



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA**

CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Tema: Cuantificación simultánea de conservantes y cafeína en bebidas azucaradas consumidas por los moradores de la provincia de Tungurahua, por espectroscopia ultravioleta.

Trabajo de Titulación, Modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención de título de Ingeniera Bioquímica, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Solange Monserrath Verdesoto Martínez

Tutor: Mg. Lander Vinicio Pérez Aldas

Ambato – Ecuador

Marzo 2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

Mg. Lander Vinicio Pérez Aldas

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, de la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, 31 de enero del 2022

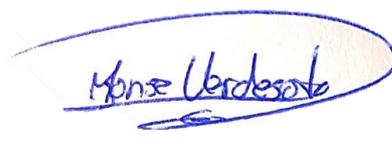
Mg. Lander Vinicio Pérez Aldas

C.I. 180270659-6

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Solange Monserrath Verdesoto Martínez, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación la modalidad de Proyectos de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Bioquímica, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.



Solange Monserrath Verdesoto Martínez

C.I.1805210489

AUTORA

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Presidente del tribunal

Mg. Jeanette Verónica Carrera Cevallos
C.I.1716192271

PhD. Orestes Darío López Hernández
C.I. 1754784864

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él, como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Solange Monserrath Verdesoto Martínez

C.I.1805210489

AUTORA

DEDICATORIA

Hoy me llena de nostalgia y alegría poder dedicar este logro académico a quienes han sido mi motor y constante inspiración desde que inicie la carrera universitaria.

Mis padres.

José V y Blanca M, quienes me han inculcado valores y principios necesarios para hacer de mí una mujer responsable y capaz de luchar por mis sueños y metas propuestas.

Mis hermanos.

Anthony y Cynthia, con quienes he compartido mis mayores alegrías, tristezas y aventuras, me han impulsado a superarme y ser una mejor hermana, amiga y ser humano.

Con amor.

Solange Monserrath.

AGRADECIMIENTO

“No tengas miedo, porque yo estoy contigo; no te desalientes, porque yo soy tu Dios.
Te daré fuerzas y te ayudaré; te sostendré con mi mano derecha victoriosa.”

Isaías 41:10

Principalmente a Dios, por cumplir su promesa en mi vida y haber guiado mis pasos en todo momento.

Un especial agradecimiento a mi madre, una mujer guerrera y ejemplar, quien ha sido mi apoyo incondicional y me ha enseñado que de la mano de Dios todo es posible, gracias por estar siempre a mi lado, por los sabios consejos, por creer en mí, e inspirarme a luchar por mis aspiraciones.

A mi padre y hermanos, por acompañarme durante esta etapa, llenar mis días de felicidad y motivarme a seguir adelante.

A mis compañeros de aula y laboratorio con quienes he compartido alegrías y dificultades durante la carrera, gracias por el grato apoyo y haberse convertido en mis grandes amigos Joel C, Nathasha V, Javier C, Andrea P y Daniel S.

A mi tutor, Mg. Lander Pérez por impartirme sus conocimientos y brindarme el apoyo necesario durante la elaboración del proyecto de investigación.

Solange Monserrath.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	III
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO	IV
DERECHOS DE AUTOR	V
DEDICATORIA.....	VI
AGRADECIMIENTO	VII
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
RESUMEN.....	XVI
ABSTRACT.....	XVII
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	1
1.1.1 Obesidad y Sobrepeso.....	1
1.1.2 Enfermedades crónicas no transmisibles.	2
1.1.3 Rol que cumplen los conservantes en la dieta diaria.	2
1.1.4 Ácido sórbico.....	3
1.1.5 Ácido benzoico	4
1.1.6 Presencia de Cafeína en bebidas azucaradas	5
1.1.7 Consumo de bebidas azucaradas.....	6
1.1.8 Normativas alimenticias.	6

1.1.9	Método de análisis	7
1.1.10	Colorimetría	8
1.1.11	Relación entre tonalidad y visibilidad.....	9
1.2	OBJETIVOS.....	9
1.2.1	Objetivo general.....	9
1.2.2	Objetivos específicos	10
1.3	HIPÓTESIS.....	10
1.3.1	Hipótesis Nula.....	10
1.3.2	Hipótesis Alternativa	10
CAPÍTULO II		11
METODOLOGÍA		11
2.1	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	11
2.1.1	Materiales.....	11
2.1.2	Equipos	11
2.1.3	Reactivos.....	11
2.2	MÉTODOS	12
2.2.1	Selección de muestras.....	12
2.2.2	Recolección de muestras.....	13
2.2.3	Ubicación geográfica de la investigación	14
2.2.4	Pretratamiento de las muestras	14
2.2.5	Verificación del método de análisis.....	15
2.2.6	Pruebas colorimétricas.....	16
2.2.7	Preparación de soluciones.....	19
2.2.8	Tratamiento de la muestra para la determinación de Ácido Sórbico y Ácido Benzoico.....	20
2.2.9	Tratamiento para la determinación de cafeína	21
2.2.10	Análisis cuantitativo de conservantes y cafeína por el método de adición de estándares y lectura en el espectrofotómetro UV-VIS.....	22
CAPÍTULO III.....		25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		25

3.1	Pruebas colorimétricas.....	25
3.2	Verificación del método y su aplicación.....	29
3.3	Cuantificación de Ácido sórbico.....	31
3.4	Cuantificación de Ácido benzoico.....	33
3.5	Cuantificación de Cafeína.....	35
3.6	Cumplimiento de dosis máxima de conservantes presentes en las bebidas azucaradas según la norma NTE INEN-CODEX 192.....	36
3.6.1	Acido sórbico y ácido benzoico presente en las bebidas azucaradas	37
3.7	Cafeína presente en las bebidas azucaradas	38
3.8	Ingesta diaria admisible de los conservantes y de cafeína.....	39
3.9	Problemas en la salud de los consumidores de bebidas azucaradas.	41
3.10	Verificación de hipótesis	43
CAPÍTULO IV		44
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		44
4.1	CONCLUSIONES	44
4.2	RECOMENDACIONES	46
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA		48
ANEXOS		55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Descripción de las bebidas azucaradas	12
Tabla 2 Puntos de muestreo y coordenadas respectivos.....	13
Tabla 3 Pruebas colorimétricas en el espectrofotómetro evolution 60s.....	26
Tabla 4 Pruebas colorimétricas en el colorímetro genesys™ 20.	27
Tabla 5 Curva de calibración para el ácido sórbico y ácido benzoico	29
Tabla 6 Curva de calibración para la cafeína	30
Tabla 7 Resultados de la concentración de ácido sórbico por adición de estándar...	31
Tabla 8 Resultados de la concentración de ácido benzoico por adición de estándar	33
Tabla 9 Resultados de la concentración de cafeína por adición de estándar.....	35
Tabla 10 Criterio de aceptación para el ácido sórbico	37
Tabla 11 Criterio de aceptación para el ácido benzoico.....	37
Tabla 12 Criterio de aceptación para la cafeína para bebidas energizantes.....	39
Tabla 13 Criterio de aceptación para la cafeína para bebidas gaseosas	39
Tabla 14 Valores referenciales de peso corporal para el cálculo de ingesta diaria de conservante.....	40
Tabla 15 Valores referenciales de peso corporal para el cálculo de ingesta diaria de cafeína	42
Tabla 16 Datos de las pruebas colorimétricas de bebida “monster” en el espectrofotométrico uv-vis evolution 60s.	58

Tabla 17 Datos de pruebas colorimétricas de bebida “220v” en el espectrofotométrico uv-vis evolution 60s.	58
Tabla 18 Datos de pruebas colorimétricas de bebida “coca-cola light” en el espectrofotométrico uv-vis evolution 60s.	59
Tabla 19 Resultados de la absorbancia para la curva de calibración del estándar del ácido sórbico por triplicado.....	60
Tabla 20 Resultados de la absorbancia para la curva de calibración del estándar del ácido benzoico por triplicado.	61
Tabla 21 Resultados de la absorbancia para la curva de calibración del estándar de la cafeína por triplicado.....	62
Tabla 22 Resultados de ácido sórbico del monster energy código uta-fciab-m1 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.....	63
Tabla 23 Resultados de ácido sórbico del 220v código uta-fciab-m2 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.	64
Tabla 24 Resultados de ácido sórbico de la coca cola light código uta-fciab-m3 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.....	65
Tabla 25 Resultados de ácido benzoico del monster energy código uta-fciab-m1 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.....	66
Tabla 26 Resultados ácido benzoico del 220v código uta-fciab-m2 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.....	67
Tabla 27 Resultados de ácido benzoico de la coca cola light código uta-fciab-m3 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.....	68

Tabla 28 Resultados de cafeína del monster energy código uta-fciab-m1 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.....	69
Tabla 29 Resultados de cafeína del 220v código uta-fciab-m2 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.....	70
Tabla 30 Resultados de cafeína de la coca cola light código uta-fciab-m1 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.....	71
Tabla 31 Valores referenciales de altura, género y pesos corporales para el cálculo de ingesta diaria de ácido sórbico y ácido benzoico	73
Tabla 32 Valores referenciales de altura, género y pesos corporales para el cálculo de ingesta diaria de cafeína.	74
Tabla 33 Incertidumbre en las muestras para ácido sórbico	75
Tabla 34 Incertidumbre en las muestras para ácido benzoico.....	75
Tabla 35 Incertidumbre en las muestras para ácido sórbico	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura química de ácido sórbico.	3
Figura 2 Estructura química de ácido benzoico.....	4
Figura 3 Estructura química de la cafeína.	5
Figura 4 Ubicación de laboratorio laconal.	14
Figura 5 Pretratamiento de desgasificación a la muestra de coca-cola light.....	15
Figura 6 Equipo espectrofotométrico genesys 10vis.	17
Figura 7 Equipo espectrofotométrico uv-vis evolution 60s.....	17
Figura 8 Cambio de color en la bebida 220v posterior a su tratamiento.	18
Figura 9 Equipo colorimétrico de la marca genesys™ 20	18
Figura 10 Cambio de color en la bebida monster desde la fase inicial, después de la dilución en agua destilada y finalmente después de su tratamiento.....	19
Figura 11 Preparación de las soluciones en general.....	20
Figura 12 Filtrado de la muestra.....	21
Figura 13 Separacion de la fase organica en la reaccion para cafeína.	22
Figura 14 Uso de la balanza analítica boeco bbl31 para pesar los mg necesarios para cada estándar	23
Figura 15 Adición de estándar de cafeína.....	24
Figura 16 Grafica que muestra el equipo espectrofotométrico genesys 10vis en el primer barrido espectral.	25

Figura 17 Barrido espectral en el equipo espectrofotométrico uv-vis evolution 60s 26

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Características operacionales para la lectura de conservantes y cafeína en el equipo de espectrofotometría uv-vis	55
Anexo 2. Diseño de etiquetas para la toma de muestras de las bebidas azucaradas..	56
Anexo 3. diagrama de flujo de la metodología realizada.....	57
Anexo 4. Resultados de la medición como muestra oscura, en el colorímetro genesys20.....	59
Anexo 5. Tabla de valores referenciales de altura, género y pesos corporales para el cálculo de ingesta diaria.....	72
Anexo 6. Curva de calibración de ácido sórbico	76
Anexo 7. Curva de calibración de ácido benzoico.....	77
Anexo 8. Curva de calibración de cafeína	77
Anexo 9. Certificado de haber realizado la parte experimenta en el laboratorio de control y analisis de alimentos, laconal.....	78

RESUMEN

Las bebidas energizantes como Monster Energy y 220V, contribuyen al aumento de energía, rendimiento físico y mejor estado mental de las personas que lo consumen, por otro lado, la Coca-Cola light es una bebida gaseosa compuesta por azúcar en forma de monosacáridos y cafeína añadida que estimula el sistema nervioso y con el fin de preservar las propiedades y valor nutricional de las bebidas se hace uso de conservantes como ácido sórbico y ácido benzoico reconocidos por la norma CODEX192 como aditivos que inhiben la formación de bacterias, mohos y levaduras.

Se determinó las concentraciones tanto de los conservantes como de cafeína en las bebidas mencionadas, para lo cual se usó un método validado por espectrofotometría UV-VIS, se midió las respectivas absorbancias y debido al efecto matriz se empleó la adición de estándar, donde se obtuvo que el ácido sórbico se encuentra presente en las tres bebidas, pero con mayor cantidad en Monster ya que tiene 46,778 mg-Kg, el ácido benzoico mayormente en 220V 34,415 mg-kg en comparación a las otras bebidas, por otro lado, la cafeína también forma parte de la composición de las tres muestras, mayormente en Monster con 274,276 mg-kg, seguido 220V con 251,017 mg-kg y por último Coca-Cola Light con 40,448 mg-kg.

Todas las concentraciones están dentro de los rangos establecidos por las normativas CODEX192 y NTE-INEN, sin embargo, el consumo excesivo puede ocasionar problemas en la salud, por tanto, se recomienda no sobrepasar la ingesta diaria establecida en base a su peso corporal.

Palabras clave: química analítica, ácido sórbico, ácido benzoico, cafeína, espectrofotometría ultravioleta, Colorimetría, ingesta diaria admisible, bebidas azucaradas.

ABSTRACT

Energy drinks such as Monster Energy and 220V, which contribute to increased energy, physical performance and a better mental state of the people who consume it, on the other hand, Coca-Cola light is a carbonated drink made up of sugar in the form of monosaccharides and added caffeine that stimulates the nervous system; In order to preserve the properties and nutritional value of the drink, preservatives such as sorbic acid and benzoic acid are used, recognized by the CODEX192 standard as additives that inhibit the formation of bacteria, molds and yeasts.

The concentrations of both preservatives and caffeine in the mentioned beverages were determined, for which a method validated by UV-VIS spectrophotometry was used, the respective absorbances were measured and due to the matrix effect the addition of standard was used, where it was obtained that sorbic acid is present in the three drinks, but with a higher quantity in Monster since it has 46,778 mg-Kg, benzoic acid mostly in 220V 34,415 mg-kg compared to the other drinks, on the other hand, caffeine also It is part of the composition of the three samples, mostly in Monster with 274.276 mg-kg, followed by 220V with 251.017 mg-kg and finally Coca-Cola Light with 40.448 mg-kg.

All concentrations are within the ranges established by the CODEX192 and NTE-INEN regulations, however, excessive consumption can cause health problems, therefore, it is recommended not to exceed the daily intake established based on your body weight.

Keywords: analytical chemistry, sorbic acid, benzoic acid, caffeine, ultraviolet spectrophotometry, Colorimetry, acceptable daily intake, sugary drinks.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes investigativos

1.1.1 Obesidad y Sobrepeso.

El sobrepeso y obesidad son considerados como los problemas más desafiantes para el siglo XXI, ya que estudios realizados nos indica que seis de cada diez personas padecen sobrepeso y según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos realizado por **Guano (2019)**, el Ecuador muestra que un 35,4% de la población entre 5 a 11 años de edad padecen de obesidad y sobrepeso , mientras que de la población entre 19 a 59 años de edad un total de 27.8% padece de obesidad y 44.1% de sobrepeso (**Mora Cambizaca et al., 2016**). Esto se debe a que la presencia de los monosacáridos en los alimentos y bebidas azucaradas tienden a provocar que el azúcar ingerida no solo circule por las células, sino que se acumule en el torrente sanguíneo, por ende, mientras más azúcar se consuma los niveles de glucosa aumentan ocasionando estas enfermedades crónicas, consideradas como la segunda causa de muertes en Ecuador (**Segovia, 2016**).

Con el fin de evitar dicha problemática, la Organización Mundial de la Salud (OMS) sugiere a la población una ingesta Diaria Aceptable (IDA) de bebidas y alimentos, así también como la cantidad de consumo de los aditivos presente en las mismas bajo una dieta controlada, en cuanto a los analitos de estudio para ácido sórbico y ácido benzoico dichas cantidades no deben sobrepasar una concentración especificada en la noma general para aditivos alimenticios (**Codex Alimentarius, 2019**).

1.1.2 Enfermedades crónicas no transmisibles.

En su mayoría las bebidas azucaradas están compuestas por aditivos que ayudan a su conservación y en algunas incluyen la presencia de estimulantes los cuales alteran el sistema nervioso y proporciona energía pero también genera efectos adversos entre los más comunes tenemos a la ansiedad, presencia de temblores, hiperactividad, trastornos psicológicos, aceleración del ritmo cardiaco ya sea este más rápido o de forma anormal lo cual deriva a enfermedades cardiovasculares e hipertensión (**Segovia, 2016**). La Administración de Alimentos y Medicamentos-FDA, es la encargada de velar por la seguridad y calidad del producto , así como también el bienestar médico de los consumidores y controla el consumo de los aditivos presentes en las bebidas, así no se presente los cuadros crónicos detallados anteriormente (**FOOD & DRUG ADMINISTRATION, 2018**).

1.1.3 Rol que cumplen los conservantes en la dieta diaria.

Con el paso de los años, la industria alimenticia ha ido evolucionando y los conservantes se han convertido en una alternativa para preservar las bebidas por un periodo de tiempo prolongado sin que pierdan sus valores nutricionales. **Villada & Moreno (2010)** indican que estos compuestos proporcionan seguridad microbiológica, buena apariencia, aroma y sabor, por lo que , dentro de los agentes químicos con características antimicrobianas que se usan tenemos al ácido sórbico juntamente con su clasificación de sorbatos y al ácido benzoico y sus familia de benzoatos (**Sauceda, 2011**). Dichos conservantes son reconocidos por la FDA y en conjunto con el ministerio de salud y norma técnica ecuatoriana CODEX aprueba su uso de los mismos siempre y cuando cumplan con los parámetros de fabricación, control de calidad ,almacenado pero sobre todo las concentraciones tolerables para el ser humano, de no ser el caso, estas entidades se encargan de controlar el valor admisible de ingesta diaria de los aditivos presentes en los alimentos (**INEN,2013**).

1.1.4 Ácido sórbico.

El ácido sórbico es reconocido internacionalmente como un aditivo alimenticio que recibe el código de E-200, pertenece a la familia de los ácidos grasos insaturados que contiene dobles enlaces carbono-carbono (Zeece, 2020). Se lo considera un compuesto seguro para el consumo humano ya que se descompone fácilmente en agua y dióxido de carbono por lo que el cuerpo puede metabolizar sin causar ningún problema o toxicidad, además cumple funciones antimicrobianas y antifúngicas ya que a pH menor de 5,6 es capaz de inhibir la formación de mohos, levaduras y ciertas bacterias aeróbicas con mayor eficacia (Stea, 2019).

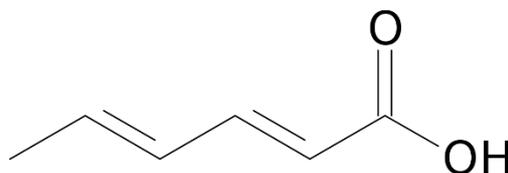


Figura 1 Estructura química de ácido sórbico.

Fuente: (Stea, 2019).

El ácido sórbico con su fórmula química $C_6H_8O_2$ y como se muestra en la figura 1 la estructura de este, al ser débilmente soluble en agua es más utilizado en su forma de sorbato de potasio. Su principio activo es la molécula no dissociada, por lo cual la actividad depende del pH, es ampliamente utilizado en la elaboración de quesos, jugos y productos horneados como un conservante (Berk, 2013). Su mecanismo de trabajo se basa en inhibir enzimas presentes en ciclos de hidratos de carbono y del ácido cítrico, ya que forma enlaces covalentes con grupos SH, de esa forma los inactiva (Thomas & Delves-Broughton, 2014).

1.1.5 Ácido benzoico

El ácido benzoico es parte de la familia de ácidos carboxílicos aromáticos, comúnmente utilizado como un aditivo sintético y reconocido por la normativa CODEX con el código E-210 (**Codex Alimentarius, 2019**). En su estructura se encuentra un grupo carboxilo y un anillo fenólico, posee características antimicrobianas en compuestos cuyos pH se encuentren entre 2,5 y 4,5, razón por la cual la industria alimenticia lo usa para prevenir la formación de bacterias y ciertos hongos en todo tipo de bebidas (**Kalpana & Rajeswari, 2019**).

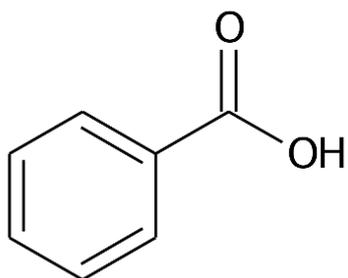


Figura 2 Estructura química de ácido benzoico

Fuente: (Martínez, 2018).

Este compuesto químicamente posee un grupo carboxilo al que se une un anillo fenólico y en la figura 2 se puede observar el gráfico de su estructura, cabe recalcar que el ácido benzoico es usado en forma de sal (benzoato de sodio) debido a su mayor solubilidad en agua y menor toxicidad (**Zeece, 2020**). Este compuesto se lo debe utilizar con precisión y bajo medidas de seguridad ya que al estar en contacto con el aire es inestable y ligeramente tóxico, por lo que algunas industrias optan por disolver con hidróxidos para dar lugar a la formación de benzoatos (**Martínez, 2018**).

1.1.6 Presencia de Cafeína en bebidas azucaradas

La cafeína es considerada un alcaloide de apariencia blanquecina, un polvo inoloro que es soluble en agua, éter dietílico, benceno y cloroformo, se lo usa como un estimulante del sistema nervioso (Bylund, 2007). Tiene efectos anti hipnóticos, y diuréticos, reduce la fatiga y restaura el estado de alerta tras someterse a somnolencias constantes o inusuales (Izawa et al., 2010).

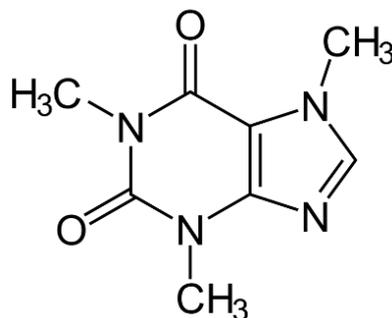


Figura 3 Estructura química de la cafeína.

Fuente: (Borja, 2020).

En la figura 3 se puede observar la estructura química de cafeína la cual es perteneciente a la fórmula $C_8H_{10}N_4O_2$ es conocida con el nombre 1,3,7 trimetilxantina y gracias a dicha formula química que mantiene al cuerpo en un estado de alerta, mejora el rendimiento físico y con el fin de aprovechar dichos beneficios se incorpora cantidades reguladas en bebidas deportivas (Holstege, 2014). Sin embargo, estudios realizador por (Manrique et al., 2018) revela que no hay cambios significativos en cuanto a la concentración y déficit de memoria de los jóvenes entre 18 y 22 años de edad que consumían estas bebidas, por tal razón, hoy en día se encuentra la presencia de cafeína en bebidas azucaradas, energizantes y gaseosas.

1.1.7 Consumo de bebidas azucaradas

Las bebidas azucaradas son aquellas que contienen en su mayoría azúcares libres ya sean en forma de monosacáridos o disacáridos, dentro de las cuales incluyen las bebidas gaseosas, aguas saborizadas, jugos o zumos de frutas, bebidas energizantes, deportivas, bebidas lácteas, té y refrescos (OMS, 2019), las mismas que han ido evolucionando y hoy en día encontramos una variedad en cuanto a la marca, presentación, sabor, olor y además características particulares beneficiosas para la salud tales como el aporte de nutrientes, vitaminas, antioxidantes y electrolitos, razón por la cual son recomendadas para el consumo humano (Huerta & Romero, 2018).

1.1.8 Normativas alimenticias.

La principal norma alimenticia usada como referencia para el análisis de conservantes es la norma (CODEX Stan192, 2013), la cual es el conjunto de códigos alimenticios reconocidos a nivel nacional e internacional, esta norma fue creada por la Comisión del Codex Alimentarius (CCA) en el año de 1963 con el fin de cuidar el bienestar de los consumidores y potencializar la elaboración y distribución tanto de alimentos como de bebidas de forma segura y confiable, de igual manera para la cafeína, dicho compuesto está controlada por la norma (NTE INEN 1101, 2017) para bebidas energizantes y para bebidas gaseosas la norma (NTE INEN 2411, 2015). Cabe recalcar que la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) juntamente con la Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que dicha normativa es de gran importancia para la industria alimenticia ya que gracias a eso pueden llevar a cabo la elaboración de productos libres de contaminación así como también una comercialización éticamente respaldada (FAO & OMS, 2018).

En la normativa se encuentran detalladas las definiciones de los alimentos, aditivos y demás generalidades, método de fabricación, buenas prácticas BPF y las condiciones para su aplicación, control de calidad e inocuidad, valor nutricional, cantidades de dosificación máxima permitirle para el consumo humano y demás parámetros y estándares propios de cada aditivo, además (CODEX Stan192, 2013) brinda información confiable sobre los alimentos a los que se les ha determinado una ingesta

diaria admisible IDA y las diferentes opciones de aditivos aceptables para el consumo, por lo contrario aquellos que no se entraran en la misa deberían ser restringidos y así evitar cualquier tipo de intoxicación o problema para el consumidor (**Garcinuño, 2017**).

1.1.9 Método de análisis

La Espectroscopia es una técnica analítica que se encarga de estudiar la integración entre las radiaciones electromagnéticas con la materia (**Saucedo, 2018**) y para poder determinar se hace uso de los métodos espectroscópicos a los que se define como técnicas de análisis cualitativo y cuantitativo de átomos y moléculas, dichas técnicas hacen uso de equipos espectrofotómetros en función a su longitud de onda, entre los cuales están la espectroscopía de emisión atómica, espectroscopía Ultra violeta-Visible, espectroscopía Infrarrojo y espectroscopía Raman (**Hollas, 2020**).

- La radiación electromagnética corresponde a la variación de energía emitida que se traslada a una gran velocidad, este principio consta de dos campos: magnético y eléctrico, pero en este caso hacemos mayor referencia al campo eléctrico ya que tiene una onda que se propaga en el espacio a lo largo del tiempo (**Saucedo, 2018**) y si medimos la longitud de la onda propagada es posible determinar los fenómenos de interacción, en este caso la absorción.
- Se define como absorción a la capacidad que tiene una sustancia de absorber las radiaciones a una longitud de onda determina (**Díaz et al., 2018**) existen ondas que van desde 10^3m a una de radio, 10^{-2} m para microondas, 10^{-5}m infrarrojo, $0,5 \times 10^{-6}\text{ m}$ luz visible, 10^{-8} m para ultravioleta, una onda de 10^{-10} m para rayos X y finalmente 10^{-12} m en radio gama como lo detalla (**Hollas, 2020**) por medio de las longitudes se puede determinar la concentración del compuesto, la misma que es directamente proporcional a la absorción en el espectro.

1.1.10 Colorimetría

La colorimetría es un indicador cualitativo que mide la intensidad de color en una sustancia determinada, se dice que inicialmente nuestros ancestros científicos realizaban pruebas al ojo humano, después diseñaron una rueda con una serie de colores en la que se comparaba el color que difiere una sustancia de otra, pero estas pruebas no eran muy confiables por el grado de exactitud y precisión, sin embargo, conforme pasa el tiempo y con ello el avance de la tecnología se han creados las celada fotométricas las cuales facilitan la lectura colorimétrica (**Aparicio, 2017**).

Según la Comisión Internacional de Iluminación (**Corróns et al., 2017**) aprueba la realización de ensayo colorimétricos a través de la medición de luz y radiación, las cuales se pueden detectar por medio de colorímetros y espectrofotómetros, equipos diseñados para evaluar la radiación ultravioleta, visible e infrarroja según su rango establecido en los que se puede detectar también las propiedades ópticas y características cromóforas que difieren entre las técnicas colorimétricas (**Gutiérrez, 2020**).

Definimos al colorímetro como el equipo especializado para leer el color en base a la longitud de onda que atraviesa las celdas fotocolorimétricas, por medio del cual se miden la absorción de radiación que atraviesa por un fragmento visible, con este equipo se puede determinar la luminancia, longitud y la pureza de una sustancia (**Villashañay, 2020**).

- Luminancia es la intensidad con la que pega la radiación y se detalla la luminosidad en base a si la muestra es clara u oscura, a la que también se denomina como tomo o matiz la misma que se representa con la letra “L” y se expresa en Cd/m^2 (**Aparicio, 2017**).
- Longitud de onda predominante según (**Vela, 2021**) es el valor optimo al que se puede leer una muestra especifica en el espectro, este se

representa gráficamente y se identifica al darse el punto de corte y en base a dicho valor es posible obtener la absorbancia.

- Por otro lado, (**Aparicio, 2017**) define que la pureza es la magnitud dilución que tiene una sustancia, así como la presencia de compuestos adversos que genera dicho color y que está relacionada con la saturación o intensidad cromática el cuál debe estar en un inervalo entre 0 y 1.

1.1.11 Relación entre tonalidad y visibilidad

Para que un haz de luz atraviese las celdas espectrofotométrica es necesario que sea visible para poder medir la absorbancia del mismo, por lo que se debe entender que la solubilidad y visibilidad están directamente relacionadas, ya que si una muestra es muy oscura y se la disuelve en una mayor concentración de solvente, va a darse un cambio en la tonalidad y por ende la muestra va a ser más visible, sin embargo mientras más se diluya la muestra se corre el riesgo de perder las propiedades del analito y demás compuesto de interés (**Vela, 2021**) por tal razón se establece diferencias entre tono deseado y tono optimo, ya que el tono deseado depende de la percepción de cada analista para ajustar a un color favorable para el consumidor, por otro lado el tono óptimo depende de la línea mínima de visibilidad definida por el equipo colorimétrico (**Bravo, 2021**).

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

- Determinar los conservantes en bebidas azucaradas, consumidas por los moradores de la provincia de Tungurahua por espectroscopia ultravioleta.

1.2.2 Objetivos específicos

- Realizar pruebas colorimétricas que permitan una correcta lectura espectrofotométrica de los analitos presentes en las bebidas azucaradas.
- Cuantificar simultáneamente el Ácido Sórbico, Ácido Benzoico y Cafeína usando un espectrofotómetro ultravioleta.
- Verificar con el cumplimiento de ingesta diaria de conservantes y de cafeína presentes en las bebidas azucaradas según la norma NTE INEN-CODEX 192.

1.3 Hipótesis

1.3.1 Hipótesis Nula

Los conservantes y la cafeína presente en bebidas azucaradas incumplen con los valores establecidos de ingesta diaria según la norma CODEX-192, la norma NTE INEN 1081 y la norma NTE INEN 2411.

1.3.2 Hipótesis Alternativa

Los conservantes y la cafeína presente en bebidas azucaradas cumplen con los valores establecidos de ingesta diaria según la norma CODEX-192, la norma NTE INEN 1081 y la norma NTE INEN 2411.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1 Materiales, equipos y reactivos

2.1.1 Materiales

- Matraz aforado de 100 y 250 ml
- Vasos de precipitación de 500 ml
- Probetas de 100 ml
- Embudo de separación
- Celdas de cuarzo
- Pera de succión
- Varilla de agitación

2.1.2 Equipos

- Espectrofotómetro UV-VIS EVOLUTION 60s
- Espectrofotómetro GENESIS 10VIS
- Colorímetro GENESYS 20TM
- Balanza analítica BOECO-BBL31
- Plancha de calentamiento THERMOLYNE CIMAREC ®

2.1.3 Reactivos

- Ácido sórbico SIGMA-ALDRICH
- Ácido benzoico SIGMA-ALDRICH
- Ácido clorhídrico concentrado
- Agua destilada
- Cafeína SIGMA-ALDRICH

- Cloruro de sodio
- Cloroformo
- Hidróxido de amonio
- Hidróxido de sodio
- Sulfuro de sodio
- Sulfocianuro de potasio
- Ácido fosfórico
- Permanganato de potasio

2.2 Métodos

2.2.1 Selección de muestras.

La selección de las muestras se llevó a cabo a partir de los datos recolectados previamente por la encuesta realiza en conjunto con el proyecto “Política Tributaria y el consumo de bebidas azucaradas en el Ecuador” (Guano, 2019).

En base a la cual se analizaron y se escogieron tres de las bebidas azucaradas de mayor consumo por los moradores de la provincia de Tungurahua, en la Tabla 1 se detallan las marcas y la clasificación de estas según la normativa alimenticia (CODEX Stan192, 2013).

Tabla 1 Descripción de las bebidas azucaradas

Marca	Clasificación	Categoría	Código CODEX	Etiqueta
Monster	Energizante	Bebidas energizantes	14.1.4	UTA-FCIAB-M1
220V	Energizante	Bebidas energizantes	14.1.4	UTA-FCIAB-M2
Coca-Cola Light	Gaseosa	Bebidas saborizadas no alcohólicas	14.1.1	UTA-FCIAB-M3

Fuente: (CODEX Stan192, 2013), Elaboración propia.

2.2.2 Recolección de muestras

Las bebidas azucaradas fueron recolectadas en base manual de toma de muestras de aditivos alimentarios detallado en la norma INEN CODEX de bebidas azucaradas (INEN, 2015) la cual establece que los productos envasados en presentación comercial se deben tomar de manera aleatoria , pero de un mismo lote de elaboración, cabe recalcar que las muestras serán tratadas con estrictas normas de asepsia y para su traslado hasta el laboratorio donde serán analizadas, por lo qué, serán colocadas en refrigeración a una temperatura de máximo 4C° como medio de conservación, de esa manera mantener las muestras en óptimas condiciones (Metroquímica.Net, 2014).

Se estableció cuatro puntos de muestreo tales como Ambato, Cevallos, Pelileo y Patate, cantones pertenecientes a la provincia de Tungurahua, para lo cual se realizó las respectivas etiquetas impresas en papel autoadhesivo las mismas que fueron colocadas en las botellas al momento de realizar el muestreo y se las fijo con cinta adhesiva para mayor seguridad.

Tabla 2 *Puntos de muestreo y coordenadas respectivas*

Tipo de bebida	Cantón	Etiqueta	Coordenada	Hora
Monster	Ambato	UTA-FCIAB-M1-P1	17S 763001 9858799	12:10
	Pelileo	UTA-FCIAB-M1-P2	17S 773557 9852908	16:29
	Patate	UTA-FCIAB-M1-P3	17S 777457 9854828	17:05
220V	Ambato	UTA-FCIAB-M2-P1	17S 763001 9858799	12:15
	Pelileo	UTA-FCIAB-M2-P2	17S 773557 9852908	16:35
	Cevallos	UTA-FCIAB-M2-P4	17S 765237 9850108	2:25
Coca-Cola	Ambato	UTA-FCIAB-M3-P1	17S 763001 9858799	12:25
	Patate	UTA-FCIAB-M3-P3	17S 777457 9854828	17:10
Light	Cevallos	UTA-FCIAB-M3-P4	17S 765237 9850108	2:37

*Nota: la recolección de muestras se llevó a cabo el sábado 04 de diciembre del 2021, donde se empleó un sistema de coordenadas Universal Transversal del Mercator 1940 (UTM) la misma que está expresadas en metros al nivel del mar.

M1 corresponde al número de muestra y **P1** corresponde al número de punto de muestreo.

2.2.3 Ubicación geográfica de la investigación

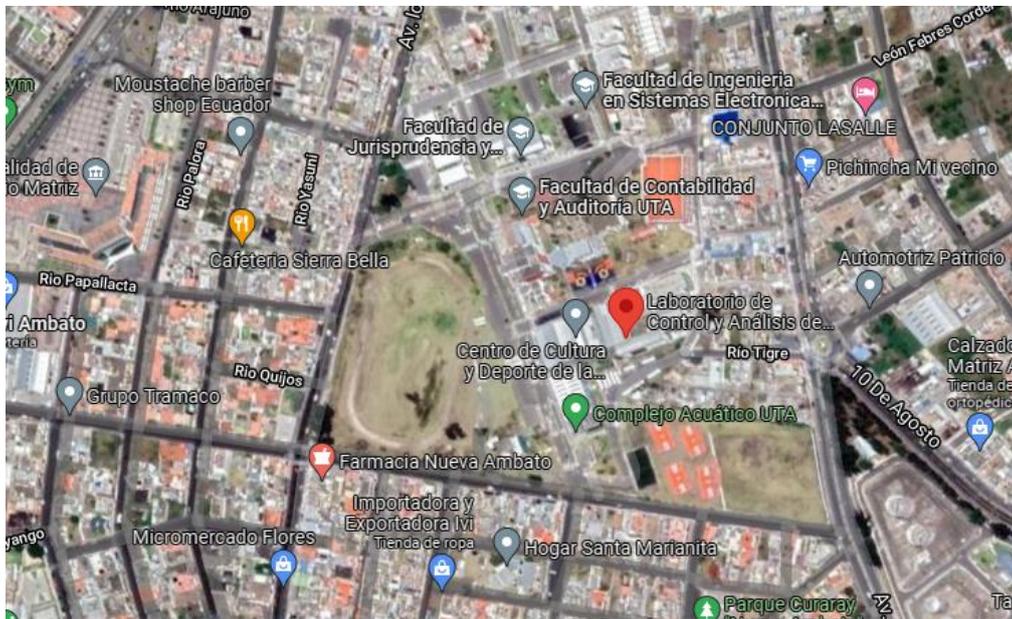


Figura 4 Ubicación de laboratorio LACONAL.

Obtenido de Google Maps (2022).

Una vez recolectada las bebidas azucaradas se las trasladó hasta el laboratorio acreditado por el servicio de acreditación ecuatoriana S.A.E, en la figura 4 se muestra la ubicación geográfica correspondiente al laboratorio de Control y Análisis de alimentos LACONAL que se encuentra ubicado en la Universidad Técnica de Ambato, en el cual se llevó a cabo la realización de los análisis de pretratamiento y cuantificación de conservantes y cafeína por el método de espectrofotometría ultravioleta.

2.2.4 Pretratamiento de las muestras

Las bebidas azucaradas tienen diferente estructura y composición por lo que la lectura de las mismas resulta compleja, según la metodología descrita por (Darch et al., 2021)

para el caso de las bebidas gaseosas y energéticas requieren un tratamiento en el que se elimine el CO₂, a continuación se toma las tres bebidas de la marca “Monster” representada por “M1”, mismas que fueron recolectadas en los puntos P1,P2 y P3 detallados por la tabla N°2, se colocó en un recipiente en el cual se obtuvo un total 1 litro y se homogenizó, después se tomó 300 ml de dicha muestra y se llevó a calentar hasta que la bebida alcance la ebullición aproximadamente por 10 minutos como se observa en la figura 5, después se dejó enfriar a temperatura ambiente, se colocó en vasos de precipitación y con ayuda de una varilla de agitación se desgasificó por completo a la bebida y se filtró, se repite este procedimiento dos veces más hasta terminar de desgasificar toda la muestra, finalmente se recolectó el volumen total y se conservó para posteriores tratamientos analíticos.

Cabe recalcar que la metodología detallada se la realizó también para la bebida “M2” que corresponde a la marca 220V y “M3” que correspondiente a Coca-Cola Light.



Figura 5 *Pretratamiento de desgasificación a la Muestra de Coca-Cola Light.*

2.2.5 Verificación del método de análisis.

Para el análisis de cuantificación se empleó un método ya validado por **Ojeda (2022)** en el que analizó parámetros analíticos como la precisión, exactitud, reproducibilidad, repetibilidad, intervalo de trabajo e incertidumbre, gracias a los cuales permiten tener una mejor fiabilidad y mayor aceptación de los resultados analíticos, dicho lo anterior

se tomó las curvas de calibración ya elaboradas tanto de ácido sórbico como para ácido benzoico y cafeína obtenidas del espectrofotómetro UV-VIS EVOLUTION 60s a rangos específicos, datos que concuerdan con los rangos de 230 nm y 260 nm para ácido sórbico y ácido benzoico respectivamente tal como lo detalla la norma (**NOM-F-309-S, 1978**). Mientras que para la cafeína se tomó que el rango sea de 276 nanómetros, mismo que indica en la norma (**INEN-1089, 1983**).

2.2.6 Pruebas colorimétricas

Con el fin de obtener una correcta lectura espectrofotométrica de los analitos presentes en las bebidas azucaradas se realizaron las pruebas colorimétricas por medio de las técnicas espectroscópicas que usan espectros de absorción a diferentes longitudes de onda **Ibáñez et al.(2021)**. Para el caso de la bebida Coca-Cola Light se tomó 1 ml de la muestra desgasificada, se colocó en un balón de 10 ml y se aforó con agua destilada, se realizó esta dilución debido a que el color original de la bebida a simple vista es oscura y resulta difícil de leer en el equipo colorimétrico, por lo que según **Vela (2021)** en su estudio preparó análisis que facilite la lectura espectrofotométrica y en base a eso, después de hacer la dilución 1:10 se homogenizó y se tomó 0.3 microlitros en la celda de cuarzo, eso se depositó en el espectrofotómetro de la marca GENESIS 10vis el cual mide longitud de onda desde 400 a 780 nanómetros es decir corresponde al rango visible, en este equipo se llevó cabo inicialmente un barrido espectral de la muestra desde la longitud mínima, la cual refleja una gráfica con los respectivos valores de absorbancia, mismos que serán necesarios para conocer la longitud a la que se debe medir dicha muestra (**Hernandez, 2021**).



Figura 6 *Equipo espectrofotométrico GENESYS 10Vis.*

Fuente: Laboratorio de Control y Análisis de alimentos LACONAL

De la misma manera, se colocó 0.3 microlitros de la muestra en espectrofotómetro UV-VIS de la marca EVOLUTION 60s y se realizó el barrido espectral, con la diferencia que este equipo tiene una longitud mínima de 190 nm y una máxima de 890 nm es decir abarca desde el rango ultra violeta hasta el rango visible, **Hernandez (2021)** menciona que gracias al barrido espectral es posible comparar los valores obtenidos con los del anterior análisis, por lo que después de realizar dicha comparación seleccionar los picos de máxima absorbancias y se repite el procedimiento con las otras dos bebidas restantes.



Figura 7 *Equipo espectrofotométrico UV-VIS EVOLUTION 60s.*

Fuente: Laboratorio de Control y Análisis de alimentos LACONAL

Después de haber realizado la disolución 1:10 a cada bebida, se observó que las muestras aún son oscuras por lo que los equipos no pudieron realizar las lecturas respectivas, pero con el fin de mantener la concentración de los analitos de interés, no fue posible continuar realizando más diluciones, por lo contrario, se procedió a realizar un tratamiento especializado para cada analito de interés.



Figura 8 Cambio de color en la Bebida 220V posterior a su tratamiento.

Uno de los factores a considerar es el pH, por lo que con ayuda de bandas medidoras de pH se comprobó que hayan reducido su valor inicial, como se observa en la figura 8 la muestra tiene un ligero cambio de color que ya puede ser detectada por las longitudes del equipo, sin embargo, **Vela(2021)** menciona que el colorímetro es un equipo puntual que facilita el análisis cualitativo, por tal razón una vez obtenidas las lecturas con las metodologías anteriores, se procedió a usar el Colorímetro de la marca GENESYS™ 20 en el que se obtuvieron resultados de forma rápida, pero con gran exactitud y confiabilidad.



Figura 9 Equipo Colorimétrico de la marca GENESYS™ 20

Fuente: Laboratorio de Control y Análisis de alimentos LACONAL

Para usar dicho equipo se realizó una previa calibración en base a las especificaciones del equipo detalladas en el manual (**Thermo Spectronic, 2000**). Para eso fue necesario también tener un blanco de medición el mismo que corresponde a agua

destilada, en cuanto a la primera medición se usó la muestra desgasificada acompañada con tres mediciones, entonces se tomó 0.4 microlitros de cada muestra en las celdas rectangulares propias del equipo y se procedió a leer cada una de las muestras en base a las absorbancias dadas por el pico más alto obtenido de los equipos anteriores, esto se hace con el fin de corroborar que las muestras tienen una tonalidad clara y están listas para usarlas en los siguiente procedimientos para la cuantificación de los analitos.



Figura 10 Cambio de color en la Bebida Monster desde la fase inicial, después de la dilución en agua destilada y finalmente después de su tratamiento.

2.2.7 Preparación de soluciones

Para poder realizar el tratamiento de las muestras a las que se va a determinar la presencia de los conservantes y la cafeína requiere el uso ciertas soluciones las cuales se detallan continuación.

- La solución saturada de Cloruro de sodio se realizó colocando en una botella ámbar 30g de HCl con 150 ml de agua destilada la cual se usó en la metodología de ácido sórbico y ácido benzoico como le detalla **(NOM-F-309-S, 1978)**.
- Se preparó una solución de hidróxido de amonio al 0.1% se preparó con 10 ml de NH_4OH de concentración 3M en una botella ámbar y se completa su volumen con 1L de agua destilada, esta solución ayudó a que la muestra no se degrade **(NOM-F-309-S, 1978)**.

- Por otro lado para el tratamiento de la Cafeína se prepararon soluciones en base a la norma (NTE INEN, 2013). Inicialmente para la solución de permanganato de potasio al 1.5% la cual se pesó 0.750g de KMnO_4 y con ayuda de una pipeta se tomó 50 ml de agua destilada y se homogenizó, además se preparó una solución reductora la cual contiene 5 ml de sulfito de sodio anhidrido y 5 g de Tiocianato de potasio, estos dos compuestos se diluyeron en 100 ml de agua destilada.
- Finalmente se preparó una solución de ácido fosfórico tomando 3ml de ácido fosfórico y se mezcló con 14 ml de agua destilada, ambas soluciones fueron tomadas con una pipeta de 10ml y se colocó en un balón aforado de 25 ml en el que se almacena hasta su uso en la determinación de cafeína (NTE INEN, 2013).



Figura 11 Preparación de las soluciones en general.

Fuente: Laboratorio de Control y Análisis de alimentos LACONAL.

2.2.8 Tratamiento de la muestra para la determinación de Ácido Sórbico y Ácido Benzoico.

Para la determinación de los conservantes se utilizó el método según **INEN 1089(1983)** con algunas modificaciones debido a que el procedimiento se basa en una extracción ácida el cuál aprovecha la solubilidad de los analitos en éter etílico grado analítico como solvente de extracción. Para la primera reacción se tomó 10 ml de muestra pretratada en la que se elimina el CO_2 y se colocó en un embudo de separación de 250 ml , se añadió 10 ml de solución saturada de cloruro de sodio, luego se añadió

5ml ácido clorhídrico con a una dilución de 1:1000 esto con fin de acidificar la solución de esa manera de alcanzó un pH de 3 y 4, después se agregó 5ml de la solución de hidróxido de amonio al 1%, se homogenizó y se espera que se lleve a cabo la separación de los compuestos, se dejó reposar entre 5 y 10 min hasta obtener la fase acuosa y el precipitado.

A continuación, se realizó un lavado con 20 ml éter etílico y con el fin preservar el analito de interés se descartó la fase acuosa y se filtró como se observa en la figura 12, finalmente la solución acidificada se colocó en un vaso de precipitación de 100ml del cual se toma 10 para llevar a cabo la determinar la absorbancia empelando el método de adición de estándares (NOM-F-309-S, 1978).



Figura 12 *Filtrado de la muestra.*

2.2.9 Tratamiento para la determinación de cafeína

La norma INEN, detalla una metodología para determinar el contenido de cafeína en bebidas gaseosas (NTE INEN 1081:1984, 2013) la cual se usó como referencia y se realizó ciertos cambios necesarios , mismos que se detallan a continuación.

Se colocó 10 ml la muestra desmasificada en un embudo de separación de 250ml, al que se le agregó 5 ml de una solución al 1,5% de permanganato de potasio, se homogenizó y se dejó reposar por 5 minutos durante ese tiempo se observa un cambio

de color morado, al transcurrir ese tiempo se agregó 10 ml de la solución reductora anteriormente preparada y después se agregó 0,5 ml de solución de ácido fosfórico y 1 ml de solución de hidróxido de sodio, gracias a la cual se pudo observar que ocurrió un cambio del color inicial en la reacción y la formación de coágulos de color morado, se esperó durante 5 minutos hasta que finalice la reacción.



Figura 13 Separación de la fase orgánica en la reacción para Cafeína.

Después se colocó 20 ml de cloroformo, se homogenizó por 1 minuto y como se muestra en la figura 13 se observó una separación de fases, se retiró la fase orgánica y la solución restantes se la extrajo con ayuda del papel filtro con el fin de eliminar todos los residuos orgánicos innecesarios, finalmente se colocó en un matraz volumétrico de 50 ml, se aforó con cloroformo y se conservó para realizar el método de adición de estándares.

2.2.10 Análisis cuantitativo de conservantes y cafeína por el método de adición de estándares y lectura en el espectrofotómetro UV-VIS.

Es importante considerar las características cromóforas, concentraciones y estándares que se necesitarán para llevar a cabo la espectrofotometría en el equipo de la marca “EVOLUTION 60s” el mismo que tiene un rango lineal entre 12 y 28 g/ μ ml en un rango espectral UV-Vis entre 190 y 900 nm de lectura de muestras en solución de agua, cloroformo y éter etílico pero como las bebidas azucaradas contiene varios componentes que resultan complejos de leer debido al efecto matriz la absorbancia del

analito puede aumentar o disminuir mostrando errores en la medición, con el fin de evitar esta problemática se usará el método de adiciones estándares seguido de la siguiente metodología descrita por (Verdú, 2014) en el que se añaden ácido sórbico, ácido benzoico y cafeína hasta obtener una concentración de 2,3,5,7,9 y 10 de cada uno, para lo que inicialmente se pesa 10 mg del estándar como se observa en la figura 14.



Figura 14 *Uso de la balanza analítica BOECO BBL31 para pesar los mg necesarios para cada estándar*

Fuente: Laboratorio de Control y Análisis de alimentos LACONAL

Para el caso de la cafeína, se pesó un total de 10mg de mg de cafeína y se repartió en 6 pocillos de la siguiente manera 2,1,2,2,2,1 mg de cafeína como se observa en la figura 12, de ahí se colocó en un balón aforado de 10ml los primeros 2mg cafeína y se disolvió con 10 ml de muestra tratada en el apartado “2.2.7”, se homogenizó y se procedió a leer la absorbancia en el espectrofotómetro , después se colocó los 0.5 ml que contiene la celda de cuarzo en el segundo pocillo que contiene 1 mg de cafeína y una vez disuelta la cafeína se colocó nuevamente en el balón aforado de 10ml y se mezcló con muestra anterior , se homogenizó, se tomó 0.5 ml en una celda de cuarzo y se realizó la lectura en el espectrofotómetro ,después se coloca nuevamente el

volumen de la celda de cuarzo en el tercer pocillo que contiene 2mg de cafeína, cabe recalcar que para este momento ya se añadieron 5g de la adición de estándar y repite la metodología con todos los pocillos hasta alcanzar una concentración final de 10mg de cafeína en los 10 ml de la muestra (Valle, 2011).



Figura 15 Adición de estándar de Cafeína.

En cuanto los conservantes se realizó el procedimiento anteriormente detallado para cada una de las bebidas azucaradas, es decir se pesó los 10 mg cada aditivo como se observa en la figura 15 y se añadió los volúmenes crecientes de 2,3,5,7,9 y 10 mg del estándar, para el caso del ácido sórbico se aforará con 10ml de la muestra tratada se homogenizó y se procedió a medir la absorbancia a la longitud de 260, mientras que el ácido benzoico una vez realizada toda la metodología se realizó la lectura de la absorbancia a 230 nm (Marsili, 2015).

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Pruebas colorimétricas

Considerando que el primer equipo espectrofotométrico de la marca GENESYS 10Vis abarca longitudes de onda desde 400 hasta 900 nm la cuales corresponde al rango visible y las tres bebidas azucaradas se pueden leer a longitudes de 200 hasta 300 nm, este equipo nos mostró una línea recta tal como se muestra en la figura 16, lo que indica que los valores se encontraban fuera del rango mínimo permitirle por tal motivo se hizo uso de otros equipos colorimétricos que permitan la lectura deseada.

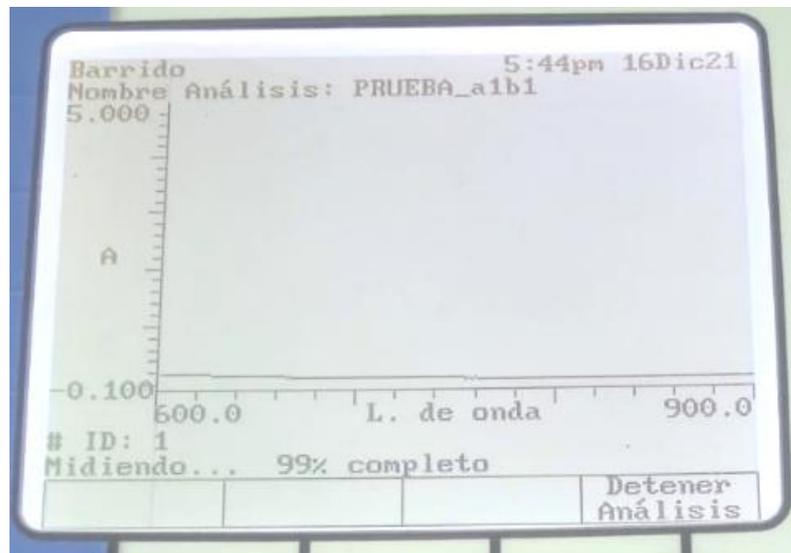


Figura 16 *Grafica que muestra el equipo espectrofotométrico GENESYS 10Vis en el primer barrido espectral.*

El segundo equipo espectrofotométrico corresponde al de la marca UV-VIS EVOLUTION 60s, el cual abarca desde un rango desde 190 hasta 900 nm , es decir desde ultravioleta hasta el rango visible, en este equipo sí fue posible realizar el barrido espectral por lo que se observaron varios picos con longitudes máximas de absorción, pero en base a eso se realizó otros dos barridos más pero de forma puntual

con el objetivo de determinar la longitud de onda predominante, mismo que es uno de los parámetros colorimétricos definidos por (Aparicio, 2017).

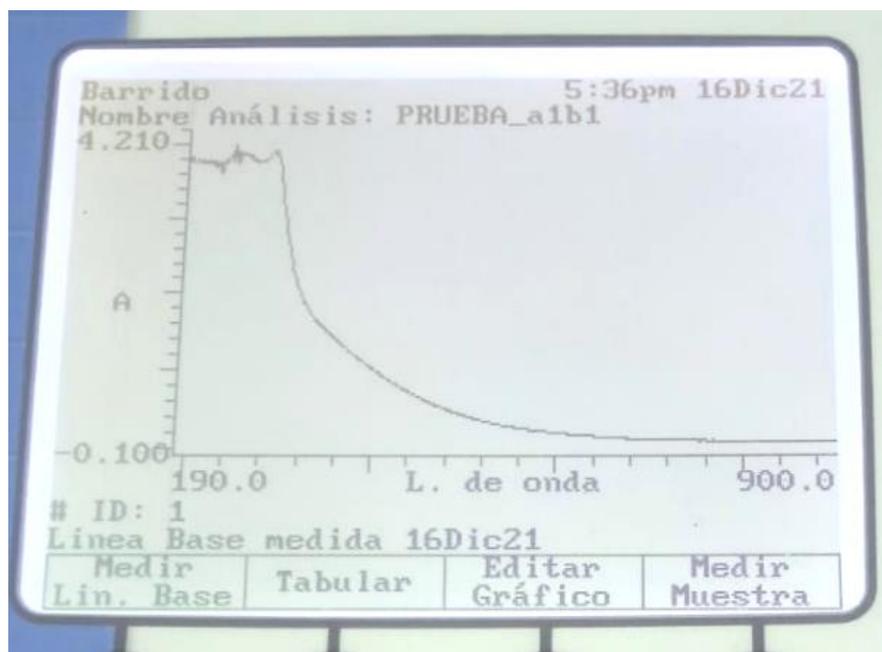


Figura 17 Barrido espectral en el equipo espectrofotométrico UV-VIS EVOLUTION 60s.

Como se observa en la figura 17, la curva empieza a decrecer desde los 400 nm, por tal razón se descartan esas mediciones y se tomó en cuenta los valores desde 200 hasta 399 nm según corresponda a cada bebida analizada y los datos obtenidos se encuentran dentro de ese rango tal como se expresan en las tablas 16, 17 y 18 de Anexos, sin embargo, en la tabla 3 se detallan los valores del barrido puntual de 220 a 280 nm.

Tabla 3 Pruebas colorimétricas en el espectrofotómetro EVOLUTION 60s.

Barrido espectral desde 220 a 280 nm					
Monster		220V		Coca-Cola Light	
λ	Abs	λ	Abs	λ	Abs
230	3.477	2.30	3.392	230	3.978
253	3.481	2.46	3.351	249	4.676
260	3.494	2.60	3.394	263	4.619
276	3.471	276	3.458	276	4.514

El colorímetro de la marca GENESYS™ 20, el cual corresponde al tercer y último equipo de medición para la colorimetría, fue de gran ayuda para comprobar que tanto las muestra de Monster, 220V y Coca-Cola Light en su estado puro y desgasificadas son bebidas oscuras que impiden la lectura por lo que el equipo señala un error al instante de introducir la muestra tal como se observa en el Anexo 4, ya que longitudes de ondas mínimas que este equipo puede detectar es de 335 nm , sin embargo las longitudes de ondas medibles fueron de 405, 402 y 399 nm respectivamente como se detalla en la tabla 4 en la que también se puede observar que los valores de absorbancia de las muestras “A1” son mayores a las del blanco y por otro lado las muestras A2 y A3 debido a los tratamientos realizados son menores a la muestra A1 pero se asemeja al color del blanco de igual manera su valor de absorbancia están dentro de los rangos de similitud, cabe recalcar también que por medio de este análisis colorimétrico se establece que las tres muestras se encuentran en un rango ultravioleta (**Bravo, 2021**).

Tabla 4 Pruebas colorimétricas en el colorímetro GENESYS™ 20.

Monster		220V		Coca-Cola Light	
405 nm		402 nm		399 nm	
	Abs		Abs		Abs
Blanco	0,128	Blanco	0.024	Blanco	0.069
A.1	0,156	A.1	0.048	A.1	0.103
A.2	0.130	A.2	0.021	A.2	0.074
A.3	0.129	A.3	0.022	A.3	0.072

*Nota: **A1:** Muestra diluida 1:10

A2: Muestra Tratada para ácido sórbico y ácido benzoico.

A3: Muestra tratada para Cafeína.

Elaborado por: Monserrath Verdesoto.

El espectrofotométrico GENESYS 10VIS es sensible a muestras oscuras lo que puede causar daños a la lampara en el momento que refleja el flash de xenón como lo inicia en el manual (**Scientific, 2015**), por tal razón la línea recta obtenida nos indica que las bebidas iniciales requieren no solo de una dilución en agua destilada sino también de

un tratamiento específico para cada analito, por otro lado la espectrofotometría UV-VIS es una técnica que como menciona **(Díaz et al., 2018)** determina la concentración de un analito en una solución, en la que generalmente se aplica la ley de Beer-Lambert la misma que relaciona la intensidad de luz y el cromóforo, donde establece que a mayor absorbancia existe mayor concentración, pero esta ley aplica solo a soluciones diluidas.

Sin embargo se puede o no hacer uso de la misma ya que por medio del equipo EVOLUTION 60s y se pudo leer a una máxima longitud de onda de 300, 270 y 280 para las bebidas Monster, 220V y Coca-Cola Light respectivamente ya que como indica el manual **(Thermo Fisher, 2018)** por medio de este equipo puede determinar la concentración la misma que es proporcional a la absorbancia reflejada, puesto a que posee un doble haz que genera mayor exactitud y precisión fotométrica permitiendo hacer barridos hasta de 3600 nm/min, gracias a eso ha sido posible alcanzar resultados confiables los mismos que son similares a los de **(Macías Núñez, 2018)** donde nos indica que las longitudes de ondas máximas deben ser corroboradas con una curva de calibración en la que existirá una relación entre la cantidad del analito y la intensidad del color, en dicho caso como se realizaron diluciones de los aditivos, se pudo comprobar que conforme una muestra tiene mayor cantidad de analito se va a formar una línea recta con una pendiente ascendente y por ende a mayor concentración mayor es la intensidad del color que tiene esa muestra **(Nielsen, 2010)**.

Además, gracias al segundo equipo también fue posible determinar la longitud predominante por medio del barrido puntual desde 220 hasta 280, los cuales los picos con mayor absorbancia son los que corresponden a las longitudes de onda de 230, 260 y 276 y en base a la investigación bibliográfica de la norma **(NOM-F-309-S, 1978)** para la cuantificación de ácido sórbico se debe medir desde 260 hasta 272 nanómetros y para el ácido benzoico entre 230 y 255 nm, mientras que para la Cafeína se puede leer desde los 272 nm hasta 276 nm según la norma **(NTE INEN, 2013)**.

Finalmente con el colorímetro GENESYS 20M fue posible analizar la tonalidad de las muestras, la cual es una característica cualitativa propia del parámetro de luminosidad **(Aparicio, 2017)** en la que el color de la muestra perteneciente al blanco fue utilizado

como una referencia visible por la radiación de este equipo, entonces las muestras ya tratadas tanto para la determinación de los conservantes como para la cafeína ya son consideradas como muestras claras.

3.2 Verificación del método y su aplicación.

En la tabla 5 se reflejan las concentraciones de la curva de calibración con sus respectivas absorbancias del ácido sórbico y ácido benzoico mientras que en la tabla 6 los valores para cafeína, además en los anexos 26,27 y 28 se pueden ver las gráficas respectivas a cada curva de calibración, mismas que son resultados del método validado por Ojeda (2022).

Tabla 5 Curva de calibración para el ácido sórbico y ácido benzoico

Concentración		Absorbancia promedio	
		Á. Sórbico	Á. Benzoico
Estándar	mg/100 mL	260 nm	230 nm
Blanco	0,000	0,000	0,000
STD 1	1,000	0,004	0,005
STD 2	2,000	0,003	0,009
STD 3	4,000	0,005	0,016
STD 4	6,000	0,007	0,022
STD 5	8,000	0,009	0,030
STD 6	10,000	0,011	0,036
STD 7	15,000	0,017	0,053
STD 8	20,000	0,022	0,071
STD 9	25,000	0,028	0,089

Fuente: Ojeda (2022)

Tabla 6 Curva de calibración para la cafeína

Concentración		Absorbancia
Estándar	mg/25 mL	Cafeína 276 nm
Blanco	0,000	0,000
STD 1	1,000	0,008
STD 2	2,000	0,015
STD 3	3,000	0,018
STD 4	5,000	0,033
STD 5	10,000	0,060
STD 6	12,000	0,071
STD 7	16,000	0,098
STD 8	20,000	0,120
STD 9	25,000	0,153

Fuente: Ojeda (2022)

Como se puede observar en la Tabla 6, la cafeína presenta valores de absorbancia altos en comparación a la curva de calibración del ácido sórbico y ácido benzoico, ya que en estas se añadió una cantidad de estándar cuya concentración está dada en mg/100 mL a diferencia de la cafeína donde se trabajó a mayor concentración (mg/25 mL), dichos valores nos sirven como referencia para saber la concentración de cafeína y conservantes ya que para llevar a cabo el procedimiento de análisis cuantitativos mediante un espectrofotómetro, se realizó la calibración del equipo, que consiste en formar una curva de calibración con el fin de tener la linealidad del método que permita obtener una mayor exactitud en la concentración de analito (**Suárez Pérez, 2014**) en la muestra problema, en base a la concentración y absorbancia que refleja, donde la absorbancia reflejada viene a ser la cantidad de luz que absorbe la muestra al pasar un haz de luz a través de ella.

Por medio de la curva de calibración que viene del método valido por **Ojeda (2022)** fue posible evaluar el error estándar y el coeficiente de correlación múltiple R^2 , donde a mayor valor para R^2 , el error estándar se minimiza y dicho valor indica que la variación entre los valores experimentales y valores estimados es pequeña (**Nielsen, 2010**) y como se observa tanto para ácido sórbico , ácidos benzoico y cafeína las

pendientes obtenidas en cada curva de calibración están dentro del rango de control entendiéndose que el método cumple con la linealidad requerida teniendo en cuenta los parámetros estadísticos, donde indica un coeficiente de correlación positiva perfecta con valores entre 0,999 y 1,000. Con este rango de concentraciones establecidas en base a la respuesta instrumental (absorbancia) es proporcional a la concentración del estándar, de modo que la concentración de analito en la muestra problema puede ser determinado mediante interpolación o extrapolación en caso de que la absorbancia reflejada en la muestra sea mayor a la del estándar en mayor concentración (**Ministerio de Economía, 2018**).

3.3 Cuantificación de Ácido Sórbico

Las bebidas ya sean consideradas azucaradas o energizantes muchas de las veces contienen aditivos químicos los cuales se encuentran en bajas concentraciones, pero a su vez su contenido es limitado por normas alimentarias, debido a que se desea conocer dichas concentraciones para cada aditivo se realizó un proceso de extrapolación generalmente empujado en adición de estándar como lo menciona (**Douglas A et al., 2008**)

Tabla 7 Resultados de la concentración de ácido sórbico por adición de estándar

Concentración del STD en mg/10mL (muestra)	Ácido Sórbico a 260 nm de longitud de onda					
	Monster Energy		220V		Coca Cola Light	
	Absorbancia	Concentración n mg/Kg ±1,99	Absorbancia	Concentración n mg/Kg ±2,04	Absorbancia a	Concentración n mg/Kg ±2,49
2	0,0130 ± 0,0008	48,0360	0,0100 ± 0,0008	35,0000	0,009 ± 0,0005	47,1430
3	0,0140 ± 0,0008	47,8570	0,0110 ± 0,0008	33,3934	0,0120 ± 0,0005	39,8211
5	0,0170 ± 0,0005	48,4440	0,0130 ± 0,0005	34,6431	0,0140 ± 0,0005	39,4647

7	0,0190 ± 0,0008	49,3330	0,0160 ± 0,0005	35,8930	0,0170 ± 0,0005	40,0000
9	0,0200 ± 0,0008	44,0000	0,0180 ± 0,0005	33,1111	0,0190 ± 0,0008	39,3333
10	0,0220 ± 0,0005	46,7780	0,0190 ± 0,0000	34,3333	0,0200 ± 0,0008	39,0000

*Nota: La concentración (mg/Kg) es el valor presente en la bebida sin estándar añadido, juntamente con el valor de incertidumbre propia para cada bebida

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 7 se detallan las concentraciones de ácido sórbico presente en cada bebida y el valor de incertidumbre expandida, misma que fue tomada del estudio **Ojeda (2022)** y se puede verificar en el anexo 23,24 y 25, esta incertidumbre nos sirve para poder establecer un rango de erros sistemático el mismo que se puede corregir o no, pero en caso de hacerlo se debe sumar o restar el valor dado (**Pérez, 2012**).

La concentración de ácido sórbico obtenida en el Monster Energy está en un rango de 44,000 a 49,333 mg/Kg, siguiendo la Coca Cola Light con valores entre 33,111 a 35,893 mg/Kg y por último el 220V con concentraciones de 38,393 a 40,000 mg/Kg, de estas tres bebidas, la única que se encuentra registrada el nombre del aditivo en la bebida es el Monster, pero no detalla su concentración.

Este compuesto es usado como conservante en la alimentación de humanos y animales, productos farmacéuticos y cosméticos, debido a la toxicidad y el mecanismo antimicrobiano que posee inhibiendo el crecimiento de hongo, levaduras y bacterias bloqueando su desarrollo y germinación celular, (**Campos, 1995**).

Estudios realizados por (**López et al., 2008**) en alimentos azucarados menciona una concentración aproxima de 11,24 mg/Kg, por otra parte para la Coca Cola Light (**Simal, 2014**) obtuvo 9 mg/Kg de concentración, mientras que el valor máximo en el presente estudio fue de 40,000 mg/Kg, una de las razones por las cuales se tiene este

valor elevado puede ser debido a que en la bebida no siempre se encuentra como ácido sórbico, sino como una sal, y para una correcta lectura de este compuesto se debe hacer un proceso de purificación acompañado de un procesos de cristalización y estabilización (Campos, 1995).

3.4 Cuantificación de Ácido Benzoico

El ácido benzoico al igual que el ácido sórbico es un conservante natural, el cual pertenece al grupo de los benzoatos, dentro del este también se encuentra el Benzoato de sodio, Benzoato de potasio y Benzoato de calcio es muy utilizado debido a su bajo costo y su alto poder que tiene para controlar bacterias y levaduras (Cabana, 2020).

Tabla 8 Resultados de la concentración de ácido benzoico por adición de estándar

Concentración del STD en mg/10mL (muestra)	Ácido Benzoico a 230 nm de longitud de onda					
	Monster Energy		220V		Coca Cola Light	
	Absorbancia	Concentració n mg/Kg ±0,29	Absorbancia	Concentració n mg/Kg ±0,37	Absorbancia	Concentració n mg/Kg ±0,35
2	0,0170 ± 0,0005	11,4064	0,0260 ± 0,0005	24,808	0,0150 ± 0,0005	7,0833
3	0,0200 ± 0,0008	11,0943	0,0290 ± 0,0005	24,135	0,0170 ± 0,0008	6,8755
5	0,0270 ± 0,0008	11,7317	0,0360 ± 0,0008	24,5211	0,0240 ± 0,0005	6,9233
7	0,0340 ± 0,0008	11,1493	0,0430 ± 0,0008	24,5744	0,0310 ± 0,0008	6,8922
9	0,0410 ± 0,0008	11,7025	0,0500 ± 0,0008	24,6288	0,0380 ± 0,0005	6,9154
10	0,0440 ± 0,0008	11,0111	0,0530 ± 0,0005	24,4154	0,0410 ± 0,0005	7,1811

*Nota: La concentración (mg/Kg) es el valor presente en la bebida sin estándar añadido, juntamente con el valor de incertidumbre propia para cada bebida

Fuente: Elaboración propia

Los resultados de ácido benzoico para cada muestra detallados en la tabla 8 son semejantes entre sí, siendo el 220V la bebida con mayor cantidad con valores entre 24,415 a 25,288 mg/Kg, seguido el Monster Energy con concentraciones de 11,011 a 11,702 mg/Kg y por último la Coca Cola Light con un rango de 6,875 a 7,181 mg/Kg, cabe mencionar que para este conservante las tres bebidas tienen registrado su nombre en las etiquetas, pero no especifican su concentración **(Bailey et al., 2010)**.

Este compuesto es muy usado debido a su gran solubilidad, pero solo funciona en bebidas ácidas teniendo poca eficiencia cuando la bebida supera un pH de 5 **(Marsili, 2015)** y de acuerdo a estudios realizados por **(López et al., 2008)** describe una concentración de benzoatos de 8,5 ppm aproximadamente para alimentos azucarados, mientras que en la Coca Cola Light presentó una concentración máxima de 7,181 mg/Kg, por otra parte los las bebidas energizantes presentaron valores superiores.

(Ardila & Cordero, 2016) detallan que, en su producto, el cual es considerado como bebida energizante la concentración de ácido benzoico alcanza valores de 300 mg/Kg, pero al existir diferentes bebidas energizantes muchas de estas pueden utilizar otros conservantes de acuerdo con las condiciones de su producto, por ende, la concentración varía.

Este conservante es muy utilizado en bebidas fuertes, debido a su sabor amargo característico que otorga a las bebidas, debido a esto, este compuesto se ha ido sustituyendo por componentes naturales que son incluso mucho más saludables, ya que, de acuerdo con la OMS, para los niños es saludable consumir hasta 5mg/Kg de masa corporal ya que según **(Cabana, 2020)** se encuentra presentes de forma natural en algunas frutas y vegetales sin embargo este documento indica que se puede extraer de forma química y añadir intencionalmente a las bebidas.

3.5 Cuantificación de Cafeína

Tabla 9 Resultados de la concentración de cafeína por adición de estándar.

Concentración del STD en mg/25mL (muestra)	Cafeína a 276 nm de longitud de onda					
	Monster Energy		220V		Coca Cola Light	
	Absorbancia	Concentración	Absorbancia	Concentración	Absorbancia	Concentración
		mg/L ± 0,41		mg/L ± 0,34		mg/L ± 0,47
2	0,0980 ± 0,0000	273,6868	0,1000 ± 0,0005	267,6333	0,0270 ± 0,0008	39,8944
3	0,1040 ± 0,0008	274,5712	0,1070 ± 0,0008	269,7000	0,0290 ± 0,0008	40,922
5	0,1160 ± 0,0008	276,3434	0,1140 ± 0,0008	254,2000	0,0470 ± 0,0008	40,1377
7	0,1290 ± 0,0008	269,0654	0,1250 ± 0,0000	256,4810	0,0580 ± 0,0000	35,2422
9	0,1420 ± 0,0000	272,7637	0,1360 ± 0,0008	253,8878	0,0670 ± 0,0008	42,3600
10	0,1440 ± 0,0008	274,2763	0,1410 ± 0,0008	251,0176	0,0720 ± 0,0008	40,4487

*Nota: La concentración (mg/Kg) es el valor presente en la bebida sin estándar añadido, juntamente con el valor de incertidumbre propia para cada bebida

Fuente: Elaboración propia.

Como se observa en la tabla 9, las bebidas energizantes presentan una gran cantidad de cafeína, siendo el Monster Energy el que presenta mayor concentración con 274,276 mg/L, y la Coca Cola Light con valores muy bajos.

De acuerdo a (Ravelo et al., 2013) la concentración de cafeína en el Monster Energy es de 290 mg/L, este valor se asemeja mucho a los valores obtenidos en la tabla 11 donde muestra un valor máximo de 276,343 mg/L y como valor mínimo 269,065 mg/L, (L. Zapata, 2018) muestra resultados diferentes en el Monster Energy, en cuanto a su concentración donde tuvo valores hasta de 348,2 mg/L, la cual viene a ser una de las concentraciones más altas en bebidas energéticas, además dice que un consumo

mayor a 300 mg/L en adultos puede ocasionar problemas de salud a largo plazo, sin embargo, **(Cubero, 2013)** determinó la concentración de cafeína en bebidas energéticas dándole una concentración media de 84,31 mg/Kg dicho valor está por debajo de los detallados anteriormente.

Por otra parte el 220V al encontrarse dentro del grupo de bebidas energizantes, que poseen sustancia psicoestimulantes como la cafeína, su contenido es también elevado, pero su concentración similar a la del Monster Energy según datos revelados por **(Chicaiza & Rubio, 2019)** sin embargo de acuerdo **(Gonzabay & Tomalá, 2019)** a el 220V viene a ser una de las bebidas energizantes más consumidas en este país ya que además de cafeína también posee taurina, la cual es otro tipo de sustancia ergogénica.

El valor máximo registrado en la Coca Cola Light fue de 42,360 mg/L, pero este valor es muy bajo en comparación con las otras, esto se debe a que esta bebida no es considerada como energizante y la cafeína es uno de los componentes principales de estas. **(Rocha, 2001)** en sus estudios detalla una concentración de 169 mg/L de cafeína, por otra parte, **(Cubero, 2013)** corrobora con este valor, ya que en su investigación detalla valores muy similares con una concentración media es de 140 mg/L.

El contenido de este compuesto viene a ser muy controlado ya que de acuerdo a **(Ramón-salvador et al., 2013)** un consumo de cafeína mayor a 250 mg puede provocar problemas en la salud en los jóvenes, además detalla que existen bebidas energizantes con diferentes concentraciones de este compuesto los cuales alcanzan valores de 80 a 500 mg/L, pero **(A. Zapata, 2019)** en sus estudios explica que de acuerdo a la OMS, 50 mg de cafeína pueden iniciar una taquicardia y agitación.

3.6 Cumplimiento de dosis máxima de conservantes presentes en las bebidas azucaradas según la norma NTE INEN-CODEX 192.

La dosis máxima hace referencia al límite de cantidad que se puede añadir de un aditivo en una bebida o alimento y se expresa en mg de aditivo por Kg de alimento **(Servicion**

Nacional del Consumidor, 2013), en las tablas 10,11,12 y 13 se muestran los valores obtenidos de la cuantificación de ácido sórbico, ácido benzoico y cafeína presentes en cada una de las bebidas, las mismas que son comparadas con normativas INEN, según el caso.

3.6.1 Ácido sórbico y ácido benzoico presente en las bebidas azucaradas

Tabla 10 Criterio de aceptación para el ácido sórbico

Código	Bebida	Concentración media mg/Kg	Concentración máxima mg/Kg	Criterio de aceptación
UTA-FCIAB-M1	Monster Energy	47,408	500,000	CUMPLE
UTA-FCIAB-M2	220V	34,396	500,000	CUMPLE
UTA-FCIAB-M3	Coca Cola Light	39,335	500,000	CUMPLE

Fuente: Elaboración propia

Tabla 11 Criterio de aceptación para el ácido benzoico

Código	Bebida	Concentración media mg/Kg	Concentración máxima mg/Kg	Criterio de aceptación	Norma
UTA-FCIAB-M1	Monster Energy	11,349	250,000	CUMPLE	(CODEX Stan192, 2013)
UTA-FCIAB-M2	220V	24,674	250,000	CUMPLE	
UTA-FCIAB-M3	Coca Cola Light	6,978	250,000	CUMPLE	

Fuente: Elaboración propia

La concentración de ácido sórbico que se indica en la tabla 10, es comparada con la norma (CODEX Stan192, 2013) que establece un valor máximo de 500mg de ácido sórbico/kg de alimento, dichos valores cumplen la dosis establecida, recalando además, que las industrias alimenticias hacen uso de sus beneficios y funciones

conservadoras para las tres bebidas , principalmente para Monster a la cual se le añade 47,408 mg/Kg y es perteneciente e la concentración más alta de las otras dos bebidas, cabe recalcar que, **Universidad Autónoma Metropolitana (2012)** indica que para añadir un conservante a una bebida o alimento depende del criterio de cada fabricante al analizar factores preliminares como las características fisicoquímicas y biológicas del alimento, el pH, temperatura a la que alcanza y la resistencia ante la actividad biológica , así como también en base a la toxicidad nula, moderada e inadmisibile, que para el ácido sórbico se considera un aditivo no toxico.

Dentro de la misma clasificación de toxicidad se encuentra el ácido benzoico , el mismo que se encuentra presente tres bebidas de estudio pero con mínimas concentraciones, ya que la dosis máxima es de 250mg del conservante /Kg de alimento (**CODEX Stan192, 2013**), sin embargo como se observa en la tabla 11, la bebida 220V con 24,674mg/Kg refleja la concentración más altas en comparación a las otras dos bebidas, esto se debe a que dicho aditivo en conjunto con el ácido sórbico y demás compuestos ayuda a incrementar la efectividad de conservación sin alterar las características organolépticas de la bebida.

3.7 Cafeína presente en las bebidas azucaradas

En cuanto a la cafeína, la norma (**NTE INEN 2411, 2015**) establece un valor de dosis mínima de 250 mg / Litro de bebida y un valor máximo de 320 mg/ Litro de bebida, tomando en cuenta solo a la clasificación de bebidas energizantes, como se observa en la tabla 12, tanto la Monster como 220V se encuentran por encima de la dosis mínima, pero si cumplen dentro del valor máximo aceptable, Por otro lado, según la norma (**NTE INEN 1101, 2017**) clasifica a la muestra con el código UTA-FCIAB-M3 como una bebida gaseosa la que debe tener un dosis máxima de 20 mg/L y como se observa en la tabla 13, el valor es de 3,893 mg de Cafeína en un litro de Coca-Cola Light, dicho valor cumple con el criterio de aceptación por lo que se considera segura y apto para el consumo

Tabla 12 Criterio de aceptación para la cafeína para bebidas energizantes.

Comparación con la norma (NTE INEN 2411, 2015)					
Código	Bebida	Concentración media mg/L	Concentración mínima mg/L	Concentración máxima mg/L	Criterio de aceptación
UTA-FCIAB-M1	Monster Energy	273,451	250,000	320,000	CUMPLE
UTA-FCIAB-M2	220V	258,820	250,000	320,000	CUMPLE

Fuente: Elaboración propia

Tabla 13 Criterio de aceptación para la cafeína para bebidas gaseosas

Código	Bebida	Concentración media mg/100 mL	Concentración máxima mg/100 mL	Criterio de aceptación	NORMA
UTA-FCIAB-M3	Coca Cola Light	3,983	20,000	CUMPLE	NTE INEN 1081

Fuente: Elaboración propia

3.8 Ingesta diaria admisible de los conservantes y de cafeína.

Se define a la ingesta diaria admisible (IDA) como el valor ideal a consumir de un aditivo específico por día, y se expresa como mg / Kg de peso corporal, este valor fue establecido por “JECFA” el organismo encargado de evaluar la inocuidad de los aditivos gracias al cual se puede medir el grado de toxicidad, la confiabilidad del compuesto y que tan peligroso puede ser para el organismo una vez que se lo va ingiriendo (**Servicion Nacional del Consumidor, 2013**).

Tabla 14 Valores referenciales de peso corporal para el cálculo de ingesta diaria de conservante

Valores recomendados para Mujeres				
	Altura (cm)	Peso (Kg)	Ácido sórbico Ingesta diaria (3mg Aditivo/kg peso corporal)	Ácido benzoico Ingesta diaria (5mg Aditivo/kg peso corporal)
Adolescentes	120,000	35,800	124,575	207,625
12 -15 años	150,000	47,250		
Jóvenes	156,000	54,760	172,920	288,200
16-34 años	164,000	60,520		
Adultos	166,000	62,000	188,250	313,750
35-55 años	168,000	63,500		

Valores recomendados para Hombres				
	Altura (cm)	Peso (Kg)	Ácido sórbico Ingesta diaria (3mg Aditivo/kg peso corporal)	Ácido benzoico Ingesta diaria (5mg Aditivo/kg peso corporal)
Adolescentes	150,000	50,180	154,605	257,675
10 -15 años	154,000	52,890		
Jóvenes	158,000	62,410	192,945	321,575
16-34 años	164,000	66,220		
Adultos	168,000	69,490	215,175	358,625
35-55 años	172,000	73,960		

Fuente: (Padilla, 2020) ; (Licata, 2022), Elaboración propia.

La ingesta diaria admisible se la puede determinar con los valores máximos permitidos por la norma que rige para cada conservante (**CODEX Stan192, 2013**), para lo cual se tomó como referencia los valores establecidos por (**Licata, 2022**) en una tabla comparativa como se muestra en el anexo 20, juntamente con (**Padilla, 2020**) que en su investigación sobre la contextura y masa corporal de las personas, toma en cuenta factores como la edad, en la que no considera a los niños menores a 10 años por tal razón clasifica desde adolescentes mayores de 12 años, jóvenes mayores desde 16 años y adultos desde los 35 años en adelante, además se debe considerar la altura partiendo como referencia un mínimo de 150 cm y la cual se relaciona con el sexo de

la persona ya que los hombres tienden a tener una composición superior a la de las mujeres.

Dichos valores se muestran en la tabla 14, los cuales sirven como una referencia para poder calcular la ingesta diaria para cada conservante, para el ácido benzoico se considera como valor máximo 5mg de Aditivo/ Kg de masa corporal, este compuesto es uno de los con mayor toxicidad entre la clasificación de conservantes por lo que, si una persona en base a sus características corporales sobrepasan el límite establecido pueden llegar a intoxicar su organismo ya que la alta dosis dificulta la asimilación del aditivo y puede ocasionar problemas neurológicos, alteración al sistema nervioso, ataques epilépticos, alergias moderadas con incidencia a provocar asma (**Marchorro, 2006**).

Para el ácido sórbico la ingesta diaria no puede sobrepasar los 3mg de aditivo / Kg de masa corporal (**CODEX Stan192, 2013**) por lo que la Organización mundial de la salud OMS establece que este aditivo es usado con mayor confiabilidad ya que no es tóxico ni corrosivo, sin embargo, el organismo puede tardar en reconocerlo y si se abusa tiende a alterar la salud de un individuo causando problemas principalmente en el sistema inmune ya que desequilibra las rutas bioquímicas y sus respuestas negativas, además irrita el colon provocando acidez estomacal y gastrointestinal como lo menciona (**Stea, 2021**), pero con el fin de evitarlos se debe tener en cuenta la dosis diaria para poder consumirlo.

3.9 Problemas en la salud de los consumidores de bebidas azucaradas.

Por otro lado La FDA considera que la cafeína es apta para incluir en una dieta diaria saludable ya que además de aportar con un aroma y sabor agradable tiene beneficios tales como la relajación del sistema nervioso y los músculos lisos, aumenta el rendimiento y la concentración y además sirve como un diurético (**Manrique et al., 2018**) sin embargo esto depende de la sensibilidad de cada organismo y el tiempo que tarda en asimilar ya que no todos los cuerpos reaccionan de la misma ni van a causar los mismos efectos, además se debe tomar en cuenta factores como la edad y peso

corporal, es por ello que se recomienda no exceder el consumo permisible en base a los valores de la tabla 15.

Tabla 15 Valores referenciales de peso corporal para el cálculo de ingesta diaria de Cafeína

Valores recomendados para Mujeres						
	Cafeína			Cantidad de bebidas		
	Altura (cm)	Peso (Kg)	Ingesta diaria (5mg Aditivo/kg peso corporal)	Monster (ml)	220V (ml)	Coca-Cola Light (ml)
Adolescentes 12 -15 años	120,000	35,800	179,000	756,993	827,135	5133,134
Jóvenes 16-34 años	150,000	47,250	236,250	1050,766	1148,129	7125,198
Adultos 35-55 años	156,000	54,760	273,800	1143,921	1249,915	7756,873
	164,000	60,520	302,600			
	166,000	62,000	310,000			
	168,000	63,500	317,500			
Valores recomendados para Hombres						
	Cafeína			Cantidad de bebidas		
	Altura (cm)	Peso (Kg)	Ingesta diaria (5mg Aditivo/kg peso corporal)	Monster (ml)	220V (ml)	Coca-Cola Light (ml)
Adolescentes 12 -15 años	150,000	50,180	250,900	939,473	1026,524	6733,749
Jóvenes 16-34 años	154,000	52,890	264,450	1172,450	1281,089	8833,701
Adultos 35-55 años	158,000	62,410	312,050	1307,533	1428,688	9851,469
	164,000	66,220	331,100			
	168,000	69,490	347,450			
	172,000	73,960	369,800			

Fuente: (Padilla, 2020); (Licata, 2022), Elaboración propia.

Dentro de los problemas más destacados tenemos relacionados al sistema nervioso ya que estudios realizador por **(Falcón & Gutiérrez, 2021)** sobre los efectos que causa la cafeína en bebidas energizantes reporta efectos ansiedad/depresión, lo que conlleva a irritabilidad, cambio del humor y estado de ánimo, disforia e insomnio prolongado, además, **(Marroquin, 2004)** en su estudio con bebidas gaseosas indica problemas estomacales, dolor abdominal, acidez gástrica irritabilidad al colon, también que puede generar calambres, sensación de hormigueos, contracciones musculares y temblores, por otro lado, **(Manrique et al., 2018)** menciona que los problemas más graves son

los que ya involucran al corazón, uno de los órganos vitales para el ser humano generando problemas de taquicardia o arritmia cardíaca y agitación psicomotriz, además sus estudios revelan una relación entre el consumo excesivo de cafeína y la presión arterial ya que a largo plazo los consumidores pueden presentar hipertensión y con esta problemática desarrollarse otras complicaciones médicas.

(Falcón & Gutiérrez, 2021) hace referencia también que, las bebidas energizantes son mayormente consumidas a una edad juvenil para aumentar sus niveles de energía y concentración, pero se debe tener en cuenta que para las bebidas Monster no se puede exceder los valores para las mujeres un máximo de 1050,766 ml y 1172,450 ml para hombres, mientras que para el consumo de la bebida 220V para mujeres es de 1148,129 ml y para hombres de 1281,089 ml, datos que se encuentran en la tabla 17, al igual que para la Coca-Cola light misma que pertenece a una bebida gaseosa a base de cafeína en la que según los datos estadísticos de las encuestas realizadas por **(Valverde, 2018)** indica que tanto hombres como mujeres entre 14 y 59 reflejan mayor picos de consumo de esta bebida, de los cuales el 50% están conscientes de las consecuencias que conlleva, sin embargo en base al presente estudio se dice que no se debe sobrepasar el consumo según indica para cada rango de edad en la tabla 17, misma que abarca edades desde los 15 hasta 55 años.

3.10 Verificación de hipótesis

Una vez realizado los respectivos análisis cuantitativos y tras haber demostrado en los resultados y discusión que los conservantes tanto ácido sórbico y ácido benzoico, al igual que la cafeína se encuentran presentes en las bebidas Monster, 220V y Coca-Cola Light y dichas concentraciones están dentro de los valores establecidos de ingesta diaria según la norma CODEX-192, la norma NTE INEN 1081 y la norma NTE INEN 2411 respectivamente, se rechaza la hipótesis nula que dice *“Los conservantes y la cafeína presente en bebidas azucaradas incumplen con los valores establecidos de ingesta diaria según la norma CODEX-192, la norma NTE INEN 1081 y la norma NTE INEN 2411.”* y se acepta la hipótesis alternativa.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

Las pruebas colorimétricas fueron de gran ayuda para el análisis cualitativo de las bebidas azucaradas, en el presente estudio de empleo tres equipos espectroscópicos y a pesar de que con el equipo espectrofotométrico GENESYS 10Vis no fue posible realizar las mediciones por la tonalidad de las muestras, si nos sirvió como punto de referencia longitudinal, es decir se determinó que las muestras se encuentran en un rango ultravioleta , dicho análisis se puede hacer en el espectrofotómetro UV-VIS, pero además se llevó a cabo mediciones puntuales con el colorímetro GENESYS 20, gracias al cual se concluye finalmente que a pesar que la Coca-Cola light tiene un color negro característico no fue muestra oscura revelada por la pantalla del colorímetro ya que las bebidas Monster y 220V a pesar que a simple vista son de color amarillo-anaranjado claro , resultan ser oscuras para el equipo por lo que se procedió a realizar un tratamiento a cada una de la muestra y de esa manera poder aclarar a las mismas y de esa manera que puedan ser usadas en el proceso de cuantificación de los conservantes y cafeína presentes en las bebidas tratadas.

Se determinó la concentración para el ácido sórbico, ácido benzoico y cafeína, que para los dos primeros por ser considerados como conservantes naturales, son muy utilizados en la industria alimentaria los cuales se encuentran en bajas concentraciones, en el caso del ácido sórbico los valores más altos registrados en el Monster Energy, 220V y Coca Cola Light, fueron de 49,3330; 35,8930 y 40,000 mg/Kg respectivamente, mientras que para el ácido benzoico fueron de 25,2888; 11,7317 y 7,1811, de igual manera en el mismo orden, que pese a ser conservantes

naturales su consumo es muy controlado debido a los problemas en la salud que pueden ocasionar.

Para el caso de la cafeína, la cual viene a tener un mayor efecto en la salud, por ser considerado como suplente estimulante, en las bebidas energizantes su contenido viene a ser muy importante ya que este compuesto proporciona mayor rendimiento físico y mental, por lo que para el Monster Energy y 220V su contenido fue aproximadamente de 267,6333 y 276,3434 mg/L, mientras que para la Coca Cola Light presento un valor máximo de 42,3600 mg/L.

Se estableció el cumplimiento de conservantes y cafeína en bebidas azucaradas de acuerdo a la norma NTE INEN-CODEX 192, la cual es una norma general para aditivos alimentario, donde se comprueba que todas las bebidas cumplen con los límites establecido en cuanto a su concentración, por otra parte, se estableció la relación entre la ingesta diaria admisible de los conservantes y de cafeína en base a los kg de peso corporal de cada consumidor, en relación a la edad, estatura y sexo del consumidor, además se identificó los problemas de salud que podrían ocasionar si las personas superaran consumen estos compuestos, siendo la más perjudicial la cafeína, la cual se encuentra en mayor concentración en bebidas energizantes.

En base a los resultados obtenidos de la cuantificación de conservantes y cafeína se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis alternativa, ya que las concentraciones de los analitos si se encuentran dentro de los valores establecidos por cada una de las normas.

4.2 Recomendaciones

Las bebidas azucaradas contienen varios componentes que resultan complejos de leer debido al efecto matriz por lo que la absorbancia del analito puede aumentar o disminuir mostrando errores en la medición, con el fin de evitar dicha problemática se recomienda hacer uso del método de adiciones estándares y de esa manera poder cuantificar la concentración esperada de un analito.

Uno de los factores a considerar al momento de añadir conservantes en las bebidas y alimentos es preservar el sabor característico de la bebida por tal razón se recomienda mantener una dosis mínima para que no se alteren dichas propiedades ya que para el caso del ácido sórbico este tiene un sabor ligeramente ácido mientras que el ácido benzoico en altas dosis puede llegar a ser picante, de la misma forma una de sus sales como es el benzoato de sodio genera un sabor dulzaino-astringente.

La actividad antimicrobiana óptima se puede lograr a valores con pH entre 2,5 y 6,5, por lo que se recomienda ajustar a las muestras antes del análisis y posterior al tratamiento en el cual se añaden otros compuestos químicos que alteran la acidez mientras se degradan compuestos innecesarios, además se debe tener un control de la temperatura ya que, si esta aumenta habrá una mayor concentración del ácido sórbico.

El Acido sórbico tiene forma de cristales ligeramente blancos, lo cual resulta difícil su disolución en agua fría, por lo que se recomienda usar un mortero para romper los cristales acompañado de un proceso de calentamiento del agua destilada y así poder aforar los matraces y obtener una total disolución orgánica, además se debe tener en cuenta que este compuesto tiene mayor solubilidad en etanol.

Las bebidas energizantes como Monster y 220V están compuestas por altas cantidades azúcar y cafeína al igual que las bebidas gaseosas, en el caso de la Coca-Cola light tiene una menor concentración de cafeína sin embargo no se recomienda el consumo de estas para niños menores de 10 años, mujeres que se encuentren en estado de embarazo o lactancia y así como personas que consuman medicamentos para el control enfermedades crónicas.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Aparicio, G. E. (2017). *Técnicas colorimétricas*.
- Ardila, M., & Cordero, J. (2016). DESARROLLO DE BEBIDAS ENERGÉTICAS CON COMPONENTES NATURALES. *Bulletin of the Seismological Society of America*, 106(1), 6465–6489. <http://www.bssaonline.org/content/95/6/2373> <http://www.bssaonline.org/content/95/6/2373.short> <http://www.bssaonline.org/cgi/doi/10.1785/0120110286> <http://gji.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/gji/ggv142> <http://link.springer.com/10.1007/s00024-01>
- Bailey, S., James, G., Frances, R., & Ted, W. (2010). *Effects of Exercise on Glycemic Response after Consumption of Monster Energy*. 2010.
- Berk, Z. (2013). Chemical Preservation. In *Food Process Engineering and Technology* (pp. 591–606). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415923-5.00025-3>
- Borja, N. (2020). *Evaluación de la degradación químico – biológica de una solución modelo de cafeína*. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO.
- Bravo, E. J. (2021). *EFECTO DE LA ADICIÓN DE FLOR DE JAMAICA (Hibiscus sabdariffa L.) FRESCA Y DESHIDRATADA SOBRE EL COLOR CIE L*a*b* Y LAS PROPIEDADES SENSORIALES DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA*. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6452/1/T-UTEQ-119.pdf>
- Bylund, D. B. (2007). Caffeine. In *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference* (pp. 1–6). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.61368-6>
- Cabana, R. (2020). Perfil de Riesgo en Sorbatos y Benzoatos en Bebidas a Base de Fruta No Gaseosas en Colombia. *Ciencia*, 29–35. https://ciencias.lasalle.edu.co/ing_alimentos/717
- Campos, A. (1995). *Estabilidad del ácido sórbico durante la preservación y el almacenamiento de alimentos*. 17,20.
- Chicaiza, L., & Rubio, J. (2019). Prevalencia del consumo de sustancias psicoestimulantes en estudiantes de la carrera de Enfermería de la Universidad Central del Ecuador, en el periodo de abril 2018 – marzo 2019. In *DSpace*. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/18526/1/T-UCE-0014-CME->

074.pdf

Codex Alimentarius. (2019). *NORMA GENERAL DEL CODEX PARA LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS*. 1–520.

CODEX Stan192. (2013). *Norma General Del Codex Para Los Aditivos Alimentarios Codex Stan 192-1995*. 1–361. [http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B192-1995%252FCXS_192s.pdf)

[proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B192-1995%252FCXS_192s.pdf](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B192-1995%252FCXS_192s.pdf)

Corróns, A., Campos, J., & Manuel, M. (2017). *La Comisión Internacional de Iluminación (CIE)* (pp. 2-4,5).

Cubero, A. S. (2013). *Estudio comparativo del contenido de cafeína en diferentes bebidas*. 48.

Darch, M., Martyn, D., Ngo, K., & Jack, M. M. (2021). An updated estimate of benzoate intakes from non-alcoholic beverages in Canada and the United States. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 38(5), 701–717. <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1859624>

Díaz, N., Bárcena, A., Emilio, F., Aurora, G., Jorrín, J., Peinado, J., Fermín, M., & Issac, T. (2018). *Espectrofometria*.

Douglas A, S., Holler, F., & Stanley, C. (2008). Principios de análisis instrumental. In *Principios de análisis instrumental Sexta edición* (pp. 13–15). <file:///C:/Users/Sol/Desktop/Tesis Nueva/LIBRO DAN-ADICION ESTANDAR Cap3M.pdf>

Falcón, D., & Gutiérrez, G. (2021). *Determinación de cafeína en bebidas energizantes y frecuencia de consumo en estudiantes de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora 2019*. <https://hdl.handle.net/20.500.12970/489>

FAO, & OMS. (2018). *Qué es el Codex Alimentarius*. ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/Understanding/Understanding_Es.pdf

Declaración de la amm sobre el consumo de bebidas azucaradas y de azúcares libres, (2019).

FOOD & DRUG ADMINISTRATION. (2018). *DFA*. <https://www.fda.gov/consumers/articulos-en-espanol/al-grano-cuanta-cafeina-es-demasiada>

- Garcinuño, R. M. (2017). Contaminación de los alimentos durante los procesos de origen y almacenamiento. *Aldaba*, 36, 51–64. <https://doi.org/10.5944/aldaba.36.2012.20530>
- Gonzabay, K., & Tomalá, D. (2019). *FACTORES QUE INDUCEN A LA INGESTIÓN DE BEBIDAS ENERGIZANTES EN LOS INTERNOS DE ENFERMERÍA. HOSPITAL GENERAL DR. LIBORIO PANCHANA SOTOMAYOR 201*.
- Guano, J. (2019). “*El impuesto a los consumos especiales en la venta de bebidas azucaradas en el Ecuador*.”
- Gutiérrez, M. (2020). DESARROLLO DE UN PROTOTIPO DE PROTOCOLO PARA ASEGURAMIENTO METROLÓGICO DE UN BANCO PARA RADIOMETRÍA DE FUENTES DE RADIACIÓN ULTRAVIOLETA CERCANO Y VISIBLE. *Akrab Juara*, 5(1), 43–54. <http://www.akrabjuara.com/index.php/akrabjuara/article/view/919>
- Hernandez, J. (2021). *INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE MÉTODOS PARA REDUCIR EL EFECTO DE LA NO LINEALIDAD DE BARRIDO DE LONGITUD DE ONDA EN UN REFRACTÓMETRO DE FIBRA ÓPTICA*.
- Hollas, M. (2020). *¿Qué es la espectroscopia?: Instrumentación y partes de un espectrómetro, tipos de técnicas espectroscópicas*. <https://www.ataresinstrumentacion.com/que-es-espectroscopia-instrumentacion-tecnicas/>
- Holstege, C. (2014). Caffeine. In *Encyclopedia of Toxicology* (Third Edit, pp. 617–620). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00703-XG>
- Huerta, D., & Romero, E. (2018). *CONSUMO DE BEBIDAS AZUCARADAS Y LA RELACIÓN CON EL ESTADO DE SALUD Y NUTRICIÓN DE ESCOLARES ENTRE 5 A 12 AÑOS*.
- Ibáñez, W. X., Arcos, J. P., & Narvaez, J. M. (2021). *Técnicas espectroscópicas utilizadas para determinar la calidad del agua Spectroscopic techniques used to determine water quality Técnicas espectroscópicas usadas para determinar a qualidade da agua*. 6(9), 2,6-7. <https://doi.org/10.23857/pc.v6i9.3004>
- INEN-1089, N. T. (1983). *1983-12 I*. 1–6.
- INEN-CODEX, N. (2013). Norma General del Códex para frutas y vegetales. *Pagina Web*, 17–18. <http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/ACTUALIZACION/04112014/192-CODEX->

UNIDO.pdf

- Izawa, K., Amino, Y., Kohmura, M., Ueda, Y., & Kuroda, M. (2010). Human–Environment Interactions – Taste. In *Comprehensive Natural Products II* (pp. 631–671). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-008045382-8.00108-8>
- Kalpana, V. N., & Rajeswari, V. D. (2019). Preservatives in Beverages: Perception and Needs. In *Preservatives and Preservation Approaches in Beverages* (pp. 1–30). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816685-7.00001-X>
- Licata, M. (2022). *Tabla de Peso Ideal en metros y kilogramos*. Zonadiet.Com. <https://www.zonadiet.com/tablas/pesoideal.cgi>
- López, A., García, E., & Fernández, I. (2008). *Determinación de sorbato potásico y benzoato sódico en alimentos por HPLC*. 8.
- Macías Núñez, J. (2018). *Evaluación de la concentración de tartrazina en bebidas gaseosas mediante la aplicación de técnicas analíticas desarrolladas con detección ultravioleta-visible*. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/35317>
- Manrique, C. I., Arroyave, C. L., & Galvis, D. (2018). Bebidas cafeinadas energizantes: Efectos neurológicos y cardiovasculares. *Iatreia*, 31(1), 2–5. <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.v31n1a06>
- Marchorro, V. (2006). *DETERMINACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE BENZOATO DE SODIO EN CHILES JALAPEÑOS ENCURTIDOS DE MAYOR CONSUMO EN LA CIUDAD DE GUATEMALA*.
- Marroquin, D. (2004). *DETERMINACIÓN DE SACAROSA EN BEBIDAS CARBONATADAS*.
- Marsili, R. (2015). *DESARROLLO DE NUEVOS MÉTODOS ANALÍTICOS BASADOS EN TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS. RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS RELACIONADOS CON ADITIVOS ALIMENTARIOS Y MUESTRAS AMBIENTALES*. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL.
- Martínez, L. A. (2018). Validación de una metodología analítica por HPLC-DAD para la cuantificación de ácido benzoico complejado, en un ensayo de permeación transdérmica in vitro empleando piel de cerdo. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 47(3), 424–440. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v47n3.77374>
- Metroquímica.Net. (2014). Muestreo Y Análisis Ambiental-Módulo 2. *International Learning Provider*, 2, 1–8.

- Ministerio de Economía. (2018). *GUÍA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS*.
- Mora Cambizaca, G. del pilar, Castañeda, I., Ramos, A., Sanabria, G., & Morocho, L. A. (2016). Factores que predisponen al sobrepeso y obesidad en estudiantes de colegios fiscales del Cantón Loja-Ecuador Predisposing factors to overweight and obesity in students from state schools of Canton Loja, Ecuador. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 15(2), 163–176. <http://scielo.sld.cu>
- Nielsen, S. (2010). Food Analysis. In *Medicines from Animal Cell Culture*. <https://doi.org/10.1002/9780470723791.ch23>
- NOM-F-309-S. (1978). *Norma Oficial Mexicana “Determinación de benzoatos, silicatos y sorbatos en alimentos” NOM-F-309-S-1978*.
- NTE INEN. (2013). *NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 1081 : 1984 FECHA DE CONFIRMACIÓN : 2013-01-09*.
- NTE INEN 1101. (2017). NTE INEN 1101 BEBIDAS GASEOSAS O CARBONATADAS. REQUISITOS. *Bebidas Gaseosas O Carbonatadas. Requisitos*. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1101-4.pdf
- NTE INEN 2411. (2015). Ecuatoriana Nte Inen 2854. *Annual Book of INEN, Cosmetic products. requirements*, 34.
- Ojeda, J. (2022). *Validación del método de cuantificación simultánea de conservantes y cafeína presentes en bebidas azucaradas por espectroscopía ultravioleta en la provincia de Tungurahua*.
- Padilla, P. D. R. (2020). Tabla datos peso kg. *La Ciencia Al Servicio de La Salud*, 43–44.
- Pérez, M. del M. (2012). Estimación de incertidumbres. Guía GUM. *Revista Española de Metrología*, 11-14,16. http://www.uv.es/~meliajl/Docencia/WebComplementarios/GuiaGUM_e_medi da.pdf
- Ramón-salvador, D. M., Cámara-flores, J. M., Cabral-león, F. J., & Juárez-rojop, I. E. (2013). Consumo de bebidas energéticas en una población de estudiantes universitarios del estado de Tabasco, México. *Salud En Tabasco*, 19(1), 12.
- Ravelo, A., Rubio, C., Soler, A., Casas, C., Casas, E., Gutiérrez, Á., Revert, C., & Hardisson de la Torre, A. (2013). *Prostate motion: Implications and management*

- strategies*. 19(4), 50–66. https://doi.org/10.1007/978-3-642-11495-3_6
- Rocha, N. (2001). *Determinación de fósforo y cafeína en bebidas de cola*. 12. <http://revistas.unam.mx/index.php/req/article/view/66358/58269>
- Sauceda, E. N. R. (2011). *USO DE AGENTES ANTIMICROBIANOS NATURALES EN LA CONSERVACIÓN DE FRUTAS Y HORTALIZAS*. 7(1), 2–3.
- Saucedo, B. (2018). *Fundamentos de la espectroscopía raman heterodina*.
- Scientific, T. (2015). *Espectrofotómetros UV-Visible Thermo Scientific Serie GENESYS 10S Exacto, fiable y fácil de utilizar*.
- Segovia, J. (2016). *EFFECTOS DE LA APLICACIÓN DE UN IMPUESTO SOBRE EL CONSUMO DE BEBIDAS AZUCARADAS EN ECUADOR COMO ESTRATEGIA PARA COMBATIR LA OBESIDAD Y EL SOBREPESO*.
- Servicion Nacional del Consumidor. (2013). *Aditivos Alimentarios Definiciones básicas e información para un uso responsable*. 4., <http://www.administracion.usmp.edu.pe/institutoconsumo/wp-content/uploads/2013/08/Aditivos-alimentarios.-2004-SERNAC.pdf>
- Simal, J. (2014). *Determinación de ácidos sórbico y benzoico en alimentos mediante cromatografía en fase vapor*. January 1982, 10. https://www.researchgate.net/publication/235700289_Determinacion_de_acidos_sorbico_y_benzoico_en_alimentos_mediante_cromatografia_en_fase_vapor
- Stea, M. (2019). *Ácido sórbico: estructura, propiedades, usos, reacciones*. <https://www.lifeder.com/acido-sorbico/>
- Stea, M. (2021). *Ácido sórbico: estructura, propiedades, usos, reacciones*. <https://www.lifeder.com/acido-sorbico/>
- Suárez Pérez, Y. (2014). Validación del método por espectrofotometría ultravioleta para control de calidad de clorhidrato de ciprofloxacina en tabletas Ciprecu. *Revista Cubana de Farmacia y Alimentos (IFAL)*, 48(2), 6–8.
- Thermo Fisher. (2018). *Thermo Scientific™ Espectrofotómetro UV-Visible Evolution™ 60S*. Fisher Scientific.
- Thermo Spectronic. (2000). *Operator's Manual Manual del Operador Manuel de l'opérateur Benutzerhandbuch*. 10–12. https://www.cienytec.com/PDFS/Espec_Genesys20_OpMan.pdf
- Thomas, L. V., & Delves-Broughton, J. (2014). PRESERVATIVES | Permitted Preservatives – Sorbic Acid. In *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 102–

- 107). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00268-8>
- Universidad Autónoma Metropolitana. (2012). *Conservantes En Los Alimentos*. 13. http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/acym/CONSERVANTES_EN_LOS_ALIMENTOS.pdf
- Valle, S. (2011). “ *Determinación analítica de la cafeína en diferentes productos comerciales .*” Universitat Politècnica de Catalunya (UPC).
- Valverde, A. A. (2018). Producción de bebidas azucaradas a partir de la ley orgánica para el equilibrio de las finanzas públicas. In *Instituto de altos estudios nacionales universidad de postgrado del estado* (Vol. 0, Issue 0).
- Vela, J. (2021). *EVALUACIÓN DEL COLOR CIEL*A*B* Y SENSOMETRÍA DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA MACERADA CON Theobroma cacao L. Y MIEL DE ABEJA*. <https://repositorio.uteq.edu.ec/jspui/bitstream/43000/6464/1/T-UTEQ-133.pdf>
- Verdú, J. (2014). *Generalización del método de adición estándar del punto H (HPSAM): Eliminación de interferencias espectrales conocidas o desconocidas y optimización de las señales analíticas*. Universitat de Valencia.
- Villada, J., & Moreno, J. (2010). “ *Conservadores químicos utilizados en la industria alimentaria .*”
- Villashañay, J. A. (2020). *Caracterización de pigmentos inorgánicos utilizados en pintura artística desde el siglo XVI hasta en siglo XX por Sistema de Imagen Multiespectral*. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/22052>
- Zapata, A. (2019). *CARACTERÍSTICAS DEL CONSUMO DE BEBIDAS ENERGIZANTES POR LOS ESTUDIANTES DE ENFERMERÍA DE UNA UNIVERSIDAD PRIVADA, CHICLAYO - 2018*.
- Zapata, L. (2018). *EBIDAS ENERGÉTICAS E ISÓTONICAS*. 2,13,19-20.
- Zeece, M. (2020). Food additives. In *Introduction to the Chemistry of Food* (pp. 251–311). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809434-1.00007-4G>

ANEXOS

Anexo 1. Características operacionales para la lectura de conservantes y cafeína en el equipo de espectrofotometría UV-VIS



Marca del equipo	Espectrofotómetro UV-VIS EVOLUTION 60s
Ancho de banda espectral	1,0 nm
Rango de onda	190 a 1100 nm
Tipo de detector	Fotodiodos duales de silicio
Lámpara	Flash de xenón
Diseño óptico	Doble haz con detector de referencia interno
Precisión de longitud de onda	1,0 nm
Repetitividad de longitud de onda	0,5 nm
Velocidad de barrido	Hasta 3600 nm/min
Velocidad de barrido de longitud de onda	4200 nm/min

Fuente: (Thermo Fisher, 2018), Elaboración propia.

Anexo 2. Diseño de etiquetas para la toma de muestras de las bebidas azucaradas.

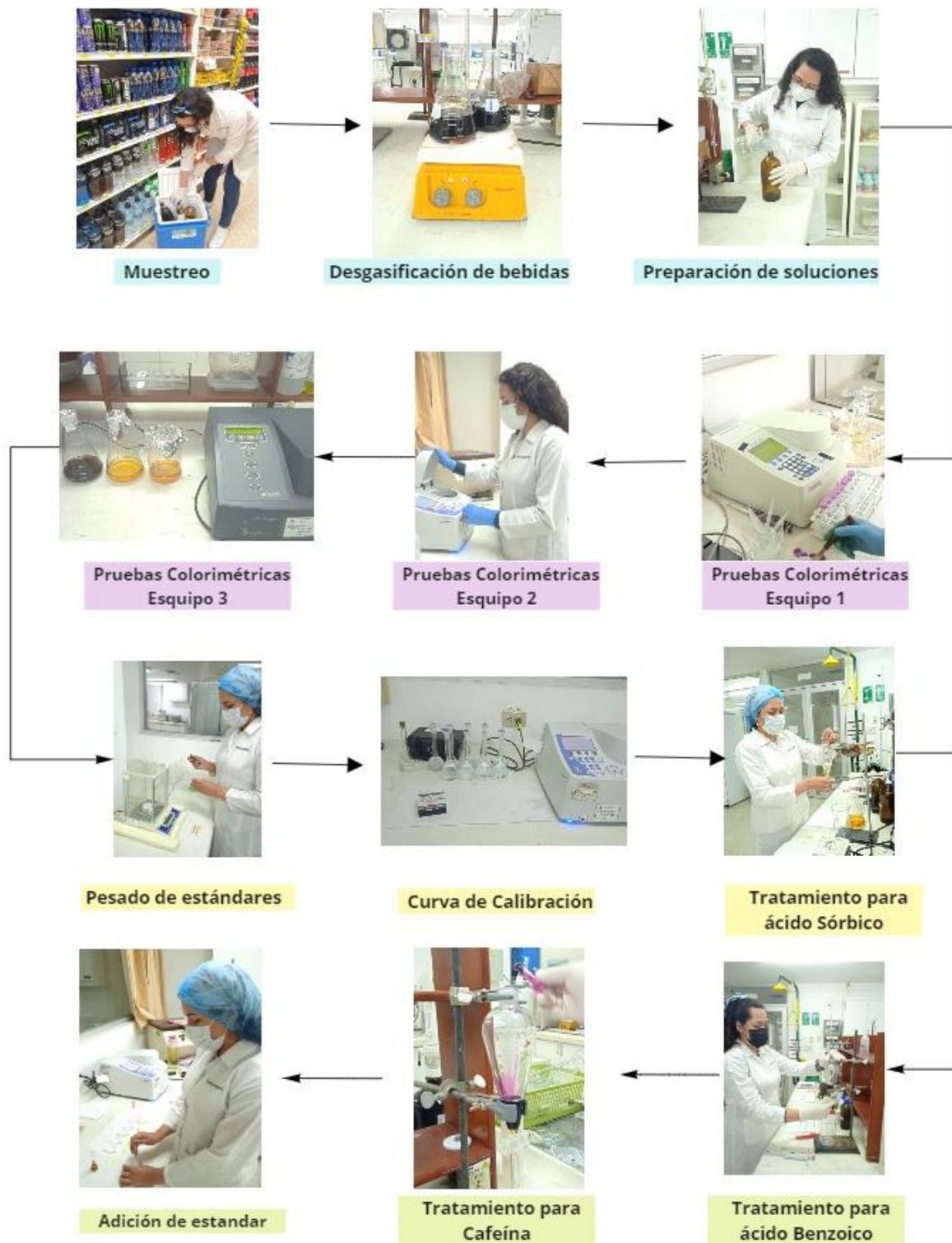
Universidad Técnica de Ambato Muestreo para bebidas Azucaradas Elaborado por MonserrathVerdesoto	
Punto 1 AMBATO	
Fecha de muestreo	04 /12/ 2021
Hora del muestreo	12:10
Marca de la bebida	Monster
Preservante	Hielo a 4C°
Código de la muestra	UTA-FCIAB-M1-P1

Universidad Técnica de Ambato Muestreo de bebidas Azucaradas Elaborado por MonserrathVerdesoto	
Punto 2 PELILEO	
Fecha de muestreo	04 /12/ 2021
Hora del muestreo	16:35
Marca de la bebida	220V
Preservante	Hielo a 4C°
Código de la muestra	UTA-FCIAB-M2-P2

Universidad Técnica de Ambato Muestreo de bebidas Azucaradas Elaborado por MonserrathVerdesoto	
Punto 3 PATATE	
Fecha de muestreo	04 /12/ 2021
Hora del muestreo	17:10
Marca de la bebida	Coca-Cola Light
Preservante	Hielo a 4C°
Código de la muestra	UTA-FCIAB-M3-P3

Universidad Técnica de Ambato Muestreo de bebidas Azucaradas Elaborado por MonserrathVerdesoto	
Punto 4 CEVALLOS	
Fecha de muestreo	04 /12/ 2021
Hora del muestreo	14:37
Marca de la bebida	Coca-Cola Light
Preservante	Hielo a 4C°
Código de la muestra	UTA-FCIAB-M3-P4

Anexo 3 Diagrama de flujo de la metodología realizada.



Fuente: Elaboración propia.

Tabla 16 Datos de las pruebas colorimétricas de bebida “Monster” en el espectrofotométrico UV-VIS EVOLUTION 60s.

Barrido espectral de la bebida Monster					
200 a 800 nm		200 a 400 nm		220 a 280 nm	
λ	Abs	λ	Abs	λ	Abs
129	3.491	253	3.489	230	3.477
260	3.482	260	3.485	253	3.481
271	3.501	276	3.491	260	3.494
389	3.480	300	3.484	276	3.471

Fuente: Elaboración propia

Tabla 17 Datos de pruebas colorimétricas de bebida “220V” en el espectrofotométrico UV-VIS EVOLUTION 60s.

Barrido espectral de la Bebida 220V					
200 a 800 nm		200 a 400 nm		220 a 280 nm	
Λ	Abs	Λ	Abs	λ	Abs
260	3.350	229	3,351	2.30	3,392
278	3.474	249	3,375	2.46	3,351
303	3.462	261	3,388	2.60	3.394
400	3.433	276	3,474	276	3.458

Fuente: Elaboración propia

Tabla 18 Datos de pruebas colorimétricas de bebida “Coca-Cola Light” en el espectrofotométrico UV-VIS EVOLUTION 60s.

Barrido espectral de la bebida Coca-Cola Light					
200 a 800 nm		200 a 400 nm		220 a 280 nm	
λ	Abs	Λ	Abs	λ	Abs
2.30	3.988	229	3.991	230	3.978
2.41	4.568	255	4,457	249	4.676
2.76	4.535	276	4,522	263	4.619
3.90	4.301	399	3,969	276	4.514

Fuente: Elaboración propia

Anexo 4. Resultados de la medición como muestra oscura, en el colorímetro Genesys20.



Fuente: Colorímetro GENESYS™ 20, presente en Laboratorio de Control y Análisis de alimentos LACONAL

Tabla 19 Resultados de la absorbancia para la curva de calibración del estándar del Ácido Sórbico por triplicado.

Replica	Abs.	Desviación estándar	G Calculado	Criterio de aceptación	Concentración mg/100 mL	Absorbancia Promedio
R1	0,002	0,003	0,577	Acepta	1	0,004
R2	0,007		1,155	Rechaza		
R3	0,002		0,577	Acepta		
R1	0,003	0,000	0,816	Acepta	2	0,003
R2	0,003		0,816	Acepta		
R3	0,003		0,816	Acepta		
R1	0,004	0,001	1,000f	Acepta	4	0,005
R2	0,005		0,000	Acepta		
R3	0,006		1,000	Acepta		
R1	0,007	0,001	0,000	Acepta	6	0,007
R2	0,006		1,000	Acepta		
R3	0,008		1,000	Acepta		
R1	0,010	0,001	1,000	Acepta	8	0,009
R2	0,008		1,000	Acepta		
R3	0,009		0,000	Acepta		
R1	0,012	0,002	0,320	Acepta	10	0,011
R2	0,013		0,801	Acepta		
R3	0,009		1,121	Acepta		
R1	0,017	0,001	0,000	Acepta	15	0,017
R2	0,018		1,000	Acepta		
R3	0,016		1,000	Acepta		
R1	0,022	0,002	0,218	Acepta	20	0,022
R2	0,024		1,091	Acepta		
R3	0,021		0,873	Acepta		
R1	0,030	0,002	1,091	Acepta	25	0,028
R2	0,028		0,218	Acepta		
R3	0,027		0,873	Acepta		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 20 Resultados de la absorbancia para la curva de calibración del estándar del Ácido Benzoico por triplicado.

Replica	Abs.	Desviación estándar	G calculado	Criterio de aceptación	Concentración mg/100 mL	Absorbancia Promedio
R1	0,006	0,001	1,000	Acepta	1	0,005
R2	0,004		1,000	Acepta		
R3	0,005		0,000	Acepta		
R1	0,007	0,002	1,000	Acepta	2	0,009
R2	0,011		1,000	Acepta		
R3	0,009		0,000	Acepta		
R1	0,018	0,002	1,121	Acepta	4	0,016
R2	0,015		0,320	Acepta		
R3	0,014		0,801	Acepta		
R1	0,023	0,002	0,320	Acepta	6	0,022
R2	0,020		1,121	Acepta		
R3	0,024		0,801	Acepta		
R1	0,027	0,003	0,873	Acepta	8	0,030
R2	0,029		0,218	Acepta		
R3	0,033		1,091	Acepta		
R1	0,038	0,002	0,801	Acepta	10	0,036
R2	0,037		0,320	Acepta		
R3	0,034		1,121	Acepta		
R1	0,050	0,003	0,873	Acepta	15	0,053
R2	0,052		0,218	Acepta		
R3	0,056		1,091	Acepta		
R1	0,072	0,002	0,320	Acepta	20	0,071
R2	0,073		0,801	Acepta		
R3	0,069		1,121	Acepta		
R1	0,090	0,002	0,873	Acepta	25	0,089
R2	0,087		1,091	Acepta		
R3	0,089		0,218	Acepta		

Tabla 21 Resultados de la absorbancia para la curva de calibración del estándar de la Cafeína por triplicado.

Replica	Abs	Desviación estándar	G calculado	Criterio de aceptación	Concentración mg/100 mL	Absorbancia Promedio
R1	0,008	0,000	1,000	Acepta	1	0,008
R2	0,008		0,000	Acepta		
R3	0,008		1,000	Acepta		
R1	0,015	0,001	0,000	Acepta	2	0,015
R2	0,016		1,000	Acepta		
R3	0,014		1,000	Acepta		
R1	0,019	0,001	1,000	Acepta	3	0,018
R2	0,017		1,000	Acepta		
R3	0,018		0,000	Acepta		
R1	0,031	0,002	1,121	Acepta	5	0,033
R2	0,034		0,320	Acepta		
R3	0,035		0,801	Acepta		
R1	0,059	0,002	0,320	Acepta	10	0,060
R2	0,062		1,121	Acepta		
R3	0,058		0,801	Acepta		
R1	0,068	0,004	0,832	Acepta	12	0,071
R2	0,070		0,277	Acepta		
R3	0,075		1,109	Acepta		
R1	0,098	0,000	0,816	Acepta	16	0,098
R2	0,098		0,816	Acepta		
R3	0,098		0,816	Acepta		
R1	0,118	0,002	1,121	Acepta	20	0,120
R2	0,121		0,320	Acepta		
R3	0,122		0,801	Acepta		
R1	0,151	0,002	1,000	Acepta	25	0,153
R2	0,155		1,000	Acepta		
R3	0,153		0,000	Acepta		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 22 Resultados de ácido sórbico del Monster Energy código UTA-FCIAB-M1 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.

Ácido Sórbico del Monster Energy código UTA-FCIAB-M1						
Estándar adicionado mg/10 mL	Replica	Absorbancia	promedio absorbancia	Desviación estándar	Concentración mg/100mL diluida 1/5	Concentración mg/Kg (FD=5)
2	R1	0,012	0,013	0,0008	9,607	48,036
	R2	0,014				
	R3	0,013				
3	R1	0,013	0,014	0,0008	9,571	47,857
	R2	0,014				
	R3	0,015				
5	R1	0,017	0,017	0,0005	9,689	48,444
	R2	0,017				
	R3	0,016				
7	R1	0,018	0,019	0,0008	9,867	49,333
	R2	0,019				
	R3	0,020				
9	R1	0,019	0,020	0,0008	8,800	44,000
	R2	0,021				
	R3	0,020				
10	R1	0,022	0,022	0,0005	9,356	46,778
	R2	0,022				
	R3	0,021				

Fuente: Elaboración propia

Tabla 23 Resultados de ácido sórbico del 220V código UTA-FCIAB-M2 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.

Ácido Sórbico del 220V código UTA-FCIAB-M2						
Estándar adicionado mg/10 mL	Replica	Absorbancia	promedio absorbancia	Desviación estándar	Concentración mg/100mL diluida 1/5	Concentración mg/Kg (FD=5)
2	R1	0,011	0,010	0,0008	7,000	35,000
	R2	0,009				
	R3	0,010				
3	R1	0,012	0,011	0,0008	6,679	33,393
	R2	0,010				
	R3	0,011				
5	R1	0,013	0,013	0,0005	6,929	34,643
	R2	0,013				
	R3	0,014				
7	R1	0,016	0,016	0,0005	7,179	35,893
	R2	0,016				
	R3	0,015				
9	R1	0,018	0,018	0,0005	6,622	33,111
	R2	0,018				
	R3	0,017				
10	R1	0,019	0,019	0,0000	6,867	34,333
	R2	0,019				
	R3	0,019				

Fuente: Elaboración propia

Tabla 24 Resultados de ácido sórbico de la Coca Cola Light código UTA-FCIAB-M3 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.

Ácido sórbico de la Coca Cola Light código UTA-FCIAB-M3						
Estándar adicionado mg/10 mL	Replica	Absorbancia	Absorbancia promedio	Desviación estándar	Concentración mg/100mL diluida 1/5	Concentración mg/Kg (FD=5)
2	R1	0,009	0,009	0,0005	9,429	47,143
	R2	0,008				
	R3	0,009				
3	R1	0,012	0,012	0,0005	7,964	39,821
	R2	0,012				
	R3	0,013				
5	R1	0,014	0,014	0,0005	7,893	39,464
	R2	0,014				
	R3	0,015				
7	R1	0,016	0,017	0,0008	8,000	40,000
	R2	0,018				
	R3	0,017				
9	R1	0,019	0,019	0,0008	7,867	39,333
	R2	0,018				
	R3	0,020				
10	R1	0,019	0,020	0,0008	7,800	39,000
	R2	0,020				
	R3	0,020				

Fuente: Elaboración propia

Tabla 25 Resultados de ácido benzoico del Monster Energy código UTA-FCIAB-M1 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.

Ácido Benzoico del Monster Energy código UTA-FCIAB-M1						
Estándar adicionado mg/10 mL	Replica	Absorbancia	Absorbancia promedio	Desviación estándar	Concentración mg/100mL diluida 1/5	Concentración mg/Kg (FD=5)
2	R1	0,016	0,017	0,0005	2,281	11,406
	R2	0,017				
	R3	0,017				
3	R1	0,019	0,020	0,0008	2,219	11,094
	R2	0,020				
	R3	0,021				
5	R1	0,028	0,027	0,0008	2,346	11,731
	R2	0,026				
	R3	0,027				
7	R1	0,035	0,034	0,0008	2,230	11,149
	R2	0,034				
	R3	0,033				
9	R1	0,041	0,041	0,0000	2,340	11,702
	R2	0,041				
	R3	0,041				
10	R1	0,043	0,044	0,0008	2,202	11,011
	R2	0,045				
	R3	0,044				

Fuente: Elaboración propia

Tabla 26 Resultados ácido benzoico del 220V código UTA-FCIAB-M2 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.

Ácido Benzoico del 220V código UTA-FCIAB-M2						
Estándar adicionado mg/10 mL	Replica	Absorbancia	Absorbancia promedio	Desviación Estándar	Concentración mg/100mL diluida 1/5	Concentración mg/Kg (FD=5)
2	R1	0,026	0,026	0,0005	5,058	24,808
	R2	0,026				
	R3	0,026				
3	R1	0,029	0,029	0,0005	4,923	24,135
	R2	0,029				
	R3	0,029				
5	R1	0,036	0,036	0,0008	4,904	24,521
	R2	0,036				
	R3	0,036				
7	R1	0,043	0,043	0,0005	4,915	24,574
	R2	0,043				
	R3	0,043				
9	R1	0,050	0,050	0,0008	4,926	24,628
	R2	0,050				
	R3	0,050				
10	R1	0,054	0,053	0,0005	4,883	24,415
	R2	0,053				
	R3	0,053				

Fuente: Elaboración propia

Tabla 27 Resultados de ácido benzoico de la Coca Cola Light código UTA-FCIAB-M3 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.

Ácido Benzoico de la Coca Cola Light código UTA-FCIAB-M3						
Estándar adicionado mg/10 mL	Replica	Absorbancia	Absorbancia promedio	Desviación estándar	Concentración mg/100mL diluida 1/5	Concentración mg/Kg (FD=5)
2	R1	0,015	0,015	0,0005	1,417	7,083
	R2	0,015				
	R3	0,014				
3	R1	0,018	0,017	0,0008	1,375	6,875
	R2	0,017				
	R3	0,016				
5	R1	0,023	0,024	0,0005	1,385	6,923
	R2	0,024				
	R3	0,024				
7	R1	0,031	0,031	0,0000	1,378	6,892
	R2	0,031				
	R3	0,031				
9	R1	0,037	0,038	0,0005	1,383	6,915
	R2	0,038				
	R3	0,038				
10	R1	0,042	0,041	0,0005	1,436	7,181
	R2	0,041				
	R3	0,041				

Fuente: Elaboración propia

Tabla 28 Resultados de cafeína del Monster Energy código UTA-FCIAB-M1 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.

Cafeína del Monster Energy código UTA-FCIAB-M1						
Estándar adicionado mg/10 mL	Replica	Absorbancia	Absorbancia promedio	Desviación estándar	Concentración mg/100mL diluida 1/5	Concentración mg/Kg (FD=5)
2	R1	0,098	0,098	0,0000	14,714	273,686
	R2	0,098				
	R3	0,098				
3	R1	0,103	0,104	0,0008	14,762	274,571
	R2	0,104				
	R3	0,105				
5	R1	0,117	0,116	0,0008	14,857	276,343
	R2	0,116				
	R3	0,115				
7	R1	0,130	0,129	0,0008	14,466	269,065
	R2	0,128				
	R3	0,129				
9	R1	0,142	0,142	0,0000	14,665	272,763
	R2	0,142				
	R3	0,142				
10	R1	0,143	0,144	0,0008	14,746	274,276
	R2	0,145				
	R3	0,144				

Fuente: Elaboración propia

Tabla 29 Resultados de cafeína del 220V código UTA-FCIAB-M2 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.

Cafeína del 220V código UTA-FCIAB-M2						
Estándar adicionado mg/10 mL	Replica	Absorbancia	Absorbancia promedio	Desviación estándar	Concentración mg/100mL diluida 1/5	Concentración mg/Kg (FD=5)
2	R1	0,100	0,100	0,0005	14,389	267,633
	R2	0,100				
	R3	0,101				
3	R1	0,106	0,107	0,0008	14,500	269,700
	R2	0,107				
	R3	0,108				
5	R1	0,113	0,114	0,0008	13,667	254,200
	R2	0,115				
	R3	0,114				
7	R1	0,125	0,125	0,0000	13,789	256,481
	R2	0,125				
	R3	0,125				
9	R1	0,136	0,136	0,0008	13,650	253,887
	R2	0,135				
	R3	0,137				
10	R1	0,141	0,141	0,0008	13,496	251,017
	R2	0,142				
	R3	0,141				

Fuente: Elaboración propia

Tabla 30 Resultados de cafeína de la Coca Cola Light código UTA-FCIAB-M1 en una muestra por triplicado a diferentes concentraciones de estándar interno.

Cafeína de la Coca Cola Light código UTA-FCIAB-M3						
Estándar adicionado mg/10 mL	Replica	Absorbancia	Absorbancia promedio	Desviación estándar	Concentración mg/100mL diluida 1/5	Concentración mg/Kg (FD=5)
2	R1	0,026	0,027	0,0008	2,145	39,894
	R2	0,028				
	R3	0,027				
3	R1	0,028	0,029	0,0008	2,200	40,920
	R2	0,030				
	R3	0,029				
5	R1	0,048	0,047	0,0008	2,158	40,137
	R2	0,046				
	R3	0,047				
7	R1	0,058	0,058	0,0000	1,895	35,242
	R2	0,058				
	R3	0,058				
9	R1	0,067	0,067	0,0008	2,277	42,360
	R2	0,068				
	R3	0,066				
10	R1	0,073	0,072	0,0008	2,175	40,448
	R2	0,071				
	R3	0,072				

Fuente: Elaboración propia

Anexo 5. Tabla de valores referenciales de altura, género y pesos corporales para el cálculo de ingesta diaria.

Altura [mts.]	Mujeres						Hombres					
	Pequeña		Mediana		Grande		Pequeño		Mediano		Grande	
	Peso [kg.]		Peso [kg.]		Peso [kg.]		Peso [kg.]		Peso [kg.]		Peso [kg.]	
	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.
1.5	45.00	47.25	46.13	50.63	47.25	52.88	45.00	50.18	48.38	55.40	50.63	56.25
1.52	46.21	48.52	47.36	51.98	48.52	54.29	46.21	51.52	49.67	56.88	51.98	57.76
1.54	47.43	49.80	48.62	53.36	49.80	55.73	47.43	52.89	50.99	58.39	53.36	59.29
1.56	48.67	51.11	49.89	54.76	51.11	57.19	48.67	54.27	52.32	59.92	54.76	60.84
1.58	49.93	52.42	51.18	56.17	52.42	58.67	49.93	55.67	53.67	61.46	56.17	62.41
1.6	51.20	53.76	52.48	57.60	53.76	60.16	51.20	57.09	55.04	63.03	57.60	64.00
1.62	52.49	55.11	53.80	59.05	55.11	61.67	52.49	58.52	56.42	64.61	59.05	65.61
1.64	53.79	56.48	55.14	60.52	56.48	63.21	53.79	59.98	57.83	66.22	60.52	67.24
1.66	55.11	57.87	56.49	62.00	57.87	64.76	55.11	61.45	59.25	67.84	62.00	68.89
1.68	56.45	59.27	57.86	63.50	59.27	66.33	56.45	62.94	60.68	69.49	63.50	70.56
1.7	57.80	60.69	59.25	65.03	60.69	67.92	57.80	64.45	62.14	71.15	65.03	72.25
1.72	59.17	62.13	60.65	66.56	62.13	69.52	59.17	65.97	63.61	72.84	66.56	73.96
1.74	60.55	63.58	62.07	68.12	63.58	71.15	60.55	67.52	65.09	74.54	68.12	75.69
1.76	61.95	65.05	63.50	69.70	65.05	72.79	61.95	69.08	66.60	76.26	69.70	77.44
1.78	63.37	66.54	64.95	71.29	66.54	74.46	63.37	70.66	68.12	78.01	71.29	79.21
1.8	64.80	68.04	66.42	72.90	68.04	76.14	64.80	72.25	69.66	79.77	72.90	81.00
1.82	66.25	69.56	67.90	74.53	69.56	77.84	66.25	73.87	71.22	81.55	74.53	82.81
1.84	67.71	71.10	69.40	76.18	71.10	79.56	67.71	75.50	72.79	83.35	76.18	84.64
1.86	69.19	72.65	70.92	77.84	72.65	81.30	69.19	77.15	74.38	85.18	77.84	86.49
1.88	70.69	74.22	72.46	79.52	74.22	83.06	70.69	78.82	75.99	87.02	79.52	88.36
1.9	72.20	75.81	74.01	81.23	75.81	84.84	72.20	80.50	77.62	88.88	81.23	90.25
1.92	73.73	77.41	75.57	82.94	77.41	86.63	73.73	82.21	79.26	90.76	82.94	92.16
1.94	75.27	79.04	77.15	84.68	79.04	88.44	75.27	83.93	80.92	92.66	84.68	94.09
1.96	76.83	80.67	78.75	86.44	80.67	90.28	76.83	85.67	82.59	94.58	86.44	96.04
1.98	78.41	82.33	80.37	88.21	82.33	92.13	78.41	87.42	84.29	96.52	88.21	98.01
2	80.00	84.00	82.00	90.00	84.00	94.00	80.00	89.20	86.00	98.48	90.00	100.00
2.02	81.61	85.69	83.65	91.81	85.69	95.89	81.61	90.99	87.73	100.46	91.81	102.01
2.04	83.23	87.39	85.31	93.64	87.39	97.80	83.23	92.80	89.47	102.46	93.64	104.04
2.06	84.87	89.12	86.99	95.48	89.12	99.72	84.87	94.63	91.24	104.48	95.48	106.09
2.08	86.53	90.85	88.69	97.34	90.85	101.67	86.53	96.48	93.02	106.52	97.34	108.16

Fuente: (Licata, 2022)

Tabla 31 Valores referenciales de altura, género y pesos corporales para el cálculo de ingesta diaria de Ácido Sórbico y Ácido Benzoico

Valores recomendados para Mujeres						
	Altura	Peso	Ácido sórbico		Ácido benzoico	
	(cm)	(Kg)	Ingesta diaria	Promedio	Ingesta diaria	Promedio
			(3mg Aditivo/kg peso corporal)		(5mg Aditivo/kg peso corporal)	
Adolescentes 12 -15 años	120,000	35,800	107,400	124,575	179,000	207,625
	150,000	47,250	141,750		236,250	
Jóvenes 16-34 años	156,000	54,760	164,280	172,920	273,800	288,200
	164,000	60,520	181,560		302,600	
Adultos 35-55 años	166,000	62,000	186,000	188,250	310,000	313,750
	168,000	63,500	190,500		317,500	

Valores recomendados para Hombres						
	Altura	Peso	Ácido sórbico		Ácido benzoico	
	(cm)	(Kg)	Ingesta diaria	Promedio	Ingesta diaria	Promedio
			(3mg Aditivo/kg peso corporal)			
Adolescentes 10 -15 años	150,000	50,180	150,540	154,605	250,900	257,675
	154,000	52,890	158,670		264,450	
Jóvenes 16-34 años	158,000	62,410	187,230	192,945	312,050	321,575
	164,000	66,220	198,660		331,100	
Adultos 35-55 años	168,000	69,490	208,470	215,175	347,450	358,625
	172,000	73,960	221,880		369,800	

Tabla 32 Valores referenciales de altura, género y pesos corporales para el cálculo de ingesta diaria de Cafeína.

Valores recomendados de ingesta diaria de Cafeína para mujeres

	Altura (cm)	Peso (Kg)	Ingesta diaria		Monster		220V		Coca-Cola Light	
			(5mg Aditivo/kg peso corporal)	274,276 mg/L	Promedio	251,017 mg/L	Promedio	40,448 mg/L	Promedio	
Adolescentes 10 -15 años	120,000	35,800	179,000	652,627	756,993	713,099	1645,825	4425,435	8053,550	
	150,000	47,250	236,250	861,359		941,171		5840,833		
Jóvenes 16-34 años	156,000	54,760	273,800	998,265	1050,766	1090,763	3145,560	6769,185	14250,396	
	164,000	60,520	302,600	1103,268		1205,496		7481,210		
Adultos 35-55 años	166,000	62,000	310,000	1130,248	1143,921	1234,976	3424,426	7664,161	15513,746	
	168,000	63,500	317,500	1157,593		1264,855		7849,585		

Valores recomendados de ingesta diaria de Cafeína para hombres

	Altura (cm)	Peso (Kg)	Ingesta diaria		Monster		220V		Coca-Cola Light	
			(mg Aditivo/kg peso corporal)	274,276 mg/L	promedio	251,017 mg/L	Promedio	40,448 mg/L	Promedio	
Adolescentes 10 -15 años	150,000	50,180	250,900	914,772	939,473	999,534	1026,524	6203,026	6733,749	
	154,000	52,890	264,450	964,175		1053,514		6538,024		
Jóvenes 16-34 años	158,000	62,410	312,050	1137,723	1172,450	1243,143	1281,089	8572,049	8833,701	
	164,000	66,220	331,100	1207,178		1319,034		9095,354		
Adultos 35-55 años	168,000	69,490	347,450	1266,790	1307,533	1384,169	1428,688	9544,491	9851,469	
	172,000	73,960	369,800	1348,277		1473,207		10158,448		

Tabla 33 Incertidumbre en las muestras para ácido sórbico

Incertidumbre	Muestra		
	Coca Cola Light	220 V	Monster
U ₁	0,000393	0,000392	0,000608
U ₂	0,001155	0,001155	0,001155
U ₃	0,000573	0,000630	0,000940
U _c	0,001348	0,001373	0,001608
U	± 1,99 mg	± 2,04 mg	± 2,49 mg
% U	5,36 %	4,58 %	4,33 %

Fuente: Ojeda (2022)

Tabla 34 Incertidumbre en las muestras para ácido benzoico

Incertidumbre	Muestra		
	Coca Cola Light	220 V	Monster
U ₁	0,000277	0,000421	0,000371
U ₂	0,001155	0,001155	0,001155
U ₃	0,000443	0,000667	0,000617
U _c	0,001268	0,001398	0,001361
U	± 0,29 mg	± 0,37 mg	± 0,35 mg
% U	6,33 %	5,31 %	6,18 %

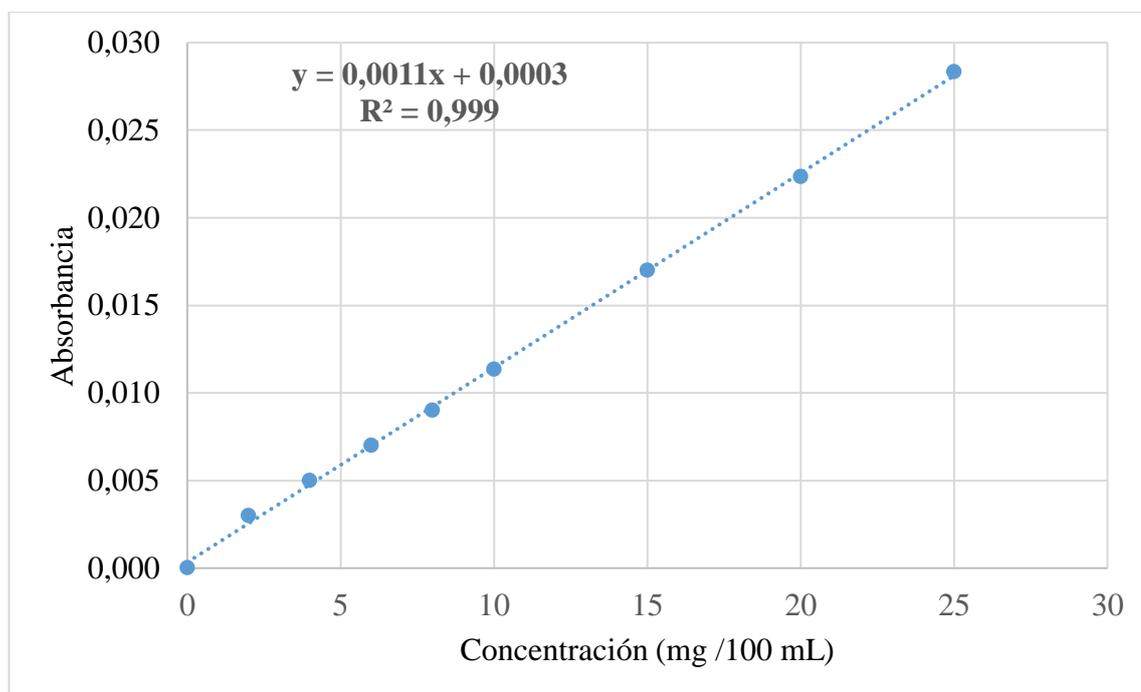
Fuente: Ojeda (2022)

Tabla 35 Incertidumbre en las muestras para ácido sórbico

Incertidumbre	Muestra		
	Coca Cola Light	220 V	Monster
U ₁	0,000749	0,000629	0,000895
U ₂	0,001155	0,001155	0,001155
U ₃	0,001227	0,000990	0,001413
U _c	0,001844	0,001646	0,002032
U	± 0,41 mg	± 0,34 mg	± 0,47 mg
% U	2,57 %	3,98 %	3,43 %

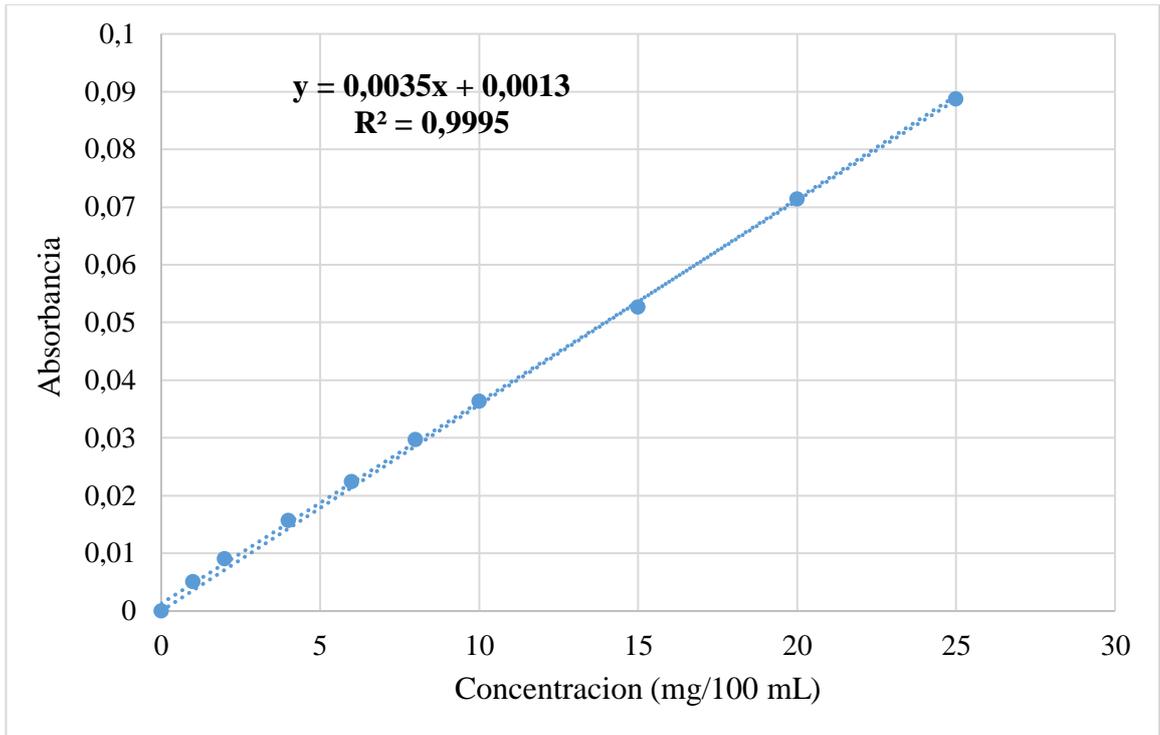
Fuente: Ojeda (2022)

Anexo 6. Curva de calibración de ácido sórbico



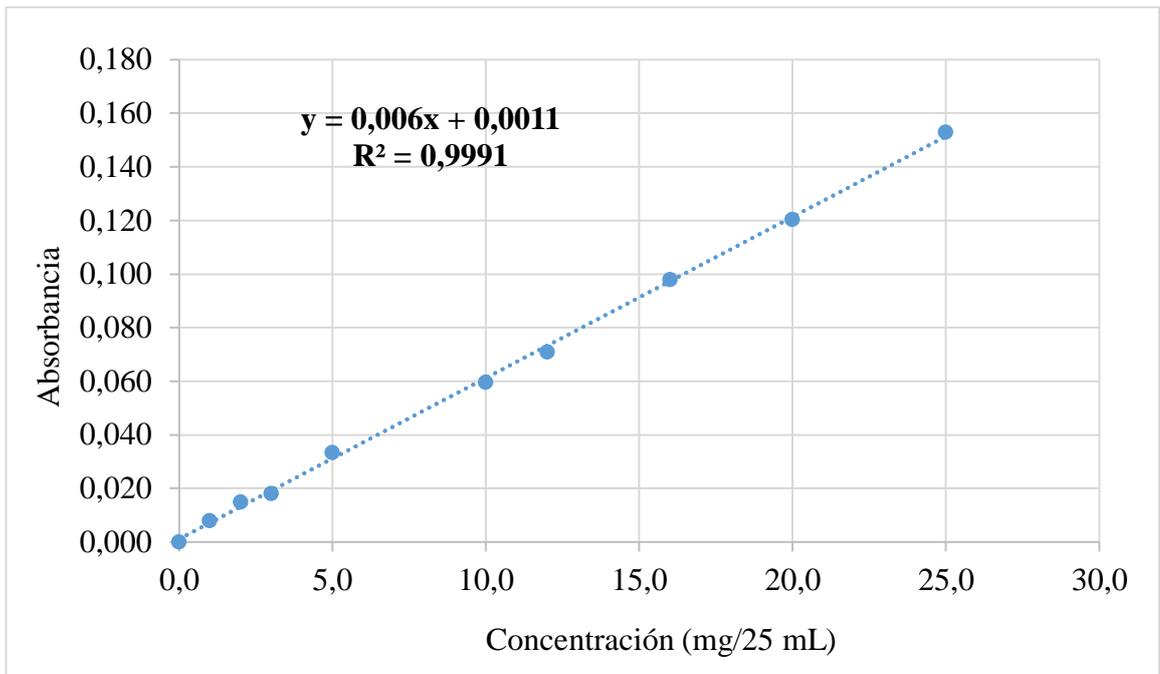
Fuente: Ojeda (2022)

Anexo 7. Curva de calibración de ácido benzoico



Fuente: Ojeda (2022)

Anexo 8. Curva de calibración de cafeína



Fuente: Ojeda (2022)

Anexo 9. Certificado de haber realizado la parte experimenta en el Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos, LACONAL.



UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERIA EN ALIMENTOS
LABORATORIO DE CONTROL Y ANALISIS DE ALIMENTOS, LACONAL



Dirección: Av. Los Chasquis y Río Payamino, Campus Huachi, Ambato- Ecuador Teléfono: 2400987 Ext. 5518

Certificación N. 2022-LACONAL-01
Ambato, 25 de enero de 2022

CERTIFICACIÓN

Por medio del presente, a petición de la Interesada, **Certifico** que la Señorita Solange Monserrath Verdesoto Martínez, con número de cedula 1805210489, estudiante de la carrera de Ingeniería Bioquímica de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, Universidad Técnica de Ambato - UTA, realizó su proyecto de investigación con el tema: Cuantificación simultanea de conservantes y cafeína en bebidas azucaradas consumidas por los moradores de la provincia de Tungurahua, por espectroscopia ultravioleta.

Desde jueves 2 de diciembre del 2021 hasta el 23 de diciembre del 2021.

Actividades realizadas:

- Preparación de soluciones
- Tratamiento de desgasificación a las muestras
- Tratamiento puntal para cada conservante y cafeína.
- Pruebas colorimétricas
- Cuantificación de ácido Sórbico, ácidos benzoico y cafeína.

Equipos que se usaron:

- Espectrofotómetro UV-VIS EVOLUTION 60s
- Espectrofotómetro Visible Genesis 10vis
- Colorímetro GENESYS 20TM
- Balanza analítica BOECO-BBL31
- Plancha de calentamiento

La interesada puede hacer uso del presente documento, como considere conveniente.

Atentamente,



Firmado electrónicamente por:
**MARIA GABRIELA
FLORES ROSERO**

Ing. Gabriela Flores R.

DIRECTORA

Laboratorio LACONAL

MGF