

Determinação de metilxantinas em amostras de bebidas, empregando CLAE-UV, CLAE-DAD e CLAE-EM

Nádia M. de Aragão⁽¹⁾(PG), Márcia C. C. Veloso⁽²⁾(PQ), Eliane T. Sousa⁽³⁾(TC) e Jailson B. de Andrade⁽³⁾ (PQ).
nadia.aragao@bol.com.br

(1) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, (2) Centro Federal de Educação Tecnológica da Bahia-CEFET-BA, (3) Instituto de Química- Universidade Federal da Bahia- UFBA.

Palavras Chave: metilxantinas, CLAE-UV, CLAE-DAD, CLAE-EM.

Introdução

Cafeína, teobromina e teofilina são metilxantinas naturalmente presentes em plantas utilizadas na obtenção de bebidas alimentícias ou estimulantes¹. Estas apresentam importante ação fisiológica no organismo humano e por isso existe um grande interesse no estabelecimento de níveis seguros de ingestão das mesmas pela população².

O conhecimento das técnicas para análise de metilxantinas em fluidos biológicos e matrizes alimentícias, bem como suas vantagens e limitações, é um fator primordial para monitorar os níveis destas substâncias no organismo². Portanto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver metodologia analítica para a determinação simultânea de cafeína, teobromina e teofilina em bebidas, utilizando CLAE e diferentes detectores: UV, DAD e EM.

Resultados e Discussão

Inicialmente, as amostras foram analisadas por CLAE-UV com coluna RP-18 (244 mm x 4,4mm, 5µm), eluente etanol/água/ácido acético (24/75/1% v/v/v) em modo isocrático a 1,0mL.min⁻¹. A absorção foi em (λ_{max}=273nm). O método apresentou seletividade, linearidade, boa precisão, com desvio padrão relativo entre 0,8 a 2,8%, e testes de recuperação na faixa de 70-106% para as três metilxantinas. Entretanto, ao se empregar CLAE-DAD, a varredura espectral na região do ultravioleta-visível das amostras analisadas revelou espectros com deslocamento de banda de absorção para a teobromina e teofilina, enquanto o mesmo não foi verificado para a cafeína. Portanto, outras substâncias presentes nas amostras estavam coeluinto com a teobromina e teofilina, e os resultados obtidos por CLAE-UV estavam superestimados. Novas condições do método foram estabelecidas, sendo a teobromina e a teofilina identificadas e quantificadas nestas amostras, empregando-se CLAE-EM, com coluna MS-C18 (250 mm x 2,1mm, 5µm), eluente etanol/água/ácido acético (19/80/1% v/v/v) em modo isocrático a 0,25mL.min⁻¹. O espectrômetro de massas foi operado em modo positivo com ionização por *electrospray*, nas seguintes condições: gás secante

(nitrogênio) em 300°C com vazão de 10 mL.min⁻¹; gás nebulizador (nitrogênio) a pressão de 22,0 psi e voltagem do capilar a 4000 volts. Os resultados obtidos utilizando os dois procedimentos estão apresentados na Tabela 1 e observa-se que, ao se utilizar CLAE-UV, os valores das concentrações de teobromina e de teofilina foram, respectivamente, de 2,3 a 20 vezes e 1,5 a 6,3 vezes superiores aos obtidos por CLAE-EM.

A cafeína, por não apresentar problemas de interferência espectral na região do ultravioleta, para as amostras em estudo, foi quantificada por (CLAE-UV). Os resultados obtidos para amostras de bebidas foram comparáveis aos registrados na literatura, empregando CLAE ou outras técnicas analíticas.

Tabela 1. Concentração de teobromina e teofilina (µg.mL⁻¹ ± dp*) por CLAE-UV e CLAE-EM.

AMOSTRA	Teobromina		Teofilina	
	CLAE-UV	CLAE-EM	CLAE-UV	CLAE-EM
Café pó	64,7±0,4	3,2±0,3	4,4±0,2	1,3±0,1
Chá mate	26,6±0,3	11,6±0,9	1,9±0,2	0,3±0,01
Refrigerante cola	10,8±0,8	2,9±0,2	nd**	0,9±0,01
Refrigerante guaraná	2,7±0,1	0,8±0,01	0,3±0,01	0,2±0,01
Bebida energética	17,5±0,3	2,8±0,1	4,3±0,1	0,7±0,01
Água de coco	3,1±0,1	1,1±0,01	0,3±0,01	0,2±0,01

dp = desvio padrão **nd = não detectado

Conclusões

O detector de UV com λ fixo é o mais utilizado na análise de metilxantinas. Entretanto, este estudo demonstra que os resultados obtidos para teobromina e teofilina, utilizando este detector, revelaram-se superestimados quando comparados com os obtidos com CLAE-EM.

Agradecimentos

¹ Bispo, M. S.; Veloso, M. C. C.; Pinheiro, H. L. C.; De Oliveira, R. F. S.; Reis, J. O. N.; De Andrade, J. B. *J. Chrom. Sci*, **2002**, 40, 45.

² Taiz, I.; Zeiger, E. *Plant Physiology*. Califórnia: The Benjamin/Cummings Publishing Company, **1991**, 338-340.