

DETERMINACIÓN DE CAFEINA MEDIANTE FLUORESCENCIA EN FASE SÓLIDA EMPLEANDO NANOTUBOS DE CARBONO Y RODAMINA B

Magdalena Alesso^a, María Carolina Talio^b, Liliana P. Fernández^{*a,b}

^a Área de Química Analítica, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis, San Luis, Argentina

^b Instituto de Química de San Luis (INQUISAL-CONICET), Chacabuco y Pedernera, 5700 San Luis, Argentina.

e-mail: lfernand@unsl.edu.ar

Introducción:

La cafeína (CF) es un alcaloide perteneciente a la familia de las metilxantinas, [1,2]. Es el estimulante psicoactivo más consumido en el mundo, ejerciendo un potente efecto sobre el sistema nervioso central, con acción cortical, bulbar y medular. A dosis bajas estimula la corteza cerebral, exaltando las funciones sensoriales y químicas. A dosis elevadas actúa sobre la médula espinal, pudiendo generar episodios de hiperexcitabilidad muscular y convulsiones.

Este alcaloide se encuentra presente en café, té, cacao, chocolate, bebidas energizantes y gran variedad de fármacos de prescripción y venta directa. Dosis orales de hasta 200 mg/día mejoran el humor, aumentan la irritabilidad y disminuyen el cansancio. La ingesta crónica o dosis superiores a 500 mg/día, puede causar intoxicación que se manifiesta con nerviosismo, insomnio, hiperacidez gástrica, contracciones musculares, confusión, arritmia cardíaca y agitación psicomotriz. La ingesta de una dosis letal es extremadamente rara, pero puede ocurrir con una ingestión oral superior a 10 g.

Casi el 100% de la CF ingerida es rápidamente absorbida a partir del tracto gastrointestinal, aumentando su concentración en el plasma sanguíneo a un nivel máximo en 30-45 minutos aproximadamente. El tiempo de vida media es variable, dependiendo de la edad, sexo, medicación y condiciones de salud.

El consumo de CF durante el embarazo ha sido asociado con retardo en el crecimiento intrauterino del feto, partos prematuros y abortos espontáneos [3]. El posible mecanismo por el cual se produce la interrupción del embarazo estaría mediado por una disminución en el nivel sanguíneo de estrógenos, hormona necesaria para un buen desarrollo del mismo.

Es por todo lo anteriormente expuesto que la determinación de CF ha adquirido importancia en los últimos años y se han desarrollado nuevos métodos instrumentales para su determinación en diversas matrices. Los más confiables y robustos se basan en el uso de técnicas instrumentales de separación (cromatografía de gases, cromatografía líquida de alta resolución y electroforesis capilar) acoplados con diversas técnicas de detección como la espectroscopia de absorción molecular UV/vis y la espectrometría de masas [4,5]. Sin embargo, muchos de ellos requieren instrumental y accesorios costosos, no siempre accesibles o disponibles a los laboratorios de control, incluyendo etapas manuales que consumen tiempo empleando cantidades de solventes orgánicos.

En el presente trabajo se propone la determinación de CF en plasma, suero y orina mediante fluorescencia molecular, previa filtración sobre membranas de Nylon

tratadas con nanotubos de carbono y el colorante Rodamina B (RhB), con miras a su aplicación en el área de análisis clínicos.

Resultados

En la etapa experimental, nanotubos de carbono de pared simple (SWNT) fueron activados con HNO_3 y suspendidos en solución del tensoactivo catiónico HTAB. Posteriormente, membranas de Nylon fueron tratadas con la solución micelar de SWNT en presencia del colorante RhB. Las membranas, una vez secas se utilizaron para la retención de CF, para su posterior cuantificación mediante fluorescencia en fase sólida ($\lambda_{\text{em}} = 566 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{exc}} = 530 \text{ nm}$).

Entre los parámetros experimentales que influyen sobre la eficiencia de la etapa separativa y determinativa se estudiaron: naturaleza y tamaño de poro de la membrana, naturaleza y concentración del colorante, naturaleza y concentración del tensoactivo, volumen de la solución saturada de SWNT, tiempo de contacto solución micelar de SWNT + colorante-membrana, velocidad de flujo de filtración, entre otros

Trabajando en las condiciones óptimas, se alcanzó recuperación cuantitativa de CF (> 99,9%), con límite de detección del orden de los ng L^{-1} y límite de cuantificación del orden de los $\mu\text{g L}^{-1}$. La calibración de la nueva metodología mostró 3 órdenes de magnitud de linealidad.

La metodología desarrollada fue satisfactoriamente aplicada a la determinación de cafeína en muestras de plasma, suero y orina dopadas y sin dopar.

Conclusiones

La mejora lograda tanto en sensibilidad como en selectividad, merced a la etapa de filtración, convierte a esta nueva metodología en una vía alternativa adecuada para la determinación y monitoreo de cafeína en el área de diagnóstico clínico empleando instrumental sencillo y de relativo bajo costo.

Referencias

- [1] Kihlman B. A., Caffeine and Chromosome". Elsevier Scientific Publishing Company, New York, USA, 1977.
- [2] Smith, B.D; Gupta, U.; Gupta, B.S. Caffeine and activation theory: effects on health and behavior. CRC Press; 1ª Edition, 2006.
- [3] CARE Study Group. Maternal caffeine intake during pregnancy and risk of fetal growth restriction: a large prospective observational study. BMJ 2008;337a2332.
- [4] Casal S.; Oliveira M.; Ferreira M. HPLC/diode- array applied to the thermal degradation of trigonelline, nicotinic acid and caffeine in coffee. Food Chem., (2000), 68, 481-485.
- [5] Horie H.; Nesumi A.; Ujihara T.; Kohata K. Rapid determination of caffeine in tea leaves. J. Chromatogr A. (2002), 942, 271-273.

Sección: Química Analítica