

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**CUANTIFICACIÓN DE ASPARTAME EN LAS BEBIDAS CARBONATADAS DE
DIETA DE TRES MARCAS QUE SE EXPENDEN EN SUPERMERCADOS DE LA
CIUDAD DE GUATEMALA.**

Jennifer Alejandra Galdámez Monroy

Química Farmacéutica

Guatemala, Julio de 2011.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**CUANTIFICACIÓN DE ASPARTAME EN LAS BEBIDAS CARBONATADAS DE
DIETA DE TRES MARCAS QUE SE EXPENDEN EN SUPERMERCADOS DE LA
CIUDAD DE GUATEMALA.**

Informe de Tesis

Presentado por

Jennifer Alejandra Galdámez Monroy

Para optar al título de

Química Farmacéutica

Guatemala, Julio de 2011.

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cobar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. José Roy Morales Coronado	Vocal IV
Br. Cecilia Liska de León	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: Por su inmenso amor, por regalarme la vida y permitir cumplir uno de mis grandes sueños.

A MIS PADRES: Myrna Aracely Monroy
Guillermo Dagoberto Galdámez
Porque este triunfo es de ellos también, por su paciencia, consejos, regaños y amor; que me ayudaron a ser una persona de bien.

A MIS ABUELITOS: Que desde el cielo me acompañan e interceden por mí caminar.

A MIS HERMANOS: Evelyn Galdámez
David Galdámez
Por sus palabras de aliento, por su amistad, confianza y cariño.

A JORGE RIVERA: Por dejarme ser parte de su vida, por los momentos de felicidad, por su amor, comprensión y apoyo incondicional.

A MIS AMIGOS: Silvia, Shirley, Lesly y Roberto
Por las risas, los enojos, las prisas y los desvelos que compartimos.

A MIS FAMILIARES: Por su apoyo y compañía.

A MIS CATEDRÁTICOS: Licda. Aylin Evelyn Santizo Juárez
Licda. Julia Amparo García Bolaños
Licda. Erika García Salgado
Por compartir sus conocimientos y experiencias con amor.

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

ÍNDICE

Contenido	Página
1. Resumen	1
2. Introducción	3
3. Antecedentes	5
3.1 Alimentos Light	5
3.2 Bebidas Carbonatadas	6
3.3 Aspartame	13
3.4 Estudios Previos	24
4. Justificación	27
5. Objetivos	28
6. Hipótesis	29
7. Materiales y Métodos	30
7.1 Universo de Trabajo	30
7.2 Muestra	30
7.3 Materiales	30
A. Recursos Materiales	30
B. Método	32
C. Diseño de la Investigación	38
8. Resultados	40
9. Discusión de Resultados	42
10. Conclusiones	47
11. Recomendaciones	48
12. Referencias	49
13. Anexos	53

1. RESUMEN

Los alimentos dietéticos constituyen hoy en día, una alternativa de alimentación para la población guatemalteca, ya que su publicidad asegura que poseen cualidades nutricionales benéficas para el ser humano; siendo los más representativos las bebidas carbonatadas de dieta (LatinPanel ConsumerWatch, 2007). Sin embargo, existe controversia por los posibles efectos dañinos que pueden causar algunos aditivos alimentarios presentes en estos alimentos, entre ellos los edulcorantes artificiales; siendo uno de los más populares, el aspartame.

Estudios recientes permiten sospechar acerca de la inocuidad de este edulcorante sintético, pues lo relacionan con efectos cancerígenos a largo plazo. Por lo tanto, fue necesario determinar mediante un método cuantitativo la cantidad de aspartame presente en las bebidas carbonatadas de dieta de tres marcas que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala; y verificar que la concentración de dicho aditivo alimentario cumpliera con la especificación de la Norma General del *Codex Alimentarius* para los Aditivos Alimentarios (CODEX STAN 192.1995).

El muestreo representativo de las bebidas carbonatadas de dieta abarcó las tres marcas que poseen dentro de su formulación aspartame y que se comercializan en el país. El método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) utilizado fue el recomendado por la Asociación Oficial de Analistas Químicos (Association of Official Analytical Chemists, AOAC) en una de las revistas científicas del Journal of the Association of Official Analytical Chemists (JAOAC). Sin embargo, dicho método sufrió modificaciones para ajustarlo a las condiciones de trabajo; logrando así, la separación, identificación y cuantificación del aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta.

Los resultados obtenidos confirman que la concentración de aspartame presente en las bebidas carbonatadas de dieta de tres marcas que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala, es menor que el límite máximo establecido en la Norma General para los Aditivos Alimentarios (CODEX STAN 192-1995); por lo tanto, las tres marcas de bebidas cumplen con la normativa internacional que regula el uso de los aditivos alimentarios en las diferentes categorías de alimentos.

Y por último, al comparar las marcas de bebidas carbonatadas de dieta entre sí, se determinó que la Marca C posee mayor cantidad de aspartame, seguida por la Marca A y por último la Marca B; todas con amplia variabilidad entre sus resultados, probablemente por un proceso de fabricación no validado.

2. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, a partir del consumo de comida rápida y el acceso a la cultura de países desarrollados, Guatemala ha experimentado importantes cambios en los hábitos del consumo de alimentos; modificándose así el panorama nutricional de su población. Ello ha contribuido al surgimiento de nuevos problemas de salud relacionados con la nutrición, los cuales han adquirido relevancia en el perfil epidemiológico del país; entre éstos resaltan la obesidad, la hipertensión arterial y la diabetes.

Por su parte, la industria de alimentos ha diversificado la oferta de sus productos y ha incorporado a través de la publicidad denominaciones masificadas a nivel mundial; con el objeto de relevar los alimentos tradicionales. Un buen ejemplo de esto, lo constituye el mercado de los alimentos dietéticos, popularmente llamados alimentos light; cuya publicidad afirma que poseen cualidades nutricionales diferentes a los productos tradicionales.

En Guatemala, los alimentos light más representativos son las bebidas carbonatadas de dieta o llamadas también bebidas libres de calorías o “sin azúcar” (LatinPanel ConsumerWatch, 2007); las cuales poseen dentro de su formulación diversas sustancias y aditivos alimentarios que le aportan un sabor y una textura similar a la de su equivalente de referencia.

Hoy en día, a pesar del acto propagandístico hacia esta categoría de alimentos, se ha hecho sonar la preocupación de los consumidores respecto a la calidad e inocuidad de los alimentos que diariamente consumen; esto debido a la controversia por los posibles efectos dañinos que algunos aditivos alimentarios pueden causar; entre ellos están los edulcorantes artificiales, siendo uno de los más comunes, el aspartame.

Estudios recientes permiten sospechar acerca de la inocuidad del aspartame, debido a que se han descrito diversos efectos secundarios a largo plazo atribuibles al consumo de

productos con aspartame; entre ellos cabe mencionar los daños neurológicos, psicológicos, oculares, endocrinos, metabólicos; el aumento de la incidencia de las migrañas, los ataques epilépticos, la esclerosis múltiple e incluso los tumores cerebrales; llegando a considerarlo un compuesto multicancerígeno.

En consecuencia, se realizó un análisis cuantitativo del aspartame presente en las bebidas carbonatadas de dieta de tres marcas que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala, con el fin de verificar que la concentración de dicho aditivo alimentario cumpla con las regulaciones internacionales establecidas por el *Codex Alimentarius* en la Norma General CODEX STAN 192-1995; la cual especifica que el aspartame debe estar presente en las bebidas carbonatadas de dieta a una concentración máxima de 600mg/Kg de alimento.

El análisis se realizó aplicando un método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) avalado por la Asociación Oficial de Analistas Químicos (AOAC, por sus siglas en inglés), a través de su revista científica *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* (JAOAC).

3. ANTECEDENTES

3.1 Alimentos Light

3.1.1 Consideraciones Generales

Los alimentos light también llamados alimentos ligeros, constituyen una categoría de alimentos especialmente diseñados para personas bajo regímenes especiales de alimentación¹; en estos alimentos se introduce una modificación en el contenido de nutrientes (Kantor, 1990, pp. 478-494).

Estos alimentos también definidos como “bajos en contenido de grasas”, “sin azúcar” o simplemente “light”, serán clasificados como tales según el acuerdo elaborado en 1,990 por expertos de la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria (CIOA) de España, si existe un alimento de referencia para su comparación; poseen por lo menos 30% menos del contenido de energía o del contenido de nutrientes, del que reporta el producto de referencia; y si la etiqueta del mismo especifica la(s) característica(s) que lo hace(n) light (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación, 1997; Fundación Eroski, s.f.).

En esta categoría de alimentos, el menor índice de calorías se logra al reducir o sustituir alguno de los componentes del alimento de referencia. Por ejemplo, se disminuye la cantidad de hidratos de carbono (azúcares), o los mismos se sustituyen por edulcorantes no nutritivos; o se reduce el aporte de grasas empleando sustitutivos de la grasa (Fundación Eroski, s.f.).

¹ Se refiere a los individuos que llevan una alimentación baja en calorías, ya sea por recomendación médica o por voluntad propia.

3.1.2 Clasificación

En Guatemala estos alimentos son clasificados por la Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud, del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), en la Norma Sanitaria No. 004-2003; como Alimentos con Propósitos Médicos Especiales, los cuales se definen como: “aquellos destinados a una alimentación especial, que han sido formulados para el tratamiento dietético de pacientes bajo supervisión nutricional-médica²” (González, 2003, p. 1).

Asimismo, a nivel internacional el *Codex Alimentarius* dentro del Sistema de Clasificación de Alimentos³, agrupa a los alimentos dietéticos en la categoría de Productos Alimenticios para Usos Nutricionales Especiales; definiéndolos como “aquellos alimentos elaborados o preparados especialmente para satisfacer necesidades especiales de alimentación determinadas por unas condiciones físicas o fisiológicas particulares y/o por enfermedades o trastornos específicos, cuya composición deberá ser fundamentalmente diferente a la de los alimentos ordinarios con los que se comparan” (Codex Alimentarius, 2010).

3.2 Bebidas Carbonatadas

Las bebidas carbonatadas, no alcohólicas, se consideran un líquido burbujeante y refrescante al que se le ha adicionado cierta mezcla de ingredientes con el objetivo

² Pacientes cuya capacidad para ingerir, digerir, absorber, metabolizar o excretar alimentos normales, determinados nutrientes o metabolitos, sea deficiente; o bien que necesiten otros nutrientes determinados clínicamente, y cuyo tratamiento dietético no puede efectuarse únicamente modificando la dieta normal.

³ Constituido por grupos o categorías específicas de alimentos relacionados, los cuales se agruparon con el objeto de establecer tolerancias y limitaciones para el uso de aditivos alimentarios permitidos para el consumo humano.

de satisfacer las preferencias de las personas que las consuman. En Guatemala, popularmente se les conoce como aguas gaseosas o sodas (Sandoval, 2006, p. 7).

3.2.1 Clasificación

Dentro del Sistema de Clasificación de Alimentos, anteriormente mencionado, las bebidas carbonatadas de dieta, de interés para la investigación; se encuentran agrupadas dentro de la categoría de Bebidas No Alcohólicas, en la rama de bebidas a base de agua aromatizada (o saborizada) con gas; ésta rama comprende a todas las bebidas aromatizadas a base de agua con adición de anhídrido carbónico y con edulcorantes nutritivos, no nutritivos o intensos y otros aditivos alimentarios permitidos, incluyendo las bebidas refrescantes a base de raíces y ciertos tipos de especias, lima-limón y otros tipos de cítricos, tanto los de tipo dietético o ligero como normal; así como, las llamadas bebidas para deportistas con gas que contienen niveles elevados de nutrientes y otros ingredientes (p. Ej. cafeína, taurina, carnitina) (Codex Alimentarius, 2010).

Asimismo, las bebidas carbonatadas, no alcohólicas se suelen clasificar en:

- A. *Bebidas sin sabor:*** se obtiene por disolución de dióxido de carbono en agua potable que contiene sólidos minerales disueltos (cloruros, bicarbonatos y sulfatos), no contienen jarabe⁴ o colorantes que alteren el sabor del agua y el gas carbónico. En Guatemala, se conoce como “agua mineral” o “soda” (Comisión Guatemalteca de Normas, 1985; Comisión Nacional de Normalización Técnica y Calidad, 2000).

⁴ Consiste en la mezcla de todos los ingredientes de la bebida carbonatada, a excepción del agua carbonatada.

- B. *Bebidas con sabor:*** se obtienen por disolución de sacarosa en agua potable, y adición de dióxido de carbono, acidificantes, colorantes naturales y artificiales, preservantes y saborizantes; todos sometidos a un proceso tecnológico apropiado (Comisión Guatemalteca de Normas, 1985; Comisión Nacional de Normalización Técnica y Calidad, 2000).
- C. *Bebidas dietéticas:*** o llamadas también bebidas libres de calorías, son aquellas que poseen menos de 5 Cal por cantidad de referencia o porción. Una bebida carbonatada dietética no cola, provee una energía de 0 Cal, mientras que una bebida carbonatada dietética tipo cola provee 2 Cal. Su elaboración es a base de edulcorantes no nutritivos, como el aspartame (Sandoval, 2006, p. 7; Morales, 2007, p. 18; Menchú & Méndez, 2007, p. 56).

3.2.2 Consideraciones generales

Las bebidas carbonatadas en general deberán presentar el color, el olor y sabor característico del producto, el sabor no deberá ser añejo, mohoso, ni fermentado; deberán estar libres de turbidez y ligosidad; ya que las características que denoten un proceso defectuoso de fabricación se declaran no aptas para el consumo humano (Comisión Guatemalteca de Normas, 1985; Comisión Nacional de Normalización Técnica y Calidad, 2000).

El producto final no deberá contener materias extrañas a su composición normal tales como fragmentos metálicos, partículas de vidrio u otros sedimentos. Asimismo, no deberá contener insectos, fragmentos de estos, huevos y larvas (Comisión Nacional de Normalización Técnica y Calidad, 2000).

3.2.3 Composición

3.2.3.1 Agua

Constituye el ingrediente mayoritario (90-99%), es el cuerpo de la bebida. Se le da tratamiento para remover impurezas y ajustar el pH, ya que el nivel de alcalinidad tiene que ser bajo a fin de prevenir la neutralización del ácido empleado en la bebida, lo cual alteraría su sabor y disminuiría su estabilidad. Asimismo, los niveles de hierro y manganeso deben ser bajos a fin de prevenir la reacción con los colorantes y saborizantes. El cloro residual tiene que ser casi inexistente, ya que afectaría el sabor de la bebida. La turbidez y el color tienen que ser mínimos para que no disminuyan la apariencia atractiva de la bebida. El nivel de materia orgánica, así como de sólidos inorgánicos tiene que ser bajo; ya que las partículas coloidales proporcionarían núcleos para la acumulación de dióxido de carbono y su liberación de la solución, lo cual resultaría en la ebullición y derramamiento de líquido cuando se llenan o abren las botellas (Sandoval, 2006, p. 8; Marroquín, 2004, p. 52).

3.2.3.2 Dióxido de carbono

Se define como un gas incoloro, inodoro y con un ligero sabor ácido, cuya molécula está constituida por un átomo de carbono unido a dos átomos de oxígeno (CO_2); se obtiene de la combustión de cualquier compuesto que contiene carbono, y también es producto de la respiración y de la fermentación. El más comercial de los usos es el que las embotelladoras aprovechan en la fabricación de bebidas carbonatadas, las cuales se encuentran saturadas del gas bajo una presión un poco mayor que 1 atmósfera. Cuando las botellas con bebidas carbonatadas se abren al aire, la presión parcial del CO_2 sobre

la disolución se reduce. Por tanto, la solubilidad del CO₂ disminuye, desprendiéndose el mismo de la disolución como burbujas. Este gas carbónico también ayuda a evitar el desarrollo de hongos (Sandoval, 2006, p. 8; Brown, 2004, p. 496; Palacios, s.f.).

3.2.3.3 Aditivos Alimentarios

Son aquellos elementos que entran en la formulación de un producto como sustancias correctivas o coadyuvantes⁵, con el objeto de preservar, estabilizar o mejorar su color, sabor, olor y apariencia, siempre que no perjudiquen su valor nutritivo; normalmente no se consumen como alimento, ni tampoco se usan como ingredientes básicos en alimentos, tengan o no valor nutritivo, y cuya adición intencionada al alimento con fines tecnológicos (incluidos los organolépticos⁶) en sus fases de fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento, resulte o pueda preverse razonablemente que resulte (directa o indirectamente) por sí o sus subproductos, en un componente del alimento o un elemento que afecte a sus características. No se incluyen “contaminantes” o sustancias añadidas al alimento para mantener o mejorar las cualidades nutricionales (Codex Alimentarius, 2010; Comisión Guatemalteca de Normas, 1992).

Se clasifican por su función en varias categorías; sin embargo, los que se utilizan en las bebidas carbonatadas de dieta son:

⁵ Toda sustancia o materia, excluidos aparatos y utensilios, que no se consume como ingrediente alimenticio por sí mismo, y que se emplea intencionalmente en la elaboración de materias primas, alimentos o sus ingredientes, para lograr una finalidad tecnológica durante el tratamiento o elaboración pudiendo dar lugar a la presencia no intencionada, pero inevitable, de residuos o derivados en el producto final.

⁶ Las propiedades organolépticas de un cuerpo o material son todas aquellas que pueden percibirse de forma directa con los sentidos (color, sabor, olor, textura, etc.)

- A. Agentes antioxidantes:** son sustancias preservadoras que retardan el deterioro, rancidez o decoloración debidos a una reacción de oxidación (Comisión Guatemalteca de Normas, 1992).
- B. Colorantes:** son sustancias que dan color o intensifican el color del producto. Dependiendo de su procedencia pueden ser colorantes naturales o artificiales (Comisión Guatemalteca de Normas, 1992).
- C. Conservadores:** son sustancias que impiden o retardan la alteración o descomposición del producto debido a la acción de microorganismos o mohos. También se les designa como preservantes. Normalmente las bebidas carbonatadas no sufren descomposición debido a su acidez y el dióxido de carbono. Sin embargo, el tiempo de almacenamiento, así como ciertas condiciones del mismo, pueden alterar el sabor; por esta razón se debe agregar pequeñas cantidades de preservante a las bebidas (Marroquín, 2004, p. 55; Comisión Guatemalteca de Normas, 1992).
- D. Reguladores del pH:** son sustancias adicionadas para cambiar o mantener activa la acidez o la alcalinidad de un producto; se incluyen en este concepto, las sustancias amortiguadoras ("Buffer" o "Tampón"), los ácidos, los álcalis y los agentes neutralizantes. También se les designa como acidificantes o acidulantes. En las bebidas carbonatadas ayudan a mejorar el sabor, pero su principal acción es la de preservar. Los principales ácidos usados son fosfórico, cítrico, tartárico y málico

(Marroquín, 2004, p. 54; Comisión Guatemalteca de Normas, 1992).

E. **Sabores naturales/artificiales:** al igual que los colorantes se agregan en forma de jarabe. Deben permanecer estables bajo las condiciones ácidas de la bebida y la exposición a la luz (Comisión Guatemalteca de Normas, 1985; Marroquín, 2004, p. 53).

F. **Edulcorantes:** son sustancias que imparten un sabor dulce al alimento, pueden clasificarse en dos categorías:

a. *Edulcorantes nutritivos:* son sustancias que tienen más del 2% del valor calórico de la sacarosa por cada unidad equivalente en su capacidad edulcorante. Dentro de los edulcorantes nutritivos comunes se encuentra los azúcares refinados, el jarabe de maíz, la fructosa cristalina, la glucosa, la dextrosa, la lactosa, la maltosa y los polioles de baja energía o alcoholes del azúcar (p.ej. sorbitol, manitol, xylitol, etc.); éstos últimos son llamados los edulcorante masivos o que dan cuerpo (Morales, 2007, p. 17; Comisión Guatemalteca de Normas, 1992).

b. *Edulcorantes no nutritivos:* son sustancias que tienen 2% o menos del valor calórico de la sacarosa por cada unidad equivalente en su capacidad edulcorante. También se les designa como edulcorantes artificiales, intensos, sustitutos del azúcar o de bajas calorías. La dulzura de los edulcorantes no nutritivos varía entre 30 y 3,000 veces más que la sacarosa, por lo que se utilizan en cantidades diminutas para incrementar el sabor dulce de los alimentos (Morales, 2007,

p. 17; Comisión Guatemalteca de Normas, 1992; Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company, s.f.).

Los edulcorantes artificiales son ampliamente utilizados en la industria de alimentos, bebidas, industria confeccionaría y farmacéutica a través del mundo. Los objetivos principales de usar edulcorantes en alimentos y bebidas son: el tratamiento de la obesidad, el mantenimiento del peso corporal, el control de la diabetes y la reducción de caries dentales (Morales, 2007, p. 18).

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

3.3 Aspartame

3.3.1 Historia

Se sabe que por lo menos dos grupos de científicos independientes estaban envueltos en el descubrimiento del aspartame, pero únicamente uno reconoció su excelente sabor dulce. En 1964, las Industrias Químicas Imperiales® (I.C.I. ®) y G. D. Searle® buscaban conseguir sintetizar la hormona gastrina y el análogo del tetrapéptido de la gastrina. Durante el curso de las investigaciones que apuntaban hacia la síntesis de la gastrina, Davey, Laird, y Morley de I.C.I. ® prepararon el dipéptido α -L-aspartil-L-fenilalanina metil éster (aspartame). Esto se informó en 1966, pero los

autores no hicieron ningún comentario sobre el sabor de este producto u otros análogos sintetizados. Aproximadamente al mismo tiempo, el grupo de G. D. Searle® tenía también la ocasión para sintetizar el dipéptido (aspartame) en su demanda hacia encontrar los análogos del tetrapéptido de la gastrina para su posible uso, como drogas para la terapia de la úlcera; el aspartame fue preparado para que pudiera emplearse en un bioensayo. Durante la recristalización del aspartame con etanol, J. Schlatter contó algunos cristales en su mano. Después de un tiempo corto, Schlatter lamió sus dedos para facilitar el levantamiento de algún papel y descubrió el sabor notablemente dulce del aspartame. Mazur, Schlatter, y Goldkamp informaron sus resultados en 1,969; siendo este año la fecha de descubrimiento del aspartame (Furia, 1980, p. 193-194).

Pero no fue hasta en el año de 1,981, cuando el aspartame fue aprobado por primer vez como aditivo por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (Food and Drug Administration, FDA), y poco después fue aprobado en Europa por el Comité Conjunto de Expertos en Aditivos para Alimentos (Joint Expert Committee on Food Additives, JECFA) de la Comisión del *Codex Alimentarius* y el Comité Científico en Alimentos (Scientific Committee for Food, SCF) de la Unión Europea (Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company, s.f.).

Este aditivo alimentario puede ser encontrado como ingrediente en más de 6,000 productos en todo el mundo. Éstos incluyen: las bebidas carbonatadas, el polvo para preparar bebidas saborizadas, la goma de mascar, los dulces, las gelatinas, las mezclas para preparar postres, los budines y los rellenos, los postres congelados, el yogurt, los edulcorantes de mesa y algunos medicamentos como las vitaminas y las pastillas sin azúcar para la tos

(Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company, s.f.).

3.3.2 Consideraciones generales

El aspartame es un compuesto poderosamente dulce que se utiliza como edulcorante intenso de bajas calorías para endulzar grandes cantidades de alimentos y bebidas, particularmente las que poseen sabores de frutas ácidas (Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company, s.f.).

Aunque generalmente se usa como un edulcorante intenso, el aspartame en realidad proporciona calorías, como lo hace el azúcar de mesa (sacarosa) y otros componentes de los alimentos. Sin embargo, dado que el aspartame es aproximadamente 200 veces más potente que el azúcar de mesa común, se necesita sólo 1/200 de una cucharadita para reemplazar cada cucharadita de azúcar en un alimento o una bebida. Por ende, aunque el aspartame proporciona la misma cantidad de calorías que una cantidad de azúcar de mesa similar en peso (16 calorías por cucharadita), se necesita tan poco para endulzar alimentos y bebidas que el aporte de calorías es insignificante (Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company, s.f.; Furia, 1980, p. 194).

Asimismo, el uso de una combinación de edulcorantes intensos también puede reducir la cantidad de edulcorante necesario para obtener el nivel de dulzor deseado. Por este motivo, muchos edulcorantes son sinérgicos (es decir, son más dulces combinados, que la suma de sus dulzores si se utilizan por separado). Además, el uso de una combinación de edulcorantes intensos

puede mejorar la estabilidad del alimento (Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company, s.f.).

3.3.3 Propiedades Fisicoquímicas

Químicamente se le conoce como el dipéptido N-L- α -aspartil-L-fenilalanina-1-metil éster y comercialmente es conocido por el nombre de NutraSweet® (Searle & Co®), aunque ahora esta marca ya se encuentra disponible para varios proveedores, desde que las patentes de aspartame expiraron (Furia, 1980).

El aspartame se caracteriza como un polvo blanco, cristalino, inodoro compuesto de dos aminoácidos naturales, el primero de ellos llamado ácido aspártico y el segundo es el éster metílico de un segundo aminoácido denominado fenilalanina; ambos aminoácidos le dan al aspartame características hidrofóbicas e hidrofílicas (Morales, 2007, p. 19; Capitán, 2004, p. 484).

La potencia del edulcorante aspartame ha sido evaluada en pruebas de laboratorio, determinando que es de 150 a 200 veces más dulce que la sacarosa, lo cual es bastante inesperado ya que ni el ácido L-aspártico ni la L-fenilalanina son dulces. Mazur (1,969) informó que la parte ácida del ácido L-aspártico es una porción esencial para impartir el sabor dulce y que la porción fenilalanina metil éster puede modificarse. Como consecuencia, se han preparado un gran número de dipéptidos de sabor dulce, que tienen el ácido L-aspártico como constituyente común (Furia, 1980, p. 194).

El aspartame es ligeramente soluble en agua y moderadamente soluble en etanol. La solubilidad del aspartame en agua bajo condiciones ácidas se vuelve apreciable, es decir, en el orden de 1.3 a 1.8 % p/p. Ahora bien, cuando se mezcla con agua ajustada con buffers, el aspartame es casi dos veces más soluble en pH 3.72 que bajo las condiciones neutrales. Sin embargo, en solución a un pH por debajo de 3 y con calor, el aspartame no es estable, sufriendo hidrólisis hacia su dipéptido libre, metanol y otros productos de descomposición y racemización; a un pH por arriba de 6, sufre ciclodehidratación para formar dicetopiperazina (5-bencil-3,6-dioxo-2-piperazina-ácido acético) perdiendo su dulzor en ambos casos. En ambiente ácido y temperatura ambiente, la formación del dipéptido libre y la dicetopiperazina es casi equivalente, mientras que a temperaturas elevadas la ciclización es el modo de descomposición predominante (Furia, 1980, p. 197; Capitán, 2004, p. 484-485).

El apartame no puede ser utilizado en productos al horno o fritos porque sufre descomposición a elevadas temperaturas, es decir $\sim 130^{\circ}\text{C}$, convirtiéndose en aspartame anhidratado y, a $\sim 180^{\circ}\text{C}$, sufre la ciclización intramolecular para formar un derivado de dicetopiperazina. El empleo de aspartame con protección al calor hace posible su uso en ocasiones donde se pensaba que no era factible (Capitán, 2004, p. 484-485).

Por último, es importante mencionar que a temperatura ambiente la estabilidad del aspartame es buena, aunque se observa una pequeña descomposición si el contenido de humedad del polvo se mantiene por debajo del 8%. La estabilidad del aspartame fue examinada por Moler en 1,984 (cit. Por Scotter & Castle, 2,004) donde demostró que bebidas carbonatadas que contenían aspartame, presentaron dulzura aceptable

luego de haber sido almacenadas por 6 meses a 20 °C (Morales, 2007, p. 19; Furia, 1980, p. 197).

3.3.4 Metabolismo del aspartame

El cuerpo metaboliza el aspartame de forma completa, como si fuera una proteína u otro componente de los alimentos. Las enzimas en el tracto digestivo descomponen el aspartame en sus componentes fundamentales: el ácido aspártico, la fenilalanina y el metanol. Luego, el cuerpo absorbe y utiliza estos componentes de la misma manera en que se encuentran cuando se les obtiene de otras fuentes alimenticias (Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company, s.f.).

Es importante mencionar que las personas que nacen con un trastorno genético raro pero grave denominado *Fenilcetonuria*, no pueden metabolizar adecuadamente la fenilalanina, que es uno de los dos aminoácidos constituyentes del aspartame; por lo que no pueden consumir alimentos que contengan aspartame como aditivo alimentario (Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company, s.f.).

3.3.5 Toxicología

Existe una fuerte controversia en cuanto a la seguridad que representa el consumo de aspartame, entre las preocupaciones derivadas por el uso del edulcorante Mortensen (2,006), indica que el aspartame es metabolizado en el cuerpo en sus tres componentes: 50% fenilalanina, 40% ácido aspártico y 10% alcohol metílico o metanol, siendo este último agregado en el proceso de manufactura. Blatter (1,984), citado por Sales y Cardeal (2,003), indica que el metanol es extremadamente tóxico, es fácilmente absorbido después de la

ingestión, inhalación o exposición dermal y metabolizado por el hígado a formaldehído (Morales, 2007, p. 20).

Soffritti, et al. (2,006) del Instituto Ramazzini de Bolonia, Italia, estudió 7 grupos de ratas que fueron alimentadas administrándoles concentraciones de 0 a 100,000 ppm de aspartame en la dieta. Fueron alimentadas desde la semana 8 de vida hasta que se produjo la muerte natural. Las ratas fallecidas fueron sometidas a una biopsia completa para revisar el estado de sus órganos. Como resultado observaron por primera vez de forma experimental que, el aspartame aumenta la incidencia de tumores malignos, incrementa la aparición de linfomas y leucemias, aumenta la incidencia de carcinomas de pelvis renal y uréteres; y por último, aumenta la incidencia de Schwannomas de nervios periféricos. Por lo tanto, según la fundación Ramazzini el aspartame es un compuesto multicancerígeno, donde los efectos son evidentes en una dosis diaria de 20 mg/Kg de masa corporal, mucho menor que el actual consumo diario aceptable de 40 mg/Kg y 50 mg/Kg de masa corporal para Europa y Estados Unidos respectivamente (Morales, 2007, p. 21).

Respecto al estudio del Instituto Ramazzini, la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (Food and Drug Administration, FDA) publicó en mayo de 2,006 que la revisión realizada por la Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria (European Food Safety Authority, EFSA) indicó que las conclusiones realizadas por el instituto no estuvieron sustentadas por los datos, debido a que el EFSA tuvo numerosas dudas sobre el diseño y la dirección del estudio y dada la gran cantidad de estudios que confirmaban la seguridad del aspartame y la falta de sugerencias de leucemia u otra forma de cáncer, concluyeron que no era necesario revisar de nuevo la seguridad del aspartame o su Ingesta Diaria Admisible (IDA). Además, la FDA solicitó los

datos del estudio para ser evaluados, recibiendo una parte de ellos; sin embargo, esta asociación se encuentra actualmente revisando detalladamente los resultados y anunciará las conclusiones respecto a ellos cuando haya finalizado (Morales, 2007, p. 21; Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company, s.f.).

Asimismo, Valenzuela, A., et al. (1,994) y Cooper, D., et al. (1,997) mencionan que el aspartame puede estar asociado a enfermedades como: la epilepsia, las cefaleas, la depresión, diversas enfermedades neurológicas (principalmente la esclerosis múltiple), problemas visuales, alergias, complicaciones diabéticas y entre otros muchos trastornos, a los que se une su potencial adictivo (Palomino, 2007).

También, en abril de 2,006 fue presentado en Washington D.C., un nuevo estudio epidemiológico realizado por el Instituto Nacional de Cáncer (National Cancer Institute, NCI), donde fueron evaluados 500,000 hombres y mujeres con edades comprendidas entre 50 y 69 años, durante un periodo de 5 años (1,995-2,000). En éste evaluaron el consumo de bebidas con aspartame y la incidencia de tumores cerebrales y cáncer hematopoyético. Los investigadores concluyeron que, en comparación con las personas que no habían consumido aspartame, no había aumentado el riesgo de contraer leucemia, linfomas o tumores cerebrales (Morales, 2007, p. 21).

Y por último, debido a un grupo pequeño de personas quienes padecen la enfermedad hereditaria denominada *Fenilcetonuria*, los cuales son sensibles a la fenilalanina (uno de los metabolitos del aspartame) todos los productos que contengan aspartame deben ser debidamente etiquetados. La etiqueta debe llevar la expresión: “Fenilcetonúricos: contiene fenilalanina” y, en el caso de los sustitutos de azúcar de mesa a base de aspartame, la expresión

“No usar para cocinar u hornear”. De igual forma, por ser el aspartame un aditivo alimentario, la etiqueta del alimento que lo contenga también debe incluir lo siguiente: un encabezado con la palabra “Aditivos”, seguido del nombre genérico junto con el nombre específico o el número de identificación del aditivo del Sistema Internacional de Numeración (SIN) del *Codex Alimentarius* (Comisión Guatemalteca de Normas, 1992; Capitán, 2004, p. 1648; Comisión Guatemalteca de Normas, 2004; Codex Alimentarius, 2010).

3.3.6 Normativa vigente

Las autoridades que velan por la seguridad de los alimentos, como la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (Food and Drug Administration, FDA), han establecido estándares legales para el consumo de los aditivos alimentarios; uno de ellos es la denominada Ingesta Diaria Admisible (IDA), que no es más que la cantidad estimada de un aditivo en particular, que cada persona puede consumir de manera segura por día durante toda su vida sin correr riesgo alguno (Codex Alimentarius, 2010; Comisión Guatemalteca de Normas, 1992; Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company, s.f.; Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company, s.f.).

En los Estados Unidos, la FDA ha establecido que la IDA para el aspartame es de 50mg/kg de peso corporal de un individuo. Es la IDA más alta otorgada a cualquiera de los edulcorantes intensos, cuyo uso está aprobado en los Estados Unidos. En Europa y Canadá, la IDA para el aspartame es un poco más baja, 40 mg/kg de peso corporal de un individuo (Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company, s.f.).

Asimismo, cabe mencionar que según la Norma COGUANOR 34 192, Parte 1; el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.54:10 y la Norma General del *Codex Alimentarius* CODEX STAN 192-1995; el uso de aspartame en los alimentos debe ser justificado como con cualquier otro aditivo, ya que únicamente se pueden utilizar aditivos alimentarios, si estos mismos ofrecen alguna ventaja al alimento al cual serán adicionados, si no presentan riesgos apreciables para la salud de los consumidores y, si cumplen una o más de las funciones tecnológicas establecidas por el *Codex Alimentarius*, únicamente cuando estos fines no pueden alcanzarse por otros medios que son factibles económica y tecnológicamente (Codex Alimentarius, 2010).

Según la Norma General del *Codex Alimentarius* CODEX STAN 192-1995, la cantidad de aditivo que se añada a un alimento debe ser igual o inferior a la Dosis Máxima de Uso⁷ establecida para dicho aditivo en determinado alimento, constituyendo así la dosis mínima necesaria para lograr el efecto técnico previsto. Para las bebidas a base de agua aromatizada (o saborizada) con gas, clasificación en la cual se encuentran las bebidas carbonatadas de dieta, la Dosis Máxima de Uso para el aspartame es de 600mg/kg de alimento (Ver Anexo 1); cantidad que será utilizada como referencia para la comparación de la concentración de aspartame presente en la muestra de bebidas carbonatadas de dieta a estudiar (Morales, 2007, p. 19; Comisión Guatemalteca de Normas, 2010).

3.3.7 Métodos para la cuantificación de aspartame

No existe aún un método oficial para la cuantificación de aspartame según la Asociación Oficial de Analistas Químicos (AOAC, por sus siglas en inglés). Sin

⁷ Se refiere a la concentración más alta de un aditivo que la Comisión del *Codex Alimentarius* ha determinado que es funcionalmente eficaz en un alimento o categoría de alimentos y, que ha acordado que es inocua. Se expresa como mg de aditivo por kg de alimento.

embargo, sí existen varias metodologías publicadas en diferentes revistas científicas para dicho fin; las cuales se encuentran avaladas por la AOAC.

Según Dossi, et al. (2,006) los métodos más prometedores para la detección de aditivos alimentarios son aquellos que se basan en procedimientos de separación, entre ellos están la Electroforesis capilar (CE, por sus siglas en inglés) y la Cromatografía⁸ Líquida de Alta Resolución (High Performance Liquid Chromatography, HPLC). Armeta, et. al. (2,004), indica que la Cromatografía Líquida de Alta Resolución es el método más usado hoy en día para detectar aspartame y otros aditivos alimentarios, basándose en un flujo isocrático con fase reversa y detección por absorbancia ultravioleta (Morales, 2007, p. 22).

Es por lo anterior, que para la cuantificación de aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta de tres marcas que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala; se utilizará un método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) recomendado por la Asociación Oficial de Analistas Químicos (Association of Official Analytical Chemists, AOAC) en una de las revistas científicas del Journal of the Association of Official Analytical Chemists (JAOAC) (Veerabhadrao, Narayan, & Kapur, 1987).

⁸ La cromatografía en general 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 (Scott, 2003). 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 (Yost, et al., 1980).

3.4 Estudios Previos

En Guatemala aún no existen estudios realizados en alimentos dietéticos o popularmente llamados alimentos “light”. Los estudios que actualmente se encuentran son investigaciones realizadas en alimentos tradicionales, e involucran la cuantificación de otros tipos de aditivos alimentarios; dentro de ellas cabe mencionar:

- A. Sandoval, A. S. (2,006) cuantificó la cantidad de cafeína presente en las bebidas carbonatadas de mayor consumo por niños de edad escolar y preadolescentes, en colegios privados de la ciudad de Guatemala, utilizando un método de Espectrofotometría UV/Vis; determinando que la cantidad de cafeína presente en dichas bebidas cumple con la norma COGUANOR 34-154 (Sandoval, 2006).
- B. Marroquín, D. E. (2,004) determinó el contenido de sacarosa en las bebidas carbonatadas de mayor consumo en Guatemala utilizando dos métodos (Refractometría y Polarimetría); determinando que la cantidad de sacarosa presente en dichas bebidas cumple con la norma COGUANOR 34-154 (Marroquín, 2004).
- C. López, T. H. (1,996) desarrolló una técnica específica para la determinación de algunos edulcorantes, saborizantes y preservantes en bebidas carbonatas por Cromatografía Líquida de Alta Presión (López, 1996).

Sin embargo, existen estudios de orden internacional acerca del análisis cuantitativo del aspartame y otros aditivos alimentarios presentes en las bebidas carbonatadas de dieta y en otros alimentos light, que permiten también incorporar elementos de juicio para el mejoramiento de los controles de calidad internos; algunos de ellos son:

- A.** Morales, J. E. (2,007) desarrolló una curva de calibración para la detección y cuantificación simultánea de aspartame y acesulfame-K, utilizando Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) (Morales, 2007).
- B.** Qing-chuan, C., et al. (1,997) propusieron un método de Cromatografía de Intercambio Aniónico de Alta Resolución, para la separación y determinación de cuatro edulcorantes artificiales (sacarina sódica, aspartame, ciclamato sódico y acesulfame-K) y ácido cítrico. El método fue exitoso para la determinación de los edulcorantes en bebidas y polvos endulzantes de mesa (Qing-Chuan, Shi-fen, Ke-na, Zu-ying, & Zhe-ming, 1997).
- C.** Lawrence, J. F. & Charbonneau, C. F. (1,988) reportaron que en Ottawa, Canadá; el Departamento de Seguridad Química de la División de Investigación de Alimentos, desarrolló un método para la determinación de siete edulcorantes artificiales (aspartame, acesulfame-K, sacarina, ciclamato, alitame, sucralosa y dulcín) en alimentos dietéticos (bebidas gaseosas, polvos para bebidas, pudines y cubiertas de postres) (Lawrence & Charbonneau, 1988).
- D.** Isaac, H. J., et al. (1,986) describieron un procedimiento para la determinación cualitativa y cuantitativa del aspartame, la cafeína y el benzoato de sodio en las bebidas suaves de dieta (Morales, 2007).
- E.** Tsang, W. S., et al. (1,985) presentaron un método rápido para la determinación de aspartame y sus productos de descomposición en bebidas carbonatadas suaves que se habían almacenado a $22 \pm 1^\circ\text{C}$ por largo tiempo (Tsang, Clarke, & Parrish, 1985).

- F. Tyler, T. A., et al. (1,984) investigaron una técnica por Cromatografía Líquida (LC) para la determinación de sacarina sódica, cafeína, aspartame y benzoato de sodio en bebidas de cola que posean color caramelo (Tyler, 1984).

4. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad la preocupación de las personas por bajar de peso, mantener un estilo de vida saludable y controlar ciertas condiciones médicas como la hipertensión y la diabetes, aunado al surgimiento de nuevas tendencias y la promoción de un sin fin de productos alimenticios por el desarrollo de la industria alimenticia; ha provocado un aumento en el consumo de los denominados alimentos light.

En Guatemala, los alimentos light más representativos son las bebidas carbonatadas de dieta o llamadas popularmente gaseosas light (LatinPanel ConsumerWatch, 2007), alimentos en los que se suele emplear edulcorantes artificiales para su fabricación; siendo el aspartame uno de los más populares para dicho fin.

En los últimos años, la preocupación sobre la presencia de edulcorantes artificiales en los alimentos ha crecido, debido a los diversos efectos secundarios que se han descrito por el consumo de éstos. Es por lo que hoy en día, el uso de aditivos alimenticios en diferentes países está limitado por regulaciones específicas. Sin embargo, Guatemala aún no cuenta con una normativa obligatoria que vele por el uso adecuado de los aditivos alimentarios; utilizando para el control de calidad de los alimentos light, normas internacionales establecidas por el *Codex Alimentarius*.

Es por lo anterior, que se consideró importante determinar la concentración de aspartame presente en las bebidas carbonatadas de dieta de tres marcas que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala, con el fin de verificar el cumplimiento en el uso correcto del edulcorante como aditivo alimentario, según la Norma General del *Codex Alimentarius* para los Aditivos Alimentarios (CODEX STAN 192-1995); y así poder proporcionar información útil a las autoridades sanitarias nacionales, para la toma de acciones que aseguren un mejor control y seguimiento en la fabricación de las bebidas carbonatadas de dieta, certificando así la calidad e inocuidad de estos productos consumidos por la población guatemalteca.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar mediante un método cuantitativo la cantidad de aspartame presente en las bebidas carbonatadas de dieta de tres marcas que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

5.2.1 Aplicar un método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) a una muestra representativa de bebidas carbonatadas de dieta, para la cuantificación de aspartame.

5.2.2 Verificar si la concentración de aspartame presente en las bebidas carbonatadas de dieta de tres marcas que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala, cumple con lo especificado en la Norma General del *Codex Alimentarius* para los Aditivos Alimentarios (CODEX STAN 192-1995).

5.2.3 Comparar entre sí, la concentración de aspartame presente en cada una de las tres marcas de bebidas carbonatadas de dieta que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala.

6. HIPÓTESIS

La concentración de aspartame presente en una muestra de bebidas carbonatadas de dieta de tres marcas que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala no cumple con lo especificado en la Norma General del *Codex Alimentarius* para los Aditivos Alimentarios (CODEX STAN 192-1995).

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo de Trabajo

Bebidas carbonatadas de dieta en presentación de 600mL y envase desechable, de tres marcas que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala.

7.2 Muestra

La muestra a estudiar será de diez unidades de cada una de las tres marcas de bebidas carbonatadas de dieta, en presentación de 600mL y envase desechable; que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala.

7.3 Materiales

A. Recursos Materiales

a. Equipo

1. Balanza analítica, marca Adventure™, OHAUS. Máx. Cap. 110g.
2. Bomba para filtrar, marca GAST™.
3. Potenciómetro, marca Thermo Orion™, modelo 410A.
4. Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución, marca Shimadzu®, con los siguientes módulos:
 - 4.1 Bomba modelo LC-20AT, Prominence® Liquid Chromatograph.
 - 4.2 Cámara para columna modelo CTO-20AC, Prominence® Column Oven.
 - 4.3 Columna cromatográfica Alltima® de acero inoxidable C¹⁸ (150mm * 4.6mm) equipada con un tamaño de partícula de 5µm.

4.4 Sistema de inyección con un loop de 10 μ L.

4.5 Detector UV/Vis modelo SPD-20A, Prominence®.

5. Jeringa de inyección Hamilton® de 100 μ L.
6. Interfase LINKSYS®.
7. UPS (Uninterruptible power supply) Eaton Powerware®.
8. Computadora.
9. Impresora.
10. Unidad filtradora.
11. Baño ultrasónico.

b. *Cristalería y material de laboratorio*

1. Envases de vidrio para Fase Móvil marca SCHOTT/DURAN®, capacidad 1,000mL.
2. Balones aforados de 25mL.
3. Beakers de 50mL.
4. Beakers de 250mL.
5. Beakers de 600mL.
6. Beakers de 1,000mL.
7. Kitasato de 1,000mL.
8. Probeta volumétrica de 25mL.
9. Probeta volumétrica de 100mL.
10. Probeta volumétrica de 250mL.
11. Micropipetas de plástico de 10mL.
12. Bureta volumétrica de 10mL.
13. Pipeta volumétrica de 5mL.
14. Pipeta volumétrica de 10mL.
15. Pipeta volumétrica de 20mL.

16. Pipeta volumétrica de 25mL.
17. Soporte para bureta.
18. Pinzas para bureta.
19. Bulbo o propipeta.
20. Espátula de metal.
21. Pizeta.
22. Jeringas desechables de 1mL.
23. Jeringas desechables de 3mL.
24. Filtros Gelman Nylon Acrodisc® 13, con poros de 0.45µm.
25. Membranas de Nylon Millipore® Tipo HV, con poros de 0.45µm.
26. Membranas de Nylon Millipore® Tipo HA, con poros de 0.45µm.

c. *Reactivos*

1. Agua desmineralizada.
2. Agua grado HPLC.
3. Metanol grado HPLC.
4. Hidróxido de tetrabutilamonio GR.
5. Ácido orto-fosfórico GR.

d. *Patrón*

1. Estándar primario de aspartame marca Sigma®, certificado al 99.0% por el Laboratorio Nacional de Salud de Guatemala.

B. *Método*

a. *Condiciones de trabajo del Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución (HPLC), marca Shimadzu®*

1. Fase móvil: Buffer de tetrabutilamonio-Metanol-Agua (50:10:40).

2. Bomba con flujo isocrático de 0.350mL/min y presión de 930-938psi (lb/pulg²).
3. Inyector con loop de 10µL.
4. Cámara del horno porta columna a temperatura de 40°C.
5. Columna cromatográfica C¹⁸ (150mm * 4.6mm * 5µm).
6. Detector UV/Vis a una longitud de onda de 210nm, con lámpara de Deuterio y 1.0000 AUFS (Absorbance Units Full Scale).

b. Procedimiento

1. Preparación del Buffer de Hidróxido de Tetrabutilamonio 0.11M (5mL/50mL)

- 1.1 Preparar 500mL de Buffer.
- 1.2 Medir con una pipeta volumétrica de 25mL, 50mL de Hidróxido de Tetrabutilamonio GR.
- 1.3 Depositar en un beaker de 600mL.
- 1.4 Adicionar 450mL de agua tridestilada.
- 1.5 Ajustar el pH a un valor de 3.07 con Ácido orto-fosfórico GR.
- 1.6 Filtrar la solución con una membrana de Nylon Millipore® Tipo HA (tamaño de poro de 0.45µm).

2. Preparación del disolvente de Buffer de Tetrabutilamonio-Metanol-Agua (50:10:40) para la elaboración de las soluciones patrón de aspartame y la muestra de bebidas carbonatadas de dieta

- 2.1 Preparar 500mL de disolvente.
- 2.2 Medir por separado en diferentes probetas volumétricas, 250mL de Buffer de Hidróxido de Tetrabutilamonio, 50mL de Metanol grado HPLC y 200mL de Agua grado HPLC.
- 2.3 Depositar los tres solventes en un beaker de 600mL.

- 2.4 Ajustar el pH a un valor de 2.62 con Ácido orto-fosfórico GR.
- 2.5 Filtrar con una membrana de Nylon Millipore® Tipo HA (tamaño de poro de 0.45µm).
- 2.6 Desgasificar en un baño ultrasónico por 15 minutos.

3. Preparación de la soluciones patrón de aspartame

3.1 *Elaboración de la solución madre con el estándar primario de aspartame (concentración de 2mg/mL).*

- 3.1.1 Pesar 0.0500g del estándar primario de aspartame.
- 3.1.2 Trasvasar a un balón aforado de 25mL con ayuda de agua tridestilada ajustada a pH 2 con Ácido orto-fosfórico GR.
- 3.1.3 Aforar con el disolvente preparado.

3.2 *Elaboración de las soluciones patrón para la curva de calibración.*

- 3.2.1 Aforar una bureta de 10mL con la solución madre.
- 3.2.2 Para obtener el primer punto de la curva tomar en un balón aforado de 25mL, 0.5mL de la solución madre.
- 3.2.3 Para obtener el segundo punto tomar en un balón aforado de 25mL, 1mL de solución madre.
- 3.2.4 Para obtener el tercer punto tomar en un balón aforado de 25mL, 2mL de la solución madre.
- 3.2.5 Para obtener el cuarto punto tomar en un balón aforado de 25mL, 3mL de la solución madre.
- 3.2.6 Para obtener el quinto punto tomar en un balón aforado de 25mL, 4mL de la solución madre.
- 3.2.7 Aforar cada solución con el disolvente preparado.

3.2.8 Las concentraciones que se obtendrán serán 0.04mg/mL, 0.08mg/mL, 0.16mg/mL, 0.24mg/mL y 0.32mg/mL, respectivamente.

4. Preparación de la muestra

- 4.1 Medir por separado en diferentes beakers, 50mL de cada unidad de 600mL de bebida carbonatada de dieta; por cada marca a estudiar.
- 4.2 Desgasificar en un baño ultrasónico por 15minutos, para remoción del dióxido de carbono.
- 4.3 Diluir por separado en balones aforados de 25mL, 15mL de las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca A; y aforar con el disolvente preparado.
- 4.4 Diluir por separado en balones aforados de 25mL, 20mL de las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca B; y aforar con el disolvente preparado.
- 4.5 Diluir por separado en balones aforados de 25mL, 10mL de las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca C; y aforar con el disolvente preparado.
- 4.6 Agitar cada uno de los balones aforados.
- 4.7 Filtrar por separado 10mL de cada uno de los balones aforados de cada una de las tres marcas, con filtros Gelman Nylon Acrodisc® 13 (tamaño de poro de 0.45µm) en la unidad filtradora.

5. Preparación de la Fase Móvil de Buffer de Tetrabutilamonio-Metanol-Agua (50:40:10)

- 5.1 Preparar 500mL de Fase Móvil.

- 5.2 Medir por separado en diferentes probetas volumétricas, 250mL de Buffer de Hidróxido de Tetrabutilamonio, 200mL de Metanol grado HPLC y 50mL de Agua grado HPLC.
- 5.3 Depositar en un beaker de 600mL.
- 5.4 Ajustar el pH a un valor de 2.62 con Ácido orto-fosfórico GR.
- 5.5 Filtrar la solución con una membrana de Nylon Millipore® Tipo HV (tamaño de poro de 0.45µm).
- 5.6 Desgasificar en un baño ultrasónico por 15 minutos.

6. Acondicionamiento del equipo de Cromatografía Líquida de Alta Resolución

Se pondrá a trabajar el equipo de HPLC, según como lo indique el Procedimiento Estándar de Operación (PEO) para el Manejo del Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución marca Shimadzu®.

7. Elaboración de la curva de estándar de calibración

- 7.1 Ya preparadas las soluciones patrón de aspartame.
- 7.2 Filtrar 10mL de cada una ellas por separado con filtros Gelman Nylon Acrodisc® 13 (tamaño de poro de 0.45µm) en la unidad filtradora.
- 7.3 Cargar la jeringa Hamilton® de 100µL con la solución de menor concentración, es decir, la del primer punto de la curva.
- 7.4 Inyectar la solución en el Sistema de Inyección del Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución (HPLC) marca Shimadzu®, para la obtención de los respectivos cromatogramas.
- 7.5 Proseguir la técnica inyectando las soluciones patrón en orden creciente de concentración.

7.6 Si dicho orden no se cumpliera, cargar la misma jeringa con una mezcla de Metanol-Agua (50:50) ambos grado HPLC e inyectar en el sistema; con el objetivo de remover cualquier residuo de la solución anteriormente inyectada.

7.7 La curva se realizará por quintuplicado, es decir, que se inyectarán cinco veces cada una de las soluciones patrón independientemente.

8. Análisis de la muestra

8.1 Una vez preparada la muestra de bebidas carbonatadas de dieta.

8.2 Cargar por separado la jeringa Hamilton® de 100µL con cada una de las bebidas.

8.3 Inyectar en el Sistema de Inyección del Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución (HPLC) marca Shimadzu®, para la obtención de los respectivos cromatogramas.

8.4 Entre cada inyección, cargar la misma jeringa con una mezcla de Metanol-Agua (50:50) ambos grado HPLC e inyectar en el sistema; con el objetivo de remover cualquier residuo de la solución anterior.

8.5 La muestra se analizará por duplicado.

9. Determinación de la concentración de aspartame en la muestra

El primer parámetro cromatográfico que se utilizará para la determinación del aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta de tres marcas que se expenden en los supermercados de la Ciudad de Guatemala, será el tiempo de retención⁹ del aspartame; dicho parámetro indicará si el edulcorante artificial presente en cada una de las tres marcas de bebidas carbonatadas de dieta es o no aspartame, ya

⁹ Es el tiempo entre la inyección de una muestra y la aparición del pico de un soluto en el detector del sistema cromatográfico.

que se comparará la posición de los picos, del cromatograma de la solución patrón con los cromatogramas de cada una de las tres marcas de bebidas carbonatada de dieta.

El segundo parámetro cromatográfico a utilizar, será el área bajo el pico cromatográfico, la cual se extrapolará en la ecuación de la curva de calibración; para obtener el valor de la concentración de aspartame presente en cada unidad de bebida carbonatada de dieta de cada una de las tres marcas a estudiar.

C. Diseño de la Investigación

a. Muestreo

En cuanto a las marcas comerciales de bebidas carbonatadas de dieta a estudiar, la muestra incluirá las tres marcas que poseen aspartame dentro de su formulación y que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala.

En relación con la cantidad de unidades de bebidas carbonatadas de dieta de cada una de las tres marcas comerciales, la muestra será seleccionada por conveniencia, a razón de diez unidades de bebidas carbonatadas de dieta por marca; ya que no existe ninguna normativa nacional o internacional sobre el tema.

El muestreo se realizará en diferentes supermercados de la Ciudad de Guatemala seleccionados al azar, asegurándose que cada unidad de bebida carbonatada de dieta de cada una de las tres marcas comerciales; provenga de lote diferente.

b. Análisis de resultados

Los resultados se analizarán en forma descriptiva por cada una de las tres marcas de bebidas carbonatadas de dieta, haciendo uso de la media aritmética y la desviación estándar; para evaluación de la distribución de los resultados.

Se elaborará una gráfica de Tukey utilizando cinco medidas estadísticas: el valor mínimo, el primer cuartil, la mediana, el tercer cuartil y el valor máximo; con el objetivo de conocer la simetría de los datos. Además, el análisis de resultados no sólo permitirá describir la situación por cada una de las tres marcas de bebidas carbonatadas de dieta; sino también permitirá la comparación entre marcas.

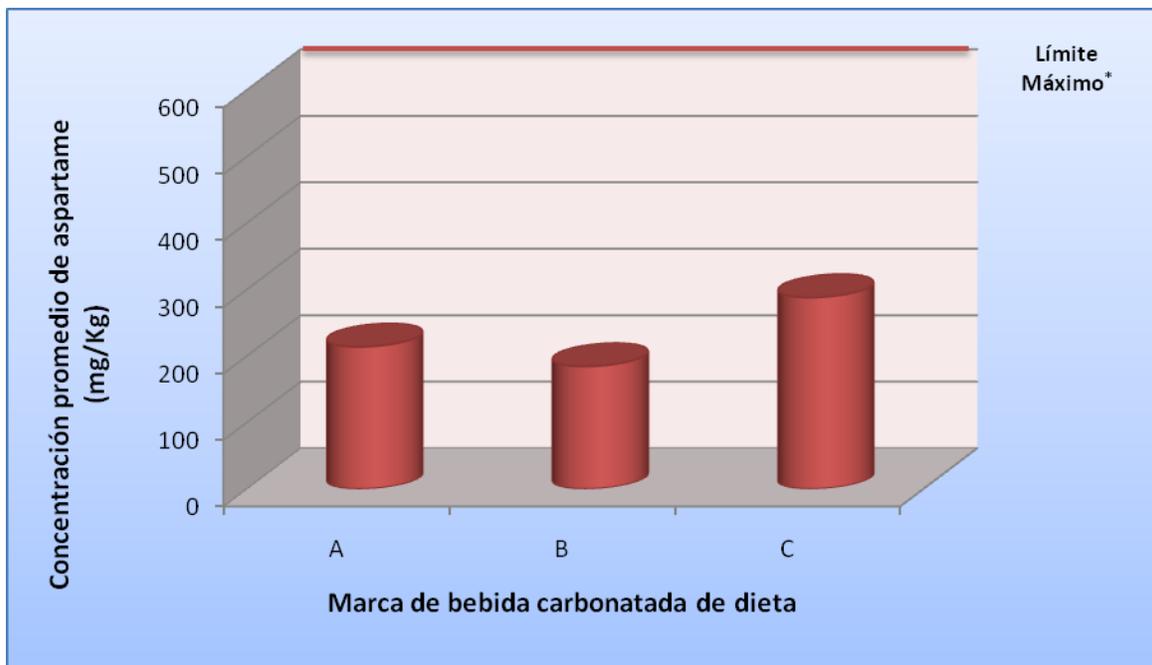
Asimismo, se compararán los resultados obtenidos con cada una de las tres marcas de bebidas carbonatadas de dieta, con el valor legal establecido en la Norma General CODEX STAN 192-1995 para el uso del aspartame como aditivo alimentario; con el fin de clasificar los resultados en base a la frecuencia del cumplimiento de dicha norma.

Por último, cabe mencionar que todos los resultados numéricos que se obtengan se representarán por medio de gráficas.

8. RESULTADOS

Gráfica 1

Comparación de la concentración promedio de aspartame entre las tres marcas de bebidas carbonatadas de dieta.

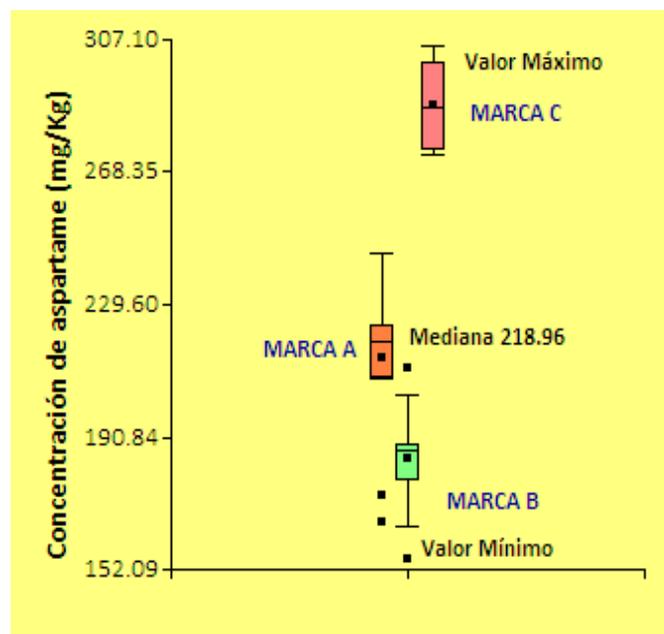


Fuente: datos experimentales.

* Establecido por la Comisión del *Codex Alimentarius* en la Norma General para los Aditivos Alimentarios (CODEX SATN 192-1995) para el uso de aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta.

Gráfica 2

Distribución de los valores promedio de la concentración de aspartame de las bebidas carbonatadas de dieta de las tres marcas.



Fuente: datos experimentales.

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El número de marcas de bebidas carbonatadas de dieta que contienen como edulcorante artificial el aspartame y se comercializan en el país es reducido; por lo tanto, la cuantificación de éste edulcorante se realizó en las tres marcas que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala y no fue necesario efectuar un estudio de mercado para realizar el muestreo representativo, pues se seleccionaron todas las marcas. Las tres marcas estudiadas se denominaron Marca A, B y C, respectivamente.

Se aplicó un método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) recomendado por la Asociación Oficial de Analistas Químicos (Association of Official Analytical Chemists, AOAC) en una de las revistas científicas del Journal of the Association of Official Analytical Chemists (JAOAC). Sin embargo, se realizaron modificaciones para que el método se ajustara a las condiciones de trabajo utilizadas. Fue necesario cambiar el buffer de la fase móvil (Buffer de Acetato) por un compuesto voluminoso (hidróxido de tetrabutilamonio), cuya estructura molecular al unirse a la fase estacionaria en la columna, impidió que el aspartame presente en las bebidas carbonatadas de dieta fuera retenido con mayor fuerza por la fase estacionaria debido a su carácter iónico; logrando así que la elución del aspartame fuera más rápida. Además, se añadió Ácido orto-fosfórico GR a la fase móvil para modificar el pH a un valor ácido (2.62), lo cual fue necesario porque el aspartame se disocia si se encuentra en una solución cuyo pH es mayor de 5; asimismo, el pH ácido logró que la solubilidad del aspartame aumentará por encontrarse en su forma ionizada. Otro cambio que se realizó fue la disminución de la velocidad de flujo de la bomba del cromatógrafo, el método especifica una velocidad de 2.0mL/min y ésta se redujo a 0.350mL/min tanto para la elaboración de la curva de calibración como para el análisis de la muestra de bebidas carbonatadas de dieta. Esta modificación permitió la separación del aspartame del resto de ingredientes de la bebida y aseguró la exactitud en la cuantificación de dicho edulcorante; lo cual se evidenció en la inexistencia de picos superpuestos en el cromatograma (Ver Anexo 2).

La temperatura de la columna también se cambió de 25°C a 40°C, con lo cual se disminuyó la viscosidad de la fase móvil y se aceleró el proceso de elución. Y por último, se preparó un disolvente (Buffer de Tetrabutilamonio-Metanol-Agua (50:10:40)) cuya composición fue muy similar a la de la fase móvil (Buffer de Tetrabutilamonio-Metanol-Agua (50:40:10)), con el objetivo de igualar las condiciones de análisis entre las soluciones patrón y las muestras.

Para determinar la presencia de aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta de las tres marcas, se utilizó el parámetro cromatográfico del tiempo de retención del aspartame, el cual se determinó mediante la inyección del estándar primario; obteniendo un valor promedio de 6.16 minutos (Ver Anexo 3). Este valor es un tanto diferente que los valores promedio de las muestras analizadas (Ver Anexos 4-6), probablemente porque la elaboración de la curva y el análisis de las muestras se realizaron en días diferentes; por lo que variaron las condiciones de trabajo. Por lo tanto, para asegurar la identidad del pico cromatográfico a cuantificar y comprobar la reproducibilidad del tiempo de retención, se inyectó el estándar cada tres inyecciones de bebida carbonatada de dieta.

Por otra parte, para obtener la concentración de aspartame en cada unidad de bebida carbonatada de dieta de las marcas estudiadas, se realizó una curva de calibración utilizando las siguientes concentraciones de aspartame 0.04, 0.08, 0.16, 0.24 y 0.32mg/mL. Se realizaron cinco repeticiones de la curva de calibración, obteniendo un total de 25 valores con los cuales se calculó la ecuación de la recta con un coeficiente de correlación ($R = 0.9997117$); éste valor cercano a la unidad indica que tanto la concentración de aspartame como el área bajo el pico poseen una correlación positiva perfecta. Es decir, que un aumento en la concentración de aspartame conlleva un aumento del área bajo el pico cromatográfico en proporción constante (Ver Anexo 3).

Utilizando la ecuación de la recta y el promedio del área bajo el pico cromatográfico de cada una de las bebidas, se obtuvo la concentración promedio de aspartame para cada

una de las muestras en estudio. Sin embargo; debido a que cada marca posee una formulación diferente, fue necesario diluirlas para obtener concentraciones de aspartame dentro del rango de la curva de calibración. El factor de dilución para la Marca A fue de 0.6, para la Marca B de 0.8 y para la Marca C de 0.4; observándose así, que la Marca B fue la menos diluida y la Marca C la más diluida.

Este factor de dilución y la densidad de cada marca (Ver Anexo 7) se utilizaron para expresar los resultados obtenidos en miligramos de aspartame por kilogramo de bebida (Ver Anexos 4-6), para así compararlos con la concentración máxima de 600mg/Kg de alimento, establecida por la Norma General para los Aditivos Alimentarios (CODEX STAN 192-1995). Por tanto, según lo expuesto en los párrafos anteriores se logró aplicar un método de HPLC que permite la separación, identificación y cuantificación del aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta de tres marcas que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala.

Por otro lado, al analizar la Gráfica 1 se puede observar que todas las marcas de bebidas carbonatadas de dieta poseen un valor promedio de la concentración de aspartame menor que el valor máximo establecido en la Norma General para Aditivos Alimentarios (CODEX STAN 192-1995), por lo tanto, se puede aseverar que el 100% de las muestras analizadas cumple con la especificación de la norma; por lo que se rechaza la hipótesis planteada.

Ahora bien, si comparamos las marcas de bebidas carbonatadas de dieta entre sí, se observa que la distribución de los valores promedio de la concentración de aspartame en cada una de las marcas es variable (Ver Anexos 8-10); siendo la Marca C la que presenta menos variabilidad, seguida por la Marca B y de último la Marca A (Ver Gráfica 2). La dispersión encontrada, indica que existe diferencia entre un lote de bebidas y otro aunque pertenezcan a la misma marca. Esta situación podría deberse a que el análisis de cada una de las marcas de bebidas carbonatadas de dieta se realizó en días diferentes, existiendo

cambios incidentes como: la temperatura ambiente, condiciones de trabajo, acondicionamiento del equipo, etc. Asimismo, se puede sospechar acerca del proceso de fabricación de las bebidas carbonatadas de dieta de las marcas estudiadas, pues al no obtener resultados reproducibles puede inferirse que el proceso no está validado. Esto permite deducir que la Marca C, es la que reúne mejores condiciones de proceso, dada la poca variabilidad que presentó.

Además, a partir de la comparación entre marcas se puede observar que la Marca C posee mayor cantidad de aspartame, seguida por la Marca A y por último la Marca B (Ver Gráficas 1 y 2). Lo cual si se considera la Ingesta Diaria Admisible (IDA) establecida para el aspartame en los Estados Unidos (50mg/Kg) y en Europa y Canadá (40mg/Kg), un individuo de 70Kg de peso tendría que consumir 16 ó 13 bebidas carbonatadas de dieta de 600mL de la Marca A; 19 ó 15 bebidas de 600mL de la Marca B; y 12 ó 10 bebidas de 600mL de la Marca C. Sin embargo, esta cantidad de bebidas carbonatadas de dieta no es ingerida habitualmente por los consumidores, pero pueden ingerir otro tipo de productos que contengan aspartame, alcanzando así la Ingesta Diaria Admisible (IDA). Por lo tanto, las entidades sanitarias nacionales que regulan los alimentos, deben monitorear periódicamente la calidad de los mismos.

Por último, es importante mencionar que para la cuantificación de aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta, no existía previamente un método exclusivo para la cuantificación de dicho edulcorante; pues el mismo se utilizaba para determinar la cantidad de otro tipo de aditivos alimentarios (otros edulcorantes artificiales, preservantes, cafeína, etc.). Por lo tanto, fue necesario realizar las modificaciones que se describen en párrafos anteriores; habiéndose logrado lo siguiente: se alcanzó selectividad para el análisis del contenido de aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta; y la linealidad del método aplicado y propuesto, permitió establecer amplia correlatividad entre la concentración de aspartame y la altura del pico cromatográfico; constituyendo un indicio que lo hace valioso para su posterior validación en un trabajo de investigación futuro.

Los logros mencionados anteriormente, permitieron la cuantificación confiable del contenido de aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta de las tres marcas que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala. En consecuencia, el método aplicado constituye un avance para el análisis cuantitativo del aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta.

10. CONCLUSIONES

10.1 El método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) constituye una herramienta confiable para la separación, identificación y cuantificación del aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta de tres marcas que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala.

10.2 La concentración de aspartame presente en la muestra de bebidas carbonatadas de dieta de tres marcas que se expenden en supermercados de la Ciudad de Guatemala, cumple con la especificación de la Norma General del *Codex Alimentarius* para los Aditivos Alimentarios (CODEX STAN 192-1995); por lo tanto, se rechaza la hipótesis inicialmente planteada.

10.3 Los niveles de aspartame encontrados en las bebidas carbonatadas de dieta, variaron de acuerdo a la marca; presentando mayor cantidad de edulcorante la Marca C, seguida por la Marca A y por último la Marca B.

10.4 Existe diferencia significativa entre un lote de bebidas carbonatadas de dieta y otro para cada una de las marcas, al observarse dispersión en los resultados de la concentración de aspartame; probablemente por la falta de controles internos durante la fabricación de las bebidas.

10.5 Los logros alcanzados con el método cromatográfico propuesto, permiten identificar la oportunidad de realizar un trabajo de investigación posterior; que se centre en la validación del método de cuantificación sugerido en la investigación.

11. RECOMENDACIONES

11.1 El método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) propuesto en el presente trabajo debe ser validado, para aprovechar las mejoras incorporadas y brindar una alternativa analítica al ente regulador.

11.2 Realizar estudios similares para la cuantificación de los niveles de aspartame presentes en otros tipos de alimentos, como la goma de mascar light, los aderezos dietéticos, yogures, néctares, postres, etc.

11.3 Fortalecer el control por parte de las autoridades sanitarias nacionales hacia los alimentos dietéticos, con el objetivo de asegurar la calidad de los mismos.

12. REFERENCIAS

1. (2004). Propiedades de las disoluciones. En T. L. Brown, *Química: La ciencia central* (9a ed., pág. 496). México: Pearson Educación.
2. Capitán, L. F. (2004). Intense Sweeteners. En L. Nollet, *Handbook of food analysis* (2a ed., Vol. 2, págs. 484-485). Nueva York, EE. UU.: Marcel Dekker.
3. Codex Alimentarius. (2010). *Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios, CODEX STAN 192-1995*.
4. Codex Alimentarius. (2010). *Norma General para el Etiquetado de los Alimentos Preenvasados, CODEX STAN 1-1985*.
5. Comisión Guatemalteca de Normas. (1985). *Norma Guatemalteca Obligatoria NGO 34-154; bebidas carbonatadas, aguas gaseosas con y sin sabor especificaciones*. Guatemala.
6. Comisión Guatemalteca de Normas. (1992). *Norma Guatemalteca Obligatoria NGO 34-192; aditivos alimentarios permitidos para consumo humano*. Guatemala.
7. Comisión Guatemalteca de Normas. (2010). *Reglamento Técnico Centroamericano; alimentos y bebidas procesadas, aditivos alimentarios*. Guatemala.
8. Comisión Guatemalteca de Normas. (2004). *Reglamento Técnico Unión Aduanera Centroamericana; etiquetado general de los alimentos previamente envasados (preenvasados)*. Guatemala.

9. Comisión Nacional de Normalización Técnica y Calidad. (2000). *Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense NTON 03 030-00; bebidas carbonatadas*. Ministerio de Fomento, Industria y Comercio, Nicaragua.
10. Fundación Eroski. (s.f.). *Eroski Consumer*. Recuperado el 22 de julio de 2010, de <http://www.consumer.es/alimentacion/aprender-a-comer-bien/alimentos-light/que-es-un-alimento-light/>
11. Furia, T. E. (1980). *Handbook of food additives* (2a ed., Vol. 2). Florida, EE. UU.: CRC Press.
12. González, R. (2003). *Norma sanitaria para registro de productos denominados como alimentos con propósitos médicos especiales, suplementos dietéticos y productos de origen animal y vegetal*. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud, Guatemala.
13. Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company. (s.f.). *Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar*. Recuperado el 14 de octubre de 2010, de <http://www.thebeverageinstitute.com/es/ingredients/aspartame.shtml>
14. Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar de The Coca-Cola Company. (s.f.). *Instituto de Bebidas para la Salud y el Bienestar*. Recuperado el 17 de noviembre de 2010, de <http://www.thebeverageinstitute.com/es/faq/index.shtml>
15. Kantor, M. (1990). Light Dairy Products: The need and the consequences. *Food Technology* (44), 478-494.

16. Lawrence, J., & Charbonneau, C. (1988). Determination of seven artificial sweeteners in diet food preparations by reverse-phase liquid chromatography with absorbance detection. *J. Assoc. Off. Anal. Chem*, 5 (71), 934-937.
17. López, T. (1996). *Desarrollo de una técnica específica para la determinación de algunos edulcorantes, saborizantes y preservantes en bebidas carbonatadas, por cromatografía líquida de alta presión*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
18. Marroquín, D. (2004). *Determinación de sacarosa en bebidas carbonatadas*. Tesis Licenciatura en Química Farmacéutica, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
19. Menchú, M., & Méndez, H. (2007). *Tabla de composición de alimentos de Centroamérica* (2a ed.). (O. P. Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá, Ed.) Guatemala.
20. Morales, J. (2007). *Cuantificación de aspartame y acesulfame-k por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)*. Tesis Licenciatura Agroindustria Alimentaria, Universidad de Zamorano, Honduras.
21. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. (1997). *Noticias FAO*. Recuperado el 11 de Mayo de 2010, de <http://www.fao.org/noticias/1997/970706-s.htm>
22. Palacios, J. (s.f.). *monografias.com*. Recuperado el 20 de septiembre de 2010, de <http://www.monografias.com/trabajos68/bebidas-carbonatadas/bebidas-carbonatadas.shtml>

23. Palomino, L. (2007). *monografias.com*. Recuperado el 12 de octubre de 2010, de <http://www.monografias.com/trabajos71/alimentos-light-distribucion-macronutrientes/alimentos-light-distribucion-macronutrientes2.shtml>
24. Qing-Chuan, C., Shi-fen, M., Ke-na, L., Zu-ying, Y., & Zhe-ming Ni. (1997). Separation and determination of four artificial sweeteners and citric acid by high-performance anion-exchange chromatography. *Journal of Chromatography A* (771), 135-143.
25. Sandoval, A. (2006). *Cuantificación de cafeína en bebidas carbonatadas de mayor consumo por niños en edad escolar y preadolescentes, en colegios privados de la Ciudad Capital*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
26. Tsang, W., Clarke, M., & Parrish, F. (1985). Determination of aspartame and its breakdown products in soft drinks by reverse-phase chromatography with UV detection. *J. Agric. Food Chem* (33), 734-738.
27. Tyler, T. (1984). Liquid chromatography determination of sodium saccharin, caffeine, aspartame and sodium benzoate in cola beverages. *J. Assoc. Off. Anal. Chem* , 4 (67), 745-747.
28. Veerabhadrrao, M., Narayan, M., & Kapur, O. (1987). Reverse Phase Liquid Chromatographic Determination of Some Food Additives. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* , 70 (3), 578-582.

Anexo 1

NORMA GENERAL DEL CODEX PARA LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS (CODEX SATN 192-1995)

TABLA 1

Valores de la dosis máxima permitida para el aspartame en las diferentes categorías de alimentos.

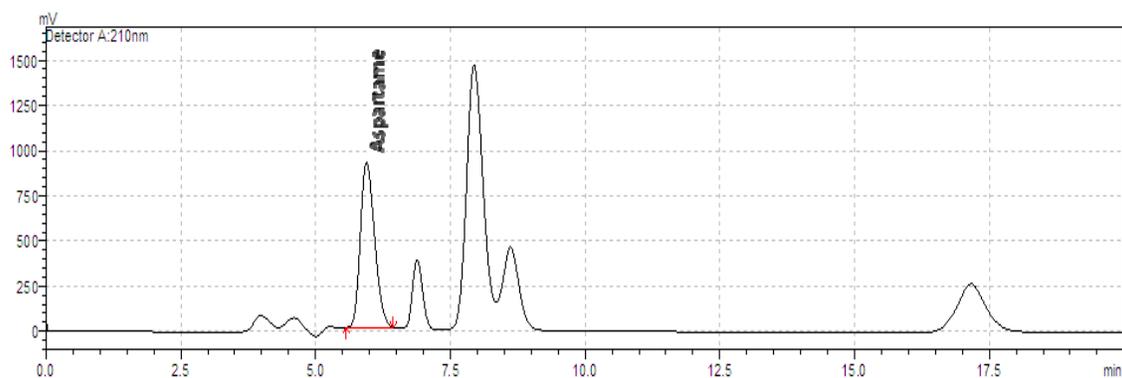
ASPARTAME INS 951 Función: Acentuador del aroma, edulcorante artificial.			
<i>No. categoría de alimentos</i>	<i>Categoría de alimentos</i>	<i>Dosis máxima</i>	<i>Observaciones</i>
01.1.2	Bebidas lácteas, saborizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero)	600 mg/kg	
01.3.2	Blanqueadores de bebidas	6000 mg/kg	
01.4.4	Productos similares a la nata (crema)	1000 mg/kg	
01.5.2	Productos similares a la leche y la nata (crema) en polvo	2000 mg/kg	
01.6.1	Queso no madurado	1000 mg/kg	
01.6.5	Productos similares al queso	1000 mg/kg	
01.7	Postres lácteos (p. ej., pudines, yogur aromatizado o con fruta)	3000 mg/kg	
02.3	Emulsiones grasas, principalmente del tipo agua en aceite, incluidos los productos a base de emulsiones grasas mezcladas y/o saborizadas	1000 mg/kg	
02.4	Postres a base de grasas, excluidos los postres lácteos de la categoría de alimentos 01.7	1000 mg/kg	
03.0	Hielos comestibles, incluidos los sorbetes	1000 mg/kg	
04.1.2.1	Frutas congeladas	2000 mg/kg	
04.1.2.2	Frutas desecadas	2000 mg/kg	
04.1.2.3	Frutas en vinagre, aceite o salmuera	300 mg/kg	Nota 144
04.1.2.4	Frutas en conserva enlatadas o en frasco (pasteurizadas)	1000 mg/kg	
04.1.2.5	Confituras, jaleas mermeladas	1000 mg/kg	
04.1.2.6	Productos para untar a base de fruta (p. ej., el chutney, excluidos los productos de la categoría de alimentos 04.1.2.5	1000 mg/kg	
04.1.2.7	Frutas confitadas	2000 mg/kg	
04.1.2.8	Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los revestimientos de fruta y la leche de coco	1000 mg/kg	
04.1.2.9	Postres a base de fruta, incluidos los postres a base de agua con aromas de fruta	1000 mg/kg	

04.1.2.10	Productos de fruta fermentada	1000 mg/kg	
04.1.2.11	Rellenos de fruta para panadería	1000 mg/kg	
04.1.2.12	Frutas cocidas o fritas	1000 mg/kg	
04.2.2.1	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y áloe vera) algas marinas y nueces y semillas congeladas	1000 mg/kg	
04.2.2.2	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y áloe vera), algas marinas y nueces y semillas desecadas	1000 mg/kg	
04.2.2.3	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) y algas marinas en vinagre, aceite, salmuera o salsa de soya	300 mg/kg	Nota 144
04.2.2.4	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos legumbres y leguminosas y aloe vera) y algas marinas en conserva, en latas o frascos (pasteurizadas) o en bolsas de esterilización	1000 mg/kg	
04.2.2.5	Purés y preparados para untar elaborados con hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera), algas marinas y nueces y semillas (p ej. la mantequilla de maní (cacahuete))	1000 mg/kg	
04.2.2.6	Pulpas y preparados de hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) algas marinas y nueces y semillas (como los postres y las salsas a base de hortalizas y hortalizas confitadas) distintos de los indicados en la categoría de alimentos 04.2.2.5.	1000 mg/kg	
04.2.2.7	Productos a base de hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) y algas marinas fermentadas, excluidos los producto fermentados de soja de la categoría 12.10	2500 mg/kg	
04.2.2.8	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) y algas marinas cocidas o fritas	1000 mg/kg	
05.1.1	Mezclas de cacao (en polvo) y cacao en pasta/tortas de cacao	3000 mg/kg	Nota 97
05.1.2	Mezclas de cacao (jarabes)	1000 mg/kg	
05.1.3	Productos para untar a base de cacao, incluidos rellenos a base de cacao	3000 mg/kg	
05.1.4	Productos de cacao y chocolate	3000 mg/kg	
05.1.5	Productos de imitación y sucedáneos del chocolate	3000 mg/kg	
05.2.1	Caramelos duros	3000 mg/kg	Nota 148
05.2.2	Caramelos blandos	3000 mg/kg	Nota 148
05.2.3	Turrón y mazapán	3000 mg/kg	
05.3	Goma de mascar	10000 mg/kg	
05.4	Decoraciones (p.ej., para productos de panadería fina), revestimientos (que no sean de fruta) y salsas dulces	1000 mg/kg	
06.3	Cereales para el desayuno, incluidos los copos de avena	1000 mg/kg	

06.5	Postres a base de cereales y almidón (p ej. pudines de arroz, pudines de mandioca)	1000 mg/kg	
07.1	Pan y productos de panadería ordinaria	4000 mg/kg	
07.2	Productos de panadería fina (dulces, salados, aromatizados) y mezclas	1700 mg/kg	Nota 165
09.2	Pescado y productos pesqueros elaborados, incluidos moluscos,	300 mg/kg	Nota 144
09.3	Pescado y productos pesqueros semiconservados, incluye moluscos, crustáceos y equinodermos	300 mg/kg	Nota 144
09.4	Pescado y productos pesqueros (incluidos los moluscos, crustáceos y equinodermos) en conserva, con inclusión de los enlatados y fermentados	BPM	Nota 144
10.4	Postres a base de huevo (p ej., flan)	1000 mg/kg	
11.4	Otros azúcares y jarabes (p ej., xilosa, jarabe de arce y revestimientos de azúcar)	3000 mg/kg	Nota 159
11.6	Edulcorantes de mesa, incluidos los que contienen edulcorantes de gran intensidad	BPM	
12.2.2	Aderezos y condimentos	2000 mg/kg	
12.3	Vinagres	3000 mg/kg	
12.4	Mostazas	350 mg/kg	
12.5	Sopas y caldos	600 mg/kg	
12.6	Salsas y productos similares	350 mg/kg	
12.7	Emulsiones para ensaladas (p.ej., la ensalada de macarrones, la ensalada de patatas (papas)) y para untar emparedados, excluidas las emulsiones para untar a base de cacao y nueces de las categorías de alimentos 04.2.2.5 y 05.1.3	350 mg/kg	Nota 166
13.3	Alimentos dietéticos para usos medicinales especiales (excluidos los productos de la categoría de alimentos 13.1)	1000 mg/kg	
13.4	Preparados dietéticos para adelgazamiento y control del peso	800 mg/kg	
13.5	Alimentos dietéticos (p.ej., los complementos alimenticios para usos dietéticos), excluidos los indicados en las categorías 13.1 - 13.4 y 13.6	1000 mg/kg	
13.6	Complementos alimenticios	5500 mg/kg	
14.1.3.1	Néctares de frutas	600 mg/kg	
14.1.3.2	Néctares de hortalizas	600 mg/kg	Nota 161
14.1.3.3	Concentrados para néctares de frutas	600 mg/kg	Nota 127
14.1.3.4	Concentrados para néctares de hortalizas	600 mg/kg	Nota 127
14.1.4	Bebidas a base de agua saborizada, incluidas las bebidas para deportistas, bebidas electrolíticas y bebidas con partículas añadidas	600 mg/kg	
14.1.5	Café, sucedáneos del café, té, infusiones de hierbas y otras bebidas calientes a base de cereales y granos, excluido el cacao	600 mg/kg	Nota 160
14.2.7	Bebidas alcohólicas saborizadas (p.ej., cerveza, vino y bebidas espirituosas tipo refresco, refrescos con bajo contenido de alcohol)	600 mg/kg	
15.0	Aperitivos listos para el consumo	500 mg/kg	

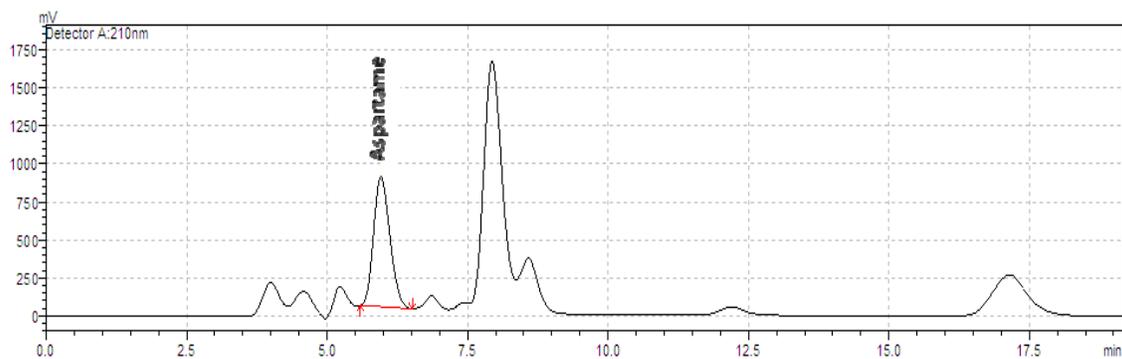
Anexo 2

Gráfica 1
Cromatograma general de las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca A.



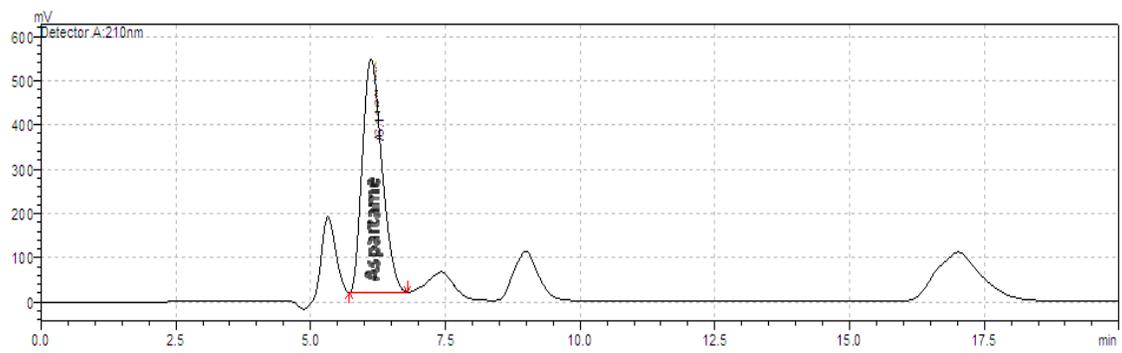
Fuente: datos experimentales.

Gráfica 2
Cromatograma general de las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca B.



Fuente: datos experimentales.

Gráfica 3
Cromatograma general de las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca C.



Fuente: datos experimentales.

Anexo 3

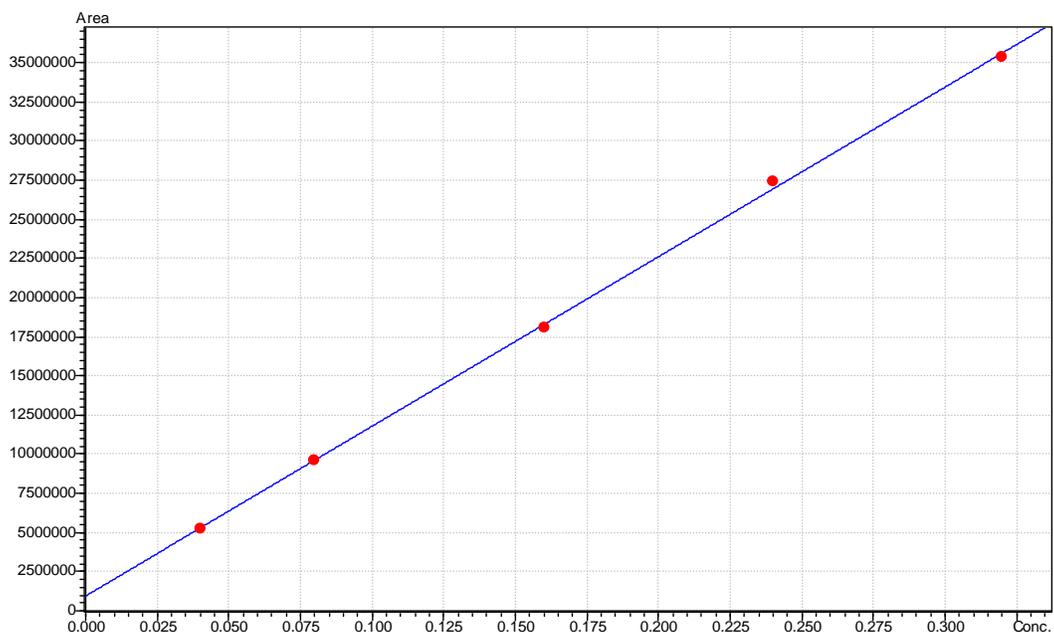
Tabla 1
Datos de la curva de calibración del aspartame.

<i>Concentración (mg/mL)</i>	<i>Promedio del tiempo de retención (min)*</i>	<i>Promedio del área del pico*</i>
0.04	6.104	5,278,065
0.08	6.165	9,575,691
0.16	6.161	18,104,369
0.24	6.201	27,446,315
0.32	6.189	35,342,421
Promedio	6.164	-----
Ecuación de la curva	$y = 1.083288E10^8x + 950136.9$	
Coefficiente de correlación	R = 0.9997117	

Fuente: datos experimentales.

* Se inyectaron cinco veces cada una de las soluciones patrón a su respectiva concentración para la elaboración de la curva estándar de calibración, los valores corresponden al promedio de las cinco inyecciones.

Gráfica 1
Curva de calibración del aspartame.



Fuente: datos experimentales.

Anexo 4

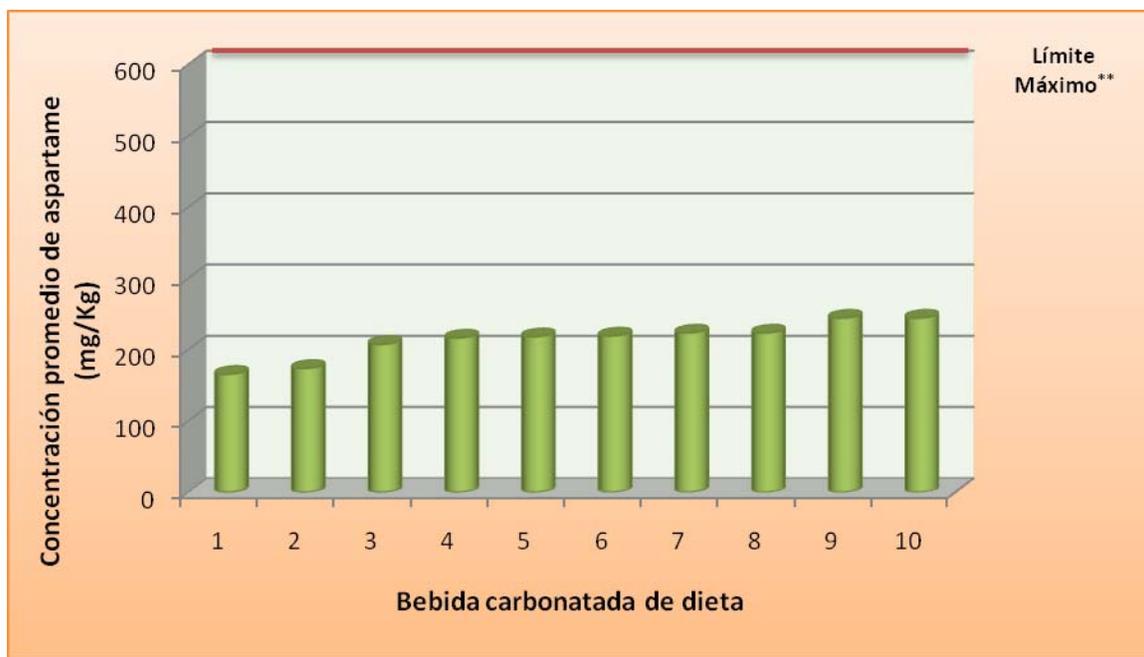
Tabla 1
Valores promedio de la concentración de aspartame en las bebidas carbonatadas de
dieta de la Marca A.

<i>Unidad</i>	<i>Tiempo de retención (min)</i>	<i>Área del pico</i>	<i>Concentración de aspartame (mg/Kg)</i>
A1	5.999	15484156	224.22
A2	5.987	15409151	223.06
Promedio*	5.993	15446653.5	223.64
B1	5.974	15482650	224.19
B2	5.963	15410077	223.07
Promedio	5.9685	15446363.5	223.63
C1	5.957	15191959	219.71
C2	5.951	15164167	219.28
Promedio	5.954	15178063	219.49
D1	5.956	14999008	216.73
D2	5.938	14976606	216.39
Promedio	5.947	14987807	216.56
E1	5.939	11674197	165.44
E2	5.94	11706744	165.94
Promedio	5.9395	11690470.5	165.69
F1	5.936	15124435	218.67
F2	5.936	15091740	218.16
Promedio	5.936	15108087.5	218.42
G1	5.946	16793351	244.41
G2	5.942	16804599	244.59
Promedio	5.944	16798975	244.5
H1	5.936	16858084	245.41
H2	5.939	16743220	243.64
Promedio	5.9375	16800652	244.53
I1	5.943	14467815	208.53
I2	5.929	14362346	206.91
Promedio	5.936	14415080.5	207.72
J1	5.939	12264737	174.55
J2	5.934	12190289	173.40
Promedio	5.9365	12227513	173.98

Fuente: datos experimentales.

* Se inyectaron dos veces cada una de las diez unidades de bebidas carbonatadas de dieta de la Marca A, los valores corresponden al promedio de las dos inyecciones.

Gráfica 1
Comparación de los valores promedio de la concentración de aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca A.



Fuente: datos experimentales.

** Establecido por la Comisión del *Codex Alimentarius* en la Norma General para los Aditivos Alimentarios (CODEX SATN 192-1995) para el uso de aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta.

Anexo 5

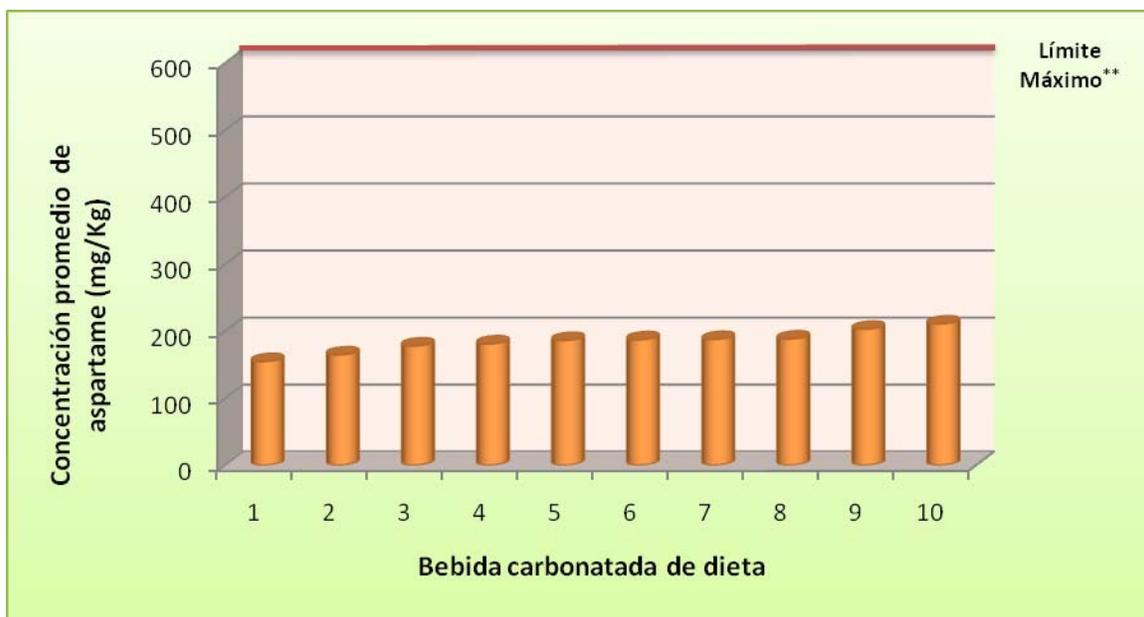
Tabla 1
Valores promedio de la concentración de aspartame en las bebidas carbonatadas de
dieta de la Marca B.

<i>Unidad</i>	<i>Tiempo de retención (min)</i>	<i>Área del pico</i>	<i>Concentración de aspartame (mg/Kg)</i>
A1	6.435	15275145	164.88
A2	6.494	15261089	164.72
Promedio*	6.4645	15268117	164.80
B1	5.997	18587324	203.01
B2	5.982	18586537	203.00
Promedio	5.9895	18586930.5	203.00
C1	5.985	17227687	187.36
C2	5.981	17234934	187.44
Promedio	5.983	17231310.5	187.40
D1	5.974	17320007	188.42
D2	5.973	17331481	188.55
Promedio	5.9735	17325744	188.49
E1	5.976	17110255	186.01
E2	5.971	17161089	186.59
Promedio	5.9735	17135672	186.30
F1	5.966	16394256	177.76
F2	5.961	16466256	178.59
Promedio	5.9635	16430256	178.18
G1	5.957	16713503	181.44
G2	5.955	16677576	181.03
Promedio	5.956	16695540.5	181.23
H1	5.962	19279535	210.97
H2	5.966	19264126	210.80
Promedio	5.964	16800652	210.89
I1	5.958	17349745	188.76
I2	5.953	17190297	186.93
Promedio	5.9555	17270021	187.84
J1	5.958	14446035	155.34
J2	5.961	14366983	154.43
Promedio	5.9595	14406509	154.89

Fuente: datos experimentales.

* Se inyectaron dos veces cada una de las diez unidades de bebidas carbonatadas de dieta de la Marca B, los valores corresponden al promedio de las dos inyecciones.

Gráfica 1
Comparación de los valores promedio de la concentración de aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca B.



Fuente: datos experimentales.

** Establecido por la Comisión del *Codex Alimentarius* en la Norma General para los Aditivos Alimentarios (CODEX SATN 192-1995) para el uso de aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta.

Anexo 6

Tabla 1
Valores promedio de la concentración de aspartame en las bebidas carbonatadas de
dieta de la Marca C.

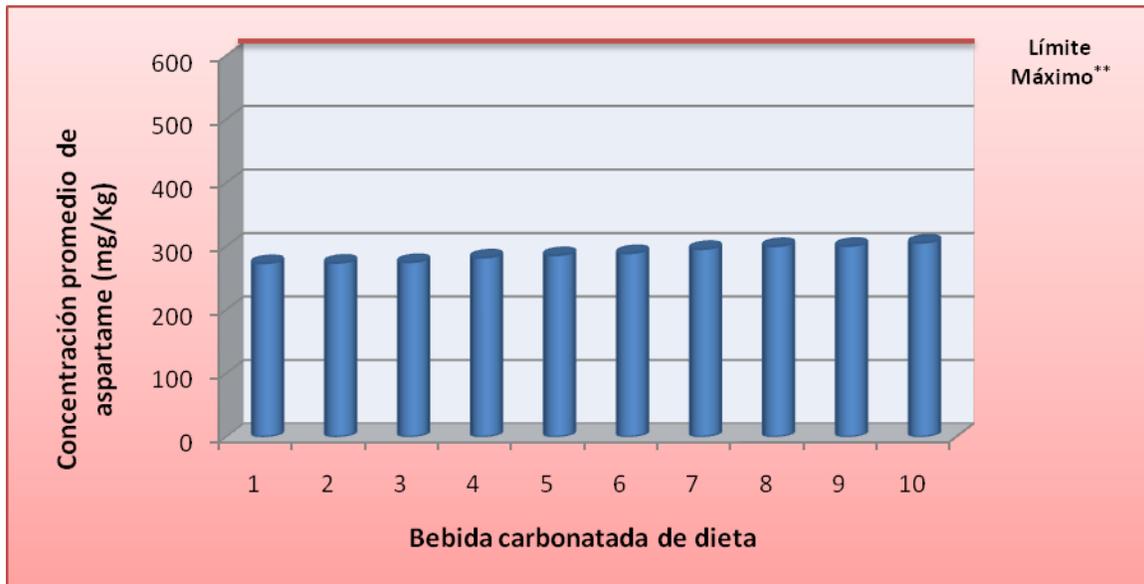
<i>Unidad</i>	<i>Tiempo de retención (min)</i>	<i>Área del pico</i>	<i>Concentración de aspartame (mg/Kg)</i>
A1	6.122	13595443	290.64
A2	6.113	13456320	287.44
Promedio *	6.1175	13525881.5	289.04
B1	6.116	13291712	283.65
B2	6.129	13163223	280.70
Promedio	6.1225	13227467.5	282.18
C1	6.158	12969270	276.24
C2	6.163	12768738	271.63
Promedio	6.1605	12869004	273.94
D1	6.023	13913618	297.95
D2	5.975	13715402	293.39
Promedio	5.999	13814510	295.67
E1	5.963	13442851	287.13
E2	5.952	13332995	284.60
Promedio	5.9575	13387923	285.87
F1	5.959	12948364	275.76
F2	5.957	12876935	274.12
Promedio	5.958	12912649.5	274.94
G1	5.974	12928259	275.30
G2	5.968	12748241	271.16
Promedio	5.971	12838250	273.23
H1	6.091	14037931	300.81
H2	6.05	14007489	300.11
Promedio	6.0705	14022710	300.46
I1	6.438	14319207	307.27
I2	6.436	14164418	303.71
Promedio	6.437	14241812.5	305.49
J1	6.412	14051829	301.12
J2	6.432	13971592	299.28
Promedio	6.422	14011710.5	300.20

Fuente: datos experimentales.

* Se inyectaron dos veces cada una de las diez unidades de bebidas carbonatadas de dieta de la Marca C, los valores corresponden al promedio de las dos inyecciones.

Gráfica 1

Comparación de los valores promedio de la concentración de aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca C.



Fuente: datos experimentales.

** Establecido por la Comisión del *Codex Alimentarius* en la Norma General para los Aditivos Alimentarios (CODEX SATN 192-1995) para el uso de aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta.

Anexo 7

Tabla 1

Valor de la densidad de las bebidas carbonatadas de dieta de cada una de las tres marcas.

Marca	Densidad (g/mL)
A	0.9973
B	1.0025
C	1.0041

Fuente: datos experimentales.

Anexo 8**Tabla 1**

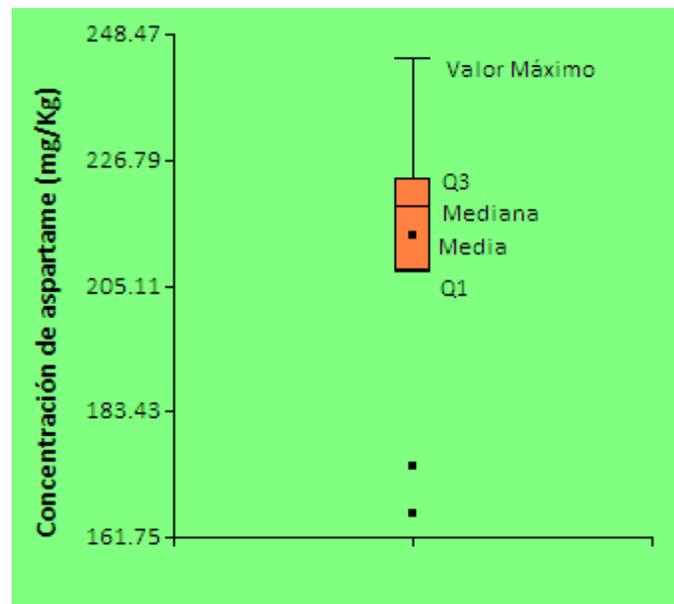
Medidas estadísticas obtenidas de los valores promedio de la concentración de aspartame de las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca A.

<i>Medida estadística</i>	<i>Valor</i>
<i>Desviación estándar</i>	25.99
<i>Coefficiente de variación</i>	12.16%
<i>Media</i>	213.82
<i>Valor mínimo</i>	165.69
<i>Primer cuartil</i>	209.93
<i>Mediana</i>	218.96
<i>Tercer cuartil</i>	223.64
<i>Valor máximo</i>	244.53

Fuente: datos experimentales.

Gráfica 1

Distribución de los valores promedio de la concentración de aspartame de las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca A.



Fuente: datos experimentales.

Anexo 9**Tabla 1**

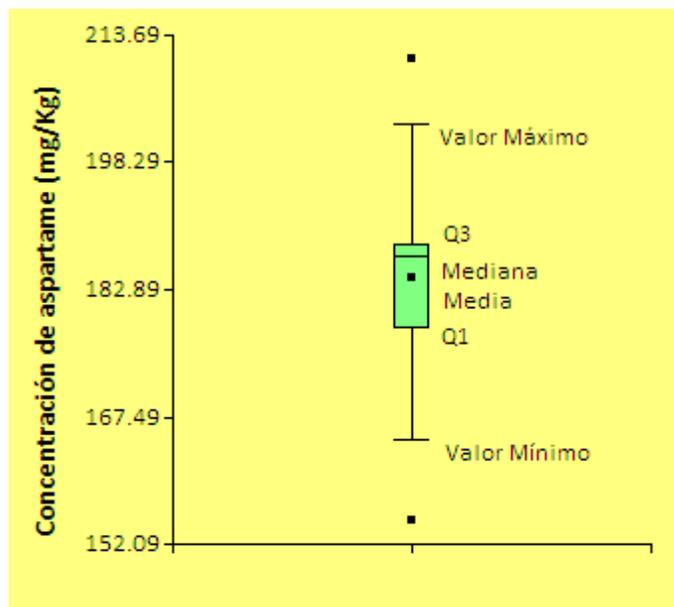
Medidas estadísticas obtenidas de los valores promedio de la concentración de aspartame de las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca B.

<i>Medida estadística</i>	<i>Valor</i>
<i>Desviación estándar</i>	16.30
<i>Coefficiente de variación</i>	8.84%
<i>Media</i>	184.30
<i>Valor mínimo</i>	154.89
<i>Primer cuartil</i>	178.94
<i>Mediana</i>	186.85
<i>Tercer cuartil</i>	188.33
<i>Valor máximo</i>	210.89

Fuente: datos experimentales.

Gráfica 1

Distribución de los valores promedio de la concentración de aspartame de las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca B.



Fuente: datos experimentales.

Anexo 10**Tabla 1**

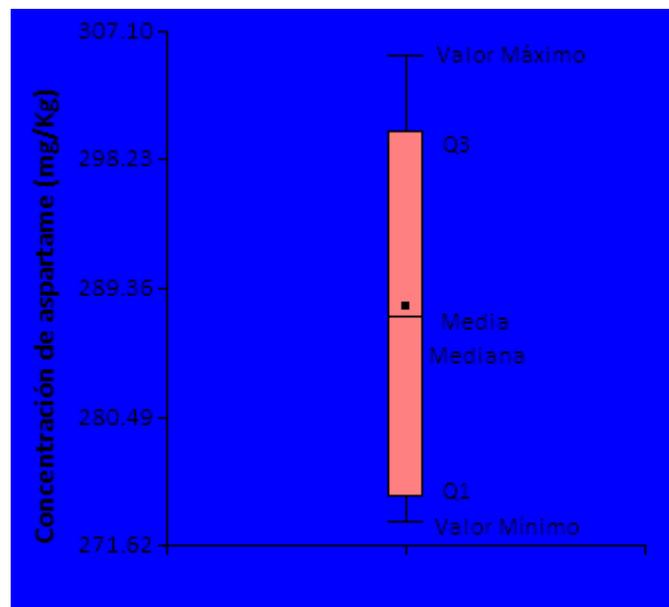
Medidas estadísticas obtenidas de los valores promedio de la concentración de aspartame de las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca C.

<i>Medida estadística</i>	<i>Valor</i>
<i>Desviación estándar</i>	11.99
<i>Coefficiente de variación</i>	4.16%
<i>Media</i>	288.10
<i>Valor mínimo</i>	273.23
<i>Primer cuartil</i>	276.75
<i>Mediana</i>	287.46
<i>Tercer cuartil</i>	299.07
<i>Valor máximo</i>	305.49

Fuente: datos experimentales.

Gráfica 1

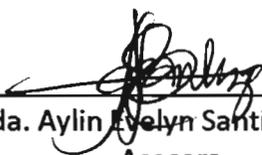
Distribución de los valores promedio de la concentración de aspartame de las bebidas carbonatadas de dieta de la Marca C.



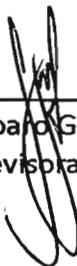
Fuente: datos experimentales.



Jennifer Alejandra Galdámez Monroy
Autora



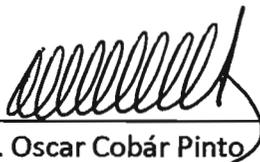
Licda. Aylin Evelyn Santizo Juárez
Asesora



Licda. Julia Amparo García Bolaños
Revisora



Licda. Alma Lucrecia Martínez de Haase
Directora de la Escuela de Química Farmacéutica



Dr. Oscar Cobár Pinto
Decano de la Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia