



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LABORATORIO DE TOXICOLOGIA
“DR. PABLO PAREDES VIVAS”**



**DETERMINACIÓN DE CAFEÍNA EN ORINA ASOCIADO AL CONSUMO
DE BEBIDA ENERGIZANTE, TÉ NEGRO Y CAFÉ MEDIANTE LA
TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE**

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Licenciados en Bioanálisis

Autores:

Humbert Gregorio Gomez

C.I: V-22.932.826

Cristy Georgina Salazar Blanco

C.I: V-19.529.135

Tutor:

Prof. Julio César Rojas Silva

Mérida, enero de 2024

DEDICATORIA

A Dios, por ser el inspirador y darme fuerzas para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados, dándome fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mi madre **Ana Mercy**, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ti he logrado llegar hasta aquí, por el apoyo ilimitado e incondicional que siempre me has dado, por tener la fortaleza de salir adelante sin importar los obstáculos, por creer y confiar en mí, no hay palabras en este mundo para agradecerte. Ha sido el orgullo y el privilegio de ser tu hijo, eres la mejor madre del mundo.

A mis hermanos **Elias Miguel, Oswaldo Rafael, Ricardo Baldemar** y mi sobrino **Richard**, por ser los motores más preciados de mi vida, a ellos todo mi amor, cariño y respeto, por brindarme consejos de superación; sin dejar de lado el apoyo espiritual y económico para lograr concretar este objetivo y de paso por ser partícipes de como poco a poco fui logrando mis metas.

A mis amistades **Pedro Manuel A, Génesis P., Luis T., Maite Q., Carolina A., Carlos Alberto C., Francisco P., Brenda A., Elisa S., Estefanía La Cruz., Liseth L., Oscar R., Sr. Carlos C., Gregori U.**, por haber estado en las buenas y en las malas en todo momento, gracias por su valiosa amistad. Y, mi compañera de tesis **Cristy Salazar**, que creyó en mí para sacar adelante este trabajo de investigación.

Humbert Gomez

AGRADECIMIENTOS

A Dios Todo Poderoso por estar siempre a nuestro lado guiándonos en todo momento.

A la Ilustre Universidad de los Andes, por permitirme cumplir esta meta y estar aun en pie formando los profesionales de hoy.

Al Laboratorio de Toxicología "Dr. Pablo Paredes Vivas" por abrirme las puertas y con la mejor disposición de prestar su colaboración para el desarrollo de esta investigación.

A mi tutor, Prof. Julio Rojas, excelente profesor quiero agradecer de manera muy especial por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección y que desde el primer momento me brindo su amistad, apoyo, paciencia y confianza.

Al Farmacéutico Luis Toloza, por su receptividad, aportes técnicos y sugerencias de gran utilidad y su valiosa ayuda.

A mi madre, porque creyó en mí y porque me sacó adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, porque en gran parte gracias a ti, hoy puedo ver alcanzada mi meta.

Humbert Gomez

DEDICATORIA

Dedico este trabajo primera mente a Dios, fuente de sabiduría, fortaleza y amor. Su guía constante y su gracia han sido mi sustento a lo largo de este camino académico. A Él le entrego el fruto de mis esfuerzos, agradecida por su inagotable bondad y misericordia.

A mi madre, quien con amor, sacrificio y ejemplo ha sido mi mayor inspiración. Su inquebrantable fe en mí y su contaste apoyo han sido la luz que ilumina mi camino. A ella, mi roca inquebrantable, le entrego con gratitud el fruto de mis esfuerzos, sabiendo que su amor es la fuerza que impulsa mis logros.

A mi querida hija, dedico este trabajo con mi amor. Tu dulce presencia ha sido mi mayor motivación y fuerza durante este desafío académico. Que este logro te inspire a perseguir tus propios sueños con valentía y determinación. Eres mi mayor orgullo y mi fuente de alegría constante.

Cristy Salazar

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, te agradezco a ti Dios por darme el valor y la fuerza para poder hacer de este sueño realidad. Por ponerme en este loco mundo, por estar a mi lado en cada momento de mi vida, por guiar mis pasos y darme inteligencia para poder terminar mi tesis, por cada regalo de gracia que me has dado y que inmerecidamente lo he recibido.

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a la Universidad de los Andes por brindarme el apoyo académico y la inspiración necesaria para llevar a cabo esta investigación.

Agradezco a mi Profesor y Tutor Dr. Julio Rojas por su orientación, paciencia inagotable y apoyo constante a lo largo de este proceso de investigación. Sus valiosas sugerencias, su dedicación y su compromiso han sido fundamentales para el desarrollo y la culminación de este trabajo académico.

A mi madre, Leonarda Blanco, hoy no solo quiero agradecerle por darme la vida, sino también por estar junto a mí en cada paso. Gracias, por tanto, te Amo mamá.

A mi hija extraordinaria, quien me ha demostrado fortaleza y valentía, ella es quien me ha dado fuerza e inspiración para seguir mis objetivos, ella, que ha sido mi roca en momentos difíciles, le dedico esta tesis como tributo a su paciencia durante todos estos años académico. Gracias por tu madurez y comprensión.

A mi compañero de vida Ángel Ramírez, gracias por ser mi fuente inagotable de apoyo, por tu comprensión y paciencia, lo cual ha sido fundamental en la culminación de este logro.

Gracias a mi estrella en el cielo, mi abuela Rita Blanco, sus enseñanzas siguen guiándome cada día. Este logro es en tu honor.

He encontrado realmente el significado de una Amistad, gracias Almary por ser parte de este proceso y estar en cada paso de mi camino, aunque fuera para sacarme de la rutina o brindarme palabras de aliento, siempre has creído en mí. No tengo como agradecerte por ser incondicional. Gracias por siempre estar para mí.

A mi compañero de tesis, Humbert Gomez, por su apoyo y colaboración que han enriquecido cada pasó en este proceso, gracias por compartir este viaje académico conmigo.

www.bdigital.ula.ve

Cristy Salazar

TABLA DE CONTENIDO

	Pág
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xi
RESUMEN	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	3
Planteamiento del Problema.....	3
Justificación de la Investigación.....	5
<i>Objetivos de la Investigación</i>	6
<i>Objetivo General</i>	6
Objetivos Específicos.....	6
Alcances y Limitaciones de la Investigación.....	7
<i>Alcances de la Investigación</i>	7
<i>Limitaciones de la Investigación</i>	7
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	8
Trabajos Previos.....	8
Antecedentes Históricos.....	10
Bases Teóricas.....	12
<i>Propiedades físicas-químicas de la cafeína</i>	12
<i>Farmacocinética de la cafeína</i>	13
<i>Farmacodinamia de la cafeína</i>	14
<i>Intoxicación por cafeína</i>	15
<i>Ingesta segura de cafeína</i>	16

<i>Métodos analíticos para la determinación de cafeína</i>	17
<i>Cromatografía de capa fina (TLC)</i>	18
<i>Fundamento de la cromatografía en capa fina</i>	18
<i>Espectrofotometría UV-visible</i>	20
<i>Reacciones colorimétricas</i>	22
<i>Reacción Murexida</i>	22
Definición Operacional de Términos.....	23
Definición Operacional de las Variables.....	25
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	26
Tipo de Investigación.....	26
Diseño de Investigación.....	26
Población y Muestra.....	27
Unidad de Investigación.....	27
Selección del Tamaño de la Muestra.....	28
Instrumentos de recolección de datos.....	29
Procedimiento de la Investigación.....	29
Análisis de datos.....	37
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
Resultados.....	38
Discusión.....	45
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	47
Conclusiones.....	47
Recomendaciones.....	48
REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS	49
ANEXOS	53

ÍNDICE DE FIGURAS

N°		Pág
Figura		
1	Pasos básicos de una cromatografía en capa fina.....	19
2	Los componentes principales de un espectrofotómetro UV-visible.....	21
3	Reacción de Murexida.....	22
4	Muestras de orina.....	30
5	Procedimiento de preparación de los patrones.....	31
6	Soluciones de referencia.....	31
7	Visualización de la fase orgánica.....	32
8	Reacción de Murexida. Muestra dopada, otros alcaloides y orina revelada de un consumidor.....	33
9	Placa de TLC para cafeína.....	34
10	Espectrofotómetro UV-160A Marca Shimadzu.....	35
11	Espectro de absorción de la cafeína.....	35

ÍNDICE DE TABLAS

N°		Pág
Tabla		
1	Operacionalización de la variable: concentración de cafeína.....	25
2	Operacionalización de la variable: determinación cualitativa de cafeína.....	25
3	Datos de la curva de calibración de la cafeína.....	38
4	Absorbancia y concentraciones de las muestras de orina de consumidores (café)..	39
5	Absorbancia y concentraciones de las muestras de orina de consumidores (té negro).....	40
6	Absorbancia y concentraciones de las muestras de orina de consumidores (Bebidas energizantes).....	40

7	Concentración de la cafeína de los pacientes de la muestra.....	43
8	Comparación de las absorbancias y concentraciones de los pacientes de la muestra. Prueba H de Kruskal Wallis.....	44
9	Absorbancia y concentración de los pacientes de la muestra. Prueba U de Mann-Whitney.....	44

ÍNDICE DE GRAFICOS

N°	Pág	
Grafico		
1	Curva de calibración de la cafeína.....	38
2	Edad según sexo de los pacientes de la muestra.....	41
3	Síntomas, signos y hábito de fumar de los pacientes de la muestra.....	42

www.bdigital.ula.ve



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LABORATORIO DE TOXICOLOGIA
“DR. PABLO PAREDES VIVAS”**



**DETERMINACIÓN DE CAFEÍNA EN ORINA ASOCIADO AL CONSUMO
DE BEBIDA ENERGIZANTE, TÉ NEGRO Y CAFÉ MEDIANTE LA
TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE**

Autores:

Humbert Gregorio Gomez

Cristy Georgina Salazar Blanco

RESUMEN

www.bdigital.ula.ve

La cafeína es un compuesto alcaloide, del grupo de las xantinas. Dentro de las bebidas que contienen cafeína están: el café, té, productos derivados del chocolate, refrescos de cola y bebidas energizantes que tienen una gran popularidad. El objetivo de esta investigación fue determinar la cafeína en orina asociada al consumo de bebidas energizantes, té negro y café. El tipo de investigación fue descriptiva comparativa y el diseño fue No experimental y transversal. Ingresaron al estudio 23 personas, que serán distribuidas en 3 grupos y un control (no consumidor de bebida energizantes, té negro y café). La determinación de cafeína se realizará mediante la técnica de espectroscopia UV-visible con una longitud de onda de 273nm, también se utilizarán técnicas preliminares y de orientación para complementar el estudio como la cromatografía de capa fina y la reacción de Murexida. Las muestras de orina serán recolectadas 2 horas pos ingesta de las bebidas. Los datos serán recolectados durante la fase interactiva de la investigación y serán analizados a través de un enfoque cuantitativo, los cálculos serán de media aritmética, mediana, desviación típica, así como gráficos de barras simples y de caja y bigote.

Palabras claves: cafeína, orina, espectroscopia UV-visible.

INTRODUCCIÓN

La cafeína (1,3,7 – trimetilxantina) es un compuesto químico alcaloide, que generan efectos fisiológicos, pertenecientes al grupo de las metilxantina, Una de sus propiedades, es un sólido cristalino y profundamente amargo. El cuerpo humano absorbe la cafeína rápido y completamente a partir del tracto gastrointestinal, aumenta su concentración cuando entra al plasma sanguíneo, luego se introduce muy rápido en todos los tejidos corporales. Si la cafeína no es consumida con moderación es decir más 400 mg de cafeína, que equivale a 3 o 4 tazas de café es perjudicial para la salud, ya que, a corto plazo en el sistema nervioso central, el sueño es interrumpido, acelera la ansiedad y hay cambios en el comportamiento, causa intoxicación que se manifiesta con nerviosismo, insomnio, hiperacidez gástrica, contracciones musculares, agitación psicomotriz, diarrea, tensión muscular, palpitaciones cardiacas (Moncada Jennifer 2018).

Por eso es importante la determinación de cafeína, ya que el exceso de esta tiende a producir múltiples complicaciones al cuerpo humano de manera fisiológica, causando un problema permanente en nuestras vidas. según la Food and Drug Administration (FDA) la ha clasificado como una sustancia GRAS (Generally Recognized As Safe), explica, que bajo una concentración adecuada es segura, sin embargo, El Comité Internacional Olímpico (COI) clasifica a la cafeína como una droga de abuso, cuando este se encuentra en la orina a niveles de concentración superiores a 12 µg/mL. El objetivo general de esta investigación será la Determinar las concentraciones de cafeína en orina asociado al consumo de bebidas energizantes, té negro y café mediante espectroscopia UV-Visible.

Para realizar esta investigación se solicitó el apoyo a 23 personas (voluntarios) residentes del Municipio Libertador del estado Mérida, con el fin de aplicar un cuestionario con respecto a la frecuencia y el consumo de bebidas energizantes, té

negro y café, así como también debían reflejar signos y síntomas pos ingesta de estas sustancias. Inicialmente se contemplaba analizar todas las muestras posibles, pero 3 de las muestras no cumplieron con los criterios de inclusión por lo que se trabajó solo con 19 voluntarios, de los cuales 1 es la muestra blanca (muestra de orina de un voluntario que no consume bebidas energizantes, té negro o café), 9 voluntarios que consumieron café, 4 voluntarios que consumieron té negro y 6 voluntarios que consumieron bebidas energéticas.

Seguido a la toma de muestras se realizó la preparación de los reactivos y las soluciones de referencia de concentraciones 1 $\mu\text{g/mL}$, 2 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 8 $\mu\text{g/mL}$ y 16 $\mu\text{g/mL}$, para realizar la curva de calibración. Las muestras se prepararon utilizando 5 mL de orina, alcalinizándolas con 3 gotas de NaOH (pH 12), se hizo una extracción agregando 5 ml de Cloroformo (v/v), separando la capa orgánica en 3 capsulas, una de las capsulas se usó para la identificación de cafeína mediante la reacción de Murexida, otra para cromatografía de Capa Fina y la tercera capsula para la lectura en el Espectrofotómetro.

El siguiente trabajo de investigación ha sido estructurado en V capítulos. El Capítulo I, titulado El Problema, está constituido por: Planteamiento del Problema, Justificación de la Investigación, Objetivos de la Investigación, Alcances y Limitaciones de la Investigación. El Capítulo II, llamado Marco Teórico, corresponde a: Trabajos Previos, Antecedentes Históricos, Bases Teóricas, Definición Operacional de Términos, Operacionalización de las variables. El Capítulo III, denominado Marco Metodológico, comprende: Tipo de investigación, Diseño de Investigación, Población y Muestra, Sistema de Variables, Instrumento de recolección de datos, Procedimiento de la Investigación y Diseño de Análisis. El Capítulo IV, constituido por: Resultados y Discusión. Finalmente, el Capítulo V que abarca: Conclusiones, Recomendaciones y Referencias Bibliohemerográficas.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La cafeína según Rubio et al. (2021) pertenece al grupo químico de las xantinas o dioxipurinas, que son sustancias con características de alcaloides, y entre las cuales se encuentran también la teofilina o la teobromina, procedentes todas ellas de distintas especies vegetales. Presente de forma natural en más de 60 plantas, como café (*Coffea arabica*), té (*Camellia sinensis*) y cacao (*Theobroma cacao*), nueces de cola (*Cola nitida*), guaraná (*Paullinia cupana*) y yerba mate (*Ilex paraguariensis*). Debido al efecto estimulante de la cafeína y su presencia en alimentos como el café, el té, el chocolate o algunas bebidas azucaradas, esta, es probablemente la sustancia psicoactiva más consumida en el mundo.

La European Food Safety Authority (EFSA) muestra como el consumo medio de cafeína por adulto en España en el año 2015, último año del que se conocen datos, era de 2,3 mg/kg peso (equivalente a 161 mg/día para un sujeto de 70 kg de peso). En el caso de las hojas de té, la cantidad de cafeína (comúnmente llamada teína) que encontramos en una hoja representa entre el 3-5% del total del peso seco y según datos de la EFSA corresponde a unos 40-50 mg de cafeína/taza. En el trabajo de Falcon et al. (2020) expresan que, en los países extranjeros como Estados Unidos, una taza de café americano (240mL) contiene 137mg de cafeína por taza, en Dinamarca, Finlandia, Noruega y Suecia, el consumo de cafeína por persona bordea los 400mg al día.

En América latina el consumo de cafeína por persona fluctúa, en promedio entre los 300mg al día. Tras el consumo de una cantidad de café equivalente a 5 Oz de café expreso. Otra bebida que contiene cafeína son las bebidas energizantes, en los últimos años estas bebidas han estado dominando los mercados mundiales, según los productores estas bebidas salen al mercado a partir de la necesidad de aumentar la resistencia física y el estado de alerta mental, incrementando la velocidad de reacción, evitando el sueño, influyendo una sensación de bienestar, estimulando el metabolismo y ayudado eliminar sustancias nocivas para el cuerpo.

En Argentina, la normativa vigente impartida por el Código Alimentario Argentino, establece un máximo de 32 mg de cafeína/100 mL de bebida energizante alcohólica, estando prohibida la comercialización de estas bebidas combinadas con alcohol. Por otro lado, la Organización Mundial de la Salud recomienda como límite consumir 300 mg de cafeína/día, considerando una ingesta de 500 mg como tóxica y peligrosa.

Según Rodas Cañellas (2021) la cafeína se absorbe rápidamente en el intestino delgado, habiéndose observado que en unos 30-60 minutos después de haberla tomado los niveles en plasma ya se encuentran en valores máximos, manteniéndose bastante estables (por encima del 90% del nivel máximo) durante las cuatro horas siguientes. En cualquier caso, la cafeína puede encontrarse en el organismo hasta 9-10 horas después de su ingesta, ya que su metabolización es considerablemente lenta ocurriendo en el hígado hasta su excreción vía urinaria.

La concentración de cafeína en orina generalmente refleja la cantidad de cafeína que el cuerpo a metabolizado. Sin embargo, para los efectos de la investigación se consideró las concentraciones de cafeína en orina según World Anti-Doping Agency (WADA). Cuando las concentraciones urinarias fueran superiores a 12 mcg/mL, lo que quiere decir que es una de las sustancias estimulantes que se pueden ingerir sin

irrespetar las reglas hasta una cantidad predicha. (Luciana y De Bortoli, 2003; Bowerman, 2002; Ambrose, 2004).

Para la determinación de cafeína en orina se han utilizado diversos métodos analíticos costosos y laboriosos, que requieren de técnicas y equipos especializados, por lo tanto, para el presente trabajo se realizó un análisis con un método analítico más accesible y económico como es la Espectroscopia UV-visible, ya que es una alternativa, debido a su simplicidad costos relativamente bajos y amplia disponibilidad de equipos en laboratorios clínicos y de investigación.

Una vez descrita la situación actual del problema de estudio, se formula la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál será el nivel de las concentraciones de cafeína en orina asociado al consumo de bebidas energizantes, té negro y café en el municipio Libertador del estado Mérida, durante el periodo agosto-diciembre de 2023?

www.bdigital.ula.ve

JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

La justificación debe responder a los por qué o razones de la investigación; específicamente, estas razones pueden ser categorizadas como necesidades, curiosidades y preocupaciones, motivaciones, intereses, valores, potencialidades, oportunidades, tendencias, contradicciones (Hurtado, 2010). Los autores de esta investigación buscan como interés propio determinar el comportamiento de las concentraciones de cafeína en orina asociado al consumo de bebidas energizantes, té negro y café, mediante la técnica de espectrofotometría UV- visible, ya que esta puede proporcionar información valiosa para evaluar el consumo de cafeína, monitorear la salud de los consumidores y respaldar la información científica en este campo.

Desde el punto de vista analítico se consideró la determinación de cafeína en orina por dos razones. Primero, porque la cantidad de cafeína presente en orina puede proporcionar información sobre los patrones de consumo y los efectos de la cafeína en la salud de los consumidores. Segundo, la cafeína es excretada por el cuerpo de diferentes formas (sudor, orina, saliva) y la cantidad de esta en orina puede ser un indicador indirecto del metabolismo y de cómo el cuerpo procesa esta sustancia, esto pudiera tener implicaciones farmacológicas, según Cerón Uribe (2021).

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo General

Determinar las concentraciones de cafeína en orina asociado al consumo de bebidas energizantes, té negro y café mediante espectroscopia UV-Visible.

Objetivos Específicos

1. Identificar la cafeína a través de la reacción de Murexida como prueba preliminar y de orientación.
2. Analizar la concentración de cafeína en muestras de orina de consumidores de bebidas energizantes, té negro y café.
3. Comparar el consumo de cafeína y sus niveles de excreción urinaria en relación al tipo de sustancia y la frecuencia de consumo.

ALCANCES Y LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

Alcances de la Investigación

Según Hurtado (2012), el alcance hace referencia a la profundidad del estudio, es decir al grado de elaboración. A su vez tiene correspondencia con el logro de la investigación. Al respecto, el alcance de esta investigación estuvo representada por la determinación de las concentraciones de cafeína en orina asociado al consumo de bebidas energéticas, té negro y café mediante espectroscopia UV-Visible.

Limitaciones de la Investigación

Las limitaciones de esta investigación estuvieron relacionadas con los aspectos teóricos, técnicos y recursos económicos, en cuanto a las limitaciones teóricas se dieron debido a las diferentes técnicas consultadas en la literatura referente al contexto experimental de la investigación y desde el punto de vista económico por los altos costos de los reactivos utilizado durante la parte experimental. Así mismo vale mencionar que la falta de electricidad y conexión a internet dificultó el acceso a recursos en línea.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

TRABAJOS PREVIOS

Falcon et al. (2022), en su trabajo de investigación sobre la determinación de la cafeína en bebidas energizantes y frecuencia de consumo en estudiantes de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora (Lima – Perú), donde el objetivo fue determinar la concentración de cafeína y el tamaño de muestra (n) del estudio correspondió a 102 estudiantes de Farmacia y Bioquímica entre los ciclos I – X, encuestados mediante un cuestionario referente a la frecuencia del consumo de las bebidas energizantes, para así obtener la bebida energizante más consumida por los estudiantes, a partir de esta bebida se realizó la determinación analítica de concentración de cafeína. Tuvo un estudio descriptivo analítico y concluyeron que los estudiantes de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora presentaron una frecuencia de consumo elevado, con tendencia a aumentar en temporadas académicas. La bebida con mayor preferencia y consumo por lo estudiantes fue la marca “VOLT”, presentando un consumo activo del 71% y una concentración media de cafeína de 420 mg/L.

Córdova y Córdova (2022), estudiaron la identificación de la cafeína aislada de las hojas de *Ilex inundata* Poepp. ex reissek por sus características fisicoquímicas y el uso de espectroscopia UV-Visible. El objetivo fue caracterizar el alcaloide aislado de la especie vegetal *Ilex inundata*, de la familia Aquifoliaceae. Las muestras fueron colectadas a orillas del Río Nanay, localizada en la ciudad universitaria de

Zungarococha, distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas, región Loreto. Para extraer el alcaloide se usó etanol, óxido de magnesio como reactivo de inclusión, ácido sulfúrico al 10% para separar y cloroformo para purificar. El producto purificado se identificó y caracterizó mediante la determinación de sus parámetros fisicoquímicos y por espectroscopía UV-visible. Los autores concluyeron que las hojas de *Ilex inundata* contienen cafeína, donde obtuvo una concentración de 2,8630g y que la especie podría ser una fuente prometedora para obtener este alcaloide para uso en la industria farmacéutica.

Baltrons et al. (2020), estudiaron la determinación del contenido de cafeína presente en bebidas energizantes en el área metropolitana de San Salvador. El objetivo del presente trabajo de investigación se desarrolló con el fin de conocer las concentraciones de cafeína presentes en Bebidas Energizantes y su consumo indiscriminado. El método de análisis que se utilizó fue el de Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC), por medio del cual se determinó el contenido máximo de cafeína en las 5 marcas de bebidas energizantes. Los autores concluyeron que el 59.5% de la población estudiantil consume bebidas energizantes, y dichas bebidas sobrepasan la concentración máxima permitida de cafeína, establecida por la norma en el artículo 100 del Código Alimentario de Argentina (de acuerdo a la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica – ANMAT).

Liévano Fiesco (2019), desarrollo la caracterización del consumo de bebidas energizante en estudiantes de la pontificia Universidad Javeriana Sede Bogotá. El objetivo fue caracterizar el consumo de bebidas energizantes en estudiantes de la Pontificia Universidad Javeriana, sede Bogotá. Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal en el que participaron 149 estudiantes entre 17 y 29 años. Las variables analizadas fueron la frecuencia de consumo, motivaciones por las cuales consumen bebidas energizantes, conocimiento acerca de los riesgos por el alto consumo de estas, las sensaciones desagradables y el consumo de bebidas

energizantes con alcohol. El autor concluyó que el 64,4% de los estudiantes universitarios encuestados reportaron el consumo de bebidas energizantes en los últimos seis meses especialmente de las carreras de Ingeniería Civil (10,4%) e Ingeniería Industrial (10,4%) una vez por mes. Dentro de las razones para su consumo el 74% reporta que, para mantenerse despierto, el 51% por el estudio y el 46% para tener energía. El 32,3% de estudiantes desconoce los riesgos por consumir en exceso estas bebidas.

ANTECEDENTES HISTÓRICOS O EPISTEMOLÓGICOS

La cafeína está presente desde la edad de piedra, descubrieron que masticar la corteza y hojas de ciertas plantas de cafeto, tenía el efecto de aliviar la fatiga, estimular el estado de alerta y elevar el estado de ánimo. Luego de muchos años se descubrió que el efecto de la cafeína se incrementaba al remojar tales plantas en aguas caliente. Muchos pueblos tienen leyendas que atribuyen el descubrimiento de tales plantas. El fruto del café tiene orígenes antiguos, es masticada en varias culturas africanas y occidentales, de forma individual o en formación social, para restaurar la vitalidad y aplacar la sensación de hambre. EL café es originario de Etiopia, donde se cultivaba desde hace más de mil años. Según una leyenda, un pastor llamado Kaldi observo que sus cabras se volvían muy activas después de comer las bayas de un Arbusto cercano, por lo que decidió probarlas el mismo y descubrió las propiedades estimulantes del café. Moncada Cares (2018).

En el siglo VX, el café comenzó a hacer cultivado en arabia y se convirtió en una bebida popular entre los musulmanes, quienes lo consideraban una bebida sagrada. Desde allí, el café se extendió a Turquía y a otros países del medio Oriente. En el siglo XVII, el café llego a Europa gracias a los comerciantes venecianos y rápidamente se convirtió en una bebida popular entre la aristocracia. En el siglo

XVIII, el café se convirtió en un producto de exportación importante para países como Francia, Holanda Portugal, que lo cultivaban en sus colonias en América Latina. Calle Aznar (2011)

En 1819, el químico Alemán Friedrich Ferdinand Runge descubrió la cafeína, acuñó el término Kaffein, compuesto químico del café. Este químico logró aislar el alcaloide del café y sus efectos pudieron ser mejores estudiados, se descubrió que no sólo se encuentra el principio activo en el café, sino en las hojas, semillas y frutos de té, cacao, nueces de cola y en otras 60 plantas. A finales del siglo XVI, el uso del café fue registrado por un europeo residente en Egipto, debido a eso se introduce su uso general en el oriente próximo. En el siglo XVII en Europa, el café era conocido como “vino árabe”. Durante ese período se establecieron “casas de café” donde se abrieron las primeras casas en Constantinopla y Venecia. Pronto se volvieron populares en toda Europa Oriental. Moncada Cares (2018).

En América Latina, el café comenzó a hacer cultivado en el siglo XVIII en países como Brasil y Colombia. En el siglo XIX, el café se convirtió en un producto de exportación clave para muchos países de la región, y su producción y comercio tuvieron un gran impacto en la economía y la sociedad de estos países. Hoy en día, el café es una de las bebidas más populares del mundo y sigue siendo un producto de gran importancia económica para muchos países. Calle Aznar (2011).

La bebida energizante tiene su origen en los años 60 en Tailandia, donde se desarrolló una bebida llamada Krating Daeng, que significa “toro rojo” en tailandés. Esta bebida fue creada por el empresario tailandés Chaleo Yoovidhya y se basó en una bebida tradicional tailandesa que se utilizaba para combatir el cansancio. En 1984, Chaleo se asoció con el empresario austriaco Dietrich Mateschitz para comercializar la bebida en Europa. Juntos, adaptaron la fórmula original y crearon la marca Red Bull, que se convirtió en la bebida energizante más conocida y popular del mundo. Sánchez et al. (2015).

Desde entonces, muchas otras empresas han creado sus propias versiones de bebidas energizantes, utilizando ingredientes como la cafeína, la taurina, el guaraná y las vitaminas B para proporcionar un impulso de energía y mejorar el rendimiento físico y mental. Sin embargo, estas bebidas también han generado controversia debido a su contenido de cafeína y otros estimulantes, y se han asociado con efectos secundarios como la ansiedad, la taquicardia y la falta de sueño. Sánchez et al. (2015).

BASES TEÓRICAS

Propiedades físicas-químicas de la cafeína

Muchos han sido los trabajos realizados para la determinación de cafeína a partir de diversas combinaciones en productos farmacéuticos, extracto en vegetales y bebidas, haciendo uso de diversas técnicas de extracción, métodos cuantitativos, entre otros, pero para realizar estos análisis es importante conocer las propiedades fisicoquímicas de la cafeína, ya que es clave para la determinación precisa de la misma, es por esto que Córdova y Córdova (2022) citan:

La cafeína es un sólido blanco cristalino en forma de prismas hexagonales, sabor amargo. Punto de fusión 238°C, punto de sublimación 178°C, peso molecular 149.1gr/mol. La solubilidad en agua se incrementa cuando se halla en forma de benzoatos, cinamatos, citratos o salicilatos alcalinos, un gramo se disuelve con 66 ml de alcohol, pero también tiene afinidad por el cloroformo, diclorometano de los que se les separa cuando se halla en medio ácido acuoso. Tiene un espectro de absorción en etanol máximo a 273 nanómetros.

Farmacocinética de la cafeína

Es importante conocer como el organismo procesa y elimina esta sustancia después de ser ingerida, tomando en cuenta que la respuesta del organismo a esta varía de una persona a otra, ya que hay individuos que son más sensibles a sus efectos o pueden eliminarlas más lentamente por el organismo Pardo et al. (2007).

La cafeína se absorbe por el tracto intestinal de forma rápida y completa, presentando una alta biodisponibilidad. El tiempo en el que se alcanza la máxima concentración plasmática ($T_{m\acute{a}x}$) es de 30-45 minutos en ayunas y se prolonga con la ingesta de alimentos. Atraviesa la barrera hematoencefálica y la placentaria, también pasa a la leche materna, saliva, bilis y semen. La fracción de cafeína unida a las proteínas plasmáticas, sobre todo a la albúmina, varía entre el 10-35%, y podría disminuir en ancianos. Las grandes diferencias interindividuales observadas en la concentración plasmática de cafeína tras la administración de una misma dosis se deben principalmente a las variaciones en el metabolismo. Estas variaciones dependen de cuatro factores: polimorfismos genéticos, inducción e inhibición metabólicas del citocromo P-450, individuales (peso y género) y la existencia de enfermedades hepáticas.

La cafeína se metaboliza en el hígado por la enzima de la oxidasa del citocromo P450 específicamente el 1A2 (CYP1A2), que luego genera metabolitos como: Paraxantina (84%), que tiene como función aumentar en la sangre los niveles de glicerol y de grasas; teobromina (12%), cuya función es dilatar los vasos sanguíneos y a su vez se ha evidenciado un efecto diurético; y la teofilina (4%) que se encarga de dilatar las vías aéreas y se ha utilizado como el tratamiento del asma. Sólo entre un 1-2% de la dosis ingerida de cafeína se excreta sin cambios en orina. La cafeína se considera el substrato prototipo y marcador del fenotipo metabolizador del CYP1A2 (razón paraxantina/cafeína) en plasma y saliva. En adultos la semivida de eliminación

(T_{1/2}) de la cafeína es de 3-5 horas. En adultos, los fumadores presentan una T_{1/2} menor que los no fumadores. En personas no consumidoras de café la T_{1/2} de la cafeína se duplica, lo cual explica la mayor incidencia de intoxicación y severidad en individuos que no consumen habitualmente café.

Farmacodinamia de la cafeína

La interacción con el receptor de adenosina A₁, que conduce a la inhibición de la reabsorción renal de agua y provoca un aumento de la diuresis y natriuresis, puede explicar la actividad diurética de la cafeína (EFSA, 2015b). Además, la cafeína ejerce sobre el corazón un efecto cronotrópico e inotrópico positivo, es decir, estimula la frecuencia cardíaca y aumenta el gasto cardíaco. Hay otro autor que explican como la cafeína es un antagonista que compite por los receptores de la adenosina siendo esto importante ya que está desempeña un papel en la regulación del flujo sanguíneo y la función cardíaca sienta esta una cita del apartado anterior (Calle Aznar, 2011).

El mecanismo de acción de la cafeína se basa en el bloqueo de los receptores A₁ y A_{2a} de adenosina del sistema nervioso central. Esto produce una inhibición de la fosfodiesterasa que da lugar a un aumento de las concentraciones de AMPc y de GMPc, una activación de canales de K⁺ y una inhibición de los canales de calcio de tipo N (es un tipo de canales de calcio dependientes de voltaje, se denomina así porque parece ser específico del sistema nervioso y de tejidos relacionados con éste) (Pardo et al. 2007)

De hecho, la cafeína es considerada un antagonista competitivo de los receptores de adenosina, localizados en las membranas celulares del sistema nervioso central y del sistema nervioso periférico. La adenosina se comporta como un autacoide (neuromodulador), esto es, una especie de neurotransmisor que regula las funciones celulares. La adenosina, al actuar sobre receptores específicos de la superficie de

ciertas células, produce sedación, regula la entrega de oxígeno a las células, dilata los vasos sanguíneos celulares y coronarios, produce broncoespasmo (asma) y normaliza otros procesos metabólicos. Las neuronas que liberan adenosina constituyen un importante sistema depresor del sistema nervioso central, que es bloqueado por la cafeína (Calle Aznar, 2011).

No parece que exista una vía de la adenosina en el sistema nervioso central; más bien, la adenosina a través de su acoplamiento en receptores sensibles a la cafeína, indirectamente inhibe la liberación de muchos tipos de neurotransmisores como noradrenalina, dopamina, acetilcolina, glutamato y GABA (ácido- β -aminobutírico). El bloqueo de los receptores de adenosina por la cafeína parece aumentar la actividad de esos neurotransmisores, especialmente de la dopamina y la acetilcolina. Dicho de otro modo, la administración oral de cafeína aumenta la liberación de dopamina y acetilcolina por antagonismo de los receptores locales de adenosina. El aumento de la actividad dopaminérgica explica los efectos reforzadores de la cafeína. El consumo crónico de la cafeína puede incrementar el número de receptores de adenosina en el sistema nervioso central (tolerancia) (Calle Aznar, 2011).

Intoxicación por cafeína

Rubio et al. (2021) refieren que la mayor parte de las intoxicaciones por cafeína suelen cursar con síntomas de escasa gravedad. Las primeras manifestaciones que aparecen tras una sobredosis por vía oral suelen ser de tipo gastrointestinal: náuseas, vómitos o pirosis y epigastralgia. Tras ello suele comenzar una sintomatología nerviosa caracterizada por inquietud, ansiedad, irritabilidad, temblores, y junto a ello, taquicardia, en ocasiones arritmias, hipo o hipertensión y acidosis metabólica. A nivel cardiovascular se ha señalado la aparición de palpitaciones, crisis de enrojecimiento, arritmias, taquicardia, aumento del intervalo QRS y la presión sistólica en ocasiones. Dosis de 1 g pueden causar síntomas de gravedad, aunque la dosis letal se encontraría

en torno a los 150-200 mg/Kg, lo que equivaldría a unos 7,5 a 15 g para un adulto. Estas dosis tóxicas son, sin embargo, muy difíciles de establecer debido a las variaciones interindividuales, la tolerancia a la cafeína o la presencia de enfermedades concomitantes.

Ingesta segura de cafeína.

Las dosis propuestas son diversas, ya que algunas representan dosis para las que ya se han observado efectos adversos y otras representan dosis sin efectos observados. Además, se basan en evidencia revista del comité científico nº 33 166 científica limitada (a veces un solo estudio) que difiere en su naturaleza según los valores considerados (datos epidemiológicos, estudio experimental entre otros). Según The Food and Drug Administration EFSA (2015b), la ingesta total de cafeína que no suscitaría preocupaciones sobre los efectos adversos para la salud de la población sana por subgrupos sería:

- Adultos sanos (70 kg), sin incluir mujeres embarazadas o en período de lactancia: – Dosis únicas de hasta 200 mg (aproximadamente, 3 mg/kg).
- Dosis de hasta 200 mg cuando consumidas en un periodo de menos de 2 horas antes del ejercicio físico intenso en condiciones ambientales normales.
- Dosis únicas de 100 mg (aproximadamente, 1,4 mg/kg) pueden aumentar la latencia del sueño y reducir la duración del sueño en algunos individuos, particularmente, cuando son ingeridas cerca de la hora de acostarse.
- Dosis de hasta 400 mg/día (aproximadamente, 5,7 mg/kg) no supone riesgo para un adulto sano, exceptuando el caso de las mujeres embarazadas (EFSA, 2015b).

Asimismo, Health Canada (2011) respalda el establecimiento de un límite máximo inicial de cafeína total de 400 mg por litro con una cantidad máxima de cafeína que

no debe exceder los 180 mg por envase que se presenta como envase individual. Wikoff et al. (2017) en lo que respecta a mujeres embarazadas sanas, la evidencia respalda que una ingesta de hasta 300 mg de cafeína/día, generalmente, no se asocia con efectos adversos sobre la reproducción y el desarrollo. Sin embargo, en lo que atañe a las bebidas energéticas, el Reglamento (UE) N° 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre la información alimentaria facilitada al consumidor (UE, 2011) recoge que si el contenido en cafeína es superior a 150 mg/L deberán presentar la mención “Contenido elevado de cafeína: No recomendado para niños ni mujeres embarazadas o en período de lactancia” junto con la indicación de la cantidad de cafeína que aportan expresado en mg por 100 mL de cafeína.

Métodos analíticos para la determinación de cafeína

Según Calle Aznar (2011) la determinación de la cafeína se suele llevar a cabo mediante técnicas de separación como HPLC (Cromatografía líquida de alta eficiencia), CE (Electroforesis capilar), TLC (Cromatografía de capa fina) o GC (Cromatografía de gases). Estos métodos realizan la detección mediante técnicas electroquímicas (potenciométricas, conductimétricas, amperométricas, etc.), ópticas (espectrofotométricas, fluorimétricas, etc.) y otras (termoquímicas). La elección de una u otra técnica depende del problema a resolver, del volumen de muestra y de su concentración. Las técnicas analíticas más empleadas en la actualidad pueden englobarse en dos grandes grupos: técnicas de separación y técnicas espectroscópicas. Las técnicas espectroscópicas proporcionan, para cada compuesto analizado, una información compleja, relacionada con sus características estructurales específicas, por otro lado, las técnicas de separación se utilizan para resolver los componentes de una mezcla y la señal obtenida puede utilizarse con fines analíticos cuantitativos o cualitativos.

Cromatografía de capa fina (TLC)

La cromatografía en capa fina (TLC, del inglés Thin Layer Chromatography) es una técnica analítica rápida y sencilla que consiste en la separación de los componentes de una muestra debido a su migración diferencial a través de una capa delgada de adsorbente, generalmente sostenido por una superficie plana inerte. Esta herramienta se basa en el principio de adsorción entre dos fases, en donde la separación se realiza de acuerdo con los coeficientes de reparto de las moléculas de la muestra (Soberon, J., 2011).

La TLC es una de las técnicas más útiles en el análisis químico cualitativo, es considerada anticuada según algunos investigadores, razón por la que tiende a subestimarse su utilidad (Soberon, J., 2011).

Fundamento de la cromatografía en capa fina

La técnica se basa en la separación de los analitos mediante las diferencias de velocidad a la que estos son transportados por una fase móvil líquida a través de una fase fija o estacionaria (la placa de TLC). La separación de los componentes de la muestra se da principalmente por el fenómeno de la adsorción de tal modo que un compuesto de la fase líquida entra en contacto con el sólido adsorbente y se adhiere a la superficie del mismo mediante una fuerza física, sin implicar intercambio de electrones, lo que lo hace reversible. Antes de comenzar el proceso, primero se introduce un pequeño volumen del solvente o mezcla de solventes que constituyen la fase móvil en un recipiente cerrado y se espera a que se sature el ambiente (Spangenberg, B., 2011).

En ese momento se introduce la fase estacionaria, donde se ha aplicado previamente la muestra (figura 1a), a través de la cual circulará la fase móvil debido

al fenómeno de capilaridad, lo que conllevará un reparto diferencial de los productos que están presentes en la muestra entre el solvente y el adsorbente (figura 1b). Una vez el frente del solvente alcance el límite de la placa, los puntos procedentes de la muestra separados (figura 1c) se visualizan por absorbancia o fluorescencia, ya sea nativa o mejorada con agentes de visualización (Spangenberg, B., 2011).

Finalmente, los productos pertinentes se identifican por sus colores característicos o fluorescencia combinados con los valores del factor de retención (R_f , figura 1d), los cuales, al ser comparados con un patrón de referencia permiten la tipificación de sustancias que forman la muestra, identificando así los compuestos de interés y las interferencias (Spangenberg, B., 2011).

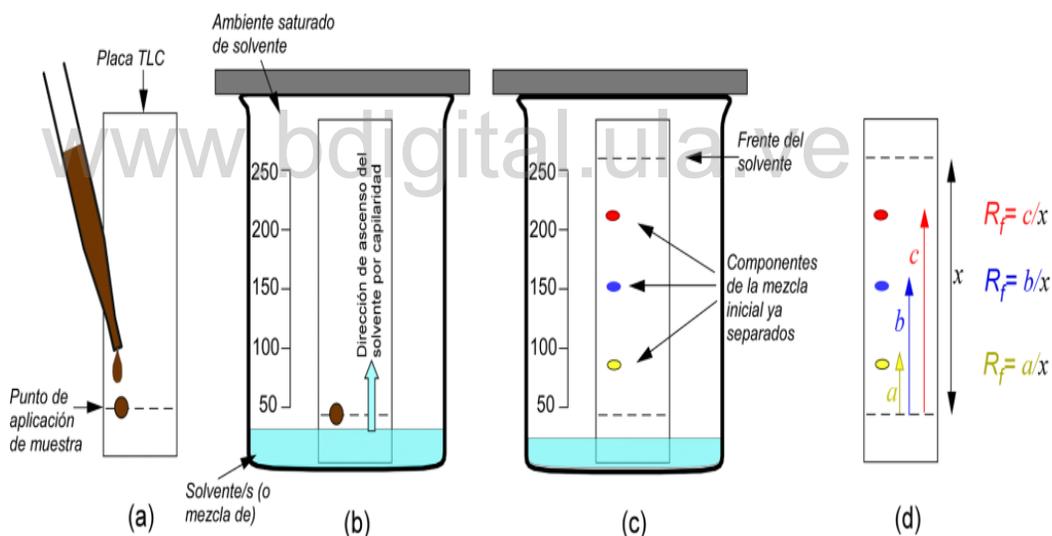


Figura 1: Pasos básicos de una cromatografía en capa fina. Fuente: Spangenberg, B. (2011).

Factor de retención (R_f)

$$R_f = \frac{\text{Distancia (cm) recorrida del analito}}{\text{Distancia (cm) recorrida del solvente}}$$

Espectrofotometría UV-visible

Calle Aznar (2011) hacen referencia a que la espectrofotometría en el rango ultravioleta-visible (UV-Visible) se fundamenta en medir la radiación monocromática absorbida por un elemento o molécula causante de desplazamientos electrónicos a capas superiores, estas transiciones determinan la región del espectro en la que tiene lugar la absorción. La ley fundamental en la que se basan los métodos espectrofotométricos es la de Bouguer-Beer, Lambert y Beer y establece que: “La relación entre la intensidad de la luz transmitida o energía radiante y la energía radiante incidente I_0 es una función del espesor de la celda b a través del medio absorbente, de acuerdo a:”

$$A = a \cdot b \cdot c$$

Dónde:

A = absorbancia

a = absortividad específica

b = espesor de la celda

c = concentración

De acuerdo con la teoría, el paso de la solución absorbente de concentración c de una cantidad de energía electromagnética monocromática es directamente proporcional a la concentración de la(s) especie(s) que absorbe(n) y a la longitud de la trayectoria de la muestra para un conjunto de condiciones instrumentales establecidas.

La absorción de energía en las regiones visibles y ultravioleta del espectro da como resultado una excitación electrónica. La región del visible se extiende desde 350 a 800 nm. La región ultravioleta abarca desde 100 a 200 nm y se divide en dos regiones diferentes: la región de ultravioleta lejano, que se extiende desde 100 a 200

nm y la llamada región del ultravioleta cercano que va desde 200 nm a 350 nm. Los datos espectrales de absorción en el ultravioleta-visible se suelen presentar como gráficas de absorbancia o logaritmo del coeficiente de extinción frente a longitud de onda.

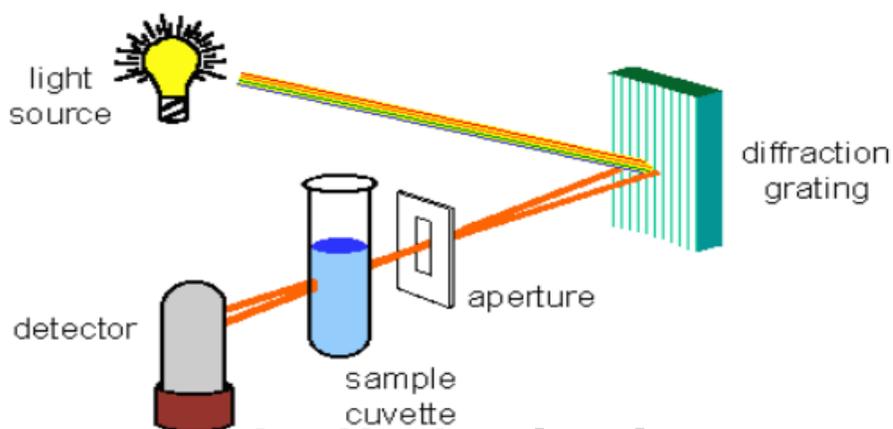


Figura 2: Los componentes principales de un espectrofotómetro Ultravioleta-Visible. Fuente: Córdova y Córdova (2022)

Se sabe que la técnica analítica comúnmente utilizada para medir absorbancias es a través de espectrofotometría de UV- visible, en este caso fue utilizada esta para determinar las concentraciones de la cafeína extraída de las diferentes muestras de orina, de aquí la importancia de conocer y saber a qué longitud de onda se mide este compuesto. Córdova y Córdova (2022) citan:

El valor de la longitud de onda de la cafeína anhidra, si el solvente es metanol tiene un valor λ_{\max} de 273 nm, si se prepara soluciones de cafeína en partes por millón (ppm) se puede hacer un ajuste de valores mediante la absorbancia de cada concentración de la solución, si planteamos una gráfica de estos valores observados medidos en el equipo UV/visible a cada valor de concentración preparado, se puede aplicar la ecuación de la recta , mediante el cual podríamos obtener el valor de b = Intercepto, m =pendiente, Y = valor de absorbancia y X = valores de concentración.

Reacciones colorimétricas

Las pruebas colorimétricas o pruebas rápidas se utilizan en el análisis forense de drogas para obtener una indicación presuntiva rápida de la posible presencia o ausencia de una determinada droga o clase de drogas en la muestra en cuestión; el color obtenido en cada prueba particular puede variar en función de las condiciones del ensayo, la cantidad de sustancia presente y los materiales extraños que contenga la muestra. Para efectuar una prueba colorimétrica se coloca una pequeña cantidad de la muestra (20-30 mg) en la cavidad de una placa de toques, se añade una o dos gotas del reactivo a utilizar y se observa si se produce algún cambio de color. Los reactivos para las pruebas colorimétricas deben prepararse el mismo día del ensayo y ponerse a prueba con los estándares secundarios utilizados. También debe efectuarse un ensayo en blanco para excluir falsos positivos. Saavedra et al. (2018)

www.bdigital.ula.ve

Reacción Murexida

Los compuestos que tienen un núcleo purínico como ácido úrico, guanina, la xantina y sus derivados 1,3-sustituidos (teofilina) 3,7 substituidos (teobromina) y 1,3,7 substituidos (cafeína) dan la reacción de la murexida, siendo inequívoca para la determinación cromogénica de alcaloides de naturaleza purínica. Se trata de una reacción de desproporción que viene a ser una oxidación-reducción donde un elemento es al mismo tiempo oxidado y reducido (Córdova y Córdova, 2022).

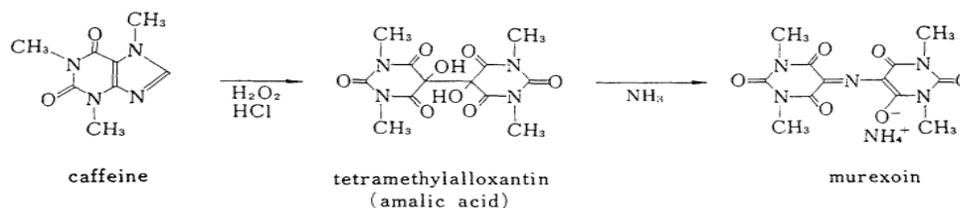


Figura 3. Reacción de Murexida. **Fuente:** extraído de Matajira y Hiroshi (1991).

En el caso de la cafeína y sus derivados, se obtiene un compuesto conocido como purpurato de amonio, el cual es un compuesto orgánico ampliamente utilizado en Química analítica (Matajiro y Hiroshi, 1991). Para ello, la cafeína (y en general las xantinas), son oxidadas por el ácido clorhídrico concentrado para formar un compuesto amarillo, cuya sal de amonio tiene un color rojo – violáceo (Matajiro y Hiroshi, 1991).

DEFINICIÓN OPERACIONAL DE TÉRMINOS

Té negro

Se elabora a partir de las hojas fermentadas de la planta *Camellia sinensis*, contiene del 2% al 4% de cafeína, lo que afecta el pensamiento y el estado de alerta. Es probable que beber cantidades muy altas de té negro que contenga más de 10 gramos de cafeína no sea seguro. Las dosis de té negro tan altas pueden causar la muerte u otros efectos secundarios graves (Natural Medicines Comprehensive Database, 2022).

Bebidas energizantes cafeinizadas

Las bebidas energizantes son bebidas no alcohólicas, generalmente gasificadas, compuestas básicamente por cafeína y carbohidratos, La energía está dada por las calorías aportadas, más la vitalidad que proporcionan al organismo sus otros componentes a través de acciones diversas, sobre todo en situaciones de desgaste físico y/o mental, incrementan la resistencia física, proveen reacciones más veloces a quien las consume, logrando un nivel de concentración, evitan el sueño, proporcionan sensación de bienestar, estimulan el metabolismo (Melgar Meza, 2015).

Orina

Es un líquido acuoso transparente y amarillento, de olor característico (*sui generis*), secretado por los riñones y eliminado al exterior por el aparato urinario (Gutiérrez Lilia, 2015).

Alcaloide

Sustancias orgánicas nitrogenadas con carácter básico mayoritariamente de origen vegetal con una estructura química compleja que ejercen acciones farmacológicas diversas en pequeñas dosis y poseen, en general, una marcada toxicidad por lo que su rango terapéutico es muy estrecho y precipitan con ciertos reactivos. Se encuentran en un gran número de familias vegetales superiores y se pueden localizar en tejidos periféricos como corteza, raíces, hojas, frutos y semillas (Miralba Requena, 2022).

Intoxicación

Es el conjunto de perturbaciones fisiológicas y/o anatomopatológicas diversas, producidas por principios tóxicos activos, de diferente severidad clínica, que pueden en ocasiones llevar a la muerte, dependiendo de numerosas variables tales como: cantidad, vía de ingreso, susceptibilidad individual, entre otros (Vallejo M., 1984).

Extracción

La extracción es un proceso mediante el cual una sustancia que se encuentra en una mezcla sólida o disuelta en un determinado disolvente es transferida a otro disolvente. Las razones más frecuentes por las que se usa una extracción en Química Analítica son aislar, concentrar o separar un analito de una especie que interfería en su análisis. (Calle Aznar, 2011).

DEFINICIÓN OPERACIONAL DE LAS VARIABLES

Tabla 1. Operacionalización de la variable: concentración de cafeína

Variable	Definición conceptual	Definición operacional
Concentración de cafeína	Es la concentración de cafeína presente por unidad de volumen de orina excretada.	Su valor es obtenido cuantitativamente por medio de la espectroscopia UV-Visible a 273 nm en unidades de ppm (mg/L)
Dimensiones	Indicador	
<ul style="list-style-type: none"> ● Alta concentración ● Baja concentración ● Ausencia de concentración 	Detección del pico máximo en el espectro de absorción de cafeína a 273 nm.	

Fuente: Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

Tabla 2. Operacionalización de la variable: determinación cualitativa de cafeína,

Variable	Definición conceptual	Definición operacional
Determinación colorimétrica de cafeína	Es la identificación colorimétrica de xantinas por medio de la reacción de murexida.	Se mide cualitativamente por medio de una reacción colorimétrica, utilizando (HCl/H ₂ O ₂ y NH ₃)
Dimensiones	Indicador	
<ul style="list-style-type: none"> ● Ausencia de xantinas ● Presencia de xantinas 	Color rojo violáceo presente	

Fuente: Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023)

CAPITULO III

MARCO METODOLOGICO

Tipo de Investigación

Según Hurtado (2012), existen diferentes tipos de investigación: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa. Así mismo Hurtado (2000), dice que la investigación descriptiva tiene como objetivo la descripción o caracterización del evento de estudio dentro de un contexto en particular. Precisa de un fenómeno, del mismo modo explica que la investigación comparativa tiene como objetivo lograr la identificación de diferencias y semejanzas con respecto a la aparición de un evento en dos o más contextos, grupos o situaciones diferentes. Por lo tanto, la presente investigación fue descriptiva comparativa, puesto que, usando un método cuantitativo, se buscó describir las concentraciones de cafeína en orina en cada grupo de consumidores (café, té y bebidas energizantes), así como compararlos, determinando si existen diferencias entre ellos.

Diseño de Investigación

El diseño de investigación es la estrategia general que adopta el investigador para responder al problema planteado, definición dada por Fidiás Arias (2012). De esta manera la presente investigación se clasifica de carácter no experimental, ya que el estudio de los valores de la determinación de cafeína en orina de consumidores de bebidas energizantes, té negro y café, se realizó sin manipular intencionalmente estas

variables, observándose tal cual en su contexto natural. Por otro lado, según Hernández et al. (2010), la investigación no experimental, consiste en estudios que se realizan sin manipulación deliberada de variables y en lo que solo se observan los fenómenos en su ambiente natural para después analizarlos.

Igualmente, el diseño de la investigación también se tipifica como transversal, ya que los valores fueron analizados en un tiempo específico, describiendo características y elementos más relevantes de las mismas. Dentro de este marco Hernández et al. (2010) explican que los diseños transversales tienen como objeto recolectar datos en un solo momento, en un tiempo único, siendo su propósito describir variables y analizar su incidencia e interrelación en un momento dado.

Población y Muestra

Unidad de Investigación
www.bdigital.ula.ve

Población:

La población, o en términos más precisos, población objetivo, es un conjunto finito o infinito de elementos con características comunes para los cuales será extensivas las conclusiones de la investigación (Fidias Arias, 2012). En tal sentido, la población de esta investigación estuvo conformada por las personas que consumen café, té negro y bebida energizantes en el Municipio Libertador del estado Mérida – Venezuela durante el periodo agosto-diciembre de 2023.

Muestra:

Fidias Arias (2012) define la muestra como un subconjunto representativo y finito que se extrae de la población accesible. En este sentido la muestra de esta investigación estuvo representada por 23 voluntarios, agrupados de la siguiente manera: un (1) control, 10 muestras de consumidores de café, 6 muestras de

consumidores de té negro y 6 muestras de consumidores de bebidas energizantes, residentes del Municipio Libertador del estado Mérida, que se ofrecieron voluntariamente a participar en la investigación, previo consentimiento informado.

Selección del Tamaño de Muestra

De la población señalada se tomó una muestra no probabilística, la cual, según Hernández et al. (2006) corresponde al tipo de muestra cuya selección no depende de que todas tengan la misma probabilidad de ser elegidos, sino la decisión de un investigador. Estos se seleccionaron previo consentimiento informado, los cuales deben cumplir con los criterios de inclusión.

Criterios de inclusión y exclusión

- Muestra: Ingresaron al estudio hombres y mujeres que cumplieron los siguientes criterios:
 - 1) En edades comprendidas entre 19 y 42 años.
 - 2) Personas que no presentes patologías (hepática y renal) aparentemente.
 - 3) Paciente sin prescripción médica con analgésicos.

- Control: los criterios aplicados fueron los siguientes:
 - 1) En edades comprendidas entre 19 y 42 años.
 - 2) Paciente que no presente patologías (hepática y renal) aparentemente.
 - 3) Paciente sin prescripción médica con analgésicos.
 - 4) Paciente que no consuma café, té negro, bebidas energizantes.

Instrumento de Recolección de Datos

Para la obtención de los datos requeridos se utilizó el cuestionario como instrumento. Según Hernández Sampieri (1997), el cuestionario es tal vez el más utilizado para la recolección de datos; este consiste en un conjunto de preguntas respecto a una o más variables a medir.

Para esta investigación se utilizará como instrumento el cuestionario mixto, ya que estará conformado por preguntas cerradas y abiertas.

Procedimiento de la Investigación

1. Se solicitó el apoyo de residentes del Municipio Libertador del estado Mérida a través de diferentes medios de comunicación para que participaran de manera voluntaria en la investigación.
2. Se aplicó el cuestionario: a 23 voluntarios consumidores de café, té negro y bebida energizantes se les realizó un cuestionario, para que de manera anónima pudieran aportar información importante a la investigación, previo consentimiento informado (anexo 1 y 2).
3. Toma de Muestras: conforme al consentimiento informado, se le pidió a cada voluntario suministrar una muestra de orina, 2 horas pos ingesta de las bebidas.
4. Procedimiento de análisis de muestra:
 - a) Se decidió trabajar únicamente con 19 muestras, ya que las 3 muestras restantes no cumplieron con los criterios de inclusión. Se procedió a trabajar de la siguiente manera:

- Control: una muestra de orina de un voluntario que no consume café, té negro o bebida energizantes, aparentemente sano y sin estar bajo tratamiento con analgésicos.
- Café: 9 muestra de orina de voluntarios que consumieron la bebida.
- Té negro: 4 muestra de orina de voluntarios que consumieron la bebida.
- Bebida energizante: 6 muestra de orina de voluntarios que consumieron la bebida.

b) Una vez finalizada la post ingesta de las bebidas, al cabo de 2 horas, se les pidió a los voluntarios que recolectaran una muestra de orina aleatoria en recolectores con tapa y debidamente identificados.

c) Las muestras fueron cubiertas con papel de aluminio y trasladadas de inmediato al laboratorio de Toxicología “Dr. Pablo Paredes Vivas” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes para ser refrigeradas a 7°C.



Figura 4. Muestras de orina. **Fuente:** Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

d) Se realizó la preparación de reactivos de la manera siguiente:

Stock de solución estándar: se pesó 0.025 g de cafeína pura, proveniente de la Empresa de productos químicos especializados Honeywell Seelze, Alemania, se aforo con 2 mL de ácido sulfúrico 0,1N y agua destilada en un matraz aforado de 50mL (solución madre), luego se tomó 5 mL de la solución anterior y se aforo con 2mL de ácido sulfúrico 0,1N y agua destilada en un matraz aforado de 50mL para obtener una concentración de 50 $\mu\text{g/mL}$ (solución intermedia).

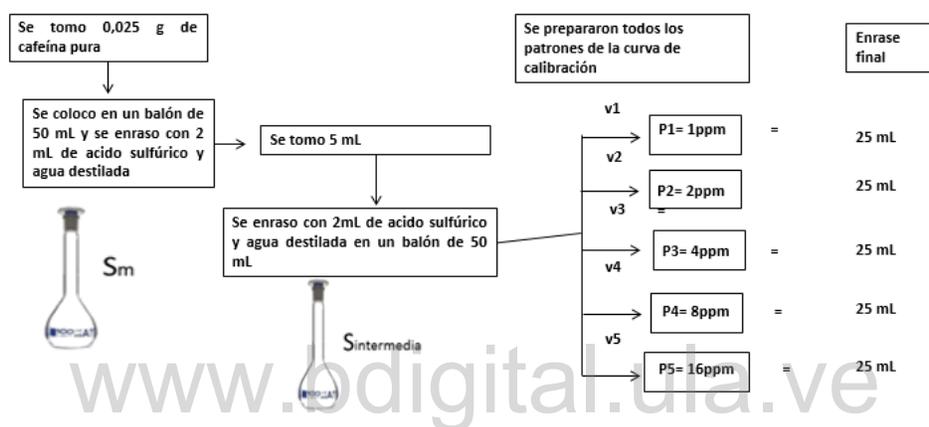


Figura 5. Procedimiento de preparación de los patrones. **Fuente:** Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

e) Se realizaron las soluciones de referencia de concentraciones 1 $\mu\text{g/mL}$, 2 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 8 $\mu\text{g/mL}$ y 16 $\mu\text{g/mL}$, a partir de la solución intermedia.

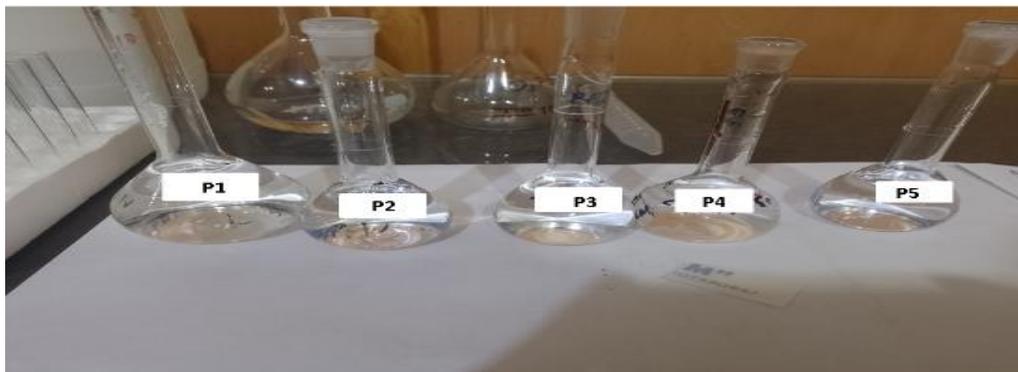


Figura 6. Soluciones de referencia. **Fuente:** Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

- f) Se realizó la curva de calibración.
- g) Se vació la orina en un vaso precipitado de 10 mL.
- h) Se midió pH inicial con Papel indicador Universal (Newstar)
- i) Se midió 5 mL de muestra de orina y alcalinizó con la adición de 3 gotas de hidróxido de amonio.
- j) Se midió el pH final (12) Papel indicador Universal (Newstar)
- k) Usando el soporte universal con la pinza de mango y el embudo de separación se vació la orina cuidadosamente.
- l) Se agregó 5 mL de Cloroformo (v/v) al embudo de separación.
- m) Después se mezcló manualmente durante 10 minutos (extracción).



Figura 7: visualización de la fase orgánica. **Fuente:** Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

- n) Se separó la capa orgánica en tres capsulas de porcelana:
- Primera capsula de porcelana: Identificación mediante la reacción de Murexida.

- Segunda capsula de porcelana: Cromatografía de Capa Fina.
- Tercera capsula de porcelana: Lectura en el Espectrofotómetro.

o) Las capsulas contentivas con la capa orgánica se llevaron a baño María 50 °C hasta sequedad.

p) Se sometió la primera cápsula con residuo a la prueba colorimétrica de reacción de Murexida:

Técnica operatoria: Identificación de la cafeína

Reactivos:

- Ácido clorhídrico
- Peróxido de hidrogeno
- Amoniacó diluido

Procedimiento

Al residuo en una de las capsula de porcelana, se le añadió 1 mL de ácido clorhídrico y 10 gotas de peróxido de hidrogeno, se calentó hasta sequedad en baño María. Finalmente, se invertido la capsula sobre un recipiente que contenía amoniaco diluido, el residuo debe adquirir un color rojo violáceo. (Este procedimiento también se le aplico a una muestra dopada y a una muestra con otro alcaloide)

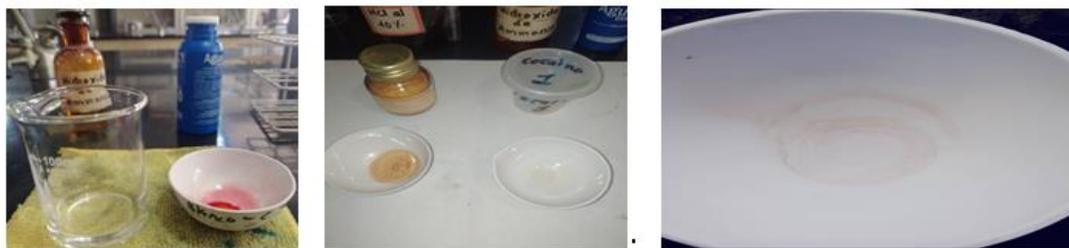


Figura 8. A la izquierda reacción de Murexida en orina dopada (positivo). En el centro Reacción de Murexida con otros alcaloides: Morfina y Cocaína (negativo) para cafeína y sus metabolitos y a la derecha reacción de Murexida de muestra de orina (positiva).. **Fuente:** Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

q) Se sometió la segunda cápsula con residuo a Cromatografía de capa fina (TLC).

Procedimiento:

Se cortaron placas TLC sílica gel 60 F254 5cm de ancho por 11 cm de largo, donde se hizo el sembrado de una solución acuosa de cafeína usada como patrón y las soluciones reconstituidas de las muestras de orina, todas las muestras se sembraron a 1 cm arriba del borde inferior de la placa (conocida como origen) y separadas una de otra por 1 cm. Según sistema TA del Clarke's (Metanol y amoniaco)



Figura 9. Placa de TLC para cafeína. Fuente: Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

q) Se sometió la tercera cápsula con residuo a espectrofotometría UV-visible.

Procedimiento:

Se procedió a encender el espectrofotómetro UV-160A marca Shimadzu, 10 minutos antes de hacer las lecturas. Cabe resaltar que para poder leer las

concentraciones de cafeína en el espectrofotómetro es necesario contar con cubetas de cuarzo ya que con ellas se pueden medir rango UV. Posteriormente se calibro el equipo, se realizó un barrido con un rango de 250 a 350 nm para conocer la longitud de onda máxima y su mayor absorbancia en el equipo.

Se reconstituyo el extracto de la tercera capsula con 5 mL de ácido sulfúrico 0,1N y se mezcló en la capsula de porcelana vigorosamente con una varilla de vidrio para su posterior lectura en el espectrofotómetro UV-160^a marca Shimadzu.



Figura 10. Espectrofotómetro UV-160A Marca Shimadzu. **Fuente:** Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

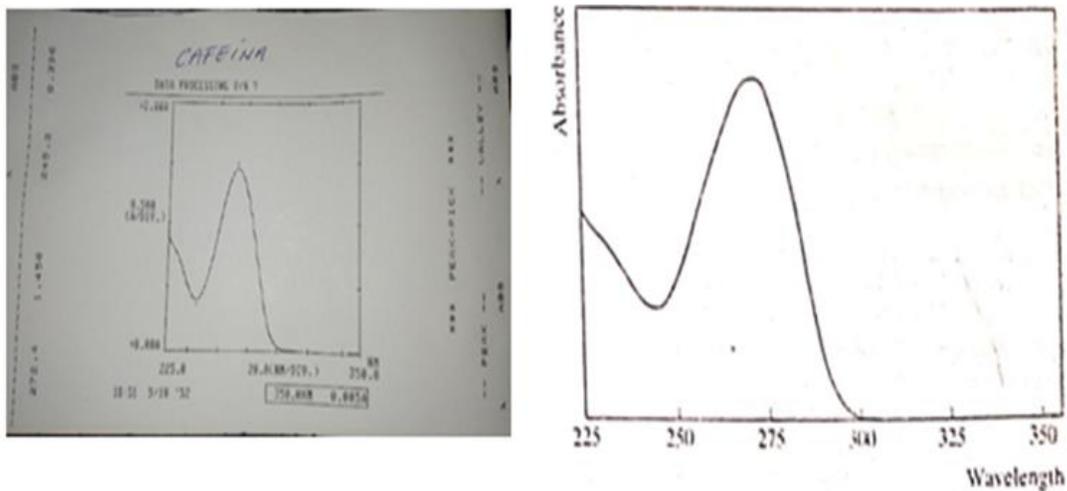


Figura 11. Espectro de absorción de la cafeína. **Fuente:** Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023). Espectro de absorción de la cafeína (derecha). **Fuente:** extraída de Clark's (1986).

Reactivos

- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.1N
- Hidróxido de Amonio (NH_4OH)
- Hidróxido de Sodio (NaOH)
- Cloroformo (CHCl_3)
- Peróxido de Hidrogeno (H_2O_2)
- Ácido clorhídrico (HCl)
- Metanol (CH_3OH)
- Dragendof
- Cafeína pura (Honeywell Seelze, Alemania)

Material y equipos

- Recipientes para muestra de orina con tapa.
- Papel filtro y papel parafilm
- Marcador y tirro
- Papel indicador
- Goteros
- Capilares
- Soporte Universal
- Cristalería y materiales de laboratorio en general.
- Baño de maría
- Espectrofotómetro UV-160A marca Shimadzu
- Celdas de cuarzo
- Placa TLC Silica gel 60 F254, marca Merck
- Cámara para TLC

Análisis de Datos

Para llevar a cabo el procesamiento de los datos, se empleó el programa paquete estadístico para las ciencias sociales, SPSS para Windows versión 27.0. Este programa permite analizar datos almacenados en diversos formatos y generará documentos con alta calidad de presentación. Para el análisis de los resultados se realizaron cálculos descriptivos de media aritmética, mediana, desviación típica, así como gráficos de barras simples y de caja y bigote. Inferencialmente, se realizaron contraste de hipótesis a un nivel de confianza (95%), utilizando las pruebas no paramétricas U de Mann Whitney y H de Kruskal Wallis.

Típicamente estos análisis son utilizados en casos donde los eventos, personas u objetos son agrupados en dos o más categorías nominales, al usar esta técnica estadística se puede probar significantes diferencias entre la distribución observada de la data entre categorías y la distribución esperada (Walpole et al., 2002).

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

RESULTADOS

patrones	[ppm]	A
P ₁	1	0,092
P ₂	2	0,181
P ₃	4	0,386
P ₄	8	0,762
P ₅	16	1,504

Tabla 3. Datos de la curva de calibración de la cafeína. **Fuente:** Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

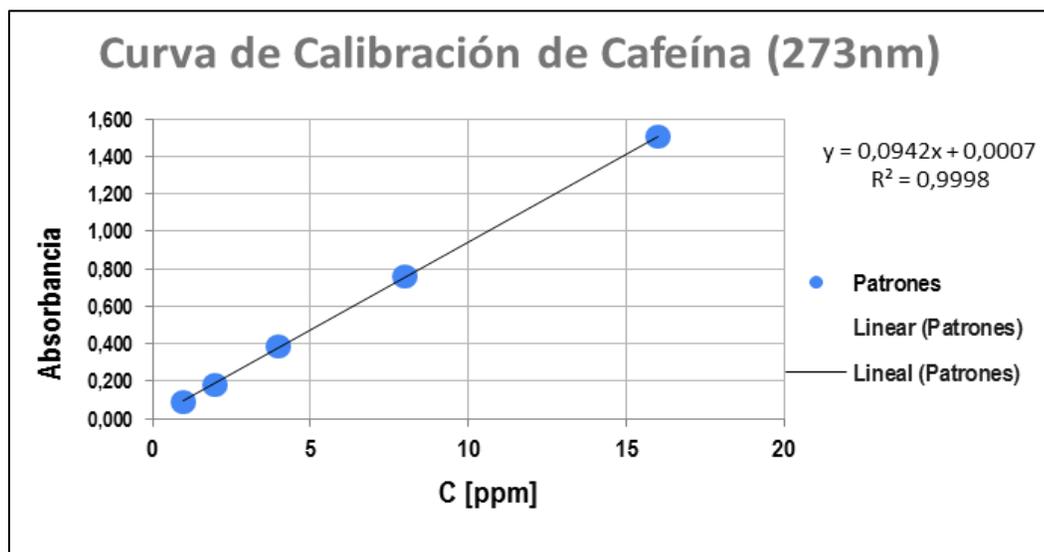


Gráfico 1. Curva de calibración de la cafeína. **Fuente:** Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

Tabla 4. Absorbancia y concentraciones de las muestras de orina de consumidores de café.

* Muestra excluida

MUESTRA	Absorbancia	Concentración (µg / mL)
Muestra 1	0,145	1,531
Muestra 2	1,047	11,107
Muestra 3	0,276	2,922
Muestra 4	0,349	3,697
Muestra 5	1,491	15,820
Muestra 6	0,253	2,678
Muestra 7	0,152	1,606
Muestra 8	0,129	1,361
Muestra 9*	0,117	1,234
Muestra 10	0,117	10,937
Muestra Blanco	0,000	0,000

Fuente: Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

Tabla 5. Absorbancia y concentraciones de las muestras de orina de consumidores de Té negro. *Muestra excluida

MUESTRA	Absorbancia	Concentración ($\mu\text{g} / \text{mL}$)
Muestra 1	0,444	4,705
Muestra 2*	0,104	1,096
Muestra 3	0,142	1,5
Muestra 4*	0,095	0,990
Muestra 4	0,222	2,349
Muestra 6	0,168	1,776
Muestra Blanco	0,000	0,000

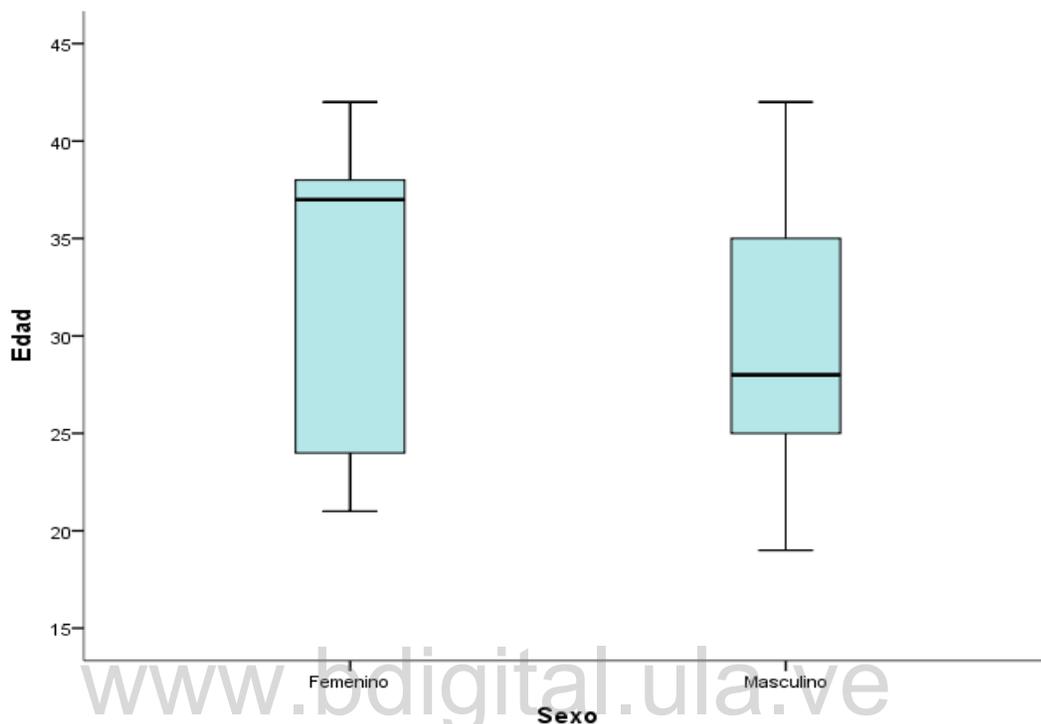
Fuente: Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

Tabla 6. Absorbancia y concentraciones de las muestras de orina de consumidores de Bebidas Energizante.

MUESTRA	Absorbancia	Concentración ($\mu\text{g} / \text{mL}$)
Muestra 1	0,186	1,967
Muestra 2	0,121	1,277
Muestra 3	0,132	1,393
Muestra 4	0,400	4,238
Muestra 5	0,177	1,871
Muestra 6	0,406	4,302
Muestra Blanco	0,000	0,000

Fuente: Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

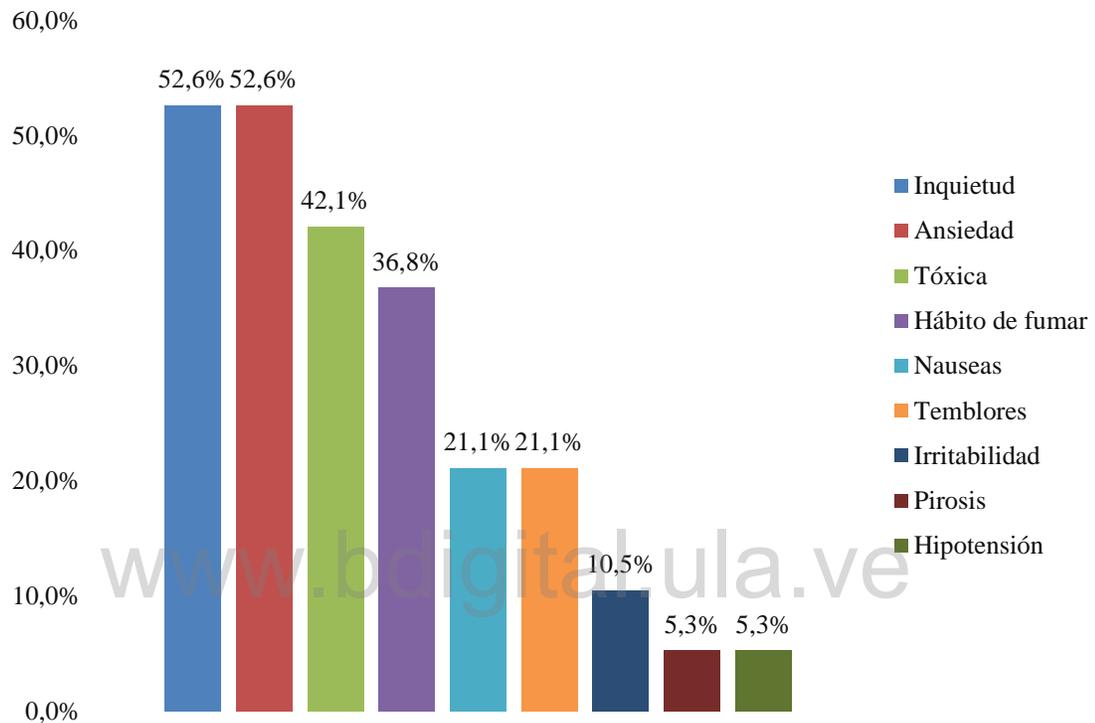
Gráfico 2. Edad según sexo de los pacientes de la muestra.



Fuente: Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

El conjunto de sujetos de la muestra estuvo distribuido en 73,7% (n=14) de sexo masculino y 26,3% (n=5) femenino. En cuanto a la edad, estuvo entre 19 y 42 años, con media y desviación típica $30,26 \pm 7,43$ años, especificando por sexo, en femenino ($32,40 \pm 9,29$ años, mediana 37 años) y en masculino ($29,50 \pm 6,89$ años, mediana 28 años).

Gráfico 3. Síntomas, signos y hábito de fumar de los pacientes de la muestra.



Fuente: Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

En el gráfico 2 se observa que el mayor porcentaje de pacientes reportó inquietud (52,6%) y ansiedad (52,6%). Así como también se observa que el 42,1% de los pacientes reporto que desconocen los efectos tóxicos de la cafeína en el organismo y el 23,8% está relacionado con aquellas personas que tienen hábitos de fumar.

Tabla 7. Concentración de la cafeína de los pacientes de la muestra. Mérida, diciembre 2023.

	<i>Bebidas</i>				
	<i>Café</i>	<i>Té</i>	<i>energizantes</i>	<i>Total</i>	
N	9	4	6	19	
Media	5,73989	2,58250	2,50800	4,05458	
Desviación típica	5,39550	1,45851	1,390566	4,06560	
Error típico	7	3		1	
	1,79850	,729256	,567696	,932713	
	2				
Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	1,59253	,26168	1,04869	2,09502
	Límite superior	9,88724	4,90332	3,96731	6,01414
Mínimo	1,361	1,500	1,277	1,277	
Máximo	15,820	4,705	4,302	15,820	

Fuente: Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

La media de las concentraciones del grupo de café estuvo representada por 5,74 $\mu\text{g} / \text{mL}$ y el grupo de las concentraciones de té negro fue de 2,58 $\mu\text{g} / \text{mL}$, así como el grupo de bebidas energizantes estuvo representada por 2,50 $\mu\text{g} / \text{mL}$. En cuanto a la desviación típica que de las concentraciones del café se reportó 5,39 $\mu\text{g} / \text{mL}$, en el té fue de 1,45 $\mu\text{g} / \text{mL}$ y en las bebidas de energizantes fue de 1,39 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Así mismo los intervalos de confianza del café tuvieron un límite inferior de 1,59 y el límite superior de 9,88.

Tabla 8. Comparación de las absorbancias y concentraciones de los pacientes de la muestra. Mérida, diciembre 2023. **Nota:** prueba H de Kruskal Wallis

	Grupo	N	Rango promedio	p-valor
Concentración	Café	9	11,44	,551
	Té	4	9,25	
	Bebidas Energizantes	6	8,33	
	Total	19		

Fuente: Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

Tabla 9. Absorbancia y concentración de los pacientes de la muestra. Mérida, diciembre 2023. **Nota:** prueba U de Mann-Whitney

	N° de tazas	N	Media	Desviación típica	Error típico de la media	p-valor
Absorbancia	1 y 2	8	,23563	,115244	,040745	,840
	3 o más	11	,40618	,449476	,135522	
Concentración	1 y 2	8	2,49350	1,223208	,432469	,114
	3 o más	11	5,18991	5,033646	1,517701	

Fuente: Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

En cuanto a la comparación de las concentraciones de los voluntarios que consumieron 1 y 2 tazas de té negro o café y los que consumieron 1 o 2 latas de bebidas energizantes, no hubo diferencia significativa ya que el p-valor fue de 0,114, debido a que el p-valor es menor o igual a 0.05.

DISCUSION

En la tabla No. 10, se muestra los datos de concentración de la curva de Calibración, para la cual se utilizaron estándares de referencia con una concentración de 1, 2, 4,8 y 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$, mostrando linealidad en el rango de 273 nm de longitud de onda. Al determinar el análisis de las muestras de orina da como resultado que para los voluntarios que consumieron la bebida energizante, té y café, de las muestras analizadas solo 1 de ellas superan el valor permitido por la Agencia Mundial Antidopaje, que es de 12 $\mu\text{g} / \text{mL}$, lo que representa un 5% del total de las muestras; para los voluntarios que consumieron café, quedando los consumidores de bebidas energizantes y té negro por debajo del valor sugerido por la WADA.

Al hacer una comparación entre los grupos de consumidores de las bebidas antes mencionadas como lo muestra la tabla No. 3, 4 y 5. Se determinó que los consumidores de café, presentaron una concentración promedio mayor, con respecto a los consumidores de té negro y bebidas energizantes.

El análisis estadístico se realizó a través del paquete esta disco SPSS para Windows versión 27.0. (Tabla N° 9) en donde no se rechaza la hipótesis, ya que el resultado en cuanto a la comparación de las concentraciones de los voluntarios que consumieron 1 o 2 tazas de té y café y lo que consumieron 1 o 2 latas de bebidas energizantes, no hubo diferencia significativa ya que el p-valor tiene que ser menor o igual a 0,05 y el resultado obtenido fue de 0,114.

En la realización de este proceso inferencial, siempre existe el riesgo de error o imprecisión ya sea por el azar o la variabilidad biológica del fenómeno que se está estudiando en este caso, la versión de los consumidores sobre el número de tazas y latas ingeridas y su velocidad de excreción.

El presente estudio, solo se pudo realizar esa cantidad de muestras, debido a que este tipo de análisis es muy costoso y dado que los gastos del estudio corrieron a cargo del Laboratorio de Toxicología “Dr Pablo Paredes Vivas”, Departamento de Toxicología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la Universidad de los Andes, y de los autores del presente documento, la cantidad de muestras se redujo a 19 voluntarios en total , lo que tiende a presentar menor precisión y mayor variabilidad por el azar.

En el cuestionario realizado (Ver anexo No.3) para determinar el conocimiento de los participantes sobre las bebidas energizantes, té negro y café y determinar si desconocen si la ingesta de alta concentraciones de cafeína pueden llegar a hacer tóxicas en el organismo, estos resultados sirven para tomar medidas de información, para que las personas que consuman estas bebidas que contienen cafeína conozcan de los efectos tóxicos que puede provocar su consumo. De las personas participantes del estudio el 42.1 % desconocen los efectos tóxicos. (Grafico N° 2).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

1. Con base en las muestras trabajadas en este estudio se concluye que gracias a la técnica de espectroscopia UV-visible y reacciones colorimétricas se logró cuantificar e identificar la cafeína de la excreción urinaria en personas consumidoras de bebidas energizantes, té negro y café.
2. Los niveles de cafeína encontrados en las muestras de orina por el consumo de bebidas energizantes, té negro y café, variaron de acuerdo al consumo, obteniéndose menor cantidad de cafeína en excreta urinaria, en los voluntarios que consumieron 1 o 2 tazas de té negro y 1 o 2 latas de bebidas energizantes.
3. La excreta urinaria de cafeína en un consumidor de café, en el 5% de los casos con 15,820 $\mu\text{g/mL}$, está por encima de la concentración de cafeína permitida por la Agencia Mundial Antidopaje WADA que es de 12 $\mu\text{g/mL}$.

RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios con una mayor cantidad de voluntarios y grupo control, para que los resultados sean lo más consistente posible.
2. Realizar un estudio donde se pueda controlar la variable ya que esta puede influir en los resultados.
3. Estandarizar una marcha analítica para la extracción de cafeína en orina.
4. Evaluar la determinación de cafeína en orina por otra técnica analítica, como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)
5. Considerar la identificación y cuantificación de otros metabolitos de la cafeína, lo que podría proporcionar información adicional sobre el metabolismo de la cafeína en el cuerpo.
6. Acompañar la investigación con análisis de creatina y transaminasas de los voluntarios, para así poder evaluar el funcionalismo renal y hepático, ya que estas pueden influir directamente en la determinación de cafeína en la orina, por su metabolismo y excreción.

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRAFICAS

- Baltrons, E., Bernal, N. (2020) Determinación del contenido de cafeína presente en bebidas energizantes comercializadas en el Área Metropolitana de San Salvador. [Tesis, Universidad de El Salvador] <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/473>
- Bravo, R. (2015) Guía Técnica para la realización de la Validación de Métodos de Ensayo. Chile.
- Calle, A. (2011) Determinación analítica de la cafeína en diferentes productos comerciales. (Trabajo de grado). Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona.
- Cerón, U. (2021) Influencia de la edad sobre la concentración urinaria de la cafeína en mujeres sanas de la facultad de medicina de la Universidad San Martín de Porres. (Trabajo de grado). Universidad San Martín de Porres, Lima-Perú.
- Córdova, A., Córdova, P. (2022). Identificación de la cafeína aislada de las hojas de *Ilex inundata* Poepp. *Ex Reissek* por sus características fisicoquímicas y espectrometría UV. [Tesis de grado, Universidad Nacional De La Amazonía Peruana Perú] [oai:repositorio.unapiquitos.edu.pe:20.500.12737/8684](https://oai.repositorio.unapiquitos.edu.pe:20.500.12737/8684).
- Falcon, M., Gutiérrez, D., Rodríguez, G., Tenorio, M. (2020). Determinación de cafeína en bebidas energizantes y frecuencia de consumo en estudiantes de farmacia y bioquímica [Trabajo de investigación, Universidad María Auxiliadora-Perú] <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/489>.

- Food and Drug Administration. (2023, 9 de September). Al grano: ¿cuánta cafeína es demasiada?
- Fidias G, Arias. "El Proyecto de Investigación, introducción a la metodología científica". edt: Episteme,c.a. 5ta edición. Caracas, Venezuela. 2012
- Gutiérrez, G.L. (2015). Determinación de la microalbuminuria para el diagnóstico de daño renal en mujeres con infección de vías urinarias recurrentes que asisten al instituto ecuatoriano de seguridad social., IENA – TENA –NAPO (Tesis de grado). Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2006). Metodología de la investigación. México D.F.McGraw Hill.
- Hurtado J. (2000) *Metodología de la Investigación Holística*. Caracas-Venezuela: Ediciones Fundación Sypal
- Hurtado, J (2010). Metodología de la investigación, guía para la comprensión holística de la ciencia. Bogotá: Edición Quirón.
- Hurtado, I., y Toro, J. (1999). Paradigmas y métodos de investigación en tiempos de cambio. Venezuela: Episteme consultores Asociados C.A.
- Isabel, C y Ninoska, C. (1998). La Cafeína: Un Estimulante Natural (Trabajo de Investigación). Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Lievano, M. (2019). Caracterización del consumo de bebidas energizantes en estudiantes de la Pontificia Universidad Javeriana (Tesis de grado). Universidad Javeriana, Bogotá.

Matajira, K y Hiroshi, K. (1991). Murexide Reaction of Xanthine Derivates. Journal of Heterocycli Chemistry, 108 (9) 916-920.

Melgar, M. (2015). Determinación de cafeína en bebidas energizantes comercializadas en el distrito de Miraflores –Lima (Tesis de grado). Universidad Alas Peruanas, Perú.

Ministerio de Salud Publica Cuba. (2015). Validación de Métodos Analíticos:

https://www.cecmecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/validacion_de_metodos_analiticos.pdf

Moncada, J. (2018). Determinación de cafeína en café de grano comercial. [Tesis de grado, Universidad Técnica Federico Santa María, Chile] <https://repositorio.usm.cl>

Natural Medicines Comprehensive Database Consumer Version. Té negro, [actualizado 10 junio 2022; revisado 11 marzo; consulta 30 diciembre. 2023]:

<https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/natural/251.html>

Oficina de las naciones unidas contra la droga y el delito. (2010). Informe mundial sobre droga:

https://www.unodc.org/documents/data-and-análisis/WDR2010/Informe_Mundial_sobre_las_Drogas_2010.pdf/

Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2023, 1 de abril). Cantidad de café al día.

<https://www.metroworldnews.com/noticias/2023/04/22/oms-cada-persona-se-puede-tomar-tres-o-cuatro-tazas-de-cafe-al-dia/>

Pardo, R., Álvarez, Yolanda., Barral, D., Farré, Magí. Cafeína: un nutriente, un fármaco, o una droga de abuso Adicciones, vol. 19, núm. 3, 2007, pp. 225-238 Sociedad Científica Española de Estudios sobre el Alcohol, el Alcoholismo y las otras Toxicomanías Palma de Mallorca, España.

- Rodas, L. (2021). Evaluación de los efectos de la ingesta de cafeína y la actividad física sobre el estado inflamatorio del organismo [Tesis doctoral, Universitat de les Illes Balears España].
- Rubio, C., Montaña, R., González, M., López, S., Morales, F., Moreno, V., Portillo, M. (2021). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre los riesgos asociados al consumo de bebidas energéticas. *Revista del comité científico n° 33*, 005 www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/BEBIDAS_ENERGETICAS.pdf
- Saavedra, F., Almonacid, A., Jauregui, J., Ávila, J., Soria, R., Pérez, R., Torres, C., Cuba, J., Ayala, N. (2018). Análisis secuencial para identificar Antiinflamatorios No Esteroides (AINES) con reacciones colorimétricas y de microcristalización. *Ciencia e Investigación*, 21(1), 35-42: <https://www.researchgate.net/profile/Christian-Torres>.
- Sánchez, J.C., Romero, C.R., Arroyave, C.D., García, A.D., Giraldo, F.D., Sánchez, L.V. (2015). Bebidas energizantes: Efectos benéficos y perjudiciales para la salud (Trabajo de Investigación). Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.
- Vallejo, M. (1984). Toxicología en General y Análisis Toxicológico. Editorial Consejo Colombiano de Seguridad. Bogotá.
- Soberon, J., (2010). cromatografía: Conceptos y Aplicaciones. Arakuku, 2(1), 1-6.
- Spangenberg, B., (2011). *Cuantitative thin-layer chromatography: a practical survey*. Springer Science & Business

ANEXOS



Consentimiento informado



Dirigido a hombres y mujeres residentes del Municipio Libertador del estado Mérida que consuman bebidas energizantes, té negro y café, a quienes se le invita a participar en la investigación que lleva por título: Determinación de cafeína en orina asociado al consumo de bebida energizantes, té negro y café mediante la técnica de espectroscopia UV-visible

Nombre de los Investigadores: Br. Cristy Georgina Salazar Blanco

Br. Humbert Gregorio Gomez

Nombre de la institución: Universidad de los Andes. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Escuela de Bioanálisis. Cátedra de Toxicología.

Tenemos el deber de informarle que dicha investigación nos proporcionará información sobre las concentraciones de cafeína en orina, muestras que usted nos proporcionará, pero antes debe considerar lo siguiente:

- Su aporte a esta investigación constará de una muestra de orina que usted nos suministrará.
- Su participación en esta investigación es de manera voluntaria y gratuita.
- Usted puede cambiar de idea más tarde y dejar de participar aun cuando haya aceptado antes.
- Su integridad física y moral será respetada y se mantendrá la máxima discreción en todo momento.
- Tiene derecho a conocer los resultados que se obtengan de la investigación.

Anexo 1: Formato de consentimiento informado (anverso). Fuente: Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

En caso de que haya palabras que no sean comprensibles, puede sugerir que se le explique.

- Durante el desarrollo de la investigación deberá estar disponible en caso de que se requieran datos adicionales a la información que usted suministró.
- Su participación aportara resultados beneficios para su persona, así como conocimientos útiles para otras.

Participante: he leído la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente participar en esta investigación y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento.

Nombre del Participante _____

C.I _____

Firma del Participante _____

Fecha _____

Número telefónico/correo: _____

Investigador: He leído con exactitud o he sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento informado para el potencial participante y el individuo ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que el individuo ha dado consentimiento libremente.

Nombre del Investigador _____

Firma del Investigador _____

Fecha _____

SELLO

Anexo 2: Formato de consentimiento informado (reverso). **Fuente:** Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).

CUESTIONARIO

DETERMINACIÓN DE CAFEÍNA EN ORINA

<p>Parte I. Datos de Identificación</p> <p>Número de identificación _____</p> <p>A1. Identificación</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;"> <p>Nombres: _____</p> <p>Dirección: _____</p> <p>Teléfono: _____</p> <p>Dirección (familiar cercano): _____</p> <p>Teléfono: _____</p> </div> <p>A2. Fecha de admisión al estudio</p> <p style="text-align: center;">Día _____ Mes _____ Año _____</p> <p>Parte IV.</p> <p>D1. ¿Consumo usted café? Sí ___ No ___</p> <p>D2. ¿Cuántas tazas (8 onzas) de café consume al día? 1___ 2___ 3___ Más de 3 _____. Especifique _____</p> <p>D3. ¿Consumo usted té negro? Sí ___ No ___</p> <p>D4. ¿Cuántas tazas (8 onzas) de té negro consume al día? 1___ 2___ 3___ Más de 3 _____. Especifique _____</p> <p>D5. ¿Consumo usted bebida energizante? Sí ___ No ___</p> <p>D6. ¿Cuántas latas (250 ml) de bebida energizante consume al día? 1___ 2___ 3___ Más de 3 _____. Especifique _____</p> <p>D7. ¿Es fumador (a)? Sí ___ No ___</p> <p>D8. ¿Sabía usted que el café, el té negro y las bebidas energizantes son bebidas estimulantes? Sí ___ No ___</p> <p>D9. ¿Sabía usted que las bebidas antes mencionadas tienen concentraciones de ingesta que pueden llegar a ser tóxicas? Sí ___ No ___</p> <p>D8. ¿A presentado alguno de los siguientes síntomas luego de la ingesta de la bebida.</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 20%;">Hipertensión</td> <td style="width: 20%;">Hipotensión</td> <td style="width: 20%;">Nauseas</td> <td style="width: 20%;">Vomito</td> <td style="width: 20%;">Pirosis</td> </tr> <tr> <td>Inquietud</td> <td>Ansiedad</td> <td>Irritabilidad</td> <td>Temblores</td> <td>Taquicardia</td> </tr> </table> <p>D9. En caso de ser mujer ¿Esta embarazada o sospecha del mismo? Sí ___ No ___</p> <p>D10. En caso de ser mujer. ¿Está lactando? Sí ___ No ___</p>	Hipertensión	Hipotensión	Nauseas	Vomito	Pirosis	Inquietud	Ansiedad	Irritabilidad	Temblores	Taquicardia	<p>Parte II. Información General</p> <p>B1. Fecha de Nacimiento __ __ __</p> <p>B2. Edad _____</p> <p>B3. Sexo _____</p> <p>Parte III. Criterios de Inclusión</p> <p>C1. Edad comprendida entre 19 a 42 años: Sí ___ No ___</p> <p>C2. Presenta patología (hepática y/o renal) que conozca: Sí ___ No ___</p> <p>C4. Consume medicamentos que contenga cafeína Sí ___ No ___</p> <p>C5. Consume café, té negro o bebida energizantes Sí ___ No ___</p> <p>C6. Cumple con los criterios de inclusión: Sí ___ No ___</p>
Hipertensión	Hipotensión	Nauseas	Vomito	Pirosis							
Inquietud	Ansiedad	Irritabilidad	Temblores	Taquicardia							

Anexo 3: Cuestionario aplicado a los voluntarios. **Fuente:** Gomez, H., Salazar, C., Rojas, J. (2023).