



# Extracción y cuantificación de cafeína mediante espectroscopía UV-Visible en café, té y cacao

<b>Apellidos, nombre</b>	García Martínez, Eva ( <a href="mailto:evgarmar@tal.upv.es">evgarmar@tal.upv.es</a> ) Fuentes López, Ana ( <a href="mailto:anfuelo@upvnet.upv.es">anfuelo@upvnet.upv.es</a> ) Fernández Segovia, Isabel ( <a href="mailto:isferse1@tal.upv.es">isferse1@tal.upv.es</a> )
<b>Departamento</b>	Departamento de Tecnología de Alimentos
<b>Centro</b>	ETSIAMN. Universitat Politècnica de València

# 1 Resumen de las ideas clave

La cafeína es un alcaloide del grupo de las xantinas, que actúa como estimulante y psicoactivo. Se encuentra en muchas especies de plantas. La fuente habitual de cafeína es el café, pero también se encuentra en el té (teína), guaraná (guaranina), mate (mateína), cacao y refrescos de cola, entre otros. La determinación de cafeína ha adquirido mucha importancia, debido a su uso en la industria farmacéutica y en la industria de alimentos; ya sea como ingrediente en la elaboración de refrescos y bebidas energéticas o por su presencia en productos como el té, el mate, el cacao y el café. En todos estos casos, el control de calidad del parámetro cafeína es necesario en los productos que la contienen. Por esta razón, resulta importante el desarrollo de métodos instrumentales para su determinación en diversas matrices, especialmente en alimentos.

En este artículo vamos a describir un sistema de extracción de la cafeína, empleando las técnicas de extracción sólido-líquido y líquido-líquido, y su posterior cuantificación mediante métodos espectrofotométricos. Para facilitar el aprendizaje se desarrollará y resolverá un supuesto práctico aplicado en granos de café, hojas de té y cacao en polvo.

## 2 Introducción

¿Qué es la cafeína? La cafeína es un compuesto químico que se encuentra de forma natural en algunos vegetales como los granos de cacao y café, las hojas de té, las bayas de guaraná y la nuez de cola. También se añade a gran una variedad de alimentos como pasteles, helados, dulces, bebidas energéticas y bebidas de cola. Se encuentra, asimismo, en combinación con la p-sinefrina en una serie de suplementos alimenticios que se comercializan con fines adelgazantes y para mejorar el rendimiento deportivo. Algunos medicamentos y cosméticos contienen también cafeína.

Según las encuestas cubiertas por la base de datos de consumo de alimentos de la EFSA el café constituye la fuente más importante de cafeína de los adultos, y representa entre el 40 % y el 94 % de la ingesta total. En Irlanda y en el Reino Unido, el té es la fuente principal, y representa el 59 % y el 57 % respectivamente de la ingesta total de cafeína. En la mayoría de países, el chocolate y las bebidas de cacao es la fuente predominante de cafeína en niños de entre 3 y 10 años, seguida del té y las bebidas de cola.

### 2.1 Propiedades químicas de la cafeína

Químicamente la cafeína es un alcaloide del grupo de las xantinas, concretamente pertenece a la familia de las metilxantinas. Éstas se caracterizan por tener un sistema heterocíclico que contiene nitrógeno, poseer carácter básico y mostrar actividades biológicas muy intensas. Desde el punto de vista estructural, son derivados de la purina, más concretamente, provienen del anillo de la purina

que se forma a través de la condensación de una pirimidina con un imidazol. Las xantinas poseen una estructura cristalina y su fórmula molecular es  $C_3H_4N_2$ .

Estos alcaloides se encuentran en las cortezas, hojas, semillas o raíces de una gran variedad de especies de plantas, combinados con algunos ácidos orgánicos (tales como el oxálico, málico, cítrico, tánico, etc.). Generalmente existen, en una misma planta, varios alcaloides relacionados estructuralmente entre sí.

Las xantinas más importantes son la cafeína, teofilina y teobromina, conocidas respectivamente como 1,3,7-trimetilxantina, 1,3-dimetilxantina y 3,7-dimetilxantina (Figura 1). Esta familia de productos naturales constituye el conjunto de sustancias estimulantes más antiguas empleados por el hombre. Todos ellos, en mayor o en menor grado ejercen alguna acción estimulante sobre el Sistema Nervioso Central (SNC) y los músculos esqueléticos.

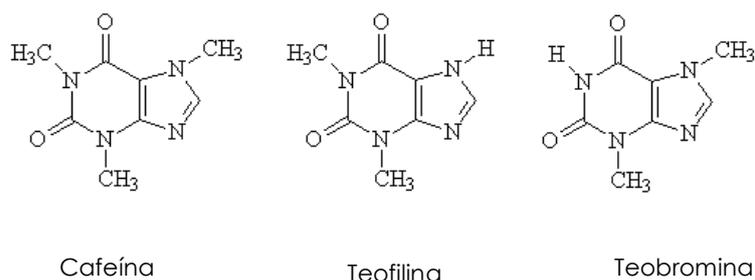


Figura 1. Estructura molecular de las xantinas más importantes en alimentos

La cafeína se encuentra presente en el café (*Coffea arábica*), el té (*Thea sinensis*) y en el cacao (*Theobroma cacao*). Si bien en el lenguaje corriente se llama teína al principio activo del té, el agente químico al que hace referencia es la cafeína. La teofilina es un componente menor del té, mientras que en el cacao predomina la teobromina. La cantidad de cafeína presente en el té varía entre 2 y 5%. Los granos de café pueden tener como máximo un 5% de cafeína, y el cacao un 5% de teobromina aproximadamente. La figura 2 muestra la cantidad de cafeína presente en distintos alimentos.

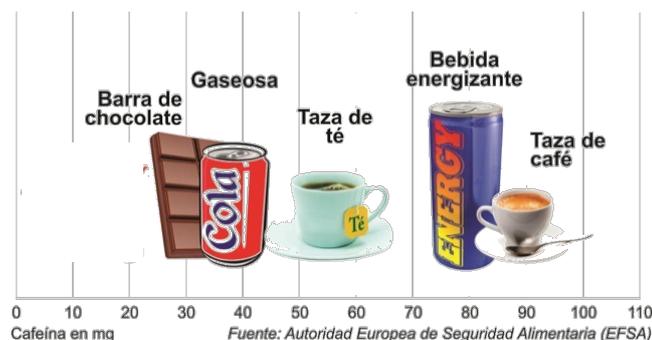


Figura 2. Cantidad de cafeína en distintos alimentos. (Fuente:EFSA)

En estado puro la cafeína es un sólido cristalino blanco inodoro en forma de agujas blancas o polvo, con un gusto muy amargo, que tiene una densidad de 1,23 g/mL, un punto de fusión de 237 °C, su peso molecular es 149,19 y es eflorescente en contacto con aire. A presión atmosférica sublima sin descomponerse por calentamiento a 178°C.

En cuanto a su solubilidad, esta sustancia es soluble en agua y es función directa de la temperatura. Sin embargo, También tiene afinidad por algunos disolventes orgánicos, como el cloroformo (CHCl<sub>3</sub>) y el diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), que a su vez son casi inmiscibles en agua.

## 2.2 Propiedades fisiológicas de la cafeína y riesgos de su consumo

Como ya hemos comentado las xantinas son los estimulantes leves psicoactivos más consumidos en el mundo. La cafeína es la xantina más efectiva en este sentido. La teofilina, presente junto a la cafeína en el té, tiene mayor efecto sobre el ritmo cardíaco, dilatación coronaria, relajación del músculo liso (fundamentalmente el bronquial), aumento de la diuresis y de la secreción gástrica que sobre el SNC.

La teobromina, presente en el cacao, tiene menor efecto que la teofilina sobre los sistemas circulatorio, respiratorio y renal, pero mayor que la cafeína y su efecto sobre el SNC es menor que el de las otras dos. La teobromina es un poderoso diurético empleado clínicamente en pacientes con retención de agua.

¿Cuáles son los riesgos del consumo de cafeína? Aunque más débil que otros estimulantes, la cafeína puede producir síntomas de intoxicación, tolerancia y abstinencia en algunos individuos. Tiene efecto diurético y estimulante del miocardio. Relaja los músculos lisos, favorece la vasodilatación, contrae las arterias cerebrales, aumenta la secreción ácida del estómago y potencia la contracción del músculo esquelético. Consumida en grandes dosis pueden elevar el humor, causar insomnio, aumentar la irritabilidad, inducir ansiedad y disminuir el cansancio. La ingesta crónica o intensa, causa intoxicación que se manifiesta con nerviosismo, insomnio, hiperacidez gástrica, contracciones musculares, confusión, taquicardia o arritmia cardíaca y agitación psicomotriz.

Según estudios de la EFSA, las dosis únicas de cafeína de hasta 200 mg (en torno a 3 mg por kilo de peso corporal (mg/kg pc)) procedentes de todas las fuentes no presentan problemas de seguridad para la población adulta sana general. La LD50 de la cafeína se estima que es de 10 g, sin embargo, esta dosis letal varía mucho de un individuo a otro. En general, se considera que ingerir 150 mg de cafeína por cada kilo de peso corporal puede ser mortal. Según la Asociación Nacional del Café una taza pequeña de café expresso de 240 mL tiene entre 65 y 120 mg de cafeína (figura 2), dependiendo de la variedad de esta semilla y de su forma de preparación. En definitiva, si asumimos que estamos tomando un café "flojito" (65 mg por taza) una persona de 75 kg podría morir con 173 tazas de café.

## 2.3 Metabolismo de la cafeína

¿Cómo metaboliza el cuerpo la cafeína? el cuerpo humano la absorbe rápida y completamente a partir del tracto gastrointestinal, aumentando su concentración en el plasma sanguíneo a un nivel máximo en unos 30-45 minutos. Una vez integrada en el torrente circulatorio, la cafeína se introduce rápidamente en todos los tejidos corporales. Los efectos estimulantes pueden comenzar desde 15 hasta 30 minutos tras la ingestión y duran unas horas.

Para su excreción, dada su gran capacidad de permear las membranas, la cafeína debe transformarse en sus metabolitos. En los adultos, la vida media de la cafeína, es decir, el tiempo que el cuerpo tarda en eliminar el 50 % de la cafeína, varía considerablemente, en función de factores como la edad, el peso corporal, el embarazo, la ingesta de medicamentos y el estado de salud del hígado. En adultos sanos, la vida media es de aproximadamente cuatro horas, con una variación de entre dos y ocho horas.

## 3 Objetivos

Con este objeto de aprendizaje se persigue que los alumnos sean capaces de:

- Utilizar la técnica de extracción sólido- líquido con equipo de ebullición a reflujo, seguida de una extracción líquido-líquido con embudo de decantación para la extracción de cafeína de varios alimentos: café, té y cacao.
- Aplicar la espectroscopía UV-Visible para determinar el contenido en cafeína de las muestras.
- Calcular la concentración de cafeína a partir de los datos de absorbancia obtenida con el espectrofotómetro.

## 4 Desarrollo

A continuación, vamos a describir la metodología analítica empleada para cuantificar la cafeína, que consistirá en separar el principio activo por sistemas tradicionales de extracción sólido-líquido y líquido-líquido y cuantificación posterior por técnicas espectrofotométricas. Se detallará con un ejemplo el protocolo analítico aplicado en granos de café, hojas de té y cacao en polvo.

### 4.1 Material y reactivos

Para llevar a cabo la determinación de cafeína que se describe en este artículo se necesitará el siguiente material:

<u>Material e instrumentación</u>	<u>Reactivos químicos</u>
- Balanza	- Agua destilada
- Baño de agua termostataado	- HCl 0,01 M

- Probeta
- Sistema ebullició a reflux
- Filtro de pliegues de celulosa
- Matraz aforado de 100 mL
- Matraz aforado de 25 mL
- Matraz Erlenmeyer de 100 mL
- Pipeta de 10 mL
- Embudo decantació
- Rotavapor
- Carbonato de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )
- Diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ),
- Patrón de cafeína

## 4.2 Procedimiento experimental: Extracción de cafeína en café, té y cacao

Para determinar la cantidad de cafeína de un alimento, previamente se requiere proceder a su extracción. A continuación, vamos a ver con un ejemplo el protocolo analítico para extraer la cafeína en café, té y cacao. La figura 3 describe de manera resumida dicho proceso.

1.- **Extracción sólido-líquido:** Pesar aproximadamente 300 mg de muestra (café molido, hojas de té ó cacao en polvo) y poner en ebullició a reflux con 200 mL de agua destilada durante 15 minutos.

2.- Seguidamente, filtrar la solución en caliente y añadir 5 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  hasta la total disolución.

3.- **Extracción líquido-líquido:** Enfriar y pasar la solución a un embudo de decantació y agregar 15 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Agitar suavemente durante unos minutos. Repetir esta operación dos veces. Después de la separación de las dos fases, decantar y recolectar las fracciones orgánicas y añadir pequeñas cantidades de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  para absorber el agua.

4.- Pasar la solución a un matraz erlenmeyer o balón, y evaporar hasta sequedad en rotavapor.

5.- Una vez eliminado el  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , se añade al mismo matraz o balón, 50 mL de agua destilada y se agita bien hasta perfecta disolución. Posteriormente, se enrasa a 100 mL en un matraz aforado. Finalmente, se toman 10 mL de esta última solución, se añade 1 mL de la solución de ácido clorhídrico 0,01 M y se enrasa a 25 mL con agua destilada.

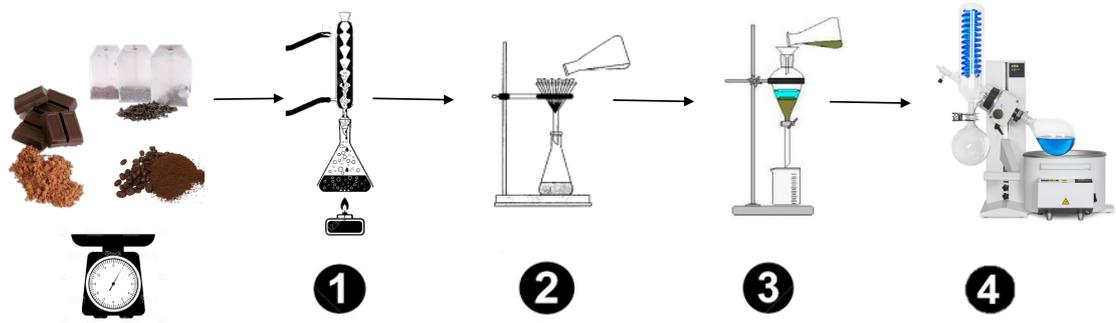


Figura 3. Procedimiento experimental de extracción de cafeína

### 4.3 Resolución de un supuesto práctico: Cuantificación de cafeína por Espectroscopía UV-visible

#### 1. Preparación de las disoluciones patrón y obtención del espectro de absorción

Tras la extracción de la cafeína de las muestras podemos pasar a cuantificarla. Para ello, en primer lugar, se preparan las disoluciones patrón de distintas concentraciones de cafeína para elaborar una recta de calibración. En este caso vamos a preparar disoluciones de cafeína de concentraciones: 4, 8, 16, 24 y 32 ppm (mg cafeína/L disolución). Una vez preparadas vamos a registrar los correspondientes espectros de absorción UV-Visible, para determinar la longitud de onda a la que se produce el máximo de absorción. En la figura 4 se representaron gráficamente las absorbancias obtenidas con las disoluciones patrón frente a sus correspondientes longitudes de onda (nm). Se observa que el máximo de absorción de la cafeína se produce a 273 nm, por lo tanto mediremos a esta longitud de onda.

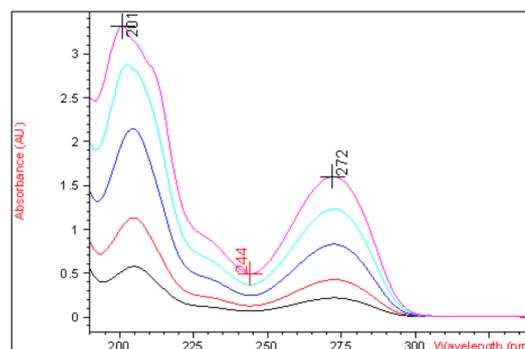


Figura 4. Espectro de absorbancia de los patrones de cafeína

## 2. Análisis espectrofotométrico de las disoluciones patrón de cafeína y del extracto de muestra

En la figura 5 se representaron gráficamente las absorbancias obtenidas con las soluciones patrón frente a sus correspondientes concentraciones (ppm). A continuación medimos la absorbancia a 273 nm de nuestra muestra de extracto y se interpola dicha absorbancia correspondiente a la cafeína de la muestra en la curva estándar y se obtiene la concentración en la muestra.

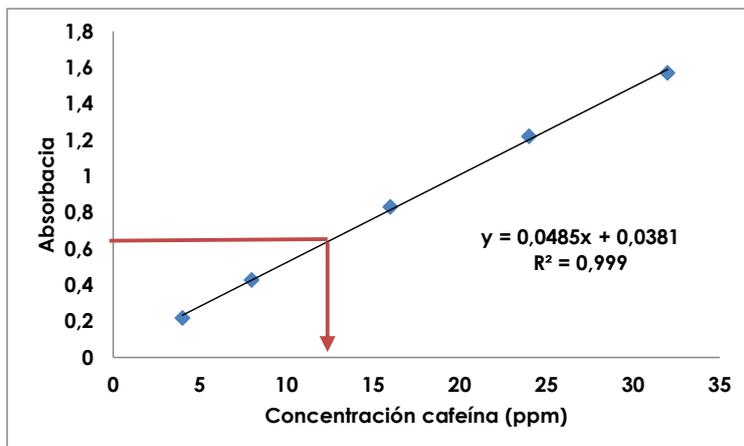


Figura 5. Interpolación de la absorbancia de la muestra en la curva de calibración de la cafeína

## 3. Cuantificación de la cafeína en la muestra

Imaginemos que hemos extraído la cafeína de una muestra de hojas de té según hemos explicado en el apartado 4.2, después hemos medido la absorbancia del extracto a 273 nm y nos ha dado una absorbancia de 0,622. A partir de este valor de absorbancia del espectro de la muestra y con la ecuación de la curva de calibración se obtiene la cantidad de cafeína contenida en la muestra.

Veámoslo más claro resolviendo este ejemplo:

- Ecuación recta de calibración:  $Y = 0,0485 \cdot x + 0,0381$ , donde Y es la absorbancia y x la concentración de cafeína en ppm.

Se sustituye la Y por la absorbancia obtenida en la muestra de hojas de té y se despeja la x:

$$x = (0,622 - 0,0381) / 0,0485 = 12,04 \text{ ppm de cafeína}$$

- Cálculos para la determinación del % de cafeína:  
Para poder expresar los resultados en mg de cafeína por 100 mg de té, hemos de tener en cuenta las diluciones empleadas en la preparación del extracto, es decir, la cantidad de disolvente empleado en la extracción y la cantidad de muestra que hemos tomado para realizar el análisis.

Así, en nuestro ejemplo:

$$\text{mg cafeína} = \frac{12,04 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} \times \frac{25 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 100 \text{ mL} = 3,01 \text{ mg cafeína en té}$$

$$\frac{3,01 \text{ mg cafeína}}{300 \text{ mg té}} \times 100 = 1 \% \text{ cafeína}$$

## 5 Cierre

En este objeto de aprendizaje se ha descrito el procedimiento para determinar la cantidad de cafeína de muestras de café, hojas té y cacao. Para ello primero se ha detallado cómo realizar el procedimiento experimental para llevar a cabo la extracción de cafeína empleando las técnicas de extracción sólido-líquido y extracción líquido-líquido y posteriormente se ha cuantificado mediante métodos espectroscópicos. Además, mediante un supuesto práctico se ha explicado cómo realizar los cálculos para obtener el % de cafeína en la muestra de partida.

## 6 Bibliografía

- [1] European Food Safety Authority (EFSA) disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/>
- [2] Repetto, M., Cameán, A.M. (2006). Toxicología alimentaria, Ed. Díaz de Santos.
- [3] Shibamoto, T., Bjeldanes, L. (2009). Introduction to food toxicology, Ed. Elsevier.