

PROPUESTA DE ENSAYO SOBRE LOS PRINCIPIOS FÍSICOS Y QUÍMICOS CONCERNIENTES AL USO DEL ESPECTROFOTÓMETRO Y SU APLICABILIDAD EN CIENCIAS DE LA ALIMENTACIÓN

Lic. Flaminio Antonio Cordido Sánchez

Universidad Nacional Experimental del Yaracuy.

Independencia, Venezuela

flaminiocordido@gmail.com

Resumen

La aplicación de los principios físicos y químicos en los alimentos es una iniciativa que ha despertado la necesidad de innovar y de generar nuevas invenciones en la gastronomía, rompiendo el paradigma de que la ciencia solo puede generar avances para la tecnología de los alimentos y no en su arte y/o presentación, naciendo lo que se conoce por varios nombres como cocina molecular, gastronomía molecular y/o gastronomía científica. La reproducibilidad de una receta también es un hecho científico y se puede cuantificar, por ejemplo el color o la concentración de una sustancia en un líquido podrían ser características subjetivas en la cocina, sin embargo, la aplicación de la ciencia nos permite cuantificar dichas características, mediante el uso de equipos como el espectrofotómetro. En la Universidad Nacional Experimental del Yaracuy, en su laboratorio de prácticas integrales cuenta con este equipo, que le brinda al estudiante un acercamiento sobre sus fundamentos teórico-práctico en cuanto a su funcionamiento y aplicaciones, que en mi opinión, debe manejar como parte de su formación integral y que lo inicie en el mundo de las ciencias básicas, ciencia que regirá todo lo que haga dentro de la cocina, creando la necesidad primordial de reforzar a través de estos conceptos la capacidad de análisis científico a los estudiantes de la carrera ciencia y cultura de la alimentación, suministrando algunas herramientas que pueden ser consideradas en el estudio de las propiedades físicas y químicas dentro de la cocina y buscar la transdisciplinariedad en sus destrezas.

Palabras clave: *Físico-Química, Espectrofotometría, Gastronomía Molecular, Transdisciplinariedad*

Recibido: 30/06/2022

Aceptado: 15/11/2022

Revista In Situ/ISSN 2610-8100/Vol. 6 N°6/ Año 2023.

San Felipe, Venezuela/Universidad Nacional Experimental del Yaracuy, pp 319 - 331

TEST PROPOSAL ON THE PHYSICAL AND CHEMICAL PRINCIPLES CONCERNING THE USE OF THE SPECTROPHOTOMETER AND ITS APPLICABILITY IN FOOD SCIENCES

Lic. Flaminio Antonio Cordido Sánchez

Universidad Nacional Experimental del Yaracuy.

Independencia, Venezuela

flaminiocordido@gmail.com

Abstract

The application of physical and chemical principles in food is an initiative that has awakened the need to innovate and generate new inventions in gastronomy, breaking the paradigm that science can only generate advances for food technology and not in its art and/or presentation, giving rise to what is known by various names such as molecular cuisine, molecular gastronomy and/or scientific gastronomy. The reproducibility of a recipe is also a scientific fact and can be quantified, for example the color or the concentration of a substance in a liquid could be subjective characteristics in the kitchen, however, the application of science allows us to quantify these characteristics, through the use of equipment such as the spectrophotometer. At the National Experimental University of Yaracuy, in its comprehensive practice laboratory, it has this equipment, which provides the student with an approach to its theoretical-practical foundations in terms of its operation and applications, which, in my opinion, must be handled as part of his comprehensive training and that initiates him in the world of basic sciences, science that will govern everything he does in the kitchen, creating the essential need to reinforce through these concepts the capacity of scientific analysis to the students of the science career and food culture, providing some tools that can be considered in the study of physical and chemical properties within the kitchen and seek transdisciplinarity in their skills.

Keywords: *Physical-Chemistry, Spectrophotometry, Molecular Gastronomy, Transdisciplinarity*

Introducción

La espectrofotometría está dentro de la espectroscopia, la cual es una vertiente de la ciencia que estudia la interacción de la radiación electromagnética con los sistemas físicos. La espectrometría es la medición de tal radiación, como una forma de obtener información sobre los sistemas y sus compuestos (Herrmann y Onkelinx, 2009). La invención del primer equipo espectrofotómetro en 1941 se lo debemos a Arnold Orville Beckman y hace alusión al fotón pues trabaja solo con el espectro visible, esto es longitudes de onda entre 380 nm y 750 nm. En la Universidad Nacional Experimental del Yaracuy, en el laboratorio de prácticas integrales se dispone de un equipo que trabaja con 335 nm y 1000 nm, longitudes de ondas cercanas a los espectros ultravioleta (UV) e infrarrojo respectivamente, no obstante, este rango que se excede no le genera al equipo, la caracterización de sustancias en los espectros distintos al visible. Una de las ventajas de esta técnica es que no resulta invasiva para la muestra en estudio y que funciona de forma expedita para la determinación de la concentración de ciertas sustancias en la muestra.

Debido a que el espectrofotómetro nos da una caracterización de la radiación electromagnética visible, guarda una estrecha relación con la apariencia, es decir, lo que se ve. El ser humano tiene la capacidad de ver objetos porque puede percibir el color de estos a través de sus ojos, ya que una fuente de luz se emite a una distribución de potencia espectral $S(\lambda)$, este incide sobre un objeto el cual refleja una cierta fracción de la luz que se puede caracterizar por el espectro de reflectancia $R(\lambda)$, la intensidad $I(\lambda)$ y característica de esa luz a dicha longitud de onda que es percibida por el ojo, es el producto de esos dos términos: $I(\lambda) = S(\lambda) \times R(\lambda)$ (figura 1).

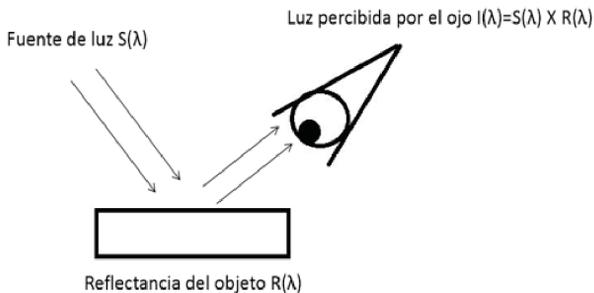


Figura 1. Representación gráfica de cómo se percibe el color.

Se debe notar que dicho valor numérico caracteriza el color, reemplazan-

do las respuestas subjetivas de los colores. Se introduce el concepto del color como una característica que da información a priori de un objeto. Y es que el color es quizás el atributo sensorial o de aceptabilidad más importante de un alimento (Clydesdale y Ahmed, 2009) siendo la aceptabilidad (sensorial) una de las tres principales áreas que definen la calidad de un alimento, conjuntamente con el valor nutricional y la seguridad. El color, además de ser parte de la aceptabilidad sensorial de un alimento, igualmente se puede asociar con las otras dos áreas que definen la calidad de un alimento, pues con el color se pueden estudiar las concentraciones de una sustancia presente en una solución determinada. Esto podría representar un método de identificación de alimentos que no cumplan con los valores normados de nutrición.

En la relación de la espectrofotometría con la colorimetría y su aplicación en las ciencias de la alimentación, se debe realizar un estudio de soluciones acuosas, donde, metódicamente se le plantee al estudiante hacer diluciones o aumento de la concentración de algunas sustancias y buscar su relación con el color de la misma. Para ello, es importante que se explique el principio físico que rige la determinación cuantitativa de lo que intuitivamente se puede entender y asociar entre la baja intensidad de un color con respecto a la concentración de su contenido. Si hacemos una relación entre la concentración de ácido ascórbico, color de la solución y el uso del espectrofotómetro, se establecería una práctica de aplicaciones espectrofométricas en gastronomía, como parte de un primer acercamiento para prácticas integrales I. Esto es posible debido a que el color de la solución tiene asociado una longitud de onda (λ) que viaja con una frecuencia que al ser multiplicadas son igual a la velocidad de la luz, por la ecuación 1 (Sears y Zemansky, 2011)

$$c = \lambda \nu \quad [1]$$

Donde c es la velocidad de la luz y ν es la frecuencia asociada a esa longitud de onda, esta ecuación básicamente nos dice que la radiación electromagnética viaja a la velocidad de la luz, independientemente de cuál sería su longitud de onda y/o frecuencia. También nos dice que hay una relación entre frecuencia y longitud de onda, en este sentido, si hacemos incidir un haz de luz con una longitud de onda igual a la longitud de onda asociada al color del jugo, la energía asociada con dicha longitud de onda estaría expresada por medio de la ecuación 2:

$$E = h \nu \quad [2]$$

Sustituyendo la ecuación 1 en 2, podemos escribir ecuación 3:

$$E = h \frac{c}{\lambda} \quad [3]$$

Donde es la energía y la constante de Planck. El fotón (antipartícula) que viaja a la misma frecuencia en que se encuentra el electrón de los átomos de una sustancia, entonces existe una transferencia de energía desde el fotón al electrón debido a que ocurre una absorción de energía, Sears y Zemansky (citado) (figura 2).

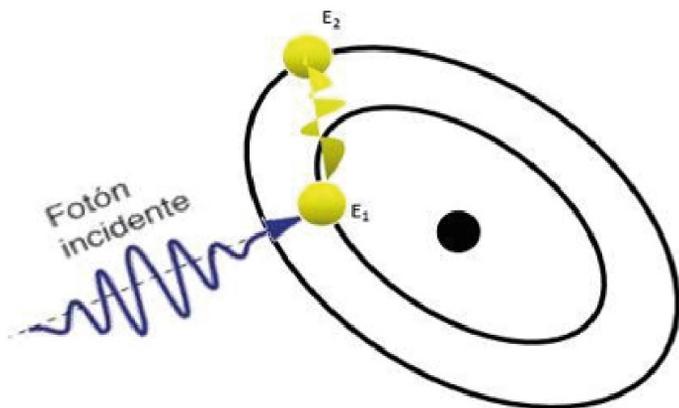


Figura 2. Representación gráfica del fenómeno de absorción de energía de un electrón desde su estado base a un estado excitado debido a la incidencia del fotón.

Por el principio de conservación de la energía, la diferencia entre el estado uno (del electrón y el dos (debe ser exactamente igual a la energía del fotón (3) por la ecuación:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h \nu \quad [4]$$

Es decir, los electrones de una molécula de ácido ascórbico, por ejemplo, coloreada, pueden absorber fotones con energía igual a la energía de un estado molecular excitado. Al fotón colisionar con el electrón y cederle energía para que este aumente su energía a un orbital mayor entonces tendremos menos luz que se transmita desde la fuente de luz hasta el foto-detector. Por ende, podríamos ir asociando la concentración con la cantidad de luz que llega al fotodetector, ya que entre más absorción de fotones genere la muestra tendre-

mos mayor concentración de partículas dentro de la muestra con el color a la longitud de onda que incide. Ya conocemos que las moléculas de la solución en nuestro caso, colorante rojo con ácido ascórbico van a absorber una parte de la luz que incide sobre ella y transmitir otra, por lo que podríamos desarrollar dos definiciones presentes en el ensayo experimental la transmitancia (T) y la absorbancia (A). En la figura 3 se muestra la variación de intensidad de la luz a través de una muestra.

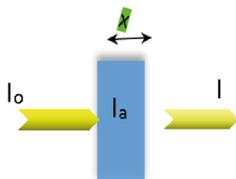


Figura 3. Descripción gráfica de como la intensidad de la luz que incide sobre la muestra I_a como la intensidad de la luz es absorbida e I sería la intensidad que se transmite a través de la muestra, x viene a denotar la longitud del camino óptico.

Teniendo en cuenta dicha información podemos escribir la relación matemática de la transmitancia por medio de la ecuación 5 (Webster, 1997):

$$T = I/I_0 \quad [5]$$

Donde la transmitancia es la fracción de la intensidad que se transmitió hasta el receptor entre intensidad de luz inicial, para convertir esta transmitancia en un porcentaje con la ecuación 6:

$$\%T = \frac{I}{I_0} \times 100 \quad [6]$$

Esto lo que nos quiere indicar es que si la razón de la ecuación 5 nos da 0,5 entonces quiere decir que un 50% de los fotones pueden pasar a través de la muestra lo que asociamos directamente con la concentración es nuestro caso del ácido ascórbico más el colorante.

Dicen (Mayerhöfer, et al, 2020) que gracias a la fusión de la ley de Lambert-Beer y de La ley de Bouguer-Lambert en 1913 por Nikolopulos Luther, se conoce que la potencia de una radiación electromagnética monocromática que incide perpendicularmente sobre una muestra decrece exponencialmente con la concentración de la muestra Mayerhöfer (citado):

$$\text{Log}_{10} \frac{I_0}{I} = A = \varepsilon(\lambda) \cdot C \cdot d \quad [7]$$

En esta ecuación 7 donde A es la absorbancia, ϵ es la absorptividad molar expresada en $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, C es la concentración expresada en mol/L y d es el camino óptico en cm^{-1} .

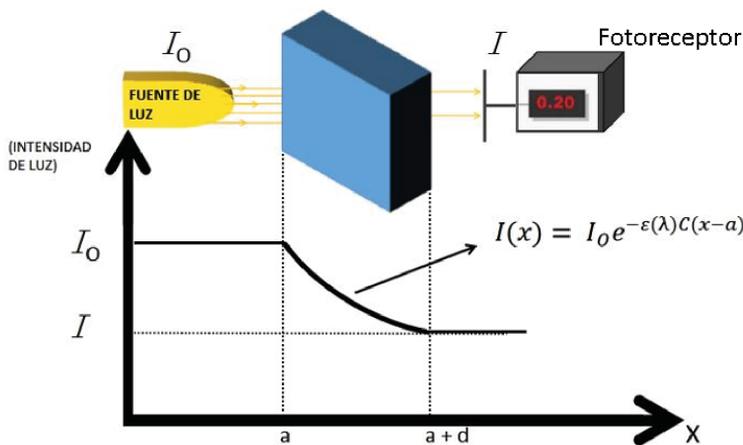


Figura 4. La Ley de Lambert - Beer: La luz recorre una distancia a desde una fuente de luz hasta el medio sin ser absorbido por el aire (5). La intensidad de la luz disminuye exponencialmente con respecto a la distancia ($x=a+d$) donde d es igual al camino óptico.

Con base en estos principios físicos teóricos se plantea realizar una configuración de ensayo experimental como parte del aprendizaje y adiestramiento científico y tecnológico de los estudiantes de la carrera de ciencia y cultura de la alimentación.

Funcionamiento experimental del espectrofotómetro

El arreglo experimental que se plantea a continuación representa la configuración interna del ESPECTROFOTOMETRO UNICO S1100RS, tiene una fuente de radiación electromagnética (luz) (punto 1 de la figura 5) emitida desde una lámpara de halógeno, esta radiación al ser emitida debe ser concentrada sobre un punto de un prisma, pasando primero por un colimador del haz de luz (punto 2), este prisma (punto 3) dispersa la luz descomponiéndola entre todo el espectro visible por longitud de onda, en un rango entre 380 nm hasta 1000 nm, luego pasa por el selector de longitud de onda (punto 4) al seleccionar la luz monocromática se hace incidir sobre la muestra (punto 5 de la figura 5), el equipo controla el valor de la intensidad de luz que incide sobre la muestra y finalmente llega al receptor, donde se realiza el cálculo de la razón entre I y I_0 , expresada en Transmitancia (T) (punto 6).

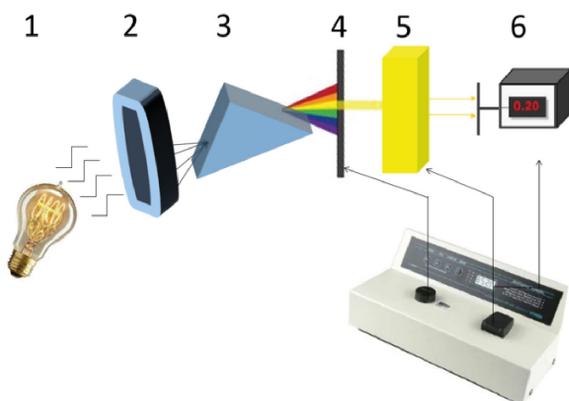


Figura 5. Representación del funcionamiento del equipo paso a paso, desde la emisión de una fuente de luz hasta su recepción y valor numérico.

Procedimiento para determinar absorbancia y concentración

En 500 mL de agua destilada diluimos 5 g de Rojo Allura AC C₁₈H₁₄N₂Na₂O₈S₂, colorante del grupo funcional azo usado frecuentemente en alimentos, tiene una masa molar M=496,4 g/mol (National Center for Biotechnology Information, 2022). Para determinar el número de moles aplicamos la ecuación de concentración molar (8) (Mills, 1988):

$$M = \frac{m}{n} \rightarrow n = \frac{m}{M} \quad [8]$$

Donde m es la masa y n número de moles, siendo n=0,01 mol para este caso. Por otro lado, según Mills (citado) es posible calcular la concentración de Rojo Allura AC (ecuación 9):

$$C = \frac{nl}{V} \quad [9]$$

Siendo C la concentración molar del colorante Rojo Allura AC en la preparación, y V es el volumen del solvente, quedando la concentración molar del colorante igual a C_C=0,00002 mol/mL.

Conocida la concentración de la muestra, se puede determinar longitud de onda donde se registra la máxima absorbancia de la muestra (Figura 6), utilizando el procedimiento de medición se lleva a cabo colocando la muestra en una cubeta. Las cubetas pueden ser redondas o rectangulares, de vidrio, cuarzo, sílice fundida o plástico, de manera que el camino óptico sea el mis-

mo para todos los haces de luz monocromático que inciden en la muestra, las cubetas no deben presentar suciedad en la superficie.

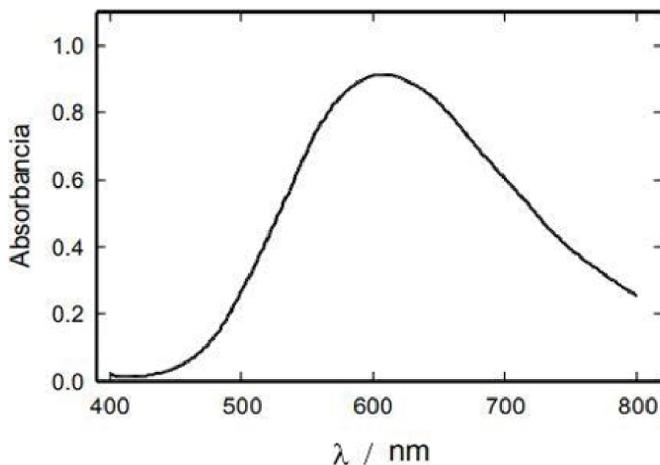


Figura 6. Representación gráfica de la variación de la absorbancia con respecto a la variación de la longitud de onda en el equipo.

Sustituyendo los valores de C, A y d (paso de luz, representado por el ancho de la cubeta) en la ecuación 7, calculamos el coeficiente de absorción molar ($\epsilon(\lambda)=A/(C \cdot d)$) de la molécula $C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$, el cual es un valor constante a determinada longitud de onda. Es importante resaltar que la pureza del colorante Rojo Allura AC permite preparar soluciones de concentraciones para medir en el equipo, siempre y cuando la relación entre A vs C es lineal, es decir, cumple con la ley de Lambert-Beer y lo tomará como concentración inicial. Lo atractivo del método radica en el uso de un colorante para que incrementa la señal de absorbancia, permitiendo poder medir concentraciones de sustancias que quizá no pueden ser detectadas en el espectro visible y/ dentro del rango de longitud de onda del equipo, sin embargo esta técnica no siempre tiene buenos resultados, tal como ocurre con el uso de Tartrazina (amarillo N°5), cuya reacción con la vitamina C provoca decoloración en la mezcla es por ello que se plantea realizar los ensayos utilizando el colorante Rojo Allura AC debido a que no hay reacción cuando se mezcla con ácido ascórbico (vitamina C) de (Marcano, 2018).

Una vez determinada la longitud de onda donde se registra la mayor absorbancia utilizando el colorante Rojo Allura AC, mezclamos con el ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) de masa molar $M=176,12$ g/mol (National Center for Biotechno-

logy Information, 2022) utilizando la ecuación 8 (Mills, citado), calculamos el número de moles (n) para 1 g de ácido ascórbico, siendo n=0,0056 mol. Calculamos la concentración de ácido ascórbico utilizando la ecuación 9, En este caso V es el volumen del solvente quedando la concentración molar igual a $C_{AA}=0,0000112$ mol/mL (molaridad).

Si medimos la absorbancia de la muestra (mezcla de colorante y ácido ascórbico) en el equipo el valor resultante es el producto de la suma de la absorbancia (A) de cada sustancia presente en la mezcla (ecuación 10), es decir, que cada compuesto de la mezcla influye en la lectura final de la absorbancia, debido a que cada compuesto tiene su propia absorbancia por tanto se cumple:

$$A = A_c + A_{AA} = \varepsilon_c(\lambda) \cdot C_c \cdot d + \varepsilon_{AA}(\lambda) \cdot C_{AA} \cdot d \quad [10]$$

En este caso la absorbancia del ácido ascórbico (A_{AA}) será igual a la absorbancia medida con la mezcla (A) menos la absorbancia del colorante, (A_c):

$$A - A_c = A_{AA} \quad [11]$$

Por otro lado, con la ecuación 12, podemos determinar la el coeficiente de absorción molar para el ácido ascórbico

$$A - A_c = \varepsilon_{AA}(\lambda) \cdot C_{AA} \cdot d \quad [12]$$

Determinado el coeficiente $\varepsilon_{AA}(\lambda)$, es posibles variar la concentración del ácido ascórbico en la muestra y ser calculada mediante el valor de la absorbancia, aunque el equipo puede medir directamente la concentración, esto permitiría corroborar la medición del equipo a través del cálculo realizado por el método gráfico o por interpolación.

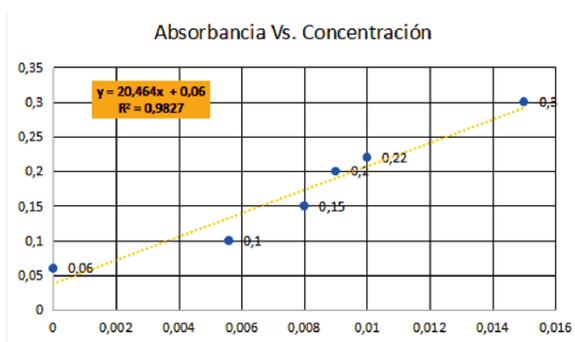


Figura 7. Representación gráfica de la absorbancia Vs. Concentración.

En la representación gráfica la muestra cumple con el hecho de que es lineal y comienza con una absorbancia distinta a 0 pues tenemos que el solvente está coloreado. De los cambios de absorbancia en función a la variación de la concentración de una sustancia, se conoce como curva de calibración, cuya ecuación debe ser una línea recta, donde el eje Y toma valores de absorbancia y la variable X, valores de concentraciones conocidas. Este método permite medir concentraciones desconocidas siendo más osados podríamos ampliar el uso del espectrofotómetro, aunque no sea sustentado por ninguna bibliografía y aun así sería un riesgo decirlo, en la identificación de solutos desconocidos presenten en soluciones acuosas, utilizando como solvente preferiblemente agua destilada, y mediante el cálculo del coeficiente de absorción, longitud de onda donde se registra la máxima absorbancia y el cálculo de concentraciones desconocidas.

Conclusión

Hablar de alimentación es un tema un tanto complejo, apenas recientemente he concursado por una vacante a instructor en la Universidad experimental del Yaracuy, por la asignatura de prácticas integrales I, en el espacio académico de Ciencia y Cultura de la Alimentación, soy físico de profesión y lo que he presentado en este ensayo es mi visión de como enriquecer desde el punto de vista de la ciencia a un estudiante de tan hermosa licenciatura. Comenzaré por plantear la necesidad de la cultura científica sobre aquellos temas de alimentación que así lo permitan desde lo experimental, trabajos realizados por Hervé This investigador en el área de la físico-química, pero que desde hace más de 40 años viene publicando sobre lo que él llamo junto al físico Nicholas Kurti la gastronomía molecular, son inspiradores.

Es precisamente (Hervé This, 2008), quien habla de la importancia del color en los alimentos que consumimos pues juega un papel importante en la percepción de los alimentos, frutas y verduras ya que se consideran frescas cuando poseen colores vibrantes. Sin embargo, la industria de la alimentación, en muchos casos podría abusar de esto, aumentando las concentraciones, una de las formas de delimitar a la industria en algún uso abusivo contra la salud del consumidor, vendría por explotar las bondades que nos brinda el espectrofotómetro, según los protocolos descritos por (Salcedo, 1997). El método desarrollado por (Rodríguez et. al., 2014) es sencillo, solo requiere de equipamiento de mediana complejidad, por lo que se presenta como una alternativa fácil de aplicar en laboratorios de control de calidad de empresas o entes oficiales.

Es por todo lo anterior que veo indispensable utilizar el equipo para la

formación académica ya que este ensayo tuvo la finalidad de visualizar la potencialidad que tiene para los estudiantes de la carrera Ciencia y Cultura de la Alimentación, además que dotaría a la universidad de una herramienta con la cual en estos momentos no cuenta. Esto es el inicio de una propuesta para la determinación de concentraciones de colorantes azoicos (primordialmente), considerando los principios físico-químicos acá expuestos de manera exploratoria. Su implementación en aras de la investigación con pertinencia y la búsqueda de ampliar los métodos de medición que se desarrollarían en futuras publicaciones.

Referencias

- Clydesdale, F. M., & Ahmed, E. M. (2009). Colorimetry — methodology and applications*. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 10(3), 243–301. <https://doi.org/10.1080/10408397809527252>
- Herrmann, R., & Onkelinx, C. (2009). Quantities and units in clinical chemistry: Nebulizer and flame properties in flame emission and absorption spectrometry (Recommendations 2009). *Pure and Applied Chemistry*, 58(12), 1737–1742. <https://doi.org/10.1351/pac198658121737>
- Marcano, D. (2018). Introducción a la Química de los Colorantes (Segunda Edición). ACFIMAN. <http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/19390/1/colorantes%20listo%20%2Bisbn.pdf>
- Mayerhöfer, T. G., Pahlow, S., & Popp, J. (2020). The Bouguer-Beer-Lambert Law: Shining Light on the Obscure. *ChemPhysChem*, 21(18), 2029–2046. <https://doi.org/10.1002/cphc.202000464>
- Mills, I. (1988). *Quantities, units and Symbols in physical Chemistry* (Second Edition, Vol. 1). Blackwell Science Ltd.
- National Center for Biotechnology Information PubChem Compound LCSS for CID 54670067. (2022). PubChem. Recuperado 29 de junio de 2022, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54670067>
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 33258, Allura Red AC. (2022). PubChem. Recuperado 29 de junio de 2022, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/33258>
- Rodríguez, M. C., Schenone, A. V., Sobrero, M. S., & Marsili, N. R. (2014). Cuantificación simultánea de colorantes en bebidas deportivas utilizando es-

pectroscopia visible y PLS-1. FABICIB, 17, 74-84. <https://doi.org/10.14409/fabicib.v17i0.4310>

Salcedo, A. M. C. (1997). Nuevos métodos fotométricos y cromatográficos para la determinación de colorantes rojos en alimentos (No. 49). Univ de Castilla La Mancha.

Sears, F., & Zemansky, M. (2011). University Physics With Modern Physics (13.a ed., Vol. 1). Pearson.

This, H. (2008). Molecular Gastronomy: Exploring the Science of Flavor (Illustrated ed.). Columbia University Press.

Webster, W. G. (1997). Design of Pulse Oximeters (UK ed.). Taylor & Francis Ltd.

Flaminio Antonio Cordido Sánchez: Licenciado en Física, egresado de la Facultad Experimental de Ciencia y Tecnología (FaCyT) - Universidad de Carabobo, fue pasante en el laboratorio de metal-mecánica de la Compañía Anónima Venezolana de Industrias Militares (CAVIM), igualmente llevó a cabo estudios no concluyentes de maestría en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), fue profesional de apoyo a la investigación en el Laboratorio de Óptica Aplicada, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) - Mérida. Coordinador de investigación, adscrito al Ministerio del Poder Popular para la Energía Eléctrica, fue integrante del comité editorial de la revista REVISEN (Revista de Investigación para el Sector Eléctrico Nacional). Profesor Ordinario de la Universidad Nacional Experimental del Yaracuy (UNEY).