



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD ESCUELA  
ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

## **TESIS**

“DETERMINACIÓN DE CAFEÍNA EN BEBIDAS ENERGIZANTES  
COMERCIALIZADAS EN EL DISTRITO DE MIRAFLORES -LIMA”

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

BACHILLER: MELGAR MEZA Manuel

ASESOR: GRANDE ORTIZ, Miguel Ángel

**LIMA – PERU**

**2015**

A mis profesores que en este andar por la vida, influyeron con sus lecciones y experiencias en formarme como una persona de bien, preparada para los retos que pone la vida a ellos les dedico cada una de estas páginas de mi tesis.

Agradezco a Dios por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos a lo largo de toda mi vida a mis padres, que con su demostración ejemplar me ha enseñado a no desfallecer ni rendirme ante nada, siempre perseverar a través de sus sabios consejos.

## RESUMEN

El presente estudio determinó las concentraciones de cafeína presentes en Bebidas Energizantes expendidos en el distrito de Miraflores - Lima.

En este trabajo se dio a conocer información sobre las sustancias presentes en las bebidas energizantes que se comercializan en el distrito de Miraflores, así como sus efectos y diferentes enfermedades asociadas al consumo de estas bebidas.

Se tomó como base una muestra de la población del distrito de Miraflores que consumen Bebidas Energizantes. Para ello se consideraron 3 marcas comerciales de bebidas energizantes que son frecuentes en la zona de Miraflores (RED BULL, BLUR, y MONSTER ENERGY). El Método de Análisis que se utilizó fue el de Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC),

Las concentraciones encontradas en las bebidas gaseosas empleando el método HPLC fueron; red bull 32.44mg/100ml, monster energy 20.14 mg/100ml, burn 33.20 mg/100ml, por lo que con los resultados obtenidos se evidencia que las concentraciones de las bebidas energizantes analizadas se encuentran por encima del límites máximos permitidos para cafeína según la normativa.

**Palabras Claves: bebidas energizantes, cafeína, muestras**

## **ABSTRACT**

This study determined the concentrations of caffeine in presenting Energy Drink expended in the district of Miraflores -Lima. This paper released information on the substances present in energy drinks sold in the Miraflores district and its effects and different illnesses associated with the consumption of these beverages.

It was derived from a sample of the population of Miraflores consuming Energy Drinks. For these three trademarks of energy drinks which are frequent in the area of Miraflores (REDBULL, BLUR, and MONSTERENERGY) were considered. The method of analysis used was that of High Pressure Liquid Chromatography (HPLC).

The concentrations found in soft drink using the HPLC method were; red bull 32.44mg/100ml, monster energy 20.14mg/100ml, burn 33.20mg/100ml, so the results are evidence that concentrations of analyzed energy drinks are above the permitted maximum limits for caffeine in accordance with the rules.

**Keywords: energy drinks, caffeine, samples**

# ÍNDICE

CARÁTULA.....	1
DEDICATORIA.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	5
ÍNDICE.....	6
INTRODUCCIÓN.....	11

## **CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

1.1 Descripción de la realidad problemática .....	12
1.2 Formulación del problema.....	13
1.3 Objetivos de la investigación.....	13
1.3.1 Objetivo general.....	13
1.3.2 Objetivo específico .....	13
1.4 Hipótesis de la Investigación.....	13
1.4.1 Hipótesis General.....	13
1.4.2 Hipótesis Secundarias.....	14
1.5 Justificación e importancia de la investigación .....	14

## **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

2.1 Antecedentes de la investigación.....	15
2.2 Bases teóricas.....	19

### **CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO**

3.1	Tipo de investigación.....	53
3.1.1	Método.....	53
3.1.2	Técnica.....	53
3.1.3	Diseño.....	54
3.2	Población y muestreo de la investigación.....	54
3.2.1	Población.....	54
3.2.2	Muestra.....	54
3.3	Variables e indicadores.....	55
3.4	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	56
3.4.1	Técnicas.....	56
3.4.2	Instrumentos.....	57

### **CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

4.1	RESULTADOS.....	58
4.2	INTERPRETACION.....	61
4.3	DISCUSIONES.....	62
	CONCLUSIONES.....	63
	RECOMENDACIONES.....	64
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
	ANEXOS.....	69
	GLOSARIO.....	73

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>N° 1:</b> Componentes principales en las Bebidas Energizantes.....	23
<b>N° 2:</b> Procedencia de Muestras Miraflores.....	53
<b>N° 3:</b> Cuantificación de cafeína en bebidas energizantes.....	57

## ÍNDICE DE GRÁFICO

<b>N° 1:</b> Estructura Química de la Cafeína.....	24
<b>N° 2:</b> Variables e Indicadores.....	54
<b>N°3:</b> Promedio de Cafeína.....	59
<b>N°4:</b> Concentración de Cafeína.....	60

## ÍNDICE DE ANEXOS

N° 1: Determinación de Estándar de La cafeína.....	69
N° 2: Determinación de Cafeína en Red Bull.....	70
N° 3: Determinación de Cafeína en Monster Energy.....	71
N° 4: Determinación de Cafeína en Burn.....	72

## INTRODUCCIÓN

Las bebidas energizantes son bebidas analcohólicas, generalmente gasificadas, compuestas básicamente por cafeína y carbohidratos, azúcares diversos, más otros ingredientes, como aminoácidos, vitaminas, minerales, extractos vegetales, acompañados de aditivos acidulantes, conservantes, saborizantes y colorantes.

Generalmente los consumidores de estas bebidas no conocen los principios activos que contienen, por el contrario, otros consumidores sí se interesan en leer el etiquetado de estas bebidas, pero de igual forma desconocen las cantidades que deben contener para no afectar su salud. En los últimos años las bebidas energizantes han ganado popularidad entre la juventud que ha comenzado a utilizarlas como si fueran refrescos, sin tener conciencia del peligro que puedan causarles como frecuencia cardiaca, depresión, ansiedad, dificultad para dormir, etc.

El objetivo del proyecto es determinar la cantidad de cafeína presentes en bebidas energizantes para lo cual se empleará el método de cromatografía líquida de alta resolución HPLC, se plantea la hipótesis de que los niveles de cafeína se encuentran dentro del límite máximo permisible en las bebidas energizantes comercializadas y no afecta la salud de los consumidores.

# CAPÍTULO I:

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1 Descripción De La Realidad Problemática:

El descontrol del consumo de las bebidas energizantes en la juventud, en el cual que se encuentra en abundancia en los locales nocturnos, es un serio problema para su salud ya que no tienen conciencia de los efectos secundarios que ocasiona dicha bebida.<sup>1</sup>

La mala gestión de las autoridades de salud, genera que no haya la necesaria supervisión de dichas bebidas que contengan cafeína, Por este motivo, los jóvenes las consumen pensando que no tienen efectos adversos para la salud.

El consumo frecuente de estas bebidas suele causar cierto grado de tolerancia y dependencia psíquica (hábito), aun en las personas que no las ingieren en exceso. Las sensaciones producidas por estas bebidas son de bienestar y mejoramiento en el trabajo, aunque, posteriormente, causen disminución de la eficiencia cardiaca y estados de depresión, siendo una de estas bebidas las “Bebidas Energizantes”.<sup>2</sup>

## **1.2 Formulación del Problema:**

¿Cuál es la cantidad de cafeína presente en las bebidas energizantes comercializadas en el distrito de Miraflores, Lima, en el año 2015?

## **1.3 Objetivos de la investigación:**

### **1.3.1 Objetivo General**

Determinar la cantidad de cafeína presente en bebidas energizantes comercializadas en el área del distrito de Miraflores, Lima, en el año 2015

### **1.3.2 Objetivos específicos**

1.3.2.1.1 Identificar la presencia de cafeína en bebidas energizantes comercializadas en Miraflores, Lima.

1.3.2.1.2 Cuantificar la cantidad de cafeína presente en bebidas energizantes comercializadas en Miraflores, Lima.

## **1.4 Hipótesis de la Investigación:**

### **1.4.1 Hipótesis General**

La cafeína se encontraría dentro del límite máximo permisible en las bebidas energizantes comercializadas, en el distrito de Miraflores, Lima.

## **1.4.2 Hipótesis Secundarias**

1.4.2.1 Se evidenciaría la presencia de cafeína en las bebidas energizantes comercializadas en el distrito de Miraflores, Lima mediante el método HPLC.

1.4.2.2 Es factible la cuantificación de la cafeína en bebidas energizantes comercializadas en el distrito de Miraflores Lima por el método HPLC.

## **1.5 Justificación e Importancia de la Investigación**

Se requiere realizar la investigación sobre la presencia de cafeína en las bebidas energizantes, para así poder determinar la concentración, en base a métodos cromatográficos. Al determinar el valor de cafeína en las bebidas energizantes se sabrá, si el consumo en exceso en los seres humanos está permitido, ya que la cafeína en altas concentraciones puede traer efectos adversos en la salud, por tal motivo es necesario saber el valor máximo permisible:20mg/100ml <sup>(23)</sup>.

El proyecto es importante pues permitirá conocer el valor permisible de cafeína en las diferentes marcas de bebidas energizantes que son comercializadas en Miraflores – Lima y verificar si el contenido de cafeína sobrepasa lo permitido por la norma. INDECOPI (ex – ITINTEC) <sup>(23)</sup> 214.001. BEBIDAS GASIFICADAS. Lo cual afectaría la salud de la población de Miraflores; para ello se determinará la cafeína presente en las bebidas energizantes por medio del método de Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC).

## **CAPÍTULO II:**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 Antecedentes de la investigación:**

##### **Antecedentes Internacionales**

- En investigación realizada por Oscar Mauricio AGUILAR MEJÍA, GALVIS-PEDROSA Carlos Felipe, HEREDIA-MAZUERA Hernando Andrés, RESTREPO-PINZÓN Alejandra (2008). **EFFECTOS DE LAS BEBIDAS ENERGIZANTES CON BASE EN TAURINA Y CAFEÍNA.** Hace referencia al estudio en tareas de atención selectiva y sostenida en un grupo de 52 hombres y mujeres entre los 18 y los 22 años de edad, que consumieron una bebida “energizante” que tiene como base taurina y cafeína. Se encontró que no existen diferencias significativas en los desempeños entre los participantes que consumieron la bebida y el grupo de control.<sup>4</sup>
  
- En la investigación realizada por Maidana PETERSEN, Zannier, WILLINER, (2011) **BEBIDAS ENERGIZANTES CUANTIFICACIÓN DE SUS COMPONENTES Y CUMPLIMIENTO DE LA LEGISLACIÓN** hace referencia al estudio de cuantificación de cafeína, creatina, riboflavina y ácido pantoténico por electroforesis capilar electrocinética micelar (MEKC); taurina por medio del Índice de Formol y cromatografía en capa delgada (TLC); azúcares por el método de Fehling-Causse- Bonnans. De los

resultados obtenidos surge que la denominación correcta sería la de estimulantes y no energizantes porque el aporte calórico por parte de los hidratos de carbono se encuentra en el límite inferior de la exigencia dada por el ANMAT para ser consideradas “alto en energía”, y por el contrario sí deberían denominarse “estimulantes”, por el alto contenido de cafeína que presentan, entre otros componentes activos. Encontrándose además que algunos aspectos reglamentarios no son cumplidos por algunas de las bebidas estudiadas<sup>5</sup>.

- En la investigación realizada por Franco Alexis AGUILAR SALAZAR, Juan Pablo AGUILAR TICONA. (2010) **EFECTO DEL CONSUMO EXCESIVO DE LAS BEBIDAS ENERGIZANTES SOBRE EL PESO Y TALLA. EN CONEJOS**. Hace referencia al estudio del efecto del consumo excesivo de bebidas energizantes sobre el peso, talla y el peso de 3 órganos: riñones, corazón e hígado en conejos.

Se tomaron nueve animales de experimentación (conejos). Se hicieron tres grupos, Se administró una dosis de bebida energizante cada día en un periodo de 30 días. La cantidad de dosis inicial: grupo 1 (1 ml), grupo 2 (0.5 ml), grupo 3 (control). La cantidad de dosis final: grupo 1 (6 ml), grupo 2 (3 ml), grupo 3 (control). Se tomó peso y talla inicial y final. Posteriormente se procedió a la disección de riñones, corazón e hígado para su posterior toma de peso. El grupo con mayor dosis tuvo un aumento de peso (12.38%), talla (13.55%), un aumento porcentual de peso de los órganos: riñones (1.02%), corazón (0.57%), hígado (4.49%). El aumento de peso y

talla es contradictorio porque el grupo 3 que no recibía ninguna dosis tuvo un aumento de peso y talla mayor que el grupo 2. Sin embargo el grupo 1 que recibió mayor cantidad de dosis aumento de peso y talla como se esperaba. El aumento de peso del hígado concuerda con la cantidad de dosis aplicada en cada grupo. El aumento de peso de los riñones y el corazón no es significativo <sup>(5)</sup>.

- En la investigación realizada por Jorge Enrique OSADA LIY, Miguel Oswaldo ROJAS VILLEGAS, César Eduardo ROSALES VÁSQUEZ, Johan VEGA DIENSTMAIER. (2009) **CONSUMO DE CAFEÍNA EN ESTUDIANTES DE MEDICINA Y SU COEXISTENCIA CON SINTOMATOLOGÍA ANSIOSA Y DEPRESIVA**. Hace referencia al estudio de consumo de cafeína y su relación con sintomatología ansiosa y depresiva en estudiantes de medicina de una universidad privada en Lima, Perú. Se realizó un estudio descriptivo transversal. Participaron 384 personas de cuatro años de estudio de la facultad de medicina de una universidad privada en Lima, Perú. Se utilizó una encuesta estructurada para la evaluación de consumo de cafeína, y la Escala de Ansiedad y Depresión de Goldberg –EADG, siendo los puntos de corte 4 para ansiedad y 3 para depresión.

El 96,3% de participantes consumen cafeína en un nivel promedio de 147,35 mg/día, 34,13% presentó sintomatología ansiosa, 29,89% depresiva y 20,63% síntomas de ambas. No se encontró relación entre el grado de consumo de cafeína y la presencia de sintomatología ansiosa y depresiva.

El consumo de cafeína en estudiantes de medicina resultó igual o inferior a lo descrito en otros estudios.

- En la investigación realizada por María G. VOLONTE, María A. VINAS, Carolina E. GORRITI, María C. ESCALES, Laura A. SANCHEZ & María Esperanza RUIZ. (2009) **DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO POR HPLC PARA LA DETERMINACIÓN DE CARBAMACEPINA EN PLASMA HUMANO**. Hace referencia al estudio de desarrollo y validación de un método rápido y simple por HPLC para la determinación de carbamacepina en plasma humano. Se utilizó nitrazepan como estándar interno. El método fue exitosamente aplicado a la determinación de los parámetros farmacocinéticos de carbamacepina en un voluntario sano. Durante la validación se evaluó linealidad, precisión, exactitud, límite de cuantificación y especificidad del método.

La respuesta resultó lineal en el intervalo de concentraciones 0,075–3,00 µg/ml. La precisión fue menor del 5,0% expresada como coeficiente de variación. La exactitud fue del 83–99% y el límite de cuantificación fue de 0,075 µg/ml. Se demostró la especificidad del método respecto a la matriz biológica y a cafeína. La droga resultó estable en la matriz bajo las condiciones ensayadas. El método puede ser aplicado en estudios clínicos con voluntarios humanos sanos, como estudios farmacocinéticos o de bioequivalencia<sup>(24)</sup>.

## 2.2 Bases teóricas

### 2.2.1 Bebidas energizantes

La mayoría de estas bebidas son de origen austriaco, y su nombre remite al apodo que se les tenía a las anfetaminas, droga de uso habitual durante los años 60 y 70. La similitud se debe, seguramente, al hecho de que las anfetaminas, las metanfetaminas y éxtasis evitan el sueño y la fatiga, función principal de estas bebidas.<sup>3</sup>

Las bebidas energizantes, más conocidas por su nombre en inglés “Energy Drinks” fueron presentadas en el mercado europeo hace dos décadas atrás. Esta categoría de productos fue creada en Austria por Diétrich Matéschitz y, después de minuciosos estudios científicos y médicos, fue lanzada al mercado con la marca “Red Bull” en 1987<sup>(2)</sup>.

Numerosos productos continúan surgiendo desde entonces y hoy se han popularizado en el mundo entero, y en el Perú no es la excepción. Una estimación del mercado mundial señala que, actualmente, se producen alrededor de 3000 millones de envases por año, con un crecimiento sostenido. Paralelo a este incremento también se ha observado un aumento en los problemas de salud en personas que consumen estos productos, específicamente causando enfermedades cardiovasculares, lo que se relaciona con la

cafeína que contienen, y probablemente con otros de sus componentes. Con lo que respecta a la cafeína, el hombre la consume desde hace siglos, a través de alimentos y bebidas en todos los continentes. Así lo prueban los olmecas, antecesores de mayas y aztecas, que ya en el año 1500 A.C utilizaban el cacao (***Theobroma cacao***) para elaborar distintos alimentos, el chocolate como bebida y un preparado sólido para llevar en largas travesías como fuente de energía. Entre los guaraníes el uso de la yerba mate (***IlexParaguariensis***) también es de larga data, fueron ellos los que desarrollaron la tecnología de secado y maduración, para las infusiones que se hacen hoy en día como bebidas tradicionales. En las selvas tropicales de Brasil los nativos consumían el guaraná (***Paullinia cupana***), una de las plantas con mayor contenido de cafeína en la naturaleza. El café (***Coffea arábica***) y el té (***Camelliasinensis***) también fuentes de cafeína, se consumen desde la antigüedad. Justamente, la palabra cafeína deriva de la palabra café, de donde fue aislada por un químico alemán a mediados del año 1800. Su estructura fue descubierta en 1895 por el alemán Hermann Emil Fisher<sup>(3)</sup>.

### **2.2.2 Descripción de las bebidas energizantes:**

Las Bebidas Energizantes son bebidas no alcohólicas, generalmente gasificadas, compuestas básicamente por cafeína y carbohidratos, más otros ingredientes, como aminoácidos,

vitaminas, minerales, extractos vegetales, acompañados de aditivos acidulantes, conservantes, saborizantes y colorantes.

En un principio fueron creadas para proporcionar un beneficio específico, el de brindar al consumidor una bebida que le ofrezca vitalidad cuando, por propia decisión o necesidad, debe actuar ante esfuerzos extras, físicos o mentales.

El concepto de energía es más amplio que el que se desprende sólo del valor calórico aportado por los hidratos de carbono. La energía está dada por las calorías aportadas, más la vitalidad que proporcionan al organismo sus otros componentes a través de acciones diversas, sobre todo en situaciones de desgaste físico y/o mental, incrementan la resistencia física, proveen reacciones más veloces a quien las consume, logrando un nivel de concentración mayor, evitan el sueño, proporcionan sensación de bienestar, estimulan el metabolismo. <sup>(6)</sup>

El consumo de estas bebidas está recomendado para días y noches largas, de arduo trabajo, estudio o necesidad de atención extrema; asimismo para ocasiones donde la reserva de energía flaquea y durante la práctica de deportes que consumen demasiada energía. Pero existe un gran problema en la medida en que se consuman muy a menudo, ya que pueden llevar a estados de estimulación excesiva. Eliminan el sueño, disminuyen el apetito

y producen excitación. Cuando se mezclan con alcohol, estos efectos pueden afectar el comportamiento e incluso, en grandes cantidades, el estado de conciencia, esto sin contar que en personas susceptibles puede producir deficiencia en la frecuencia cardiaca, depresión y llegar a casos de arritmias, con consecuencias clínicas severas, más aún, si los consumidores son menores de edad. Las Bebidas Energizantes no son para todo el mundo, y el hecho que sean productos de venta libre no quiere decir que no se tenga precauciones al consumirlas.

### **2.2.3 Composición de las bebidas energizantes:**

Las bebidas energizantes están constituidas principalmente de estimulantes nerviosos, como la cafeína, ginseng, aminoácidos (generalmente la taurina), así como de otros componentes como, el guaraná, glucuronolactona, carbohidratos y tiamina (vitamina).

Algunas bebidas también contienen minerales como magnesio y potasio (aunque en cantidades reducidas), aditivos acidulantes (ácido cítrico y citratos de sodio), conservantes (el más común es el benzoato de sodio), saborizantes (el más utilizado es el cítrico) y colorantes (el color consonancia es levemente amarillo verdoso, tonalidad alcanzada con riboflavina o extracto de cártamo). Estas bebidas no contienen materias grasas.

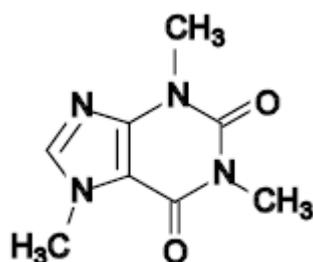
**TABLA N° 1: COMPONENTES PRINCIPALES EN LAS BEBIDAS ENERGIZANTES**

<b>Componentes Principales</b>	<b>Concentración por lata (250.0 mL)</b>
<b>Taurina</b>	1000.0 mg
<b>Glucuronolactona</b>	600.0 mg
<b>Guaraná</b>	1500.0 mg
<b>Ginseng</b>	200.0 – 250.0 mg
<b>Carbohidratos</b>	2500.0 – 3000.0 mg
<b>Vitaminas</b>	22.0 – 27.0 mg

**FUENTE:** Baltrons (2010)

## 2.2.4 Descripción de la Cafeína<sup>(6,16,17)</sup>

### GRAFICO Nº 1: ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA CAFEÍNA.



**FUENTE:** Elaboración Propia

- Nombre común: Cafeína
- Fórmula química:  $C_8H_{10}N_4O_2$
- Sinónimos: 1,3,7-trimetilxantina 3,7-dihidro-1,3,7-trimetil-1H-purina-2,6-diona
- P.M.: 194.19 g/mol
- Apariencia: Sin olor, en forma de agujas blancas o polvos.
- Punto de Fusión: 237 °C
- Punto de Ebullición: 178 °C
- Densidad : 1.230 g/cm<sup>3</sup>
- Solubilidad: Ligeramente soluble en Agua.
- Acidez (pKa): 10.4 (40 °C)

La cafeína es un compuesto alcaloide, del grupo de las xantinas (de la familia metilxantinas), que también incluye otros compuestos similares, como son la teofilina y la teobromina, y actúa como estimulante en los humanos.

La cafeína es el mismo compuesto químico que la “guaranina” (llamada así por el guaraná), la “mateína” (por el mate) y la “teína” (por el té). Originalmente se pensaba que estas sustancias tenían diferencias químicas, pero después se descubrió que son idénticas.

En estado puro es un polvo blanco muy amargo. Fue descubierta en 1819 por Ruge y descrita en 1821 por Pelletier y Robiquet. <sup>(18)</sup>

La cafeína se encuentra principalmente en los frutos de la planta de café (***Coffea arábica***), en la planta de té (***Camelliasinensis***), en la yerba mate (***IlexParaguariensis***), y en las bayas de guaraná (***Paullinia cupana***). En pequeñas cantidades se puede encontrar en el cacao (***Theobroma cacao***). En general, la cafeína se encuentra en las semillas, hojas y frutos de más de 60 plantas, en las que actúa como un pesticida natural que paraliza y mata ciertas clases de insectos cuando se alimentan de éstas.

Dentro de las bebidas que contienen cafeína están: el café, té, productos derivados del chocolate, refrescos de cola y bebidas energizantes que tienen una gran popularidad. Estos productos con excepción del chocolate (cacao y sus derivados), no tienen valor alimenticio y se consumen sólo por las propiedades de ser bebidas estimulantes y en algunos casos refrescantes. La cafeína es un estimulante del sistema nervioso central, el

cual es capaz de eliminar la somnolencia y restaurar el nivel de alerta. Esto se lleva a cabo con la estimulación del cerebro, al disminuir la acción de la adenosina, un transmisor nervioso que produce calma. <sup>(6)</sup>

Se genera entonces una sensación de vitalidad, de fuerza durante algunas horas. Este estado de alerta hace que se aumente la concentración y la resistencia a los mayores esfuerzos físicos y mentales. La cafeína es la sustancia psicoactiva más ampliamente consumida en el mundo, y es el ingrediente número uno de medicinas que se compran sin receta médica, tales como medicamentos contra el dolor de cabeza, resfriados, alergias y otros que ayudan a mantenerse despierto.

Los efectos fisiológicos de la cafeína pueden observarse en los adultos, en dosis de solamente 100 a 200 mg. Esta dosis se alcanza fácilmente con el consumo de 1 a 3 tazas de café (equivalente a 1 lata de bebida energizante). El cuerpo absorbe inmediatamente la cafeína y su nivel en la sangre asciende aproximadamente en 30 minutos después de su ingestión y el promedio de su eliminación fuera de la corriente sanguínea varía, desde varias horas, en el caso de un adulto, y hasta varios días en un recién nacido. Este nivel de evacuación disminuye en el embarazo y en relación con el uso de anticonceptivos orales. Por otra parte, pareciera que el fumar incrementa la velocidad en que la cafeína es eliminada del cuerpo. Por lo tanto el consumo de cafeína debe reducirse significativamente o eliminarse por parte de las personas que tratan de

dejar de fumar, para prevenir el incremento de niveles de cafeína en la sangre y el posible incremento de la ansiedad por tener nicotina.

### **2.2.5 Efectos de la Cafeína en el Organismo Humano** <sup>(6, 16,17)</sup>

Por el ritmo acelerado de la vida moderna, los seres humanos han buscado alternativas para sentirse activos por más horas al día, por lo que en los últimos años se aprecia un serio incremento del consumo de estimulantes en general, siendo la cafeína contenida en las bebidas energizantes uno de ellos.

La cafeína en sí produce diversos efectos en el organismo, incluyendo:

- Elevado nivel de azúcar en la sangre (produce una sensación de surgimiento de energía).
  
- Elevado nivel de lípidos en la sangre.
  
- Incremento de presión arterial.
  
- Estimulación del sistema nervioso central (puede hacer que anule la llamada de atención del cuerpo que pide descanso).
  
- Irregularidad en latidos del corazón.

- Aumento de pérdida de calcio y magnesio por vía urinaria (lo que puede afectar la salud a largo plazo de los huesos, ocasionando posiblemente la enfermedad de osteoporosis).
- Incremento de secreción ácida estomacal (agrava una úlcera estomacal).
- Causa temblores, irritabilidad y nerviosismo.
- Insomnio e interrupción de los patrones del sueño.
- Ansiedad y depresión.
- Intensificación de los síntomas del síndrome de pre menstruación (PMS).

Si se suministra una dosis de 1 a 3 tazas de café a personas que no consumen cafeína, el resultado es un incremento substancial de su presión arterial, mientras que los consumidores crónicos muestran muy poco de ese efecto. Por lo que se recomienda la reducción o eliminación del uso de cafeína en caso de palpitaciones del corazón o ritmo irregular del pulso, siendo la cafeína la causante de iniciar una arritmia cardiaca. Se asocia a la cafeína con niveles elevados de colesterol y triglicéridos en la sangre. <sup>(9)</sup>

Según Goodman, la cafeína tiene varias acciones farmacológicas, de interés terapéutico: Estimula el Sistema Nervioso Central (SNC), siempre que la dosificación no sea excesiva, no produce depresión secundaria, obra en el riñón produciendo diuresis, estimulan el miocardio y relajan la musculatura lisa principalmente la bronquial.  
(18)

Debido a que la cafeína excita el S.N.C. en su totalidad, la corteza cerebral es primeramente afectada, después el bulbo raquídeo; en cambio para la estimulación de la médula requiere dosis muy grandes. Al estimular toda la corteza cerebral, su principal acción consiste en producir un flujo más rápido y claro de pensamientos y disminuir la somnolencia y la fatiga. (17)

La estimulación de los centros respiratorios, vaso motor y vagal del bulbo, es de utilidad terapéutica cuando hay depresión bulbar por morfina y otros fármacos.

Al administrarse en grandes dosis la cafeína estimulan la médula espinal, excitando directamente los centros motores inferiores, aumentando la excitabilidad refleja. La cafeína, así como otras metilxantinas, tiene cierta acción estimulante sobre el miocardio y pueden causar aumento del gasto cardíaco. El incremento del riego coronario, probablemente sea consecuencia de mayor trabajo del miocardio, observándose que la presión arterial general, no se modifica con dosis ordinarias de cafeína, aunque esta sustancia

dilata directamente algunos vasos sanguíneos exceptuando los vasos cerebrales que son constreñidos. <sup>(6,16)</sup>

El efecto diurético de la cafeína se presenta principalmente como resultado de la reducción en la reabsorción tubular, por lo cual está completamente contraindicada en personas que padecen de insuficiencia renal.

Las secreciones gástricas son estimuladas cuando se ingieren dosis muy altas de cafeína. Por lo que la costumbre de ingerir sin medida bebidas energizantes, pueden desempeñar un papel de importancia en la patogenia de úlceras pépticas, y debe tomarse en cuenta en el tratamiento de pacientes ulcerosos. <sup>(6)</sup>

Sin duda la popularidad de las bebidas energizantes, se basa en su acción estimulante causada en su mayoría por la cafeína. A pesar de que la mayor parte de personas no perciben ninguna estimulación por su ingestión habitual, suelen volverse tensas, nerviosas, inquietas e hiperexcitables.

Los niños y adolescentes son más susceptibles que los adultos, a la excitación producidas por estas bebidas, por lo que deben evitarlas.

## 2.2.6 Descripción de los componentes principales en las Bebidas Energizantes.

Con excepción de la cafeína (ver ítem 2.2.4), a continuación se describe de forma general los principales componentes de las bebidas energizantes:

- **Taurina:**

Su fórmula química se escribe  $C_2H_7NO_3S$ , y su nombre según la estequiometría es ácido aminoetilsulfónico. Es un aminoácido cristizable diferente de los otros aminoácidos, ya que contiene un grupo ácido sulfónico, en lugar de un grupo ácido carboxílico.

Se encuentra en la bilis y se origina en la hidrólisis del ácido taurocólico; se encuentra también en los tejidos en pequeñas cantidades, siendo incolora y soluble en agua. <sup>(10)</sup>

Generalmente se le clasifica como un aminoácido condicionante en adultos, basado en la evidencia que indica que frente a un estrés severo, tal como ejercicio físico riguroso, disminuye su reserva física. Se encuentra en los tejidos de muchas especies de animales en estado libre, pero no está formando la estructura de las proteínas. La taurina está involucrada en varios procesos fisiológicos, como ser síntesis de ácidos biliares, osmorregulación, desintoxicación de xenobióticos, estabilización de membranas

celulares, modulación del flujo celular del calcio y modulación de la excitabilidad neuronal <sup>(10)</sup>.

En un adulto de 70 Kg. se encuentran 70 g. de taurina en sus tejidos. Se la ingiere en las carnes rojas y en el pescado. Es considerada esencial para el desarrollo de infantes y, en consecuencia, se adiciona en las fórmulas preparadas para esa edad. Es un ingrediente beneficioso para eliminación de sustancias perjudiciales, ocasionadas por situaciones de estrés.

En el momento de la tensión física extrema, el cuerpo de la persona no produce la cantidad necesaria de este elemento, por lo que, según los fabricantes de bebidas, el rendimiento es deficiente. La taurina funciona como un transmisor metabólico y un desintoxicante, además de acelerar la contractibilidad cardiaca.

La taurina se sintetiza en el cerebro y en el hígado y la concentración en el cerebro es extraordinariamente alta durante las primeras etapas del desarrollo, bajando luego considerablemente.

(11)

Se ha encontrado altas concentraciones de taurina en la leche materna, lo que sustenta aún más su importancia. <sup>(11)</sup>

- **Glucuronolactona:**

Es una sustancia también originaria del cuerpo humano, que tiene una función esencialmente desintoxicante. Su fórmula molecular es  $C_6H_8O_6$ , y son cristales incoloros fácilmente solubles en agua. La glucuronolactona es un carbohidrato derivado de la glucosa, es un intermediario en el metabolismo del hombre. Está involucrada en varios caminos metabólicos en los mamíferos y se encuentra localizado en el hígado. En los humanos, la glucuronolactona es un intermediario en tres caminos metabólicos. El ácido glucurónico, el precursor metabólico inmediato de la glucuronolactona, es esencial para la desintoxicación y el metabolismo, mediante conjugación en el hígado, de una amplia variedad de sustancias que finalmente se eliminan por la orina. <sup>(12)</sup>

La ingesta de D-glucuronolactona, aparte de ser metabolizada y eliminada como ácido glucárido, L-xilulosa y xilitol, también puede ser convertida a ácido D-glucurónico y así ayudar al proceso de glucuronización.

La glucuronolactona se encuentra muy difundida en el reino animal y vegetal. Es un importante constituyente estructural de la mayoría de los tejidos fibrosos y conectivos en los organismos animales. La composición en alimentos no está suficientemente documentada. Se han reportado concentraciones de 20 mg/L en algunos vinos, y aproximadamente de 600 mg. por lata en bebidas energizantes (contenido de bebida en lata, de 240 -250 mL). <sup>(12,13)</sup>

- **Guaraná:**

Es un arbusto originario de la Amazonia, encontrado en Brasil, Colombia y Venezuela. Su nombre científico es *Paullinia cupana* y pertenece a la familia Sapindaceae. Su fruta posee una sustancia idéntica a la cafeína (guaranina), otros estimulantes y vitaminas A, B y E. Los indígenas han utilizado sus frutos (de color rojo encendido), durante siglos, por sus propiedades refrescantes y estimulantes. <sup>(14)</sup>

Para la elaboración de las bebidas energizantes, se aprovechan las semillas de guaraná, que están desprovistas de tegumento y habitualmente son tostadas y pulverizadas. Es un estimulante del sistema nervioso central por su contenido de guaranina. Esta sustancia se une a los receptores cerebrales adenosínicos, aumentando el estado de vigilia, y tiene un efecto ergogénico (aumenta la capacidad de realizar esfuerzo físico).

Produce estimulación cardíaca (efecto inótrupo positivo), vasodilatación periférica y vasoconstricción craneal, por lo que se ha sugerido su empleo como antimigrañoso. Estimula el crecimiento muscular y el centro de la respiración. Además aumenta la secreción ácida gástrica y la diuresis. El extracto acuoso de guaraná ha demostrado asimismo diferentes propiedades farmacológicas: mejora de estado físico, mejora de memoria (frente a la amnesia provocada por escopolamina),

aumento de la actividad hipoglucemiante (hiperglucemia inducida por epinefrina), acción antioxidante (en diferentes modelos) y antiagregante plaquetario (inhibición de la síntesis plaquetaria de tromboxano in vitro).<sup>(7,9)</sup>

Los efectos adversos de la guaranina son, en general, leves y transitorios, aunque frecuentes. Puede producir insomnio y nerviosismo, si bien las diferencias en las reacciones individuales pueden ser notables. El uso prolongado puede producir adicción en algunos casos.

- **Ginseng:**

Es una planta pequeña, herbácea de la familia de las Araliaceae, la raíz de la cual se utiliza tradicionalmente en la medicina china. Como Ginseng se denomina a numerosas especies de plantas del género ***Panax*** a otras que no lo son pero tienen propiedades muy parecidas.

Pero la que se conoce normalmente por la medicina china como Ginseng, es la especie ***Panax ginseng***. Es un extracto vegetal que se usa en menor escala en las bebidas energizantes (también se usa el ***Panaxquinquefolium***), en cuyo caso las sustancias presentes son diferentes a la cafeína, corresponden al grupo de las saponinas. Contiene cerca de 30 ginsenósidos, conocidos por el nombre científico de saponinas triterpélicas o panoxósidos. Estos

ginsenósidos tienen una fuerte acción, que ayuda al cuerpo a adaptarse y recobrase de efectos provenientes del estrés, enfermedades y fatigas. El ginseng también contiene algunos compuestos esteroideos, incluyendo el panaxtriol, similar al del cuerpo humano. <sup>(15)</sup>

Es una de las hierbas más estudiadas para el rendimiento deportivo y tiene varias especies. Se utiliza en países del Asia como costumbre dietaria y médica principalmente en China y Corea. La utilización tradicional es para restaurar la energía de la vida. En animales ésta produce estimulación del sistema nervioso central o también lo puede deprimir.

No existe evidencia científica que demuestre que el ginseng incrementa la tolerancia al ejercicio y el rendimiento atlético. Sin embargo, puede mejorar la sensación general de bienestar. Algunos estudios sugieren que puede incrementar la presión arterial (se ha relacionado con hipertensión) y los niveles de estrógenos en las mujeres (por ello no se recomienda en pacientes con cáncer de seno). Es importante evitar mezclarla con medicamentos como aspirina y con efectos anticoagulantes (dipiridamol, warfarina), porque esta hierba podría incrementar este efecto y causar sangrado espontáneo. Igualmente debe evitarse en personas que toman medicamentos tipo digitálicos. <sup>(6)</sup>

El ***Panax Ginseng*** actúa en el sistema nervioso central, aumentando la actividad psíquica, la capacidad de concentración y disminuyendo la sensación de fatiga. Protege al organismo ante las agresiones externas y sustancias tóxicas. Tiene un efecto antagonista de los depresores del sistema nervioso central como el alcohol, barbitúricos y opiáceos. <sup>(13)</sup>

- **Carbohidratos:**

La mayoría de las bebidas energizantes contienen cerca de 2.0 a 3.0 gramos de carbohidratos, incluso alguna de ellas hasta 7.0 gramos (en 250.0 mL). Dentro de los carbohidratos que más se utilizan en estas bebidas están: sacarosa, glucosa, fructosa, glucuronolactona y maltodextrinas, en forma individual o combinados.

Los carbohidratos desempeñan diversas funciones, siendo la de reserva energética y formación de estructuras las dos más importantes. Las bebidas energizantes son llamadas de tal forma debido a que contienen una cantidad importante de carbohidratos, nutriente energético de primer orden, el mismo que cuando es consumido luego de una actividad extenuante o prolongada puede llegar a reponer los carbohidratos utilizados y la persona puede sentirse menos fatigada.

Al tomar en cuenta su alto contenido de carbohidratos se recomienda no ingerirlas antes o durante el ejercicio (sino más bien

después de este), debido a que retardan el vaciado del estómago y la posterior absorción intestinal. <sup>(6, 7,9)</sup>

- **Vitaminas:**

Dentro de las vitaminas se encuentran todas las vitaminas del complejo B, especialmente B1, B2, B6 y B12. Así como vitaminas C y E. Sin embargo, múltiples investigaciones han comprobado que la adición de éstas no ofrece ningún beneficio extra siempre y cuando la persona mantenga una recomendación nutricional óptima según su edad, género y demandas físicas. Varios estudios reportan que los atletas que consumen una dieta alta en calorías, que contienen el aporte nutricional recomendado (ANR) de los nutrientes tienen poca deficiencia de vitaminas o de minerales. <sup>(6, 7,9)</sup>

- **Tiamina:**

Uno de los nombres dados a la vitamina B1; se encuentra en la carne del cerdo, en el hígado y la carne de res. En los vegetales se encuentra en la levadura, el salvado de arroz, el maní, la cebada y el frijol. Participa en el metabolismo de los hidratos de carbono; favorece la absorción de oxígeno en el cerebro e impide la acumulación de los ácidos lácticos y pirúvico. <sup>(6,7)</sup>

- **Carnitina:**

Es un componente que forma parte de algunas bebidas energizantes, y actúa en el metabolismo de las grasas. Es necesario para la oxidación de las grasas a nivel de la mitocondria de las células. Existe la hipótesis que podrían incrementar el rendimiento deportivo por mecanismos tales como incremento de la oxidación de ácidos grasos, alterando la homeostasis de la glucosa, aumentando la producción de acilcarnitina, modificando la respuesta al entrenamiento y mejorando la resistencia de la fatiga muscular. Sin embargo, los estudios disponibles hasta ahora no permiten dar conclusiones, pero sugieren que un complemento no incrementa la máxima captación de oxígeno ( $VO_2max$ ) durante el ejercicio o el reposo, ni el rendimiento deportivo.

Igualmente, varios estudios controlados han evidenciado que no ayuda a perder peso o reducir grasa corporal por incrementar la oxidación de grasa y reducir la degradación de glicógeno durante ejercicio prolongado de ciclismo o atletismo. Ayuda a incrementar el  $VO_2max$  y reducir la acumulación de lactato durante el ejercicio máximo o submáximo sin mejorar el rendimiento deportivo. Luego de su ingesta, se puede observar incremento a nivel plasmático pero no a nivel muscular. Normalmente las personas sanas producen suficiente carnitina para mantener las funciones del organismo. Cerca del 98 % de la carnitina está presente en el músculo esquelético y el corazón. <sup>(6, 7,9)</sup>

- **Inositol:**

Este es otro componente que forma parte de algunas de las bebidas energizantes. El inositol se puede producir en el cuerpo a partir de la glucosa, por ello no es realmente esencial. El inositol como fosfatidil inositol tiene su función primaria en la estructura e integridad de la membrana celular y al igual que la colina puede ayudar en la nutrición celular del cerebro. Es especialmente importante en las células de la médula ósea, tejidos del ojo e intestinos. Se ha utilizado en el tratamiento y prevención de la aterosclerosis por ayudar a disminuir el colesterol pero no hay una buena evidencia para ello. <sup>(9)</sup>

### **2.2.7 Importancia de la Determinación de Cafeína en Bebidas Energizantes.** <sup>(12, 13,23)</sup>

Siendo la cafeína la xantina de mayor actividad farmacológica, en el Sistema Nervioso Central, es importante seleccionar un método que ofrezca ventajas en su determinación.

En este trabajo de investigación, se pretende cuantificar la cafeína que es uno de los constituyentes de las bebidas energizantes, y comparar este contenido total en las muestras seleccionadas con las cantidades permitidas en la norma establecida.

La cafeína se puede cuantificar por diversos métodos, desde procedimientos clásicos hasta métodos más modernos:

- Extracción con Cloroformo. Este es un procedimiento clásico, que por lo general se basa en una extracción seguida de la determinación de nitrógeno por Kjeldahl.
- Espectrofotométrico Ultravioleta. Es el método analítico más antiguamente empleado, que proporciona un medio cómodo para el análisis de la mayoría de compuestos orgánicos y algunos inorgánicos; las mediciones son altamente precisas, sensibles y no destructivas. La absorción UV no es altamente específica para mezclas complejas, en este caso la muestra a analizar deberá tener un tratamiento previo para aislar la cafeína, que es el componente a determinar.
- Método Cromatográficos: Cromatografía de gases y Cromatografía Líquida de alta presión (HPLC). Siendo este último uno de los métodos más modernos para la separación cromatográfica de diversas sustancias, y ha sido utilizado para la determinación de cafeína en distintos productos e infusiones o bebidas de consumo habitual.

### **2.2.8 Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC**

La Cromatografía es un proceso de separación que se logra mediante la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases, una fase estacionaria y una fase móvil los procesos cromatográficos tiene lugar como resultado de repetidas adsorciones y desorciones, estas ocurren durante el movimiento de los componentes de la muestra a lo largo del lecho estacionario, alcanzándose la separación, gracias a las diferencias en los coeficientes de distribución de los distintos componentes en la muestra.

La cromatografía de líquidos es importante porque la mayoría de los compuestos no son suficientemente volátiles para que se les pueda aplicar la cromatografía de gases. La cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC) utiliza una presión elevada para forzar al disolvente a que pase por una columna que contiene partículas muy finas, consiguiendo así separación de gran resolución. El equipo de HPLC consta de un sistema de suministro de disolvente, una válvula de inyección de muestra, una columna de alta presión, un detector y un ordenador para controlar el equipo y visualizar los resultados. Actualmente muchos equipos incluyen además un horno para controlar la temperatura de la columna.<sup>22</sup>

### 2.2.9 El Proceso Cromatográfico

La difusión en líquidos es 100 veces más lenta que en gases por tanto, en cromatografía de líquidos, por lo general no es factible usar columnas tubulares abiertas, porque el diámetro de la vena líquida del disolvente es demasiado grande para que los atraviese una molécula de soluto en poco tiempo. La cromatografía se hace con columnas empaquetadas.

### 2.2.10 Características más Importantes

**Aplicaciones principales:** Técnica de separación para los materiales menos volátiles e iónicos; análisis cuantitativo de multicomponentes.

**Fenómeno molecular:** Reparto entre una solución líquida y un substrato  
**Ventajas en el análisis cualitativo:** Separa materiales para su examen por medio de otras técnicas.

### 2.2.11 Ventajas en el análisis cuantitativo

Aplicación amplia a los materiales menos volátiles, análisis de multicomponentes.

**Muestra promedio deseable:** 10 mg

**Limitaciones del método:** Se tarda en desarrollar el método

**Limitaciones para la muestra:** Ninguna

### **2.2.12 Recipientes para la Fase Móvil y Sistemas para el Tratamiento de los Disolventes**

Un aparato moderno de HPLC se equipa con uno o más recipientes de vidrio, cada uno de los cuales contiene unos 500 mL de un disolvente. Los recipientes a menudo se equipan con un sistema para eliminar los gases disueltos en general oxígeno y nitrógeno que interfieren formando burbujas en los sistemas de detección. Un desgasificador puede consistir en un sistema de bombeo por vacío, un Sistema de destilación, dispositivos para calentar y agitar los disolventes, sistemas de difusión que permiten arrastrar los gases disueltos fuera de la solución mediante finas burbujas de un gas inerte de baja solubilidad. Con frecuencia estos sistemas también contienen un dispositivo para la filtración del polvo y de las partículas sólidas en suspensión de los disolventes. No es necesario que los desgasificadores y los filtros sean partes integrantes de los sistemas de HPLC. Por ejemplo, una forma conveniente de tratar los disolventes antes de introducirlos en el recipiente, consiste en filtrarlos mediante el vacío a través de un

filtro de poro muy pequeño. Este tratamiento elimina los gases además de la materia en suspensión.

Una separación que utiliza un solo disolvente de composición constante se denomina una elución isocrática. Con frecuencia, la eficiencia de la separación se aumenta notablemente por una elución con gradiente. En este caso se utilizan dos a veces más disolventes con una polaridad significativamente distinta. Una vez comienza la elución, se varía la relación de los disolventes de forma programada, a veces continuamente y a veces mediante una serie de etapas escalonadas. Los instrumentos modernos de HPLC a menudo están equipados con unos dispositivos que permiten introducir los disolventes desde dos o más recipientes en una cámara de mezcla a una velocidad que varía continuamente y la relación de volumen de los disolventes se puede modificar lineal o exponencialmente con el tiempo<sup>(19)</sup>.

### **2.2.13 Sistemas de Bombeo**

Los requisitos para un sistema de bombeo en HPLC son rigurosos e incluyen: la generación de presiones por encima de 400 kg/cm<sup>2</sup>, un flujo libre de pulsaciones, un intervalo de caudales de 0.1 a 10 mL/min, el control y reproducibilidad del caudal mejor del 0,5% relativo y componentes resistentes a la corrosión (juntas de acero inoxidable o teflón). Debe subrayarse que las altas presiones que generan las bombas de HPLC no constituyen un riesgo de explosión, debido a que los líquidos no son muy compresibles. De este modo, la rotura de un componente del sistema sólo supone una pérdida de disolvente. Es evidente que esta pérdida puede suponer un riesgo de incendio.

### **2.2.14 Tipos de Bombas**

Se utilizan tres tipos de bombas, cada una con sus propias ventajas y desventajas: bombas recíprocas, bombas de jeringa o de desplazamiento y bombas neumáticas o de presión constante. Las bombas recíprocas, que se utilizan en aproximadamente el 90% de los sistemas de HPLC comercializados, consisten, por lo general, en una pequeña cámara en la que el disolvente es impelido por el movimiento de vaivén de un pistón accionado por un motor. Dos válvulas con cierre de bola, que se abren y cierran alternativamente, controlan el flujo del disolvente hacia dentro y

hacia afuera de un cilindro. Las bombas recíprocas tienen la desventaja de que producen un flujo con pulsaciones, las cuales se han de amortiguar dado que su presencia se manifiesta como ruido en la línea base en el Cromatograma. Entre las ventajas de las bombas recíprocas se pueden citar su pequeño volumen interno (35 a 400 mL), sus altas presiones de salida (por encima de los 500 kg/cm<sup>2</sup>), su fácil adaptación a la elución con gradiente, y sus caudales constantes, que son prácticamente independientes de la contrapresión de la columna y de la viscosidad del disolvente.

#### **2.2.15 Amortiguadores de Pulsos**

Muchos de los detectores utilizados en HPLC son sensibles a variaciones de flujo. Un método sencillo de amortiguación contiene un fuelle flexible o un gas compresible en la porción superior cerrada de un tubo en T para absorber parte de la energía de pulsación. Cuando la bomba se rellena esta energía se libera para ayudar a suavizar la pulsación de presión. Los amortiguadores electrónicos de pulsos proporcionan una carrera hacia delante corta y rápida del pistón, y enseguida la carrera rápida de recarga de la bomba. El pequeño impulso hacia delante amortigua el pulso de flujo llevando disolvente a la presión del sistema.

### **2.2.16 Control del Caudal y Sistemas de Programación**

Como una parte de sus sistemas de bombeo, muchos instrumentos comerciales se equipan con dispositivos controlados por ordenador que permiten medir el caudal mediante la determinación de la caída de presión a través de un restrictor colocado en la salida de la bomba. Cualquier diferencia entre la señal y un valor preestablecido se utiliza para aumentar o disminuir la velocidad del motor de la bomba.

Por otro lado, la mayor parte de los instrumentos pueden variar la composición del disolvente bien sea de una forma continua o bien de forma escalonada.

### **2.2.17 Sistemas de Inyección de Muestra**

A menudo, el factor limitante en la precisión de las medidas en cromatografía de líquidos es la reproducibilidad con que se puede introducir la muestra en la columna. El problema se agrava por el ensanchamiento de banda que acompaña a la sobrecarga de las columnas. Por ello, los volúmenes que se emplean han de ser muy pequeños, de unas pocas décimas de microlitro a tal vez 500  $\mu\text{L}$ . Además, se ha de poder introducir la muestra sin despresurizar el sistema.

En cromatografía de líquidos el método más ampliamente utilizado para la introducción de la muestra utiliza bucles de muestra. Estos

dispositivos están normalmente integrados en el equipo cromatográfico y hay bucles intercambiables que permiten la elección de tamaños de muestra desde 5 a 500  $\mu\text{L}$ . Con bucles de este tipo se puede introducir la muestra a presiones de hasta 500  $\text{kg}/\text{cm}^2$  con una precisión relativa de unas décimas por ciento. También existen válvulas de inyección de micromuestras, con bucles con volúmenes de 0,5 a 5  $\mu\text{L}$ .

### **2.2.18 Columnas para Cromatografía de Líquidos**

Las columnas para cromatografía de líquidos se construyen de ordinario con tubo de acero inoxidable de diámetro interno uniforme. Cientos de columnas empaquetadas que difieren en tamaño y relleno se comercializan por distintos fabricantes.

### **2.2.19 Columnas Analíticas**

La mayoría de las columnas para cromatografía de líquidos tienen una longitud entre 5 y 30 cm. Por lo común, las columnas son rectas y se pueden alargar, si es necesario, acoplando dos o más columnas.

El diámetro interno de las columnas es a menudo de 4 a 10 mm y los tamaños de las partículas de los rellenos más comunes son 3, 5 y 10  $\mu\text{m}$ .

Tal vez la columna más frecuente utilizada es la de 25 cm de longitud y 4.6 mm de diámetro interno, y empaquetada con partículas de 5  $\mu\text{m}$ . Estas columnas tienen de 40 000 a 60 000 platos/metro.

También, se han empezado a fabricar columnas de alta resolución más rápidas, las cuales tienen menores dimensiones que las anteriormente descritas. Estas columnas pueden tener diámetros internos que oscilan entre 1 y 4.6 mm y se rellenan con partículas de 3 o 5  $\mu\text{m}$ .

A menudo su longitud es de 3 a 7.5 cm. Estas columnas tienen hasta 100 000 platos/metro y presentan la ventaja de la rapidez y del mínimo consumo de disolvente.

### **2.2.20 Tipos de Rellenos de la Columna**

En cromatografía de líquidos se han utilizado dos tipos básicos de rellenos, pelicular y de partícula porosa. El primero consiste en bolas de vidrio o de polímero, no porosas y esféricas con unos diámetros característicos de 30 a 40  $\mu\text{m}$ .

En la superficie de estas bolas se deposita una capa delgada y porosa de sílice, alúmina o de una resina de intercambio iónico. Para algunas aplicaciones se aplica un recubrimiento adicional,

constituido por una fase estacionaria líquida que se mantiene fija por adsorción. Las bolas también se pueden tratar químicamente para obtener una capa superficial orgánica. Por lo general, los rellenos pelliculares se utilizan ampliamente en las precolumnas y no en las columnas analíticas. Los típicos rellenos de partículas porosas de cromatografía de líquidos están formados por micropartículas porosas con diámetros entre 3 y 10  $\mu\text{m}$  y con la menor dispersión posible para un tamaño determinado. Las partículas son de sílice, alúmina o resinas de intercambio iónico, aunque la sílice es el material más común.

Las partículas de sílice se sintetizan aglomerando partículas de sílice de tamaños inferiores al micrón en unas condiciones tales que se forman partículas mayores con diámetros muy uniformes. Las partículas que resultan se recubren muchas veces con películas orgánicas, que se unen química o físicamente a la superficie.

### **2.2.21 Detectores**

A diferencia de la cromatografía de gases, en la cromatografía de líquidos no hay detectores tan aplicables universalmente ni tan fiables como los detectores de ionización de llama y de conductividad térmica. Uno de los mayores retos en el desarrollo de la cromatografía de líquidos ha sido el perfeccionamiento de los

detectores. Un detector ideal para cromatografía de líquidos debería poseer todas las propiedades listadas en relación con la cromatografía de gases, con la excepción de que un detector para cromatografía de líquidos no es necesario que sea sensible en un intervalo tan grande de temperaturas. Además, un detector de HPLC debe tener un volumen interno mínimo a fin de reducir el ensanchamiento de banda. Los detectores en cromatografía de líquidos son de dos tipos básicos. Los detectores basados en una propiedad de la disolución responden a una propiedad de la fase móvil, tal como el índice de refracción, la constante dieléctrica, o la densidad, que se modifica por la presencia de los analitos. Por contraste, los detectores basados en una propiedad del soluto responden a alguna de las propiedades del soluto, como la absorbancia UV, fluorescencia, o intensidad de difusión, que no son propias de la fase móvil. Un informe de 1982 sobre 365 trabajos publicados en los que tenía un papel importante la cromatografía de líquidos, reveló que el 71 % se utilizaban en la detección de la absorción UV, el 15% la fluorescencia, el 5,4% el índice de refracción, el 4,3% empleaba medidas electroquímicas y el 4,3% restante otras medidas.<sup>(18)</sup>

## **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

### **3.1 Tipo de Investigación:**

#### **3.1.1 Método**

- Método Inductivo

Porque se trabajó con una muestra de cafeína de tres marcas de bebidas energizantes, cuyos resultados se elaboraron las conclusiones de este trabajo de investigación.

#### **3.1.2 Técnica de Investigación**

- Cuantitativa - descriptiva

Se determinaron los niveles de cafeína en base a las norma INDECOPI (ex – ITINTEC) 214.001. BEBIDAS GASIFICADAS. En esta investigación se describen las acciones realizadas para su ejecución.

- Transversal

La determinación de cafeína en bebidas energizantes se obtuvo de muestras obtenidas en el distrito de Miraflores, Lima en el supermercado Vivanda y en la farmacia Mifarma en un lapso comprendido entre los meses de marzo, abril del año 2015.

### 3.1.3 Diseño

- No experimental

El trabajo de investigación se desarrolló con el uso de equipos e instrumentos, que nos permitieron avalar el desarrollo y la determinación de la cafeína en bebidas energizantes.

## 3.2 Población y Muestreo de la Investigación

### 3.2.1 Población

Bebidas energizantes comercializadas en Miraflores en el supermercado Vivanda ubicado en la cuadra 6 de la Av. Pardo y en la farmacia Mifarma ubicado en la cuadra 3 de la Av. Larco

### 3.2.2 Muestra

**TABLA N° 2 PROCEDENCIA Y TIPOS DE MUESTRAS**

<b>PROSENCIA</b>	<b>MUESTRA</b>
<b>TIENDA VIVANDA</b>	<b>BURN de 310 ML</b>
<b>MIFARMA</b>	<b>MONSTER ENERGY de 473 ML</b> <b>RED BULL de 250 ML</b>

**FUENTE:** Datos obtenidos del trabajo de investigación, 2015.

En la tabla se detalla la procedencia de las bebidas energizantes analizadas y la presentación y marcas de cada una de ellas.

### 3.3 Variables e Indicadores

#### 3.3.1 VARIABLE INDEPENDIENTE (X):

VARIABLE (X)	INDICADORES
Cuantificación de cafeína en bebidas energizantes mediante HPLC.	No exceder los 20mg/100ml

#### 3.3.2 VARIABLE DEPENDIENTE (Y):

VARIABLE (Y)	INDICADORES
Presencia de cafeína en bebidas energizantes	Presenta
	No Presenta

### **3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos**

#### **3.4.1 Técnicas**

Norma. INDECOPI (ex – ITINTEC) 214.001. Bebidas gasificadas.

La norma general del INDECOPI para las bebidas y refrescos en la industria especifica que el contenido máximo de cafeína en bebidas energizantes es de 20 mg/100ml.

Análisis en laboratorio: para examinar el la cafeína en bebidas energizantes

#### **3.4.2 Instrumentos**

##### **Procedimiento**

##### **Solución stock de cafeína**

El estándar utilizado, de cafeína anhidra lote; 1307128 con grado de pureza a 99,09%, el que fue preparado en solución acuosa, pesando 10 mg de cafeína diluidos en 50 ml de agua destilada, obteniéndose una concentración aproximada de 0.2016 mg/ml.

##### **Fase móvil**

La fase móvil binaria, 95 % de A y 5 % de B donde:

A = 5% v/v Ácido acético en agua

B = Acetonitrilo: Agua 75:25

Flujo de la fase móvil: 1,00 mL/min Señal A: 80 nm Referencia 600,100 nm; Temperatura de operación: 40° C logrando preparar el sistema para la siguiente inyección.

### **Instrumentación y condición cromatográfica.**

La separación cromatográfica fue realizada empleando una cromatografía líquida alta resolución (HPLC) modelo Surveyor marca Thermo Finnigan, columna cromatográfica PurospherStar RP 18 150 x 4.6 mm 5 um marca Merck y sistema de adquisición de datos a través del software Chromquest Versión 4.2.34.

El método se desarrolló a una longitud de onda de 198 nm, utilizando un flujo de 1.2 ml/min, temperatura del horno de 25°C, volumen de inyección de 10 µl y tiempo de corrida de 25 min.

### **Preparación de las muestras gaseosas**

Las tres muestras de bebidas energizantes empleadas fueron de las marcas: Red Bull, Monster Energy, Burn; comercializados en el distrito de Miraflores, se utilizaron 250 ml de cada bebida energizante que fueron desgasificadas en un agitador magnético durante cinco minutos y luego filtradas con un Filtro de 0,45 µm y membrana de PVDF, marca Whatman.

## CAPÍTULO IV: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

### 4.1 Resultados:

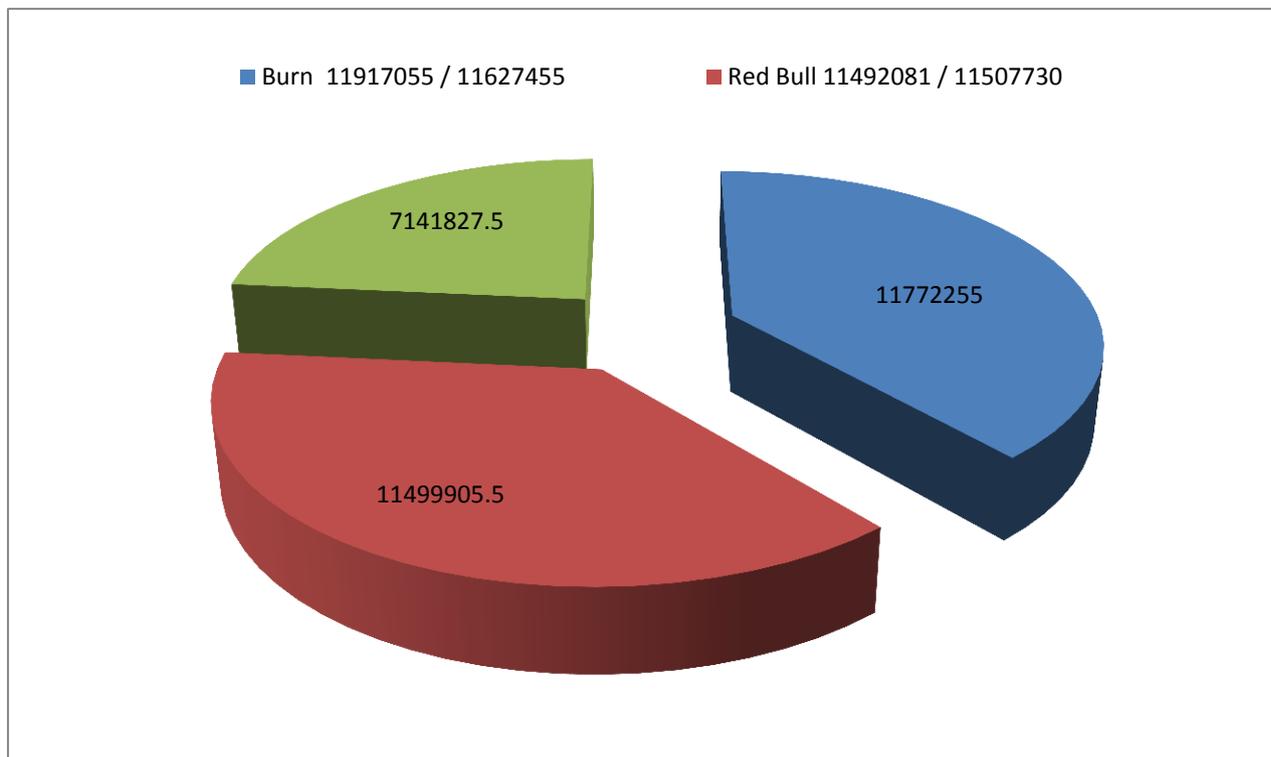
**TABLA N°3 CUANTIFICACIÓN DE CAFEÍNA EN BEBIDAS ENERGIZANTES**

Muestra Problema	Área	Promedio	Concentración mg/100ml
<b>Burn</b>	M1=11917055	11772255	33.21
	M2=11627455		
<b>Red Bull</b>	11492081	11499905.5	32.44
	11507730		
<b>Monster energy</b>	7185424	7141827.5	20.14
	7098231		

**FUENTE:** Elaboración Propia

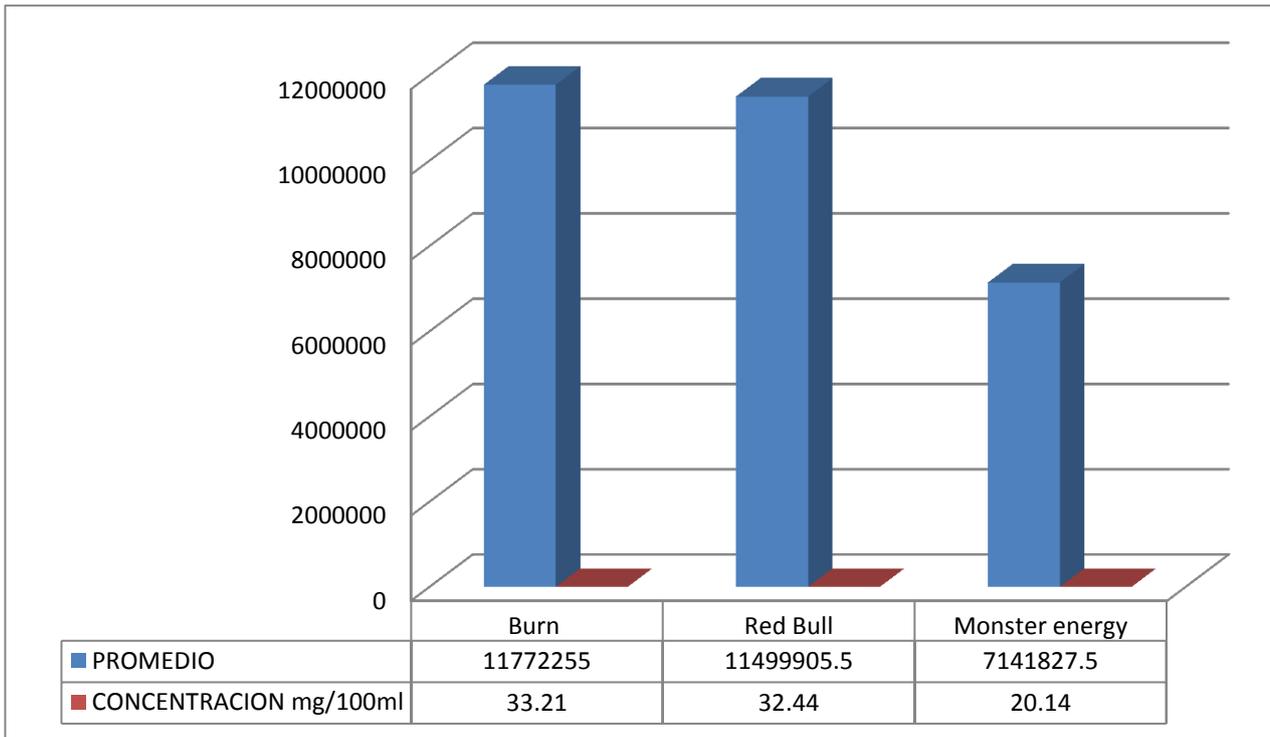
En la tabla podemos mencionar las marcas de las bebidas energizantes las áreas y promedios de áreas obtenidas así mismo sus concentraciones de cada una de las bebidas energizantes analizadas.

**GRÁFICO N°3: PROMEDIO DE CAFEINA DE MUESTRAS OBTENIDAS DE SUPERMERCADO VIVANDA Y BOTICA MIFARMA.**



**FUENTE:** Elaboración Propia

**GRÁFICO N°4: CONCENTRACIÓN DE CAFEINA DE MUESTRAS OBTENIDAS DE SUPERMERCADO VIVANDA Y BOTICA MIFARMA.**



**FUENTE:** Elaboración Propia

## 4.2 Resultados:

Al tabular los resultados de las concentraciones de cafeína obtenidos de las diferentes muestras de bebidas energizantes, y compararlos con la concentración permitida de esta sustancia (Norma. INDECOPI ex – ITINTEC 214.001. BEBIDAS GASIFICADAS), se observa que dos de las marcas sobrepasan el límite establecido por esta normativa.

Las marcas de bebidas energizantes que sobrepasan el límite establecido del contenido de cafeína son la marca BURN, con un 33,21 mg/100 mL y RED BULL 32,42 mg/100 mL.

#### **4.3.1 Discusión**

1 Se pudo constatar que el método de cromatografía líquida de alta resolución HPLC, en la investigación, es un instrumento que nos permitió identificar y cuantificar la cafeína en las muestras de bebidas energizantes provenientes del distrito de Miraflores.

2 Los resultados obtenidos de las muestras de bebidas energizantes muestreadas en distintos establecimientos del distrito de Miraflores, nos indica que la concentración de cafeína en bebidas energizantes al igual que en otras investigaciones realizadas en el extranjero (tesis Elisa Cristina Baltrons Villeda, Nilson Alberto Bernal Rajo. Universidad San Salvador; 2010), no cumplen con las normativas internacional.

## CONCLUSIONES

1. Se logró cuantificar e identificar la cafeína en bebidas energizantes gracias al método cromatográfico HPLC
2. Al analizar el contenido de cafeína en las diferentes marcas de bebidas energizantes comercializadas en el distrito de Miraflores, se determinó que solo la marca Monster Energy está al límite de la concentración máxima permitida de cafeína, es decir, que las otras dos marcas no cumplen con lo establecido por la norma internacional.
3. De las tres marcas analizadas, las que sobrepasan en mayor proporción el contenido de cafeína son las marcas RED BULL Y BURN, sin embargo, esta última presenta el mayor contenido de cafeína por lata (contenido neto de 473.0mL), ya que si bien sobrepasa en menor proporción el contenido de cafeína por cada 100.0 mL, el contenido total de cafeína por lata es mucho mayor en una sola dosis.

## RECOMENDACIONES

1. Que el ente gubernamental correspondiente se responsabilice de regular la venta desmedida de las bebidas energizantes, y de ser posible, que se limite el consumo de estas bebidas a personas mayores de edad (de 18 años en adelante), con el fin de disminuir los riesgos de salud en la población salvadoreña.
2. Que las instituciones competentes desarrollen programas orientados a la regulación del consumo de bebidas energizantes o estimulantes, dando a conocer los daños que ocasiona la cafeína contenida en estas bebidas.
3. Que las mujeres embarazadas, niños, personas en tratamiento psiquiátrico, con problemas cardíacos y de hipertensión arterial, se abstengan de consumir estas bebidas debido a alteraciones y desordenes que pueden llegar a desequilibrar la salud en el distrito de Miraflores.
4. Que el consumo de estas bebidas no debe asociarse con otros estimulantes, ya que estos potencializan el efecto de la cafeína, dañando aún más el organismo. A largo plazo el uso frecuente y a dosis altas puede generar dependencia física y psicológica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguilar Mejía Oscar Mauricio, Galvis-Pedrosa Carlos Felipe, Heredia Mazuera Hernando Andrés, Restrepo-Pinzón Alejandra, Pontificia Universidad Javeriana, Efecto De Las Bebidas Energizantes Con Base En Taurina Y Cafeína Sobre La Atención Sostenida Y Selectiva Entre Un Grupo de jóvenes Entre 18 Y 22 Años: Ripcyt; 2008.
2. Maidana Petersen, Zannier, Williner, M.R.1; Bebidas Energizantes Comercializadas En La Ciudad De Santa Fe (Argentina): Cuantificación De Sus Componentes Y Cumplimiento De La Legislación; FABICIB, año 2011, volumen 15.
3. Elisa Cristina Baltrons Villeda, Nilson Alberto Bernal Rajo; Determinación Del Contenido De Cafeína Presente En Bebidas Energizantes Comercializadas En El Área Metropolitana De San Salvador; Universidad San Salvador; 2010.
4. Herndon, M. Declaración de la FDA el Estudio Europeo cafeína. Administración de Alimentos y Drogas. 2006 Disponible en: [Http://www.fda.gov/](http://www.fda.gov/).
5. Aguilar Salazar Franco Alexsis, Aguilar Ticona Juan Pablo. Efecto del Consumo Excesivo de las Bebidas Energizantes sobre el Peso y Talla. en Conejos[pdf]. DF. México Universidad Mayor de San Andrés, disponible en: [http://cientifica.umsa.bo/c/document\\_library.pdf](http://cientifica.umsa.bo/c/document_library.pdf)

6. <http://www.nutrinfo.com.ar/pagina/info/ene01-05.pdf>  
Melgarejo, M. Diciembre 2004. El verdadero poder de las bebidas energéticas. Artículo de la Revista Énfasis Alimentación N° 6.
7. <http://www.revista.consumer.es/web/es/20020601/pdf/analisis.pdf>  
“Seis Bebidas energéticas al laboratorio”.
8. <http://www.sernac.cl/estudios/detalle.php?id=730>  
SERNAC - Agosto 2003. Chile. Bebidas Energéticas: Evaluación de la Información a los Consumidores.
9. <http://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=238>
10. <http://www.es.wikipedia.org/wiki/Taurina>
11. <http://www.femeba.org.ar/index.php?id=841> (en línea)  
FEMEBA – 2006. Buenos Aires, Argentina. Preocupa el aumento de infartos entre jóvenes producido por el consumo de energizantes con alcohol.
12. <http://www.es.wikipedia.org/wiki/Glucuronolactona>

13. <http://www.gssiweb-sp.com/reflib/refs/223/re34.cfm?pid=98&CFID=526031&CFTOKEN=21880888>Sarmiento, J.M. Bogotá, Colombia. Bebidas Energizantes.
14. <http://www.es.wikipedia.org/wiki/Guarana>.
15. <http://www.es.wikipedia.org/wiki/Ginseng>
16. Fabre R. y Otro. 1976. Tratado de Toxicología. Madrid, España. Editorial Paraninfo. C. Cervecera. Tomo 2, p.116-120.
17. Goodman&Gilman. 2003. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 10ª Edición. México D.F., México. Mc Graw - Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V. p.645, 753-756.
18. <http://www.es.wikipedia.org/wiki/Cafe%C3%ADna>  
Cafeína – Wikipedia, la enciclopedia libre.
19. [http://www.es.wikipedia.org/wiki/Cromatograf%C3%ADa\\_l%C3%ADquid\\_a\\_de\\_alta\\_resoluci%C3%B3n](http://www.es.wikipedia.org/wiki/Cromatograf%C3%ADa_l%C3%ADquid_a_de_alta_resoluci%C3%B3n)  
Cromatografía Líquida de Alta Resolución - Wikipedia, la enciclopedia libre
20. <http://www.es.wikipedia.org/wiki/Espectrofotometria>

21. Luisa Fernanda Ponce trun, Jaime H. Rojas, Alfredo Oviedo A.  
DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO (HPLC-  
RP) PARA LA DETERMINACIÓN DE TEOFILINA EN  
PLASMA. REVISTA COLOMBIANA DE QUÍMICA, VOLUMEN 30, No. 1  
DE 2001

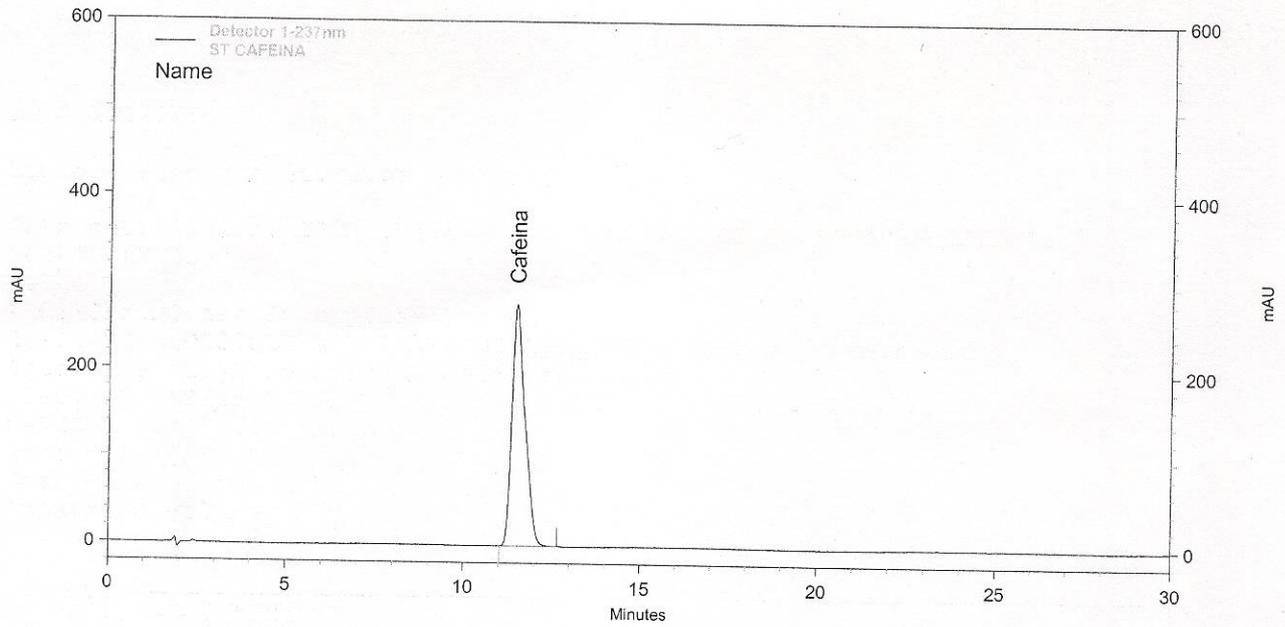
22 Miriam Mecanismo y aplicaciones de la cromatografía líquida de alto  
desempeño. Costa Rica: De la universidad de Costa Rica; 2004.

23 [sqperu.org.pe/wp-content/.../1.-Bebidas-y-Refrescos.-Conferencia.pdf](http://sqperu.org.pe/wp-content/.../1.-Bebidas-y-Refrescos.-Conferencia.pdf)

24 Maria G. VOLONTE\*, Maria A. VINAS, Carolina E. GORRITI, Maria C.  
ESCALES, Laura A. SANCHEZ & M. Esperanza RUIZ. DESARROLLO Y  
VALIDACION DE UN METODO POR HPLC PARA LA DETERMINACION  
DE CARBAMACEPINA EN PLASMA HUMANO. *Latin American Journal of  
Pharmacy (formerly Acta Farmacéutica Bonaerense)* *Lat. Am. J. Pharm.* **28** (1):  
80-5 (2009).

# ANEXO 1

## ESTÁNDAR DE CAFEINA

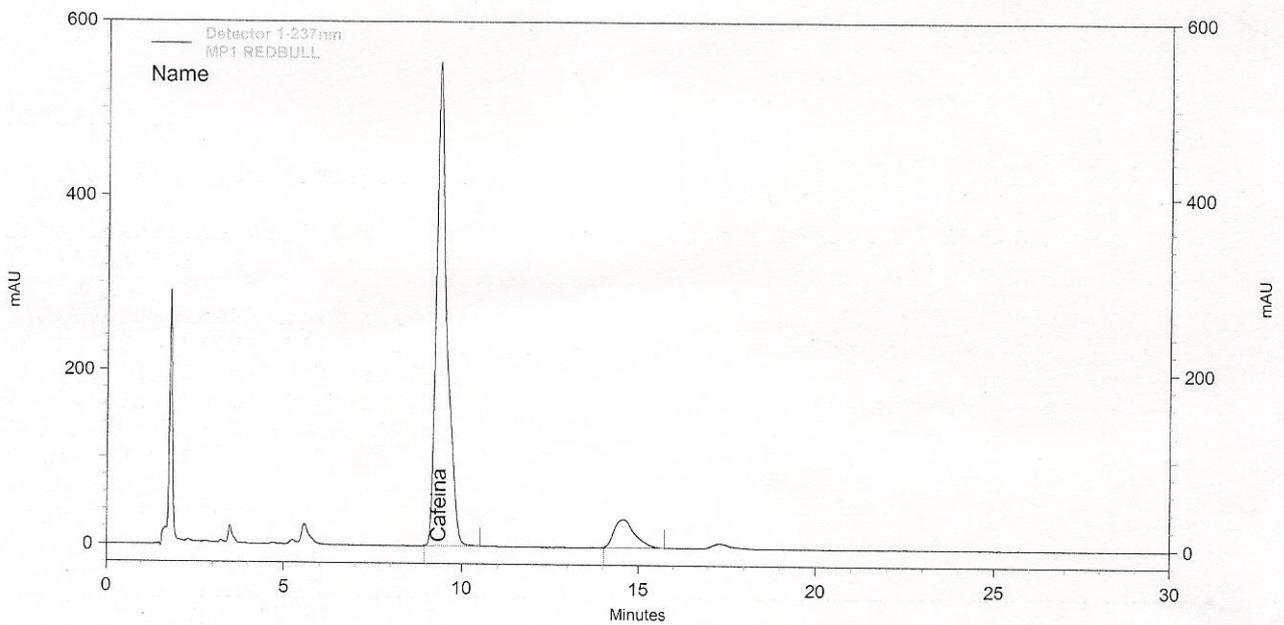


Detector  
1-237nm Results  
(MGRANDE  
(31/03/2015  
04:03:57 p.m.)  
(Reprocessed))

Name	Retention Time	Area	Channel	Theoretical plates (USP)	Capacity factor	Resolution (USP)	Asymmetry
Cafeina	11.46	7030485.00	Detector 1-237nm	4457	3.41	0.00	1.58

## ANEXO 2

### DETERMINACION DE CAFEINA EN RED BULL

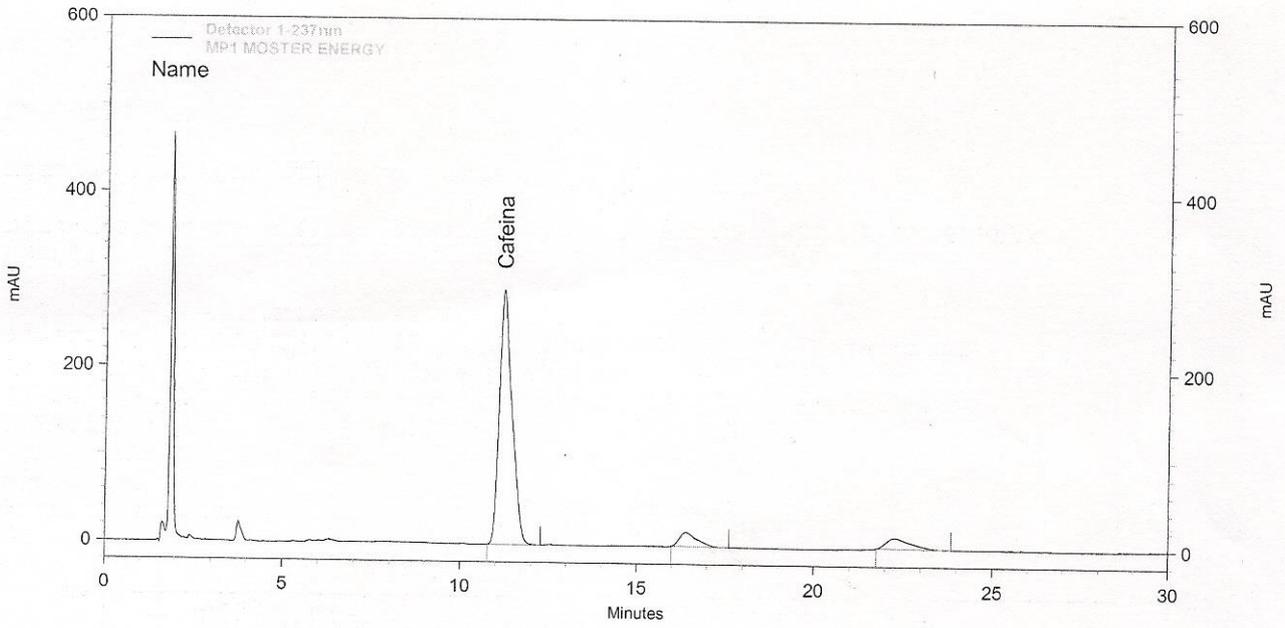


Detector  
1-237nm Results  
(MGRANDE  
31/03/2015  
04:43:59 p.m.)  
(Reprocessed)

Name	Retention Time	Area	Channel	Theoretical plates (USP)	Capacity factor	Resolution (USP)	Asymmetry
Cafeina	9.32	11492081.00	Detector 1-237nm	5408	2.59	0.00	1.75
Totals		11492081.00					

### ANEXO 3

### DETERMINACION DE CAFEINA EN MONSTER ENERGY

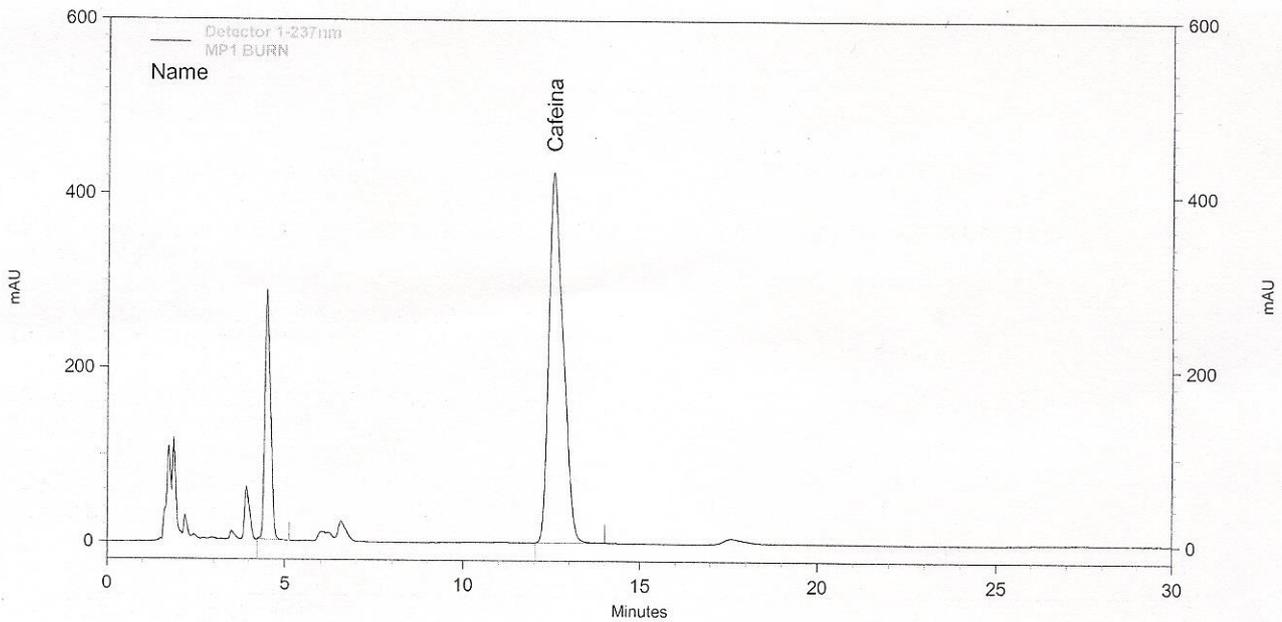


Detector  
1-237nm Results  
(MGRANDE  
(31/03/2015  
04:40:51 p.m.)  
(Reprocessed))

Name	Retention Time	Area	Channel	Theoretical plates (USP)	Capacity factor	Resolution (USP)	Asymmetry
Cafeina	11.18	7185424.00	Detector 1-237nm	4373	3.30	0.00	1.58

## ANEXO 4

### DETERMINACION DE CAFEINA EN BURN



Detector  
1-237nm Results  
(MGRANDE  
(26/03/2015  
09:05:30 a.m.)  
(Reprocessed))

Name	Retention Time	Area	Channel	Theoretical plates (USP)	Capacity factor	Resolution (USP)	Asymmetry
Cafeina	12.52	11917055.00	Detector 1-237nm	4042	3.82	14.76	1.57

## GLOSARIO

- **Bebidas Analcóholicas:** Bebidas elaboradas a base de agua potable, carbonatada o no, y adicionadas de una o más de las siguientes sustancias: azúcares, jugos de fruta, extractos vegetales, ácidos, esencias, proteínas, sales minerales, colorantes y otros aditivos permitidos; que no contengan más de 0,5% en volumen de alcohol etílico. <sup>(20)</sup>
- **Bebidas Xantínicas:** Líquidos como el café, té, mate y bebidas de cola, que son elaborados a base de sustancias de origen natural como la cafeína, teofilina o teobromina, todos ellos derivados metilados de la xantina. <sup>(22)</sup>
- **Conservante:** Sustancia añadida a los alimentos (bien sea de origen natural o de origen artificial) que pueda detener o minimizar el deterioro causado por la presencia de diferentes tipos de microorganismos (bacterias, levaduras y mohos). <sup>(11)</sup>
- **Contractilidad Cardíaca:** Capacidad del músculo cardíaco de acortarse y de generar fuerza, independiente de variables tales como la elongación inicial, la poscarga, la frecuencia cardíaca, etc. <sup>(21)</sup>
- **Cromatografía:** Proceso para separar mezclas de gases, líquidos o sólidos en disolución mediante diferentes procesos físicos. Proceso por el cual una

mezcla química en un líquido o gas se separa en componentes, como resultado de la distribución diferencial de los elementos solubles. <sup>(12,23)</sup>

- **Dependencia psíquica:** Manifestación que una persona experimenta por la necesidad de una droga, que le va a producir satisfacción, placer o bien, para evitar malestares, lo cual le impulsa a una administración periódica o continúa.<sup>(21)</sup>

## MATRIZ DE CONSISTENCIA

Determinación De Cafeína En Bebidas Energizantes Comercializados en el Distrito de Miraflores-Lima.

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	VARIABLES	TIPO	POBLACIÓN Y MUESTRA
¿Cuál es la cantidad de cafeína en las bebidas energizantes comercializadas en el distrito de Miraflores – Lima?	<b>O.G:</b> Determinar la cantidad de cafeína presente en bebidas energizantes comercializadas en el área del distrito de Miraflores Lima.	<b>H.G:</b> La cafeína se encuentra dentro del límite máximo permisible en las bebidas energizantes comercializadas en Miraflores Lima.	V. Independiente:  (X) Cuantificación de cafeína en bebidas energizante.  Indicadores: No excede (20 mg/100ml)	Método de la investigación:  Método inductivo.  Técnica de la investigación:  Cuantitativa descriptiva.	<b>Población:</b>  bebidas energizantes comercializadas en Miraflores - Lima  <b>Muestra:</b>  Muestra:03 unidades de  3 marcas de bebidas energizantes
	<b>OBJETIVOS ESPECIFICOS</b>	<b>HIPOTESIS ESPECIFICA</b>	V. Dependiente:  (Y) Presencia de cafeína en bebidas energizantes.  Indicadores:  Presenta / no presenta	Diseño de la investigación:  No experimental	
	- <b>O.E.1.</b> Identificar la presencia de cafeína en bebidas energizantes comercializadas en Miraflores lima  - <b>O.E.2</b> Cuantificar la cantidad de cafeína presente en bebidas energizantes comercializadas en Miraflores Lima.	<b>H.E.1:</b> Se evidenciaría la presencia de cafeína en las bebidas energizantes comercializadas en Miraflores Lima.  <b>H.E.2:</b> Es factible la cuantificación de cafeína comercializadas en Miraflores Lima.			