

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia



Presentado por:

Walter Renato Steiger Arévalo

Para Optar al título de

Químico Farmacéutico

Guatemala, AGOSTO DE 2008

JUNTA DIRECTIVA

OSCAR MANUEL CÓBAR PINTO, PH.D.

DECANO

LIC. PABLO ERNESTO OLIVA SOTO

SECRETARIO

LICDA. LILLIAN RAQUEL IRVING ANTILLÓN

VOCAL PRIMERO

LICDA. LILIANA MAGALY VIDES DE URÍZAR

VOCAL SEGUNDO

LICDA. BEATRIZ EUGENIA BATREZ DE JIMÉNEZ

VOCAL TERCERO

BR. ANDREA ALEJANDRA ALVARADO ALVAREZ

VOCAL CUARTO

BR. ANIBAL RODRIGO SEVILLANOS CAMBRONERO

VOCAL QUINTO

AGRADECIMIENTO

A Dios y La Virgen Santísima
Por darme esta oportunidad

A mi familia
Por estar siempre conmigo y ayudarme a lograr esta meta

A mi Esposa Mónica Yanes y Mi Bebe Renato Steiger
Con todo mi amor

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Universidad de San Carlos de Guatemala

A la Escuela de Química Farmacéutica
Universidad de San Carlos de Guatemala

A el Centro de Información y Asesoría Toxicológica CIAT
Departamento de Toxicología
Universidad de San Carlos de Guatemala

A los Gimnasios que aceptaron participar en el estudio

A los voluntarios que donaron muestras de Orina para
Realizar la parte experimental de este Documento

Al Instituto de Investigaciones Químicas, Biotecnológicas, Biofísicas y Bioquímicas
Universidad Mariano Gálvez de Guatemala

A mi Asesora
Licda. Carolina Guzmán Quilo

Compañeros y Amigos
Que de una manera u otra colaboraron para la realización de esta tesis,

DEDICATORIA

A DIOS Y LA VIRGEN SANTISIMA	Por haberme guiado durante toda mi carrera y por las bendiciones que hoy recibo.
A mi Mamá:	Licda. Vilma Nineth Arévalo García, por todo su cariño, gracias por estar con migo siempre.
A mi Esposa:	Mónica Guisela Yanes Ch., con todo mi amor, gracias por toda tu ayuda.
A mi Bebe:	Diego Renato Steiger Yanes., que este logro sea motivo de ejemplo, te dedico esto con todo mi corazón mi angelito.
A mis Abuelos	Lic. Roberto Arévalo Reyes Josefa García Castillo de Arévalo. Gracias papá y mamá.
A mis tíos:	Licda. Sonia Cristina Arévalo García Dra. Ruth Araceli Arévalo García Licda. Diana Lucrecia Arévalo García Lic. Estuardo Arévalo García Ing. Walter Roberto Arévalo García Lic. Erwin Fernando Arévalo García
A mis Hermanos:	Juan José Arévalo García Vilma María Lisseth Steiger Arévalo
A mis Primos:	Roberto José González Arévalo Roberto Walter Arévalo Hernández Carmen María Arévalo Hernández Erwin Roberto López Arévalo María Fernanda Arévalo Estuardo Arévalo
A mis sobrinos:	Juan José Arévalo Fernández Ivanna Orellana Steiger Erick Alejandro Orellana Steiger
A mis cuñados:	Claudia Fernández Alejandro Orellana

A mi familia Política:

Víctor Hugo Yanes
Adelina de Yanes
José Francisco Yanes
María Galdamez
Marta Chiroy y Familia
Amanda Chiroy y Familia
Guillermo Chiroy y Familia
Carlos Torres y Familia
Byron Torres y Familia
Cesar López y Familia

A mis Catedráticos:

Porque sin las enseñanzas de ellos no estuviera
viviendo estos momentos.

A mi Asesora:

Licda. Carolina Guzmán Quilo, Gracias por su
asesoria y por su apoyo.

A la Universidad Mariano Gálvez

Específicamente al Instituto de Investigaciones
Químicas, Biotecnológicas, Biofísicas y
Bioquímicas. Facultad de Medicina. UMG. Por
proporcionarme el equipo, reactivos y asesoria,
necesarios para el desarrollo de mi tesis,
Gracias.

A mis amigos:

Por brindarme su amistad y apoyo durante las
diferentes etapas de mi vida estudiantil y a
todos mis compañeros de clase, con quienes
compartimos grandes experiencias. Gracias a
todos.

INDICE

CONTENIDO	PAGINA
I. RESUMEN	6
II. INTRODUCCIÓN	8
III. ANTECEDENTES	10
IV. JUSTIFICACIÓN	12
V. OBJETIVOS	13
5.1. GENERALES	13
5.2. ESPECIFICOS	13
VI. HIPÓTESIS	14
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	15
7.1. UNIVERSO	15
7.2. MATERIALES	15
7.3. MÉTODOS (Procedimiento)	17
VIII. RESULTADOS	21
8.1. CURVA DE CALIBRACIÓN	21
8.2. RESULTADOS ANALISIS DE MUESTRAS	22
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	27
X. CONCLUSIONES	29
XI. RECOMENDACIONES	30
XII. REFERENCIAS	31
XIII. ANEXOS	34
13.1. ANEXO 1. Cafeína	34
13.2. ANEXO 2. Resumen de concentración de sustancias específicas en orina que han resultado de pruebas de dopaje	39
13.3. ANEXO 3. Carta de autorización para realizar el estudio.	41
13.4. ANEXO 4. Hoja de consentimiento informado de realización del estudio.	42
13.5. ANEXO 5. Hoja de datos generales y resultados.	43
13.6. ANEXO 6. Encuesta	44
13.7. ANEXO 7. Resultados de la encuesta	45
13.8. ANEXO 8. Folleto Bebidas Energizantes, efectos a la salud.	52
13.9. ANEXO 9. Resultados análisis por HPLC	55

I. RESUMEN:

Tomando como referencia las marcas deportivas alcanzadas en el alto rendimiento, día a día se buscan nuevos métodos y técnicas para tratar de superar dichos parámetros. Una forma externa de influir en el desempeño físico del atleta ha sido mediante el consumo de sustancias prohibidas por los reglamentos de las organizaciones deportivas. De acuerdo al Comité Olímpico Internacional (COI), dopaje es la administración o uso por parte de un atleta de cualquier sustancia ajena al organismo o cualquier sustancia fisiológica tomada en cantidad anormal o por una vía anormal con la sola intención de aumentar en un modo artificial y deshonesto su rendimiento en la competición.

La aparición y extensión del doping se debe en gran parte a factores externos a la misma esencia del deporte como el abuso de fármacos que se da en la actualidad y a la presión que ejerce la sociedad sobre el deportista al que le exige una superación continua de su rendimiento deportivo.

Las bebidas energizantes son sustancias estimulantes, que inicialmente fueron utilizadas por deportistas debido a la carga energética que generan. En principio, fueron creadas para incrementar la resistencia física, proveer reacciones más veloces a quien las consumía, lograr un nivel de concentración mayor, evitar el sueño, proporcionar sensación de bienestar, estimular el metabolismo y ayudar a eliminar sustancias nocivas para el cuerpo. La mayoría de las marcas de bebidas energizantes que se encuentran en el mercado mundial son de origen austriaco.

La cafeína es un compuesto alcaloide del grupo de las xantinas, que actúa como estimulante del sistema nervioso central, que es capaz de quitar la somnolencia y restaurar el nivel de alerta. Entre las bebidas que contienen cafeína están el café, té, refrescos de cola y las bebidas energizantes.

En este estudio se procedió a realizar análisis de cafeína por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), que es el método utilizado actualmente por los laboratorios de la Agencia Mundial Antidopaje WADA, por sus siglas en ingles.

Esta metodología que sirvió para determinar los niveles de cafeína fue modificada adecuándola al tipo de muestra y a los recursos con los que se contaba para este estudio. El objetivo fue determinar si el consumo de “bebidas energizantes” ocasiona que la excreción urinaria de cafeína supere la concentración permitida para la Agencia Mundial Antidopaje para esta sustancia, que es 12 µg/mL de orina.

El resultado obtenido fue que el 70% de las muestras analizadas en este estudio, mostraron valores de concentración superiores a los permitidos por la WADA, para cafeína en orina

Así mismo se pretendió evaluar el conocimiento sobre los efectos de la cafeína en personas que consumen este tipo de bebidas y que asisten regularmente a gimnasios en la ciudad de Guatemala.

Para evaluar el conocimiento, se utilizó el método de encuesta, en el cual se determinó que la mayoría de atletas que consumen bebidas energizantes, desconocen de los efectos que estos les puede ocasionar en el organismo, y más aún, desconocen que existe una concentración límite establecida por la WADA, la que al ser superada, ocasionaría sanción.

El análisis estadístico se realizó a través de un análisis de varianza, en donde no se rechaza la hipótesis. En este caso el valor de la "F" o la variación entre los dos grupos es 1.007. Este valor indica que los resultados son significativos, el valor de la "F" necesita ser al menos 5.987377584 (o sea, el valor crítico para F). Entonces, como el valor de nuestra "F" es de 1.007 y es mucho menor que el valor crítico para F (5.9874) estamos seguros que los resultados de nuestras pruebas son significativos. Se aplicó la prueba de mínima diferencia significativa de Fisher, utilizando un nivel de significancia alfa igual a 0.05.

El mayor porcentaje de participantes en el estudio consumen bebidas energizantes y en su mayoría una diaria y según la especificación establecida por la Agencia Mundial Antidopaje (WADA), el consumo de bebidas energizantes, de marca "1" y "2", son catalogadas como productos dopantes según los resultados obtenidos en este estudio.

II. INTRODUCCIÓN:

Se ha determinado que el consumo de “bebidas energizantes” provoca un nivel de cafeína que se considera dopante, ya que excede los límites de concentración en la orina permitidos para esta sustancia, según el Organismo Internacional que regula el consumo de sustancias químicas en los deportes. ^(1,2)

El origen de las “bebidas energizantes” procede de Australia y se promueven para provocar efectos de vigilia para las actividades de trabajo o diversión, también para dar energía a los deportistas después de un ejercicio físico extenso o agotador. Aunque el consumo de estas bebidas se dirige a personas entre los 18 y 35 años, también se utiliza para “estimular los sentidos”, principalmente de jóvenes con una activa vida nocturna o ejercicio excesivo. La composición de estos productos señala cafeína, taurina, carbohidratos y vitaminas entre otros.

De manera general, estas “bebidas energizantes” disminuyen la absorción del agua en el cuerpo; la cafeína no solo inhibe la absorción del hierro, sino que una sobredosis podría provocar taquicardia, temblores, náuseas y vómitos. ⁽³⁾

La bebida se llama de esta manera debido a que contiene una cantidad importante de carbohidratos, nutrientes energéticos de primer orden, mismos que cuando son consumidos luego de una actividad extenuante o prolongada reponen los carbohidratos utilizados y la persona sentirá menor fatiga.

La cafeína es el estimulante leve psicoactivo más consumido en el mundo. Se encuentra en bebidas no alcohólicas: café, té, cocoa, chocolate, bebidas carbonatadas y gran variedad de fármacos de prescripción y de venta directa. Aumenta la secreción de noradrenalina y estimula la actividad neural en múltiples regiones del encéfalo. La cafeína se absorbe por el tubo digestivo, se distribuye con rapidez por todos los tejidos, y atraviesa con facilidad la barrera placentaria. Se piensa que muchos de los efectos de la cafeína se deben a antagonismo competitivo a nivel de los receptores de adenosina, un neuroregulador que influye en diversas funciones del sistema nervioso central. ⁽³⁾

La cafeína es un estimulante del sistema nervioso central, y a pesar de que el efecto es temporal, hace sentir al atleta con más energía o ánimo. En estudios de laboratorio, la cafeína a dosis de aproximadamente 6 mg/Kg de peso corporal es efectiva para mejorar el rendimiento de una persona entre 1 a 20 minutos. Desafortunadamente, estas dosis de cafeína a algunos atletas les producen cefaleas leves al ingerirlas mucho tiempo antes de realizar ejercicio, actuando también como laxante y diurético. Además la dosis de cafeína contenida en las etiquetas de las bebidas

energizantes no revela siempre las verdaderas cantidades y puede poner en riesgo al atleta y causarle un dopaje positivo por cafeína en un test de doping.

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) de Argentina, determina que la concentración de cafeína en las bebidas energizantes actualmente es de 35 miligramos por cada 100 mililitros, y lanzan un comunicado para que disminuyan la concentración a 20 miligramos por cada 100 mililitros, debido a que la actual concentración provoca daños muy severos al ser mezclado con alcohol. ⁽¹⁹⁾

La cafeína ha sido, por muchos años una sustancia restringida por el Comité Internacional Olímpico para los atletas en competición donde solo se permite un máximo de 12 mg de cafeína por mililitro en orina, equivalente a 6 tazas de café expreso. ^(1 y 20)

El ser humano no requiere del consumo de cafeína en la dieta; sin embargo, su consumo moderado no está asociado con ningún riesgo para la salud. Tres tazas de café de 235 mL u 8 onzas (250 miligramos de cafeína) por día, se consideran una cantidad moderada o promedio de cafeína y 10 tazas de 235 mL (8 onzas) se consideran un consumo excesivo. ⁽²²⁾

Para realizar esta investigación, se solicitó el apoyo del personal administrativo de los gimnasios de la ciudad de Guatemala, para realizar una encuesta a 50 personas (voluntarias) que realizan ejercicio, a dichos voluntarios se les dio una encuesta para que de forma anónima dieran información sobre los conocimientos básicos que poseen sobre las bebidas energizantes y si conocen o desconocen algún efecto en el organismo.

Inicialmente se contemplaba analizar todas las muestras posibles, de acuerdo al número de voluntarios; sin embargo debido al costo de los análisis por HPLC, se decidió trabajar únicamente con 11 muestras, de las cuales 1 es la muestra blanco (muestra de orina de un voluntario que no consume café o bebidas energizantes), 5 voluntarios que consumieron la bebida energizante marca 1 y 5 voluntarios que consumieron la bebida energizante marca 2.

Seguido de la toma de muestras se realizó la preparación de los reactivos y las soluciones de referencia de concentraciones 5 µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL y 25 µg/mL, para realizar la curva de calibración, las muestras se prepararon utilizando 1 mL de muestra, alcalinizándolas con 100 mg de buffer de carbonato de sodio (pH 9.0), se hizo una extracción con una mezcla de Cloroformo – 2-propanol (90:10, v/v), separando la capa orgánica, esta fase se evaporo a sequedad bajo una corriente de nitrógeno en un baño de agua a 40°C, se reconstituyo el extracto en 100 µl de una mezcla de agua desionizada – acetonitrilo – metanol (45:5:50) inyectando 10 µl, en el sistema de cromatografía (HPLC). El flujo de la fase móvil es 0.5 mL/min., a una longitud de onda de 280 nm y una temperatura de 20°C.

III. ANTECEDENTES:

Se han propuesto diversas técnicas para la determinación de sustancias en orina, en estos últimos años:

- 1) Sandoval Martínez, Ashly Sabrina, en su tesis de graduación de Química Farmacéutica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, en el año 2005, realizó una cuantificación de cafeína en bebidas carbonatadas de mayor consumo por niños en edad escolar y preadolescentes, en colegios privados de la ciudad capital, dando como conclusión, que los niveles de cafeína varían según la marca, con un promedio de cafeína de 0.29 a 0.42 mg/mL.⁽³⁰⁾
- 2) Closas, De la Torre, Jiménez, Segura y Ventura. En el año 2003 se realizó un estudio de estabilidad de selección de agentes dopantes en orina, específicamente de cafeína, en donde el instrumento de trabajo es el HPLC.⁽²⁶⁾
- 3) Martínez Cano, Alma Lucrecia, en su tesis de graduación de Química Farmacéutica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, en el año 2002, titulada cuantificación de cafeína en café instantáneo que se comercializa en Guatemala, determina que la cantidad de cafeína presente en café instantáneo comercializado en Guatemala, cumple con los límites permitidos de la Norma COGUANOR 34 144.⁽¹⁷⁾
- 4) Rodríguez Sagastume, María Lucía, en su tesis de graduación de Nutricionista de la Escuela de Nutrición de la Universidad Francisco Marroquín, el año 2001, realizó una evaluación del efecto de la cafeína en la glicemia de pacientes diabéticos tipo 2, en la que compara los niveles de glicemia en un grupo de diabéticos después de consumir café molido para percolador y se realizó un análisis de la concentración de cafeína por medio de HPLC, donde concluye que no es necesario recomendar café descafeinado a pacientes diabéticos.⁽¹⁸⁾
- 5) Jonson, Reijula, & Tuomi El año 1999 realizaron el análisis de Nicotina, 3 – hidroxicotinina, cotinina y cafeína en orina de fumadores pasivos por HPLC, espectrofotometría de masas. Estudio realizado por Drug Monitorin and Toxicology, publicado en el Clinical Chemistry.⁽²⁸⁾
- 6) Nordmark, Lundgren, Cnattingius & Rane. En 1998, publicaron un artículo científico para analizar el régimen de cafeína como un agente para valoración de la actividad aleatoria en muestras de orina de citocromo p450IA2, es un estudio realizado por el departamento de Ciencias Médicas, del área de Farmacología Clínica, de la Universidad de Estocolmo,

Suiza. Donde demostraron que es posible cuantificar la cafeína a través de muestras de Orina. ⁽²⁷⁾

- 7) Estudios realizados por la Food and Drug Administration (FDA), en la década de 1980, confirmaron la presencia de teratogénesis en animales de experimentación, ocasionados por las altas cantidades de cafeína; la se que confirmó en un estudio más reciente en el que los investigadores contactaron a 800 familias y obtuvieron datos relativos a 489 embarazos, donde se reportó que el consumo elevado de cafeína (más de 600 mg o el equivalente a 8 tazas diarias de café) es de riesgo para la pérdida fetal. ⁽¹⁶⁾
- 8) Arriola Galindo, Norma, en su trabajo de tesis para optar al título de licenciada en Química Farmacéutica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, del año 1972, concluye que el procedimiento para dosificar cafeína en café soluble por espectrofotometría ultravioleta es un método de fácil normalización, sencillo y reproducible, estando al alcance de un laboratorio de análisis que cuente con cierto equipo de instrumentación. ⁽¹⁵⁾
- 9) Bastos, Kananen, Monteforte, Sunhine & Young En otra publicación de Clinical Chemistry de 1970, se realizó un estudio sobre “Detección de Drogas orgánicas básicas y sus metabolitos en orina” dando como resultado que estos analitos si pueden estar presentes en la orina y ser detectados por medio del HPLC. ⁽²⁹⁾

De acuerdo a la revisión bibliográfica, se determinó que no se han efectuado en Guatemala, estudios referentes al consumo de bebidas energizantes, ni a productos dopantes o alguna investigación relacionada con dopaje por consumo de cafeína.

IV. JUSTIFICACIÓN:

Las personas que realizan deporte, aparentemente desconocen la concentración de cafeína en la orina que proporciona un resultado positivo de dopaje, así como los efectos que la misma puede provocar en su organismo en las concentraciones promedio y superiores.

Debido a que las “bebidas energizantes” se consumen ampliamente por personas que tienen mayor actividad física, como los deportistas, es de vital importancia determinar el contenido de cafeína consumida, con el fin de evitar que en competencias, estos atletas tengan sanciones por organizaciones deportivas y que se eviten los efectos negativos en su salud. Es importante realizar este tipo de estudios ya que no se tiene información por las personas que consumen estos productos y desconocen los efectos que pueden provocarles.

Además, los consumidores se dejan influenciar por la publicidad o por otras personas, sin conocer que pueden estar dañando su organismo y que ponen en riesgo sus carreras como deportistas si dan resultado positivo en una prueba de dopaje, ocasionando sanciones por alguna institución deportiva nacional o internacional.

Con este estudio se determinó la exposición a cafeína a través de estas bebidas por parte de los deportistas o individuos que las consumen en gimnasios de la ciudad de Guatemala. Con los resultados obtenidos a través del método de análisis de cafeína en orina⁽¹¹⁾, se determinó que los niveles de esta sustancia en los participantes del estudio entran en los rangos establecidos por la Agencia Mundial Antidopaje.

Se pretendió además, proporcionar información al consumidor de “bebidas energizantes” en los gimnasios que participaron en el estudio, con el fin de dar a conocer los daños que puede ocasionar los excesos de cafeína, a la salud de los deportistas o de la población.

V. OBJETIVOS:

5.1. General:

Determinar si el consumo de “bebidas energizantes” ocasiona que la excreción urinaria de cafeína supere la concentración permitida para esta sustancia, por la Agencia Mundial Antidopaje que es de 12 µg/mL en orina.

5.2. Específicos:

- 5.2.1 Expresar la concentración de cafeína en orina, en personas que asisten a gimnasios de la ciudad de Guatemala y que consumen bebidas energizantes como parte de su rutina.
- 5.2.2. Comparar la excreción urinaria de cafeína en consumidores de las dos marcas de “bebidas energizantes” que se comercializan en Guatemala.
- 5.2.3. Evaluar el conocimiento sobre los efectos de la cafeína en personas que consumen este tipo de bebidas y que asisten regularmente a gimnasios.

VI. HIPÓTESIS:

El volumen de “bebidas energizantes” consumidas en los gimnasios de la ciudad de Guatemala, es suficiente para que los consumidores de las mismas den un resultado positivo dopante a cafeína en muestras de orina.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS:

7.1. Universo:

Personas que realizan ejercicio en gimnasios de la ciudad de Guatemala.

7.1.1. Muestra:

Hombres y/o mujeres de entre 18 y 50 años que aceptaron participar en el estudio y firmaron una hoja de consentimiento informado. (Ver anexo 4)

7.2. Materiales

7.2.1. Recursos Humanos:

- Autor: Br. Walter Renato Steiger Arévalo.
- Asesora: Licda. Carolina Guzmán Quilo.
- Revisora: Licda. Lucrecia Martínez de Haase.
- Colaboradores: Entrenadores y personal auxiliar de los gimnasios que accedan a colaborar.

7.2.2. Recursos Materiales

7.2.2.1. Instalaciones:

- Instalaciones del Centro de Información y Asesoría Toxicológica (CIAT), Departamento de Toxicología, Escuela de Química Farmacéutica; Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Biblioteca Central de la Universidad de San Carlos de Guatemala
- Biblioteca del Centro de Información y Asesoría Toxicológica (CIAT), Departamento de Toxicología, Escuela de Química Farmacéutica; Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Departamento de Informática y Biometría, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala

- Biblioteca Central de la Universidad del Valle de Guatemala.
- Instalaciones del Instituto de Investigaciones Químicas, Biotecnológicas, Biofísicas y Bioquímicas, Universidad Mariano Gálvez de Guatemala.
- Instalaciones de gimnasios de la ciudad de Guatemala que accedieron a colaborar.

7.2.2.2. Material y Equipo ⁽⁵⁾

- Recipientes para muestra de orina con tapa (plásticos y rotulados)
- Agitador Ultrasónico
- Centrífuga
- HPLC Agilent 1100
- Columna cromatográfica Zorbax Eclipse XDB-C8.
- Cilindro de Nitrógeno Líquido
- Cristalería y materiales de laboratorio en general.
- Materiales y útiles de oficina en general.
- Computadora e impresora.

7.2.2.3. Productos Químicos o Farmacológicos ⁽⁵⁾

- Bebidas energizantes marca 1
- Bebidas energizantes marca 2
- Buffer de Carbonato de Sodio
- Stock de solución estándar
- Cloroformo
- 2 – propanol
- Nitrógeno líquido
- Agua desionizada HPLC
- Acetonitrilo
- Metanol HPLC

7.3. Métodos (procedimiento) ⁽⁵⁾

- 7.3.1. Se solicitó el apoyo del personal administrativo de los gimnasios de la ciudad de Guatemala a través de nota impresa para que accedieran a colaborar con la investigación.
- 7.3.2. Encuesta: a 50 voluntarios que realizan ejercicios en los gimnasios de la ciudad de Guatemala. Se les dio una encuesta (ver anexo 6) para que de forma anónima si así lo deseaban, pudiesen dar información sobre los conocimientos básicos que poseían sobre este tipo de bebidas y si conocen o desconocen algún efecto en el organismo.
- 7.3.3. Toma de Muestras: conforme a hoja de consentimiento informado.
A cada uno de los participantes del estudio se les completó una hoja de datos generales (ver anexos 4 y 5) y se les pidió que donaran una muestra de orina, una hora después de haber concluido su jornada de ejercicios. ⁽²¹⁾
- 7.3.4. Procedimiento de análisis de muestras: ⁽²⁶⁾
 - a. Inicialmente se contemplaba analizar todas las muestras posibles, de acuerdo al número de voluntarios; sin embargo debido al costo de los análisis por HPLC, se decidió trabajar únicamente con 11 muestras de la manera siguiente:
 - 1) blanco (muestra de orina de un voluntario que no consume café o bebidas energizantes),
 - 2) bebidas energizantes marca 1 (muestra de orina de 5 voluntarios que consumieron la bebida energizante marca 1),
 - 3) bebidas energizantes marca 2 (muestra de orina de 5 voluntarios que consumieron la bebida energizante marca 2).
 - b. Una vez finalizada su actividad física en los gimnasios, se les pidió a los participantes voluntarios en el estudio, que donaran la muestra en los recipientes para muestras de orina con tapa que estaban debidamente etiquetados e identificados.
 - c. Las muestras fueron puesta en hieleras para su traslado hasta el laboratorio aproximadamente a 7°C.

- d. Se realizó la preparación de reactivos de la manera siguiente:
- Buffer de Carbonato de Sodio: Se preparó con una mezcla de 100 g de carbonato de sodio anhidro con 50 g de bicarbonato de sodio.⁽²⁶⁾
 - Stock de solución estándar: Se pesó 0.010 g de cafeína y se aforó con metanol a 10 mL, luego se tomó 1 mL de la solución anterior y se aforó a 10 mL, para obtener una concentración de 100 µg/mL.⁽²⁶⁾
- e. Se realizaron las soluciones de referencia de concentraciones 5 µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL y 25 µg/mL, a partir de la solución stock; tomando 100 µL de la solución a estas concentraciones y realizando una dilución con 100 µL de metanol HPLC; para hacer una dilución de las mismas, siendo las nuevas concentraciones de 2.5 µg/mL, 5 µg/mL, 7.5 µg/mL, 10 µg/mL y 12.5 µg/mL
- f. Se realizó la curva de calibración.
- g. 1 mL de muestra, se alcalinizó con la adición de 100 mg de buffer de carbonato de sodio (de pH 9.0).
- h. Se extrajo con una mezcla de 7 mL de cloroformo – 2 – propanol (90:10, v/v).
- i. Después se mezcló (en 40 movimientos oscilantes / minuto durante 20 minutos) y se centrifugó (5 minutos a 3000 rpm).
- j. Se separó la capa orgánica.
- k. Se filtró la fase orgánica por filtro HPLC y se lavó tres veces el filtro con solución de cloroformo – 2-propanol (90:10, v/v).
- l. Se evaporó el filtrado a sequedad bajo una corriente de nitrógeno en un baño de agua a 40°C.
- m. Se reconstituyó el extracto seco en 100 µl de una mezcla de agua desionizada - acetonitrilo - metanol (45:5:50) y se mezcló vigorosamente con agitador ultrasónico.
- n. Se inyectaron volúmenes de 10 µl en el sistema de cromatografía.
- o. El flujo de la fase móvil es 0.5 mL/min, a una longitud de onda de 280 nm y una temperatura de 20 grados Celsius.

7.3.5. Diseño de la Investigación:

Con base a lo recomendado por el Departamento de Biometría y Estadística de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala; para establecer si las concentraciones de cafeína en la orina por el consumo de las bebidas energizantes, cumplen con los límites establecidos por la Agencia Mundial Antidopaje (WADA), se utilizó el siguiente diseño de investigación:

7.3.5.1. Diseño de Metodología:

Esta investigación fue descriptiva, porque se encuentra vinculada al conocimiento científico, usando un método cuantitativo que buscó especificar las propiedades cuantitativas de la cafeína en la orina por el consumo de “bebidas energizantes” sometidas a un análisis.

7.3.5.2. Diseño Estadístico:

Para la interpretación estadística de los resultados, se realizó una comparación entre dos marcas, y una comparación con el patrón establecido por la metodología, con respecto a los niveles aceptados de cafeína por la Agencia Mundial Antidopaje (WADA), haciendo uso del cálculo del coeficiente de correlación de concordancia y utilizando la desviación estándar, que indica la homogeneidad de la distribución sin datos que se alejen de manera significativa del promedio.

7.3.5.3. Diseño del muestreo:

- a. 10 personas que realicen ejercicio en gimnasios de la ciudad de Guatemala.
- b. Criterios de inclusión:

Hombres y/o mujeres de entre 18 y 50 años que acepten participar en el estudio, que realicen ejercicio en gimnasios de la ciudad de Guatemala en la jornada matutina (5:00 a 11:30 am) o en la jornada nocturna (17:00 a 21:00 horas), que hayan consumido al menos una lata de bebida energizante de la marcas 1 o de la marca 2 durante su entrenamiento y que hayan completado y firmado la hoja de consentimiento informado

Para el blanco, se aceptó hombre o mujer de entre 18 y 35 años que aceptó participar en el estudio, que realiza ejercicios en gimnasios de la ciudad de Guatemala en la jornada matutina (5:00 a 11:30 am) o en la jornada nocturna (17:00 a 21:00 horas), que no haya consumido ninguna sustancia (medicamentos, bebidas, suplementos alimenticios, etc.) que contenga cafeína antes o durante su entrenamiento y que haya completado y firmado la hoja de consentimiento informado.

La muestra fue tomada tres horas después de haber consumido la bebida energizante ya que en este tiempo la cafeína ejerce su efecto diurético y es absorbido el 50% de la concentración y luego de una hora de haber finalizado la rutina de ejercicios. ⁽²¹⁾

c. Tipo de muestreo:

Por cuota; el cual consistió en ir formando los grupos de acuerdo a los requisitos del criterio de inclusión antes mencionados.

d. Tipo de diseño:

No probabilístico, al azar.

7.3.5.4. Análisis e Interpretación de Resultados:

Se analizó si las muestras analizadas entran o no dentro del límite superior o inferior de cafeína, permitidos por la Agencia Mundial Antidopaje (WADA), que es de 12 $\mu\text{g}/\text{mL}$. ^(1 y 2)

Se analizó la significancia estadística del estudio, tomando en cuenta cuantas muestras superan la concentración y cuantas muestras se encuentran por debajo de la concentración (12 $\mu\text{g}/\text{mL}$) permitida por la Agencia Mundial Antidopaje (WADA).

El análisis estadístico se realizó a través de un análisis de varianza, y la prueba de mínima diferencia significativa de Fisher. Se utilizó un nivel de significancia alfa igual a 0.05.

VIII. RESULTADOS

8.1 CURVA DE CALIBRACIÓN:

A continuación se presenta la curva de calibración de los estándares.

GRÁFICA No. 1

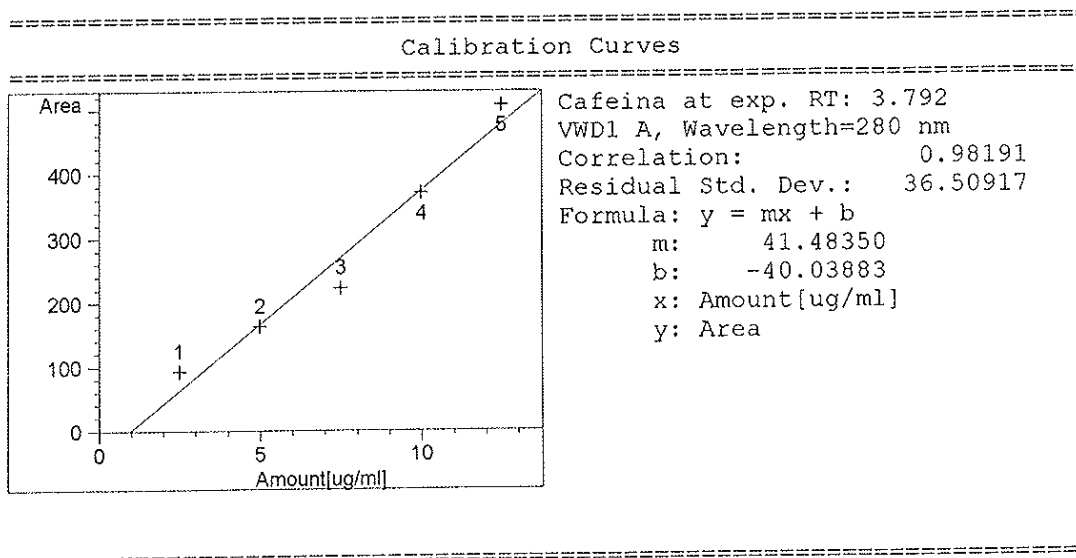


TABLA No. 1

CURVA DE CALIBRACIÓN

Estándar	Concentración ($\mu\text{g} / \text{mL}$)
5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	6.3829
10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	9.77478
15 $\mu\text{g}/\text{mL}$	12.6772
20 $\mu\text{g}/\text{mL}$	19.78968
25 $\mu\text{g}/\text{mL}$	26.37546

Fuente: Datos experimentales

8.2 RESULTADOS ANALISIS DE MUESTRAS:

Todos los Voluntarios que corresponden a estos resultados consumieron 1 lata de bebida energizante.

TABLA No. 2
Bebida Energizante Marca 1

MUESTRA	Concentración ($\mu\text{g} / \text{mL}$)
muestra 1	No detectado
muestra 2	376.17
muestra 3	14.31
muestra 4	No detectado
muestra 5	7.64
muestra Blanco	0.00
Valor Límite Permitido por WADA	12.00 $\mu\text{g} / \text{mL}$

Fuente: Datos experimentales

TABLA No. 3
Bebida Energizante Marca 2

MUESTRA	Concentración ($\mu\text{g} / \text{mL}$)
muestra 6	314.94
muestra 7	2135.86
muestra 8	226.81
muestra 9	20.85
muestra 10	86.86
muestra Blanco	0.00
Valor Límite Permitido por WADA	12.00 $\mu\text{g} / \text{mL}$

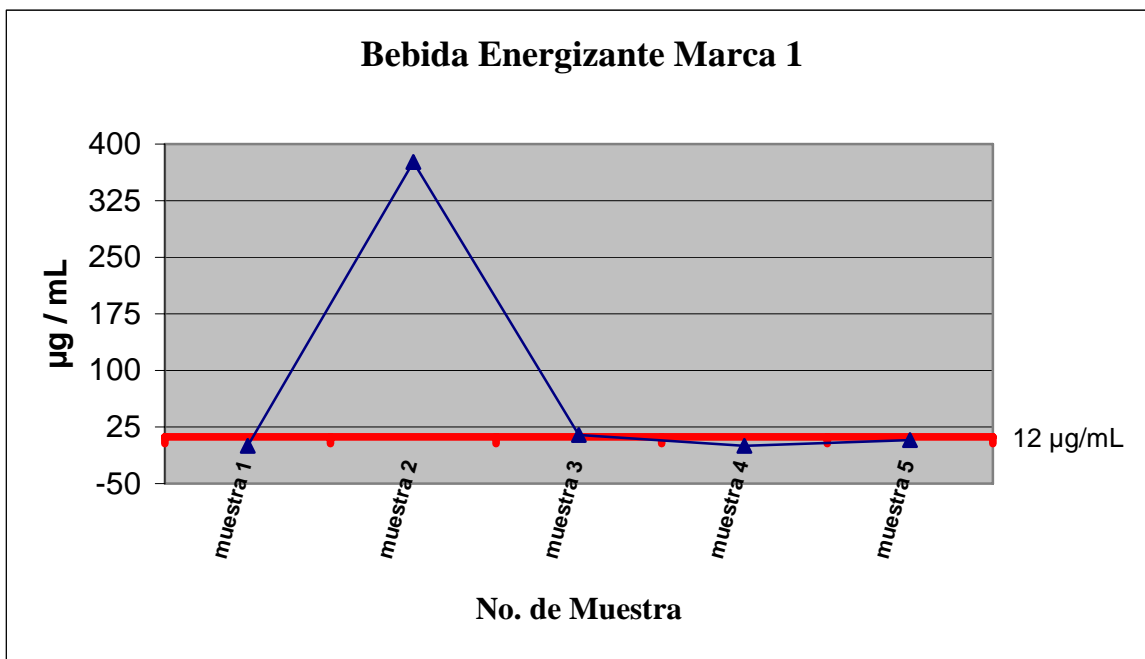
Fuente: Datos experimentales

Tabla No. 4
 Concentración de cafeína en orina, Bebida Energizante Marca 1

MUESTRA	Concentración ($\mu\text{g} / \text{mL}$)
muestra 1	0.0000
muestra 2	376.1748
muestra 3	14.3108
muestra 4	0.0000
muestra 5	7.6397

Fuente: Datos experimentales

GRAFÍA No. 2



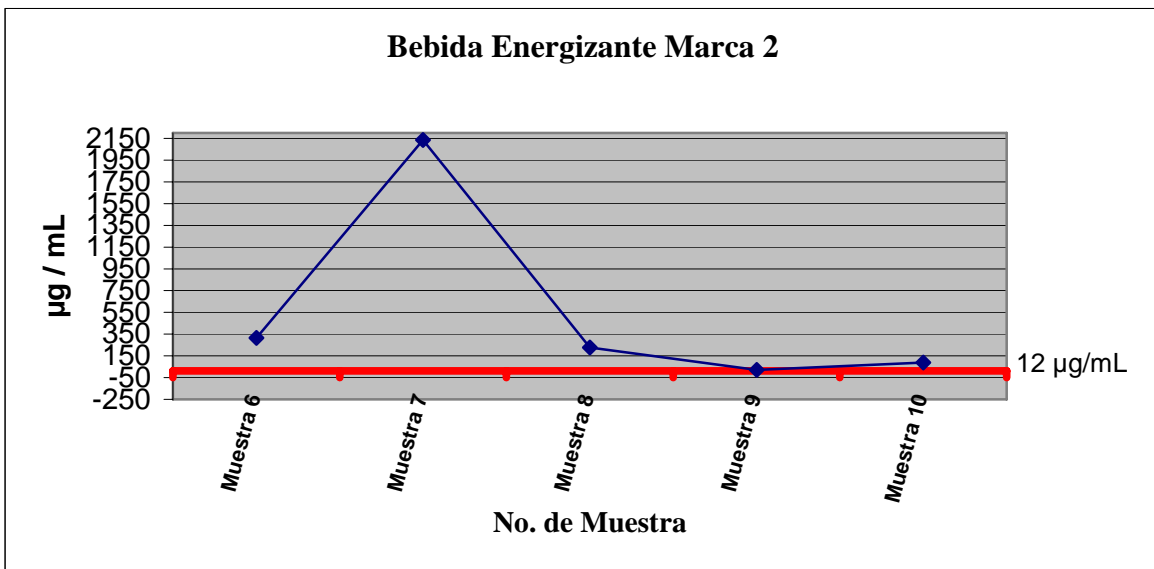
Fuente: Datos experimentales

TABLA No. 5
 Concentración de cafeína en orina, Bebida Energizante Marca 2

MUESTRA	Concentración ($\mu\text{g} / \text{mL}$)
muestra 6	314.9400
muestra 7	2135.8599
muestra 8	226.8101
muestra 9	20.8508
muestra 10	86.8556

Fuente: Datos experimentales

GRAFÍA No. 3



Fuente: Datos experimentales

TABLA No. 6
Análisis de Varianza (ANDEVA)

MUESTRA	Bebida Marca 1 Concentración	Bebida Marca 2 Concentración
	($\mu\text{g} / \text{mL}$)	($\mu\text{g} / \text{mL}$)
muestra 1	0	314.94
muestra 2	376.1748	2135.8599
muestra 3	14.3108	226.8101
muestra 4	0	20.8508
muestra 5	7.6397	86.8556

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
0	4	398.1253	99.531325	34048.2351
314.94	4	2470.3764	617.5941	1031876.36

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	536778.0777	1	536778.0777	1.00715956	0.35432578	5.987377584
Dentro de los grupos	3197773.801	6	532962.3002			
Total	3734551.879	7				

TABLA No. 7
 CARACTERISTICAS ORGANOLÉPTICAS

ANALISIS	BEBIDA ENERGIZANTE MARCA 1 CARACTERISTICA	BEBIDA ENERGIZANTE MARCA 2 CARACTERISTICA
APARIENCIA	Solución cristalina, libre de partículas extrañas	Solución cristalina, libre de partículas extrañas
COLOR	Café claro	Café claro
OLOR	Característico	Característico
SABOR	Dulce	Dulce
ESTADO	Líquido	Líquido
ETIQUETA INDICA CONCENTRACIÓN DE CAFEÍNA	SI	NO
REGISTRO EN MSPAS	SI	NO

Fuente: Datos experimentales

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla No. 1 y gráfica No. 1, se muestra los datos de concentración de la curva de calibración, para la cual se utilizaron estándares de referencia con una concentración de 5, 10, 15, 20 y 25 $\mu\text{g/mL}$, mostrando linealidad en el rango de 280 nm de longitud de onda.

Al determinar el análisis de las muestras de orina da como resultado que para los voluntarios que consumieron la bebida energizante marca 1, de las 5 muestras analizadas solo 2 de ellas superan el valor permitido por la Agencia Mundial Antidopaje, que es de 12 $\mu\text{g} / \text{mL}$, lo que representa un 40% del total de las muestras; para los voluntarios que consumieron la marca 2, las 5 muestras analizadas superan el valor permitido por la WADA, lo que indica que el 100% supera la concentración. Como se observa en la gráfica No. 2, las concentraciones de la bebida energizante marca 1, solo dos de ellas superan el valor de 12 $\mu\text{g} / \text{mL}$ y en la gráfica No. 3 para la bebida energizante marca 2, todas las muestras están por encima del valor permitido. En total, el 70% de las muestras supera la concentración permitida por la WADA, concluyendo que las bebidas energizantes son consideradas como productos que pueden dar un análisis de dopaje positivo.

Al superar este límite se estimula la secreción de adrenalina, lo que acelera la liberación a la sangre de ácidos grasos que están almacenados en el tejido adiposo (reserva de grasa), esto permite que durante los primeros minutos de ejercicio, el organismo utilice ácidos grasos, por lo que las reservas musculares de glucosa duran más y se retrasa la aparición de la pájara (el diccionario de la RAE define la pájara como el bajón físico súbito que impide al corredor mantener el ritmo, su concepto se ha extendido a todo estado de fatiga extrema al que se llega en algunas ocasiones al realizar ejercicio físico de larga duración).

El análisis de las características organolépticas de cada una de las marcas a estudiar (Tabla No. 7), indica que no existe ninguna característica que haga diferente un producto del otro; lo único es que en la marca 2 no se reporta en el producto, concentración de cafeína ni un número de registro sanitario por parte del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social –MSPAS-.

Al hacer una comparación entre las dos marcas como lo muestra la gráfica No. 2 y la gráfica No. 3, se determinó que los consumidores de la bebida energizante Marca “2”, presentaron una concentración promedio mayor, que los consumidores de la Marca “1”; aunque ambas marcas superan la concentración límite, lo que indica que ambas son productos dopantes.

El análisis estadístico se realizó a través de un análisis de varianza, Tabla No. 6, en donde no se rechaza la hipótesis, ya que el resultado de ANDEVA le da el valor estadístico de la "F." En este caso el valor de la "F" o la variación entre los dos grupos es 1.007. Este valor indica que los resultados son significativos, el valor de la "F" necesita ser al menos 5.99 (o sea, el valor crítico para F). Entonces, como el valor de nuestra "F" es de 1.007 y es mucho menor que el valor crítico para F (5.99) estamos seguros que los resultados de nuestras pruebas son significativos. Se aplicó la prueba de mínima diferencia significativa de Fisher, utilizando un nivel de significancia alfa igual a 0.05.

En la realización de este proceso inferencial, siempre existe el riesgo de error o imprecisión ya sea por el azar o la variabilidad biológica del fenómeno que se está estudiando en este caso, la versión de los consumidores sobre el número de latas ingeridas y su velocidad de excreción. El presente estudio, solo se pudo realizar esa cantidad de muestras, debido a que este tipo de análisis es muy costoso y dado que los gastos del estudio corrieron a cargo del Centro de Información y Asesoría Toxicológica (CIAT), Departamento de Toxicología, Escuela de Química Farmacéutica; Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, del Instituto de Investigaciones Químicas, Biotecnológicas, Biofísicas y Bioquímicas, Universidad Mariano Gálvez de Guatemala y del autor del presente documento, la cantidad de muestras se redujo a 5 voluntarios por cada marca, lo que tiende a presentar menor precisión y mayor variabilidad por el azar.

En la encuesta realizada (Ver anexo No. 7) para determinar el conocimiento de los participantes sobre las bebidas energizantes y determinar si conocen o desconocen los efectos en el organismo, se demostró que los resultados concuerdan con lo planteado en el problema de trabajo, donde se mencionó que las personas desconocen los efectos que la cafeína puede provocar en el organismo y que no conocen que sea un producto dopante, lo que indica que puede afectar a deportistas porque estos pueden ser sancionados por la WADA u otra institución encargada de velar por el ejercicio del deporte libre de dopaje. Estos resultados sirven para tomar medidas de información, para que los deportistas y las personas que consuman estas bebidas que contienen cafeína conozcan de los efectos y sanciones que puede provocar su consumo. De las 50 personas participantes del estudio el 56% si conoce lo que es el Dopaje y el 44% no lo conoce según los resultados de la encuesta (Ver anexo No. 7), así mismo un 42% sabe que la cafeína es un agente dopante y un 54% lo desconoce, aunque ninguna de las personas que participaron en la encuesta conoce la concentración de cafeína en la orina, para ser considerada como un producto dopante, por la Asociación Mundial Antidopaje (WADA).

X. CONCLUSIONES

- 10.1. Con base en las muestras trabajadas en este estudio se concluye que el consumo de bebidas energizantes, de marca “1” y “2” que se comercializan en la ciudad de Guatemala, ocasionan que la excreción urinaria de cafeína en orina supere la concentración de cafeína permitida por la Agencia Mundial Antidopaje WADA que es de $12\mu\text{g/mL}$, por lo que son catalogadas como productos posiblemente dopantes.
- 10.2. La excreta urinaria de cafeína en consumidores de la marca “1”, en el 40% de los casos, está por encima de $12\mu\text{g/mL}$. La excreta urinaria de cafeína en consumidores de la marca “2”, en el 100% de los casos, está por encima de $12\mu\text{g/mL}$.
- 10.3. Los niveles de cafeína encontrados en las muestras de orina por el consumo de bebidas energizantes, variaron de acuerdo a la marca, obteniéndose menor cantidad de cafeína en excreta urinaria, en los voluntarios que consumieron la marca “1”.
- 10.4. Los participantes en este estudio, desconocen en su mayoría, los efectos que la cafeína puede provocar en el organismo: a) circulación, b) insomnio, tranquilizante y una sensación de energía y fuerza corporal. c) Los deportistas si conocen lo que es el dopaje, pero ninguno de ellos conoce las concentraciones de las sustancias para ser consideradas como dopantes.

XI. RECOMENDACIONES

- 11.1. Iniciar un mayor control por parte de las autoridades sanitarias, sobre la venta de productos catalogados como “bebidas energizantes” en prevención a la salud.
- 11.2. Realizar estudios similares con un número mayor de participantes en condiciones físicas parecidas y con un control sobre el volumen de producto consumido.
- 11.3. Cuantificar los niveles de cafeína en las bebidas energizantes que se comercializan actualmente, empleando el método de Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
- 11.4. A las autoridades de salud, universidades y asociaciones no gubernamentales, dedicadas a la salud y el deporte, para que realicen campañas de información sobre los posibles problemas que implica el consumo de este tipo de bebidas.
- 11.5. Estandarizar una metodología para Guatemala que apoye a el control antidopaje para cafeína en orina.
- 11.6. Hacer un estudio de creatinina en las muestras de orina, lo que puede ayudar a descartar cualquier cambio en el volumen de excreción ya que los niveles de creatinina en orina pueden utilizarse como prueba de tamizaje para evaluar la función renal o pueden formar parte del examen de la capacidad de eliminación de la creatinina. La creatinina se emplea para este propósito, debido a que está normalmente presente en el cuerpo y porque muy poca creatinina es reabsorbida después de ser filtrada. La cantidad de filtración realizada en los riñones depende de la cantidad de sangre que pasa a través de los glomérulos y a la capacidad de éstos para actuar como filtros.

XII. REFERENCIAS:

1. Código Anti - Doping del Movimiento Olímpico. **Clase de sustancias prohibidas y métodos prohibidos 2003**. Oficina del Director Deportivo. 2003. Anexo A. Disponible en: <http://www.oficinadeldirectordeportivo.htm>
2. **Código Mundial Anti – Dopaje. Guía del Deportista**. 3era. Edición: Agencia Mundial Anti – Dopaje (AMA) 2005. Pp. 10, 19. Disponible en: <http://www.codigomundialantidopaje.htm>
3. Goodman & Gilman. **Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica**. Vol. I. Editorial McGraw Hill, Décima Edición. México 2001. Pp. 645.
4. Repetto, Manuel, **Toxicología fundamental**, 3era edición. Editorial Díaz de Santos, España 1997. Pp. 44.
5. I. Sunshine. CRC. **Methodology for Analytical Toxicology**. Pp. 57 – 60.
6. Katzung, Bertram G. **Farmacología básica y clínica**, 9na. Edición, Editorial el Manual Moderno, México, 2005. Pp. 325 – 327.
7. Dickes, G.S., and Ellis, A.C. **The Detection of Amphetamine in Urine by Thin Layer Chromatography. (Imp. Tabacco Co. Ltd., Bristol. Engl.)**. J. Ass. Public. Anal. Pp. 103-105, año 1967.
8. Karawya, M.S., El-Keiy, M.A., Wahba, S.K. and Kozman, A.R. **Estimation of amphetamine in urine of race horses**. (Cairo Univ. Cairo). J. Pharm. Sci. Pp. 1005-1007, Año, 1967.
9. Dole, V.P. MD., Kim, W.K. M.A., and Eglitis, E. **Detection of Narcotics Drugs, Tranquilizer, Amphetamines, and Barbiturates in Urine**. (Rockefeller Univ., New York, N.J.). J. AMER., Med. Ass. Pp. 346-352. Año 1966.
10. Wallace, J.E, Biggs, J.D., and Ladd, S.L. **Determination of Amphetamine by Ultraviolet Spectrophotometry**. (USAF Epidemiol. Lab., Lackland Air Force Base, San Antonio, TEX.). Chem. Pp. 2207-2210, año 1968.
11. Martínez Alvarado, Edna Silvia Noemí. **Determinación de anfetaminas en orina**. Tesis de graduación de Química Farmacéutica, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, año 1979.
12. Domínguez, Rita Beatriz. **Concentración de fluoruro en la orina de los escolares del nivel primario, inscritos en el año de 1993 en la región de salud sur occidente que comprende los departamentos de Totonicapán, Quetzaltenango, San Marcos, Suchitepequez, Sololá y Retalhuleu**. Tesis de Graduación de Odontología, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, facultad de Odontología, año 1997.

13. Ishler, N.H., T.P. Finucane y E. Broker, R. **Spectrophotometric determination of Caffeine.** Hoboken N.J. Analytical Chem. Pp. 1162 – 1166. Año 1948.
14. Snell, F. y C. Snell. **Colorimetric methods of analysis.** VanNostrand Co. Inc. Princenton NY. EDI. Pp. 434-437, año 1956.
15. Arriola Galindo, Norma. **Determinación espectrofotométrica de cafeína en café soluble.** Tesis de Graduación de Química Farmacéutica, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, año 1972.
16. Mahan, L.K. y Escott-Stump, S. **Nutrición y Dietoterapia de Krause.** 9º Edición. México. Mc Graw Hill Interamericana. Pp 1207. Año 1998.
17. Martínez Cano, Alma Lucrecia. **Cuantificación de Cafeína en café instantáneo que se comercializa en Guatemala.** Tesis de Graduación de Química Farmacéutica, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, año 2002.
18. Rodríguez Sagastume, Maria Lucia. **Evaluación del Efecto de la cafeína en la Glicemia de Pacientes Diabéticos Tipo 2.** Tesis de Graduación de Nutricionista, de la escuela de Nutrición de la Universidad Francisco Marroquin, año 2001.
19. **Digamos no a las bebidas energizantes,** articulo de Internet, Página Web: http://www.expresionesjovenes.com.ar/detalle_noti.php?id=673
20. Articulo publicado por Juan Manuel Sarmiento C., M.D. Médico del Deporte Universidad El Bosque Bogota, Colombia. Titulado **Bebidas Energizantes,** en la página Web: <http://www.gssiweb-sp.com/reflib/refs/223/re34.cfm?pf=1&CFID=5567029&CFTOKEN=155-82173>
21. Articulo Web, titulado **Café, Vivir, Pensar, Ciencia, Mundo, Curioso, Medicina.** Página: <http://cafeguaguau.com/COLOMBIA/cafe/>
22. MedLinePlus, **Cafeína en la Dieta,** Página Web: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/002445.htm>.
23. Monster Energy “**Bebida Energizante**” Web: <http://www.monsterenergy.com/index.php>
24. Rhino’s Energy Drink “**Bebida Energizante**” Web: <http://www.rhinos-energy.com>
25. Stara The energy Pill “**Ya tendrás tiempo para descansar**” Web: <http://www.zonastark.com>
26. Closas, De la Torre, Jiménez, Segura y Ventura. Journal Of Chromatography B. “**Stability studies of selected doping agents in urine: caffeine**” Journal of chromatography B, 795 (2003) 167 – 177.

27. Cnattingius, Lundgren, Nordmark, & Rane. “**Dietary caffeine as a probe agent for assessment of cytochrome P450IA2 activity in random urine samples**”. Departement of Medical Sciences, Clinical Pharmacology, University Hospital, Uppsaka University, S-751 85 Stockholm, Sweden.
- 28., Jonson, Reijula & Tuomi. “**Analysis of Nicotine, 3 – Hydroxycotinine, Cotinine, and Caffeine in Urine of Passive Smokers by HPLC – Tandem Mass Spectrometry**”. Clinical Chemistry 45:12, 2164 – 2172 (1999)
29. Bastos, Kananen, Monteforte, Sunhine & Young. “**Detection of Basic Organic Drugs and Their Metabolites in Urine**”. Clinical Chemistry, Vol 16, No. 11, 1970. Pág. 931-940.
30. Sandoval Martínez, Ashly Sabrina, “**cuantificación de cafeína en bebidas carbonatadas de mayor consumo por niños en edad escolar y preadolescentes, en colegios privados de la ciudad capital**”. Universidad de San Carlos de Guatemala, Escuela de Química Farmacéutica. Año 2005.

XIII. ANEXOS:

13.1. Anexo 1.

Cafeína:

Generalidades:

Este estimulante leve es la sustancia psicoactiva más consumida en el mundo. Se encuentra en bebidas no alcohólicas, café, té, cocoa, chocolate, bebidas carbonatadas y gran variedad de fármacos de prescripción y de venta directa. Aumenta la secreción de noradrenalina y estimula la actividad neural en múltiples regiones del encéfalo. La cafeína se absorbe por el tubo digestivo, se distribuye con rapidez por todos los tejidos, y atraviesa con facilidad la barrera placentaria. Se piensa que muchos de los efectos de la cafeína se deben a antagonismo competitivo a nivel de los receptores de adenosina, un neuroregulador que influye en diversas funciones del sistema nervioso central.⁽³⁾

La cafeína es una droga consumida comúnmente. Se encuentra en varias bebidas, tales como té, café, bebidas gaseosas de "cola" y productos derivados de chocolate. También se le añade cafeína a otras bebidas gaseosas y a medicinas que se compran sin receta médica, tales como pastillas contra el dolor de cabeza, resfriados, alergias, pastillas contra el dolor y para mantenerse despierto. La cafeína, cuyo principio activo es la trimetilxantina, se considera un estimulante, por lo tanto lleva a cambios de conducta. La cafeína es capaz de producir, tolerancia y dependencia en quienes la consumen de forma abusiva, así como síntomas de abstinencia en los bebedores que interrumpen su ingestión, por lo que se considera una droga. El consumo indiscriminado de cafeína abre las puertas para el consumo de otras sustancias causantes de adicción como el tabaco, el alcohol y las drogas ilegales, por lo que se le denomina droga portera. En estudios realizados se demuestra que trae deterioro y efectos de conducta en los niños. La cafeína ha sido comparada en forma compatible con el metilfenidato y las anfetaminas, que son estimulantes solo recetados por prescripción médica.

Efectos a la salud:

Los efectos fisiológicos de la cafeína pueden observarse en los adultos, con el consumo de 1 a 3 tazas de café. No obstante se considera que hasta 5 tazas de café al día no suponen riesgos a la salud en un adulto sano. Sobre los efectos de la cafeína en diferentes órganos y tejidos podemos mencionar:

El cerebro La cafeína tiene una acción vasoconstrictora sobre la circulación cerebral. Alarga la duración de la vigila, retrasa la aparición de la sensación de cansancio, sobre todo en lo que concierne a actividades intelectuales o repetitivas. Puede impedir los dolores de cabeza. En todo caso, su acción es benéfica ya que disminuye la intensidad de las crisis y favorece el efecto analgésico de la aspirina.

El corazón: Si se goza de una buena salud, el consumo normal de café (hasta 5 tazas a lo largo del día) no afecta ni las funciones cardiovasculares, ni el ritmo cardíaco, ni la presión arterial. Sin embargo, en el caso de ciertas afecciones cardíacas, se desaconseja beber café, pues este provoca palpitaciones, extrasístoles, aumento de la presión arterial, pulso rápido y dolores precordiales de tipo anginoso.

El hígado: El café estimula ciertas actividades enzimáticas, facilitando el efecto de ciertos medicamentos.

Los músculos: Indirectamente se producen efectos sobre la actividad motora de los músculos que varían según la persona y el tipo de actividad física efectuada. La cafeína excita el sistema nervioso central, aumenta la resistencia y retrasa la aparición de la sensación de cansancio. No mejora el rendimiento físico, pero facilita las actividades que requieren una coordinación compleja, como el manejar máquinas o vehículos.

Los pulmones: La cafeína provoca la dilatación de los bronquios, lo cual contribuye a luchar contra las crisis asmáticas. Sin embargo, el polvo de café verde puede ocasionar reacciones alérgicas, de tipo cutáneo o respiratorio.

El estómago: La cera y las grasas del café estimulan la secreción ácida del estómago. Por esa razón, hacen que el café sea indigesto mezclado a la leche. Los cafés bajos en grasa permiten evitar dicho inconveniente.

Los riñones: La cafeína tiene efectos diuréticos.

El páncreas: El café aumenta la secreción externa del páncreas. Un consumo moderado no está contraindicado para los diabéticos, a no ser que provoque un estado de nerviosismo o de ansiedad, susceptible de afectar el control de la glucemia.

El café no modifica las condiciones fisiológicas del embarazo. No representa un peligro para el niño de pecho. Sin embargo, el feto elimina la cafeína muy lentamente y por lo tanto se recomienda limitar el consumo de café durante este periodo a menos de 300 mg/día.

El uso indiscriminado de la cafeína tiene riesgos para la salud. Es por eso que debemos estar más informados sobre la presencia de la cafeína en comidas y bebidas sobre todo las que consumen habitualmente los niños y jóvenes.

De acuerdo con el peso corporal, los niños de entre 1 a 5 años de edad son los mayores consumidores de cafeína. Un niño que consume una bebida gaseosa con cafeína recibe el equivalente a 4 tazas de café consumidas por un adulto. La literatura médica identifica a la cafeína como un agente de dopaje capaz de mejorar la performance física. Antes de los Juegos Olímpicos de 1984 el Comité Olímpico Internacional agregó esta sustancia a la lista de agentes dopantes.

Los estudios de los efectos ergogénicos de la cafeína han dado resultados confusos debido a que investigaciones de naturaleza similar, han empleado diferentes protocolos. Los efectos en este sentido se observan en las siguientes cualidades: resistencia, fuerza, coordinación, visión y estado de alerta.

Fuentes:

Las fuentes más abundantes en cafeína son:
(En 8 onzas —237 ml— aproximadamente una taza)
el café de cafetera (125 mg),
el café instantáneo (90 mg),
el té (70 mg),
las bebidas de cola, como las gaseosas o refrescos (50 mg),
el cacao o el chocolate caliente (25 mg)

La cafeína se descubrió en las semillas del café en 1820. En 1838 se demostró que la teína, alcaloide descubierto en las hojas de té en 1827, era en realidad cafeína. En peso, el té contiene más cafeína que el café. Las bebidas de cola deben el nombre a que originariamente, las semillas de la planta *Cola acuminata* eran utilizadas como fuente de cafeína en la elaboración de estas bebidas. Una de las explicaciones del aumento del rendimiento en deportes de resistencia puede estar en la constatación de que la cafeína genera una descarga de adrenalina que tiene como consecuencia un estímulo de la función cardiovascular.

Cinética:

La máxima concentración en la sangre se alcanza entre los 30 y 45 minutos de haberla ingerido, a las tres horas ya se ha eliminado la mitad de lo que se ha absorbido. A dosis habituales de dos a cuatro tazas diarias, 150 a 250 miligramos, estimula las funciones psíquicas, lo que aparentemente no es seguido de depresión; y se hace más fácil el esfuerzo intelectual, la asociación de ideas y la atención. En el nivel del sistema cardiovascular actúa estimulando el corazón - incrementa la frecuencia cardiaca y la fuerza de contracción- y además aumenta la presión arterial en forma transitoria.

Tanto la cafeína como la teofilina provocan disminución del flujo sanguíneo cerebral, por vasoconstricción, aliviando de esta manera la cefalea. Otro efecto importante es que aumenta la secreción de jugos -como el ácido clorhídrico y la pepsina- en el estómago. Esta acción la convierte en una droga irritante de la mucosa gástrica; pero, a su vez, tiene acción antiespasmódica en la vesícula. La cafeína posee también un leve efecto diurético; aumenta la capacidad de trabajo muscular, refuerza la contracción, retarda y alivia la fatiga. Finalmente, produce un muy pequeño efecto en los pulmones, dilatando los bronquios. ^(3 y 6)

La cafeína pertenece al grupo de fármacos metilxantina, y entre las más importantes están también la teofilina y teobromina. La teofilina es 1,3-dimetilxantina, la teobromina es 3,7-dimetilxantina y la cafeína es 1,3,7-trimetilxantina; su mecanismo de acción es inhibición de varios miembros de la familia de enzimas de la fosfodiesterasa; dado que las fosfodiesterasas hidrolizan los nucleótidos cíclicos, esta inhibición ocasiona concentraciones mayores de cAMP. Otro mecanismo propuesto es la inhibición de receptores de superficie celular para la adenosina, estos modulan la actividad de la adenilciclase, y se ha demostrado que la adenosina ocasiona la contracción del músculo liso aislado de las vías respiratorias y estimula la liberación de histamina de células presentes en las vías respiratorias; este mecanismo se relaciona con la teofilina y su aplicación clínica en el asma. Con dosis muy altas puede presentar estimulación medular y convulsiones que pueden provocar la muerte. Las metilxantinas tienen efectos directos inotrópicos y cronotrópicos positivos en el corazón, en concentraciones más bajas, estos efectos parecen resultar de la liberación aumentada de catecolaminas a causa de la inhibición de los receptores presinápticos de adenosina. En individuos inusualmente sensibles, el consumo de varias tazas de café puede originar arritmias; pero en la mayoría de personas, la administración parenteral de altas dosis de metilxantinas sólo produce taquicardia sinusal y aumento del gasto cardiaco. Las metilxantinas, disminuyen la viscosidad sanguínea y pueden mejorar el flujo sanguíneo en ciertas condiciones.

Las metilxantinas estimulan la secreción tanto de ácido gástrico como de enzimas digestivas. Sin embargo, aun el café descafeinado tiene un potente efecto estimulante en la secreción, lo cual significa que el secretagogo principal en el café no es la cafeína.

Las metilxantinas tienen efectos en el sistema nervioso central (SNC), riñones, músculo cardiaco y esquelético, así como en el músculo liso. En dosis bajas y moderadas, las metilxantinas, en especial la cafeína, produce activación cortical leve con aumento en el estado de alerta y postergan la fatiga. La cafeína contenida en algunas bebidas es suficiente para producir nerviosismo e insomnio en pacientes inusualmente sensibles, y broncodilatación leve en pacientes con asma. ⁽⁶⁾

El origen de las “bebidas energizantes” procede de Australia, y se promueven para provocar efectos de vigilia para las actividades de trabajo o diversión, también para dar energía a los deportistas después de un ejercicio físico extenso o agotador. Aunque el consumo de estas bebidas se dirige a personas entre los 18 y 35 años, su acceso, ha entrado al mercado para “estimular los sentidos”, principalmente de jóvenes con una activa vida nocturna o ejercicio excesivo. La composición de estos productos señala cafeína, taurina, carbohidratos y vitaminas entre otros.

De manera general, estas “bebidas energizantes” disminuyen la absorción del agua en el cuerpo, por lo que estarían contraindicadas en actividades deportivas; la cafeína no solo inhibe la absorción del hierro, sino que una sobredosis podría provocar taquicardia, temblores, náuseas y vómitos. ⁽³⁾

La bebida se llama de esta manera debido a que contiene una cantidad importante de carbohidratos, nutrientes energéticos de primer orden, el mismo que cuando es consumido luego de una actividad extenuante o prolongada puede llegar a reponer los carbohidratos utilizados y la persona sentirá menor fatiga.

La cafeína es un estimulante del sistema nervioso central, y a pesar de que el efecto es temporal, hace sentir al atleta con más “energía”. En estudios de laboratorio, la cafeína a dosis de aproximadamente 6 mg/Kg. de peso corporal ha sido efectiva para mejorar el rendimiento de una persona entre 1 – 20 minutos. Desafortunadamente, estas dosis de cafeína a algunos atletas les producen cefaleas leves y si es ingerida demasiado lejos del ejercicio, la cafeína puede actuar tanto como laxante y como diurético que pueden desmejorar antes que mejorar el rendimiento. Además la dosis de cafeína contenida en las etiquetas de las bebidas energizantes no revela siempre las verdaderas cantidades y puede poner en riesgo al atleta y causarle un dopaje positivo por cafeína en un test de doping.

13.2. Anexo 2.

Resumen de concentración de sustancias específicas en orina que han resultado de pruebas de dopaje:

Para la Oficina del Director Deportivo, en su código anti-doping del movimiento olímpico, se lista un resumen de las concentraciones de sustancias específicas en orina que hacen positiva una prueba de dopaje, la cual se lista a continuación: ^(1 y 2)

Sustancia	Concentración (microgramos /mililitro)
Cafeína	12
Carboxy-THC	15
Catina	5
Efedrina	10
Epitestosterona	200 nanogramos /mililitro
Metilefedrina	10
Morfina	1
19 nonandrosterona	2 nanogramos /mililitros en varones
19 nonandrosterona	5 nanogramos /mililitro en mujer
Fenilpropanolamina	25
Pseudoefedrina	25
Salbutamol (como agente anabólico)	1000 nanogramos /mililitro
T/E ratio	6

En general los tres deportistas que copan los primeros puestos son sometidos a este control. Aparte, se suelen realizar análisis aleatorios. Por ejemplo, en fútbol, dos deportistas de cada equipo sorteados previamente han de pasar por el control.

La sanción mínima requerida por el Comité Olímpico Internacional si se detectan sustancias dopantes son dos años de suspensión si es la primera vez que se detecta. Esto depende de cada deporte y de cada federación.

Cada deporte prohíbe las sustancias que considera que pueden provocar una ventaja injusta del atleta que las utiliza.

Los esteroides anabolizantes ayudan a construir el músculo, por lo que son utilizados en los deportes que requieren fuerza y velocidad, como por ejemplo en los 100 metros lisos. Los beta-bloqueantes reducen la presión sanguínea y ayudan a controlar el movimiento de las manos. Por eso los utilizan generalmente en deportes como el tiro o el arco. Los diuréticos eliminan el exceso de agua del cuerpo. Por ello, los usan los deportistas que participan en competiciones en las que se les organiza dependiendo de su cuerpo (como la lucha, el boxeo, etc.).

El dopaje sanguíneo supone la administración intravenosa de sangre, glóbulos rojos y otros productos de la sangre que permiten elevar el nivel de oxígeno, lo que mejora la capacidad aeróbica del deportista.

La cafeína está prohibida por el Comité Olímpico Internacional. Tomada en ciertas dosis específicas, la cafeína puede elevar el nivel metabólico del atleta, la temperatura corporal, la presión sanguínea y el nivel de glucosa en la sangre. Desgraciadamente, el uso de sustancias artificiales siempre ha tenido lugar en la historia del deporte. La primera evidencia de su uso en la historia se remonta al siglo III antes de Cristo, en los antiguos Juegos Olímpicos. Existe la evidencia que los atletas consumían sustancias que les beneficiaban, tales como champiñones y extractos de plantas.

(4)

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela de Química Farmacéutica
Departamento de Toxicología
Estudio: **“Determinación de cafeína en orina, por el consumo de bebidas energizantes”**

13.3. Anexo 3.

Carta de autorización para realizar el estudio

Guatemala: _____

Nombre del Administrador o persona encargada de Autorizar el permiso.
Nombre del Gimnasio.

Respetable Señor:

De la manera mas atenta me dirijo a usted para solicitar su colaboración en la realización de mi trabajo de tesis titulado “Determinación de cafeína en orina, por el consumo de bebidas energizantes”, de la carrera de Química Farmacéutica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.

Para realizar dicho trabajo de tesis, se pedirá la colaboración de hombres y mujeres que asisten a su institución comprendidos entre 18 y 35 años que acepten donar una muestra de orina para realizar las mediciones correspondientes, para esto se les solicitara a cada participante completar la solicitud de consentimiento informado y una encuesta cuyos modelos adjunto a la presente.

Este trabajo de investigación cuenta con la asesoría del Departamento de Toxicología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, y al ser finalizado, me comprometo a presentarle los resultados a usted y a cada uno de los participantes del estudio y no incluirá el nombre de su institución ni de los participantes.

Sin otro particular, agradezco de antemano el apoyo que puedan brindarme.

Respetuosamente:

Walter Renato Steiger Arévalo
Químico Farmacéutico Carné: 9617590

Vo.Bo.

Licda. Carolina Guzmán
Asesora

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela de Química Farmacéutica
Departamento de Toxicología
Estudio: “**Determinación de cafeína en orina, por el consumo de bebidas energizantes**”

13.4. Anexo 4.

Hoja de consentimiento informado de realización del estudio:

Guatemala _____

1. Datos Generales:

Nombre: _____ Edad: _____

Sexo: _____ Dirección: _____

Peso: _____ Altura: _____

2. Hábitos de Consumo:

Consumo Café: Si ___ No ___ Té Negro: Si ___ No ___ Té Verde: Si ___ No ___

Cantidad de tazas al día: _____

Fuma: Si _____ No _____

Ingiere bebidas alcohólicas: Si ___ No ___

Con que frecuencia: Diario: ___ Cada Semana: ___ Cada 15 días: ___ Cada mes: _____

Estoy dispuesto(a) a participar en el estudio “Determinación de cafeína en orina, por el consumo de bebidas energizantes”, dando para este fin, una muestra de orina cuando me sea solicitada.

Firma: _____

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela de Química Farmacéutica
Departamento de Toxicología
Estudio: **“Determinación de cafeína en orina, por el consumo de bebidas energizantes”**

13.5. Anexo 5.

Hoja de Datos generales y resultados

No: _____ FECHA: _____

Nombre: _____ Edad: _____ Sexo: _____

Dirección: _____

Teléfono: _____ Profesión u Oficio: _____

Enfermedades presenta:

Diabetes: _____ Hipertensión: _____ Hipercolesterolemia: _____

Asma: _____ Artritis: _____ Migraña: _____

Osteoporosis: _____ EPOC: _____

Otras (indique): _____

Medicamentos que consume actualmente:

RESULTADOS

Presión arterial: _____

Frecuencia cardiaca: _____

Concentración de cafeína en orina: _____

13.7. ANEXO 7.

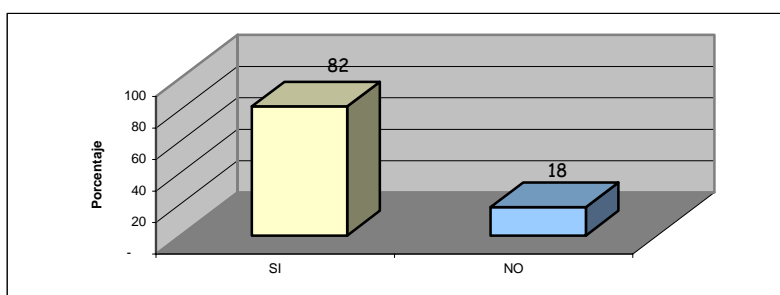
RESULTADOS DE LA ENCUESTA:

13.7.1. ¿Consume café, té negro o té verde diariamente?

TABLA No. 1

		Porcentaje
SI	41	82
NO	9	18
TOTAL	50	100

GRAFICA No. 1



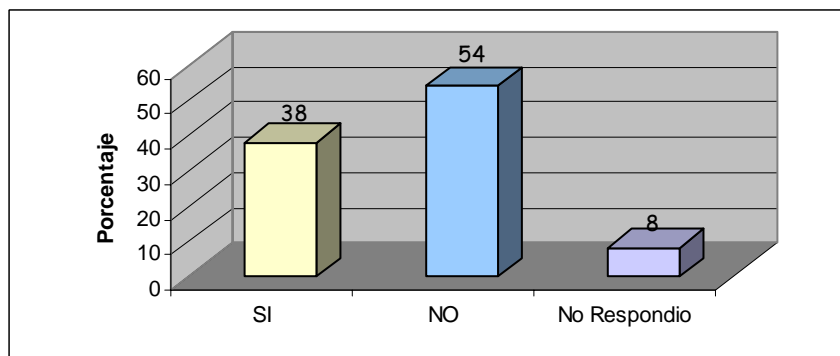
Fuente: Datos experimentales

13.7.2. ¿Sabe de los efectos del café en el organismo?

TABLA No. 2

		Porcentaje
SI	19	38
NO	27	54
No Respondió	4	8
TOTAL	50	100

GRAFICA No. 2



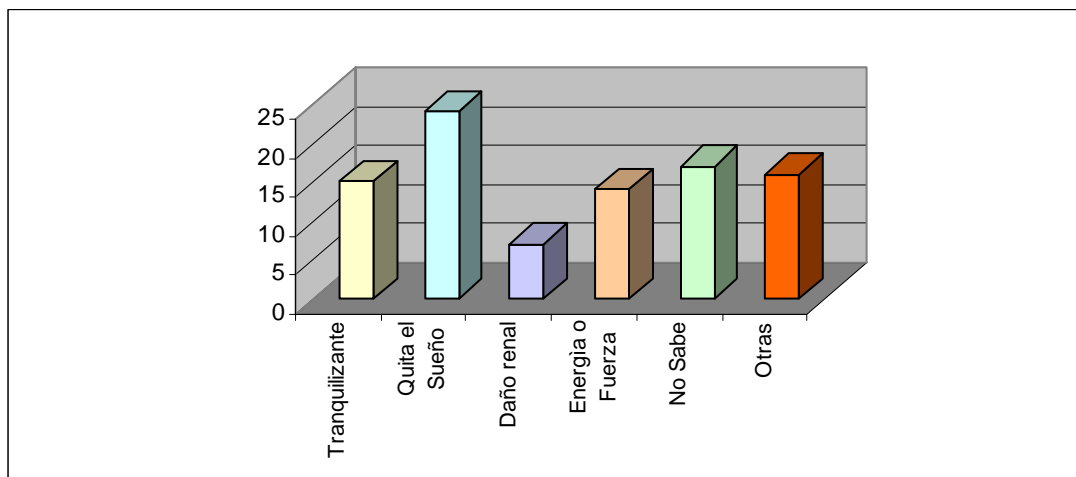
Fuente: Datos experimentales

13.7.3. Mencione al menos 3 efectos que usted conozca de consumir café:

TABLA No. 3

Tranquilizante	15
Quita el Sueño	24
Daño renal	7
Energía o Fuerza	14
No Sabe	17
Otras	16
TOTAL	93

GRAFICA No. 3



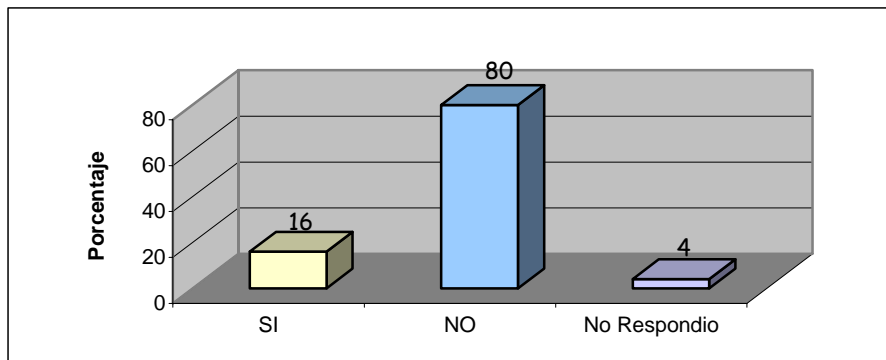
Fuente: Datos experimentales

13.7.4. ¿Alguna vez consumió café antes de hacer ejercicio?

TABLA No. 4

		Porcentaje
SI	8	16
NO	40	80
No Respondió	2	4
TOTAL	50	100

GRAFICA No. 4



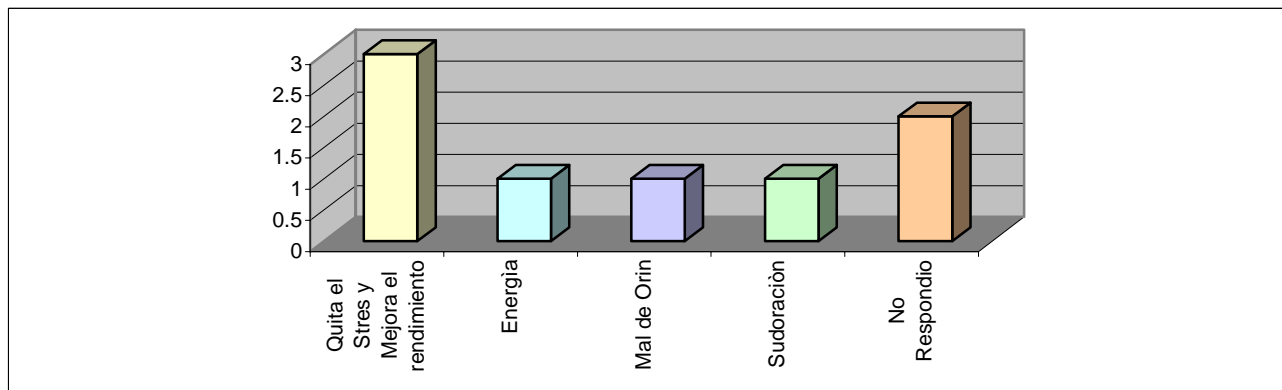
Fuente: Datos experimentales

13.7.5. Si su respuesta a la pregunta 4 es si, indique que efectos le produjo su consumo:

TABLA No. 5

Quita el Estrés y Mejora el rendimiento	3
Energía	1
Mal de Orín	1
Sudoración	1
No Respondió	2
TOTAL	8

GRAFICA No. 5



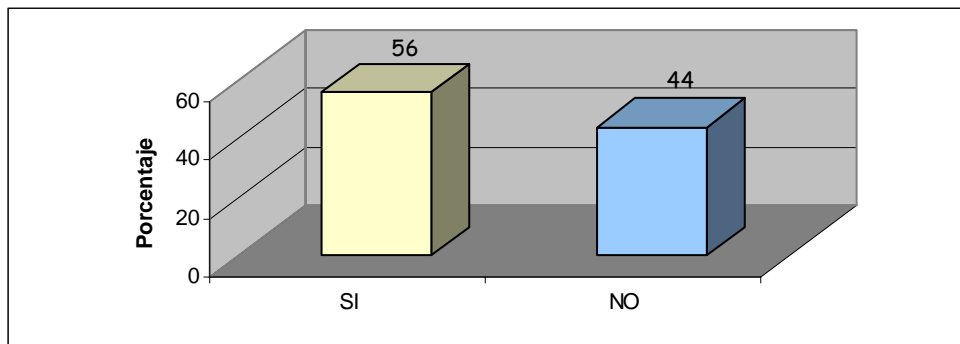
Fuente: Datos experimentales

13.7.6. ¿Conoce lo que es dopaje?

TABLA No. 6

		Porcentaje
SI	28	56
NO	22	44
TOTAL	50	100

GRAFICA No. 6



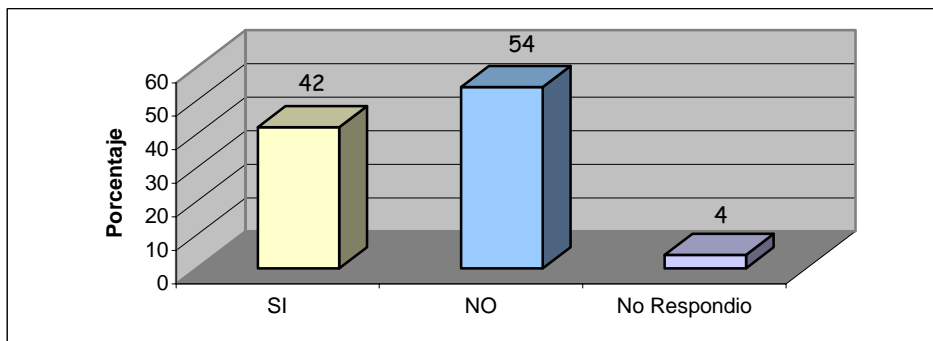
Fuente: Datos experimentales

13.7.7. ¿Ha escuchado o sabe que la cafeína es un agente que esta regulado por el código antidoping?

TABLA No. 7

		Porcentaje
SI	21	42
NO	27	54
No Respondió	2	4
TOTAL	50	100

GRAFICA No. 7



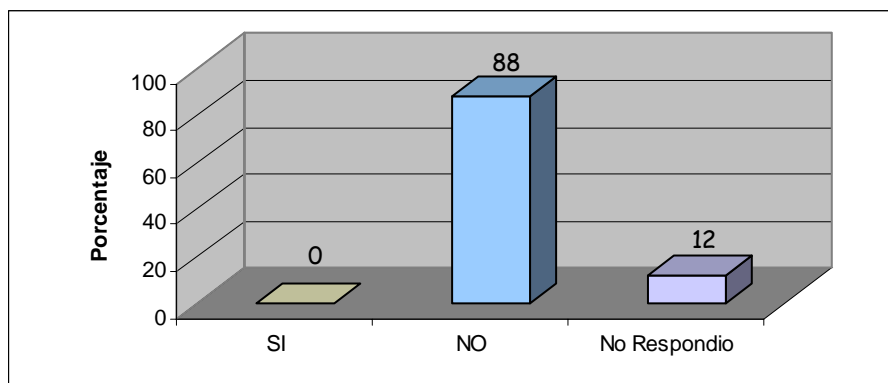
Fuente: Datos experimentales

13.7.8. ¿Sabe cual es el valor de la concentración de café en la orina para que sea producto dopante?

TABLA No. 8

		Porcentaje
SI	0	0
NO	44	88
No Respondió	6	12
TOTAL	50	100

GRAFICA No. 8



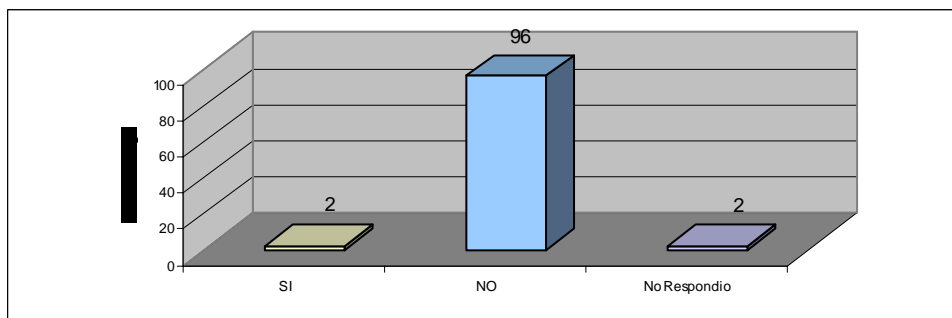
Fuente: Datos experimentales

13.7.9. ¿Sabe los efectos del café en la circulación?

TABLA No. 9

		Porcentaje
SI	1	2
NO	48	96
No Respondió	1	2
TOTAL	50	100

GRAFICA No. 9



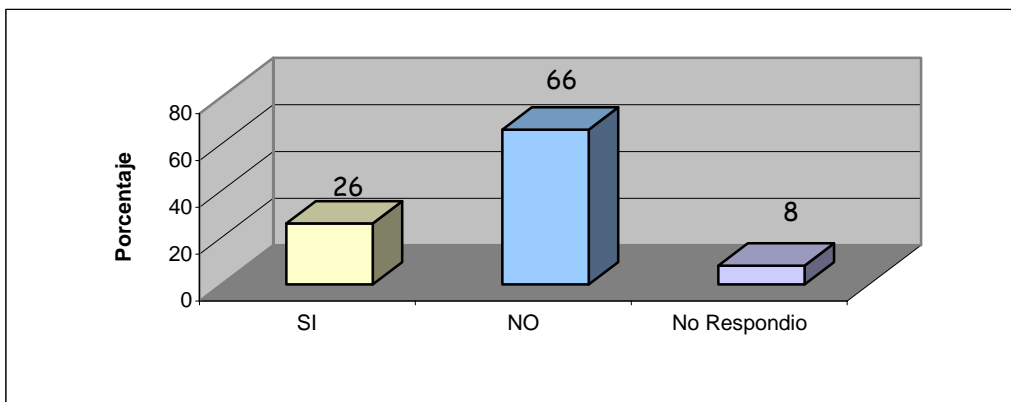
Fuente: Datos experimentales

13.7.10.¿Consume algún producto alimenticio o medicamento que contenga cafeína en su composición?

TABLA No. 10

		Porcentaje
SI	13	26
NO	33	66
No Respondió	4	8
TOTAL	50	100

GRAFICA No. 10



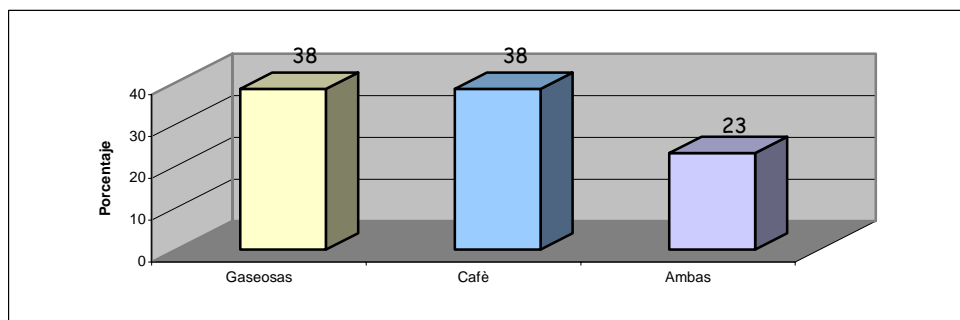
Fuente: Datos experimentales

13.7.10.1.¿Cual alimento o medicamento consume?

TABLA No. 10.1

		Porcentaje
Gaseosas	5	38
Café	5	38
Ambas	3	23
TOTAL	13	99

GRAFICA No. 10.1



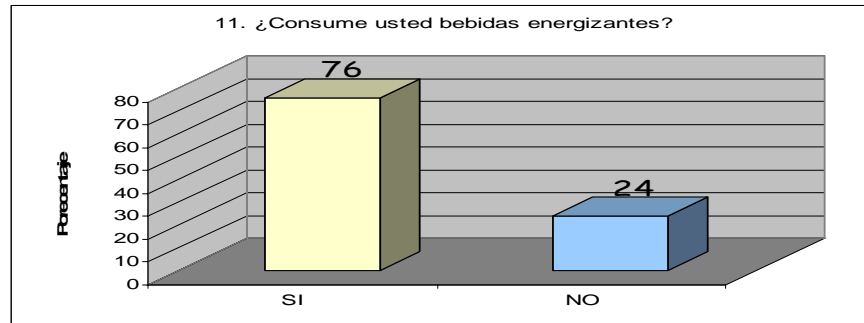
Fuente: Datos experimentales

13.7.11. ¿Consume usted bebidas energizantes?

TABLA No. 11

		Porcentaje
SI	38	76
NO	12	24
TOTAL	50	100

GRAFICA No. 11



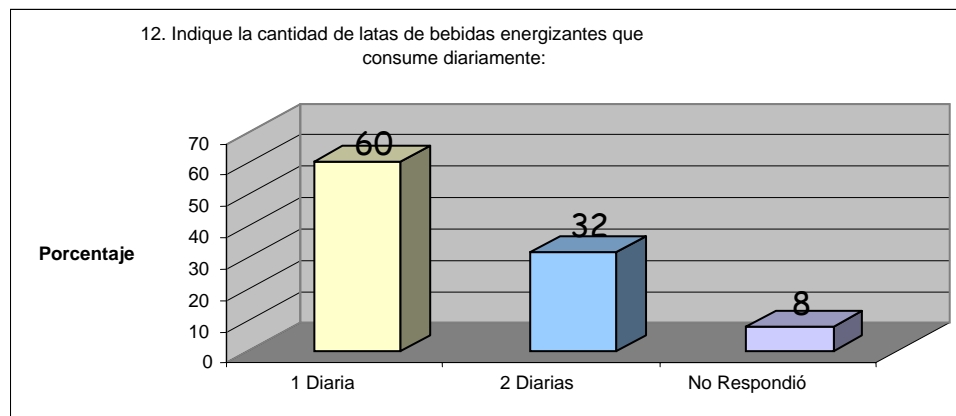
Fuente: Datos experimentales

13.7.12. Indique la cantidad de latas de bebidas energizantes que consume diariamente:

TABLA No. 12

		Porcentaje
1 Diaria	23	60
2 Diarias	12	32
No Respondió	3	8
TOTAL	38	100

GRAFICA No. 12



Fuente: Datos experimentales

ANEXO 8.

Folleto Bebidas Energizantes, efectos a la salud.

ANEXO 9.
Resultados análisis por HPLC

Br. Walter Renato Steiger Arévalo

Licda. Carolina Guzmán Quilo
Asesora

Lic. Oscar Federico Nave Herrera
Co - asesor I

Licda. Alma Lucrecia Martínez Cano de Hasse
Revisora

Lic. Estuardo Serrano Vives.
Director de la Escuela de Química Farmacéutica
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Dr. Oscar Manuel Cobár Pinto
Decano
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia