



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DETERMINACION DE SACARINA, CAFEINA Y BENZOATO
DE SODIO EN REFRESCOS EMBOTELLADOS DE COLA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

Q U I M I C O

PRESENTA

JESUS EUGENIO BARLANDAS RENDON

MÉXICO, D. F.

1983.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INTRODUCCION

Una de las ramas de la actividad económica que está en íntima relación con el campo de acción de la Química, es la industria de refrescos y aguas envasadas, por lo que, para el presente trabajo, el objetivo central lo constituye la determinación de sacarina, cafeína y benzoato de sodio a través de un análisis químico, practicado a los refrescos de cola que se producen en México.

La justificación para desarrollar este tema se debe a que estos compuestos, particularmente la sacarina, han generado una polémica sobre los efectos causados en seres humanos sobre lo cual se presenta un panorama general, el cual abarca desde una simple intoxicación, hasta cáncer.

Sin lugar a dudas, la cafeína es uno de los estimulantes tolerados de mayor consumo desde la antigüedad, sin que se le atribuyeran mayores efectos que la provocación del insomnio. Sin embargo, en la medida que aumentó la investigación sobre este compuesto, se le ha relacionado con problemas gástricos, cardíacos, nerviosos e incluso, con la incidencia de enfermedades congénitas.

Finalmente se discutieron la viabilidad y exactitud que presentaron las técnicas analíticas reportando las cifras encontradas de los compuestos mencionados anteriormente en los refrescos mexicanos de cola.

I N D I C E

1. GENERALIDADES
 - 1.1 Planteamiento del Problema.
 - 1.2 Justificación del Tema.
 - 1.3 Objetivo General.
 - 1.4 Plan de Trabajo.
 - 1.5 Síntesis del Aspecto Socioeconómico de la Industria de Refrescos y Aguas Envasadas en nuestro País.
 - 1.6 Resumen sobre los Aspectos Tóxicos de la Sacarina.
 - 1.7 Algunas Observaciones sobre la Actividad Farmacológica de la Cafeína, y los Efectos Provocados por ésta en Seres Humanos.
 - 1.8 Fundamentos de los Métodos Analíticos empleados en este Trabajo para la determinación de Sacarina, Cafeína y Benzoato de Sodio en Refrescos de Cola envasados en México.
2. PARTE EXPERIMENTAL
 - 2.1 Técnica No. 1.- Procedimiento para determinar Sacarina en Refrescos Dietéticos que Contienen Benzoatos y Saborizantes.
 - 2.2 Técnica No. 2.- Determinación Colorimétrica de Sacarina en Alimentos.
 - 2.3 Técnica No. 3 - Determinación de Cafeína en Bebidas no alcohólicas.
 - 2.4 Técnica No. 4.- Determinación de Sacarina, Cafeína y Benzoato de Sodio en Refrescos por Cromatografía de Líquidos de Alta Presión en Fase Inversa.
 - 2.5 Técnica No. 5.- Determinación de Sacarina en Refrescos por Cromatografía Gas-Líquido.
3. RESULTADOS Y DISCUSION
 - 3.1 Resultados y Discusión sobre la Técnica No. 1
 - 3.2 Resultados y Discusión sobre la Técnica No. 2
 - 3.3 Resultados y Discusión sobre la Técnica No. 3
 - 3.4 Resultados y Discusión sobre la Técnica No. 4
 - 3.5 Resultados y Discusión sobre la Técnica No. 5
4. CONCLUSIONES
- BIBLIOGRAFIA

1. GENERALIDADES

Parte medular en toda investigación es sin duda alguna, diseñar de manera científica, el modelo de investigación y aplicarlo adecuadamente al problema para el cual fue planeado.

Considerando lo anterior, se diseñó y aplicó el método comprendido en las siguientes etapas:

- 1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. Los refrescos de cola se han constituido en productos de consumo generalizado dentro de la población mexicana, por lo cual consideramos de interés general, investigar y difundir su composición química, aun cuando esto se haya realizado de manera parcial.
- 1.2 JUSTIFICACION AL TEMA. La industria en general debe cumplir con la reglamentación a la que se encuentra sujeta, en particular, la de alimentos y bebidas, con el objeto de generalizar el abasto de productos cuya ingestión no represente un riesgo para la salud. Sin embargo, en no pocos casos se han violado las disposiciones al incurrir los industriales en el empleo de compuestos químicos de uso restringido o retirados del mercado debido al efecto nocivo causado en los humanos.
- 1.3 OBJETIVO GENERAL. Encontrar un método analítico para determinar: sacarina, cafeína y benzoato de sodio en refrescos de cola, aplicada a los refrescos envasados en México.

1.4 PLAN DE TRABAJO.

- a)- Realizar revisión bibliográfica para recabar información sobre las técnicas analíticas utilizadas para determinar sacarina, cafeína y benzoato de sodio en refrescos, y sobre los efectos que producen en los compuestos a determinar, tanto en animales de laboratorio, como en seres humanos.
- b)- Sistematizar la información para hacer una selección de lo más importante y representativo de los trabajos publicados acerca del tema.
- c)- Revisar en detalle las técnicas analíticas para seleccionar aquellas que puedan aplicarse a resolver nuestro problema, aun con modificaciones.
- d)- Aplicar cada una de las técnicas seleccionadas, anotando minuciosamente las observaciones para tener elementos suficientes al desarrollar el balance total del trabajo.

1.5 SINTESIS DEL ASPECTO SOCIOECONOMICO DE LA INDUSTRIA DE REFRESCOS Y AGUAS ENVASADAS EN NUESTRO PAIS.

En México, encontramos dividida a la industria refresquera, en:

- a)- Franquiciadoras, las cuales son propietarias de las fórmulas para la elaboración de concentrados base para producir refrescos, y
- b)- Embotelladoras, que constituyen la inversión fundamental en la rama, operando en nuestro territorio por la concesión del uso de la marca de las franquici

ciadoras.

Por su origen, las marcas de refrescos envasados en México, se clasifican en: mexicanas y extranjeras.

En la República Mexicana se ha observado una disminución del número de empresas productoras de refrescos, al desplazar los grandes grupos, a las empresas pequeñas y medianas que en su mayoría son de propietarios mexicanos. Datos de la Secretaría de Programación y Presupuesto, se ñalan que, de las 267 empresas que existían en 1975, que daron 249 a fines de 1980. De éstas, 76 pertenecen al grupo Coca-Cola, 50 a Pepsi-Cola, 42 son mixtas, 72 a di versos empresarios mexicanos, y las nueve restantes a otras firmas extranjeras.

Entre las causas principales que han provocado el ascenso y fortalecimiento de las empresas transnacionales (Co ca-Cola y Pepsi-Cola) en el control de la Industria Re fresquera Nacional, pueden señalarse las siguientes:

*Las extensas campañas publicitarias montadas para desa rrollar y fomentar el consumo de marcas extranjeras (Co ca-Cola, Pepsi-Cola, Fanta, Mirinda, etc.), lo que se realiza en coordinación con empresas transnacionales del ramo alimentario.

Según las cifras de la Asociación Nacional de Productores de Aguas Envasadas (ANPAE), cada mexicano consume un refresco diario, colocándonos en el segundo lugar mundial entre los países consumidores de refrescos, superados solamente por los Estados Unidos de Norteamérica.

*El renglón de producción, al finalizar 1980, fue del orden de 20,666 millones de botellas, de las cuales las marcas extranjeras integraron el 76.8%, y de este porcentaje, el 57.4% está representado por refrescos de cola (Coca-Cola y Pepsi-Cola), mientras que la producción de marcas mexicanas sólo alcanzó el 23.2%, 18.7% para refrescos de sabores y 4.5% son aguas minerales¹.

*Sin duda, el aspecto que refleja con mayor claridad la alta dependencia de la Industria Refresquera Nacional hacia los grandes consorcios multinacionales (Coca-Cola y Pepsi-Cola), es el mercado. Las ventas en 1977 fueron de 24,000 millones de pesos, de los cuales 9,600 millones (40%) se destinaron al pago de impuestos; 2,400 millones (10%) para materia prima; 480 millones (2%) para el pago de 42,000 asalariados; 4,800 millones (20%) para el pago de regalías, patente y marca; y 6,700 millones (28%) fueron las ganancias². Sin embargo, las cifras anteriores deben tomarse con cierta reserva, debido a que no se cita la fuente de la cual fueron obtenidas.

Para el año de 1982, las empresas transnacionales (Coca-Cola y Pensi-Cola) acaparan aproximadamente un 80% del total de ventas de la Industria Refresquera Nacional, a la que se le calcularon ingresos brutos del orden de 62,000 millones de pesos³, violando claramente la Constitución, que, en su artículo 28 prohíbe la creación de monopolios, lo que se realiza desplazando a las marcas mexicanas de refrescos^{4, 5}.

Para proteger y fomentar la industria nacional y evitar las altas fugas de divisas, el gobierno federal ha desarrollado políticas de apoyo mediante subsidios, estímulos fiscales (CEPROFI), trato preferencial en la adquisición de azúcar a los empresarios mexicanos productores de marcas mexicanas, además de los aumentos en los precios autorizados por la SECOM, en función del nuevo precio del azúcar y los costos de producción.

ASPECTO ECONOMICO Y FINANCIERO

El PIB de la industria de refrescos creció a una tasa media anual de 4.6% durante el período 1970-1980 con una participación de 0.45% en el PIB para 1970, mientras que para 1980 se redujo a 0.37% aunque su valor alcanzó 3,315 millones de pesos.

De 1976 a 1980 la inversión en la industria creció al 12.07% anual en promedio, hasta alcanzar en 1980 los 60,350 millones de pesos, de los cuales el 60% correspondió a embotelladoras de marcas mexicanas; el 35% a franquiciadores de Coca-Cola y Pepsi-Cola y el resto a otras empresas extranjeras.

A su vez, para el mismo período la derrama económica creció a un promedio anual de 26% para el conjunto de la rama y 17.2% para la derrama por trabajador, el que en 1980 alcanzó un ingreso promedio de 110,800 pesos al año.

CUADRO 1
EMPLEO Y DERRAMA ECONOMICA (1975-1980)

AÑO	NUMERO DE ESTABLECIMIENTOS:	PERSONAL OCUPADO:	SALARIOS, SUELDOS Y PRESTACIONES: (*)
1975	267	46,342	2,186
1976	265	51,064	3,214
1977	242	55,480	2,870
1978	245	59,531	4,412
1979	249	66,282	5,836
1980	249	70,406	7,801

* Millones de pesos

FUENTE: Asociación Nacional de Embotelladoras de la República Mexicana (ANERMEX).

Del Cuadro 1 desprendemos las siguientes observaciones: En los años 1975 a 1980, hay una disminución promedio del 8.3% en el número de empresas; aumento del 65.8% en el número de empleados y 25.74% en salarios, sueldos y prestaciones de éstos.

La estructura de la industria señala que, en 1980 existían 249 empresas, de las cuales, 135 manejaban marcas extranjeras aportando el 76% de la producción total. De este porcentaje, el 57.4% corresponde a refrescos de cola cuya materia prima base, el concentrado, se importa

dado que es de patente, y por lo mismo es difícil conocer su composición. Las demás materias primas utilizadas, son de fabricación nacional, entre las que se encuentra, principalmente, el azúcar de la cual esta industria consume alrededor del 50% de la producción nacional.

Otros insumos utilizados, son: corcholatas (80% de la producción nacional); envases de vidrio (consume 35% de la misma); gas carbónico (90% de la producción); cajas de madera y plástico (consume más del 75% de la producción).

Debido a la importación de concentrados, se desconoce el impacto en el costo y grado de integración que éstos causan. Efectuar un análisis en estas condiciones es poco significativo, por lo tanto, sólo se consideran 40 empresas mixtas y 56 que producen marcas de origen nacional.

CUADRO 2SITUACION FINANCIERA DE LA INDUSTRIA REFRESQUERA

(%)

MARGEN DE UTILIDAD SOBRE:	1977	1978	1979	TASA MEDIA ANUAL (1977-1979)
Ventas	4.4	4.0	2.3	- 3.5
Activos	8.4	7.2	3.6	- 6.4
Capital Contable	17.5	18.3	8.9	-14.9
<u>ROTACION DE:</u>				
Activos Totales	1.95	1.8	1.57	- 1.57
Activos Fijos	6.22	5.35	3.86	- 5.44
<u>ESTRUCTURA DE LA DEUDA:</u>				
Pasivo/Activo	52.0	61.0	60.0	
Pasivo/Capital Contable	108.2	157.0	147.6	

La situación financiera de la industria, marca una tendencia decreciente en virtud de que el margen neto para el industrial disminuye, en tanto que el precio de los insumos aumenta.

SITUACION POLITICA

Es por todos conocido el gran poder económico y político logrado por las corporaciones Coca-Cola y Pepsi-Cola a nivel mundial, a tal grado, que han llegado a convertirse en símbolos del capitalismo.

En México esto no es la excepción, basta mirar a cualquier punto para localizar un anuncio de estos productos y encontrarlos a la venta hasta en el estancillo más modesto.

PERSPECTIVAS A CORTO Y MEDIANO PLAZO

Mientras los empresarios mexicanos no mejoren sus productos, aumenten su eficiencia en la producción, mercado y administración, para lograr una industria de refrescos mexicanos independiente y competitiva a nivel internacional, todo parece indicar que las marcas de refrescos extranjeros, en particular Coca-Cola y Pepsi-Cola, continuarán dominando el mercado nacional de refrescos.

1.6 RESUMEN SOBRE LOS ASPECTOS TOXICOS DE LA SACARINA.

Los primeros estudios sobre la toxicidad del edulcorante sintético denominado sacarina, datan del año de 1951. Aun cuando estas experiencias adolecen de confiabilidad debe mencionarse su aportación, la cual puede resumirse de la siguiente manera:

La sacarina es un compuesto relativamente no tóxico si

las dosis ingeridas son menores al 5%. A la conclusión anterior se llegó mediante un experimento que consistió en administrar a través de la alimentación, diferentes concentraciones de sacarina a varios grupos de ratones albinos, 528 en total⁶.

En el año de 1957, Allen y colaboradores publicaron los resultados de un experimento, en el que utilizaron como variante la técnica de cirugía para implantar en la vejiga de los ratones, "esferas" de colesterol que contenían sacarina en la proporción (4:1), induciendo con ello una alta incidencia de tumores en vejigas⁷. La evaluación se hizo en 13 ratones sobrevivientes por lo cual no se tomó como concluyente, además de que el experimento nunca se repitió⁸.

Durante la década de los sesentas, se llevaron a cabo varios experimentos los cuales en esencia utilizaban el mismo modelo de investigación que consistía en administrar por vía oral las sustancias consideradas potencialmente cancerígenas: ciclohexilamina, ciclamato y sacarina o mezcla de éstas. Sin duda alguna, el más destacado de estos trabajos fue el realizado por los Laboratories Abbott, laboratorios de investigación de alimentos y medicamentos, y corroborado por patólogos del Instituto Nacional del Cáncer, sin olvidar la contribución de instituciones tales como el Departamento de Salud, Educación y Bienestar y la Administración de Medicamentos y Alimentos. Los datos obtenidos en los experimentos anteriores

fueron presentados a la Academia Nacional de Ciencias y al Consejo Nacional de Investigación, junto con la recomendación de que fueran retirados de la circulación los ciclamatos, cosa que sucedió en el año de 1969⁹, permaneciendo la sacarina en el mercado, aunque limitada en su uso.

Aparentemente, el criterio que determinó esta decisión, surgió cuando se comprobó que muchos ratones a los que se les administraron ciclamatos lo convirtieron a ciclohexilamina¹⁰, mientras que la sacarina no sufrió cambio alguno y estudios posteriores sobre metabolismo confirmaron lo anterior¹¹.

En la medida que las técnicas de investigación evolucionaron, se desarrolló un modelo para el estudio del cáncer de vejiga en ratones, el cual se compone de dos etapas denominadas inducción y promoción.

Al aplicarse el modelo anterior, la sacarina pasa de ser un agente carcinógeno a promotor de cáncer. Esta idea se desarrolló a través de un experimento que consistió en administrar, en dosis única, un agente capaz de inducir el cáncer, como la nitroso-metil-urea, seguida de la administración de sacarina, por un período de varias semanas, resultando una alta incidencia de hiperplasia en vejiga por lo cual, la acción promotora resulta una posibilidad bastante alta^{12, 13}. El modelo contempla las siguientes características: la aplicación del iniciador aislado, no causa cáncer, el agente promotor debe administrarse

por períodos relativamente largos y se postula teóricamente, que la aplicación de una sola vez del agente promotor no produce cáncer, o su incidencia es muy baja¹⁴.

Por lo antes mencionado, existe una clara tendencia a caracterizar como agente promotor de cáncer a la sacarina, sin aclarar la forma de promoción¹⁵⁻¹⁷, aunque parece ser que existe una amplia posibilidad de que el mecanismo de promoción se lleva a cabo a nivel de membrana celular¹⁸. Comúnmente, se observa que un agente químico capaz de producir o inducir cáncer, es también un potencial mutagénico. Estudios sobre este particular revelan propiedades metagénicas o capacidad de inducir cambios citogenéticos por la sacarina¹⁹, relacionadas con las características de agente promotor discutidas anteriormente²⁰. Sin embargo, la discusión sobre el origen de la propiedad mutagénica ha dividido las opiniones; hay quienes afirman que es la sacarina la causa de la mutación, basándose en algunos resultados experimentales como la administración de sacarina en dosis altas en salmonella y dosis moderadas en drossphila, provocó en todos ellos resultados positivos sugiriendo como mecanismo de mutación el rompimiento de cromosomas²¹. Para otros investigadores la causa de la mutación no es la sacarina en sí, sino las impurezas que contiene. Siendo las más comunes: la orot-toluén sulfonamida y para-toluén sulfonamida^{22, 23}. La idea anterior se fundamenta en la observación de que al aumentar el grado de pureza de la sacarina, el efecto mutagénico dis

minuye, o incluso, desaparece^{24 25}, quedando abierta la posibilidad de que la sacarina comercial presente esta propiedad, en razón de su pureza.

Hasta este momento sólo se analizaron los efectos producidos por la ingestión e implantación de la sacarina en animales de laboratorio sin mencionar los estudios hechos en humanos. En términos muy generales hay concordancia en señalar a este edulcorante como posible agente causal de cáncer en seres humanos, si éstos consumen dietas exclusivamente altas en sacarina^{26,28}. Los estudios anteriores son de carácter estadístico y fueron realizados en diferentes instituciones médicas, pero también hay estudios hechos *in vitro* utilizando para ello células de vejiga de humanos mantenidas en un medio de cultivo adecuado, obtenidas de personas muertas en accidentes. Las observaciones hechas nos indican que las conclusiones de estos experimentos pueden resumirse en los siguientes términos: la idea de que la sacarina es un agente capaz de producir o promover el cáncer de vejiga es altamente probable, ya sea al aplicarla sola o en combinación con un agente capaz de inducir el cáncer; no obstante, se requieren estudios más profundos sobre el significado de las alteraciones encontradas en las células de vejiga²⁹. Aun con todos los elementos de juicio señalados anteriormente, se considera que no hay evidencia suficiente para prohibir el uso de la sacarina y tal parece que la polémica desatada en torno a sus efectos continuará por tiempo indefini-

do.

1.7 ALGUNAS OBSERVACIONES SOBRE LA ACTIVIDAD FARMACOLOGICA DE LA CAFEINA Y LOS EFECTOS PROVOCADOS POR ESTA EN SERES HUMANOS.

El consumo de cafeína en nuestra sociedad, es una práctica común, lo que en gran parte se debe a que dicho estimulante se encuentra contenido en productos naturales tales como: café, mate, té y cola, los que a su vez dan origen a las bebidas que acostumbramos.

A la cafeína se le ha clasificado en el grupo farmacológico denominado Xantinas. Se les llama de esta manera a los compuestos derivados de la Xantina, la cual a su vez, deriva de la Purina (2,6 dioxipurina).

Las Xantinas de importancia farmacológica resultan de la introducción de grupos metilo, a nivel de los átomos de nitrógeno heterocíclico, siendo esto por lo que la cafeína posee la acción estimulante más potente.

La actividad farmacológica de las Xantinas y en particular de la cafeína, a nivel de sistema nervioso, se desarrolla en la corteza cerebral, luego sobre el bulbo y finalmente, sobre la médula espinal, con lo cual impiden la sensación de fatiga y aumenta la capacidad de trabajo muscular.

La cafeína es considerada como estimulante psicomotor y droga no muy tóxica, pero es capaz de producir trastornos a nivel nervioso, digestivo y cardiovascular. Las mani-

festaciones nerviosas consisten en inquietud, excitación, insomnio, vértigo y aun delirios.

Los síntomas digestivos son molestias y dolor epigástrico náuseas, vómitos y hemorragia digestiva. Los trastornos cardiovasculares consisten en taquicardia, palpitaciones y extrasistolia.

La cafeína y las bebidas que la contienen, son capaces de crear cierta dependencia del tipo cafeínico³⁰ y a ciertas personas, altamente sensibles a los efectos de la cafeína el consumo de refrescos que contienen altas concentraciones de este tipo de estimulante o grandes cantidades de café, por ejemplo, les puede repercutir en problemas gástricos, insomnio, taquicardia e incluso, desarrollar predisposición al consumo de otras drogas³¹. Por lo anterior se ha pedido la intervención de la Administración de Alimentos y Medicamentos, para regular más estrictamente la distribución de la cafeína, sobre todo, si se toma en cuenta que las bebidas de cola pueden ser consumidas hasta por niños menores de un año, aumentando la susceptibilidad hacia la cafeína en la medida que la edad del consumidor disminuye³². En estudios más específicos se reportan posibles efectos teratogénicos a causa del consumo de cafeína por animales de laboratorio. Se ha comprobado que la cafeína se acumula en los tejidos del feto, especialmente en cerebro e hígado^{33, 34} y en animales adultos altera el metabolismo de varios neurotransmisores³⁵.

De esta forma, la cafeína podría afectar las funciones ce
rebrales en el feto, además, el estado prenatal se consti-
tuye en período crítico para el desarrollo cerebral, con
lo que los cambios originados por la cafeína se manifesta-
rían en subsecuentes anormalidades, sin embargo, esta po-
sibilidad no ha sido totalmente probada³⁶.

Particularmente resulta interesante analizar las conse-
cuencias derivadas del alto consumo de bebidas del tipo
cafeínico por mujeres en edad fértil, encontramos un apa-
rente aumento en el número de abortos espontáneos y naci-
mientos prematuros, disminución en peso y tamaño en los
niños recién nacidos e incremento en la cantidad de infan-
tes con anomalías congénitas^{37,38}.

De 1976 a 1982, en Norteamérica se reunió información so-
bre 2,030 casos de niños con problemas congénitos como:
hernia inguinal, labio y paladar hendido, estenosis piló-
rica, defectos cardíacos y de tubo digestivo, con la fina-
lidad de realizar un estudio estadístico para investigar
la posible relación entre la ingestión maternal, durante
el embarazo, de café, té, cola y la incidencia de enferme-
dades congénitas; el total de casos analizados se dividió
en los siguientes grupos:

380 niños con hernia inguinal; 299 con labio o paladar
hendido; 277 con defectos cardíacos; 194 con estenosis pi-
lórica; 120 con sólo paladar hendido; y 101 con defectos
en la espina dorsal.

Se evaluaren por comparación con 712 niños que presenta-

ban enfermedades congénitas utilizados como patrón o control y cuyas madres jamás ingirieron algún tipo de bebida que contuviera cafeína.

Ninguno de los puntos estimados presentó un riesgo relativamente grande por la ingestión de cafeína, en comparación con la no ingestión. El intervalo de confianza fue superior al 95%, y en los porcentajes evaluados, sólo 21 madres (1%) consumieron 1000 mg; 218 (11%) 400 mg o mas, y el porcentaje restante, menos de 400 mg por día.

Las cifras anteriores están basadas en 100 mg por taza de café; 35 mg por taza de té; y 45 mg por taza de refresco de cola³⁹. Gracias a un programa sobre control de drogas desarrollado en el área de Boston, se publicó en el año de 1973, que el número de pacientes hospitalizados por ataque al corazón, que habían sido consumidores de café, era superior al de los pacientes hospitalizados por otra causa⁴⁰. El análisis fue condicionado a que los efectos del café y del cigarro permanecieran independientes.

Maugh sugirió que el estudio anterior no era válido, al no considerarse el consumo de bebidas de cola, que proporcionan más cafeína para muchas personas, incluso que el mismo café⁴¹. Para evaluar la posible relación entre consumo de café, bebidas de cola y el riesgo de contraer enfermedades cardíacas, se hizo un análisis estadístico, a partir de la información obtenida de 365 sujetos, cuyas edades oscilaron entre 17 y 70 años. Los datos considerados fueron: historial clínico, vida sexual activa, edad,

peso, altura, hábitos alimenticios, presión sanguínea, niveles de colesterol y otros⁴². La conclusión derivada de este trabajo es que no hay correlación positiva entre el consumo de bebidas de cola y el riesgo de contraer enfermedades cardíacas, sino más bien, existe relación entre el consumo de café y la forma de vida, la cual sí puede constituirse en un riesgo para la salud⁴³.

Finalmente, añadimos las experiencias recogidas por un grupo de investigadores cuyo trabajo exploró la relación entre el alto consumo de cafeína por estudiantes, y la incidencia de cafeinismo, caracterizado por ansiedad, depresión y varias reacciones psicofisiológicas.

Los estudiantes fueron divididos en cuatro categorías: los grandes consumidores de cafeína (5 o más tazas de café por día) (Sólo 19 fueron caracterizados en este conjunto, de un total de 159 participantes); consumidores moderados (1 taza por día o más, pero menos de 5); consumidores bajos (menos de 1 taza por día); y los no consumidores. Las asignaciones fueron hechas basándose en los datos siguientes: 1 taza de café equivale a 74 mg de cafeína; 1 taza de té es equivalente a 1/2 taza de café, y 1 refresco de cola de 12 onzas es equivalente a 40 mg de cafeína. Los resultados establecen que los moderados y grandes consumidores presentan sensible elevación en depresión, ansiedad, comparado con los no consumidores.

También en el grupo de grandes consumidores, reportan un significativo aumento en los síntomas de cafeinismo, alta

frecuencia en desórdenes psicofisiológicos y bajo aprovechamiento académico⁴⁴.

Seguramente las divergencias en torno a las consecuencias reales o aparentes, derivadas del consumo de cafeína, continuaron pero consideramos haber señalado objetivamente los elementos de juicio suficiente para que el consumidor tome la última palabra.

1.8 FUNDAMENTOS DE LOS METODOS ANALITICOS EMPLEADOS EN ESTE TRABAJO, PARA LA DETERMINACION DE SACARINA, CAFEINA Y BENZOATO DE SODIO EN REFRESCOS DE COLA ENVASADOS EN MEXICO.

TECNICA No. 1

Determinación cuantitativa de sacarina en productos alimenticios por espectrofotometría ultravioleta⁴⁵.

El análisis se inicia eliminando las sustancias que interfieren con CCl_4 en medio ácido, lo que permite a la sacarina permanecer en la fase acuosa, y posteriormente extraerla utilizando como solvente CHCl_3 . Cuando el proceso de extracción y secado se ha completado, se elimina el solvente por evaporación y se combina la sacarina con una solución de Na_2CO_3 aprovechando de esta manera la alta solubilidad de la sacarina y su sal sódica en la solución de Na_2CO_3 , así también como la absorción característica que presenta esta solución en los rangos de:

235-229 y 265-275 nm.

La eficiencia del método está limitada por la interferencia de sustancias que absorben en el mismo rango y no fueron eliminadas como lo plantea el inicio del procedimiento; además, este método sólo puede aplicarse a rangos de concentración que como mínimo tengan 0.03 mg de sacarina/ml de muestra.

TECNICA No. 2

Determinación colorimétrica de sacarina en alimentos⁴⁶. En este método, la sacarina es aislada por extracción con mezcla de solventes (CHCl_3 - C_6H_6), los cuales son eliminados por evaporación, y la sacarina convertida a fenolsulfotaleina por calentamiento con fenol y ácido sulfúrico a 175°C , siguiendo con un tratamiento de hidróxido de sodio. El color rojo producido por la fenolsulfotaleina en medio básico, obedece la Ley de Beer, hasta en un rango de concentración de 2-8 $\mu\text{g/ml}$, la máxima absorbancia se observa a 558 nm y sustancias tales como benzoatos, no interfieren en el análisis, debido a que la reacción es específica para sacarina.

El método puede modificarse incrementando la formación del color por aumento en la temperatura de reacción, lo que convierte a esta parte en la etapa crítica.

Aun cuando reportaron resultados satisfactorios, los autores no recomiendan como oficial este método, por los

altos coeficientes de variación, que, para algunos casos fue hasta del 18.8%, por lo cual, para que el método pueda considerarse aceptable, el coeficiente de variación no debe ser mayor al 5%.

TECNICA No. 3

Determinación de cafeína en bebidas no alcohólicas por espectrofotometría ultravioleta⁶⁷.

La fundamentación del método es bastante simple, por lo que, prácticamente se le puede considerar constituido por dos etapas. La primera consiste en oxidar con KMnO_4 las sustancias que pudieran interferir en la determinación; y, la segunda, en extraer la cafeína con CHCl_3 , para que de esta manera sea directamente leída en el espectrofotómetro y determinada su concentración en la curva patrón. La eficiencia del método permite determinar concentraciones hasta de 1 ng/100 ml de muestra.

TECNICA No. 4

Determinación de sacarina, cafeína y benzoato de sodio en refrescos de cola por cromatografía de líquidos de alta presión en fase inversa⁶⁸.

La cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC) es una técnica para separar los componentes de una mezcla química. Estos componentes se encuentran disueltos en un

solvente líquido y son forzados a fluir a través de una columna bajo alta presión. En esta columna, la mezcla es resuelta en sus componentes y el grado de resolución depende del rango de interacción entre los componentes del soluto y la fase estacionaria, definiendo como fase estacionaria el material con el que se encuentra empacada la columna.

La parte que se encuentra en movimiento en el sistema se la llama fase móvil que es un líquido. La interacción del soluto con la fase móvil y estacionaria, puede manejarse para combinar diferentes solventes y columnas, lo que repercute en un alto grado de versatilidad y facilidad para analizar una gran variedad de mezclas químicas con un alto grado de exactitud. Para esta técnica se reportan coeficientes de variaciones, sacarina $\pm 0.6\%$ como mínimo y $\pm 1.7\%$ para benzoato de sodio como máximo.

TECNICA No. 4

Determinación de sacarina en refrescos por cromatografía gas-líquido⁴⁹.

El procedimiento está basado en la preparación de la muestra y la inyección de la misma. La preparación se inicia con la extracción usando como solvente éter dietílico de sustancias que interfieren en el análisis del refresco en medio básico, lo que garantiza la permanencia de la sacarina en la fase acuosa; esta fase es acidulada

para extraer la sacarina con acetato de etilo; cuando se ha completado la extracción, el solvente se elimina por evaporación y en el residuo que contiene sacarina se adiciona acetato de etilo y solución de diazometano, lo que transforma la sacarina en su derivado N-metilado.

El derivado es analizado por GLC, usando como estándar interno metil estearato.

La técnica resulta bastante rápida, exacta y fácil de reproducir, sin embargo, sólo se aplicó en análisis de refrescos dietéticos, lo que puede convertirse en limitante para utilizarse en refrescos cuya concentración de sacarina es muy baja.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 TECNICA No. 1. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR SACARINA EN REFRESCOS DIETETICOS QUE CONTIENEN BENZOATOS Y SABORIZANTES.REACTIVOS Y APARATOS:

Sacarina sódica. USP Mallinck Roat Chemical Works

CCl_4 , destilado

CHCl_3 , destilado

H_2O , destilada

HCl , concentración mínima 36.5%; máxima 38% P/V

Densidad mínima 1.18; máxima 1.19 g/ml

Na_2CO_3 deshidratado a temperatura de 80°C , durante 2 hs

SPG 400 UV Espectrofotómetro PYE UNICAM

Celdas de cuarzo de 10 cc.

a)- Tomar una alícuota de 20 ml de refresco, desgasificado mediante agitación magnética, durante 60 minutos. Transferir a un embudo de separación de 250 ml; adicionar 65 ml de agua destilada y 15 ml de HCl concentrado.

Mezclar perfectamente y añadir 50 ml de CCl_4 , agitar durante uno o dos minutos, dejar en reposo hasta que las capas alcancen el equilibrio.

Desechar la fase orgánica junto con cualquier emulsión formada. (Si la emulsión formada dificulta la separación, es posible romperla agregando aproximadamente 1 g de NaCl).

De la fase acuosa tomar una alícuota de 50 ml, transferir a un embudo de separación de 125 ml, adicionar 35 ml de CHCl_3 y agitar durante uno o dos minutos; dejar reposar hasta que las capas alcancen el equilibrio y colectar la fase orgánica haciéndola pasar a través de un filtro de algodón o fibra de vidrio.

Realizar la extracción 3 veces utilizando en cada caso, igual cantidad de solvente (35 ml de CHCl_3).

Completada la extracción, desechar la fase acuosa, lavar el embudo que la contenía, con 2 ml de CHCl_3 y filtrar. Presionar el filtro con una espátula para liberar el solvente retenido y añadirlo con el solvente de los lavados a los extractos.

Vaciar el producto de la extracción a un matraz bola 24/40, acoplar el rotavapor y eliminar el solvente hasta sequedad. Cuando la evaporación ha sido completada, retirar el matraz del rotavapor y añadir 20 ml de solución de Na_2CO_3 al 1%; colocar el matraz en baño maría durante 5 minutos. Pasado ese tiempo, enfriar la solución y transferir a un matraz aforado de 100 ml; diluir hasta este volumen con solución de Na_2CO_3 al 1% y leer como indica el inciso c).

b)- Preparación de solución patrón de sacarina:

Pesar exactamente 100 mg de sacarina sódica, disolver los en agua y transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 100 ml, diluir hasta este volumen con agua destilada.

c)- Obtención de la curva patrón de sacarina:

Tomar alícuotas de 1 hasta 8 ml de la solución patrón de sacarina. Colocar a cada una en embudos de separación de 125 ml, añadir a cada alícuota el doble de su volumen de HCl concentrado y agua destilada, hasta tener en cada caso un volumen final de 60 ml; mezclar perfectamente y adicionar 50 ml de CCl_4 , continuar el procedimiento como se señala en el inciso a), agitar durante uno o dos minutos, dejar en reposo hasta que las capas alcancen el equilibrio. Desechar la fase orgánica.

Leer las muestras y patrones en el rango de 240 a 285 nm, utilizar como blanco solución de Na_2CO_3 al 1%.

Graficar absorbancia máxima contra concentración en mg.

Para calcular la concentración de sacarina en la muestra, utilizar: $\text{sacarina en (mg/100 ml)} = (\text{mg determinados en la curva}) (100/\text{vol. alícuota})$.

2.2 TECNICA No. 2. DETERMINACION COLORIMETRICA DE SACARINA EN ALIMENTOS

REACTIVOS Y APARATOS:

Sacarina sódica. USP Mallinck Roat Chemical Works

CHCl_3 , destilado

C_6H_6 , destilado

CH_3OH , destilado

Fenol ACS Técnica Química

HCl , concentrado (especificaciones en Técnica No. 1)

H_2SO_4 , concentrado

Solución NaOH IN

Solución NaOH 20%

Na_2SO_4 , anhidro

H_2O , destilada

Colorímetro Spectronic 20 Bausch & Lomb

Celdas de vidrio de 10 cc.

a)- Tomar una alícuota de 10 ml de refresco, desgasificado mediante agitación magnética durante 60 minutos, o mayor, si la concentración es menor a 0.5 mg de sacarina/100 g de muestra. Transferir a un embudo de separación de 125 ml; adicionar 15 ml de agua destilada y 0.5 ml de NaOH IN. Extraer con 50 ml de una mezcla de solventes (CHCl_3 - C_6H_6) en proporción 95:5 respectivamente. Agitar durante uno o dos minutos, dejar que las capas alcancen el equilibrio y desechar la fase orgánica. Continuar como indica la determinación. Adicionar 5 ml de HCl diluido (1:4), extraer con la mezcla de solventes.

b)- Preparación de la solución patrón de sacarina:

Pesar exactamente 100 mg de sacarina sódica, disolver en 20 ml de metanol, transferir cuantitativamente a

un matraz volumétrico de 500 ml y diluir hasta este volumen, con agua destilada.

c)- Obtención de la curva patrón de sacarina:

Tomar alícuotas de 10, 15, 20 y 25 ml de solución patrón, transferir a embudos de separación de 125 ml, agregar 10 ml de agua destilada y continuar como indica la determinación. Adicionar 5 ml de HCl diluido (1:4), extraer con la mezcla de solventes.

d)- Determinación:

Tomar y tratar las alícuotas, como indican los incisos a) y c). Adicionar 5 ml de HCl diluido (1:4), extraer la fase acuosa con 50, 30 y 20 ml de la mezcla de solventes, filtrar cada uno de los extractos a través de un embudo que retiene aproximadamente 10 g de Na_2SO_4 anhidro, por medio de fibra de vidrio. Colectar los extractos en un matraz aforado de 100 ml y diluir hasta este volumen con la mezcla de solventes. Tomar del volumen anterior una alícuota de 20 ml y transferir a un matraz Erlenmeyer de 50 ml. Evaporar la mezcla de solventes en baño maría hasta sequedad. Completar el secado en una estufa a temperatura de 100°C durante 20 minutos. "Pipetear" con precaución 2.5 ml de fenol fundido y vaciarlo al matraz Erlenmeyer, agitar hasta disolver el residuo, añadir 1.5 ml de H_2SO_4 concentrado, mezclar perfectamente hasta homogeneizar.

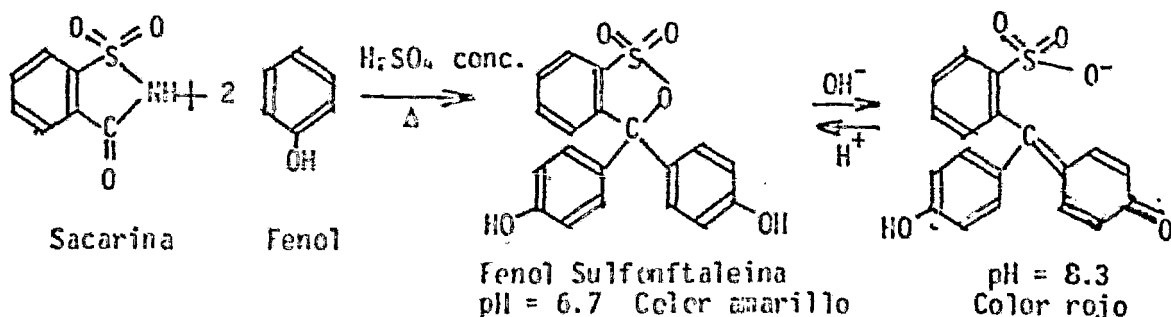
Mezclar en un matraz Erlenmeyer de 50 ml, 2.5 ml de

fenol fundido y 1.5 ml de H_2SO_4 concentrado, para preparar el blanco o testigo. Tapar perfectamente cada uno de los matraces con papel aluminio y colocarlos en un horno a temperatura de $175^\circ C$ durante dos horas. Cuando ha transcurrido este tiempo, retirar los matraces del horno, enfriar hasta una temperatura inferior a $100^\circ C$. Adicionar 30 ml de agua caliente ($60-70^\circ C$) y 10 ml de solución de NaOH al 20%, mezclar y transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 100 ml diluir hasta este volumen con agua destilada. Leer la absorbancia de cada una de las muestras y patrones en un espectrofotómetro a 558 nm, contra el blanco. Comparar las absorbancias de las muestras con los patrones usando la fórmula siguiente:

$$\text{mg sacarina/100 g de muestra} = \frac{(\text{Ax mg, del patrón} \times 100)}{(\text{A}' \times \text{g (oml) muestra})}$$

Donde, A = Absorbancia del patrón,

A' = Absorbancia del problema.



2.3 TECNICA No. 3. DETERMINACION DE CAFEINA EN BEBIDAS NO ALCOHOLICAS

REACTIVOS Y APARATOS:

- a)- SOLUCION REDUCTORA. Disolver 5 g de Na_2SO_3 y 5 g de KSCN en agua destilada y diluir hasta 100 ml.
- b)- SOLUCION DILUIDA DE ACIDO FOSFORICO. Diluir 15 ml de H_3PO_4 concentrado con 85 ml de agua destilada.
- c)- SOLUCION DE HIDROXIDO DE SODIO. Disolver 25 g de NaOH en 75 ml de agua destilada.
- d)- SOLUCION OXIDANTE. Pesar 1.5 g de KMnO_4 disolver en agua destilada y diluir hasta 100 ml.
- e)- SOLUCION PATRON DE CAFEINA. 1 mg/ml de CHCl_3 . Disolver 100 mg de cafeína anhidra, purificada por sublimación en CHCl_3 , transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 100 ml y diluir con CHCl_3 hasta este volumen.

SP6-400 UV Espectrofotómetro PYE UNICAM

Celdas de cuarzo de 10 cc.

Obtención de la curva patrón de cafeína:

Preparar diluciones que contengan 0.1, 0.25, 0.50,

1.0, 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0 mg de cafeína/100 ml de

CHCl_3 , leer cada una a 276.5 nm y graficar absorbancia contra concentración.

Determinación:

Tomar una alícuota de 10 ml de refresco desgasificado

mediante agitación magnética durante 60 minutos. Transferir a un embudo de separación de 125 ml, adicionar 5 ml de solución oxidante (sol. d) y agitar. Exactamente 5 minutos después, añadir 10 ml de solución reductora (sol. a), mezclar y añadir 1 ml de solución diluida de H_3PO_4 (sol. b), 1 ml de solución de NaOH (sol. c), y 50 ml de $CHCl_3$. Agitar un minuto, dejar que las capas alcancen el equilibrio. Recolectar filtrando en papel la fase orgánica, en un matraz aforado de 100 ml. Lavar en papel y embudo con 2 ó 3 ml de $CHCl_3$, adicionar el solvente de los lavados al extracto. Repetir la extracción con 4 ml de $CHCl_3$ siguiendo exactamente el mismo procedimiento indicado en la primera extracción.

Aforar hasta un volumen de 100 ml con $CHCl_3$ y determinar la absorbancia de esta solución a 276.5 nm, utilizar en la lectura como blanco, $CHCl_3$.

Determinar la concentración de cafeína de las muestras en la curva patrón.

2.4 TECNICA No. 4. DETERMINACION DE SACARINA, CAFEINA Y BENZOATO DE SODIO EN REFRESCOS POR CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS DE ALTA PRESION EN FASE INVERSA.

APARATOS Y REACTIVOS:

- a)- Cromatógrafo Perkin-Elmer, modelo 604, equipado con bomba de 6000 Psi.

- b)- Detector; espectrofotómetro Perkin-Elmer, modelo LC-55.
- c)- Registrador Perkin-Elmer, modelo 123.
- d)- Columna: 25 cm X 46 mm, ODS-SIL-X.1 Número de parte 0890706 de Perkin-Elmer.
- e)- Jeringa Hamilton (Reno, Nevada), de 25 µl con número de catálogo 227-992 (Curtin).
- f)- Agua QP destilada (Lab. Theissier) y desgasificada mediante agitación magnética.
- g)- Fase móvil:
Acido acético glacial RA (Merck número de catálogo 506-110) al 2.5% V/V en agua QP.
- h)- Solución patrón de sacarina sódica USP (Mallinck Roat Chemical Works)
Disolver en agua QP, transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 100 ml y diluir hasta este volumen con agua QP.
- i)- Solución patrón del benzoato de sodio.
Pesar 100 mg de benzoato de sodio (obtenido a partir de metóxido de sodio y ácido benzoico disuelto en éter etílico anhidro), disolver en agua QP, transferir en un matraz aforado de 100 ml, diluir hasta este volumen con agua QP.
- j)- Solución patrón de cafeína USP,
Pesar 100 mg de cafeína anhidra, disolver en agua QP, transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 100 ml y diluir hasta este volumen con agua QP.

Condiciones de Operación:

Flujo 1.5 ml/minuto.

Presión 500 Psi.

Temperatura 30°C

Longitud de onda 254 nm

Voltaje del registrador 10 milivolts

Velocidad de papel 12 pulgadas/hora

Fase móvil, inciso g)

PREPARACION DE LA MUESTRA:

Desgasificar los refrescos mediante agitación magnética durante 60 minutos.

Procedimiento No. 1. - Inyectar 10 µl de cada una de las soluciones patrón, para establecer los tiempos de retención y ajustar el tamaño de la señal (cromatograma), posteriormente, inyectar una mezcla de soluciones patrón.

Proceder a la inyección de las muestras de refrescos y en el caso que se detecte la presencia de sacarina, añadir solución patrón de sacarina (5 ml por cada 20 ml de refresco, para confirmar su presencia).

Procedimiento No. 2. - Determinación de cafeína en ausencia de benzoato de sodio.

Modificaciones al Método General:

I - Fase Móvil. Acido acético glacial RA (Merck número de catálogo 506-110) al 2.5% V/V, n-propanol RA (Merck número de catálogo 209-634) al 2.5% V/V y agua QP desgasificada (Lab. Theissier) 95% V/V.

k)- Solución patrón de cafeína.

Tomar una alícuota de 10 ml de la solución j), transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 100 ml y diluir con agua QP hasta este volumen, para tener una concentración final de cafeína de 0.1 mg/ml.

Condiciones de Operación:

Modificar la longitud de onda de 254 a 274 nm y mantener el resto de las condiciones sin alteraciones.

Preparación de la muestra: Desgasificar el refresco mediante agitación magnética durante 60 minutos.

Procedimiento: Inyectar 25 μ l de la solución patrón de cafeína, ajustar el tamaño de la señal.

Inyectar 25 μ l de refresco desgasificado, alternando con la inyección de la solución patrón.

Expresión utilizada para calcular la concentración de cafeína en la muestra.

C_p = Concentración de sacarina en el patrón (mg/ml)

A_m = Area de la muestra

A_p = Area del patrón

$C_{mc} = \left(\frac{A_m}{A_p}\right) C_p$ donde:

C_{mc} = Concentración de cafeína en la muestra (mg/ml)

C_p = Concentración de Cafeína en el patrón (mg/ml)

A_m = Area de la muestra

A_p = Area del patrón.

Procedimiento No. 3. - Determinación simultánea de sacarina y cafeína en refrescos de cola.

Modificaciones del Método General:

- a)- Columna; 39 mm X 30 cm μ Bondapack 18 número de parte 27334 de Waters Millipore.
- b)- Solución patrón de sacarina; concentración 0.1 mg/ml.
- c)- Solución patrón de cafeína; concentración 0.2 mg/ml.
- d)- Fase Móvil; ácido acético glacial RA al 2.5% v/v en agua QP pesar 22.98 g de anhídrido acético RA (Técnica química, número de catálogo A 1820), transferir cuantitativamente a un matraz aferado de 1000 ml y diluir hasta este volumen con agua QP, dejar con agitación el matraz durante 24 horas para hidrolizar el anhídrido a ácido acético.

Condiciones de Operación:

Flujo, 2ml/minuto

Presión, 2500 Psi

Colocar la escala del detector en "concentración" a $\lambda = 254 \text{ nm}$

Preparación de la muestra: , Concentrar por evaporación la muestra de refresco hasta el 50% de su volumen original.

Procedimiento: Inyectar 25 μ l de solución patrón de sacarina y ajustar el tamaño de la señal. Inyectar el mismo volumen de concentrado de refresco y aproximadamente dos minutos después que el registrador ha graficado la señal de sacarina, inyectar 25 μ l de so-

lución patrón de cafeína, para que las señales producidas por la cafeína contenida en el refresco y la cafeína contenida en el patrón, aparezcan con una diferencia de tiempo equivalente al tiempo transcurrido, desde el momento de la inyección hasta la aparición de la señal de la sacarina.

Este procedimiento debe repetirse tantas veces como número de muestras sean analizadas.

Expresiones utilizadas para el cálculo de la concentración de sacarina y cafeína en la muestra,

$$Cms = \frac{1}{2} \left(\frac{Am}{Ap} \right) Cp \quad \text{donde:}$$

Cms = Concentración de sacarina en la muestra (mg/ml)

Cp = Concentración de sacarina en el patrón (mg/ml)

Am = Area de la muestra

Ap = Area del patrón

$$Cmc = \frac{1}{2} \left(\frac{Am}{Ap} \right) Cp \quad \text{donde:}$$

Cmc = Concentración de cafeína en la muestra (mg/ml)

Cp = Concentración de cafeína en el patrón (mg/ml)

Am = Area de la muestra

Ap = Area del patrón

NOTA.- El factor $\frac{1}{2}$ que aparece en las dos expresiones es motivado por la corrección del volumen al haber evaporado al 50%.

2.5 TECNICA No. 5. DETERMINACION DE SACARINA EN REFRESCOS
POR CROMATOGRAFIA GAS-LIQUIDO

REACTIVOS Y APARATOS:

- a)- Solventes; Eter dietílico anhidro R.A. Técnica Química, S.A., número de catálogo 1710.
Acetato de etilo R.A., J.T. Baker, S.A. de C.V., número de catálogo 9280.
Metanol anhidro.
- b)- Sacarina sódica USP Mallinck Roat Chemical Works.
- c)- Solución de ácido esteárico: Disolver 250 mg de ácido esteárico en acetato de etilo y transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 100 ml y diluir con acetato de etilo hasta este volumen.
- d)- Diazometano; Preparar como se indica en:
Org. Syn., Coll. Vol. 2 461 (1943), Ibid. Vol. 2 165 (1943).
- e)- Cromatógrafo de Gases; Perkin-Elmer, modelo 3920.
- f)- Integrador Sigma 10 Perkin-Elmer.

Procedimiento: Tomar una alícuota de 20 ml de refresco desgasificado mediante agitación magnética durante 60 minutos. Transferir a un embudo de separación de 125 ml. Añadir 2 ml de solución NaOH 10N y extraer con dos porciones de 25 ml cada una de éter dietílico, combinar los extractos orgánicos y lavarlos con 20 ml de agua QP, agregar el agua de los lavados a la fase acuo

sa y desechar la capa etérea. Acidular la capa acuosa con 5 ml de H_2SO_4 5N y 1 ml de solución de ácido esteárico (Solución c). Extraer con tres porciones de 25 ml cada una de acetato de etilo, combinar y lavar los estratos orgánicos con 20 ml de agua QP, secar la capa orgánica con sulfato de sodio anhidro y evaporar hasta sequedad en baño maría.

Disolver el residuo de la evaporación con 2 ml de acetato de etilo y adicionar solución etérea de diazometano hasta que persista el color amarillo durante 5 minutos. Evaporar el exceso de diazometano y disolver el residuo en éter dietílico. Analizar por cromatografía de gas-líquido.

Calcular el contenido de sacarina en 10 onzas de refresco, utilizando la siguiente expresión:

Sacarina (mg/oz) = $(A_s \times R_s \times W_i \times 14) / A_i$ donde:

A_s = Area del pico de sacarina

A_i = Area del estándar interno

R_s = Factor de respuesta relativa para derivado de sacarina

W_i = mg de estándar interno.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

Este capítulo está constituido por la presentación e interpretación de los resultados obtenidos al ensayar cada una de las técnicas analíticas.

3.1 RESULTADOS Y DISCUSION SOBRE LA TECNICA No. 1

Las muestras que constituyeron la curva patrón (8 muestras con concentración de 1 a 8 mg de sacarina/100 ml), se trataron como lo indica la técnica y fueron llevadas a la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química, U.N.A.M., para obtener el espectro ultravioleta de cada una, sin embargo, ninguna muestra produjo señal apreciable (Figura 1). Consideramos que la ausencia de señal fue causada por la baja concentración de sacarina en la solución patrón por lo que se decidió repetir la experiencia elevando la concentración de las muestras 10 veces, con lo que se obtuvieron espectros perfectamente claros (Figura 2).

Además de los espectros de sacarina, se obtuvieron los de cafeína y benzoato de sodio, con la idea de conocer los máximos de absorción de estos dos compuestos (Figura 3). De la interpretación de los espectros se dedujo lo siguiente:

a)- La sacarina absorbe en dos regiones del espectro ultravioleta; la primera de 222 a 244 y la segunda de

250 a 285 nm presentando los máximos de absorción a 231 y 270 nm, siendo mucho más pronunciado el primero que el segundo (Figura 2).

b)- La cafeína absorbe en la región comprendida entre 250 290 nm, presentando el máximo de absorción a 275 nm y el benzoato de sodio absorbe de 225-242 nm, presentando su máximo de absorción a 232 nm (Figura 3).

Según los datos mencionados, el primer rango de absorción de la sacarina coincide con el rango de absorción del benzoato de sodio y el segundo rango de absorción de la sacarina coincide con el rango de absorción de la cafeína. Ambos aspectos deben tomarse en consideración en la interpretación de los resultados.

TABLA 1

LECTURAS OBTENIDAS UTILIZANDO EL ESPECTROFOTOMETRO SP6-400
UV PARA LAS MUESTRAS DE LA CURVA PATRON CUYA CONCENTRACION
ESTA EXPRESADA EN mg SACARINA/100 ml MUESTRA

<u>mg Sac/100 ml</u>	<u>10</u>	<u>20</u>	<u>30</u>	<u>40</u>	<u>50</u>	<u>60</u>	<u>70</u>	<u>80</u>
λ nm 240	0.14	0.349	0.48	0.62	0.608	0.818	0.79	0.87
245	0.060	0.19	0.29	0.31	0.306	0.445	0.375	0.425
250	0.050	0.152	0.22	0.255	0.24	0.365	0.295	0.35
255	0.048	0.142	0.272	0.281	0.252	0.39	0.352	0.392
260	0.058	0.165	0.32	0.29	0.285	0.433	0.37	0.415
265	0.052	0.152	0.280	0.313	0.308	0.465	0.482	0.465
270	0.064	0.168	0.285	0.318	0.315	0.47	0.428	0.48
275	0.060	0.155	0.262	0.314	0.38	0.469	0.415	0.47
280	0.056	0.153	0.25	0.3	0.3	0.46	0.38	0.435

Observando los datos anteriores puede constatarse que la máxima absorción presentada por la sacarina se dió a $\lambda = 240$ nm.

Con el objeto de verificar si la Técnica No. 1 y el aparato son confiables para el análisis, se repitió la obtención de la curva patrón, obteniéndose las lecturas siguientes:

TABLA 2

LECTURAS OBTENIDAS AL REPETIR EL PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE LA CURVA PATRON

mg Sac/100 ml	10	20	30	40	50	60	70	80
λ nm 240	0.109	0.292	0.448	0.558	0.63	0.87	0.768	0.884
245	0.029	0.16	0.27	0.298	0.245	0.485	0.393	0.47
250	0.019	0.124	0.244	0.23	0.823	0.398	0.315	0.382
255	0.02	0.115	0.26	0.242	0.242	0.41	0.531	0.40
260	0.028	0.132	0.262	0.25	0.284	0.458	0.38	0.44
265	0.025	0.125	0.265	0.274	0.291	0.465	0.41	0.493
270	0.042	0.148	0.268	0.284	0.312	0.48	0.45	0.52
275	0.035	0.145	0.25	0.283	0.306	0.475	0.426	0.508
280	0.031	0.115	0.23	0.27	0.272	0.442	0.39	0.47

Aun cuando existe concordancia en presentar las Tablas 1 y 2 como lecturas máximas las sostenidas a 240 y 270 nm, en términos generales se observan divergencias en las lecturas, por el mal funcionamiento del aparato o probable contaminación de reactivos.

Resultados del análisis practicado a refrescos de cola,
aplicando la Técnica No. 1.

TABLA 3

LECTURAS OBTENIDAS A PARTIR DEL ANALISIS HECHO A COCA-COLA
CHICA (presentacion 192 ml) USANDO 3 MUESTRAS DEL MISMO -
REFRESCO

<u>nm</u>	<u>Muestra 1</u>	<u>Muestra 2</u>	<u>Muestra 3</u>
240	0.438	0.33	0.332
245	0.398	0.308	0.273
250	0.383	0.298	0.257
255	0.415	0.30	0.276
260	0.477	0.344	0.333
265	0.538	0.403	0.42
270	0.598	0.443	0.49
275	0.665	0.495	0.55
280	0.67	0.532	0.565

TABLA 4

LECTURAS OBTENIDAS A PARTIR DEL ANALISIS HECHO A COCA-COLA
CHICA (presentacion 192 ml) USANDO TRES MUESTRAS DEL MIS-
MO REFRESCO

<u>nm</u>	<u>Muestra 1</u>	<u>Muestra 2</u>	<u>Muestra 3</u>
240	0.285	0.288	0.292
245	0.26	0.30	0.25
250	0.24	0.325	0.232
255	0.258	0.36	0.23

260	0.285	0.40	0.268
265	0.35	0.415	0.305
270	0.411	0.42	0.373
275	0.452	0.405	0.40
280	0.457	0.374	0.395

TABLA 5

LECTURAS OBTENIDAS A PARTIR DEL ANALISIS HECHO A COCA-COLA
MEDIANA (presentacion 355 ml) USANDO 3 MUESTRAS DEL MISMO
REFRESCO

<u>nm</u>	<u>Muestra 1</u>	<u>Muestra 2</u>	<u>Muestra 3</u>
240	0.03	0.45	0
245	0.025	0.38	0
250	0.035	0.308	0
255	0.053	0.272	0
260	0.065	0.27	0.035
265	0.1	0.276	0.05
270	0.12	0.29	0.09
275	0.138	0.31	0.12
280	0.142	0.315	0.13

En las Tablas 3, 4 y 5 encontraremos coincidencia en que se presenta como máximo de absorción $\lambda = 275$ nm mientras que sus divergencias son muy amplias lo que puede explicarse en función del defectuoso funcionamiento del aparato, por lo que se procedió a preparar soluciones de sacarina, cafeína y benzoato de sodio y mezclas de éstas, para analizarlas en las mismas condiciones que las muestras

de refrescos y con ello tratar de explicar el sensible aumento en la absorbancia dada a 275 nm.

TABLA 6

LECTURAS OBTENIDAS A PARTIR DEL ANALISIS HECHO A SOLUCIONES
DE SACARINA, CAFFINA Y SU MEZCLA

$\lambda = \text{nm}$	30 mg Sac/100 ml	50 mg Caf/100 ml	60 mg Sac/100 ml	Mezcla 50 mg + 50 mg Caf/100 ml
240	0.585	0.98	0.88	0.54
245	0.33	0.88	0.48	0.648
250	0.265	0.865	0.373	0.53
255	0.26	*	0.582	0.54
260	0.264	*	0.413	0.63
265	0.273	*	0.43	0.78
270	0.272	*	0.43	0.92
275	0.266	*	0.425	1.08
280	0.247	*	0.39	0.98

* Lectura no registrada

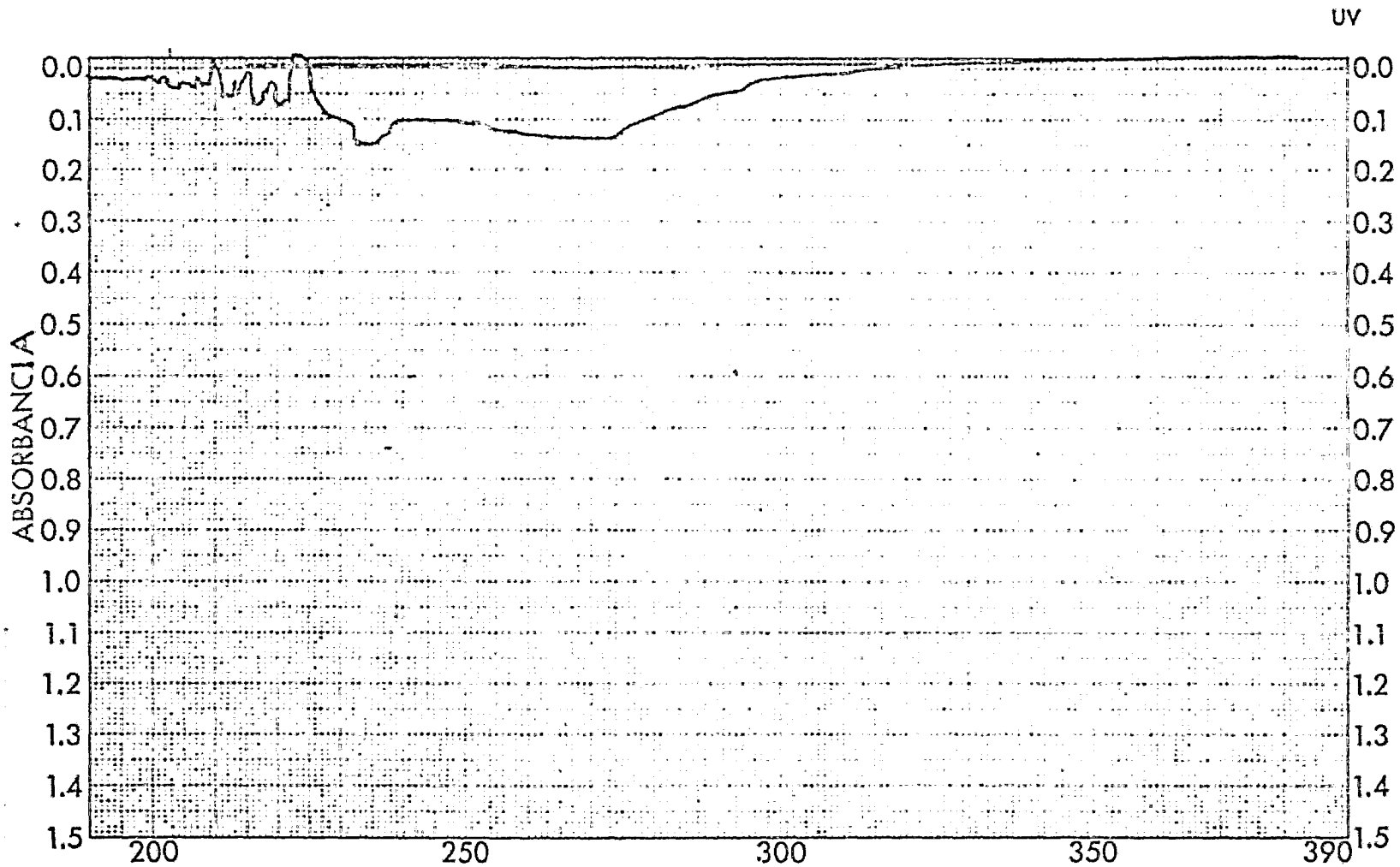


FIGURA 1 5 mg Sacarina Sódica/100 ml de Na₂CO₃ al 18

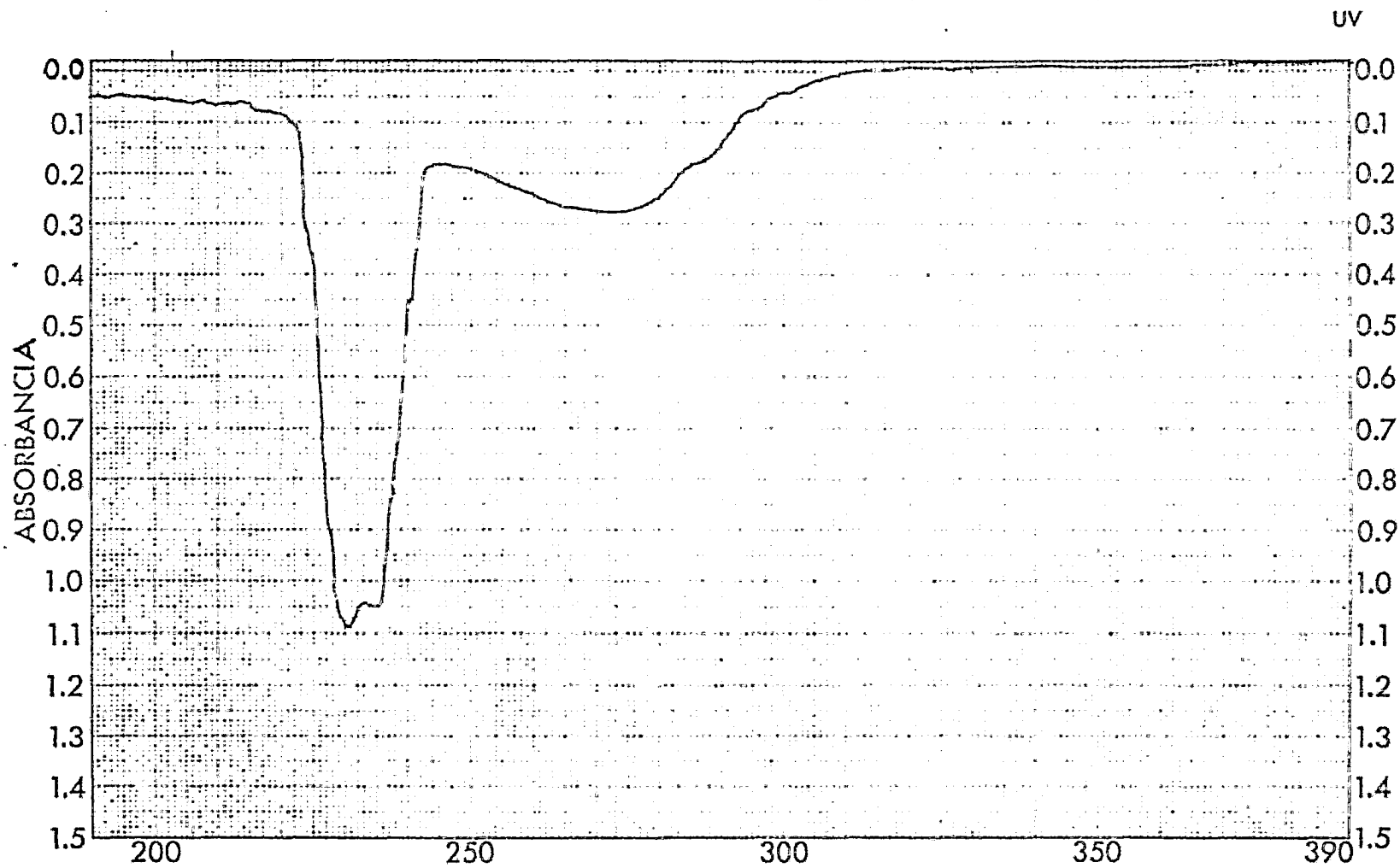


FIGURA 2 Sacarina Sódica/Na₂CO₃ a1 1% Conc. 50 mg/100 ml

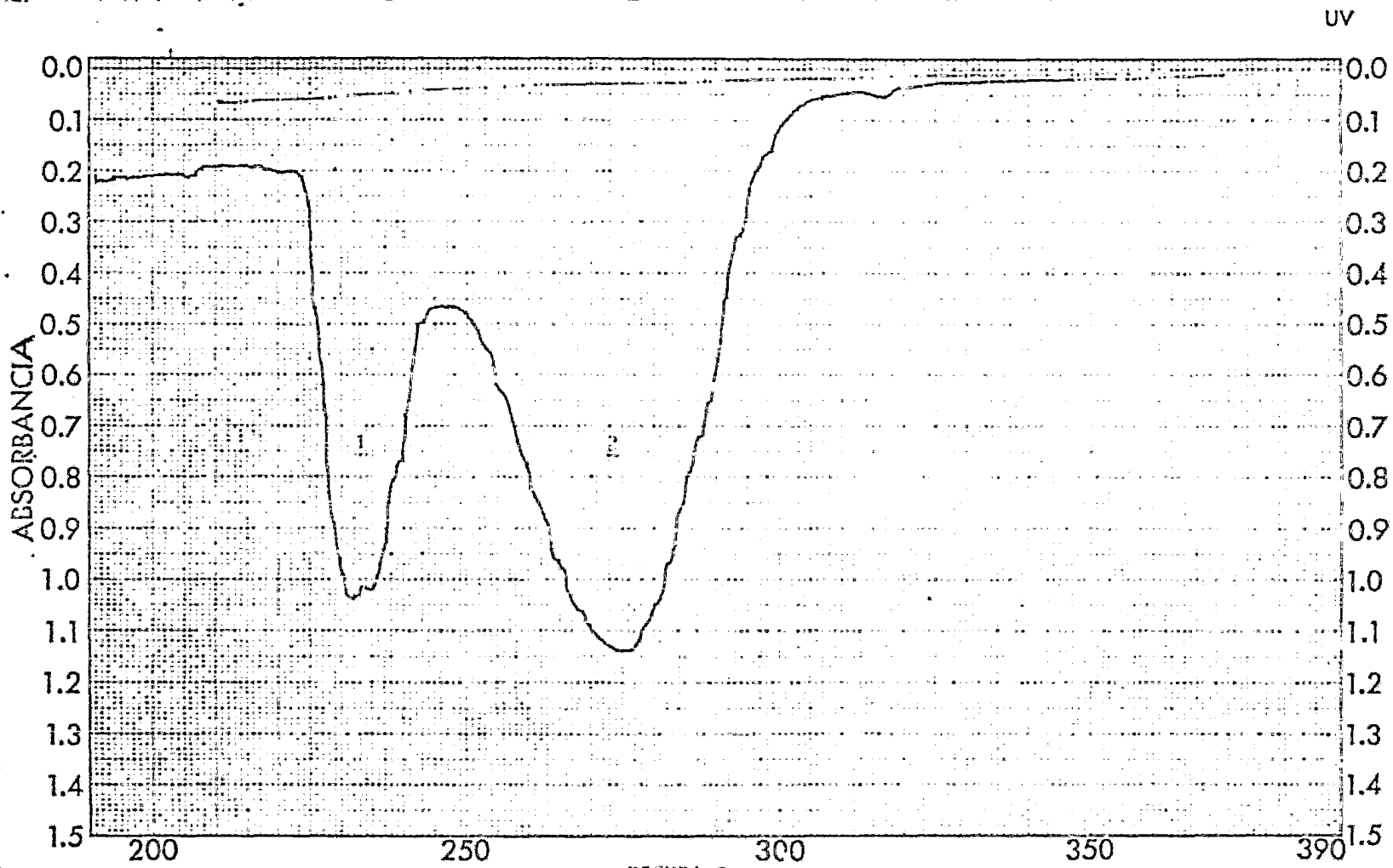


FIGURA 3

- 1 - Benzoato de Sodio/ Na_2CO_3 al 1% Conc. 50 mg/100 ml
- 2 - Cafeína/ Na_2CO_3 al 1% Conc. 50 mg/100 ml

3.2 DISCUSION Y RESULTADOS SOBRE LA TECNICA No. 2TABLA 7

LECTURAS OBTENIDAS EN LA CURVA PATRON DE SACARINA,
APLICANDO LA TECNICA No. 2

<u>Volumen de alícuota</u>	<u>Cantidad de Sacarina</u>	<u>Absorbancia</u>
5 ml	1 mg	0.274
10 ml	2 mg	0.37
15 ml	3 mg	0.68
20 ml	4 mg	0.815
25 ml	5 mg	0.73

TABLA 8

CON EL OBJETO DE CHECAR LA RESPUESTA DEL APARATO, SE TOMA-
RON 3 ALICUOTAS DE UNA MISMA MUESTRA Y SE TRATARON COMO IN-
DICA LA TECNICA No. 2, OBTENIENDOSE LAS SIGUIENTES LECTU-
RAS

<u>Tubo</u>	<u>Volumen alícuota de Solución patrón</u>	<u>Absorbancia</u>
1	5 ml	0.108
2	5 ml	0.125
3	5 ml	0.14

TABLA 9

DUPLICANDO EL VOLUMEN DE LAS ALICUOTAS SE OBTUVIERON LAS SIGUIENTES LECTURAS

<u>Tubo</u>	<u>Volumen alícuota de Solución patrón</u>	<u>Absorbancia</u>
1	10 ml	0.38
2	10 ml	0.286
3	10 ml	0.373

TABLA 10

LECTURAS OBTENIDAS AL ANALIZAR CON LA TECNICA No. 2, LOS SIGUIENTES REFRESCOS DE COLA, ANALIZANDO 3 MUESTRAS DE - CADA REFRESCO

<u>Absorbancia</u>	<u>Muestra 1</u>	<u>Muestra 2</u>	<u>Muestra 3</u>
Pepsi-Cola mediana (355 ml)	0.11	0.19	0.09
Pepsi-Cola familiar (769 ml)	0.24	0.175	0.13
Pepsi-Cola lata (355 ml)	0.16	0.30	0.23
Coca-Cola mediana (355 ml)	0.258	0.38	0.45
Arcy-Cola (475 ml)	0.48	0.85	0.37

TABLA 11

LECTURAS OBTENIDAS AL ANALIZAR CON LA TECNICA No. 2, VARIANDO SOLAMENTE EL VOLUMEN DE LA MEZCLA DE SOLVENTES EVAPORADOS HASTA SEQUEDAD DE 20 ml A 40 ml, DE LOS SIGUIENTES REFRESCOS.

(Cada análisis se hizo por triplicado)

<u>Absorbancia</u>	<u>Muestra 1</u>	<u>Muestra 2</u>	<u>Muestra 3</u>
<i>Pepsi-Cela</i> (355 ml) lata,	0.04	0.08	0.035
<i>Coca-Cela</i> (355 ml) norteamericana en lata,	0.022	-	-
<i>Coca-Cela</i> en vaso desechable,	0.085	0.083	0.083
<i>Shasta Cherry-Cela</i> (355 ml), refresco norteamericano dietético, (12 mg Soc/29.5 ml).	0.223	0.14	0.23

NOTA.- Para poder obtener la lectura del refresco dietético, fue necesario diluir (1:10).

Ante la gran divergencia presentada por los datos, surgen varias posibilidades de explicación:

- Mal funcionamiento del aparato y debido a las altas temperaturas de reacción (175°C), muchas veces los compuestos se carbonizaron, además, hubo casos en los cuales la absorción del blanco o testigo fue mayor que la que presentaron algunos refrescos.
- La técnica en general, probablemente con modificaciones pudiera ser aplicada a refrescos dietéticos.

3.3 RESULTADOS Y DISCUSION SOBRE LA TECNICA No. 3TABLA 12LECTURAS DE LA CURVA PATRON DE CAFEINA A $\lambda=276.5$ nm

<u>Conc. mg Cafeína/100 ml</u>	<u>Absorbancia</u>
0.12 mg/100 ml	0.03
0.24 "	0.065
0.48 "	0.15
0.96 "	0.32
1.2 "	0.405
2.4 "	0.83

La curva patrón trazada con los datos anteriores, aparece en la Figura 4. Con la finalidad de comprobar la eficiencia del método analítico se combinaron los siguientes compuestos:

MEZCLA 1

- 1)- 20 ml de solución de sacarina sódica de concentración 100 mg Sac/500 ml.
- 2)- 10 ml de solución de cafeína de concentración 120 mg Caf/100 ml.
- 3)- 0.6 ml de H_3PO_4 concentrado.
- 4)- 1 g de ácido cítrico.
- 5)- 0.05 g de benzoato de sodio.

Una vez hecha la mezcla, fue vaciada en un matraz aforado de 100 ml y diluida hasta este volumen con agua destilada.

da.

Se tomaron 3 alícuotas de 10 ml cada una y fueron tratadas como indica la determinación de la Técnica No. 3, al finalizar el análisis, las lecturas obtenidas fueron las siguientes:

TABLA 12

LECTURAS DE LA MEZCLA A $\lambda=276.5$ nm

<u>Alícuota</u>	<u>Absorbancia</u>
1	0.325
2	0.29
3	0.29

La lectura teórica debió haber sido 0.4 que corresponde a una concentración de 1.2 mg/100 ml, sin embargo, la lectura obtenida en promedio representa una pérdida del 30% atribuible a pérdidas en la extracción, oxidación de parte de la cafeína, impureza del patrón, mal funcionamiento del aparato e incluso, la combinación de los efectos.

TABLA 13

REPITIENDO EL PROCESO Y MODIFICANDO LOS VOLUMENES DE EXTRACCION SE OBTUVIERON LOS SIGUIENTES RESULTADOS

	<u>Vol. de extracción de CHCl₃</u>	<u>Absorbancia $\lambda=276.5$ nm</u>
Alícuota 4	50 ml, 30 ml, 20 ml,	0.29
Alícuota 5	40 ml, 30 ml, 20 ml, 10 ml,	0.285
Alícuota 6	30 ml, 20 ml, 20 ml, 10 ml, 10 ml,	0.27

Como puede observarse, la variación en los volúmenes de extracción, prácticamente no alteran los resultados, por lo cual se decidió investigar otras posibilidades.

Para verificar el rango de comportamiento lineal de la curva patrón y la influencia del pH en el resultado de las lecturas, fue preparada la siguiente mezcla:

MEZCLA 2

- 1)- 20 ml de solución de sacarina sódica de concentración 100 mg/500 ml.
- 2)- 10 ml de solución de cafeína de concentración 70 mg/100 ml.
- 3)- 0.6 ml de H₃PO₄, concentrado.
- 4)- 1 g de ácido cítrico.
- 5)- 0.05 g de benzoato de sodio.

Los compuestos anteriores se mezclaron y aforaron con agua destilada a 100 ml.

De la mezcla anterior se tomaron 3 alícuotas de 10 ml cada una y fueron tratadas como indica la Técnica No. 3, variando la cantidad de solución NaOH (sol. c), como se indica en la Tabla 14.

TABLA 14

LECTURAS OBTENIDAS A $\lambda = 276.5 \text{ nm}$, VARIANDO CANTIDAD DE (SOL. c)

Alícuota	Vol. de solución NaOH		Absorbancia
	agregado	pH	
1	1.5 ml	7.3	0.155
2	1.5 ml	12.4	0.212
3	2.5 ml	13.3	0.205

Los resultados anteriores nos sugieren que la extracción debe hacerse a un pH = 12.

Para probar el rango de la curva, se tomaron dos alícuotas de 5 ml y 20 ml de Mezcla 2, y se trataron como indica la Técnica No. 3, obteniéndose las siguientes lecturas a $\lambda = 276.5 \text{ nm}$.

TABLA 15

	Conc. real	Lectura teórica	Lectura experimental	Conc. det. en la curva
Alíc. 5 ml	0.35mg/100 ml	0.11	0.06	0.22mg/100 ml
Alíc. 20 ml	1.40mg/100 ml	0.475	0.38	1.1 ng/100 ml

En el primer caso hubo pérdidas del orden de 37%, y en segundo, de 22%.

Con el propósito de establecer si el porcentaje de pérdi

da permanece constante; se tomó una alícuota de 10 ml de mezcla sintética concentrada 0.70 mg Cafeína/100 ml y fue tratada como indica la Técnica No. 3, obteniéndose los siguientes resultados

TABLA 16

<u>Vol. Alíc.</u>	<u>Concentración</u>	<u>Lect. Teór.</u>	<u>Lect. Expe rimental</u>	<u>Conc. det. en la curva</u>
10 ml	0.70mg Caf/100ml	0.23	0.13	0.42mg Caf/100 ml

La pérdida para este caso fue del 40%.

Con el objeto de verificar el funcionamiento del aparato y a la vez averiguar si es posible aplicar el método modificando la forma de obtención de la curva patrón Se procedió a tratar como lo señala la Técnica No. 5, a soluciones patrones de cafeína.

TABLA 17

LECTURAS OBTENIDAS AL APLICAR LA TECNICA No. 3 A LA CURVA PATRON A 276.5 nm

<u>Conc. Cafeína</u>	<u>Absorbancia</u>
0.46 mg/100 ml	0.065
1.16 mg/100 ml	0.153
2.33 mg/100 ml	0.26
3.5 mg/100 ml	0.418
4.6 mg/100 ml	0.555
7 mg/100 ml	0.842

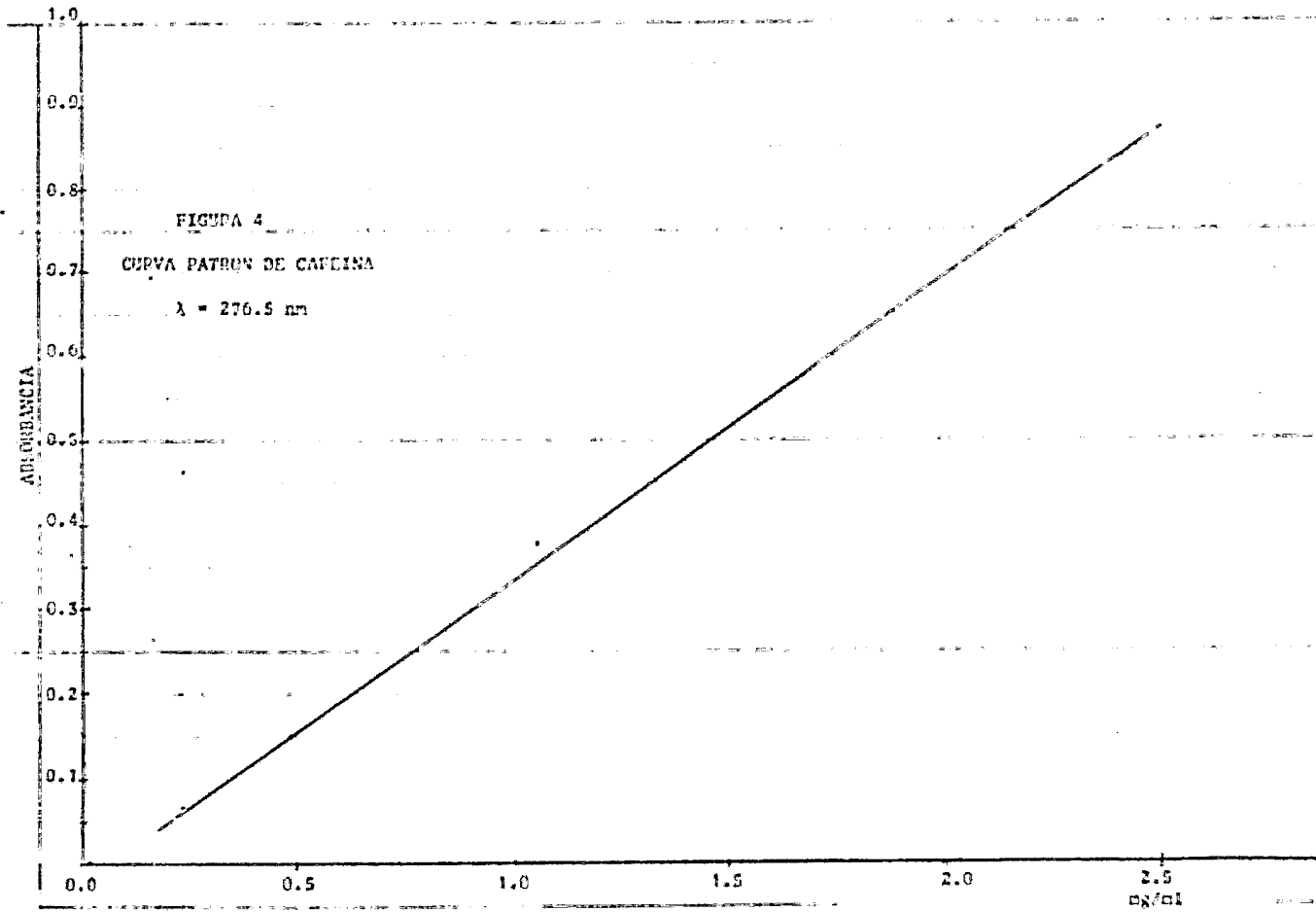
24 horas después de haber hecho las lecturas de la Tabla 17, fueron repetidas, obteniéndose los siguientes resultados

TABLA 18

LECTURAS HECHAS 24 HORAS MAS TARDE, A LAS SOLUCIONES
DE LA TABLA A 276.5 nm

<u>Conc. Cafeína</u>	<u>Absorbancia a 276.5 nm</u>
0.46 mg/100 ml	0.058
1.16 mg/100 ml	0.139
2.33 mg/100 ml	0.25
3.5 mg/100 ml	0.403
4.6 mg/100 ml	0.542
7 mg/100 ml	0.825

Si se trata de justificar la diferencia tan notable en los resultados, se generan una gran cantidad de posibilidades, por lo que resulta evidente la causa que motivó el desechar esta Técnica.



3.4 RESULTADOS Y DISCUSIONES SOBRE LA TECNICA No. 4

Al aplicar el Procedimiento No. 1, la señal que aparece en el cromatograma, producida por la sacarina, es casi imperceptible e interfieren otras señales lo que imposibilita su medición, además, mediante este procedimiento no se logró detectar benzoato de sodio en los refrescos de cola envasados en México, ni aun disminuyendo la longitud de onda a 245 nm y empleando escala de mayor sensibilidad en el detector.

Por esta razón se modificó el método, dando lugar al Procedimiento No. 2, con el cual, el análisis se hace más corto. (Figura 5)

Procedimiento No. 2.- Con este método se obtuvieron los siguientes resultados.

TABLA 19

CONCENTRACION DE CAFEINA EN REFRESCOS DE COLA ENVASADOS EN MEXICO, DETERMINADA POR LA APLICACION DEL PROCEDIMIENTO No. 2 DE LA TECNICA No.4

Marca Comercial	Lugar y Fecha de Adquisición:	$C = \frac{\text{Area de muestra}}{\text{Area patrón}} (0.1 \text{ mg/ml})$	Conc. Cafeína (mg/ml)
<i>Sputi-Cola</i> (355 ml)	Maravatío, Mich. 15/IV/80	$\frac{2.205 \text{ cm}^2}{1.9 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}}\right)$	0.116 mg/ml
<i>Coca-Cola</i> expendio	C.U. México, D.F. 25/VI/81	$\frac{1.89 \text{ cm}^2}{1.9 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}}\right)$	0.0994 mg/ml
<i>Coca-Cola</i> lata (355ml)	Celaya, Gto. 2/XI/80	$\frac{1.551 \text{ cm}^2}{1.9 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}}\right)$	0.0816 mg/ml
Patrón	—————	1.9 cm ² ———	0.1 mg/ml
<i>Pepsi-Cola</i> med. (355ml)	C.U. México, D.F. 25/VI/81	$\frac{1.305 \text{ cm}^2}{1.9 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}}\right)$	0.06868 mg/ml
<i>Coca-Cola</i> med. (355ml)	C.U. México, D.F. 25/VI/81	$\frac{1.845 \text{ cm}^2}{1.9 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}}\right)$	0.0971 mg/ml
Patrón	—————	1.9 cm ² ———	0.1 mg/ml
* <i>Coke</i> lata (355 ml)	Houston, Tex. USA 20/IV/81	$\frac{1.680 \text{ cm}^2}{2.047 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}}\right)$	0.0820 mg/ml
<i>Mexi-Cola</i> (355 ml)	?	$\frac{1.95 \text{ cm}^2}{2.047 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}}\right)$	0.0952 mg/ml
<i>Mexi-Cola</i> (355 ml)	?	$\frac{1.95 \text{ cm}^2}{2.047 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}}\right)$	0.0952 mg/ml
Patrón	—————	2.047 cm ² ———	0.1 mg/ml
<i>Coke</i> lata (355 ml)	Houston, Tex. USA 20/IV/81	$\frac{1.825 \text{ cm}^2}{2.19 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}}\right)$	0.0833 mg/ml
<i>Coca-Cola</i> chica (192ml)	C.U. México, D.F. 25/VI/81	$\frac{1.925 \text{ cm}^2}{2.19 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}}\right)$	0.0879 mg/ml
<i>Arcy-Cola</i> (473 ml)	Toluca, Edo. Méx. 15/IV/80	$\frac{1.45 \text{ cm}^2}{2.19 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}}\right)$	0.0662 mg/ml

Marca Comercial	Lugar y Fecha de Adquisición	$C = \frac{\text{Area de muestra}}{\text{Area patrón}} (0.1 \text{ mg/ml})$	Conc. Cafeína (mg/ml)
Patrón	_____	2.19 cm ²	0.1 mg/ml
Coca-Cola familiar (769 ml)	Maravatío, Mich. 15/IV/80	$\frac{2.131 \text{ cm}^2}{2.37 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}} \right)$	0.0899 mg/ml
Doble-Cola (473 ml)	Huajuapán de León, Oaxaca 16/X/80	$\frac{2.475 \text{ cm}^2}{2.37 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}} \right)$	0.1044 mg/ml
Doble-Cola (473 ml)	Huajuapán de León, Oaxaca 16/X/81	$\frac{2.42 \text{ cm}^2}{2.37 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}} \right)$	0.1021 mg/ml
Pepsi-Cola lata (355 ml)	C.U. México, D.F. 25/VI/81	$\frac{1.83 \text{ cm}^2}{2.37 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}} \right)$	0.0772 mg/ml
Patrón	_____	2.37 cm ²	0.1 mg/ml
Pepsi-Cola chica	Maravatío, Mich. 15/IV/80	$\frac{1.457 \text{ cm}^2}{2.31 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}} \right)$	0.0614 mg/ml
Pepsi-Cola familiar (769 ml)	Maravatío, Mich. 15/IV/80	$\frac{1.62 \text{ cm}^2}{2.31 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}} \right)$	0.0701 mg/ml
Pepsi-Cola (769 ml)	Maravatío, Mich. 15/IV/80	$\frac{1.755 \text{ cm}^2}{2.31 \text{ cm}^2} \left(\frac{0.1 \text{ mg}}{\text{ml}} \right)$	0.0759 mg/ml
Patrón	_____	2.31 cm ²	0.1 mg/ml

* Utilizada como comparación

NOTA.- La Tabla anterior está en el orden en que se realizó el análisis. Consideramos que las divergencias que presentan los resultados se deben, en gran parte, a la combinación de los siguientes factores:

- a)- Ligera variación en el flujo, como lo demuestran las discrepancias observadas entre las áreas de patrones.
- b)- Errores involuntarios al efectuar el trazo de las figuras para obtener el área de las señales.
- c)- Probable alteración en la concentración de jarabe contenido en los refrescos, provocada por las diferencias en lotes de concentrado, equipo de dilución y envasado para cada planta embotelladora.

Procedimiento No. 3.- Debido a que algunas marcas de refrescos de cola de fabricación regional, han desaparecido del mercado, con este método sólo se analizaron los refriscos producidos por Coca-Cola y Pepsi-Cola y sus filiales, arrojando los siguientes resultados:

TABLA 20

CONCENTRACION DE SACARINA Y CAFEINA DETERMINADA SIMULTANEAMENTE
CON EL PROCEDIMIENTO No. 3 DE LA TECNICA No. 4

Marca Comercial	Lugar y fecha de Adquisic.	Area de la señal de Sac.	Area de la señal de Caf.	Conc. Sac. (mg/ml)	Conc. Caf. (mg/ml)	
Patrón		1 cm ²	- - -	0.1 mg/ml	- - - -	
Coca-Cola mediana desechable (355 ml)	17/V/83 Chilpancingo, Guerrero.	0.25cm ²	- - -	0.0125mg/ml	- - - -	a)
Patrón		1 cm ²	9.275cm ²	0.1 mg/ml	0.2 mg/ml	
Coca-Cola familiar (749 ml)	México, D.F. 15/VI/83	0.2 cm	11.02 cm	0.01 mg/ml	0.118 mg/ml	b)

NOTA.- a)- Se refiere al resultado del análisis exclusivo de sacarina, mientras que,

- b)- Se refiere al análisis simultáneo para sacarina y cafeína; aclarando que las concentraciones informadas en ambos incisos (a y b), fueron calculadas con la fórmula propuesta en el Procedimiento No. 3 de la Técnica 4 y a la cual deben remitirse para comprender la aparente discrepancia entre tamaño de área y concentración.

Al aplicar este procedimiento no se detectó sacarina en ninguna de las presentaciones que tiene Pepsi-Cola. La dificultad principal que se observó durante el proceso de análisis, fue el tamaño tan pequeño que presentó la señal de sacarina (Figura 6), causado por la baja concentración. Además, el detector utilizado no es suficientemente sensible ante esas cantidades tan pequeñas, lo que originó la necesidad de evaporar el refresco, cuidando que el grado de viscosidad no fuera muy alto, porque esto origina dificultad para fluir adecuadamente la muestra, a través del sistema, aun cuando la señal de sacarina aumenta sensiblemente. (Figura 7).

FIGURA 5

PROCEDIMIENTO No. 2 DE LA TECNICA No. 4

- a)- Coca-Cola mediana (355 ml)
- b)- Pepsi-Cola mediana (355 ml)
- c)- Patrón cafeína 0.1 mg/ml

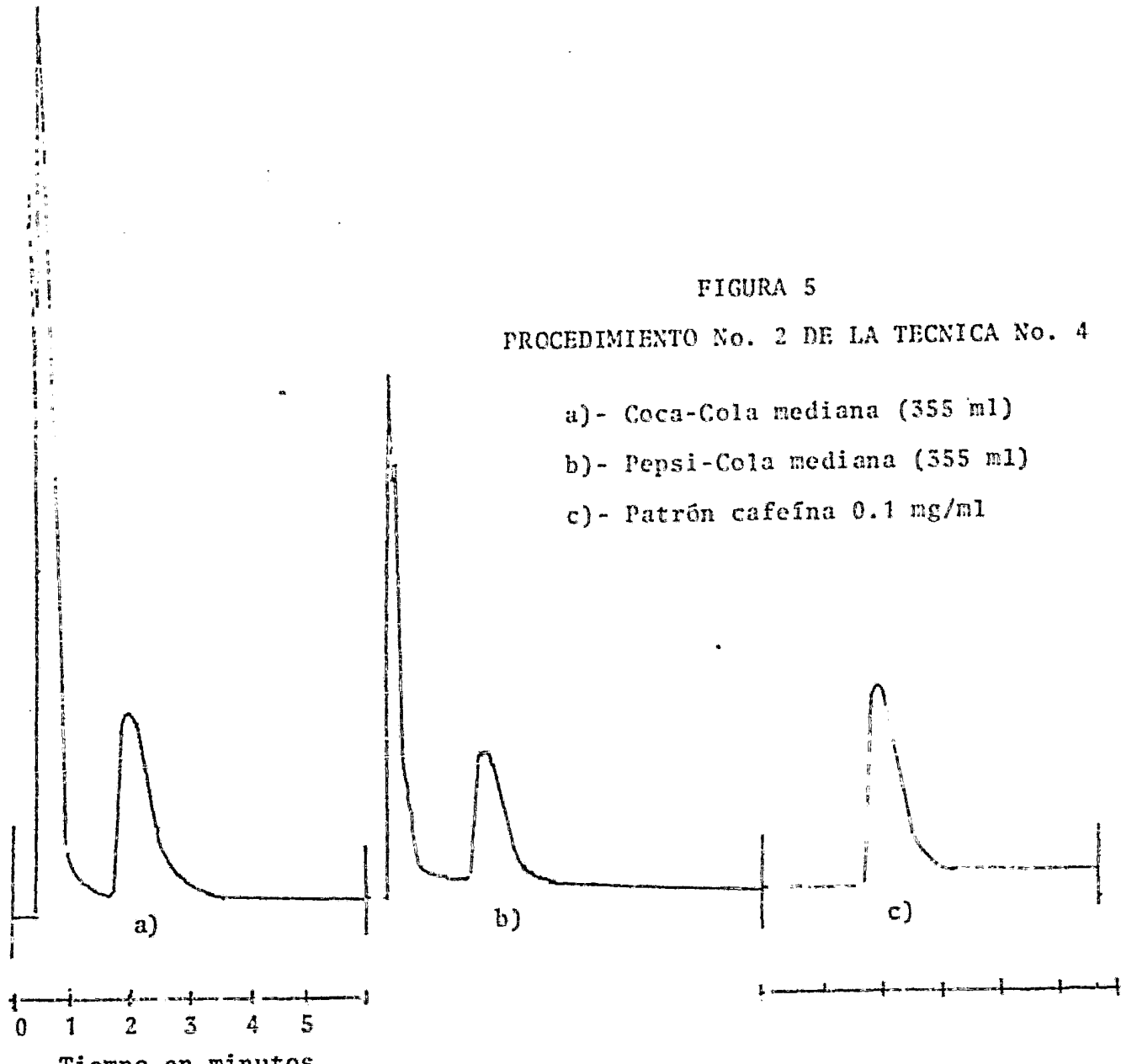
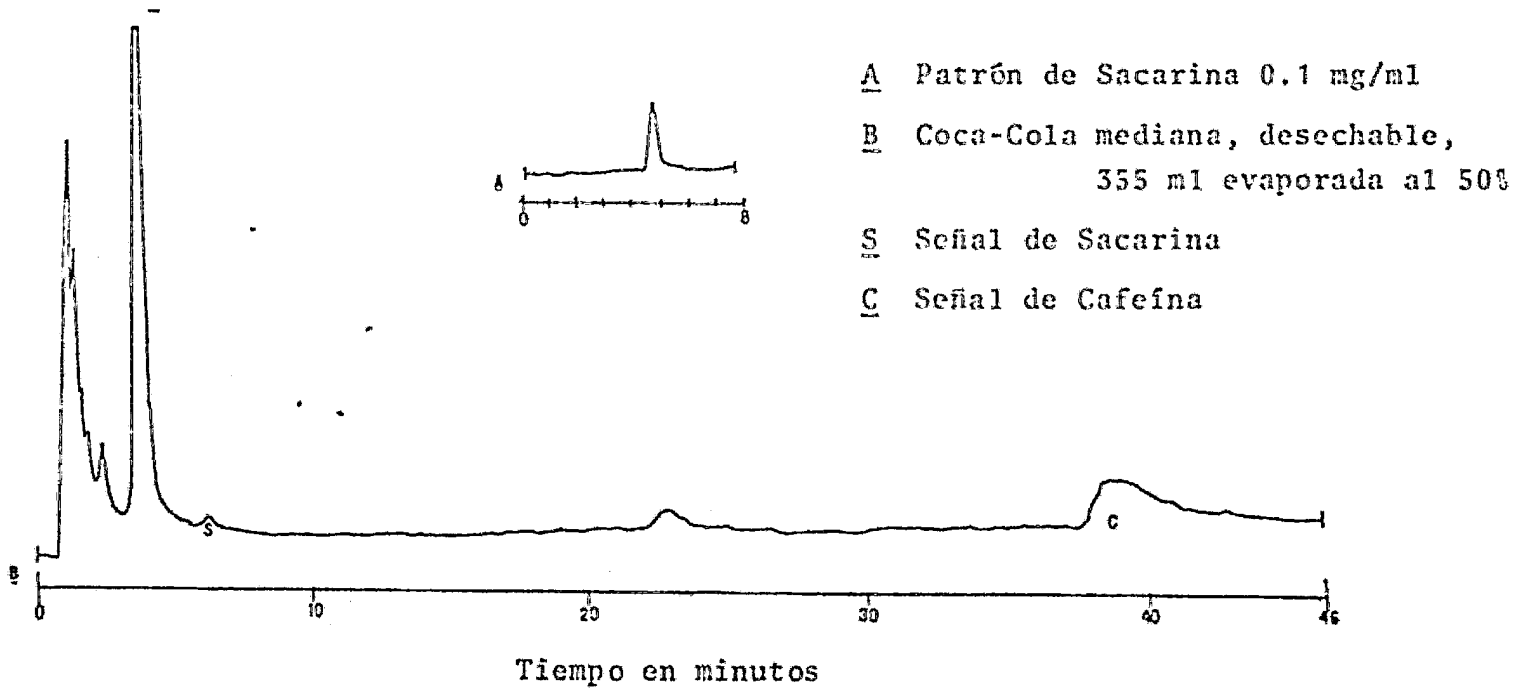
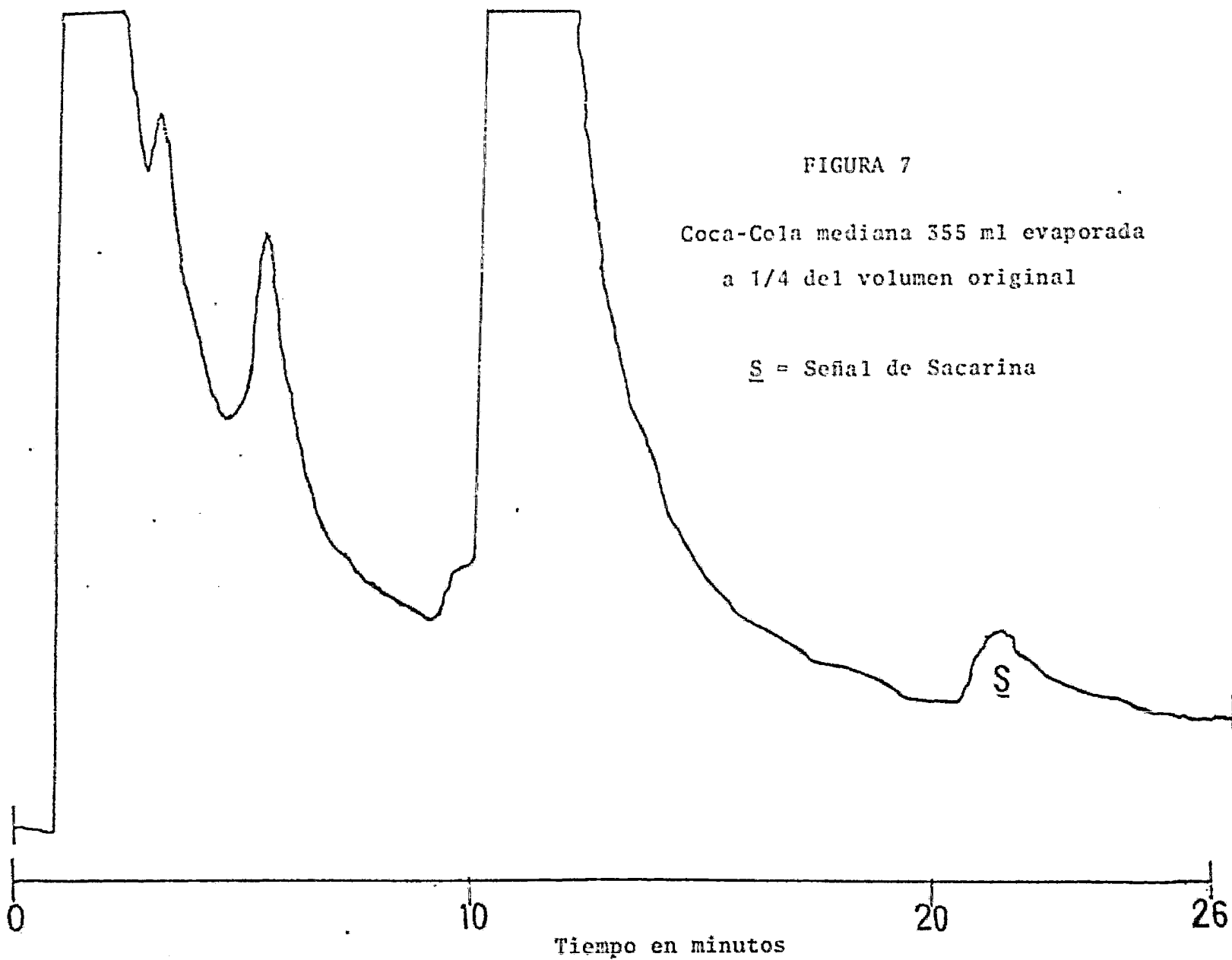


FIGURA 6





3.5 RESULTADOS Y DISCUSIONES SOBRE LA TÉCNICA No. 5

Con esta Técnica no se detectó señal alguna que confirmara la presencia de sacarina, lo que probablemente se debe a la baja concentración de sacarina presente en refrescos de cola no dietéticos.

4. CONCLUSIONES

Sobre las técnicas analíticas que fueron ensayadas para la determinación de sacarina, cafeína y benzoato de sodio en refrescos de cola envasados en México y que constituye la parte central y más importantes de este trabajo, se concluyó lo siguiente:

*TECNICA No. 1.- Para aplicar este método al análisis de refrescos, éstos deben reunir dos características:

-La primera es que la concentración mínima de sacarina debe ser del orden de 10 mg/100 ml de muestra, lo cual sólo se presenta en refrescos dietéticos; y

-La segunda, que los refrescos no deben contener sustancias que absorban en el mismo rango que la sacarina, o eliminarlas al principio del análisis. Por consecuencia esta técnica no puede aplicarse a los refrescos de cola.

*TECNICA No. 2.- Si se logra hacer mínimas las fallas que se presentan en el análisis; principalmente, en la producción de color (temperatura de reacción), será posible aplicar la técnica a refrescos dietéticos o productos con

concentraciones relativamente elevadas de sacarina; pero sólo como método cualitativo.

*TECNICA No. 3.- Este procedimiento probablemente pueda aplicarse a bebidas diferentes al refresco que contengan cafeína. Revisando de manera minuciosa la etapa de oxidación, la cual puede ser responsable de las pérdidas observadas.

*TECNICA No. 4.- En esta Técnica se desarrollaron tres procedimientos:

- a)- Procedimiento No. 1.- Este método no se puede aplicar en el análisis de refrescos de cola hechos en México, sobre todo si tomamos en consideración que las marcas Coca-Cola y Pepsi-Cola no contienen benzoato de sodio como conservador, por lo que se desarrollaron los procedimientos 2 y 3.
- b)- Procedimiento No. 2.- Con esta variante de la Técnica No. 4, se determinó la cafeína contenida en refrescos de cola, aun cuando las cifras no coinciden entre sí como se esperaba. Podemos afirmar que las bebidas producidas por las compañías Coca-Cola y sus filiales contienen mayor cantidad de cafeína que las producidas por Pepsi-Cola, aclarando que las concentraciones determinadas son ligeramente inferiores a las informadas por diversas fuentes.

PROMEDIO DE CONCENTRACIONES PARA EL REFRESCO
DE COLA PRODUCIDOS POR:

- i)- Coca-Cola 0.09118 mg de cafeína/ml de refresco,

- ii)- Pepsi-Cola 0.07064 mg de cafeína/ml de refresco.
- c)- Procedimiento No. 3.- Con este procedimiento se logró determinar de manera simultánea sacarina y cafeína en refrescos de cola, sin embargo, las cifras determinadas de sacarina en los refrescos producidos por Coca-Cola, deben considerarse de carácter semi-cuantitativo debido a la baja concentración en que se encuentra este edulcorante, lo que provoca serias dificultades técnicas, por lo que recomendamos utilizar el Procedimiento No. 2 cuando el objetivo del análisis sea determinar exclusivamente cafeína, y el Procedimiento No. 3, sólo deberá utilizarse cuando los compuestos a determinar sean sacarina y cafeína de manera simultánea.

No obstante las dificultades y deficiencias comentadas anteriormente es posible afirmar con los datos obtenidos, que la Compañía Coca-Cola o sus embotelladores en México, utilizan sacarina en sus productos, sin que lo manifiesten, por lo que esta situación debe revisarse en los aspectos legales y sanitarios que implica.

*TECNICA No. 5.- Sobre este método, sólo se puede mencionar que no es aplicable en los análisis de refrescos de cola producidos en México.

La industria de Refrescos y Aguas Envasadas es muy compleja para ser analizada en un sólo trabajo; está íntima-

mente ligada con la producción de alimentos, sectores industriales, productores de bienes de capital, material de envase e insumos químicos y también con los sistemas de distribución por lo que sólomente se ha intentado presentar aquí, algunos aspectos que, a nuestro juicio, consideramos importantes dentro de esta rama de la actividad económica.

•

BIBLIOGRAFIA

1. Secretaría de Programación y Presupuesto. Escenarios Económicos de México. Perspectivas de Desarrollo para Ramas Seleccionadas 1a81-1a85. 1981, pp 126-131.
2. González P., Salvador. "Refresco Diario". "Alza de Azúcar". El Sol de México, Sábado 6 de Enero de 1979, pp 1 y 9.
3. Forum. Reboillar, J. México, D.F., Octubre de 1982, pp 22-29.
4. Proceso. Scherer G., Julio. Semanal. México, D. F., No. 100, 2 de Octubre de 1978, p. 26.
5. Cuevas, Arely de. "El Mercado de Refrescos Mexicanos está Socavado por Empresas Transnacionales". El Día. México, D. F., Sábado 30 de Septiembre de 1978, p. 7.
6. Fitzhugh, O. G., Nelson, A. A. y Frawley, J. P. J. Amer. Pharm. Assoc. 40, 583 (1951).
7. Allen, M.J., Boyland, E., Dukes, C.E., Horning, E. S. y Watson, J. G. Brit. J. Cancer 11, 212 (1957).
8. Brgan, G.T., Erturk, E. y Yoshida, O. Science 168, 1238 (1970).
9. Price, J. M., Biava, C.G., Oser, B.L., Vogin, E. E., Steninfeld, J. y Ley, H. L. Science 167, 1131 (1970).
10. Oser, B. L., Carson, S., Vogin, E. E. y Sonders, R. C. Nature 220, 178 (1968).
11. Sweatman, T. W. y Renwick, A. G. Science 205, 1019 (1979).

12. Hicks, E. M., Wakefield, J. St. J. y Chowaniec, J.
Nature 243, 347 (1973).
13. Bogland, E. Nature 278, 123 (1979).
14. Cohen, S.M., Arai, M., Jacobs, J. B. y Friedell, G. A.
Cancer Research 39, 1207 (1979).
15. Theiss, J. C., Arnold, J. C. y Shimkin, M. B.
Cancer Research 40, 4322 (1980).
16. Murasaki, G. and Cohen, S. M.
Cancer Research 41, 942 (1981).
17. Cohen, S. M., Murasaki, G., Fukushima, S. y Greenfield,
R. E. Cancer Research 42, 65 (1982).
18. Kakizoe, T., Komatsu, H., Niijima, T., Kawachi, T. y
Sugimura, T. Cancer Research 41, 4702 (1981).
19. Wolff, S. y Rodin, B. Science 200, 543 (1978).
20. Mond, S. y Brank, D. W. Science 201, 1141 (1978).
21. Renner, H. W. Experientia 35, 1304 (1979).
22. Kramers, P. G. N. Mutation Research 56, 163 (1977).
23. Pool, B. Toxicology 11, 95 (1978).
24. Batzinger, R. P., Sum-Yun, L. O y Bueding, E.
Science 198, 944 (1977).
25. Hahon, G.A.T. y Daw-Son, G.W.P.
Mutation Research 103, 49 (1982).
26. Kessler, I. I. y Clark, J. P.
J.A.M.A. 240 (4) 349 (1978).
27. American Chemical Society. Chemical & Engineering News
58 (1) 25 (1980).
28. American Chemical Society. Sciquest 53, (4), 27 (1980).

29. El-Gerzawi, S., Heatfield, B.M. y Trump, B.F.
Jnci 69, (3) 577 (1982).
30. Goldstein, A., Kaiser, S. y Whitby, O.
Clin. Pharmacol. E. Therap. 10, 489 (1969).
31. Darragh, A., Lambe, R.F., Haminan, D. y O'Kelly, D. A.
Lancet I (8127), 1196 (1979).
32. O'Brien, T.M. Circle 754, 86 (1978).
33. Galli, G., Spano, F. F. y Szyska, K.
Pharmacol. Res. Comm. 7, 217 (1975).
34. Goldstein, A. y Warren, R.
Biochem. Pharmacol. 17, 166 (1962).
35. White, B. C., Simpson, C. C., Adams, J. E. y Harkins, D.,
Jr. Neuropharmacology 17, 511 (1978).
36. Groisser, D. S., Rosso, P. y Winick, M.
J. Nutr. 112, 829 (1982).
37. Weathersbee, P. S., Olsen, L.K. y Lodge, T. R.
Postgrad. Med. 62, 64 (1977).
38. Borlee, I., Lechat, M. F., Bouchaert, A. y Mission, C.
Louvain Med. 97, 279 (1978).
39. Rosenberg, L., Mitchell, A.A., Shapiro, S. y Slone, D.
Jama 247 (10), 429 (1982).
40. Boston Collaborative Drug Surveillance program.
Lancet 2, 1278 (1973).
41. Maugh, T. H. J. Am. Heart 88, 672 (1974).
42. Geigel, J. L., Han, A. B. y Clena, W.
Clin. Chem. 21, 1575 (1975).
43. Stanton, M. F., Ahrens, R.A. y Douglas, L. W.
Experientia 34, 1182 (1978).

44. Gilliland, R. and Andress, D.
Am. J. Psychiatry 38 (4) 512 (1981).
45. Hussein, M.M., Jacin, H. y Rodríguez, B. F.
J. Agric. Food Chem. 24 (1) 36 (1976).
46. Fernández, F. E., Russell, S. A., Leber, B., Larry, D.,
y Lether, S. Journal of the Aoac 56, 1411 (1973).
47. Horwitz, W. Official : Methods of Analysis of the
Association of Official Analytical Chemists. 13a. Edición.
Washington, D. C. (1980) p. 196.
48. Tweedy, J. D., Heffelfinger, G. D. y Waldrop, A.
Coca Cola Co./Atlanta, Ga. Análisis de Bebidas por H.P.,
L. C. Food Product Development 12 (9) 42 (1978).
49. Conacher, H.B.S. y O'Brien, R. C.
Journal of the Ao Ac. 53 (6) 1117 (1970).