



Original/*Valoración nutricional*

Cafeína y quinina en bebidas refrescantes; contribución a la ingesta dietética

Ana Belén González Reyes¹, Arturo Hardisson de la Torre¹, Ángel José Gutiérrez Fernández^{1*}, Carmen Rubio Armendáriz¹, Inmaculada Frías Tejera² y Consuelo Revert Gironés³

¹Área de Toxicología. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de La Laguna, S/C de Tenerife. ²Área de Medicina Legal y Forense. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de La Laguna, S/C de Tenerife. ³Área de Fisioterapia. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de La Laguna, S/C de Tenerife, España.

Resumen

Introducción: las bebidas refrescantes son cada vez más consumidas por la sociedad. Están compuestas por una gran variedad de sustancias, de las cuales algunas, si se consumen en dosis altas y con elevada frecuencia, pueden provocar efectos negativos.

Objetivos: determinar la concentración de cafeína y quinina para comprobar si sus niveles se encuentran por debajo de los máximos permitidos por la reglamentación técnico-sanitaria vigente y calcular la contribución a la ingesta dietética obteniendo la Ingesta Diaria Estimada.

Método: se analizaron las concentraciones de cafeína y quinina en las principales marcas comerciales de refrescos, usando para ello la técnica de cromatografía líquida de alta resolución.

Resultados: se obtuvieron concentraciones para todas las marcas analizadas, que permitieron estimar la media en cada una.

Conclusiones: se ha observado que en ningún caso se superan las concentraciones máximas y que la contribución a la ingesta no genera aparición alguna de reacción adversa.

(Nutr Hosp. 2015;32:2880-2886)

DOI:10.3305/nh.2015.32.6.9714

Palabras clave: *Cromatografía líquida de alta resolución. Cafeína. Quinina. Bebidas refrescantes.*

CAFFEINE AND QUININE IN SOFT DRINKS; CONTRIBUTION TO THE DIETARY INTAKE

Abstract

Introduction: soft drinks are becoming increasingly consumed by society. They are composed by a great variety of components, some of which can produce adverse effects if they are frequently consumed in high levels.

Objectives: determine caffeine and quinine concentration to prove that those concentration levels are lower than the legal limits allowed and calculate the contribution to dietary intake to obtain the Estimated Daily Intake.

Methods: levels of caffeine and quinine of the main brands of soft drinks were analyzed using High-Performance Liquid Chromatography technique.

Results: concentrations were obtained for all brands, and the medium level was estimated.

Conclusions: it has been observed that in any case the maximum concentration limits are exceeded and the contribution to dietary intake doesn't mean adverse reaction.

(Nutr Hosp. 2015;32:2880-2886)

DOI:10.3305/nh.2015.32.6.9714

Key words: *High Pressure Liquid Chromatography. Caffeine. Quinine. Soft drinks.*

Abreviaturas

CLAR: Cromatografía Líquida de Alta Resolución.

FDA: Food and Drug Administration.

GRAS: Generally Recognise As Safe.

IDE: Ingesta Diaria Estimada.

IDA: Ingesta Diaria Admisible.

MAGRAMA: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

AECOSAN: Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición.

Correspondencia: Angel José Gutiérrez Fernández.
Área de Toxicología, Facultad de Ciencias de la Salud,
Universidad de La Laguna.
Campus de Ofra s/n,
38071. Santa Cruz de Tenerife, España.
E-mail: ajguti@ull.es

Recibido: 31-VII-2015.

Aceptado: 19-VIII-2015.

Introducción

Las bebidas refrescantes son todas aquellas “bebidas analcohólicas, carbonatadas o no, preparadas con agua de consumo humano, aguas preparadas, agua mineral natural o de manantial (en lo sucesivo agua), que contengan uno o más de los siguientes ingredientes: anhídrido carbónico, azúcares, zumos, purés, disgregados de frutas y/o vegetales, extractos vegetales, vitaminas y minerales, aromas, aditivos autorizados u otros ingredientes alimenticios”¹. La mayor parte de su composición es agua, teniendo un bajo valor nutricional que se corresponde con el aportado por los hidratos de carbono (20-40 kcal/100 ml), y que es, en las bebidas light, mucho menor².

El consumo de estos productos por la población es habitual, tanto en el hogar como fuera de él, siendo de las bebidas más demandadas por el consumidor. En las últimas décadas, se ha visto un ligero aumento en el consumo de bebidas refrescantes y gaseosas, pasando de una media (teniendo en cuenta datos de consumo en el hogar y extradoméstico), en 1987, de 57 L a 66 L en 2007³. Según datos procedentes del MAGRAMA⁴ (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente), en 2006, la media nacional de consumo de bebidas refrescantes fue de 37,2 L/persona y año en el hogar y de 59,2 L si se añade el extradoméstico⁵, posteriormente, en 2013 se estimó un valor per cápita de 42,71 L en el hogar a nivel nacional, siendo para Canarias de un 48,12 L⁶. A partir de estos datos, se ha observado también que las bebidas refrescantes más demandadas son los refrescos de cola (22,05 L a nivel nacional y 19,15 L en Canarias), los cuales suelen contener cafeína. Esta se usa como aromatizante para dar sabor y olor a las bebidas, al igual que la quinina se utiliza en las tónicas, aunque el consumo es menor (0,67 L a nivel nacional y 0,59 L en Canarias). Ambas sustancias han sido objeto de estudio y evaluación toxicológica, estableciéndose límites seguros para su uso en la industria alimentaria y para la ingesta por parte del consumidor.

Dado que los refrescos y las tónicas son productos habituales en nuestra dieta es importante conocer sus niveles de cafeína y quinina para comprobar que no superan los límites establecidos, así como para estudiar la exposición de la población a estas sustancias mediante la ingesta dietética.

Cafeína

La cafeína es un alcaloide natural (1, 3, 7 trimetilxantina) de sabor amargo, que se encuentra en hojas, frutos y semillas de un amplio grupo de plantas como los granos de café y cacao, el mate, el guaraná, las hojas de té, las nueces de cola, etc⁷. Además de su presencia en muchas bebidas hechas a partir de componentes naturales, como los ya nombrados, la cafeína, es una sustancia usada en la industria alimentaria, principal-

mente, como aromatizante para aportar sabor y olor a los refrescos de cola.

Las bebidas con cafeína son consumidas diariamente, no sólo por el atractivo que causan para muchos consumidores sino también por los efectos estimulantes que produce (disminuye la sensación de fatiga, combate la somnolencia, etc.)⁷.

Desde el punto de vista de la seguridad alimentaria ha sido calificada por la Food and Drug Administration (FDA)⁸ como sustancia GRAS (Generally Recognized As Safe), es decir, que bajo las condiciones de uso habituales es segura. A pesar de ello, la UE, en el Reglamento (CE) 872/2012 de 1 de octubre⁹, establece un límite máximo de cafeína en bebidas refrescantes de 150 mg/L.

Una vez ingerida, la cafeína, se distribuye a la mayoría de los tejidos del organismo, incluyendo el cerebro¹⁰. Como ya se ha comentado, provoca una estimulación del sistema nervioso que puede resultar beneficiosa, no obstante, un exceso en la dosis (más de 500-600 mg diarios) puede producir reacciones adversas como nerviosismo, ansiedad, irritabilidad, insomnio, dolor de cabeza, taquicardia, arritmia y problemas gastrointestinales¹¹. Se ha estimado una dosis mortal media de 10 g de cafeína para adultos^{10,11}.

Además, la cafeína también tiene efectos a largo plazo que han sido y son objeto de estudio. En este sentido se ha intentado asociar su consumo con un aumento del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, y aunque se ha demostrado su relación con la hipertensión, no se han encontrado evidencias significativas de su influencia en enfermedades de tipo coronario^{10,11,12} y, en general, parece que un consumo moderado (<400 mg/día) no afecta a la salud cardiovascular¹¹. Por otra parte, se ha observado cierta relación con la osteoporosis, así como con efectos adversos en mujeres embarazadas^{10,11,12}.

En cuanto a la relación entre la exposición de cafeína con la carcinogenicidad, ha sido estudiada como un factor de riesgo para el cáncer de vejiga, ovarios y páncreas, y como factor protector para el de colon y recto, aunque en ambos casos sin haberse podido demostrar estas asociaciones¹².

Se ha señalado también un efecto preventivo de la cafeína frente a algunas enfermedades como la diabetes y el Parkinson^{10,12} aunque, también sin conclusiones claras.

Quinina

La quinina es un alcaloide que se obtiene de la corteza de árbol de la quina (*Cinchona officinalis*), perteneciente a la familia de las *Rubiáceas*. Ha sido utilizada de forma terapéutica contra infecciones como la malaria, y también como aromatizante en las tónicas refrescantes por su sabor amargo, siendo esta la mayor fuente de quinina en la dieta¹³. La Unión Europea establece en el Reglamento (CE) nº 872/2012 de 1 de

octubre un límite máximo de presencia en bebidas refrescantes de 100 mg/L⁹.

La quinina en dosis excesivas (>1g/día) puede dar lugar a alergias, e incluso a un síndrome reversible conocido como “cinchonismo” que produce efectos como problemas gastrointestinales, visuales (visión borrosa, ceguera, etc.), auditivos, cardiovasculares (arritmias, hipotensión, etc.), neurológicos (psicosis, confusión, etc.), vértigo y dolores de cabeza entre otros^{14,15}. También se ha asociado con trastornos renales¹⁵ o con abortos y defectos de nacimiento por su consumo durante el embarazo¹⁶. Se ha estimado una dosis mortal de 8 g por día, o 140 mg/kg de peso corporal para adultos¹⁴.

Objetivos

- Determinar la concentración de la cafeína y quinina mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución, fijando las condiciones instrumentales de medida.
- Comparar las concentraciones obtenidas con las fijadas por la Reglamentación Técnico Sanitaria vigente.
- Calcular la Ingesta Diaria Estimada (IDE) de cada sustancia.

Métodos

Para la determinación del contenido en cafeína y quinina, se analizaron muestras de bebidas refrescantes de marcas conocidas en el mercado. Cada muestra corresponde a un envase del producto estudiado, siendo el valor obtenido el procedente de la media de tres determinaciones. Se obtuvieron, en total, 10 resultados para cada aditivo en cada marca de refresco.

Las marcas estudiadas para la determinación de cafeína fueron: Coca cola, Pepsi cola, Coca cola light y Pepsi cola light. Para la quinina se escogieron: Agua Tónica, Nordic Mist y Tónica Schweppes.

Material

- Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución *Shimadzu* con detector de vis-uv de longitud de onda variable. Columnas para fase reversa μ Bondapak C₁₈ de 10 μ m, 125 Å y 3,9 x 300 mm.
- Ultrasonidos Penta.

- Potenciómetro y electrodo de pH *Orión* modelo SA 720
- Equipo de filtración a vacío *Sartorius* y filtros de acetato de celulosa de 0,45 μ m de tamaño de poro.
- Filtros estériles de acetato de celulosa *Minisart*, de 0,20 μ m de tamaño de poro.

Reactivos

- Tampón fosfato 5mM a pH 2 para cafeína: se prepara pesando 30 mg de PO₄H₂K que se disuelven en 200 ml con agua Milli-Q. En un matraz aforado de 1L se añaden 175 mL de la disolución anterior junto con 85 mL de ácido sulfúrico; se completa el volumen con agua Milli-Q. Seguidamente se ajusta el pH a 2 por adición de un volumen adecuado de hidróxido sódico.
- Tampón fosfato 2% a pH 2,5 para quinina: se pesa la cantidad suficiente para obtener 1L de disolución y se ajusta el pH a 2,5 con hidróxido sódico.
- Agua Milli-Q: filtrada a través de filtro de 0,45 μ m de tamaño de poro.
- Ácido sulfúrico Merck de calidad para análisis.
- Hidróxido sódico Merck de calidad para análisis.
- Acetonitrilo Merck de calidad para análisis.
- Metanol Merck de calidad para análisis (sólo en el caso de la cafeína).
- Disolución patrón de cafeína de 150 mg/L
- Disolución patrón de quinina con 100 mg/L.

Condiciones cromatográficas

Las condiciones cromatográficas se recogen en la tabla I.

Procedimiento

Tras su preparación, la fase móvil, fue filtrada a través de filtros de 0,45 μ m de tamaño de poro y desgasificada con ultrasonidos.

Las muestras se prepararon desgasificando en ultrasonidos una cantidad aproximada de 5-10 mL de cada bebida, previamente homogenizada por agitación, que posteriormente se filtró a través de un filtro

Tabla I
Condiciones cromatográficas.

	Fase móvil	Flujo	Longitud de onda
Cafeína	Tampón fosfato 5 mM a pH 2- Acetonitrilo-Metanol (70/17,5/12,5)	1 ml/min	254 nm
Quinina	Tampón fosfato 2% a pH 2,5 - Acetonitrilo (70/30)	0,5 ml/min	250 nm

de tamaño de poro de 0,20 μm . El volumen de muestra inyectado fue de 20 μl para la determinación de cafeína y de 10 μl para la determinación de quinina. Paralelamente, se construyó una curva de calibrado de concentraciones conocidas de cafeína y quinina.

La concentración de sustancia se calculó mediante el cociente entre la cantidad de aditivo (ng) indicada en el cromatograma y el volumen de muestra inyectado.

Por otro lado, para el cálculo de la ingesta de cafeína y quinina a partir de estas bebidas, se obtuvo la IDE (Ingesta Diaria Estimada) a partir de diversos datos de consumo.

Resultados

Cafeína

Los resultados obtenidos en la cromatografía muestran que los niveles de cafeína, en ningún caso, superan el límite legal de 150 mg/L. La mayor concentración media para las bebidas analizadas se ha encontrado en la Coca-Cola Light (138 mg/L) y la menor en la Coca-Cola normal (90,6 mg/L), siendo el valor medio global, de 114 mg/L. Los valores de cafeína encontrados, en las cuatro bebidas analizadas, se ordenan de mayor a menor de la siguiente manera:

Coca-Cola light > Coca-Cola >
> Pepsi-cola > Pepsi-cola light

Aunque la variación entre las muestras es pequeña, se puede apreciar una diferencia entre las bebidas normales y las de tipo light, en las que se detectan las mayores concentraciones. A continuación se muestran los valores obtenidos para cada refresco (Tabla II).

Al comparar estos resultados con los obtenidos por otros autores se han encontrado tanto similitudes como diferencias.

Mediante CLAR, Tyler¹⁷ halló concentraciones similares a las obtenidas en este estudio para las bebidas de tipo light, aunque con gran variación en aquellas no light, para las que obtuvo dos valores muy diferentes (32 y 99 mg/L). Usando la misma técnica,

Tabla II
Niveles de concentración media de cafeína en las bebidas analizadas (mg/L).

Bebidas	Cafeína (mg/L $\pm\sigma$)	Intervalo (mg/L)
Coca-Cola	90,6 \pm 1,08	94,5 - 97,5
Coca-Cola light	138 \pm 1,81	135 - 140
Pepsi-cola	102 \pm 0,97	101 - 104
Pepsi-cola light	118 \pm 3,00	114 - 123

Argoudelis¹⁸ analizó las bebidas de cola light y encontró valores que aunque son inferiores, se asemejan a los presentados anteriormente.

Por otro lado, las concentraciones que se han obtenido son cercanas a las encontradas, por Jailson de Andrade *et al.*¹⁹, (también mediante CLAR), para la Coca-Cola normal y light. Son similares también las cantidades de cafeína indicadas por Chou y Bell¹⁹ en el caso de la Coca-Cola normal.

En el caso de Mumin *et al.*²¹, la concentración resultante del análisis en Pepsi-cola (101 mg/L) fue muy parecida a la de este estudio (102 mg/L). Más recientemente, Sancho Cubero²² obtuvo niveles que tanto para las bebidas light como para las de cola normal, superan a las concentraciones halladas en las muestras de este estudio.

Por otra parte, Lau *et al.*²³, compararon en su estudio las concentraciones de cafeína halladas mediante dos técnicas diferentes, CLAR y espectrofotometría obteniendo resultados similares con ambas. Las concentraciones de cafeína que obtuvieron son similares a las de este estudio en la Coca-Cola, e inferiores a las de Pepsi-cola, tanto en las de tipo light como en las normales.

Usando electroforesis capilar Walker *et al.*²⁴, realizaron análisis en bebidas de cola, obteniendo cantidades superiores en la Coca-Cola light e inferiores en la Pepsi-cola normal (Tabla III).

Ingesta de cafeína

No existe una Ingesta Diaria Admisible (IDA), pero se puede calcular una Ingesta Diaria Estimada (IDE) en función de los datos de consumo. Dado que la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) no aporta datos de consumo sobre bebidas refrescantes, serán empleados, para el cálculo de la IDE, los proporcionados por el MAGRAMA a nivel de Canarias. Según éstos, el consumo anual per cápita de refrescos de cola sería aproximadamente, 19,15 L/año, es decir, 0,0525 L/día. Siendo la concentración media hallada para las bebidas de cola de 114 mg/L, la IDE para esta sustancia sería de 5,98 mg al día.

Por otra parte, y teniendo en cuenta la misma concentración media, se puede estimar que una persona al consumir una lata de 330 ml de refresco de cola, ingiere 37,6 mg de cafeína. Como se puede apreciar, esta cantidad es muy inferior a la dosis diaria de cafeína que puede provocar efectos adversos (500-600 mg al día).

Quinina

Los niveles de quinina encontrados en las bebidas son, al igual que en la cafeína, inferiores a lo estipulado legalmente (100 mg/L). El mayor valor se en-

Tabla III
Recopilación de datos analíticos sobre cafeína

Referencia bibliográfica	Técnica analítica	Tipo de bebida	Concentración (mg/L)
Argoudelis, 1984	CLAR	Bebidas light de cola	108 y 124
Tyler, 1984	CLAR	Bebidas a base de cola	32,0 y 99,0
Tyler, 1984	CLAR	Bebidas light de cola	95,0 y 130
Lau <i>et al.</i> , 1992	CLAR	Pepsi-cola y Coca-Cola	74,7 y 93,2
Lau <i>et al.</i> , 1992	CLAR	Pepsi-cola light y Coca-Cola light	76,8 y 125
Lau <i>et al.</i> , 1992	Espectrofotometría de segunda derivada	Pepsi-cola y Coca-Cola	75,0 y 95,4
Lau <i>et al.</i> , 1992	Espectrofotometría de segunda derivada	Pepsi-cola light y Coca-Cola light	78,0 y 129
Jailson de Andrade <i>et al.</i> , 1995	CLAR	Pepsi-cola y Coca-Cola	65,7 y 97,1
Jailson de Andrade <i>et al.</i> , 1995	CLAR	Pepsi-cola light y Coca-Cola light	62,8 y 117,1
Walker <i>et al.</i> , 1997	Electroforesis capilar	Pepsi-cola y Coca-Cola	98,6 y 92,9
Walker <i>et al.</i> , 1997	Electroforesis capilar	Coca-Cola light	146,48
Mumin, A. <i>et al.</i> , 2006	CLAR	Pepsi-cola y Coca-Cola	101 y 130,5
Chou y Bell, 2007	CLAR	Pepsi-cola y Coca-Cola	109,6 y 95,5
Chou y Bell, 2007	CLAR	Pepsi-cola light y Coca-Cola light	103,4 y 130,4
Sancho Cubero, 2013	CLAR	Pepsi-cola y Coca-Cola	113,3 y 103,2
Sancho Cubero, 2013	CLAR	Pepsi-cola light y Coca-Cola light	131,65 y 142,05
Este estudio	CLAR	Pepsi-cola y Coca-Cola	102 y 96,0
Este estudio	CLAR	Pepsi-cola light y Coca-Cola light	118 y 138

contró en el agua tónica (78,9 mg/L), siendo el valor medio global 64,7 mg/L. De mayor a menor, las concentraciones halladas en las bebidas se ordenan de la siguiente forma:

Agua tónica > Tónica Schweppes > Nordic Mist

Otros autores han aportado datos sobre la quinina en bebidas refrescantes, como es el caso de Feás Sánchez *et al.*¹⁵, quienes mediante cromatografía líquida obtuvieron un intervalo de valores que osciló entre 54,02 y 98,74 mg/L, y que es similar a los obtenidos en este estudio, al igual que en el trabajo de Tzanavaras *et al.*²⁵, (Tabla IV).

Por otra parte, Kral y Sontag²⁶ usaron tanto CLAR como el método espectrofluorimétrico para comparar

las concentraciones de quinina. Sus resultados fueron similares a los de este estudio, sin apreciar gran variación entre las dos técnicas probadas. Valenti²⁷ analizó quinina en distintos tipos de tónicas, y aunque lo realizó mediante CLAR, los niveles que obtiene son inferiores a los antes presentados (36,7-52,6 mg/L). Del mismo modo, son menores las concentraciones indicadas por Reijenga *et al.*²⁸, las cuales fueron halladas por isotacoforesis.

Se asemejan más los resultados aportados por García²⁹ mediante espectrofotometría, así como los de Samanidou *et al.*¹⁶, que varían entre 61 y 66 mg/L. Beljaars y Koken³⁰ comparan este método con la fluorodensitometría, siendo más similares a los de este estudio las cantidades obtenidas por espectrofotometría (Tabla V).

Ingesta de quinina

Al igual que en la cafeína, no hay una IDA establecida para la quinina, pero se ha calculado una IDE. De acuerdo a los datos del MAGRAMA, el consumo de las bebidas tónicas en las Islas Canarias es, aproximadamente, 0,59 L/persona y año, es decir, 0,0016 L/día per cápita. Como la concentración media de quinina encontrada es de 64,7 mg/L, la IDE para esta sustancia es de 0,10 mg.

Tabla IV
Niveles de concentración media de quinina en las bebidas analizadas (mg/L)

Bebidas	Quinina (mg/L ± σ)	Intervalo (mg/L)
Agua tónica	78,9 ± 1,60	77,2 – 79,9
Nordic Mist	55,0 ± 2,07	52,1 – 58,0
Tónica Schweppes	60,3 ± 1,60	58,4 – 63,1

Tabla IV
Recopilación de datos analíticos sobre quinina

Referencia bibliográfica	Técnica analítica	Tipo de bebida	Concentración (mg/L)
Beljaars y koken, 1973	Fluorodensitometría	Tónica	19,2-94,3
Beljaars y koken, 1973	Espectrofotometría	Tónica	50,9-89,9
Feás Sánchez <i>et al.</i> , 2008	Cromatografía líquida con fluorescencia inducida por láser	Tónica	54,02-98,74
Kral y Sontag, 1982	CLAR	Bebidas (sin especificar)	29,0-74,4
Kral y Sontag, 1982	Fluorimetría	Bebidas (sin especificar)	28,0-73,0
Reijenga <i>et al.</i> , 1985	Isotacoforesis	Tónica	39,0-52,0
Valenti, 1985	CLAR	Tónica	36,7-52,6
García, 1989	Espectrofotometría	Tónica	74,9
Samanidou <i>et al.</i> , 2004	CLAR	Tónica	61,6-66,8
Tzanavaras <i>et al.</i> , 2013	CLAR	Tónica	37,4-94,3
Este estudio	CLAR	Tónicas	55,0-78,9

La cantidad de quinina ingerida por una persona al consumir una lata de tónica de 330 ml sería, por tanto, de 21,35 mg, siendo necesario más de 1 g/día para que la dosis tenga efectos adversos.

Conclusiones

- El intervalo de concentraciones encontrado ha sido de 90,6 y 138 mg/L para la cafeína, y de 55,0 y 78,9 mg/L para quinina, siendo las concentraciones medias 114 y 64,7 mg/L, respectivamente.
- El análisis realizado para hallar las concentraciones de cafeína en las bebidas de cola y quinina en las tónicas revela que ninguna de estas sustancias supera el límite establecido por la Reglamentación Técnico Sanitaria vigente.
- Respecto a la cafeína, se ha encontrado una mayor concentración de esta sustancia en las bebidas tipo light que en las normales, observándose especial diferencia en la marca Coca-Cola.
- A pesar de la variedad de resultados obtenidos de cafeína, entre diferentes autores se observa coincidencia en que las concentraciones de cafeína de las bebidas light son mayores que en las normales.
- Para ambas sustancias, tanto la ingesta estimada en base a los datos de consumo, como la calculada para un volumen de 330 ml (volumen de unidad del producto), están muy por debajo de las dosis que pueden ocasionar efectos adversos por consumo continuado.

Referencias

1. España. Real Decreto Ley 650/2011, de 9 de mayo, por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria en materia de

bebidas refrescantes. *Boletín Oficial del Estado*, de 19 de mayo de 2011; (119): 50089-50093.

2. Base de Datos Española de Composición de Alimentos [Internet] 2015[citado 7 Mar 2015] Disponible en: <http://www.bedca.net/bdpub/index.php>.
3. Martín Cerdeño VJ (2008). Evolución de los hábitos de compra y consumo en España: 1987-2007, dos décadas del panel de consumo alimentario. *Distribución y consumo* (100): 208-239.
4. Martín Cerdeño VJ (2007). Consumo de agua, refrescos, zumos y cerveza. Principales características. *Distribución y consumo* (93): 118-131.
5. European Food Safety Authority- Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (2015). Scientific Opinion on the safety of caffeine. *EFSA Journal*. 1-112.
6. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente [Internet]. Base de Datos de Consumo en Hogares c2013 -[citado 27 Feb 2015] Disponible en: <http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/panel-de-consumo-alimentario/base-de-datos-de-consumo-en-hogares/consulta11.asp>
7. Heckman MA, Well J, Gonzalez de Media E (2010). Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in Foods: A Comprehensive Review on Consumption, Functionality, Safety, and Regulatory Matters. *J Food Sci* 75(3): 77-87.
8. Food and Drug Administration. Database of Select Committee on GRAS Substances (SCOGS) c2015- (citado 7 Mar 2015) Disponible en: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnNavigation.cfm?filter=&sortColumn=36%28%25%3AH%2152ED0%21AP%2C%2C1M%2F5Q9Q%2CF%40++%0D%0A&rpt=scogsListing>.
9. Unión Europea. Reglamento (UE) n° 872/2012 de la Comisión, de 1 de octubre de 2012. Por el que se adopta la lista de sustancias aromatizantes prevista en el Reglamento (CE) n° 2232/96 del Parlamento Europeo y del Consejo, se incluye dicha lista en el anexo I del Reglamento (CE) n° 1334/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, y se derogan el Reglamento (CE) n° 1565/2000 de la Comisión y la Decisión 1999/217/CE de la Comisión. *Diario Oficial de la Unión Europea* L 267/1, 2 de octubre de 2012.
10. Higdon JV, Frei B (2007). Coffee and Health: A Review of Recent Human Research. *Crit Rev Food Sci* 46(2): 101-12.
11. Nawrot P, Jordan S, Eastwood J, Rotstein J, Hugenholtz A, Felleys M (2003). Effects of caffeine on human health. *Food Addit Contam* 20(1): 1-30.

12. Gil Roales-Nieto J, Moreno San Pedro E, Gil Luciano A, Blanco Coronado JL (2004). Efectos del consumo de café para la salud cardiovascular, la diabetes y el desarrollo de cáncer. *Psicothema* 16(4): 531-547.
13. World Health Organization (1009). Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants. Quinina hydrochloride. *WHO Food Additives Series* [Internet] [citado 5 Mar 2015];26:680-693. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v26je05.htm>
14. World Health Organization (1993). Toxicological evaluation of certain food additives and naturally occurring toxicants. Quinina. *WHO Food Additives Series*. [citado: 5 Mar 2015]30:746-768. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v30je06.htm>
15. Feás Sánchez X, Brasic JR, Fuente Sampayo CA, Cepeda Sáez A (2008). Aspectos toxicológicos del consumo de bebidas refrescantes que contienen quinina. *Nutr Clín Diet Hosp* 28(2): 20-25.
16. Samanidou VF, Evaggelopoulos EN, Papadoyannis IN (2004). Simple and Rapid CLAR Method for the Determination of Quinine in Soft Drinks Using Fluorescence Detection. *J Liq Chromatogr R T* 27(15): 2397-2406.
17. Tyler TA (1984). Liquid Chromatographic determination of Sodium Saccharin, Caffeine, Aspartame and Sodium Benzoate in cola beverages. *J AOAC* 4:745-747.
18. Argoudelis CJ (1984). Isocratic Liquid Chromatography method for the simultaneous determination of Aspartame and other additives in soft drinks. *J Chromatogr A* 303(1): 256-262.
19. De Andrade JB, Castellar Pinheiro HL, Araújo Lopes W, Martins S, Mendonça Amorim AM, Brandao AM (1995). Determinação de cafeína em bebidas através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). *Quim Nova* 18(4): 379-381.
20. Chou KH, Bell L (2007). Caffeine Content of Prepackaged National-Brand and Private-Label Carbonated Beverages. *J Food Sci* 72(6): 337-342.
21. Mumin A, Ferida Akhter K, Abedin Z, Hossain Z (2006). Determination and Characterization of Caffeine in Tea, Coffee and Soft Drinks by Solid Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography (SPE – CLAR). *Malays J Chem* 8(1): 45-51.
22. Sancho-Cubero A (2013). Estudio comparativo del contenido de cafeína en diferentes bebidas. (Proyecto Fin de Carrera) Escuela de Ingeniería y Arquitectura. Universidad de Zaragoza.
23. Lau OW, Luck SF, Cheng OM, Chiu TP (1992). Background-correction methods for the determination of Caffeine in beverages, coffee and tea by using second-derivate ultraviolet Spectrophotometry. *Analist* (117):177-183.
24. Walker J, Spencer EZ, Walker EB (1997). Analysis of beverages by capillary electrophoresis. *J Chromatogr A* (781): 481-485.
25. Tzanavaras PD, Connstantinos KZ, Karakosta TD, Zotou A, Themelis DG (2013). High-throughput determination of quinine in beverages and soft drinks based on zone-fluidics coupled to monolithic liquid chromatography. *Anal Lett* (46): 1718-1731.
26. Kral K, Sontag G (1982). Bestimmung von Chinin in Getränken und Arzneimitteln durch Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie mit elektrochemischem Detektor. *Z Lebensm Unters Forsch* (175): 22-24.
27. Valenti LP (1985). Liquid Chromatographic determination of quinine, hydroquinine, saccharin and sodium benzoate in quinine beverages. *J AOAC* 68 (4):782-784.
28. Reijenga JC, Aben G, Lemmens A, Verheggen T, de Brujin C, Everaerts F (1985). Determination of Quinine in beverages, pharmaceutical preparations and urine by Isotachophoresis. *J Chromatogr A* (320): 245-252.
29. García, JC (1989). Parámetros fisicoquímicos indicadores de calidad en bebidas refrescantes. Tesina de Licenciatura. Facultad de Farmacia. Universidad de La Laguna
30. Beljaars PR, Koken PJ (1973). Quantitative Fluorodensitometric determination of Quinine in soft drinks. *J AOAC* 56(5): 1284-1289.