

Cuantificación de aspartamo y cafeína en diferentes bebidas dietéticas y un energizante

Nombre: Mateo Jaime

Asignatura: Biorgánica, Introducción al
Análisis Químico y General III

Docentes: Gatto. A, Britos. R, Alvarez. P

Grupo: 3° BG

Fecha: 30/10/2018

Índice:

Parte teórica:

Resumen _____	Pág 1
Abstract _____	Pag 1
Introducción _____	Pág 1
Objetivos _____	Pág 2
Pregunta investigable _____	Pág 2
Hipótesis _____	Pag 2
Marco teórico _____	Pág 3 – Pág 11

Parte experimental:

Materiales y sustancias _____	Pág 12
Procedimiento y Tratamiento de Datos _____	Pág 12 – Pág 15
Resultados _____	Pág 16 – Pág 19
Análisis de resultados _____	Pág 20 – Pág 21
Conclusiones _____	Pág 22
Anexos _____	Pág 22 - 24
Referencias bibliográficas _____	Pág 24

Resumen:

Los alimentos dietéticos constituyen una alternativa de alimentación para la población, ya que estos aseguran poseer cualidades nutricionales benéficas para la misma; encontrándose los mas representativos en bebidas dietéticas carbonatadas.

Sin embargo existen algunos estudios que hablan sobre posibles efectos dañinos que pueden causar los edulcorantes artificiales con lo que se endulzan dichas bebidas, siendo uno de los mas populares el aspartamo.

En ésta investigación se determino la concentración de aspartamo y cafeína en diferentes bebidas dietéticas y un energizante mediante el método de cromatografía líquida, realizado utilizando UHPLC (Ultra-High performance liquid chromatography). La concentración obtenida de aspartamo y cafeína en las distintas bebidas dietéticas analizadas fue comparada con la norma general establecida por la Codex que especifica las concentración máxima admitida de estos aditivos en bebidas, el resultado de esta comparación fue que las bebidas dietéticas analizadas cumplan con la normativa de la codex tanto para el aditivo aspartamo como cafeína.

Abstract:

The dietetic foods constitute an alternative of feeding for the population, since these ensure to possess nutritional qualities beneficial for the population; being the most representative in carbonated diet drinks.

However, there are some studies that talk about the possible harmful effects that artificial sweeteners, which are present in these drinks, can cause. One of the most popular being aspartame.

In this research was determined the concentration of aspartame and caffeine in different dietary beverages and an energizer. The concentration was determined using the liquid chromatography method, using UHPLC (Ultra-High performance liquid chromatography). The concentration obtained of aspartame and caffeine in the different dietary beverages analyzed was compared with the general norm established by the Codex, that specifies the maximum allowed concentration of these additives in beverages, the result of this comparison is that the analyzed dietary beverages comply with the regulations of the codex for both the additive; aspartame and caffeine.

Introducción:

Este proyecto parte debido a una inquietud respecto a que algunas marcas de bebidas dietéticas no poseen información aproximada de la concentración de este aditivo, debido las controversias que hay respecto al aspartamo decidí analizar que la concentración de dicho aditivo alimentario cumpla con la especificación de la norma general de Codex, la cual especifica que el aspartamo debe estar presente en las bebidas carbonatadas de dieta a una concentración máxima de 600 mg/kg de alimento.

Respecto a las sospechas sobre efectos cancerígenos por parte del aspartamo es que este posee una IDA (ingesta diaria admitida) de 40 mg/kg de masa, debido a este valor de IDA es que surge otro objetivo en la investigación, el cual es realizar encuestas en el departamento de Canelones y sus alrededores para determinar cuál es el

consumo diario aproximado de bebidas dietéticas por parte de personas encuestadas en esta zona y poder decir si hay o no casos de personas que sin saberlo sobrepasan la ingesta diaria de este aditivo.

Por parte de la cafeína, el Reglamento N° 3634/2005 ANMAT del CAA (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica) establece un límite máximo de cafeína en bebidas refrescantes de 200 mg/L un exceso en la dosis (más de 500-600 mg diarios) puede producir reacciones adversas como nerviosismo, ansiedad, irritabilidad, insomnio, dolor de cabeza, taquicardia, arritmia y problemas gastrointestinales por lo que se procederá igual que en el caso de el aspartamo, luego de cuantificar la cafeína se realizan encuestas para determinar si las personas sobrepasan o no la dosis diaria máxima.

Objetivo:

- Determinar la concentración de aspartamo en diferentes bebidas dietéticas.
- Determinar la concentración de cafeína en diferentes bebidas dietéticas y en una bebida energizante.
- Realizar encuestas para determinar la ingesta diaria aproximada de energizantes y bebidas dietéticas por parte de personas encuestadas en el departamento de Canelones.
- Comparar los resultados obtenidos con las respectivas normas que rigen la concentración de aspartamo y cafeína en bebidas.

Pregunta investigable:

¿Cómo varía la concentración de aspartamo y cafeína en diferentes bebidas dietéticas y un energizante?

Mi variable dependiente es la concentración de aspartamo y cafeína, en otras palabras es lo que mido en el experimento. Mientras que la variable independiente es la bebida, los diferentes tipos de bebidas dietéticas y el energizante en el que se realiza el ensayo.

Hipótesis:

La concentración de aspartamo en algunas de las bebidas estudiadas está muy cercana o por encima del máximo admitido, mientras que en el caso de la bebida energizante la cafeína sobrepasa el máximo admisible de concentración.

Al determinar la ingesta diaria de personas encuestadas en Canelones se obtendrá que algunos de los encuestados sobrepasa la IDA tanto para aspartamo como para cafeína por parte de bebidas.

Marco teórico:

Alimentos light:

Constituyen una categoría de alimentos especialmente diseñados para personas bajo regímenes especiales de alimentación; en estos alimentos se introduce una modificación en el contenido de nutrientes (Kantor, 1990). Estos alimentos son definidos como “bajos en contenido de grasas”, “sin azúcar” o simplemente “light”.

Si existe un alimento de referencia para su comparación; poseen por lo menos 30 % menos del contenido de energía o del contenido de nutrientes, del que reporta el producto de referencia; y si la etiqueta del mismo especifica la característica que lo hace light. En esta categoría de alimentos, el menor índice de calorías se logra al reducir o sustituir alguno de los componentes del alimento de referencia. Por ejemplo, se disminuye la cantidad de hidratos de carbono (glúcidos), o los mismos se sustituyen por edulcorantes no nutritivos; o se reduce el aporte de grasas empleando sustitutivos de la grasa (Fundación Eroski, s.f.). En esta investigación se trabaja con bebidas carbonatadas light.

Bebidas carbonatadas:

Las bebidas carbonatadas, no alcohólicas, se consideran un líquido burbujeante y refrescante al que se le ha adicionado cierta mezcla de ingredientes con el objetivo de satisfacer las preferencias de las personas que las consuman. Popularmente se les conoce como refrescos o gaseosas (Sandoval, 2006).

Bebidas carbonatadas dietéticas:

Son aquellas que poseen menos de 5 Cal por cantidad de referencia o porción. Una bebida carbonatada dietética no cola, provee una energía de 0 Cal, mientras que una bebida carbonatada dietética tipo cola provee 2 Cal. Su elaboración es a base de edulcorantes no nutritivos, como el aspartamo (Sandoval, 2006 ; Morales, 2007; Menchú & Méndez, 2007).

La siguiente tabla indica las bebidas dietéticas a analizar y los respectivos edulcorantes con los que son endulzadas

Bebida	Aspartamo	Acesulfame-K	Sucralosa	Estevia
Fanta guarana cero	✓	✓	✗	✗
H ₃ OH! Lima limon	✓	✓	✗	✗
Aquarius cero	✗	✓	✓	✗
Salus frutte cero	✗	✓	✓	✓
Fanta naranja cero	✓	✓	✗	✗
Sprite cero	✓	✓	✗	✗
Coca-cola sin azucar	✓	✓	✗	✗
Coca-cola light	✓	✓	✗	✗
Schweppes pomelo	✓	✓	✗	✗
Paso de los toros	✓	✓	✗	✗
Pepsi light	✓	✓	✗	✗

Tabla 1- Bebidas dietéticas a analizar y sus respectivos edulcorantes

Edulcorantes:

Son sustancias que imparten un sabor dulce al alimento, pueden clasificarse en dos categorías:

Edulcorantes nutritivos:

Son sustancias que tienen más del 2 % del valor calórico de la sacarosa por cada unidad equivalente en su capacidad edulcorante. Dentro de los edulcorantes nutritivos comunes se encuentra los azúcares refinados, el jarabe de maíz, la fructosa cristalina, la glucosa, la dextrosa, la lactosa, la maltosa y los polioles de baja energía o alcoholes del azúcar (p.ej. sorbitol, manitol, xylitol, etc.); éstos últimos son llamados los edulcorante masivos o que dan cuerpo (Morales, 2007).

Edulcorantes no nutritivos:

Son sustancias que tienen 2 % o menos del valor calórico de la sacarosa por cada unidad equivalente en su capacidad edulcorante. La dulzura de los edulcorantes no nutritivos varía entre 30 y 3,000 veces más que la sacarosa, por lo que se utilizan en cantidades diminutas para incrementar el sabor dulce de los alimentos (Morales, 2007).

Los edulcorantes artificiales son ampliamente utilizados en la industria de alimentos, bebidas, industria confeccionaría y farmacéutica a través del mundo. Los objetivos principales de usar edulcorantes en alimentos y bebidas son: el tratamiento de la obesidad, el mantenimiento del peso corporal, el control de la diabetes y la reducción de caries dentales (Morales, 2007).

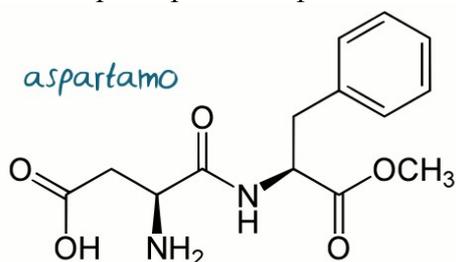
Dentro de los edulcorantes no nutritivos comunes se encuentran el aspartame, acesulfame-K, sucralosa y sacarina (Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company, s.f.).

Esta investigación esta centrada en el aspartamo.

Aspartamo:

Fue descubierto en 1965 por el químico James Schlatter de la compañía G.D. Searle and Co, el científico estaba haciendo investigaciones con aminoácidos y trabajando para desarrollar un tratamiento para las úlceras gástricas. Al pasar la lengua por su dedo para escoger un pedazo de papel, degustó un sabor dulce y agradable. (Voet, Voet, y Pratt, 2007). Es un dipeptido formado por una subunidad de ácido aspártico (Asp) y una de fenilalanina (Phe).

Dado que la Phe incluida se absorbe con facilidad, el aspartamo representa un factor de riesgo para las personas con fenilcetonuria. Los productos con aspartamo, que se comercializan llevan una etiqueta con una advertencia; “Cuidado fenilcetonuricos, contiene fenilalanina”. El aspartamo tiene un sabor agradable pero es sobre todo inestable, se usa principalmente para endulzar las bebidas “dietéticas”. (Hans y Grimm, 2007)



Aunque generalmente se usa como un edulcorante intenso, el aspartame en realidad proporciona calorías, como lo hace la sacarosa (azúcar de mesa) y otros componentes de los alimentos. Sin embargo, dado que el aspartamo es aproximadamente 200 veces más potente que la sacarosa, se necesita sólo 1/200 de una cucharadita para reemplazar cada cucharadita de sacarosa en un alimento o una bebida. Por ende, aunque el aspartame proporciona la misma cantidad de calorías que una cantidad de azúcar de mesa similar en masa (16 calorías por cucharadita), se necesita tan poco para endulzar alimentos y bebidas que el aporte de calorías es insignificante (Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company).

Preocupaciones:

Existe una fuerte controversia en cuanto a la seguridad que representa el consumo de aspartamo, entre las preocupaciones derivadas por el uso del edulcorante. (Mortensen 2006), indica que el aspartamo es metabolizado en el cuerpo en sus tres componentes: 50 % fenilalanina, 40% ácido aspártico y 10 % alcohol metílico o metanol, siendo este último agregado en el proceso de manufactura. Blatter, citado por Sales y Cardeal (2003), indica que el metanol es extremadamente tóxico, es fácilmente absorbido después de la ingestión, inhalación o exposición dermal y metabolizado por el hígado a formaldehído (Morales, 2007).

Soffritti, et al. (2,006) del Instituto Ramazzini de Bolonia, Italia, estudió 7 grupos de ratas que fueron alimentadas administrándoles concentraciones de 0 a 100,000 ppm de aspartamo en la dieta. Fueron alimentadas desde la semana 8 de vida hasta que se produjo la muerte natural. Las ratas fallecidas fueron sometidas a una biopsia completa para revisar el estado de sus órganos. Como resultado observaron por primera vez de forma experimental que, el aspartamo aumenta la incidencia de tumores malignos, incrementa la

aparición de linfomas y leucemias, aumenta la incidencia de carcinomas de pelvis renal y uréteres; y por último, aumenta la incidencia de Schwannomas de nervios periféricos. Por lo tanto, según la fundación Ramazzini el aspartamo es un compuesto multicancerígeno, donde los efectos son evidentes en una dosis diaria de 20 mg/kg de masa corporal, mucho menor que el actual consumo diario aceptable de 40 mg/kg y 50 mg/kg de masa corporal para Europa y Estados Unidos respectivamente (Morales, 2007).

Fenilalanina:

Es un aminoácido esencial, que forma parte de la estructura de ciertas proteínas. Por ello, los alimentos como el pescado, las lentejas, algunos productos lácteos y en general la carne, son una fuente de fenilalanina. Los seres humanos no pueden sintetizar la fenilalanina en su organismo, es por ello que necesitan consumirla en los alimentos para su buen funcionamiento biológico.

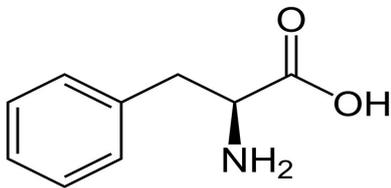


Ilustración 1- Fenilalanina

Fenilcetonuria:

“Existen diversas variantes de este error congénito del metabolismo, que afectan a 1 de cada 10000 lactantes de raza blanca nacidos. La forma más común, llamadas fenilcetonuria clásica, es frecuente en personas de origen escandinavo, mientras que es característicamente inhabitual en las poblaciones afroamericanas y judíos”. (Cotran, Robbins, Kumar y Collins, 1999)

“La fenilcetonuria (FCN) es un trastorno recesivo causado por carencia de la enzima fenilalanina hidroxilasa (PAH) y la consiguiente hiperfenilalaninemia. Los lactantes afectados son normales al nacer, pero en pocas semanas sufren un aumento de las concentraciones plasmáticas de fenilalanina, que altera el desarrollo cerebral, en general, el retraso mental grave se hace evidente a los 6 meses de vida. Menos del 4% de los niños con FCN no tratados alcanzan un CI superior a 50-60. Un tercio de estos nunca consigue caminar y dos tercios nunca logran hablar”. (Cotran, Robbins, Kumar y Collins, 1999)

La hiperfenilalaninemia se evita evitando la ingesta de fenilalanina desde el principio de la vida, por ello se aplican diversos métodos de detección selectiva para la detección de la FCN en el período post natal inmediato. La alteración bioquímica en la FCN es la incapacidad de convertir fenilalanina (aminoácido esencial) en tirosina. La falta concomitante de tirosina, un precursor de la melanina, es responsable del color claro del pelo y la piel de las personas con FCN (Cotran, Robbins, Kumar y Collins, 1999)

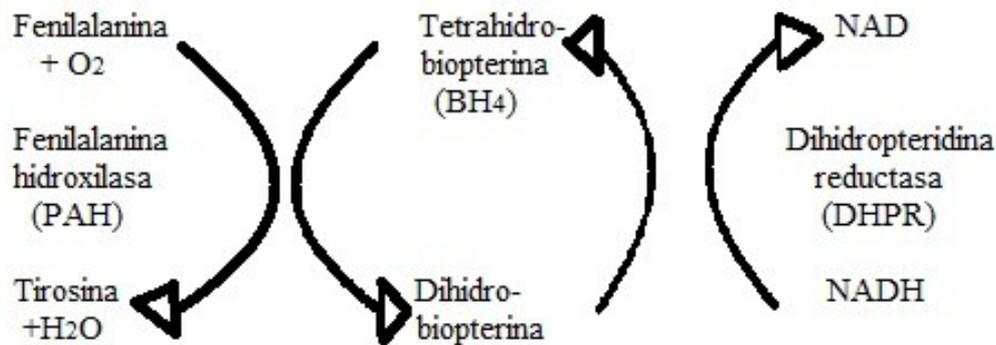


Ilustración 2-

Los fenilcetonúricos conocen los alimentos naturalmente altos en proteína que deben evitar. Pero existe otro grupo de alimentos que contienen fenilalanina de una manera menos obvia. Por ejemplo, el aspartamo es un aditivo que se utiliza como edulcorante en alimentos como goma de mascar, refrescos y como excipiente en algunos fármacos. Las personas no tiene forma de conocer la presencia de fuentes de fenilalanina cuando son adicionadas a los alimentos. Por esto los productos que contiene aspartamo u otras fuentes de fenilalanina deben llevar una leyenda advirtiendo su presencia. (Cotran, Robbins, Kumar y Collins, 1999).

Cafeína:

“Es un constituyente natural presente en más de 60 especies de plantas. Se encuentra en la dieta diaria contenida en bebidas como el café o el té, el chocolate y algunos refrescos. Se podría considerar la sustancia estimulante de mayor consumo y la más socialmente aceptada a nivel mundial.

Es un polvo inodoro, incoloro y amargo. Friedrich Ferdinand Runge la aisló del café en 1819 y del té en 1827, pero su estructura química no se describió hasta 1875 por E. Fischer. La cafeína (1,3,7-trimetilxantina) y los otros alcaloides metilxantínicos, como la teobromina (3,7- dimetilxantina) y la teofilina (1,3-dimetilxantina), son derivados del grupo de las xantinas, que a su vez se derivan de las purinas. Se relacionan farmacológicamente con los psicoestimulantes”. (Alvarez, Barral y Farré, 2007)

“En general, no existe una clara evidencia que el consumo moderado de cafeína cause un riesgo significativo para la salud en adultos sanos”.(Alvarez, Barral y Farré, 2007).

La cafeína estimula la secreción ácida gástrica y la actividad colónica. No está clara la asociación del uso de cafeína con las úlceras gástricas o duodenales. Sin embargo, el consumo de café exagera el reflujo gastroesofágico, aunque este efecto podría estar causado por otros constituyentes del café diferentes a la cafeína. (Alvarez, Barral y Farré, 2007).

“En la población infantil y adolescente provoca cefalea diaria crónica, o incluso migraña sin aura, que desaparece al disminuir o cesar la ingesta”. (Alvarez, Barral y Farré, 2007).

“La cafeína puede ocasionar ansiedad, crisis de angustia, abstinencia, dependencia y alteración del sueño, además puede alterar las funciones de control del ciclo celular y varios mecanismos de reparación del ADN,

pudiendo aumentar o antagonizar la exposición de potenciales mutagénicos y carcinógenos”. (Alvarez, Barral y Farré, 2007).

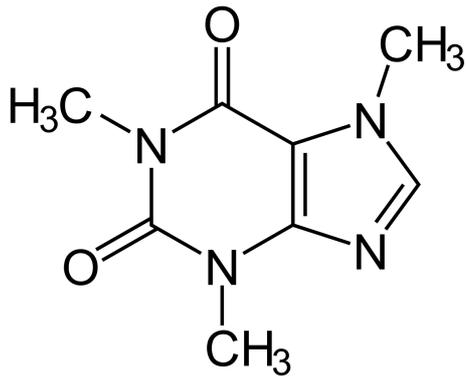


Ilustración 3- 1,3,7- trimetilxantina
1,3,7-trimetil2,6-dioxipurina.
(Cafeína)

-El método mediante el cual se hace la cuantificación en esta investigación es la cromatografía.

Cromatografía:

Es una técnica capaz de separar componentes o sustancias integrantes de una mezcla en base a diferencias de su afinidad por una fase estacionaria y una móvil.

ITS BUCEO (2010)

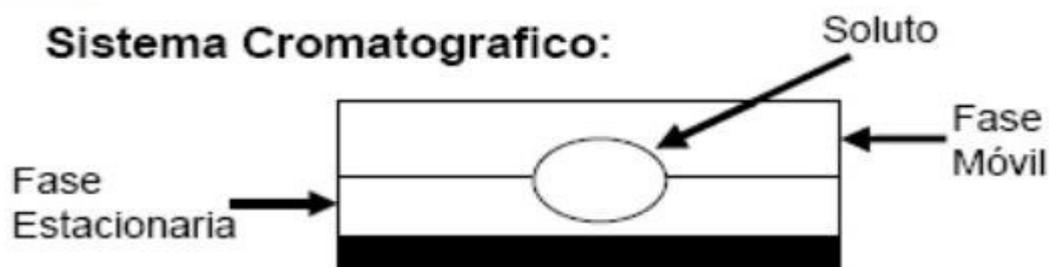


Ilustración 4 Sistema cromatográfico

Fase estacionaria: Es la fase que permanece inmóvil, unida o contenida por un medio físico, en la cual el analito se reparte transportado por la fase móvil. (ITS BUCEO 2010). **Fase móvil:** Es la fase que se desplaza o fluye a través de la fase estacionaria, y transporta a los analitos contenidos en la muestra. En este caso la fase estacionaria utilizada está compuesta por acetonitrilo y agua ultra pura con 1 % de ácido fórmico, el objetivo de esta adición de ácido fórmico es el aporte de un pH ácido. (ITS BUCEO, 2010)

Proceso físico-químico que rige la separación:

Adsorción: El soluto se adsorbe en la superficie de las partículas sólidas de la fase estacionaria. Es un fenómeno superficial, aumentado con la formación de enlaces de hidrógeno. (ITS BUCEO, 2010).

Partición: El soluto se equilibra entre el líquido de la fase estacionaria y la fase móvil, por diferencia de solubilidad, hasta llegar a un equilibrio. (ITS BUCEO, 2010).

En esta investigación se utiliza cromatografía líquida para la determinación de la concentración de aspartamo y cafeína.

Cromatografía líquida:

“La cromatografía líquida de alta eficacia se encuentra dentro de la cromatografía de elución. En esta un líquido (fase móvil) circula en íntimo contacto con un sólido u otro líquido inmisible (fase estacionaria); al introducir una mezcla de sustancias (analitos) en la corriente de la fase móvil, cada analito avanzará a lo largo del sistema con una velocidad diferente que dependerá de su afinidad por cada una de las fases. Esto supone que después de terminado el recorrido de la muestra por la columna, cada una de las sustancias introducidas en el sistema eluirá con un tiempo diferente, es decir, separadas”. HPLC-2011 (2018)

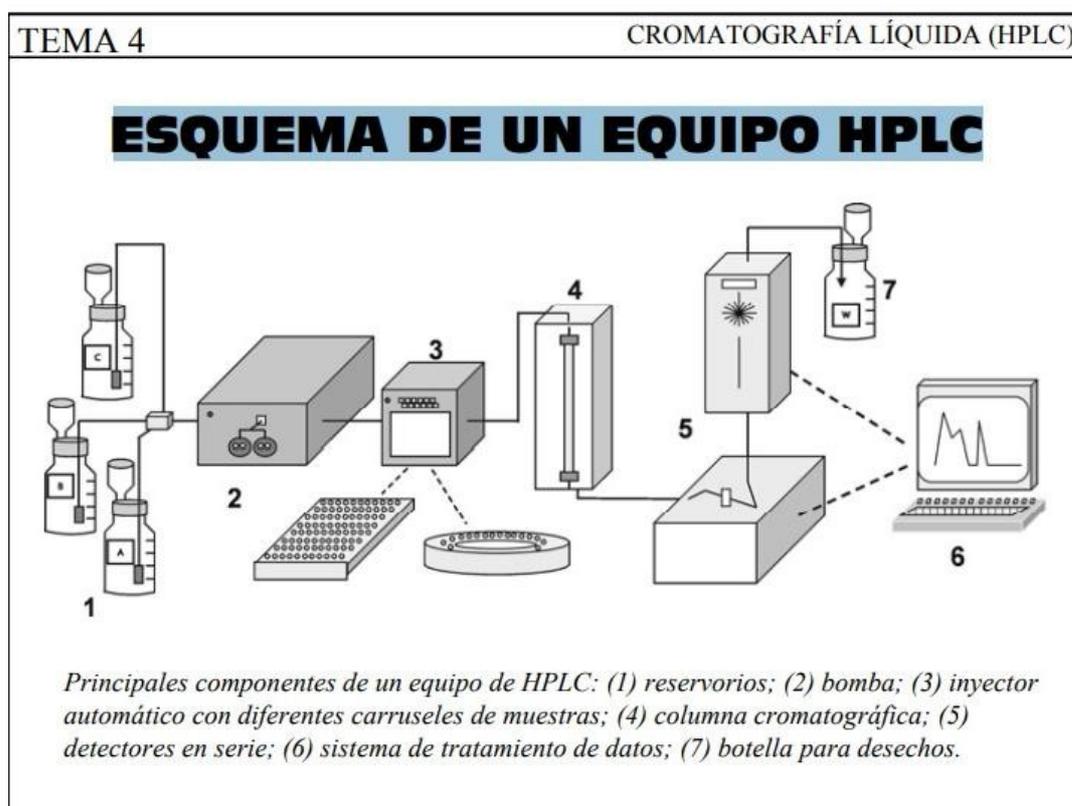


Ilustración 5-Esquema de un equipo HPLC, HPLC-2011 (2018)

Detectores:

En este caso el equipo utilizado está conectado a un espectrómetro que mide la absorción de radiación ultravioleta.

Fundamento:

“Cuando se hace pasar una radiación electromagnética a través de compuestos que presentan determinados grupos funcionales, estos experimentan una excitación electrónica a causa de la absorción de energía, a una longitud de onda que será específica para cada grupo funcional. Esta energía, provoca el paso de un electrón desde el estado fundamental hasta un nivel de energía superior. La absorción de energía se traduce en una disminución de la intensidad del haz luminoso que se ha hecho pasar a través de la muestra, pudiéndose medir esta disminución de intensidad haciendo incidir el haz sobre una fotocélula.

En estos detectores de absorción ultravioleta, la línea base representa la máxima transmisión de luz, y cualquier desviación de ella indica pérdida o absorción de radiación.

La utilización de la absorción de luz ultravioleta o visible para el control de una corriente líquida y analizar los distintos componentes que lleva en solución es una extensión natural de la espectrofotometría.

El equipo utilizado emite radiación en todas las longitudes de onda, pero solo deriva la longitud en la que se da la máxima absorbancia". HPLC-2011 (2018)

Esquema del proceso de separación:

“La mezcla de analitos se representa por puntos azules, morados y rojos, que se introducen de manera conjunta en la columna que contiene una fase estacionaria de fase reversa no polar. Las flechas rojas representan la dirección del flujo de la fase móvil. Cuando la mezcla de analitos mixtos entran en la columna, la fase móvil empuja los analitos por la columna. A medida que avanzan entran en contacto con la fase estacionaria. Los analitos que tengan una mayor afinidad por la fase estacionaria (puntos azules) serán retenidos más fuertemente y eluirán más tarde en la carrera. Por lo tanto, puede separar los analitos basándose en la intensidad con la que interactúan con la fase estacionaria” Dr.Ramkumar Dhandapani (2011)

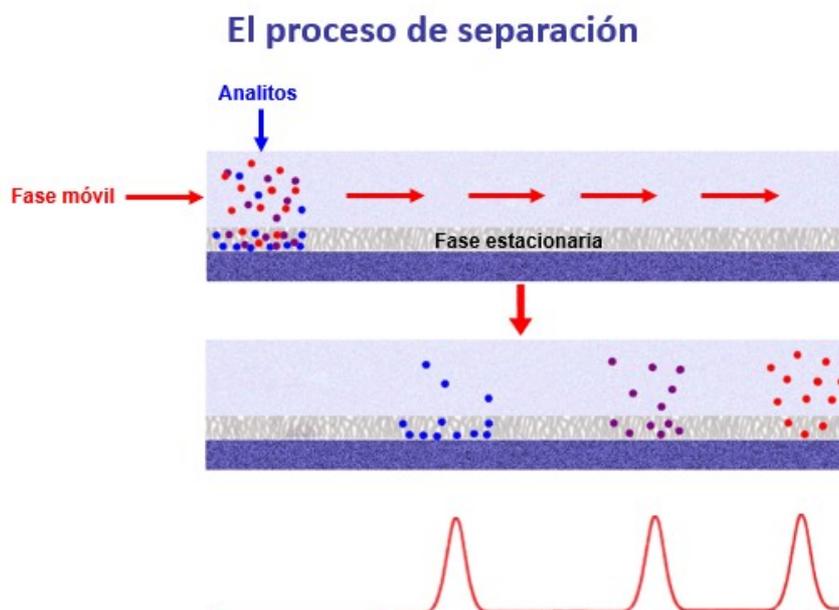


Ilustración 6- Proceso de separación.

Carácter social de la investigación:

Este recae en la falta de información por parte de la población en general respecto a que los alimentos endulzados con edulcorantes artificiales, en este caso las bebidas, poseen parámetros de consumo que no se deberían sobrepasar, se realizaron encuestas en las que se determinó que la mayoría de la población no sabe que existen estos mencionados parámetros para las bebidas, esto puede generar problemas como sobrepasar el máximo de dosis diaria para algunos edulcorantes y que esto traiga consecuencias a futuro para la persona.

Encuesta:

La misma se realizará en el departamento de Canelones, se harán las siguientes preguntas a 30 personas de entre 18-60 años.

Fecha:

Edad:

Peso aproximado:

1) ¿Usted consume bebidas carbonatadas y/o energizantes? En caso de sí para bebidas carbonatadas:

2) ¿Consumes bebidas comunes o dietéticas (light)?

En caso de que consuma comunes y no dietéticas continúo pregunta n°4

Continuaré con las preguntas referidas a bebidas si la persona posee algún consumo de bebidas dietéticas.

3) ¿Cuál es su consumo aproximado de estas bebidas en los días lunes-viernes? ¿Y en los días sábado y domingo?

En caso de sí para energizantes:

4) ¿Cuál es su consumo aproximado de este energizante en los días lunes-viernes? ¿Y en los días sábado y domingo?

5) Usted sabe algo acerca de los parámetros de consumo que están establecidos para los edulcorantes en el caso de las bebidas dietéticas y la cafeína en caso de los energizantes que ingiere?

Parte ética de la investigación:

La mayor cuestión ética de este proyecto yace en las investigaciones que afirman el aspartamo posee propiedades multicancerígenas, se está ante un constante choque entre investigadores, un grupo apoya el aspartamo como edulcorante sintético mientras que otro lo ataca fundamentándose con los experimentos anteriormente mencionados, ahora lo interesante de todo esto es que a pesar de estas controversias el aspartamo se continúa utilizando como principal edulcorante de bebidas dietéticas (entre otros) es decir que no se tiene en cuenta que la población puede estar consumiendo un aditivo nocivo para su salud y aun así este se expende y es consumido por la población. Esto se debe al gran peso económico que posee la industria alimenticia y como este influye en las decisiones en cuanto a lo que está permitido y no consumir.

En conclusión se destaca que es poco ético por parte de las unidades reguladoras (como por ejemplo Codex y CAA) permitir el consumo público de un aditivo (aspartamo) de el que aún se desconocen sus efectos sobre el ser humano.

Parte experimental:

Materiales:

- Probeta de 500 mL
- Matraz de kitasato
- Bomba de vacío
- Tubo Falcon de 25 mL
- Filtro para jeringa de 0,45 μm
- Jeringa desechable de 1 mL
- PH-metro
- Pipeta automática de 1000 μL
- Matraz aforado de 100 mL
- UHPLC

Sustancias:

- Acetonitrilo.
- Ácido fórmico.
- Agua ultra pura.
- Aspartamo patrón.
- Cafeína patrón.

Procedimiento:

Se prepara solución estándar con aspartamo y cafeína patrón, de dicha solución se realizan las tomas para las diluciones de la curva de calibración.

Tratamiento de datos:

Solución estándar de cafeína:

1-Realizar una toma en masa de cafeína de aproximadamente 0,1000 g, anotar dicha toma.

2-Transvasar el sólido a un matraz aforado de 100 mL.

3-Disolver y llevar a aforo utilizando agua ultra pura. Importante homogeneizar.

-Se realiza una toma en masa de 0,1000 g de cafeína, se disuelve en 100 mL por lo cual su concentración es de 1000 ppm

$$C \text{ ppm} = \frac{m \text{ soluto (mg)}}{V \text{ solución (L)}} = \frac{100 \text{ mg (cafeína)}}{0,100 \text{ L (Agua)}} = 1000 \text{ ppm}$$

Solución estándar de aspartamo:

1-Realizar una toma en masa de 0,0130 g, anotar dicha toma.

2-Transvasar el sólido a un matraz aforado de 25 mL.

3-Disolver el sólido y llevar a aforo utilizando agua ultra pura. Importante homogeneizar.

-La toma en masa es de 0,0137 g, la concentración de aspartamo obtenida al disolver el sólido en 25 mL es de 548 ppm.

$$C \text{ ppm} = \frac{m \text{ soluto (mg)}}{V \text{ solución (L)}} = \frac{13,7 \text{ mg (cafeína)}}{0,025 \text{ L (Agua)}} = 548 \text{ ppm}$$

-Se establecen las concentraciones para realizar la curva de calibración de cafeína y aspartamo, la misma constará de 5 puntos. Las concentraciones de los puntos son respectivamente

10 ppm – 30 ppm – 50 ppm – 70 ppm -90 ppm

Cálculos para las diluciones partiendo de una solución estándar de 1000 ppm para cafeína y 548 ppm para aspartamo. El volumen final de las soluciones es de 1000 μL

Cafeína:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

-Solución de 10 ppm:

$$\text{Volumen}_{[C=10\text{ ppm}]} = \frac{1000 \mu\text{L} \cdot 10 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$\text{Volumen}_{[C=10 \text{ ppm}]} = 10 \mu\text{L}$$

-Solución de 30 ppm:

$$\text{Volumen}_{[C=30 \text{ ppm}]} = \frac{1000 \mu\text{L} \cdot 30 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$\text{Volumen}_{[30 \text{ ppm}]} = 30 \mu\text{L}$$

-Solución de 50 ppm:

$$\text{Volumen}_{[C=50 \text{ ppm}]} = \frac{1000 \mu\text{L} \cdot 50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$\text{Volumen}_{[C=50 \text{ ppm}]} = 50 \mu\text{L}$$

-Solución de 70 ppm :

$$\text{Volumen}_{[C=70 \text{ ppm}]} = \frac{1000 \mu\text{L} \cdot 70 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$\text{Volumen}_{[C=70 \text{ ppm}]} = 70 \mu\text{L}$$

-Solución de 90 ppm :

$$\text{Volumen}_{[C=90 \text{ ppm}]} = \frac{1000 \mu\text{L} \cdot 90 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$\text{Volumen}_{[C=90 \text{ ppm}]} = 90 \mu\text{L}$$

Aspartamo:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

-Solución de 10 ppm:

$$\text{Volumen}_{[C=10 \text{ ppm}]} = \frac{1000 \mu\text{L} \cdot 10 \text{ ppm}}{548 \text{ ppm}}$$

$$\text{Volumen}_{[C=10 \text{ ppm}]} = 18,25 \mu\text{L} \sim 20 \mu\text{L}$$

-Solución de 30 ppm:

$$\text{Volumen}_{[C=30 \text{ ppm}]} = \frac{1000 \mu\text{L} \cdot 30 \text{ ppm}}{548 \text{ ppm}}$$

$$\text{Volumen}_{[C=30 \text{ ppm}]} = 54,74 \mu\text{L} \sim 55 \mu\text{L}$$

-Solución de 50 ppm:

$$\text{Volumen}_{[C=50 \text{ ppm}]} = \frac{1000 \mu\text{L} \cdot 50 \text{ ppm}}{548 \text{ ppm}}$$

$$\text{Volumen}_{[C=50 \text{ ppm}]} = 91,24 \mu\text{L} \sim 90 \mu\text{L}$$

-Solución de 70 ppm:

$$\text{Volumen}_{[C=70 \text{ ppm}]} = \frac{1000 \mu\text{L} \cdot 70 \text{ ppm}}{548 \text{ ppm}}$$

$$\text{Volumen}_{[C=70 \text{ ppm}]} = 127,74 \mu\text{L} \sim 130 \mu\text{L}$$

-Solución de 90 ppm:

$$\text{Volumen}_{[C=90 \text{ ppm}]} = \frac{1000 \mu\text{L} \cdot 90 \text{ ppm}}{548 \text{ ppm}}$$

$$\text{Volumen}_{[C=90 \text{ ppm}]} = 164,23 \mu\text{L} \sim 165 \mu\text{L}$$

-Observación:

No se realizó una toma en volumen de solución estándar de aspartamo igual a las calculadas, ya que estas dieron un resultado que contiene decimal se debe hacer una corrección en las concentraciones de aspartamo para los puntos de la curva de calibración, estas no son 10 ppm - 30 ppm - 50 ppm - 70 ppm - 90 ppm respectivamente sino que varían.

Aspartamo:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

-Solución teórica de 10 ppm:

$$\frac{20 \mu\text{L} \cdot 548 \text{ ppm}}{1000 \mu\text{L}} = 10,96 \text{ ppm}$$

-Solución teórica de 30 ppm:

$$\frac{55 \mu\text{L} \cdot 548 \text{ ppm}}{1000 \mu\text{L}} = 30,14 \text{ ppm}$$

-Solución teórica de 50 ppm:

$$\frac{90 \mu\text{L} \cdot 548 \text{ ppm}}{1000 \mu\text{L}} = 49,32 \text{ ppm}$$

-Solución teórica de 70 ppm:

$$\frac{130 \mu\text{L} \cdot 548 \text{ ppm}}{1000 \mu\text{L}} = 71,24 \text{ ppm}$$

Solución teórica de 90 ppm:

$$\frac{165 \mu\text{L} \cdot 548 \text{ ppm}}{1000 \mu\text{L}} = 90,42 \text{ ppm}$$

Tomas de cafeína y aspartamo para las diluciones de los puntos de la curva de calibración:

Nº de vial	C en ppm	V de Aspartamo (μL)	V de Cafeina (μL)	V de Agua (μL)
1	10	20	10	970
2	30	55	30	915
3	50	90	50	860
4	70	130	70	800
5	90	165	90	745

Tabla 2- Tomas en volumen de cafeina y aspartamo.

Debido a que cafeína y aspartamo poseen tiempos de retención distintos pueden cuantificarse en un mismo analisis en el UHPLC por ende que ambos solutos a una determinada concentración se encuentren en el mismo vial, no afecta el análisis químico que se realiza.

Preparación para las muestras de refresco:

-Luego de ingresadas las muestras de bebidas se tomaron alícuotas en tubos falcon de 25 mL. Las mismas deberán ser diluidas en 1 mL de bebida por cada 4 mL de agua (1:5).

-Antes de ingresar las muestras al UPLC las mismas deben ser desgasificadas y filtradas:

1- Realizar una toma de bebida diluida utilizando una jeringa descartable.

2- Colocar en la punta de la misma un filtro para jeringa de 0,45 µL.

3- Presionar el émbolo de la jeringa y verter el líquido filtrado en un vial, dicho vial es el que se coloca en el UPLC.

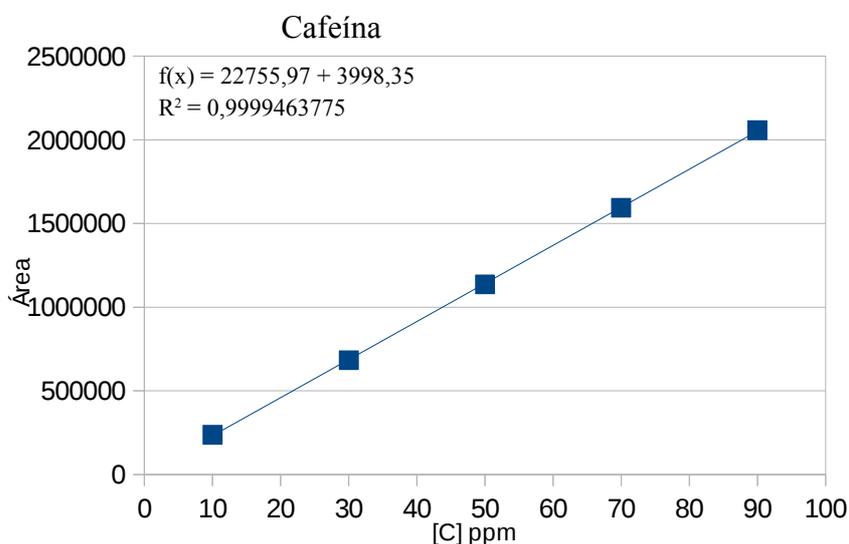
4- Repetir los pasos 1-3 para todas las muestras diluidas de bebida.

Resultados:

Curva de calibración:

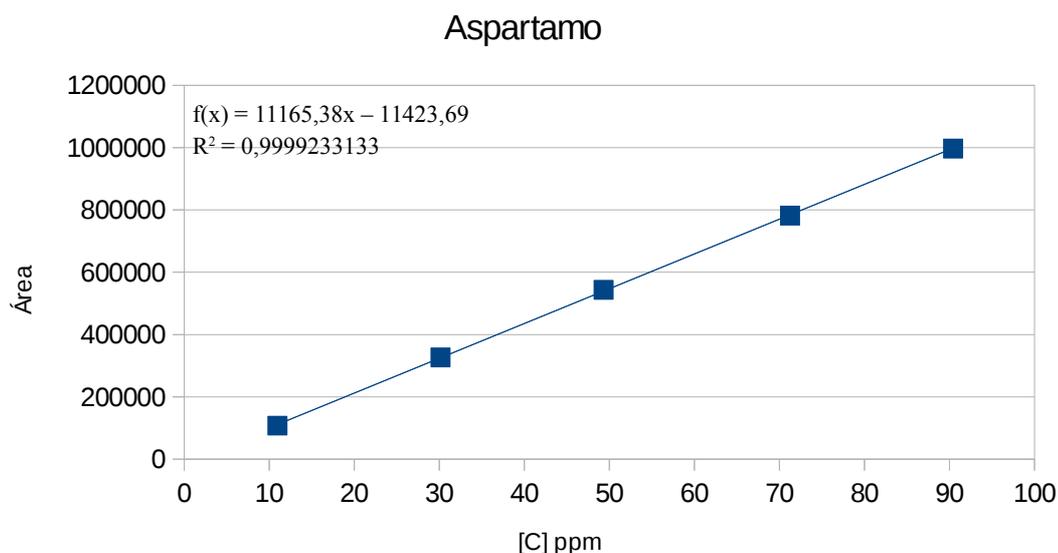
Cafeína:

C en ppm	Área de pico
10	237465
30	683145
50	1136594
70	1594290
90	2057489



Aspartamo:

C en ppm	Área de pico
10,96	107816
30,14	326930
49,32	543660
71,24	781785
90,42	997260



-Luego de analizar las muestras de bebida en el UHPLC, utilizando las medidas de área obtenidas por el equipo y la ecuación de la recta de las respectivas curvas de calibración se obtuvieron los siguientes resultados.

Aspartamo:

Refresco	C de Aspartamo (mg/L)	Ret. Time	Área
Sprite	47,127	3,789	514768
Monster	8,665	3,731	85328
Schweppes	38,570	3,725	419230
Pepsi light	61,597	3,706	676334
Aquarius cero	No detected	-	-
Fanta naranja	46,489	3,737	507641
Salus naranja	No deected	-	-
H ₂ OH! Limón	39,902	3,733	434095
Coca sin azúcar	43,463	3,740	473859
Coca light	39,182	3,724	426055
Paso de los toros	56,091	3,726	614858

Tabla 3- Concentración de aspartamo en diferentes bebidas.

Cafeína:

Refresco	C de Cafeina (mg/L)	Ret. Time	Área
Sprite	No detected	-	-
Monster	35,212	3,329	805282
Schweppes	No detected	-	-
Pepsi light	22,215	3,279	509512
Aquarius cero	No detected	-	-
Fanta naranja	No detected	-	-
Salus naranja	No deected	-	-
H ₂ OH! Limón	No detected	-	-
Coca sin azúcar	18,392	3,338	422536
Coca light	24,775	3,287	567769
Paso de los toros	No detected	-	-

Tabla 4- Concentración de cafeína en diferentes bebidas.

-Se debe tener en cuenta que las muestras de refresco fueron diluidas en 1 mL de bebida por cada 4mL de agua ultra pura (1:5) por lo cual las concentraciones obtenidas mediante el cromatógrafo deberán ser multiplicadas por 5.

Encuestas:

Se realizó un total de 28 encuestas en la zona de Pando, se obtuvieron los siguientes resultados.

¿Usted consume bebidas carbonatadas y/o energizantes?

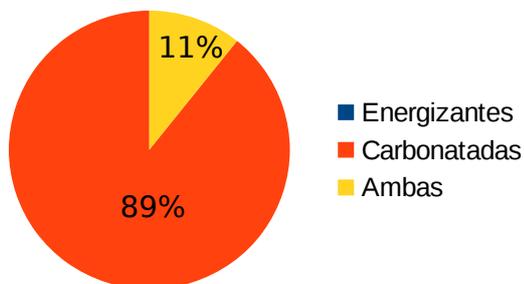


Grafico 1

Dentro de las carbonatadas, ¿consume comunes y/o dietéticas?

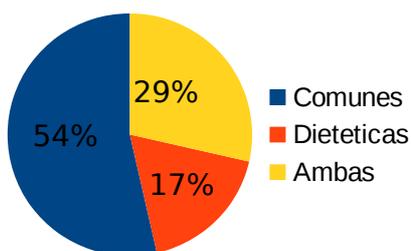


Grafico 2

Consumo aproximado en los días lunes-viernes

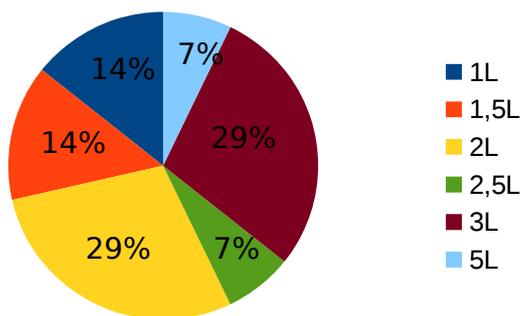


Grafico 3

Consumo aproximado en los días Sábado y domingo

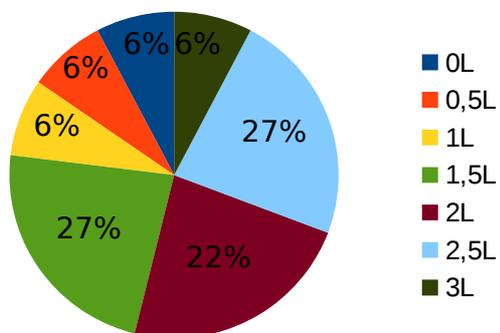


Grafico 4

Consumo aproximado de energizante en los días lunes-viernes

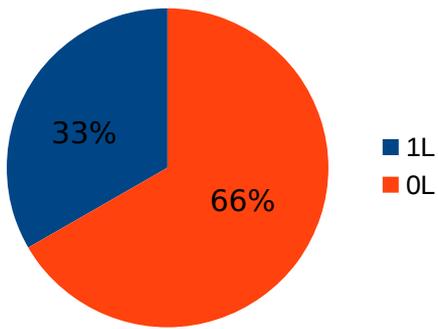


Grafico 5

Consumo aproximado de energizante en los días sábado y domingo

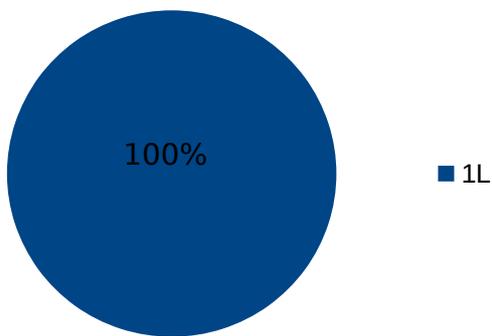


Grafico 6

¿Usted sabe algo acerca de los parámetros de consumo establecidos para el aspartamo y cafeína en bebidas?

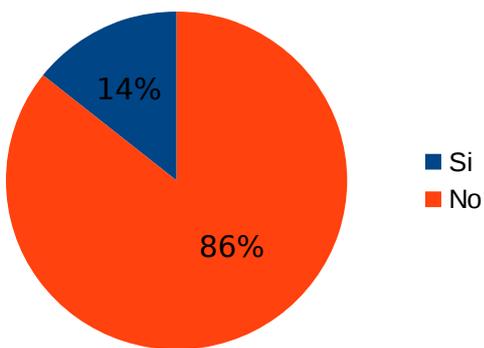


Grafico 7

Análisis de resultados:

Concentraciones de aspartamo y cafeína

Refresco	C de Cafeína (mg/L)	C de Aspartamo (mg/L)
Sprite Cero	0	236
Monster	176	43,3
Schweppes Pomelo	0	193
Pepsi light	111	308
Aquarius Cero Limón	0	0
Fanta Naranja Cero	0	232
Salus Naranja Frutte'Cero	0	0
H ₂ OH! Limón Cero	0	200
Coca Sin Azúcar	92,0	217
Coca Light	124	195
Paso de los Toros Light	0	280

Tabla 5

El máximo admitido para bebidas carbonatadas en cuanto a aspartamo es de 600 mg/kg de alimento, por lo cual se puede decir que todas las bebidas analizadas cumplen con la normativa de codex que establece dicho parámetro. De las bebidas analizadas, la que posee la concentración más alta de aspartamo es la pepsi light, con un total de 308 mg/L, es seguida por paso de los toros con una concentración de 280 mg/L.

Aun así estas dos bebidas siendo las que poseen mayor concentración de este edulcorante se encuentran aproximadamente en la mitad de concentración (mg/L) que son admitidos, es decir que todas las bebidas analizadas cumplen con la normativa que rige para la cantidad admisible de aspartamo en bebidas.

Hay que destacar que las bebidas dietéticas no son endulzadas únicamente por aspartamo, sino que también se utiliza en ellas otros edulcorantes como por ejemplo acesulfame-k y sucralosa que poseen sus respectivas ingestas admitidas. Es decir que el aspartamo no es el único edulcorante artificial que ingerimos en estas bebidas sino que también lo son los anteriormente mencionados.

En cuanto a la cafeína, la bebida energizante analizada es la que posee la concentración más elevada de este componente, con un total de 176 mg/L, seguida por la Pepsi light que posee una concentración de 124 mg/L.

La norma establecida por la CAA dice que el máximo admisible en cuanto a cafeína para bebidas es de 200 mg/L. Por lo cual se puede decir que todas las bebidas analizadas cumplen con el parámetro establecido por la CAA para cafeína.

En el caso de las encuestas:

Aspartamo

El promedio de consumo en los días lunes-viernes en litros de bebidas dietéticas es de 2,4 en los 5 días es decir unos 500 mL por día, la masa promedio de los encuestados es de 77 kg. Las bebidas dietéticas expendidas en los supermercados tiene una concentración de aspartamo de entre 200-300 mg/L.

La ingesta admitida para una persona de 77 kg es de 3080 mg de aspartamo, siendo el consumo promedio de bebida igual a 0,5 L esto equivale a 100-150 mg de aspartamo.

En los días sábado-domingo el promedio de consumo es de 1,8 L entre ambos días es decir 0,9 L por día, la masa promedio de los encuestados es de 77 kg. Las bebidas dietéticas expendidas en los supermercados tienen una concentración de aspartamo de entre 200-300 mg/L. Como ya se mencionó la ingesta diaria admitida para una persona de 77 kg es de 3080 mg de aspartamo por día.

El caso de mayor consumo se dio en una mujer de 29 años que declaró tomar 3 L entre los días sábado y domingo, es decir 1,5 L por día aproximadamente. Esta mujer tiene una masa de 75 kg. Ella está consumiendo aproximadamente 300-450 mg de aspartamo en el día sábado y en el día domingo, aun así siendo el caso más alto de consumo registrado en las encuestas está muy por debajo de la IDA para una persona de 75 kg que es de 3000 mg de aspartamo.

En resumen; ninguno de los encuestados sobrepasa la IDA en lo que refiere a aspartamo, refutando así la hipótesis inicial que planteaba algunas personas sobrepasarían la IDA. Pero cabe aclarar que no se ingiere aspartamo únicamente de bebidas dietéticas sino que hay muchos alimentos que lo contienen como por ejemplo chicles, helados, cereales, pastillas. Esto es algo a tener en cuenta, si bien por parte de las bebidas no se supera hay más alimentos que contribuyen a esta ingesta.

Cafeína:

El promedio de consumo en los días lunes-viernes corresponde con el de los días sábado-domingo que es de 1 L, teniendo en cuenta el energizante analizado en esta investigación (marca monster) estas persona estarían consumiendo 176 mg de cafeína aproximadamente, estando por debajo de el consumo máximo admitido de este aditivo que es de 500-600 mg diarios.

Se concluye que no se destacan personas que sobrepasen el máximo admitido para cafeína, aun así ocurre que no solo las bebidas energizantes contienen cafeína, podemos ingerirla de un sinfín de alimentos como por ejemplo chocolate, avena instantánea, helados, semillas de girasol. Esto se debe tener en cuenta ya que el consumo de los mencionados alimentos contribuyen a la ingesta de cafeína.

Conclusión:

La siguiente tabla corresponde a la concentración de aspartamo y cafeína que se determinó en las bebidas analizadas.

Refresco	C de Cafeína (mg/L)	C de Aspartamo (mg/L)	C Mayor o menor al máximo admitido
Sprite Cero	0	236	Menor
Monster	176	43,3	Menor
Schweppes Pomelo	0	193	Menor
Pepsi light	111	308	Menor
Aquarius Cero Limón	0	0	Menor
Fanta Naranja Cero	0	232	Menor
Salus Naranja Frutte'Cero	0	0	Menor
H ₂ OH! Limón Cero	0	200	Menor
Coca Sin Azúcar	92,0	217	Menor
Coca Light	124	195	Menor
Paso de los Toros Light	0	280	Menor

Tabla 6-Concentración de aspartamo y cafeína en diferentes bebidas.

En base a lo anteriormente mencionado en análisis de resultados, (promedio de consumo lunes-viernes y sábado-domingo), tanto en aspartamo como en cafeína, se puede decir que en promedio los encuestados no sobrepasan la ingesta diaria admitida, es más siquiera poseen valores cercanos a esta ingesta, sino que se encuentran muy por debajo.

Anexos:

Medidas de seguridad:

Acetonitrilo:

Frases H:

- Líquido y vapores muy inflamables.
- Nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación
- Provoca irritación ocular grave

Frases P:

-Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición.

-Llevar guantes/gafas de protección.

-Almacenar en un lugar bien ventilado.

-Mantener en lugar fresco

**Agua ultra pura:**

-Esta sustancia no presenta medidas de seguridad

Cafeína patrón:**Frases H:**

-Tóxico en caso de ingestión

Frases P:

-Lavarse concienzudamente tras la manipulación.

-No comer, beber ni fumar durante su utilización.

**Aspartamo patrón:**

-Esta sustancia no presenta medidas de seguridad

Ácido fórmico:**Frases H:**

-Nocivo en caso de ingestión.

-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

Frases P:

-No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.

- Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
- Se necesita un tratamiento específico (ver en esta etiqueta).
- Eliminar el contenido/el recipiente en las instalaciones industriales de combustión.



Bibliografía:

- Torres, E. Baloy, A. Frómata, A. Fernández, L.(2002). *Determinación de fenilalanina y galactosa total a partir de una muestra de sangre seca en papel de filtro*. Instituto nacional de Salud Bogotá, Colombia.
- Cotran, S. Robbins, S. Kumar, V. Collins, T. (1999). *Patología Estructural y Funcional*. McGraw Hill Intramericana.
- Gonzalez Chavez, A. (2013). *Posición de consenso sobre las bebidas con edulcorantes no calóricos y su relación con la salud*. Mex. Cardiol, Vol 24.
- Comité Científico de la Comisión Europea. (2002). *Aspartamo*. SCF Greenfacts.
- Gabriel, F. (2013). *Aminoácidos, Dipeptidos y Proteínas*.
- Cromatografía, recuperado de: <file:///home/ceibal/Descargas/CLASE%2012%20cromatograf%C3%ADa%20X%202.pdf>
- Medidas de seguridad recuperadas de: https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/H/SDB_HN40_ES_ES.pdf (25/10/2018)
- Parámetros según CAA recuperados de : <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000640cnt-19-irest-energizantes-cafeina.pdf> (26/10/2018)
- Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company. (s.f.)
- Kantor, M. (1990). *Light Dairy Products: The need and the consequences*. *Food Technology*
- Sandoval, A. (2006). *Cuantificación de cafeína en bebidas carbonatadas de mayor consumo por niños*. Universidad de San Carlos, Guatemala.
- Menchú, M., & Méndez, H. (2007). *Tabla de composición de alimentos de Centroamérica* (2a ed.
- Morales, J. (2007). *Cuantificación de aspartame y acesulfame-k por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)*.
- ITS BUCEO. (2010). *Introducción al Análisis Químico. Cromatografía*.
- Alvarez, Barral y Farré. (2007) *Cafeína: un nutriente, un fármaco, o una droga de abuso*. Sociedad Científica Española de Estudios sobre el Alcohol, el Alcoholismo y las otras Toxicomanías. Adicciones Vol. 19

