de inhibir las fibras nerviosas que transmiten el dolor, y el consumo de cafeína aumenta la secreción de endorfinas, por lo que sus propiedades analgésicas podrían disminuir la percepción del dolor mientras corremos y aumentamos nuestro esfuerzo físico.

1.3 EFECTOS DE LA CAFEÍNA

1.3.1 Metabolización de la cafeína en el cuerpo

La cafeína se consume de vía oral y el cuerpo humano la absorbe rápidamente en un 97% el estómago y en el intestino delgado, distribuyéndose en casi todos los tejidos, incluido en el cerebro, ya que la cafeína es un alcaloide y éste es muy permeable a la selectiva barrera hémato – encefálica, que deja pasar agua u otro líquido a través de sus poros. La metabolización ocurre primeramente en el hígado a un 95% ya través de la acción enzimática se convierte en tres metabolitos:

Paraxantina, Teofilina, Teobromina. El cual es eliminado por los riñones en la orina, que equivale entre un 3 a 10 % de lo que se consume. (2)

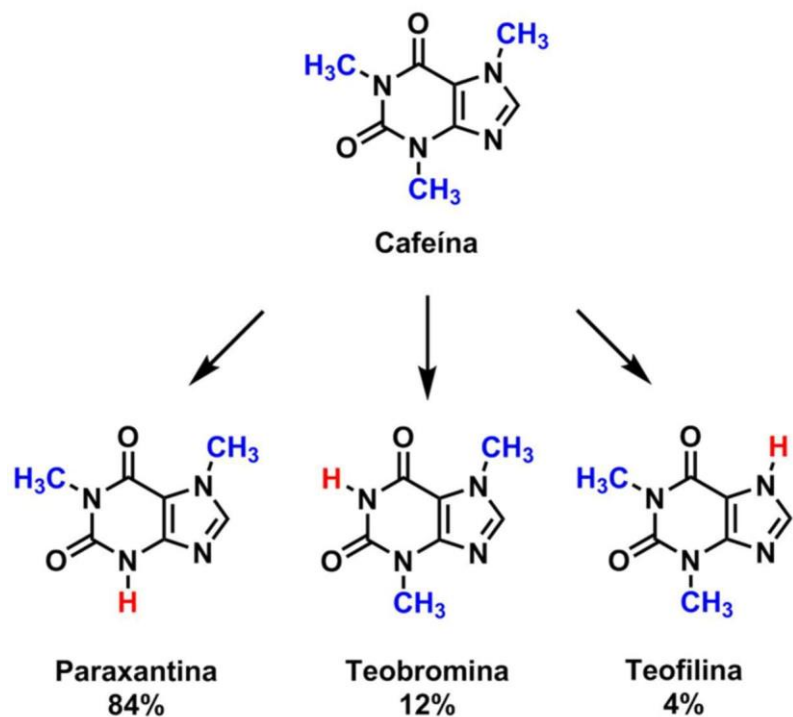


Imagen 4: Metabolitos de la cafeína

Entre los 15 a 45 minutos posteriormente a ser consumidas, la cafeína aparece en el torrente sanguíneo, logrando las máximas concentraciones aproximadamente entre 45 a 60 minutos después de su ingestión. La cafeína llega al cerebro sin dificultad debido a su solubilidad. Después de 6 horas de haber consumido el café, su principio activo se reduce en un 50 a 75%. (3)

1.3.2 Efectos beneficiosos de la cafeína

Según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, la cafeína puede ayudar el rendimiento en las labores físicas e intelectuales y beneficiando a la salud, tomando una dosis entre 75 y 300 mg de cafeína, que equivale tomar entre media y tres tazas de café al día. (4)

La enfermedad del Parkinson es causada por la pérdida de células cerebrales que producen un mensajero químico llamado dopamina. La cafeína reduce hasta un 80% de tener esa enfermedad. La gente que consume cafeína regularmente tiene un riesgo menos de desarrollar esa enfermedad. La cafeína protege las células del cerebro

humano, reduce la cantidad de neurotransmisores producidos por el cerebro, los transmisores que pueden causar daños en el tejido cerebral circundante. (5)

La cafeína mejora el estado de alerta y el tiempo de reacción de las personas, estimulando el sistema nervioso central, donde reduce al mismo tiempo el azúcar en la sangre y aumenta la demanda del cerebro para el azúcar.

El estado de ánimo con efectos de cafeína depende de la cantidad que consumamos o si es dependiente o tolerante a la cafeína. Para los usuarios intermitentes, la dosis moderada sería entre 20 mg a 200 mg, lo cual genera efectos de ánimo positivo como el aumento del bienestar, la felicidad, la excitación energética, es estado de alerta y la sociabilidad. Entre los consumidores más frecuentes de cafeína, que consumen más de 200 mg, pueden producir efectos negativos, pero generalmente leve y breve, incluyen aumento de ansiedad, nerviosismo y malestar estomacal.

En el desempeño intelectual, aumenta la memoria a corto plazo, facilita el proceso de memorización ya que mejora la concentración, mantiene la agudeza mental y reduce el deterioro cognitivo con la edad.

Hay estudios de que la cafeína puede mejorar el rendimiento físico, ya que ayuda a quemar grasas en lugar de carbohidratos, aumenta la resistencia muscular durante el ejercicio breve e intenso, también mejora el rendimiento anaeróbico y la contractibilidad muscular, porque aumenta los niveles de catecolaminas (grupo de neurotransmisores), permite que llegue mayor cantidad de sangre oxigenada a los músculos, proporcionando mayor cantidad de energía al músculo durante mayor cantidad de tiempo y así produce menos cansancio, como el levantamiento de objetos pesados y carreras de velocidad en distancias cortas.

Durante un dolor de cabeza, los vasos sanguíneos del cerebro se dilatan o se hacen más anchos. La cafeína hace que los vasos sanguíneos se contraigan, lo que calma el dolor de cabeza. Ayuda al cuerpo a absorber medicaciones del dolor de cabeza más rápidamente, trayendo un alivio rápido. Por esa razón, muchos medicamentos contienen cafeína en su fórmula. Se utiliza en el tratamiento de migraña.

Se ha analizado que la cafeína es un estimulante leve de la función respiratoria, incrementa el flujo sanguíneo y la ventilación de los pulmones, produce un incremento de la frecuencia y la profundidad de la respiración, por esta razón, se ha visto su efectividad y utilidad en el tratamiento del asma, del espasmo braquial de la apnea neonatal. (6)

La cafeína desde los años 70, está presente en las cremas de adelgazar, especialmente en los productos anticelulíticos, ya que este se trata de un potente agente lipolítico que estimula la eliminación de las grasas y tiene un fuerte efecto

drenante, que elimina las toxinas y mejora la circulación de los líquidos. El principio activo del café está cargado de polifenoles, que son micronutrientes con actividad antioxidante, frenan el envejecimiento celular y aumentan la vigilancia mediante el apoyo a la secreción de noradrenalina, un neurotransmisor del cerebro. La cafeína es y seguirá siendo el pilar fundamental de cualquier fórmula cosmética para adelgazar y eliminar “la piel de naranja”. (7)

1.3.3 Efectos adversos de la cafeína

El consumo de café excesivo, tiene efectos perjudiciales para la salud, equivale entre 6 a 8 tazas de café diarias (400 mg de cafeína o más). Este consumo a relacionado con úlceras gástricas, incremento en el nivel del colesterol y alteraciones en el sueño.

Uno de los problemas sobre el exceso de cafeína en las personas, es la reducción de la densidad mineral ósea, ya que incrementa el riesgo de sufrir fracturas en la cadera e influye negativamente en la retención de calcio, disminuye su absorción en el tracto digestivo y aumenta la excreción urinaria y fecal, esto se asocia a un balance negativos calcio en el organismo. Pero el alto consumo de cafeína no afecta a persona que ingieren la cantidad de calcio requerida para el organismo. Por eso se requiere ingerir calcio, para poder compensar la pérdida mínima de ese mineral que se produce en la excreción urinaria luego de consumir café. En el caso de hierro se debe evitar el consumo de café una hora antes y una después, ya que la cafeína inhibe su absorción.

La cafeína se relaciona con la función cardiovascular, ocasiona de la frecuencia cardiaca y aumento de la presión arterial en pequeñas dosis. La hipertensión es uno de los mayores riesgos de enfermedad cardiovascular, por lo cual aún pequeñas reducciones en la presión vascular pueden tener gran impacto en la salud. La cafeína puede aumentar los niveles plasmáticos de hormonas relacionadas al estrés, podría esperarse un efecto hipertensivo derivado del consumo de café, ya que la secreción de estas hormonas se estimula por la cafeína. En la imagen número 5 muestra una gráfica sobre el consumo y no consumo del café y sus efectos de mortalidad, grafica las diferencias en el riesgo o mortalidad de enfermedades coronaria o infarto al miocardio, esta última presenta obstrucciones de la irrigación sanguínea al musculo del corazón. El no consumo de café se asocia con un riesgo menor a moderado sobre lesiones o enfermedades de los vasos sanguíneos del corazón, al igual que tomar cantidades moderadas de café (hasta 300 ml) origina un bajo riesgo de infartos, representa un factor de protección. (8)

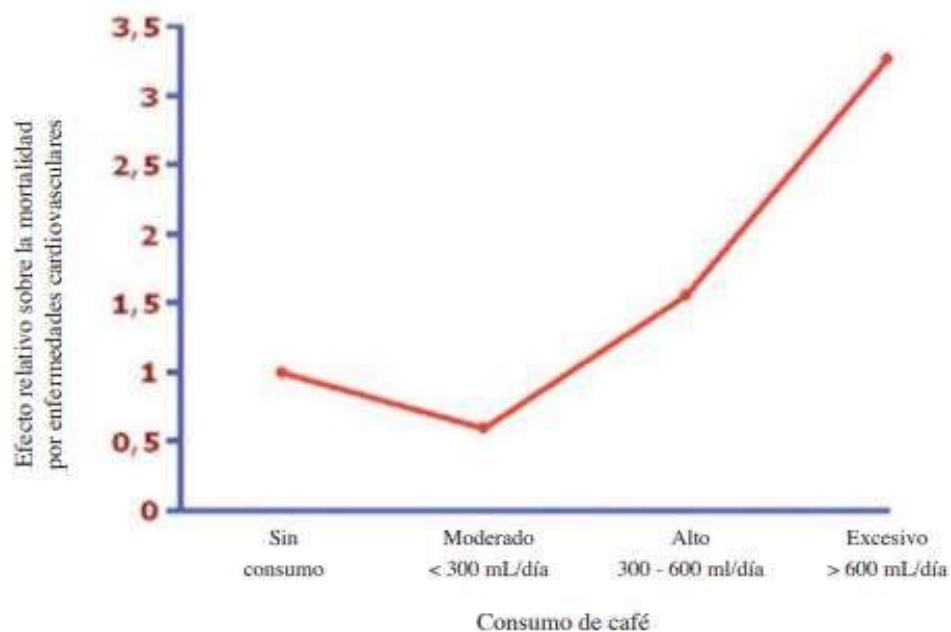


Imagen 5: Efectos sobre el consumo del café sobre la mortalidad por enfermedades cardiovasculares

El consumo en el embarazo puede ser contra prudente, ya que disminuye su habilidad para metabolizar la cafeína de manera lineal, además esta atraviesa la barrera feto placentaria afectando al producto, que por su inmadurez tampoco puede metabolizar la cafeína y esta se acumula relacionándose con prematuridad y bajo peso al nacer. Cuando la mujer embarazada toma entre 4 a 7 tazas de café al día, tiene mayor riesgo de aborto espontáneo. En la lactancia la cafeína puede pasar a la leche materna y en exceso puede causar insomnio e irritabilidad en los lactantes, por esa razón los niños no deben consumir café, ya que es supresor del apetito y en los niños hiperactivos puede ser un agravante de esta condición. (9)

El consumo diario de cafeína en personas con diabetes tipo 2 aumenta los niveles de azúcar en la sangre y puede socavar los esfuerzos para controlar su enfermedad, también aumenta la glucosa después de las comidas, estudios sugieren que una forma de reducir el azúcar en la sangre es simplemente dejar el café o cualquier otra bebida o alimentos que contenga cafeína.

La explicación científica de porque el café quita el sueño, es que la acción de la cafeína está en la influencia sobre la adenosina, esta controla el cansancio del cuerpo y el estado de ánimo. Las personas que consumen rara vez esta bebida, sus efectos se pueden prolongar durante horas, mantendrá el estado de vigila que impedirá el sueño. Aumenta el número de veces que se despierta durante la noche, aumentando la necesidad de orinar y que interfiere con el sueño profundo. Esto lleva a una mala calidad del sueño y fatiga durante el día.

Los problemas cognitivos y de memoria son la característica de la enfermedad del Alzheimer, se caracteriza por los síntomas neuropsiquiátricos, comprenden ansiedad, apatía, depresión, alucinaciones, paranoia y síndrome del atardecer, la cafeína empeora los síntomas neuropsiquiátricos, como trastornos de personalidad, ideas delirantes, alucinaciones, agitación y agresividad, depresión, conductas motoras anómalas.

Otros problemas corporales sobre el exceso de cafeína son el problema digestivo; acidez, dolor de estómago, irritación intestinal, flatulencia, diarrea o estreñimiento. Aparecen síntomas de nerviosismo, insomnio, taquicardia o irregularidad en el pulso cardíaco, zumbidos en los oídos, temblores y espasmos musculares.

1.4 APLICACIONES

1.4.1 Pesticidas

El café puede ser un repelente para caracoles y babosas pero amigable con el medio ambiente. Debido que los cultivos de café pueden ahuyentar a las babosas, por su aspereza. La cafeína actúa como un potente neurotoxina para las plagas viscosa, según aseguran los científicos del Departamento de Agricultura de EE.UU. en Hawai. (10)

La fumigación de cafeína tiene que ser en una concentración de 1 a 2%, es efectiva para la eliminación de bichos. Es una solución concentrada, ya que una taza de café instantáneo contiene alrededor de un 0,005% de cafeína. Con esa concentración las babosas pierden su apetito, lo que es un método eficaz de protección de las plantas. (10)

1.4.2 Farmacéutico

La cafeína va incorporada como adyuvante del efecto analgésico en los remedios para el resfriado, se incluye este componente para combatir el dolor o y el resfriado, como la congestión nasal o el malestar general. Este contiene varios principios activos como: Analgésico y antipirético (para bajar la fiebre). Un

antihistamínico (para la rinorrea), descongestionante y antitusivo, para inhibir la tos.
(11)

Existen más de 40 remedios que contiene cafeína en su composición, pero las personas que son hipersensibles a la cafeína, no deben medicarse con esos tipos de medicamentos.

Un ejemplo fármaco que contiene cafeína es el Sevedol, un analgésico que alivia el dolor de cabeza o cefalea.



Imagen 6: Sevedol

1.4.3 Bebidas energéticas

El consumo de bebidas energéticas está de moda en los últimos años, debido a su alto contenido cafeína. Muchos las utilizan para mantenerse despiertos y activos durante las fiestas, para estar más atentos en clases y hasta preparar un examen o una importante presentación en el trabajo, debido que tiene efectos estimulantes del sistema nervioso central, que se traduce en la sensación de energía para realizar alguna actividad. No se recomienda el consumo en niños ni en adolescentes, la dosis diaria de los adolescentes no debe superar los 100 mg de cafeína.

Las bebidas llegaron a Chile en 2001, al principio se pensó que estaban destinadas a remediar la energía que perdían las personas tras largas jornadas deportivas, lo que hoy en día su consumo se ha disparado.

El consumo excesivo de estas bebidas energéticas puede tener una gran variedad de efectos adversos, por su alto contenido de cafeína, ya que ocasiona cambios en el ritmo cardíaco, aumento de adrenalina, deshidratación, gastritis, daños y alteraciones en nervios y riñones. Una bebida energética más popular es la Red Bull, una lata de 250 ml contiene 80 mg de cafeína, aproximadamente la misma que una taza de café.
(12)



Imagen 7: Bebida energética

CAPITULO 2: METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE CAFEÍNA

La determinación de cafeína es de mucha importancia, debido a su utilización en las industrias de alimentos, como elaboración de bebidas energéticas en el cual está presente el sitio activo, en productos como el té, el mate, el cacao y el café, también se utilizan para fabricar fármacos. El control de calidad es necesario en los productos que lo contienen.

Para elegir una técnica de cuantificación, se debe tener en cuenta el criterio económico y de accesibilidad de los materiales tanto como los reactivos. Se debe tener en cuenta las propiedades físicas y estructurales de las moléculas que se pretenden separar, o de las características de la matriz en que se encuentran; otras derivan de los objetos de análisis (sensibilidad, tiempo de análisis, necesidad de una detección específica).

Unas de las técnicas analíticas más empleadas hoy en día para la determinación de cafeína se presentan en dos grupos: técnica de separación y técnicas espectroscópicas. La técnica de separación se utiliza para resolver los componentes de una mezcla y la señal obtenida, puede utilizarse con fines analíticos cuantitativos o cualitativos. La técnica espectroscópica proporciona para cada compuesto analizado, una información compleja, relacionada con sus características estructurales específicas.

2.1 TÉCNICAS DE SEPARACIÓN

Antes de llevar a cabo la determinación del contenido de la muestra, se lleva por un proceso de extracción. Es una técnica empleada para separar un producto orgánico de una mezcla de reacción o para aislarlo de sus fuentes naturales. Se define como la separación de un componente de una mezcla por un disolvente. Para esta determinación se llevan a cabo dos tipos de extracción. Extracción sólido – líquido y líquido – líquido.

2.1.1 Extracción sólido – líquido

Esta extracción es una operación también llamada como lixiviación, es una operación unitaria que está referida a la disolución de uno o más componentes de la muestra sólida, por el contacto que se establece con un disolvente líquido. El solvente

se concentra y se recuperan los productos deseados. Para llevar a cabo esta técnica debe haber un contacto superficial directo entre ambas fases, por lo tanto, es conveniente que el sólido esté finalmente dividido y que el proceso de extracción se repita varias veces para incrementar su eficiencia. (14)

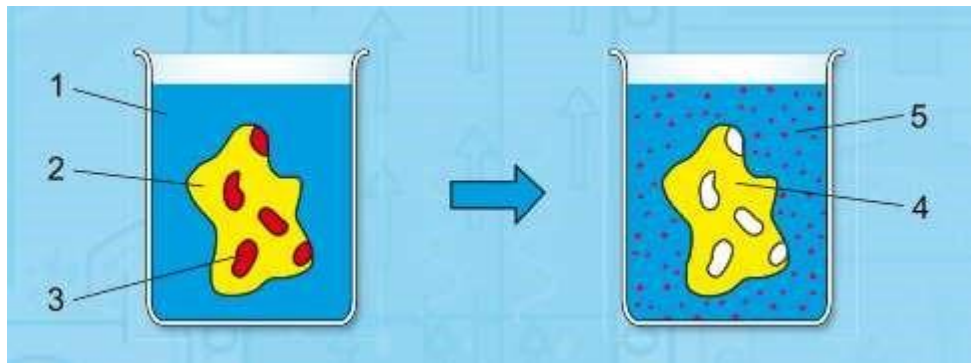


Imagen 8: Esquema de antes y después de la extracción

En la imagen 8 se observa un esquema donde se separa el soluto del solvente, mediante el material de extracción, que es la fase portadora sólida con soluto. El número uno es el disolvente, número dos es el material de extracción, número tres el soluto, número cuatro es la fase portadora sólida lixiviada y el número 5 es el disolvente con el soluto de transición.

El componente que se transfiere de la fase sólida a la líquida reciben el nombre de soluto, mientras que el sólido insoluble se denomina inerte.

Entre más grande sea la superficie de contacto entre la parte sólida y el líquido que le atraviesa aumenta la eficiencia de la extracción.

Los factores más importantes que influyen sobre la velocidad de reacción, son el tamaño de partículas sólidas, cuando más pequeñas sean, mayor es la superficie interfacial y más corta la longitud de onda de los poros. Tamaños excesivamente pequeños pueden hacer que las partículas se apelmacen dificultando la extracción. El disolvente debe ser lo más selectivo posible y se recomienda baja viscosidad. Aumento de temperatura favorece la solubilidad y aumentan los coeficientes de transferencia de materia. La agitación del disolvente – soluto evita la sedimentación. (13)

Para llevar a cabo la extracción sólido – líquido se debe masar la muestra aproximadamente 300 mg (café molido) y se lleva ebullición a reflujo con 200 ml de agua destilada durante 15 minutos. Seguidamente se filtra la solución en caliente y se

añaden 5 g de Carbonato de Sodio hasta total disolución. El sistema de reflujo lleva un matraz balón fondo plano, está diseñado para el calentamiento uniforme de distintas sustancias, con un material de vidrio llamado codo se conecta el tubo refrigerante que puede ser de camisa o serpentín, de modo que los vapores generados en el matraz se condensan en el refrigerante y vuelvan a caer en el interior del mismo. Permite mantener la reacción a temperatura constante, el tiempo que sea necesario y sin pérdida del disolvente. La cafeína es soluble en agua caliente, por lo que se puede extraer eficazmente. La cafeína pasa a disolución acuosa, pero acompañada de otros compuestos orgánicos como los taninos, que es un compuesto orgánico del café.

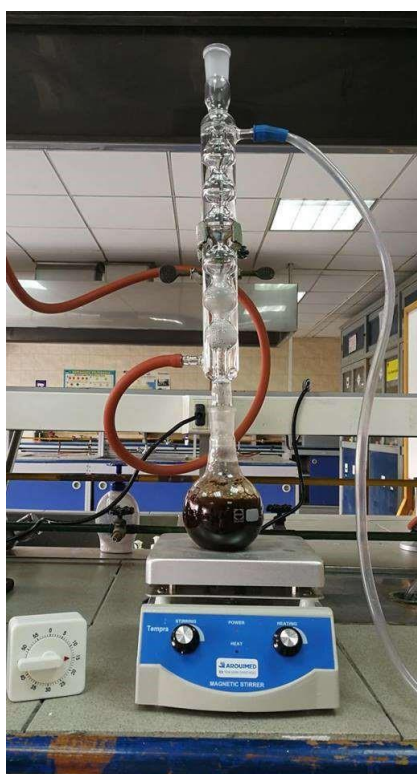


Imagen 9: Sistema de extracción sólido - líquido mediante reflujo

2.1.2 Filtración

En la extracción sólido – líquido, después de llevar la muestra a un sistema de reflujo, hay un paso donde la muestra se lleva a filtración en caliente. Esta es una operación unitaria en la que el componente sólido insoluble de una suspensión sólido – líquido se separa del componente líquido haciéndola pasar a través de una membrana porosa que retiene las partículas sólidas en su superficie.

El equipo de filtración debe tener un soporte para el filtrado, un embudo de vástago largo, para retener el sólido. Se debe hacer en caliente y por gravedad para evitar formaciones de cristales y tener un rendimiento óptico. Se debe hacer con mucho cuidado y rápidamente, con un papel filtro de pliegues para aumentar la velocidad de filtración.



Imagen 10: Filtración en caliente

2.1.3 Evaporación

En la extracción líquido – líquido, después de agregar sulfato de sodio, la solución se pasa a un matraz o balón para evaporar a sequedad en una manta calefactora. Se concentra la solución una solución que consta de un soluto no volátil y un disolvente volátil (cloroformo). Se lleva a cabo vaporizando una parte del disolvente con el fin de obtener una solución concentrada.

El equipo que se utiliza para llevar a cabo la operación es una manta calefactora, lo cual permite realizar la evaporación del disolvente en el matraz o balón donde se introduce la disolución, mediante el calentamiento y eliminando los disolventes utilizados en la purificación y aislamiento de compuestos orgánicos. Esto permite una gran transferencia de calor entre la manta y el material de vidrio, consiguiéndose una evaporación muy rápida.



Imagen 11: Evaporación de la solución acuosa en una manta calefactora

Antes de realizar la evaporación, se agregó sulfato de sodio para absorber el agua (agente desecante), ya que es inerte e insoluble en los líquidos orgánicos por lo que se puede utilizar para secar cualquier tipo de compuestos, es lento pero eficaz.

Una vez eliminado el cloroformo, se añaden al mismo matraz o balón 50 ml de agua y se agita hasta perfecta disolución. Posteriormente, se enrasa a 100 ml en un matraz aforado. Se toman 10 ml de esta última solución, se añade 1 ml de ácido clorhídrico 0,01 M y se enrasa con 25 ml de agua destilada. Luego de eso, las muestras están preparadas para leerla en el espectrofotómetro.

2.1.4 Extracción líquido – líquido

Esta técnica es la operación más importante en la separación de mezclas homogéneas líquidas. Consiste en separar un componente de la muestra líquida, con ayuda de un disolvente que lo disuelve.

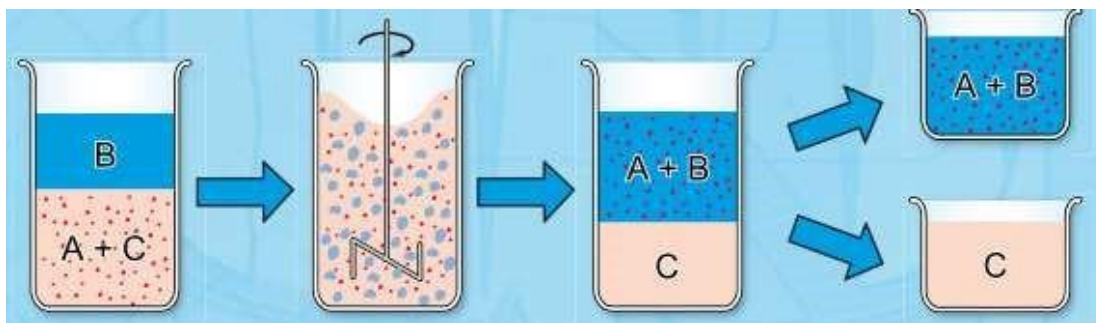


Imagen 12: Extracción líquido – líquido

En la imagen 12, se observa un esquema, donde A es el soluto y forma parte de la mezcla con el líquido portador C. La mezcla de partida y el disolvente B se mezclan entre sí, el soluto A pasa al disolvente B. El líquido C debe ser insoluble en el disolvente

B. El soluto es absorbido en su totalidad por el disolvente. En el resultado de esta extracción se forman dos fases después de la decantación: la fase de extracto; principalmente A y B, restos de C y la fase de refino principalmente C, con restos de A y B. (13)

Para llevar a cabo en la práctica, esta técnica se debe enfriar la muestra después de la extracción sólido – líquido y la solución pasa a un embudo de decantación, que es un material de vidrio que se emplea para separar dos líquidos inmiscibles. La extracción nunca es total, pero se obtiene más eficacia cuando se hacen sucesivas extracciones. Luego se agregan 15 ml de cloroformo, se utilizó este disolvente por la gran solubilidad, es más denso que el agua, formará la capa inferior que se podrá recoger separada abriendo la llave del embudo. La glucosa se separa de la cafeína extrayendo ésta en el disolvente orgánico, en el que la glucosa no es soluble. Hay que tener cuidado con las emulsiones al momento de agitar el embudo con la muestra, ya que retardan drásticamente la separación. Es aconsejable adicionar un compuesto iónico como cloruro de sodio o sulfato de potasio a la fase acuosa, estos disminuyen la tensión en la superficie de las gotas de agua, facilitando la rápida y clara distinción de las dos capas.



Imagen 13: Extracción en embudo de decantación

Después de la separación de las dos fases, decantar y recolectar las fracciones orgánicas, se añaden pequeñas cantidades de sulfato de sodio para absorber el agua, separamos la disolución acuosa con un disolvente orgánico.

2.2 MÉTODO ESPECTROSCÓPICO

Los métodos espectroscópicos son un amplio grupo de métodos analíticos que se basan en la radiación electromagnética emitida o absorbida por los analitos. Se clasifican en 3 métodos:

- a) Método de absorción: Se basa en la disminución de la potencia de un haz electromagnético al interaccionar sobre una sustancia.
- b) Método de emisión: Analiza las longitudes de onda de los fotones emitidos por los átomos o moléculas durante su transición desde un estado excitado a un estado de inferior energía.
- c) Método de fluorescencia: Se utiliza un haz de luz, por lo general luz ultravioleta, que excita los electrones de las moléculas de ciertos

compuestos y provoca que emitan luz de menor energía, generalmente luz visible.

Existen muchos tipos de espectroscopia, las más utilizadas son:

- a) Espectroscopia de resonancia magnética nuclear: Estudia el comportamiento de ciertos núcleos atómicos en presencia de un campo magnético externo.
- b) Espectroscopia de infrarrojo: Es un método de medida de la absorción de la radiación en un rango de longitudes de onda, cuando ésta pasa a través de una capa delgada de sustancia.
- c) Espectroscopia ultravioleta: Está basada en el proceso de absorción de la radiación ultravioleta-visible por una molécula. La absorción de esta radiación causa que un electrón en estado basal pase a un estado excitado.
- d) Espectroscopia de masa: Estudia los compuestos inorgánicos o biológicos para obtener información cualitativa y cuantitativa, se obtiene información de la masa molecular del compuesto analizado.

2.2.1 Radiación electromagnética

La radiación se describe por el modelo clásico sinusoidal, que utiliza parámetros como longitud de onda, la frecuencia, la velocidad y la amplitud que oscilan en dos planos perpendiculares entre sí y a la dirección de propagación. El vacío se propaga a la velocidad de la luz. La radiación se presenta como un campo eléctrico y otro magnético, estos vectores son perpendiculares y su módulo dirección y sentido varían según el movimiento oscilatorio. Ambos vectores cambian en función del tiempo debido a la propagación de onda. Los parámetros que caracteriza una onda son:

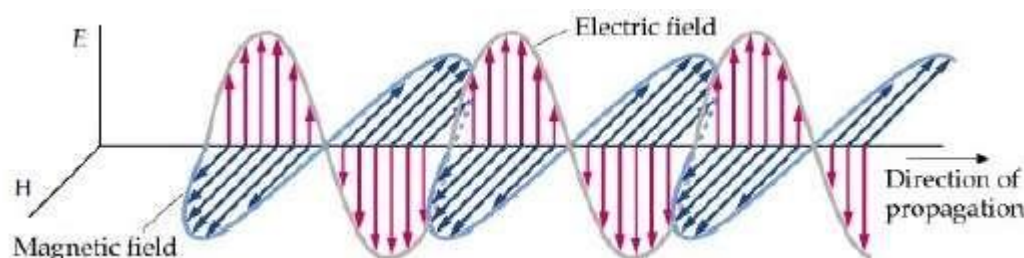


Imagen 14: Representación de onda electromagnética

- Longitud de onda: representa la distancia entre dos puntos.
- La frecuencia: número de oscilaciones por unidad de tiempo.
- Radiación electromagnética: está formada por unidades discretas de energía llamada fotones.
- Intensidad: Se define como número de fotones que por unidad de tiempo atraviesa la unidad de área, perpendicular a su dirección.

El espectro ultra violeta visible, en el intervalo 200 – 750 nm, constituye la zona de del espectro en el que operan las espectroscopias UV – visible y fluorescencia.

2.3 ESPECTROSCOPIA UV

Este método está basado en medidas de radiación electromagnética absorbida o emitida por las sustancias. Las técnicas espectroscópicas se basan en la utilización de energía luminosa de cierta longitud de onda para identificar o cuantificar analitos de la muestra.

Cuando un analito en disolución capaz de absorber luz se coloca en la celda de un espectrofotómetro y se le hace incidir luz de cierta longitud de onda, parte de la luz incidente es absorbida por el analito y el resto atraviesa y llega al fototubo del equipo que la detecta y mide. Tales propiedades se conocen como transmitancia y absorbancia. Si P_o es la energía radiante incidente y P la energía radiante transmitida, la transmitancia, definida como la fracción de la energía radiante que pasa a través del analito, se expresa como:

Formula 1:

$$T = P/P_o, \text{ o bien } T \% = (P/P_o)100$$

Mientras que la absorbancia, definida como la fracción de la energía radiante que es absorbida por la muestra y que está relacionada logarítmicamente con la transmitancia, se expresa de tal forma:

Formula 2:

$$A = \log T = \log_{10} (P_o/P)$$

2.3.1 Ley de Beer

Esta ley indica cuantitativamente como la absorbancia depende de la concentración de las moléculas absorbentes y de la longitud de trayecto, paso óptico o recorrido de la luz en la celda. Cuanto mayor sea la concentración de las moléculas absorbentes mayor será la absorbancia, ya que habrá moléculas absorbiendo por unidad de volumen. Entre mayor sea la longitud del paso óptico, mayor será la absorbancia pues existirán más moléculas en el trayecto recorrido por la luz. Por lo tanto, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la especie absorbente (c) y a la longitud de onda del paso óptico (b) y se expresa como:

Formula 3:

$$A = a \times b \times c$$

La concentración (c) puede expresarse en g/l o en ppm

La ley de Beer sólo se cumple con radiación monocromática, que tiene solo una longitud de onda a ese color y en disoluciones diluidas (10^{-2} - 10^{-6} M) debido a que en disoluciones concentradas las moléculas de soluto interaccionan entre sí y cambian sus propiedades, entre ellas, la absortividad, bajo estas condiciones, un gran número de compuestos siguen la ley de Beer. Para saber el intervalo de concentraciones en el que un compuesto sigue una relación lineal con la absorbancia (Ley de Beer), se elabora una curva de calibración midiendo las absorbancias de disoluciones del analito de concentraciones conocidas.

2.3.2 Limitaciones de la Ley de Beer

Esta Ley describe de forma correcta el comportamiento de absorción de un medio que contiene las concentraciones de analito relativamente bajas, es una ley límite. A concentraciones altas (generalmente $> 0,01$ M), la distancia media entre las moléculas responsables de la absorción disminuye hasta el punto en que cada molécula altera la distribución de carga de las moléculas vecinas. Esta interacción puede alterar la capacidad de las moléculas para absorber la radiación de una determinada longitud de onda. Tal como la magnitud de interacción depende de la concentración, da lugar a desviaciones de la linealidad entre la absorbancia y la concentración.

Una desviación química de esta Ley es cuando un analito se disocia, se asocia o reacciona con un disolvente para dar lugar a un producto con un espectro de absorción diferente del analito. Las disoluciones acuosas de los indicadores ácido/base son un ejemplo característico de este comportamiento.

2.3.3 Curva de calibración

Se denomina espectro de sustancia a la representación de absorbancia (A) en función de longitud de onda (λ), es un gráfico que presenta ondulaciones con máximos y mínimos.

Para hacer las determinaciones cuantitativas se elige, en general, la longitud de onda correspondiente a un máximo, pues el error de medición es mínimo y la sensibilidad máxima.

Para la verificación de esta ley, se debe analizar la curva de calibración; absorbancia (A) en función de concentración (c), para lo cual se preparan soluciones de la sustancia de concentraciones conocidas y se mide la absorbancia a la longitud de onda elegida.

Si es válida, la relación debe ser una recta, que pase por el origen de los ejes cartesianos.

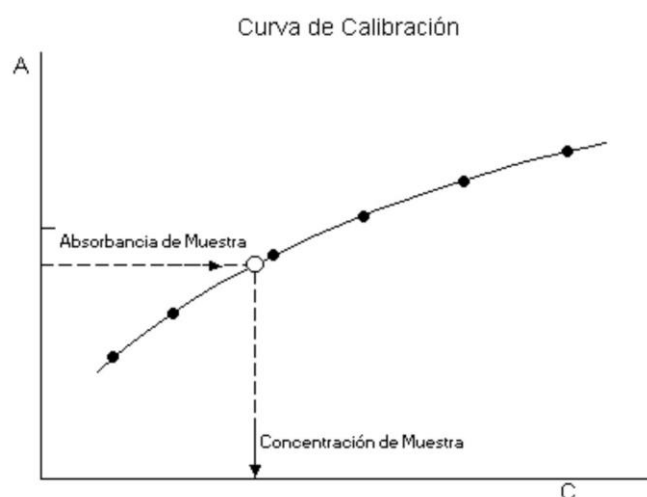


Imagen 15: Curva de calibración teórica

CAPITULO 3: PARTE EXPERIMENTAL Y NORMAS APLICABLES
DE LA CAFEÍNA

3.1 MATERIALES DE LABORATORIO

A continuación, se muestra el listado de materiales y reactivos que se ocuparon para la extracción y cuantificación de cafeína:

Materiales:

- 7 mangueras
- 6 refrigerantes en bola
- 6 balones planos de 250 ml
- Perlas de ebullición
- Nuez doble
- Pesafiltro
- 2 probetas de 250 ml
- Pinza para refrigerante
- 6 vasos precipitados
- Espátula
- 6 Soporte universal
- 6 embudos de decantación 250 ml
- 6 Anillos de soporte
- 6 embudos de vástago largo
- 6 manta calefactora
- Guantes de nitrilo
- Antiparras
- Probeta de 15 ml
- 1 matraz aforado de 100 ml
- 1 pipeta total de 10 ml
- Propipeta
- 10 matraces aforado de 25 ml
- 1 pipeta total de 1 ml

- 1 pipeta total de 5 ml
- 2 matraz aforado de 50 ml
- 8 matraces a aforado de 100 ml
- Papel filtro número 2 cuantitativo
- Espectrofotómetro UV mini – 1240, shimadzu

Reactivos:

- Carbonato de Sodio
- Sulfato de Sodio
- Ácido clorhídrico 0,01 N
- Cafeína
- Cloruro de Sodio

3.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PATRÓN PARA ELABORAR LA CURVA DE CALIBRACIÓN

3.2.1 Instrumentación

Equipos:

- Balanza analítica AA-200
- Estufa

Reactivos:

- Cafeína (reactivo analítico)
- Ácido Clorhídrico 0,01 M

3.2.2 Preparación de las muestras patrón

Para desarrollar correctamente cualquier trabajo de laboratorio es necesario mantener siempre limpio el material y el lugar de trabajo. El material debe estar limpio y seco.

Para prepara la solución patrón de cafeína, se debe masar 40 mg de cafeína (reactivo) previamente secada. Para masar la muestra, se debe verificar la balanza para contar con una mayor exactitud.

N°	Fecha	Verifica	Masa 50mg	Masa 500mg	Masa 1 g	Aprueba	Observaciones
			Masa 10 g	Masa 50 g	Masa 100g		
55	14/Nov	Jenni Ybancada	0,0500	0,5000	1,0007		
			9,9988	49,9993	100,0039		
			Masa 50mg	Masa 500mg	Masa 1 g	Aprueba	Observaciones

Imagen 16: Verificación de balanza

Luego de la masada de cafeína se lleva a la estufa para secar el reactivo. Cuando la cafeína esta lista se disuelve en un matraz aforado de 100 ml con agua destilada, que equivale a 400 ppm. De esa solución se sacan 10 ml con una pipeta total para disolver con agua destila en un matraz aforado de 100 ml y obtener una concentración de 40 ppm y realizar la curva de calibración.

A partir de la solución de cafeína de 40 ppm, se preparan 5 soluciones más diluidas de concentraciones de 4, 8, 16, 24, 32 ppm.

- Solución de 4 ppm: Se toman 5 ml de la solución patrón de cafeína de 40 ppm + 2 ml de ácido clorhídrico de 0,01 M y se enrasa con agua destilada en un matraz de 50 ml.
- Solución de 8 ppm: Se toman 5 ml de la solución patrón de cafeína de 40 ppm + 1 ml de ácido clorhídrico de 0,01 M y se enrasa con agua destilada a 25 ml.
- Solución de 16 ppm: Se toman 10 ml de la solución patrón de cafeína de 40 ppm + 1ml de ácido clorhídrico y se enrasa en un matraz de 25 ml con agua destilada.
- Solución 24 ppm: Se toman 15 ml de la solución patrón de cafeína + 1 ml de ácido clorhídrico y se enrasa en un matraz de 25 ml con agua destilada.
- Solución 32 ppm: Se toman 20 ml de la solución patrón de cafeína + 1 ml de ácido clorhídrico y se enrasa en un matraz de 25 ml con agua destilada.



Imagen 17: Matrices con concentraciones de la curva de calibración

3.3 PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE LA CAFEÍNA EN EL CAFÉ

3.3.1 Instrumentación

Equipos:

- Balanza Analítica AA-200
- Manta calefactora

Reactivos:

- Sulfato de sodio
- Carbonato de sodio
- Cloroformo
- Cloruro de Sodio

3.3.2 Preparación de las muestras de café

Se masan 300 mg de la muestra y se lleva un sistema de reflujo con 200 ml de agua destilada durante 15 minutos.



Imagen 18: Sistema de reflujo

Luego se filtra la solución en un embudo de decantación en caliente con un papel filtro y se añaden 5 gramos de carbonato de sodio hasta total disolución.



Imagen 19: Filtración en caliente

Después de la filtración se deja enfriar y se agregan 15 ml de cloroformo que se extrae agitando suavemente durante unos minutos, extracción se realiza 3 veces. Si se presentan emulsiones se agrega aproximadamente 5 gramos de cloruro de sodio para facilitar la rápida y clara distinción de las dos capas.



Imagen 20: Separación líquido - líquido

Ya cuando se separan las dos fases, se añaden pequeñas cantidades de sulfato de sodio para absorber el agua, se filtra la fase clorofórmica haciéndola pasar por un papel filtro hacia el mismo balón (ya lavado y seco).



Imagen 21: Filtración de la fase clorofórmica

Luego de la filtración se lleva a una manta calefactora y se evapora hasta sequedad para eliminar el cloroformo.



Imagen 22: Matraces a sequedad

Una vez eliminado el cloroformo, en el mismo matraz se añaden 50 ml de agua destilada y se agita bien hasta perfecta disolución. Posteriormente la muestra se pasa a un matraz aforado de 100 ml y se enrasa con agua destilada.

Se toman 10 ml del matraz aforado de 100 ml y se lleva a un matraz aforado de 25 ml, se añade 1 ml de ácido clorhídrico 0,01 M al matraz y se enrasa a 25 ml con agua destilada.



Imagen 23: Muestras listas para leer

3.4 PARTE EXPERIMENTAL DEL MÉTODO ESPECTROFOTÓMETRICO

Para medir las muestras en el espectrofotómetro, se medirá en una longitud de onda de 273 nm, teóricamente la cafeína presenta ese máximo de absorción.

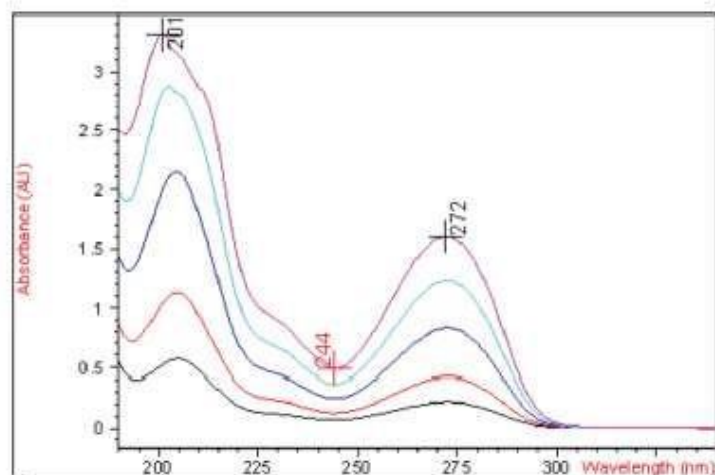


Imagen 24: Espectrograma de la curva de calibración

Primero se medirán las muestras patrón, para la curva de calibración donde se tiene que cumplir la ley de Beer, se medirán las soluciones de patrón de 4, 8, 16, 24, y 32 ppm. Si se obtiene una recta de calibrado, entonces se cumple la Ley de Beer y se procede a leer las muestras de cafeína.

Se lee en un espectrofotómetro UV, con una cubeta de cuarzo y el agua destilada sería el blanco de reactivo.



Imagen 25: Espectrofotómetro

La cubeta de cuarzo, al contener la muestra o blanco de reactivo no debe tener burbujas y no debe estar sucia por sus alrededores, sin huellas dactilares, ya que puede interferir en el análisis y dar con una lectura errónea.



Imagen 26: Cubeta de cuarzo

3.5 NORMAS APLICABLES DE LA CAFEÍNA

El contenido neto en alimentos envasados es un tema que preocupa crecientemente a los consumidores, desde el punto de vista de la transparencia de la información.

Durante el proceso de producción y envasado de un alimento siempre existe la probabilidad que se generen unidades defectuosas, por la cual empresas de rubro implementan planes de control de calidad que buscan evitar que tales productos lleguen al consumidor.

El desarrollo tecnológico de la industria alimentaria ha permitido incorporar sofisticados sistemas de producción.

Para la determinación del contenido neto de los productos alimenticios se utilizan herramientas fundamentales que otorgan la estadística, tanto para verificar los requisitos específicos que deben cumplir, como para los procedimientos de inspección y muestreo que deben implementarse para un adecuado control.

El servicio nacional del consumidor, puede adquirir muestras de cualquier producto alimenticio envasado en expendio, en supermercados u otros establecimientos comerciales y someterlas a una verificación de contenido neto, en un laboratorio acreditado para tales efectos en el campo de la metrología.

Si un producto no cumple con los requisitos del contenido neto, cae algunas de las infracciones previstas de ley que establece normas de protección de los derechos del consumidor y SERNAC puede denunciar tales hechos antes los juzgados de policía local.

3.5.1 Normas internacionales

Todas las normas internacionales establecen como requisito para el café un máximo y un mínimo de contenido de cafeína, lo cual al analizar el contenido de cafeína se puede establecer si cumple o no cumple con las normas, de ser así el café sería de muy mala calidad y no se puede llevar al mercado.

3.5.2 Comparación del contenido de cafeína

- a) La norma venezolana COVENIN, el requisito mínimo del porcentaje de cafeína debe ser 0,75%.

La norma nicaragüense NTON 03077 – 07 establece como requisito mínimo de porcentaje de cafeína 0,8%.

- b) La norma española, norma de calidad del café, establece como requisito mínimo de porcentaje de cafeína 0,7%.

CAPITULO 4: PREPARACIÓN DE LA MUESTRA Y RESULTADOS
EXPERIMENTALES

4.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Se seleccionaron tres muestras de café no aleatorias, que son de grano molido y orgánico, por el motivo de la poca complejidad al momento de preparar la muestra y extraer la cafeína del café.

Las muestras son las siguientes:

- a) CAFÉ CARIBE: De origen mexicano, con una fecha de vencimiento del 01 del 2020.

La muestra fue tomada en un supermercado, Santa Isabel.



Imagen 27: Muestra 1

b) CAFÉ D' AROMA: 80% Arábica y 20% Robusta

La muestra fue tomada en un supermercado Santa Isabel.



Imagen 28: Muestra 2

c) JUAN VALDEZ Premium selection: De origen Colombiano.

La muestra fue tomada en el local Juan Valdez.



Imagen 29: Muestra 3

Las muestras fueron transportadas sin condiciones de temperatura ya que venían cerradas desde su elaboración. Al llegar las muestras al laboratorio fueron enumeradas y vaciadas a frascos herméticos para que no afecte la temperatura y mantenerse en el laboratorio.



Imagen 30: Muestras aislada de la temperatura

Las muestras no tuvieron preparación previa, ya que venía molido y no necesitaba proceso de cuarteo ni molienda, fue masado directamente en la balanza analítica. Cada muestra se hizo por duplicado y se masaron 3 g de café.

Masada de muestra por duplicado:

a) Café Caribe:

- 1A: 3,0001 g
- 1B: 3,0000 g

b) Café D' aroma:

- 2A: 3,0001 g
- 2B: 3,0001 g

c) Café Juan Valdez

- 3A: 3,0013 g
- 3B: 3,0000 g

El material de laboratorio fue recibido y verificado para que no haya ningún material trizado o roto, luego fue lavado previamente al procedimiento de extracción de la cafeína, para que no ocurra ninguna interferencia en el proceso.

4.2 RESULTADOS EXPERIMENTALES

Los resultados de las lecturas de la curva de calibración fueron los siguientes:

Tabla 1 Resultado de curva de calibración

PPM	ABSORVANCIA
4	-0,085
8	-0,016
16	-0,042
24	-0,027
32	-0,044

No se cumple la Ley de Beer, ya que las absorbancias obtenidas no dan como resultado una línea recta.

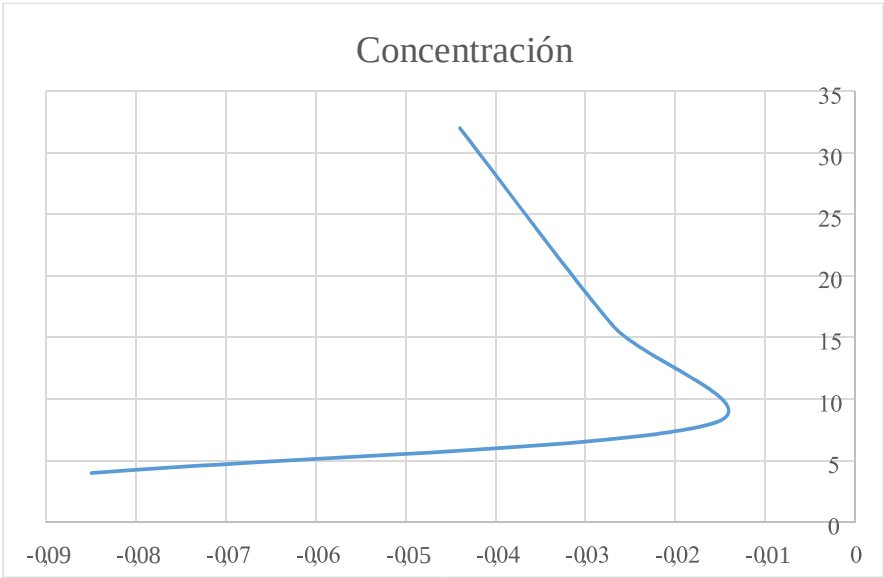


Gráfico 1: Curva de calibración

La curva de calibración real debería ser:

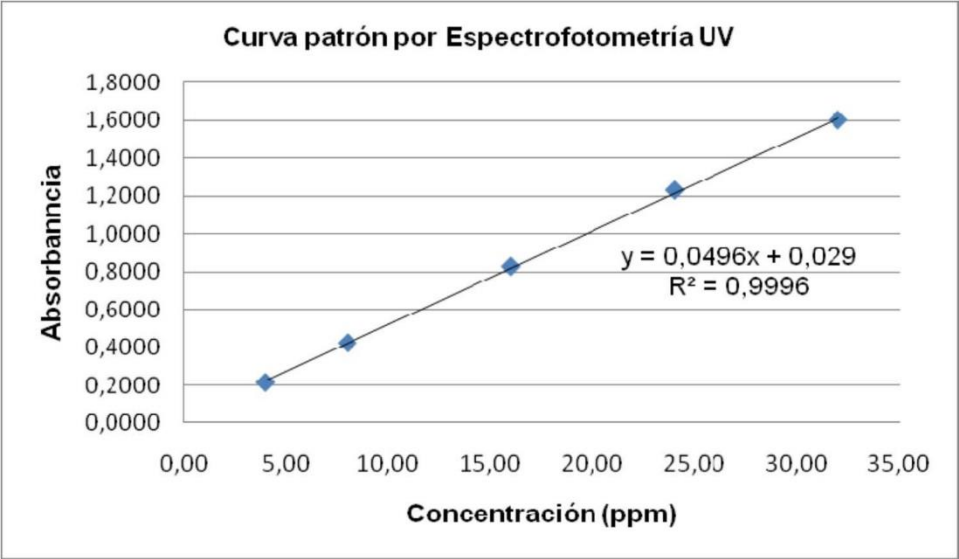


Gráfico 2: Curva real de calibración

Con los resultados de absorbancia:

Tabla 2 Resultado de absorbancia real de muestras patrones

CONCENTRACIÓN DE CAFEÍNA (mg/ml)	ABS (273 nm)	ERROR (%)
4,00	0,2179	0,3004
8,00	0,4267	0,3003
16,00	0,8298	0,3000
24,00	1,2315	0,3004
32,00	1,6018	0,3002

Resultados obtenidos de las muestras de café:

Tabla 3 Resultados de muestras de café

MUESTRAS	ABSORBANCIA
1A	0,041
1B	0,026
2A	-0,012
2B	-0,001
3A	-0,014
3B	-0,056

4.3 INTERFERENTES

Los resultados no fueron los esperados, ya que las absorbancias dieron negativas, se masaron 3 gramos de café, en vez de 300 mg de café, lo que influye en el sistema de reflujo, que no se separaron las fases sólido – líquido.

Otra interferencia, al momento de llevar la muestra hasta sequedad para eliminar el cloroformo, no se eliminó completamente, al momento de sacar las muestras de la manta calefactora, el matraz tenía mucho olor a cloroformo. Cuando se hicieron las disoluciones para leer la muestra en el espectrofotómetro, las muestras seguían con olor a cloroformo.

La metodología para la determinación de cafeína, utilizaba agua milli – Q en vez de agua destilada, pero en el análisis ocupamos agua destilada, ya que en el laboratorio química no se encuentra disponible ese reactivo.

Al momento de preparar patrones de concentración de 400 ppm de cafeína, al diluir con agua destilada, costo mucho su dilución, ya que por varios minutos se veían las partículas de cafeína en el agua.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos no fueron esperados, debido que hubo muchas interferencias químicas. En la extracción líquido – líquido, al momento de agitar el embudo de decantación con la muestra y cloroformo, hubo muchas emulsiones y el cloruro de sodio no fue capaz de reaccionar con la muestra, dejando con dificultad el proceso de separación.

El trabajo se debió llevar a cabo con agua milli-Q, ya que con agua destilada también se llevaron a cabo resultados erróneos.

No se cumplió con la Ley de Beer, porque no dio como resultado una línea recta en la curva de calibración. Eso quiere decir que no hay un referente al momento de leer las muestras de café.

Las concentraciones de café no deben ser menor a 0,7%, ya que las normas internacionales piden como mínimo ese porcentaje y si no es así, sacan el producto del mercado por mala calidad. (15)

El procedimiento para la determinación de cafeína es efectivo y rápido, pero si se lleva a cabo con precaución y con los reactivos correspondientes.

La cafeína tiene muchos efectos positivos para la salud, pero si se toma con moderación, las industrias farmacéuticas la ocupan como principio activo para muchos medicamentos. Pero si hay un exceso de cafeína esto puede ser muy grave para el organismo, una persona se puede llegar a intoxicar.

BIBLIOGRAFÍA

- (1.). Obtenido de <https://www.ecured.cu/Cafe%C3%ADna#Origen>
- (2.). Obtenido de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v37n4/art13.pdf>
- (3.). Obtenido de <https://runfitners.com/cafeina/>
- (4.). Obtenido de
https://www.bbc.com/mundo/noticias/2015/12/151228_salud_cuando_peligrosa_cafeina_riesgo_sobredosis_lv
- (5.). Obtenido de <http://www.venevision.com/vida-y-estilo/nota/la-cafeina-beneficios-yefectos-negativos>
- (6.). Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/reus/v12n1/v12n1a17.pdf>
- (7.). Obtenido de <https://www.mujerhoy.com/belleza/lecciones-belleza/cafeina-expresocontra-celulitis-630145052011.html>
- (8.). Obtenido de
https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071775182010000400013
- (9.). Obtenido de
https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071775182010000400013
- (10). Obtenido de <http://www.interempresas.net/Quimica/Articulos/10751-La-quimica-dela-cafeina.html>
- (11). Obtenido de <http://cosaspracticas.lasprovincias.es/sabemos-por-que/cafeinamedicamentos-20170801153411-nt.html>
- (12.). Obtenido de <https://www.ainia.es/tecnoalimentalia/legislacion/las-bebidasenergeticas-y-el-consumo-de-cafeina-objeto-de-debate-en-la-ue/>
- (13). Obtenido de
<http://fciencias.ugr.es/practicadocentes/wpcontent/uploads/guiones/ExtraccionSólidoLíquido.pdf>
- (14.). Obtenido de https://www.gunt.de/images/download/extraction_spanish.pdf

