



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO BIBLIOGRÁFICO DE LOS EDULCORANTES
DE ALTA POTENCIA Y SU METABOLISMO**

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA:

MARÍA ELENA JIMÉNEZ HERNÁNDEZ



MÉXICO, D.F.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente	Dra. Rocío POZAS HORCASITAS
Vocal	M en C. Pedro VALLE VEGA
Secretario	QFB Hugo Rubén CARREÑO ORTIZ
1er. Suplente	Prof. Marcos Francisco BÁEZ FERNÁNDEZ
2do. Suplente	Profa. María de Lourdes GÓMEZ RÍOS

Sitio donde se desarrolló el tema:
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Química

Asesor del Tema

QFB Hugo Ruben CARREÑO ORTIZ

Sustentante

Ma. Elena JIMÉNEZ HERNÁNDEZ

Agradecimientos

A Dios

Por darme la maravillosa oportunidad de estar aquí y dejarme ser.

A la Universidad Nacional Autónoma de México

Por su invitación al conocimiento y a la tolerancia. Porque espero que siga abriendo sus alas a todos los mexicanos que desean superarse.

A mis padres

Porque siempre esperaron darnos más de lo que les tocó a ellos. Mil gracias.

A mi asesor QFB Hugo Rubén Carreño Ortiz

Por darme la oportunidad de realizar este trabajo, confiar en mí y por sus palabras de aliento.

A la Dra. Rocío Pozas Horcasitas

Por apoyarme para la realización de este trabajo, pero sobre todo por su paciencia.

A la Q.A. Verónica Muñoz Ocofero

Por apoyarme en la revisión del escrito y por las oportunas sugerencias que me ayudaron en realización de este trabajo.

A todos los sinodales

Quienes gentilmente cedieron tiempo para la revisión de este trabajo y por la disposición y oportunos comentarios que compartieron conmigo.

A quienes realizaron algunas observaciones en este trabajo

Dra. Patricia Severiano, Mtro. Fonseca, M. en C. Elsa Ugalde Mora, Q.A. Verónica Cortés. A, Q.A. Juana Cortés P., Q.A. José Balanzare, Lic. José Luis Guerrero Cervantes.

A todos los que se esfuerzan por vivir en armonía en este mundo de calamidades y que no se rinden hasta alcanzar sus retos y realizar sus sueños.

Dedicatorias

En especial a la Facultad de Química

Por permitirme formarme en el ámbito de la ciencia y por conocer algunos maestros ejemplares.

A mis padres

Sabino Jiménez y Ma. Magdalena Hernández. Porque han dejado algo en mí que ha servido para ser lo que soy. Los quiero.

A mis hermanos

Alejandro, Leonardo, Palemón y Roberto. Por todos los momentos que hemos compartimos juntos.

A mis hermanas

Leticia S., Isabel, Verónica y Edith. Por todos los momentos y las experiencias compartidas, por apoyarnos entre nosotras, pero sobre todo por estar conmigo.

A mis sobrinos

Edgar, Lluvia, Alejandra, Carlos, Jimena, Ariel, Daniel, Erick, E. Karina, Patricia, Pilar, Sofía, Miztli, Brayán. Para Uds. el poema de Walt Whitman "No te detengas"

A la Dra. Rocío Pozas H.

Por ser una persona con mucha sabiduría, ser una amiga incondicional, por todos sus consejos y los momentos que hemos pasado juntas.

A mis amigos y amigas

No quiero nombrar a nadie por temor a olvidar en este momento a alguien, ya que todos han sido excelentes, mejor les doy gracias por los momentos felices, por las angustias y formar buenos equipos.

A la Familia Guerrero Cervantes

Porque se que de alguna forma están conmigo. GRACIAS. En especial a José L. Jr. por ser paciente y puntuar cada párrafo de esta tesis con un beso.

A mis cuñados y cuñadas

Carola E. H. I., América, Mariana, Felipe H. L., Jorge C., Jorge H., Ma. Eugenia. T., José A.

No te detengas

No dejes que termine el día sin haber crecido un poco, sin haber sido feliz, sin haber aumentado tus sueños. No te dejes vencer por el desaliento.

No permitas que nadie te quite el derecho a expresarte, que es casi un deber.

No abandones las ansias de hacer de tu vida algo extraordinario.

No dejes de creer que las palabras y las poesías si pueden cambiar el mundo.

Pase lo que pase nuestra esencia está intacta.

Somos seres llenos de pasión.

La vida es desierto y oasis.

Nos derriba, nos lastima, nos engaña, nos enseña,

nos convierte en protagonistas de nuestra propia historia.

Aunque el viento sopla en contra, la poderosa obra continúa; Tú puedes aportar una estrofa.

No dejes nunca de soñar, porque en sueños es libre el hombre.

No caigas en el peor de los errores, el silencio

La mayoría vive en un silencio espantoso,

No te resignes.

Huye.

"Emito mis alaridos por los techos de este mundo", Dice el poeta.

Valora la belleza de las cosas simples, se puede hacer bella poesía sobre pequeñas cosas, pero no podemos remar en contra de nosotros mismos.

Eso transforma la vida en un infierno.

Disfruta del pánico que te provoca tener la vida por delante, vive la intensamente, sin mediocridad.

Piensa que en ti está el futuro y encara la tarea con orgullo y sin miedo.

Aprende de quienes puedan enseñarte.

*Las experiencias de quienes nos precedieron de nuestros "poetas muertos",
te ayudan a caminar por la vida.*

La sociedad de hoy somos nosotros, los "poetas vivos"

No permitas que la vida te pase a ti sin que la vivas...

Walt Whitman

Versión de Leandro Wolfson

Me encanta Dios

Me encanta Dios. Es un viejo magnífico que no se toma en serio. A él le gusta jugar y juega y a veces se le pasó la mano y nos rompe una pierna o nos aplasta definitivamente. Pero esto sucede porque es un poco cegatón y bastante torpe con las manos.

Nos ha enviado a algunos tipos excepcionales como Buda, o Cristo, o Mahoma, o mi tía Chofi, para que nos digan que nos portemos bien. Pero esto a él no le preocupa mucho: nos conoce. Sabe que el pez grande se traga al chico, que la lagartija grande se traga a la pequeña, que el hombre se traga al hombre. Y por eso inventó la muerte: ¿para qué la vida? ¿no tú ni yo? la vida, sea para siempre. Ahora los científicos salen con su teoría del Big Bang... Pero ¿qué importa si el universo se expande interminablemente o se contrae? Esto es asunto sólo para agencias de viajes.

A mí me encanta Dios. Ha puesto orden en las galaxias y distribuye bien el tránsito en el camino de las hormigas. Y es tan juguetón y travieso que el otro día descubrí que ha hecho frente al ataque de los antibióticos ibacterias mutantes!

Viejo sabio o niño explorador, cuando dejó de jugar con sus soldaditos de plomo y de carne y hueso, hace campos de flores o pinta el cielo de manera increíble.

Mueve una mano y hace el mar, y mueve la otra y hace el bosque. Y cuando pasa por encima de nosotros, quedan las nubes, pedazos de su aliento.

Dicen que a veces se enfurece y hace terremotos, y manda tormentas, caudales de fuego, vientos desatados, aguas alevosas, castigos y desastres. Pero esto es mentira. Es la tierra que cambia y se agita y crece cuando Dios se aleja.

Dios siempre está de buen humor. Por eso es el preferido de mis padres, el escogido de mis hijos, el más cercano de mis hermanos, la mujer más amada, el perrito y la pulga, la piedra más antigua, el pétalo más tierno, el aroma más dulce, la noche insondable, el borboteo de luz, el manantial que soy.

A mí me gusta, a mí me encanta Dios. Que Dios bendiga a Dios.

Poema de

Jaime Sabines

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	i
OBJETIVOS	iii

CAPÍTULO I

ANTECEDENTES

1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS	1
1.1 La miel	1
1.2 El azúcar de caña	2
1.3 Aditivos de los alimentos	3
1.3.1 Definiciones de Aditivos de Alimentos	4
1.3.2 Definición de aditivo de alimentos en México	5
1.4 Clasificación de aditivos de alimentos	7
1.5 Números y/o clasificación otorgados para los aditivos de alimentos	8
1.6 Preocupación por la inocuidad de los alimentos	8
1.6.1 Situación de la inocuidad de los alimentos en E. U.	10
1.6.2 Situación por la inocuidad de los alimentos en México	10

CAPÍTULO II

ASPECTOS DEL DULZOR

2. EL GUSTO DULCE	12
2.1 Estimación del dulzor	15
2.3 La familia de los edulcorantes	17

CAPÍTULO III

ASPECTOS METABÓLICOS

3 ASPECTOS GENERALES	18
3.1 Estudios bioquímicos	19
3.2 Toxicología de alimentos	20
3.3 Inocuidad de alimentos	21
3.4 Ingesta diaria admisible (IDA)	21

CAPÍTULO IV

CARBOHIDRATOS Y POLIOLES

4. EDULCORANTES NATURALES	23
4.1 Principales edulcorantes utilizados en la industria de alimentos	24
4.2 Metabolismo de carbohidratos	26
4.3 Alcoholes de azúcar o polioles	27
4.4 Metabolismo de los polioles	32

CAPÍTULO V

METABOLISMO DE EDULCORANTES INTENSOS

5. EDULCORANTES INTENSOS	35
5.1 Generalidades del Ciclamato	37
5.1.1 Estudios de trayectoria metabólica	39
5.1.2 Discusión	46
5.1.3 Conclusión	49
5.1.4 Datos otorgados por JECFA de Toxicidad aguda para la CHA	50
5.1.5 IDA establecida por JECFA para el ciclamato	50
5.1.5.1 IDA establecida por la CSF de la Unión Europea	51
5.1.5.2 IDA establecida en los Estados Unidos	51
5.2 Generalidades del Aspartame	52
5.2.1 Estudios de trayectoria metabólica	54
5.2.1.1 Fenilalanina y aspartato	58
5.2.1.2 Estudios con dicetopiperacina (DCP)	64
5.2.2 Discusión	67
5.2.3 Conclusión	74
5.2.4 IDA establecida por el JECFA para el aspartame	74
5.3 Generalidades del Acesulfame-K	76
5.3.1 Estudios de trayectoria metabólica	78
5.3.1.1 Productos del acesulfame-k	81
5.3.2 Discusión	84
5.3.3 Conclusión	86
5.3.4 IDA establecida por JECFA para el acesulfame-k	86
5.4 Generalidades de la Taumatina	87
5.4.1 Estudios de trayectoria metabólica	89
5.4.2 Discusión	92
5.4.3 Conclusión	92
5.4.4 IDA establecida por JECFA para la taumatina	92
5.5 Generalidades de la Estevia	94
5.5.1 Estudios de trayectoria metabólica	97
5.5.2 Discusión	101
5.5.3 Conclusión	103
5.5.4 IDA establecida por JECFA para la estevia	103
5.6 Generalidades de la Sucralosa	104
5.6.1 Estudios de trayectoria metabólica	105
5.6.2 Productos de hidrólisis de la TGS	110
5.6.3 Discusión	119
5.6.4 Conclusión	123
5.6.5 IDA establecida por JECFA para la sucralosa	123

CAPÍTULO VI

MARCO JURÍDICO DE EDULCORANTES INTENSOS

6. MARCO JURÍDICO PAR LOS ALIMENTOS A NIVEL INTERNACIONAL	125
6.1 Marco jurídico en otras naciones	128

6.2 México en el ámbito internacional	133
6.3 Marco jurídico de los edulcorantes en México	135
6.4 Marco jurídico de los edulcorantes de alta potencia expuestos en este trabajo	135
6.4.1 Marco jurídico para el ciclamato	136
6.4.2 Marco jurídico para el aspartame	139
6.4.3 Marco jurídico para el acesulfame-K	140
6.4.4 Marco jurídico para la taumatina	140
6.4.5 Marco jurídico para el esteviósido	141
6.4.6 Marco jurídico para la sucralosa	142
	143
CONCLUSION FINAL	
ABREVIATURAS	145
GLOSARIO	147
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	149

Paracelso (1493-1541)

“ Todas las sustancias son venenosas; no hay ninguna que no sea tóxica. La correcta dosis diferencia al veneno del remedio ”

además enunció los siguientes corolarios:

- a) La experimentación es esencial en el examen de la respuesta a cualquier tipo de sustancia.*
- b) Se debe hacer una distinción entre el efecto hacia la propiedad tóxica y terapéutica de las sustancias.*
- c) Las anteriores propiedades son en mucho de los casos indistinguibles y son dependientes de la dosis.*
- d) Se debe determinar el grado de especificidad de las sustancias tanto de su efecto terapéutico o tóxico.¹⁵⁸*

INTRODUCCIÓN

Las necesidades humanas y la forma de satisfacerlas cambian enormemente debido a los constantes avances científicos y tecnológicos que se dan en el mundo. Dentro de esta dinámica de transformación, la alimentación no ha sido la excepción. Una muestra de ello ha sido el descubrimiento de nuevas y numerosas sustancias llamadas aditivos que confieren diversas características a los alimentos (humedad, color, olor, sabor, etc.).

Las primeras sustancias utilizadas para endulzar los alimentos fueron los edulcorantes provenientes de fuentes naturales, principalmente, la miel y el azúcar. Sin embargo en los últimos años, la utilización de esta última y sus derivados ha sido cuestionada ante todo por el sector salud, que les asocia diversos problemas tales como: la obesidad, la diabetes, la hipertensión, la hipoglucemia, los problemas digestivos, la caries dental, etc.

Estos padecimientos han sido la causa del fomento masivo de una nueva cultura que promueve la vida sana y que ha provocado en los individuos un cambio en la manera de endulzar los productos que consumen. Es en este aspecto donde los aditivos de alimentos, especialmente los edulcorantes de alta potencia han jugado un papel importante.

La industria de los edulcorantes de alta potencia nace con el descubrimiento de la sacarina en 1879 y es, a partir de entonces, cuando surge el interés por el descubrimiento y desarrollo de nuevas sustancias edulcorantes. En el año de 1937, debido al hallazgo del ciclamato, la comercialización de estas sustancias registró un importante crecimiento, pero fue hasta 1950 cuando se comenzaron a utilizar mezclas de sacarina-ciclamato. Surgió entonces, en los Estados Unidos una nueva rama: la industria dedicada a los productos alimenticios bajos en azúcares o "Sweet'n Low". Actualmente, más de 150 millones de personas en ese país usan regularmente productos libres de azúcar o productos "light". En México, 70 % de la población consume productos bajos en calorías en su dieta diaria y en Latinoamérica, 6 de cada 10 hogares consumen dichos productos.

Los gobiernos se han visto obligados a llevar a cabo legislaciones para generar un intercambio comercial más equitativo debido al crecimiento cada vez mayor de la industria de los alimentos, sobre todo aquellos que tienen tratados comerciales, con el fin de

salvaguardar la salud de la población. Sin embargo, la tendencia a consumir este tipo de productos y el creciente empleo de los edulcorantes de alta potencia en diversos productos ha generado problemas de información respecto a su inocuidad, ya que se les acusa a algunos de ellos de provocar daños a la salud.

Este trabajo está basado en las investigaciones realizadas por diversos grupos de científicos que presentaron sus trabajos al Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA), así como en algunos estudios revisados por el Comité Científico de Alimentos (SCF) de la Unión Europea (UE) y en ciertos artículos sobre el metabolismo y los metabolitos del ciclamato, aspartame, acesulfame K, taumatina, esteviosido y sucralosa, todos ellos considerados edulcorantes de alta potencia o intensos, para determinar su inocuidad y su ingesta diaria aceptable (IDA).

Además considera, en algunas ocasiones, estudios agudos, de corta y larga duración practicados en roedores, perros, monos, conejos y, en algunos casos, en el hombre con la información proporcionada o establecida por JECFA; SCF; y FDA con el fin de determinar la IDA de estos edulcorantes. y por otro lado los DL_{50} (dosis letal media) que puedan surgir de los metabolitos o bien de los subproductos durante su síntesis química.


Así también se hace una exposición del marco jurídico de estas sustancias tanto a nivel nacional como internacional.


OBJETIVOS


Objetivo General


Realizar una investigación bibliográfica sobre el metabolismo de los edulcorantes de alta intensidad utilizados en la industria de los alimentos, presentando además su legislación a nivel internacional y presentar una reseña histórica de los edulcorantes naturales.


Objetivos Particulares

-  Presentar una reseña de los edulcorantes más utilizados en la industria de alimentos.

-  Revisar la información disponible acerca del metabolismo de los edulcorantes de alta potencia más relevantes (ciclamato, aspartame, acesulfame K, taumatina, esteviosido y sucralosa).

-  Revisar sobre los posibles efectos tóxicos de los edulcorantes de alta potencia.

-  Revisar las investigaciones acerca de los posibles metabolitos surgidos a partir del metabolismo de los edulcorantes, así como su interacción en los alimentos.

-  Revisar la legislación de los edulcorantes a nivel internacional.

CAPÍTULO I

ANTECEDENTES

1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

1.1 La miel

Desde sus orígenes el hombre ha sentido el deseo de experimentar la sensación de lo dulce y, para conseguirlo, ha hecho uso de la miel, la caña de azúcar, la remolacha, el maná, las uvas, los dátiles, el coco, el sorgo, el maíz y el arce o maple, principalmente. Debido a esto, algunos científicos afirman que para cumplir dicho deseo el hombre buscó nuevos alimentos de características dulces. No obstante, otros opinan que esta preferencia pudo originarse en el período de lactancia, pues la leche materna tiene un ligero sabor dulce otorgado por la lactosa, el azúcar característico de ésta.⁴

Sin embargo, en una pintura rupestre de 30,000 años de antigüedad localizada en Valencia, España, se observa a un hombre rodeado de abejas en el momento que extrae la miel de un panal, lo que nos permite establecer que el hombre primitivo ya tenía conocimiento de las propiedades de este alimento, siendo fundamental para las civilizaciones en todo el mundo. Entre los diversos registros históricos de orden culinario y medicinal que se conservan, la miel figura como un alimento saludable. Por ejemplo, se han encontrado tarros con miel en las tumbas egipcias y se sabe que esta cultura la empleó tanto en el embalsamamiento de cadáveres como en el tratamiento de heridas. En la India, además de mencionar que sus tres principales dioses provenían de ella, la utilizaban como alimento y remedio, y le atribuían virtudes anti-tóxicas. En la Biblia se menciona como símbolo de prosperidad y bienestar:

“Y he descendido para librarlos de mano de los egipcios y sacarlos de aquella tierra a una tierra buena y ancha, a tierra que fluye leche y miel...” (Éxodo 3,8)

Uno de los libros del Corán está dedicado tanto a la miel como a las abejas y se hacen diversas recomendaciones respecto a sus usos. En las ciudades antiguas de Grecia y Roma, se creía que debía formar parte de la dieta diaria de quien deseara una vida saludable y larga. En Francia, la farmacopea medieval se inspira en el precepto de Galeno, quien la destaca no sólo para encubrir el gusto de determinados medicamentos, sino también en la obtención de preparaciones farmacéuticas por sus propiedades intrínsecas.⁴ En México, las culturas prehispánicas la utilizaban en ciertos alimentos exclusivos de la nobleza; también hervían el aguamiel para concentrarlo y obtener miel de maguey. De acuerdo con fuentes literarias del siglo XVI, los aztecas conocían una planta llamada Lipia dulces o “hierba dulce” la cual tiene una molécula llamada hernandulcina que es 1 000 veces más dulce que el azúcar. En Rusia, a la miel se le consideraba un medicamento y antídoto para picaduras de

serpientes y mordeduras de perros con rabia. Además de consumirla, la convirtieron en un producto de exportación, llegando a ser un importante artículo de comercio en toda Europa; sin embargo, en el siglo XVII con la importación y producción del azúcar de caña, la apicultura sufrió un declive considerable.^{4, 21}

1.2 El azúcar de caña

El azúcar de caña tiene sus orígenes en un área conocida como Papua-Nueva Guinea y pudo haberse originado muy probablemente de la cruce entre dos especies silvestres: *S. Spontaneum* y *S. robustum*, obteniéndose la especie *Saccharum officinarum* o caña de azúcar.⁸²

La caña de azúcar ha tenido gran relevancia en la historia del hombre de nuestra era. Debido principalmente a la migración obligada del hombre, ya sea por la guerra, causas naturales o la exploración de nuevos territorios, fue llevada de las islas del Pacífico Sur a países como la India, Tailandia, China y, más tarde, a los continentes de Europa, África y el Nuevo Mundo. (Figura 1)⁸²

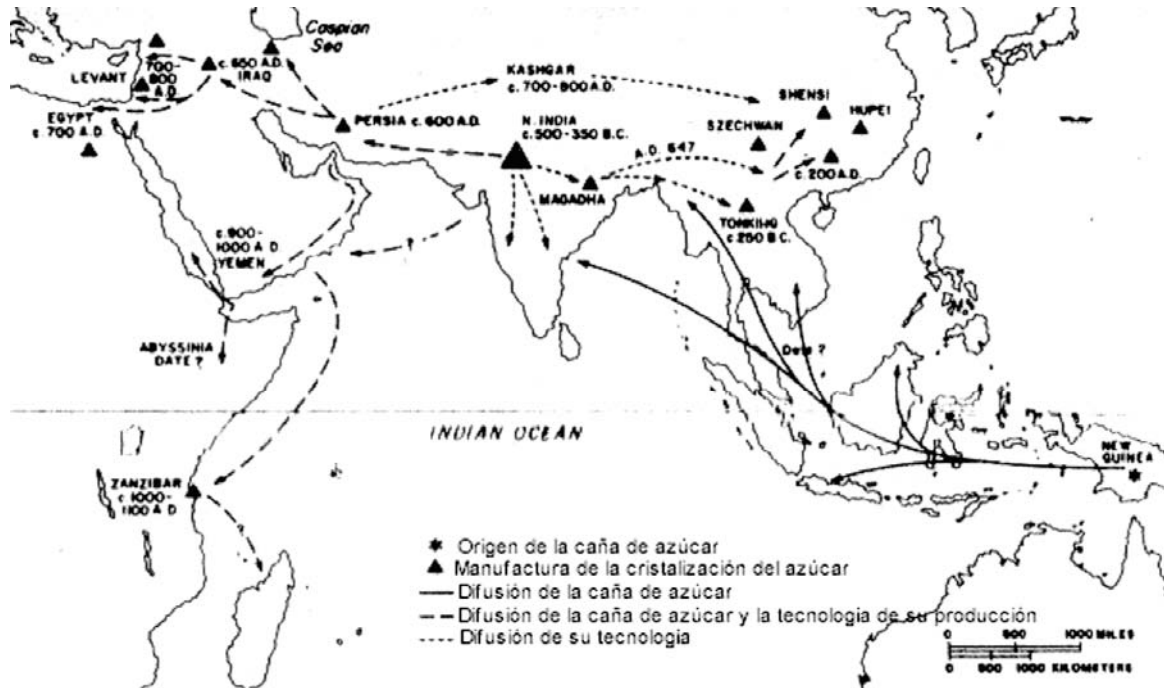


Figura 1. Ruta histórica de la introducción de la caña de azúcar.

El azúcar de caña se usó primeramente en las islas del sur del Océano Pacífico hace aproximadamente 10 000 años aC. El jugo se hirvió para concentrarlo probablemente en la India, aunque la azúcar en forma sólida no fue preparada hasta la era cristiana. La evidencia más acertada de este hecho data del siglo I dC. Mintz hace referencia a la siguiente descripción realizada por Discórides: “Hay una especie de miel concreta, llamada *saccharon*, que se encuentra en las cañas de la India y en Arabia Félix que en su consistencia es tan quebradiza que puede romperse entre los dientes, como la sal. Es buena para el vientre y el estómago al disolverse en agua y beberse, y ayuda a la vejiga adolorida y a los riñones.”¹⁷ En Persia, el nombre para el azúcar fue “Shaker” y los árabes la llamaron “Sukkar”.^{7, 82}

El principal constituyente del jugo de la caña es la sustancia química llamada sacarosa, que se extrae fácilmente y es de bajo costo. Sin embargo, en los países industrializados ha estado sujeta en los últimos años a controversias relacionadas con la salud, ocasionando que en el mercado se encuentren productos que contengan una menor cantidad de sacarosa, o bien, que ésta sea sustituida parcial o totalmente por aditivos llamados edulcorantes naturales o sintéticos.

1.3 Aditivos de los alimentos

Los aditivos de alimentos no son una invención de nuestros días. Una de las necesidades más antiguas fue la de conservar la cosecha de un año a otro. Los egipcios y los griegos hicieron uso de la sal, el humo y el secado a la intemperie (generalmente al sol) para conservar por más tiempo las carnes. Asimismo, es muy antiguo el empleo del vinagre y las especias en la preservación de los alimentos. Sin embargo, las primeras sustancias químicas que se utilizaron en los alimentos con fines de conservación fueron los boratos junto con el alumbre. También se emplearon el yeso (con la finalidad de blanquear las harinas), el ocre, el litargirio, el cinabrio, la cúrcuma y el azafrán como colorantes. Algunas de estas sustancias se utilizaron hasta hace dos siglos porque se desconocía que causaban daños al hombre; un ejemplo de esto es el cinabrio (HgS) o sulfuro de mercurio, antiguamente utilizado para otorgar color a los dulces, y que los estudios toxicológicos hechos posteriormente comprobaron que es nocivo para la salud.

Hoy en día, gracias a los aditivos y los procesos tecnológicos en alimentos, se pueden consumir toda clase de productos alimenticios en cualquier época del año, o bien, traerlos

desde tierras lejanas. La industria moderna de alimentos utiliza los aditivos para lograr las propiedades adecuadas y requeridas por el consumidor.^{20, 136}

1.3.1 Definiciones de Aditivos de Alimentos

Una manera muy general de definir a los aditivos de alimentos sería como sustancias químicas especiales, las cuales son agregadas a los alimentos con el propósito de modificar sus características, presentes hasta el momento de su consumo.¹³

Sin embargo, en este trabajo se citan tres definiciones que son consideradas importantes en el ámbito internacional para definir un aditivo de alimentos (Tabla 1).

TABLA 1 Definiciones Internacionales de Aditivo de Alimentos			
	FDA ^{49,59}	CEE ^{19, 112}	CODEX ^{19, 111}
DEFINICIÓN	Son sustancias que por su uso intencional o por los usos propuestos, pueden convertirse en componentes del alimento, de manera directa o indirecta, los cuales pueden afectar sus características. Cualquier sustancia que se utilice en:	Toda sustancia no consumida en los alimentos habitualmente y no utilizada como ingrediente característico en la alimentación, teniendo o no un valor nutritivo y adicionada intencionalmente a los alimentos. Los que tengan algún un propósito tecnológico en alguna de las fases de:	Toda sustancia que normalmente no se consume como alimento ni se utiliza como ingrediente característico de los alimentos, tenga o no valor nutritivo. Cuya adición intencional al alimento con un fin tecnológico (incluso organoléptico)en:
INCLUYE	<ul style="list-style-type: none"> • Producción • Manufacturación • Proceso • Preparación • Tratamiento • Empaquetado • Envasado • Transporte • Almacenado • Cualquier fuente de radiación propuesta para cualquier uso. 	<ul style="list-style-type: none"> • Fabricación • Transformación • Preparación • Tratamiento • Acondicionamiento • Transporte • Almacenamiento, • Tenga o pueda, directa o indirectamente y convertirse en un componente de dichos productos alimenticios. 	<ul style="list-style-type: none"> • Fabricación • Elaboración • Preparación • Tratamiento • Envasado • Empaquetamiento, • Transporte • Almacenamiento. • Lo que puede afectar, directa o indirectamente la incorporación de sus derivados y pasen a ser un componente o afecten a las características de éstos.
NO INCLUYE	<ul style="list-style-type: none"> • A los pesticidas de los productos agrícolas, • Los fármacos para animales, • Colores certificados o exentos de certificación • Los considerados GRAS¹ • Los calificados previamente por la FDA y el USDA seguros hasta antes de 1958 (ej. Nitrito de sodio). 	<ul style="list-style-type: none"> • Las sustancias empleadas para la protección de plantas y productos vegetales • Los aromas contemplados en la Directiva 88/388/CEE • Las sustancias añadidas como productos nutritivos (por ejemplo, minerales, oligoelementos o vitaminas). 	<ul style="list-style-type: none"> • El término no comprende los contaminantes ni las sustancias añadidas a los alimentos para mantener o mejorar sus propiedades nutritivas, ni el cloruro de sodio.
REGULACIÓN	• DHHS y FDA que se basan en leyes, Actas y Acuerdos	• La Ley de la Comunidad. • El Código de Usos,	• Acuerdos internacionales, establecidos entre los

	<ul style="list-style-type: none"> • Los de la lista GRAS (que son, aproximadamente 1600. ej. vitaminas, sal etc.) 	<ul style="list-style-type: none"> • Legalidad de las transacciones y una información suficiente para el consumidor. • Específicamente en la directiva 89/107/EEC. 	miembros de la FAO/OMS y regulados por el CODEX.
--	---	--	--

GRAS Generalmente Reconocidas como Seguras (Generally Recognized As Safe)

USDA Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. (United States Department of Agriculture)

FDA Administración de Fármacos y Alimentos. (Food and Drug Administration)

DHHS Departamento de Servicios de Salud Humana de los Estados Unidos. (United States of Health Human Services)

1.3.2 Definición de aditivo de alimentos en México

En el Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios establece en el apéndice, Fracción XXI, 1.1. Aditivos, inciso d.⁶

- Se considera **Aditivo**, a cualquier sustancia permitida que, sin tener propiedades nutritivas, se incluya en la formulación de los productos y que actúa como estabilizante, conservador o modificador de sus características organolépticas y para favorecer ya sea su estabilidad, conservación, apariencia o aceptabilidad.

Artículo 200 Clasificación de Aditivos

Artículo 201 Los aditivos deberán:

- Usarse únicamente en la cantidad necesaria para obtener el efecto deseado,
- No exceder los límites permitidos por la Secretaría de Salud (SSA).
- Estar libres, en su caso, de descomposición, putrefacción u otras alteraciones que los hagan no aptos para el consumo humano.

Artículo 202

- El uso de los aditivos, así como la cantidad a emplear, quedan sujetos a:
 - Las disposiciones que se señalen en este Reglamento y a las que se establezcan en las normas correspondientes.

- Las leyendas de advertencia que, en su caso, deberán utilizarse para los productos que contengan estos aditivos se establecerán en las normas correspondientes.

Artículo 203

- No se podrán emplear aditivos:

Cuando no se reúnan los siguientes requisitos:

- Que sean inofensivos al emplearse al nivel de uso permitido
- Que cumplan una función útil y no se usen para ocultar defectos de calidad sanitaria
- Que se obtenga un efecto que pueda lograrse con sólo utilizar buenas prácticas de fabricación y que tengan un método analítico que controle efectivamente su uso o justifique la inaplicabilidad de éste.⁶

Artículo 205

Cuando la Secretaría tenga conocimiento, basado en investigación científica reconocida, de que un aditivo muestra indicios confirmados de efectos cancerígenos, teratogénicos, mutagénicos o cualquier otro riesgo a la salud, no permitirá:

- su importación
- prohibirá su elaboración,
- almacenamiento y venta,
- aplicará las medidas de seguridad correspondientes y procederá a modificar las listas a que se refiere el artículo 22 de este Reglamento.

Artículo 208

Las listas de aditivos permitidos, prohibidos o restringidos a que se refiere este Reglamento, también se podrán modificar a petición de cualquier interesado, para lo cual deberá proporcionar a la Secretaría la siguiente información:

- I. El nombre genérico y el sinónimo más conocido, si se trata de una sustancia química, o el género y especie, si se trata de un producto derivado de un vegetal o animal;
- II. Cuando proceda, la fórmula química condensada y estructural, si se conoce;
- III. La justificación de su función tecnológica;
- IV. Los estudios toxicológicos de origen nacional o extranjero, a corto y largo plazo, en los que se incluya la DL₅₀ en animales mamíferos de laboratorio y la ingestión diaria admisible para evaluar su inocuidad, especialmente en relación con el cáncer y sus efectos teratogénicos, si es el caso;
- V. Los métodos analíticos para determinar su identidad, pureza y contaminantes, y
- VI. Los productos en los que se propone su empleo y proporción, de manera que ésta no rebase los márgenes de seguridad, a fin de determinar si su uso representa un riesgo para la salud del consumidor.

1.4 Clasificación de aditivos de alimentos

En la Comunidad Europea están clasificados de acuerdo con la Directiva 89/107/EEC publicada el 21 de diciembre de 1988 que establece una lista de veinticuatro categorías, mientras otros autores los clasifican en función de su acción.(Tabla 2)

Tabla 2. Clasificación de Aditivos de Alimentos	
Directiva 89/107/1988	En función de su acción
1)Colorantes	Colorantes
2)Conservadores	Aromas
3)Antioxidantes	Conservadores
4)Emulgentes	Antioxidantes
5)Agentes de cobertura (y lubricantes)	Emulgentes, estabilizantes, espesantes y gelificantes.

6)Fundentes	Acidulantes y correctores de acidez
7)Espesantes	Antiaglomerantes
8)Gelificantes	Potenciadores de sabor
9)Potenciadores del gusto	Antiespumantes
10)Acidulantes	Edulcorantes
11)Correctores de áidez (pH)	Almidones modificados
12)Antiaglomerantes	Gasificantes
13)Modificadores de textura (endurecedores)	Endurecedores, humectantes, secuestradores, gases de envasado.
14)Almidones modificados	
15)Edulcorantes	
16)Gasificantes	
17)Antiespumantes	
18)Mejoradores de harinas	
19)Humectantes	
20)Secuestrantes	
21)Enzimas	
22)Agentes de volumen	
23)Gases de envasado	
24)Estabilizadores	

1.5 Números y/o clasificación otorgados para los aditivos de alimentos

En la Comunidad Económica Europea se desarrolló el sistema E para clasificar a los aditivos, que consiste en anteponer dicha letra a un número, el cual ha sido adoptado en otras partes del mundo. Por otro lado, el Comité de la Comisión del Codex para aditivos y contaminantes de alimentos ha desarrollado un Sistema de Numeración Internacional (INS) basado en el sistema europeo. El INS es más amplio que el sistema E y se utiliza como un sistema aprobado para la identificación de aditivos para alimentos en varios países. La lista se extiende más allá de los aceptados por JECFA. Los números del INS son en gran medida los mismos números usados que en el sistema europeo pero sin la E. En los Estados Unidos existe otra forma de clasificar las sustancias químicas elaborado por la División de la Sociedad Química: el Chemical Abstracts Service (CAS). El CAS asigna un número a cada compuesto químico, incluyendo a los aditivos de alimentos, el cual es almacenado en una base de datos cuyo número aproximado de registros es de alrededor de 23 millones.^{13, 41, 42}

1.6 Preocupación por la inocuidad de los alimentos

A mediados del siglo pasado el empleo de aditivos en los alimentos y la vigilancia de su inocuidad cobraron relevancia entre los países que mantenían relaciones comerciales para tener un mayor control sanitario de los alimentos comercializados.

En la sexta Asamblea Mundial de la Salud celebrada en 1953 se expresó la preocupación por la cada vez mayor utilización de diversas sustancias químicas en la industria de los

alimentos, dando origen en los últimos decenios a un problema de salud pública que convenía investigar. El Consejo Ejecutivo de la OMS, al siguiente año, volvió a ocuparse del asunto y decidió que la cuestión fuera examinada por el Comité Mixto de Expertos en Nutrición de la FAO y la OMS. El Consejo de la OMS recomendó “que en colaboración con la FAO, se recolectará toda la información sobre los grupos de sustancias que se añaden a los alimentos, las técnicas de laboratorio y la legislación pertinente”. En es mismo año, la FAO reconoció “que el problema de los aditivos alimentarios reviste una importancia cada vez mayor, tanto para la nutrición como para la producción y distribución de alimentos.”^{41, 138}

Desde entonces, ambas organizaciones se encargan de difundir y recopilar datos sobre las propiedades físicas, químicas, farmacológicas, toxicológicas, bioquímicas, teratogénicas y sus posibles efectos cancerígenos. Además, sobre los métodos seguidos en su empleo y las razones para su autorización, limitación o prohibición de los distintos aditivos de alimentos.^{41, 46, 138}

La primera reunión de JECFA (organismo que está conformado por la FAO/OMS) fue en Roma, en diciembre de 1956, con expertos que representaban a ocho países. En esa reunión se definió por primera vez lo que era un aditivo y se propusieron los principios generales que debían regular el uso de los aditivos alimentarios, qué características debían tener y cómo utilizarlos de acuerdo con las buenas prácticas de manufactura. En 1957 se definieron los métodos de ensayo toxicológico a que debían someterse los aditivos alimentarios. Además, se promulgó que los métodos de análisis debían ir cambiando conforme a los avances de la ciencia y la tecnología. En la siguiente reunión se informó de las “Normas de Identidad y Pureza para los Aditivos de Alimentos” y se publicó la primera lista de aditivos, en la que se evaluaron sus características químicas y físicas, (la cual fue sometida por los diferentes países a evaluación) para su aceptación o rechazo. Dado que el Comité de la FAO/OMS no tenía las facultades para poder emitir normas, fue necesario crear el Codex, un organismo que se encargara de establecer los marcos de regulación.

Existe otra organización que se encarga, de entre muchas otras cosas, de evaluar la inocuidad alimentaría, este es el Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS) establecido en 1980. Es una asociación conjunta del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP), la Organización Internacional del Trabajo (OIT) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). Los objetivos del IPCS son establecer las bases científicas para

evaluar los riesgos a la exposición de sustancias químicas que tienen que ver con la salud humana y el medio ambiente a través de la revisión de los procesos como un prerrequisito para la promoción de la seguridad de una sustancia química y así proveer asistencia técnica en el fortalecimiento de las capacidades de cada nación en el manejo competente de las sustancias químicas. La Organización Internacional para el Manejo Competente de Sustancias Químicas (IOMC) fue establecida en 1995 por la UNEP, la OIT, la ONU, la FAO y la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE). El propósito de la IOMC es fijar la coordinación de las políticas y actividades perseguidas por las organizaciones participantes, independientes o conjuntas, para alcanzar el manejo competente de las sustancias relacionadas con el medio ambiente y la salud humana.²²

1.6.1 Situación de la inocuidad de los alimentos en E. U.

A finales del siglo XIX y principios del siglo XX, debido a las transformaciones que sufrieron los procesos productivos, se comenzaron a crear instituciones dedicadas a inspeccionar a las industrias que fabrican alimentos para que se llevaran a cabo bajo normas y leyes destinadas a crear alimentos inocuos.

En Estados Unidos, la inocuidad de los alimentos se inicia promulgando regulaciones e inspeccionando todo lo que esté relacionado con los alimentos. Las primeras regulaciones fueron emitidas por la Federal Food and Drug Act of 1906 o Pure Food Law y sufrieron modificaciones en 1938 cuando el acta fue renombrada como Food, Drug and Cosmetic Act of 1938. La FDA es la institución que regula a nivel federal la mayoría de los aspectos relacionados con los alimentos (dentro de los que se encuentran los procesos de muchos productos alimenticios, las etiquetas de los alimentos procesados o envasados destinados al comercio interestatal o a la importación). Desde los orígenes de esta ley se han realizado varias modificaciones. Adicionalmente, hay un código de normas federales que es específico para la industria alimentaria.^{13, 49}

1.6.2 Situación por la inocuidad de los alimentos en México

En México, a finales del siglo XIX, por primera vez se empiezan a definir medidas de control basados en códigos sanitarios. En 1841 se creó el Consejo Superior de Salubridad, dependiente de la Secretaría de Gobernación. En 1878, en el Distrito Federal publicó un mandato relativo a las sustancias que, por dictamen del Consejo Superior de Salubridad Pública, debían usar los fabricantes de dulces. En 1891, se promulgó el Código Sanitario y

se planteó la necesidad de la creación de un Ministerio de Salubridad. En el año de 1917 se creó el Departamento de Salubridad Pública y en 1943 se fusionó con la Secretaría de Asistencia Pública.¹³⁶

Hoy en día, los órganos encargados de regular en materia de alimentos y control sanitario son la Secretaría de Salud (SSA) y la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), que es un órgano desconcentrado de la Secretaría de Salud con autonomía técnica, administrativa y operativa, que tiene como misión proteger a la población contra riesgos sanitarios, para lo cual integra el ejercicio de la regulación, control y fomento sanitario bajo un solo mando, dando unidad y homogeneidad a las políticas que se definan.

47, 121

CAPÍTULO II

ASPECTOS DEL DULZOR

2. EI GUSTO DULCE

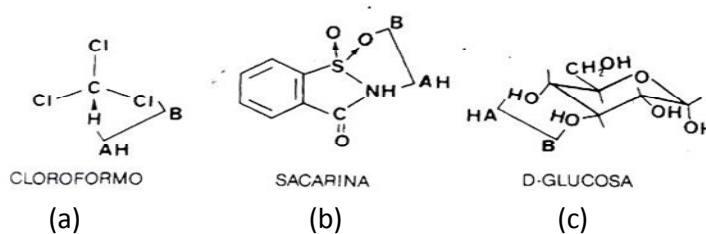
El gusto es una función sensitiva que reside principalmente en los botones gustativos de la boca, que es donde se perciben los sabores de las sustancias, aunque también contribuyen “el sentido del olfato, las sensaciones táctiles de la boca y las sensaciones de dolor” (Thornge, 1997, Garrido, 2001, Tresguerres, 1999). Se considera generalmente que en el gusto existen al menos cuatro sensaciones sápidas primarias: ácido, salado, dulce y amargo. Sin embargo, en los últimos treinta años se ha hablado de un quinto: el “umami” (Kawamura y Kare, 1987). Esta palabra se ha traducido del japonés como “delicioso”, algunos autores simplemente le otorgan el apelativo de “rico” o “sabroso”. De acuerdo a las investigaciones, el umami es considerado como una sensación oral que es estimulada principalmente por el glutamato monosódico (GMS), así como por algunos nucleótidos o ribonucleótidos que disueltos en agua producen una sensación no agradable, pero que añadidos a algunos alimentos refuerzan lo dulce o salado (Durán y Costell). Todas las sensaciones sápidas son combinaciones diferentes, pues la mayoría de los botones gustativos pueden ser excitados por dos o más de los estímulos primarios, aunque generalmente predominan uno o dos de ellos.^{76, 28, 30}

El gusto ácido es causado por sustancias liberadoras de iones de hidrógeno. El salado es producido por compuestos salinos iónicos. Por su parte, el gusto dulce no se puede asociar a ninguna función química concreta debido a que las sustancias edulcorantes presentan estructuras químicas muy diversas como: carbohidratos, amidas, ácidos sulfónicos, ésteres, aminoácidos, flavonoides, sales inorgánicas, acetatos, propianatos de plomo y berilio. Sin embargo, en el grupo de los carbohidratos existen azúcares que son insípidos como la celulosa y otros amargos como la gentobiosa.²¹

Con esta variedad de estructuras, no es sorprendente la existencia de grupos funcionales simples o partes de estructuras que permitan predecir el sabor de un determinado compuesto, de hecho, las investigaciones sobre las relaciones existentes entre estructura química y el dulzor siguen siendo sujeto de estudio y son también numerosas las teorías que han intentado explicar las estructuras moleculares de los compuestos dulces. Una de las primeras data del siglo III aC. elaborada por Teofrasto en su obra “De sensibus”, en la cual citando a Demócrito (V aC.), indica que el dulzor se debe a “pequeñas moléculas redondas”.³⁶

En este último siglo, se desarrolló una teoría acerca de auxóglucos y glucóforos (Oertly y Myers, 1919) que postulaba la necesaria presencia en la molécula de estos dos grupos como requisito para el dulzor. Posteriormente se observó que el dulzor de los azúcares presentaba una buena correlación con el cociente “suma de volúmenes atómicos/volumen molecular” (Beck ,1943), teoría que se considera aplicable a series homólogas de diversas clases de compuestos. Más tarde, Baradi y Bourne en 1951 intentaron explicarlo basándose en la actividad enzimática. Por otro lado, se sabe que todas las sustancias sápidas deben tener cierta solubilidad en agua; sin embargo, existen sustancias lipofílicas más dulces que los azúcares (hidrofílicos). Por ello, se propuso una correlación entre dulzor y el coeficiente de participación (Deutsch y Hanch, 1966), estudiada en nitroanilinas sustituidas. La naturaleza lipídica de las membranas de las células receptoras del gusto dulce, en la que se localizaría un hipotético receptor del dulzor, requeriría un coeficiente de partición favorable.³⁶

Actualmente, la explicación de la percepción del dulzor está basada en la teoría elaborada por Shallenberger y Acree en 1967 y ampliada por Kier en 1972. Shallenberger y Acree postularon que el sabor dulce era causado por compuestos diferentes en la que una estructura común puede ser vista desde la presencia de un sistema de dador/receptor de protones (AH/B) de la unidad sávida común para todos los compuestos que causan una sensación dulce. La unidad sávida se consideró inicialmente como una combinación de un protón –H de enlace ligado covalentemente y un orbital electronegativo situado a una distancia de 3 Å del protón. De este modo, los átomos electronegativos vecinos de una molécula son esenciales para el dulzor. Además, uno de los átomos tiene que poseer un protón –H de enlace. Frecuentemente, los átomos de oxígeno, nitrógeno y cloro cumplen con estas reglas en las moléculas dulces, pudiendo servir los átomos de oxígeno del grupo hidroxilo, bien para la función AH, bien para B de la molécula. Se muestra la relación simple AH/B para el cloroformo Figura 2 (a), la sacarina (b) y glucosa (c).



Sin embargo, como se indica en la Figura 2.1, también se imponen requisitos estereoquímicos AH/B de la unidad, de tal modo que han de alinearse adecuadamente con el sitio receptor. La interacción entre los grupos activos de la molécula dulce y el receptor gustativo actualmente se considera que ocurre mediante el enlace $-H$ de los componentes AH/B con estructuras similares del receptor gustativo. A la teoría se le ha añadido una tercera característica a fin de ampliar su validez a las sustancias intensamente dulces. Esta adición incorpora regiones lipófilas de las moléculas dulces apropiadas distribuidas estereoquímicamente, designadas por γ , que son atraídas a regiones lipófilas similares de los receptores gustativos. Las porciones lipófilas de las moléculas dulces son frecuentemente los grupos metileno ($-CH_2$), metilo ($-CH_3$) o fenilo ($-C_6H_5$). La estructura dulce completa se encuentra situada geoméricamente de modo que se establece un contacto triangular de todas las unidades activas (AH, B y γ) con las moléculas del receptor como ocurre con las sustancias intensamente dulces y esta distribución forma la base racional de la estructura tripartita de la teoría del dulzor.

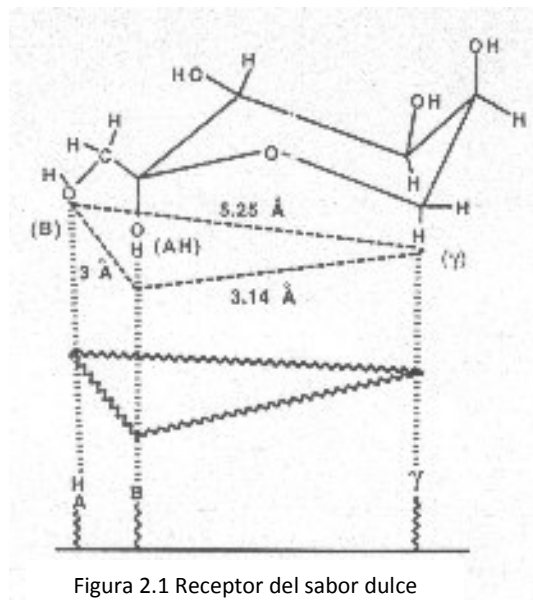


Figura 2.1 Receptor del sabor dulce

El sitio γ es una característica extremadamente importante de las sustancias intensamente dulces, pero juega un papel menor en el sabor dulce de los azúcares. Parece ser que actúa facilitando el acceso de ciertas moléculas al sitio del receptor gustativo y, como tal, afecta a la intensidad del dulzor percibido. Como se sabe los azúcares son muy hidrófobos, esta característica entra en el juego del dulzor pero para algunos azúcares es sólo de modo

limitado, como en la fructosa. Este componente de la unidad sávida dulce da cuenta de una parte sustancial de la variación de la cualidad dulce que se observa entre diferentes sustancias dulces. No es sólo importante en lo que se refiere al tiempo-intensidad o aspectos temporales de la percepción dulce, sino que también parece relacionado con alguna de las interacciones entre dulzor y amargor observadas en ciertos compuestos.

Las estructuras de los azúcares dulces-amargos poseen características que al parecer les permiten interactuar con uno o ambos tipos de receptores produciendo la sensación combinada de sabor. Las propiedades amargas de la estructura deprimen el dulzor inclusive si su concentración en una solución patrón es inferior a la que produce la sensación. El amargor de los azúcares puede ser conferido por una combinación de efectos que abarcan la configuración del centro anomérico del anillo en el oxígeno, el grupo alcohol primario de las hexosas y la naturaleza de otros sustituyentes. Cambios en la estructura y la estereoquímica de la molécula dulce conducen con frecuencia a la pérdida o inhibición del dulzor o a la inducción de amargor.^{1, 2, 5}

La percepción del sabor amargo producido por compuestos como la quinina o la cafeína pueden explicarse de un modo similar a la percepción del sabor dulce, ya que estas moléculas también presentan una estructura HA/B, pero en este caso la distancia entre A y B debe estar comprendida entre 1- 1.5 Å (Amstrongs) para que la sensación sea percibida como amarga.^{1, 2, 5}

2.1 Estimación del dulzor

Para poder estimar la intensidad del gusto dulce, se cuantificó la intensidad del dulzor relativo de la sacarosa como sustancia de referencia porque es de impacto rápido, limpio, sin regusto residual y de caída rápida de intensidad. Estas características se tomaron en cuenta y se le asignó un poder edulcorante de 1 ó 100; usando como base el umbral de percepción (concentración mínima de percepción dulce).

En la medición de la intensidad edulcorante se utilizan dos conceptos:

◆ Umbral de reconocimiento c_{lsv} (concentración mínima de una disolución acuosa de la sustancia que se ensaya a la que se le percibe el sabor dulce).

♦ Poder edulcorante relativo de una sustancia X, referido a una sustancia patrón S, que es el cociente de las concentraciones C (%peso o mol/L) de disoluciones del mismo dulzor que S y X:

$$f(c_s) = c_s / c_x \text{ siendo } c_s \text{ igual de dulce que } c_x$$

La mayoría de las veces la sustancia patrón es la sacarosa ($f_{sac.g}$, f_{sac} , mol) en disoluciones al 2.5 o al 10 %. La capacidad edulcorante depende de la concentración, de manera que siempre debe especificarse la concentración de la disolución de referencia ($f(C_s)$). Una capacidad edulcorante de $f_{sac.g}$ (10)=100 veces más dulce que una disolución al 10 % de sacarosa o que una disolución al 0.1 % de dicha sustancia es igual de dulce que una disolución al 10 % de sacarosa. Por lo tanto, si el umbral de percepción de la sacarosa es de 0.3 % (c_s) y de 0.002 % (c_x) para el aspartame, se deduce que este último es 150 veces más dulce que la sacarosa.^{5, 19}

$$f(c_s) = c_s / c_x \text{ siendo } c_s \text{ igual de dulce que } c_x$$

$$f(0.3 \%) = 0.3 \% / 0.002 \% = 150$$

Los ensayos para determinar el poder edulcorante mediante análisis sensorial se propusieron junto con las investigaciones sobre el sabor dulce; ya que los métodos empíricos son todavía indispensables en la evaluación cuantitativa (intensidad), sensitiva (umbrales) y cualitativa (persistencia, sabor residual, etc.). De hecho, el poder edulcorante varía en función del propio edulcorante, la concentración y del medio (temperatura, pH, viscosidad, etc.). Otros métodos más sofisticados fueron propuestos por Hermann, Moskowitz y Wehrly en 1972.

Tabla 3. Dulzor relativo de edulcorantes alternativos a la sacarosa	
Compuesto	Dulzor* (Sacarosa =1)
Sacarosa	1
Lactosa	0.4
Fructosa	1.4
Sorbitol	0.5
Isomaltol	0.6
Xilitol	1
Manitol	0.7
Ciclamato	30-60
Aspartame	180-220
Acesulfame-K	160-200
Sucralosa	600
Esteviosido	300
Sacarina sódica	200-700
Taumatina	2000-2500
Moleina	3000
Maraculina	1500

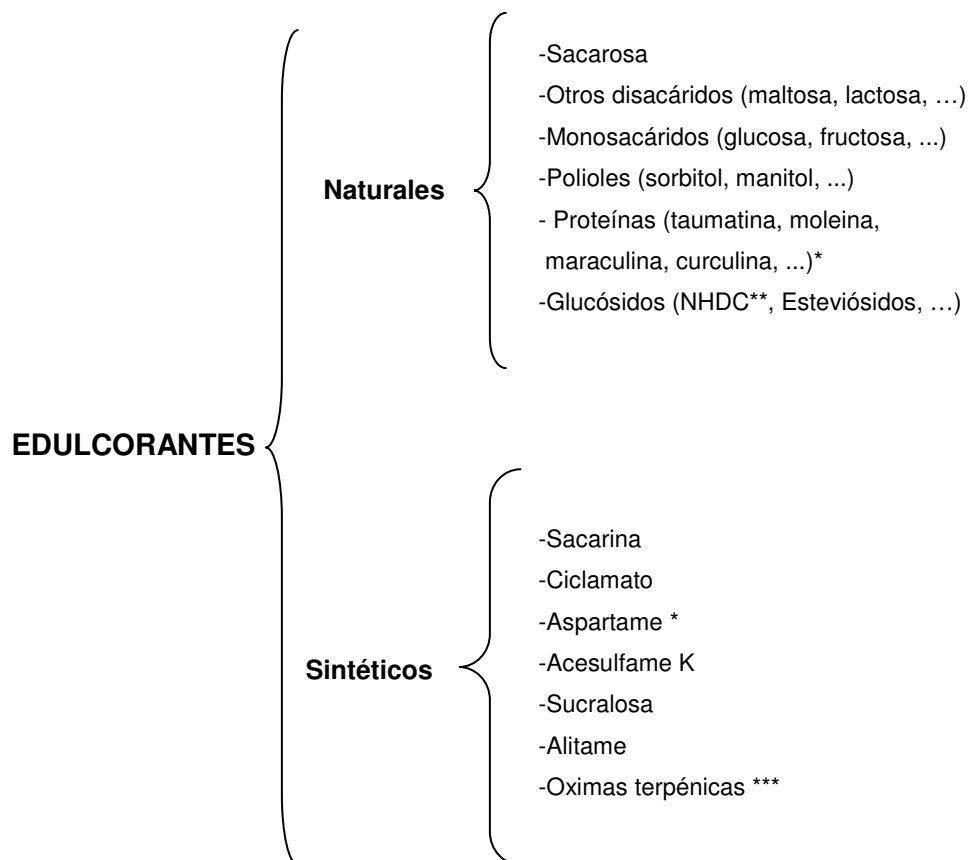
Se han usado diferentes métodos para determinar el dulzor; la sacarosa es la que se utiliza comúnmente como el estándar pero se sabe que cambia con el tiempo debido a la inversión. Además, existen factores que afectan el dulzor ya que depende de la concentración del edulcorante, la temperatura, pH y tipo de medio usado

2.3 La familia de los edulcorantes

La palabra “edulcorar” proviene del bajo latín “edulcorare”, la cual derivó el término “dulcor” que significa “dulzura” y se denomina edulcorante a las sustancias que son capaces de impartir un sabor dulce.^{73, 74}

En el ámbito científico, los edulcorantes son nombrados como de primera y segunda generación. La primera generación la conforman la sacarina, el ciclamato y aspartame. La sacarina fue el primer edulcorante sintetizado (1879), pero debido a que ésta presentaba un resabio amargo, se buscó desarrollar una nueva sustancia que, además de ser baja en calorías, tuviera un mejor sabor. Fue entonces que en 1951 se aprobó el ciclamato para el uso en alimentos. El siguiente edulcorante aprobado fue el aspartame en 1981. A partir de entonces, los productos lácteos como el yogurt salieron al mercado con la leyenda “bajos en calorías”.⁶⁴ Como ejemplos de edulcorantes de segunda generación tenemos: el acesulfame-K, la sucralosa, el alitame, el neotame, etc. Todas estas sustancias son una clave importante en el desarrollo de alimentos bajos en calorías.^{66, 61} Sin embargo, la búsqueda por el mejor edulcorante intenso (compuestos de alta intensidad edulcorante superior al de la sacarosa) ha sido inmensa y algunos han concluido que no existe; ya que esto depende del uso final en el que se emplee. Otros autores han propuesto una clasificación en función de su aporte energético (cantidad de calorías por gramo), o bien, de acuerdo a su origen (naturales o sintéticos). (Figura 3).^{49, 36, 37, 38, 43}

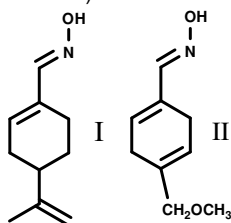
Figura 3. Clasificación de edulcorantes



* Por la cantidad tan pequeña utilizada en las aplicaciones en alimentos son considerados no nutritivos.

** La neohesperidina dihidrochalcona es un derivado de la naranja amarga, esta sustancia es intensamente dulce (ej. naringin dihidrochalcona, neohesperidina).

*** La intensidad de dulzor de las oximas puede ser de 2000 pero su uso está limitado por la baja solubilidad (ej. El dulzor de la molécula II es de 450 y es más soluble).



CAPÍTULO III

ASPECTOS METABÓLICOS

3 ASPECTOS GENERALES

El metabolismo es el proceso global de reacciones químicas a través de las cuales los seres vivos adquieren y utilizan energía libre para realizar diferentes funciones como el trabajo mecánico, el transporte activo de las moléculas contra gradientes de concentración y la biosíntesis de moléculas complejas a partir de compuestos más sencillos con el objeto de mantener los procesos vitales (nutrición, crecimiento, reproducción, etc.). Cada una de las sustancias que se producen en este conjunto de reacciones metabólicas se denomina metabolitos.

Tradicionalmente se ha separado el metabolismo en dos fases, anabolismo (biosíntesis) y catabolismo (degradación), según las necesidades energéticas de las células o las necesidades de síntesis de determinadas moléculas: Estos dos procesos, integran el metabolismo de toda la especie celular.

Los objetivos del metabolismo son:

Obtener la energía química que se encuentra almacenada en los enlaces químicos el fosfato en el ATP.

- Transformar las sustancias químicas externas en moléculas que se puedan utilizar por la célula.
- La síntesis de materia orgánica propia a partir de la energía y de las moléculas obtenidas del medio ambiente. Estos compuestos orgánicos almacenan gran cantidad de energía en sus enlaces.
- El catabolismo es para obtener la energía de las moléculas que necesitan las células para realizar diferentes tipos de trabajo biológico.

En el metabolismo energético se distinguen distintas etapas con una secuencia de reacciones bioquímicas concretas o rutas metabólicas que reciben un nombre específico según el compuesto que originan o la función que integran, como por ejemplo: glucólisis, ciclo de Krebs o fosforilación oxidativa.

3.1 Estudios bioquímicos

La exposición a posibles agentes tóxicos a través de la alimentación parece inevitable teniendo en cuenta el crecimiento demográfico y la producción en masa. Para asegurar la inocuidad de los alimentos se busca eliminar desde un principio todos los posibles riesgos.

Para que un agente xenobiótico entre en algún organismo, éste debe ser absorbido por alguna de las vías de exposición que regularmente son: la inhalación, la cutánea y la vía oral; esta última, la de mayor importancia en el caso de los alimentos.

Para evaluar un agente xenobiótico, es importante conocer la trayectoria metabólica que sigue en el organismo, comprender qué factores pueden influir en su absorción, cómo se distribuye en el organismo, dónde y cómo se metaboliza, cuál es la vía por la cual se elimina, cuáles son los cambios de estructura que se producen de dicho agente durante el metabolismo, o bien, si éste es capaz de originar alteraciones importantes en el organismo.

Un aspecto de los estudios acerca del metabolismo de los aditivos de alimentos que ha recibido atención suficiente son las trayectorias metabólicas. Aunque estos estudios presentan dificultades considerables, su conocimiento contribuye a elegir el animal más apropiado para cada tipo de estudios y, de esta forma, asemejarlo al metabolismo humano para evitar correr el riesgo que entraña el empleo de sustancias tales como los aditivos para los alimentos.

Los estudios de metabolismo comprenden los procesos implicados en la absorción, distribución, conversión metabólica y excreción de la sustancia. Cuando un xenobiótico ha sido absorbido, éste es distribuido a distintos tejidos y órganos. La fase de distribución inicial, la tasa de penetración de una sustancia a través de las membranas y los sitios disponibles para la fijación, son los factores predominantes que influyen en la distribución de una sustancia en el organismo. Pero también puede ocurrir que no sufra cambios o no se fije y entonces, se excrete sin ningún cambio, o bien, se obtengan sus metabolitos o ambas cosas. Las principales vías de excreción son la orina, heces, sudor y, en menor grado, el aire espirado, la saliva, bilis, leche, etc.

Transformación metabólica es la expresión que se usa para describir el proceso que convierte a una sustancia química en otra o genera varios derivados (metabolitos). Por lo

general, el sitio donde se llevan a cabo es en el hígado y son catalizadas por diferentes enzimas. También se pueden llevar a cabo en menor grado, en el aparato digestivo, riñón, pulmón, placenta y sangre, aunque para cada sustancia hay una vía específica. Sin embargo, éstas también pueden ocurrir por varias vías en reacciones múltiples, las cuales pueden estar compuestas de una serie de reacciones oxidación-reducción e hidrólisis, donde la secuencia predominante del tipo de reacciones o vías metabólicas estará determinada por diversos factores, como la dosis de la sustancia química, especie, sexo, edad y ciertas variables ambientales.^{63, 55}

Todo esto tiene como objetivo obtener datos que permitan tener una evaluación más confiable de la peligrosidad de las sustancias químicas que están vinculadas directamente con los alimentos y, como ya se mencionó, se llevan a cabo experimentos en diferentes tipos de animales donde se prueban las concentraciones de una sustancia que pueda tener algún efecto.

3.2 Toxicología de alimentos.

Se sabe que todas las sustancias son tóxicas en ciertas condiciones de exposición. Un corolario de este principio es que para toda sustancia química debe existir alguna condición de exposición que sea segura en lo que concierne a la salud del hombre, con excepción de las sustancias radioactivas, los carcinogénicos y los mutágenos comprobados.⁶³ En un sentido general, podría decirse que la toxicidad de una sustancia es su capacidad para causar una lesión en un organismo vivo. Una sustancia muy tóxica causará daño a un organismo si se le administra en cantidades muy pequeñas, en consecuencia, no se puede definir la toxicidad sin hacer referencia a la cantidad de sustancia administrada o absorbida (dosis), a su vía de administración, a su distribución en el tiempo (ej. dosis única o dosis repetidas), a su tipo y gravedad de lesión y al tiempo necesario para producir el efecto.⁵⁵

La toxicología de los alimentos ha adquirido mayor importancia a raíz de la alimentación moderna. Esto ha obligado a que se evalúen la inocuidad de los alimentos que son ingeridos por el hombre y se pide que la cantidad de aditivos agregados deba estar adecuadamente medida. Es evidente que la cantidad dependerá de los alimentos consumidos y de la variabilidad en la alimentación.

La toxicología se ocupa de la naturaleza, los mecanismos de las lesiones y de la evaluación cuantitativa junto con el aspecto de cambios bioquímicos producidos por la exposición a las sustancias químicas. Es por ello que la toxicología recurre a diversas disciplinas: la química, la fisicoquímica, la biofísica, la nutrición, la bioquímica; las cuales son fundamentales para comprender el mecanismo tóxico. También se recurre a las ciencias genómicas, la patología y la oncología entre otras; realizando todas estas los análisis de diversas ramas que conciernen a la Medicina.⁶³

3.3 Inocuidad de alimentos

La inocuidad se basa en las investigaciones de diferentes pruebas de laboratorio, en las que se deberán utilizar varias especies animales (ratón, rata, cuyo, perro, chango, etc.) de ambos sexos en diferentes etapas de su ciclo de vida. Para poder realizar este tipo de investigaciones en seres humanos se debe tener en cuenta los siguientes elementos: los requisitos éticos, la evaluación del riesgo, el beneficio potencial y las características de todos los lineamientos para su consentimiento.^{55, 63}

Los requisitos esenciales para proteger a los seres humanos en la experimentación y la investigación han sido expuestos por muchas organizaciones nacionales e internacionales, donde el factor esencial es el derecho a un consentimiento informado con la ausencia de alguna treta. Los instrumentos internacionales relativos a esta cuestión son la declaración de Helsinki, el Artículo 7 del Pacto Internacional de Derechos Civiles y Políticos adoptado por la Asamblea General de las Naciones Unidas, la cual determina que “nadie será sometido sin su libre consentimiento a experimentos médicos o científicos”.^{63, 138}

3.4 Ingesta diaria admisible (IDA)

Es el resultado de diversos ensayos obtenidos de diferentes valores de dosis donde se determina “el nivel de efecto adverso no observado” (NOAEL), es decir, el nivel en el que la dosis carece de efecto tóxico significativo según las especies sobre las que se realizaron los estudios. Este nivel se utiliza para establecer la IDA.^{55, 33, 62, 65}

El resultado de dividir el NOAEL por un factor de seguridad (generalmente de 100) es la IDA para los seres humanos. Por ejemplo, si el NOAEL en un estudio en animales es de 100 mg/kg de peso corporal, esto se convierte en una IDA de 1 mg/kg de peso corporal para los humanos. El factor de seguridad tiene en cuenta la diferencia entre animales y seres

humanos y la variabilidad entre individuos humanos, incluyendo edad, nutrición, embarazo, etc.⁶³

Además, la IDA tiene contemplado que un aditivo alimentario puede ser consumido diariamente en la dieta a lo largo de la vida de un ser humano sin riesgos para su salud. Este concepto fue establecido por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA)³³, que definió la IDA como:

“la estimación de la cantidad de un aditivo alimentario, expresada en relación con el peso corporal, que puede ser ingerida diariamente durante toda una vida sin un riesgo apreciable para la salud humana”³⁴

Esta definición fue aprobada más tarde por el Comité Científico para la Alimentación de la Comunidad Europea (SCF).³⁵

CAPÍTULO IV

CARBOHIDRATOS Y POLIOLES

4. EDULCORANTES NATURALES

Los azúcares son carbohidratos, estos son compuestos orgánicos muy abundantes en la naturaleza. Se encuentran en todos los organismos y son indispensables para la vida. Los carbohidratos casi puros son: el algodón, la celulosa de la madera, el almidón y el azúcar de los alimentos. Algunos carbohidratos forman parte del recubrimiento de las células vivas, se encuentran en el DNA (que contiene la información genética) y otros más, como la gentamicina, son medicamentos invaluable. ¹ El término carbohidrato o hidrato de carbono se debe a su composición elemental $(CH_2O)_n$, es decir, que contienen carbono, hidrógeno y oxígeno en esta proporción. ^{1,2}

Los carbohidratos en nuestra alimentación se consideran muy importantes, incluso aquellos que no son digeribles como la fibra, que se considera necesaria para mantener una buena digestión y ayuda a mantener una alimentación equilibrada. ²

Los carbohidratos aportan a los alimentos toda una serie de características como: edulcorantes, gelificantes, colorantes, espesantes, estabilizadores y precursores de compuestos con aroma; además, proporcionan texturas deseables y palatabilidad agradable. ^{4,5}

Los azúcares pueden dividirse en tres grandes grupos: monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos.

Los monosacáridos, conocidos como azúcares sencillos, son las unidades básicas de los carbohidratos. Están presentes en la naturaleza en pequeñas cantidades como azúcares libres. Se clasifican conforme a su grupo carbonilo y al número átomos de carbono. Los monosacáridos más comunes son los de tres y hasta siete átomos de carbono, siendo los de cinco y seis átomos de carbono los de mayor abundancia. ^{1, 2, 79}

Todos los monosacáridos sencillos son sólidos, blancos, cristalinos, muy solubles en agua pero insolubles en los disolventes no polares. La mayor parte de ellos tiene sabor dulce.

Los oligosacáridos están formados por un número relativamente bajo (de dos a diez) monosacáridos unidos a través de enlaces glucosídicos. Cuando son de más de diez monosacáridos son llamados polisacáridos. ^{1, 2, 79}

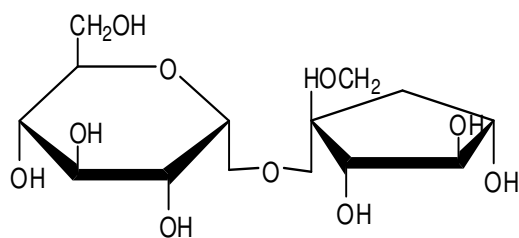
Los disacáridos al hidrolizarse dan lugar a dos monosacáridos. En la naturaleza los disacáridos existen en un porcentaje mayor que los monosacáridos. Los más comunes en los alimentos son: la sacarosa (D-glucosa y D-fructosa), la lactosa o azúcar de la leche (D-galactosa y D-glucosa) y la maltosa (D-Glucosa y D-Glucosa) que es el azúcar formada durante la fase de germinación de la malta, o bien, por la acción de la amilasa sobre el almidón. Estos también son solubles en agua y tienen un sabor dulce.^{1, 2, 79}

Los polisacáridos son carbohidratos formados por decenas, centenas o miles de monosacáridos, unidos por enlaces glicosídicos. La celulosa y el almidón son los polisacáridos más abundantes del mundo vegetal. La celulosa está formada por D-glucosa en enlaces $\beta(1-4)$. Al almidón lo constituyen varias unidades de D-glucosa en cadenas unidas por enlaces $\alpha(1-4)$. Estos polisacáridos tiene un sólo tipo de monosacárido.^{1, 2}

4.1 Principales edulcorantes utilizados en la industria de alimentos

Los edulcorantes naturales comúnmente utilizados en la industria de alimentos son: sacarosa, fructuosa, glucosa y los jarabes de glucosa y fructosa. Otro grupo importante lo forman los polioles que no difieren mucho en su estructura de los azúcares, ya que se obtienen por reducción de un azúcar. A pesar de ser un grupo muy numeroso, se utilizan relativamente muy poco. Los más relevantes son: sorbitol, jarabe de sorbitol, manitol, isomalt, jarabe de maltitol, lactitol y xilitol.

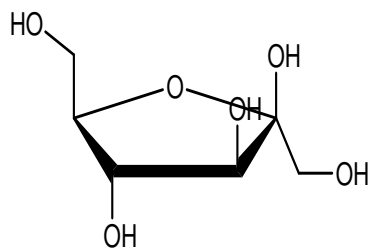
Sacarosa



La sacarosa principalmente se obtiene de la caña de azúcar o de la remolacha, es un disacárido formado por dos monosacáridos (α -D-glucopiranosil- β -D-fructofuranosido) comúnmente conocidos como glucosa y fructosa. No es un azúcar reductor y puede llevar a cabo reacciones de Maillard. Su fórmula condensada es: $C_{12}H_{22}O_{11}$, con P.M. 342.30 g/mol y su punto fusión es de 170 °C. Son cristales o polvo blanco cristalino, muy soluble en agua y con un poder edulcorante de 1. Provee 4 kcal/g.

A la sacarosa se le ha nombrado siempre con el término de “azúcar”, pero también es conocida como: melaza, piloncillo o azúcar morena; todas estas diversas formas de presentación de la sacarosa o subproductos de su proceso de extracción.^{1, 2, 13, 10}

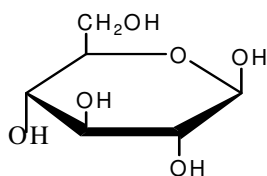
Fructosa



La fructosa se encuentra en las frutas y la miel, es la más dulce de todos los azúcares naturales. La fruta que la contiene en mayor proporción es la uva. Su nombre químico es β -D-fructopiranososa, su fórmula condensada es $C_6H_{12}O_6$, su P.M. 180.16 g/mol, con un PF de 130 °C. En forma sólida es un polvo blanco cristalino, es soluble en agua y etanol, su poder edulcorante es de 2. La fructosa se puede producir mediante la isomerización ácida o enzimática de la dextrosa del almidón de maíz; a este producto se le conoce como jarabe de maíz alto en fructosa o (HFCS) por sus siglas en inglés.

La fructosa ha reemplazado a la sacarosa en muchos alimentos y bebidas, ya que sinergiza el potencial edulcorante de otros edulcorantes sintéticos.^{1, 2, 13}

Glucosa



La D-glucosa se encuentra presente en pequeña proporción en las frutas y en la sangre de los animales constituye alrededor del 1 %. Es la unidad base de muchos azúcares. La glucosa se obtiene industrialmente por la hidrólisis ácida o enzimática del almidón, la papa y el trigo y se purifica por cristalización. Se comercializa como jarabe de diferentes grados de Dextrosa Equivalente (DE) en presentaciones 40, 42, 43 y 63 DE y en polvo es conocida como dextrosa. Su nombre químico es α -D glucopiranososa. Comercialmente es conocida: Globe™, Cerelose®, Clintose®, Dextrosol® o Golden C®. La fórmula condensada es: $C_6H_{12}O_6$ con un P.M. (peso molecular) de 180.16 g/mol y un P.F. (punto de fusión) de 146 °C anhidra y 83 °C monohidratada. Es un monosacárido reductor, su poder edulcorante es menor a 1, es un polvo blanco cristalino. Soluble en agua y poco soluble en etanol, proporciona 4 kcal/g.^{13, 1, 10}

4.2 Metabolismo de carbohidratos

A pesar de su gran abundancia en el mundo biológico, los carbohidratos tienen una limitante: deben hidrolizarse a monosacáridos para utilizarse en el metabolismo y ser transportados al torrente sanguíneo desde el intestino delgado.²

La sacarosa, al entrar en el intestino delgado, es hidrolizada por la enzima invertasa en la pared intestinal. De los productos de la hidrólisis, la D-glucosa es absorbida rápidamente, mientras que la absorción D- fructosa libre se lleva a cabo más lentamente. Parte de esta D- fructosa es convertida en D-glucosa en el propio intestino, pero el 85 % de ella se convierte en glucosa o se metaboliza directamente sólo después de alcanzar al hígado por la vía de la circulación de la vena porta.

Si se inyecta sacarosa por vía intravenosa, ésta es excretada directamente por el riñón, puesto que la sangre no contiene invertasa.²

La lactosa se hidroliza por medio de la enzima lactasa, que se encuentra en el intestino delgado, a D-glucosa y D-galactosa y ambas son transportadas activamente a la circulación sanguínea. Cuando la síntesis de lactasa es deficiente, ocasiona que la lactosa pase intacta al intestino grueso donde es atacada por la flora bacteriana intestinal y convertida en ácido láctico, acético y otros productos que retienen agua. La acumulación de esto en cantidad suficiente causa diarrea.^{2, 18}

De la gran variedad de polisacáridos del mundo biológico, el hombre sólo digiere el almidón y ciertos dextranos. El almidón comienza a hidrolizarse en la boca, donde está sujeto a la acción de la α -amilasa de la saliva, que se une a las moléculas de almidón para liberar un fragmento de seis unidades de glucosa. Estos fragmentos, malto-oligosacáridos también se hidrolizan y producen principalmente maltosa, maltotriosa y maltotetraosa. Hasta este momento no se ha liberado ninguna unidad de D-glucosa y la enzima prácticamente ha concluido su misión durante la masticación, donde no hay tiempo suficiente para que pueda producirse glucosa. Sin embargo, la verdadera hidrólisis tiene lugar en el intestino delgado, cuando el bolo alimenticio llega al duodeno en donde se excreta α y β -amilasa. La β -amilasa ataca al almidón y los fragmentos resultantes de la acción de la α -amilasa, liberando unidades de maltosa a partir de los extremos no reductores de las cadenas. La maltosa es hidrolizada a su vez a D-glucosa por la enzima maltasa, que es secretada a la luz del

intestino por las células epiteliales de la pared. La D-glucosa producida es transportada activamente de la luz intestinal al torrente sanguíneo portal.²

Los polisacáridos como la celulosa, hemicelulosa y pectina no son hidrolizados debido a que no es suficiente la hidrólisis ácida del estómago y pasan al intestino grueso casi intactos. Este tipo de polisacáridos ejerce un efecto beneficioso, facilitando la digestión, ligando ácidos biliares, disminuyendo su reabsorción, bajando el nivel de colesterol, retrasando la aparición de arteriosclerosis, incrementando los movimientos peristálticos y, de esta forma, eliminando más rápido los productos de desecho no absorbidos que pueden causar irritación y condiciones propicias para desarrollo de cáncer de colon.

Los carbohidratos digeribles proporcionan 4 Kcal/g, energía equivalente a la proporcionada por un gramo de proteína e inferior a las 9 Kcal/g de las grasas.

4.3 Alcoholes de azúcar o polioles

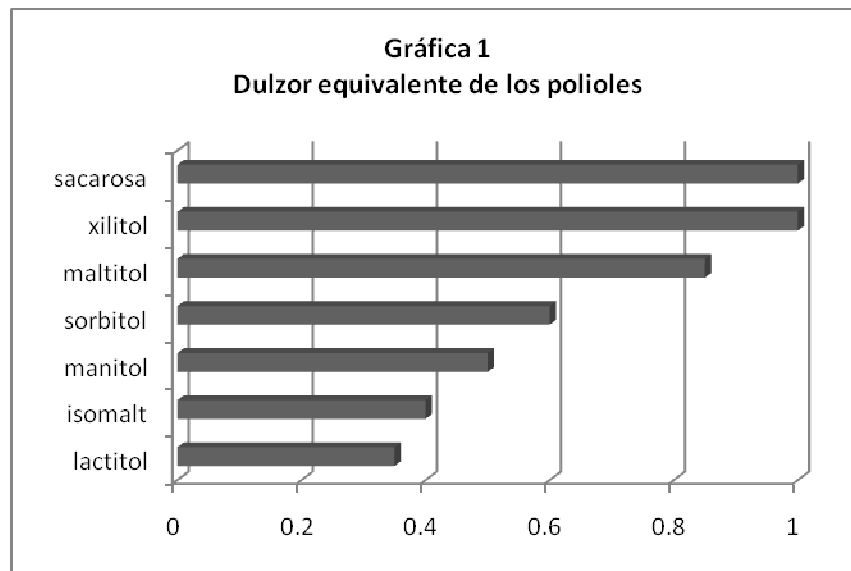
Antiguamente los exudados de ciertos árboles (ej. el maná) fueron utilizados en las regiones mediterráneas como agente edulcorante en las preparaciones de panadería. Estos exudados son ricos en manitol. La utilización del maná fue sustituida por el azúcar.

El conocimiento sobre la diabetes determinó la prohibición del azúcar en la alimentación del diabético, especialmente las sustancias dulces, ya que sustituyendo el azúcar se logró reducir el nivel de glucosa en la orina y no causar elevaciones desmesuradas en los niveles de glucosa sanguínea. El almidón hidrolizado, un polialcohol derivado de la glucosa e isómero del manitol, fue recomendado como edulcorante para diabéticos. Debido a estos cambios, se han buscado diversos productos con una mejor tolerancia glúcida para los diabéticos y se ha desarrollado así una gama de productos alimentarios en los que el azúcar es sustituido por los polioles.^{13, 2}

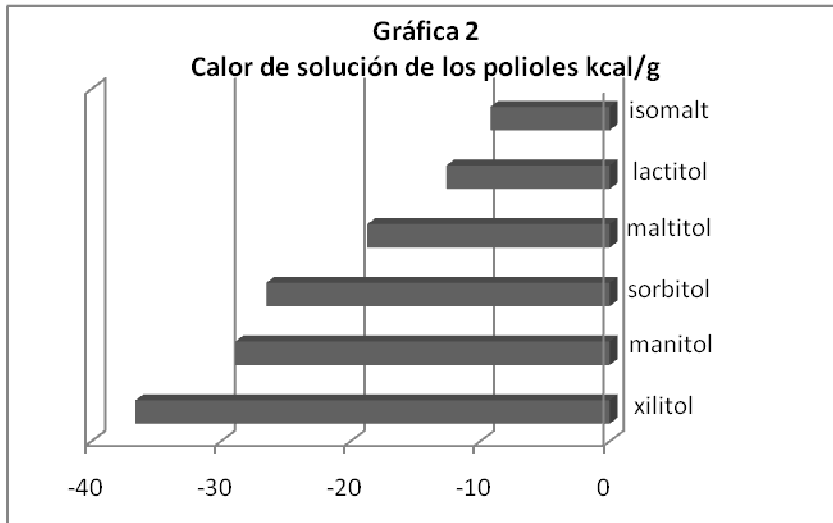
Los polioles se encuentran en pequeñas cantidades en frutas y vegetales pero también se han encontrado como intermediarios en el metabolismo de los azúcares, en el hombre y los animales. Comercialmente son sintéticos y no se extraen de fuentes naturales. Se obtienen de un carbohidrato por hidrogenación, convirtiendo los grupos reductores de aldehídos y cetonas a un alcohol, un grupo no reductor. Los polioles obtenidos por reducción de los grupos carbonilo de los monosacáridos se les conoce también como aditales.⁹

Todos estos aditales poseen características semejantes dentro de los que se encuentran: el dulzor equivalente o intensidad edulcorante, la viscosidad, la solubilidad y la falta de pardeamiento a través de la reacción de Maillard.^{17, 15}

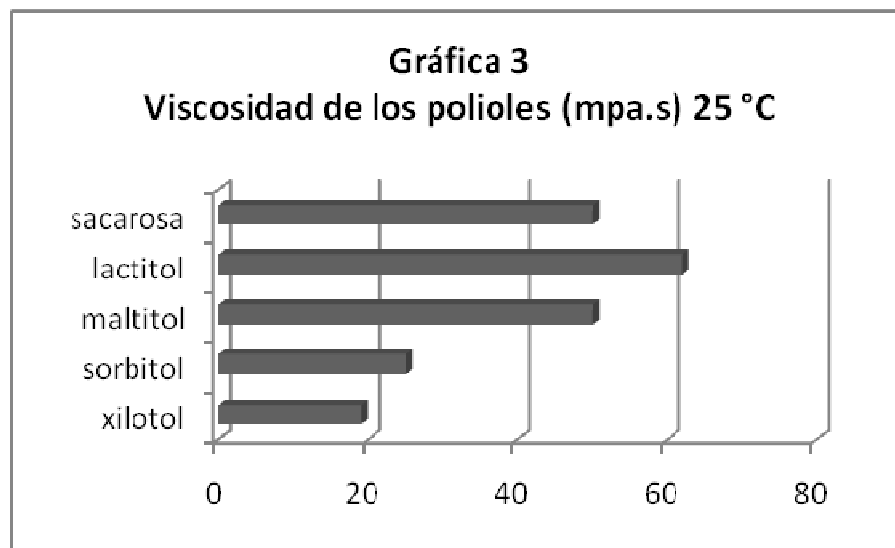
El dulzor equivalente o intensidad edulcorante de los polioles (Gráfica 1) es menor al de la sacarosa, excepto el xilitol y el maltitol, que presentan un dulzor equivalente al de la sacarosa.^{10, 17}



Otra de las características importantes es que la mayoría presenta un calor de solución negativo (Gráfica 2), que es el calor absorbido cuando son solubilizados en un disolvente, (por ejemplo, cuando las gomas de mascar contienen polioles y al introducirlas en la boca dan una sensación de frescura).^{10, 17}

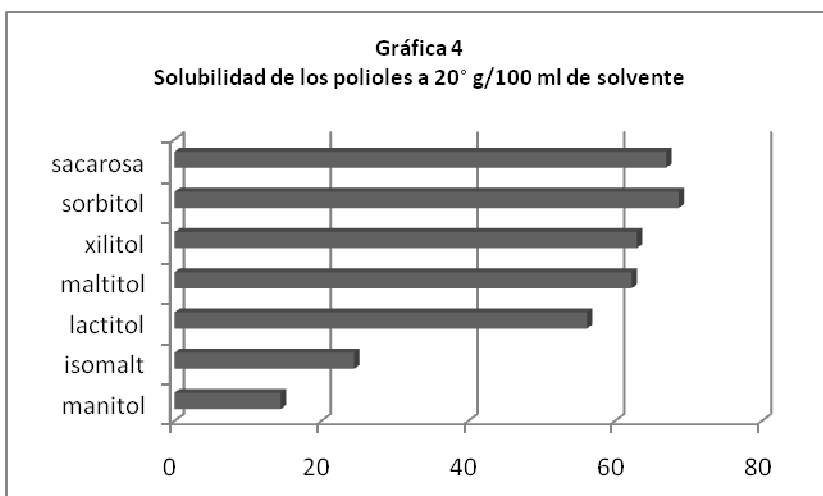


La viscosidad es una propiedad importante que influye en la consistencia de los productos, las características de mezclado, el tamaño de partícula, la textura y volumen durante el proceso o en el producto terminado¹⁰. (Gráfica 3)

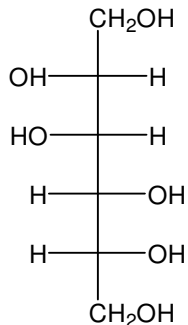


En la industria de los alimentos tiene importancia también la solubilidad (Gráfica 4), la consistencia, la textura, la percepción del sabor y el dulzor del producto terminado (resabio metálico, persistencia del sabor dulce, retardo del sabor dulce, etc.). Asimismo, son

importantes para los requerimientos de producción, empaquetado y la vida de anaquel la higroscopicidad y la naturaleza humectante.



D-Manitol [E 421]

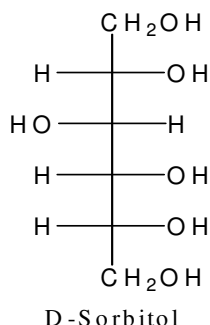


El D-manitol está relacionado con la D-manosa, obtenido inicialmente a partir del fresno de maná (*Fraxinus ornus* L., Oleaceae) y de algunas algas pardas. Es un azúcar de seis átomos de carbono, industrialmente se obtiene por hidrólisis y reducción catalítica del almidón, o bien, por hidrogenación catalítica de la glucosa y/o fructosa junto con el sorbitol, del que se separa por cristalización. Otro método de obtención es por fermentación discontinua en condiciones aerobias utilizando la cepa convencional de la levadura *Zygosaccharomyces rouxii*. En el área farmacéutica se emplea como un laxante ligero. Su fórmula química es $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$, tiene un P.M. de 182.2 g/mol. y un P.F. 164-169 °C. En forma sólida son cristales o polvo blanco, inodoro, sabor dulce, soluble en agua, muy ligeramente soluble en etanol y prácticamente insoluble en éter.^{9, 1, 2, 13}

► Criterio de pureza: Contenido de D-manitol no inferior al 96,0 % y no superior al 102 % expresado en peso seco.^{9, 13}

D-Sorbitol [E 420]

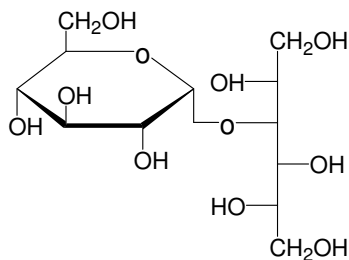
El sorbitol está formado por seis átomos de carbono y es isómero del manitol. Se produce industrialmente desde hace más de medio siglo por hidrogenación catalítica de la glucosa; se comercializa en polvo o jarabe.^{2, 13}



Su fórmula química es C₆H₁₄O₆, tiene un P.M.182.17 g/mol y su P.F. es de 88-102 °C. Se presenta como polvo cristalino, blanco e higroscópico, de sabor dulce, soluble en agua y ligeramente soluble en etanol. La presencia de sorbitol en los vinos denota su adulteración con sidra, ya que se encuentra presente en ella.^{13, 17}

► Criterio de pureza: Contenido total de glicoles no inferior al 97,0 % y de D-sorbitol no inferior al 91,0 % expresado en peso seco.

D-Maltitol [E 965]



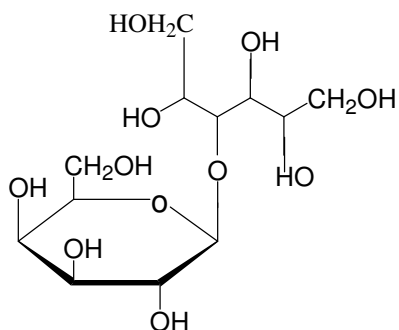
El maltitol es producido por hidrólisis enzimática del almidón.

La molécula de maltitol, 4-O-β-D-glucopiranosil-D-glucitol, esta formada por una molécula de glucosa ligada a una unidad de sorbitol, 1,4 (1,4-glucosil-glucitol). Su fórmula química es C₁₂H₂₄O₁₁, tiene un P.M. de 344,31 g/mol, su P.F. es 148-151 °C. Es un polvo blanco, cristalino, de sabor dulce.

Muy soluble en agua, ligeramente soluble en etanol.

► Criterio de pureza: contenido de D-maltitol C₁₂H₂₄O₁₁ no inferior al 98 %, expresado en peso seco.^{17, 13}

Lactitol [E 966]



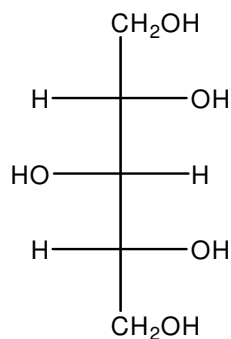
Es un disacárido [(4-O-βD- galactopiranosil-D)-glucitol]; el proceso industrial se fundamenta en la hidrogenación de una solución de lactosa (30-40 %, 100 °C) con un catalizador, la reacción se lleva a cabo en autoclave a una

presión mínima de 39.47atm.^{13, 14} Su fórmula química es $C_{12}H_{24}O_{11}$. Su P.M. es 344,32 g/mol, su P.F. monohidratado es de 115–125 °C y dihidratado 70–80 °C.

En forma sólida es un polvo o cristales y en solución es incoloro, de sabor dulce. Los productos cristalinos se presentan tanto en forma anhidra como monohidratada o dihidratada soluble en agua. Nombres comerciales: Lactitol, Lactita, Lactositol, Lactobiosita, Lacty.

► Criterio de pureza: No menos del 95 % de lactitol en peso seco.^{9, 17, 13}

D-Xilitol [E 967]



El xilitol es un polialcohol formado por cinco átomos de carbono, que se encuentra en pequeñas cantidades, en las levaduras, hongos, líquenes, en algunas frutas y verduras. Asimismo, se forma en el cuerpo humano como un intermedio normal en el metabolismo de la glucosa en cantidades que varían desde los 5 a los 15 g diarios. Industrialmente se obtiene a partir de su componente básico: la hemicelulosa. Su fórmula química es $C_5H_{12}O_5$, su P.M. es 152,15 g/mol y su P.F. es [92-96] °C.

Es un polvo blanco, cristalino, prácticamente inodoro, de sabor dulce, soluble en agua, poco soluble en etanol.

► Criterio de pureza: No menos del 98,5 % de xilitol expresado en peso seco.^{10, 17, 13}

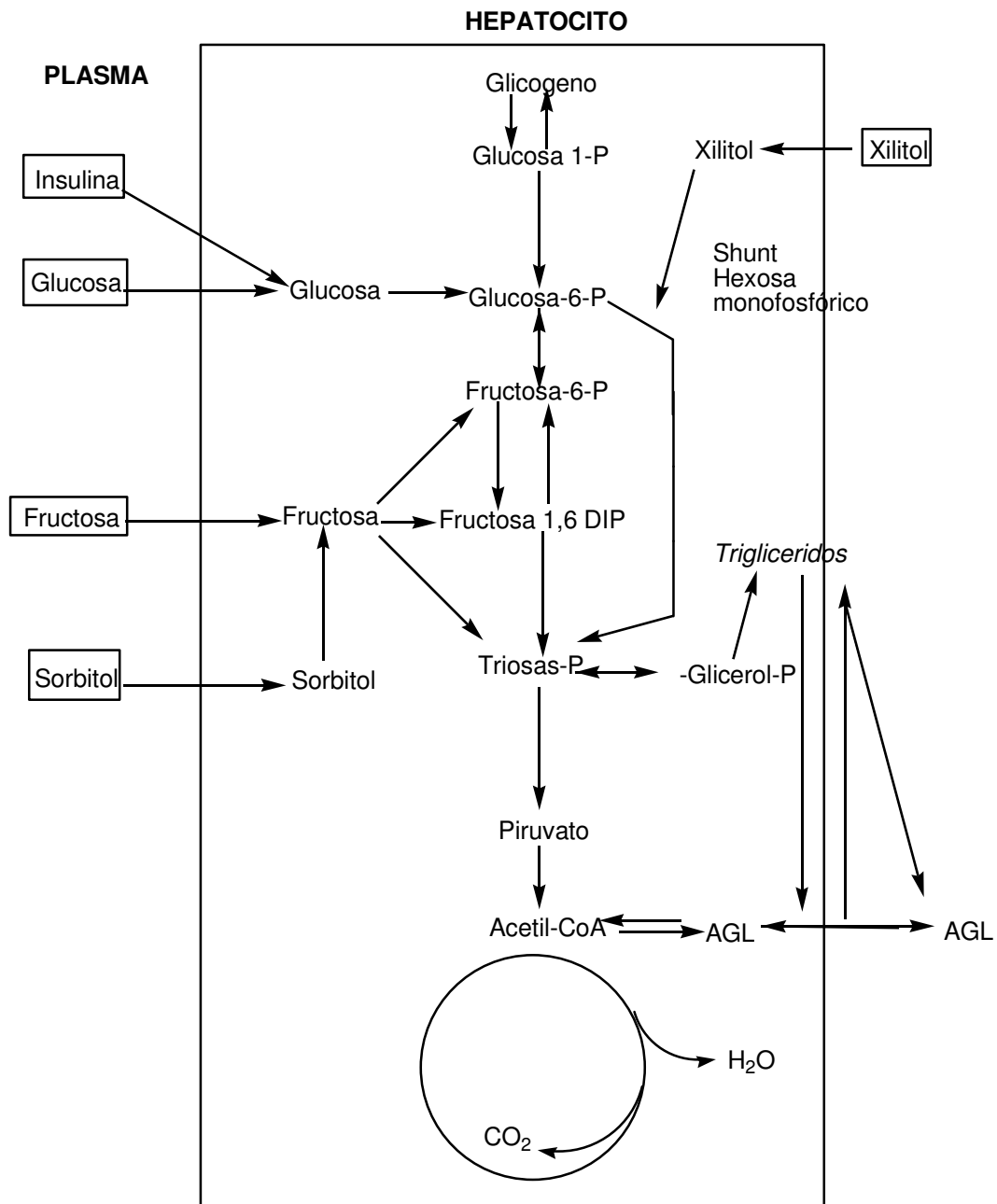
4.4 Metabolismo de los polioles

Ni el hombre, ni los animales de laboratorio metabolizan los polioles como un carbohidrato; estos tampoco se absorben en el intestino delgado. Son metabolizados en el intestino grueso donde diversas bacterias los convierten en: monosacáridos, ácidos orgánicos, CO_2 y en una pequeña cantidad de hidrógeno.

No inducen un aumento significativo del nivel de insulina en la sangre, lo que los convierte en sustitutos de azúcar, tolerados por los diabéticos. Además, casi todos han demostrado que su aporte calórico nutricional es de 2 kcal/g, menor que la de los carbohidratos.

Una limitación de los polioles es su efecto laxante cuando se consumen en altas dosis; es por esto que algunos países exigen cumplir con los niveles de seguridad establecidos para cada producto donde estos sean utilizados.^{16, 13}

Figura 4. METABOLISMO DE LA GLUCOSA, FRUCTOSA, SORBITOL Y XILITOL ¹¹²



CAPÍTULO V

METABOLISMO DE EDULCORANTES
INTENSOS

5. EDULCORANTES INTENSOS

El origen de los edulcorantes intensos (compuestos de poder edulcorante superior al de la sacarosa) se remonta al descubrimiento casual de la sacarina en 1879. Esta sustancia edulcorante fue rápidamente recomendada para las personas diabéticas como sustituto del azúcar. Sin embargo, la sacarina no resultó ser tan eficaz como se esperaba para la industria de los alimentos, ya que se encontró que impartía un resabio metálico y, además, se le cuestionó desde el punto de vista de salud pública debido a su posible toxicidad observada en ratones y sus implicaciones secundarias. No obstante, durante el racionamiento de azúcar en Europa durante las dos guerras mundiales, las autoridades permitieron nuevamente su empleo, el cual cobró mayor importancia a partir de los años cincuenta, especialmente en los EU, en los productos bajos en azúcares. Más tarde, el regusto de la sacarina fue enmascarado asociándolo con el edulcorante ciclamato, descubierto en 1937. Sin embargo, la inocuidad de éste también sería cuestionada posteriormente, razón por la cual la República Federal Alemana lo retiraría de su estatus GRAS (Generally Recognised as Safe), misma acción que realizaría la FDA (Food and Drug Administration) de los EU en 1970.

Estas decisiones llevaron a nuevas discusiones sobre la inocuidad de estas sustancias y paralelamente estimularon la búsqueda de nuevos edulcorantes intensos. Para ese entonces ya existía un importante sector de la población que consumía alimentos bajos en azúcares, o bien, que no contenían azúcar. Actualmente, el aumento de peso y las enfermedades cardiovasculares se han convertido en preocupaciones cada vez más frecuentes en gran parte de la población mundial.

Las problemáticas de salud planteadas y la insistencia de los consumidores sobre la inocuidad de alimentos durante las últimas décadas han propiciado la elaboración de reglamentaciones y nuevas revisiones en el empleo de edulcorantes intensos. Dicha labor fue encomendada a científicos y personal con el conocimiento adecuado del metabolismo y de los efectos bioquímicos de los edulcorantes para constituir las bases para la evaluación de su inocuidad y recomendar su empleo, o bien, rechazarlo.

Los estudios bioquímicos de los edulcorantes son proyectos a largo plazo que requieren una investigación fundamental, es por esto que todas las personas y organismos relacionados con la inocuidad de los edulcorantes deben estar informados sobre las investigaciones

toxicológicas, metabólicas y fisicoquímicas de estas sustancias y de los posibles metabolitos que puedan generarse.

La presente revisión se circunscribe a los edulcorantes intensos importantes en la industria de alimentos. La mayoría de estos han sido descubiertos accidentalmente y es normal que una vez descubierto un nuevo edulcorante se suelen sintetizar derivados análogos dentro de la misma familia de moléculas que puedan conducir a nuevos edulcorantes. Esto ha ayudado a establecer conclusiones sobre las relaciones estructura-sabor.

Cuando se descubre un nuevo edulcorante se espera principalmente que tenga las siguientes características:

- ✓ Alta intensidad de dulzor.
- ✓ Nulo aporte de calorías.
- *✓ Ausencia de funciones tecnológicas (no ser higroscópicos, no caramelizarse, no proporcionar textura, etc.).
- ✓ Apropriados para diabéticos.
- ✓ No criogénicos.
- ✓ Carencia de retrogustos (amargo, metálico, o bien, persistencia y retardo del dulzor).
- ✓ Termo-estable y que no sea muy lábil.
- ✓ Económicos.

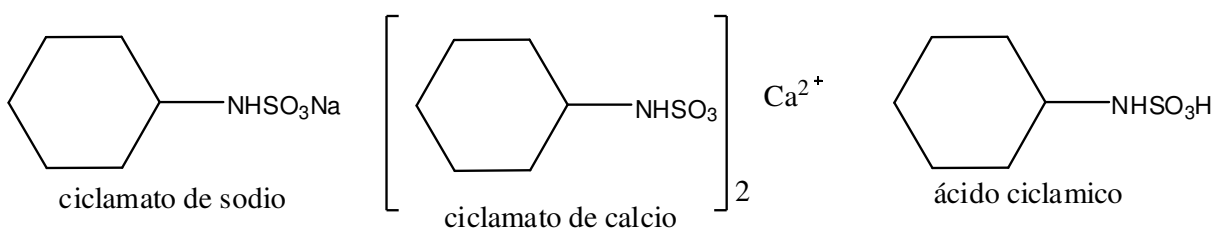
* Esto principalmente dependerá en qué tipo de alimento se emplee.

Ciclamato

5.1 Generalidades del Ciclamato

El ciclamato se sintetizó por primera vez en 1937 por Michael Sveda, un estudiante de postgrado de la Universidad de Illinois, Chicago, quien descubrió su sabor dulce de forma accidental cuando investigaba las propiedades antipiréticas de los derivados del ácido sulfámico. Los ciclamatos fueron patentados por la compañía Dupont en 1940 y los laboratorios Abbott los introdujeron al mercado en 1950.^{49, 24}

Los ciclamatos están comprendidos en el grupo de compuestos que integran el ácido ciclámico, el ciclamato de sodio y el ciclamato de calcio, los cuales son electrolitos fuertes (porque en solución son altamente ionizables, tienen un carácter neutro y presentan una capacidad buffer baja). Los ciclamatos de sodio y de calcio se presentan como cristales o polvos blancos. La fórmula y el peso molecular para el ciclamato de sodio son $C_6H_{12}NO_3S \cdot Na$ y 201.22, respectivamente, mientras que para el de calcio son de $C_{12}H_{24}CaN_2O_6S_2 \cdot 2H_2O$ y 396.54 (432.57 hidratado).^{24, 16, 13, 36, 49}



Los ciclamatos son sintetizados mediante la sulfonación de la de ciclohexilamina por sustitución con varios compuestos químicos (ácido clorosulfónico, ácido sulfámico) seguidos por una neutralización con hidróxidos (IARC1980, Beck 1957).^{13, 21}

Un gramo de ciclamato de sodio es soluble en 5 ml de agua o en 25 ml de propilenglicol; 1 g de ciclamato de calcio es soluble en 4 ml de agua o en 1.5 ml de propilenglicol, pero no son solubles en disolventes no polares. Son estables a bajas o altas temperaturas, en un amplio rango de pH, en la presencia de luz, oxígeno y en todas la aplicaciones de los alimentos.^{13, 49,}

La percepción del dulzor del ciclamato es tardía, persiste por más tiempo y presenta un ligero resabio ácido, generalmente se acepta que el ciclamato tenga un dulzor 30-60 veces más dulce al de la sacarosa. Sin embargo, el dulzor relativo del ciclamato tiende a decrecer en altas intensidades de dulzor. Por ejemplo, el ciclamato es aproximadamente 40 veces más dulce comparado con una solución al 2 % de sacarosa, pero sólo es 24 veces más dulce que una solución al 20 % de sacarosa. Esta tendencia puede deberse, al menos parcialmente, al incremento en los niveles de amargura (resabio que aparece normalmente en concentraciones de ciclamato muy altas).^{49, 82, 119}

Los ciclamatos no son higroscópicos, esto impide el crecimiento de moho o de bacterias, aparecen en la lista de los edulcorantes no cariogénicos y no proporcionan calorías.^{87, 49}

Los ciclamatos tienen efectos sinérgicos con la sacarina a razón de 10:1, evitando de esta forma los problemas de sabores no deseados asociados a cada uno de estos productos por separado. Esta combinación fue la primera en su tipo y fue muy usada en los años sesentas en diversos productos alimenticios. Se observó que en bajas concentraciones pueden enmascarar la acidez natural de los frutos cítricos. En otras combinaciones, como lo son ciclamato-aspartame o ciclamato-aspartame-sacarina, se busca siempre que éstas sean estables y que el producto final tenga un buen sabor. Estas combinaciones se han aplicado en refrescos de dieta, tabletas, postres fríos bajos en calorías, aderezos, mermeladas, jaleas, gelatinas, gomas de mascar y en polvos para preparar bebidas. Del mismo modo, son sinérgicos en combinación con la sacarosa.^{16, 49, 24}

Claves otorgadas por diversos organismos a nivel mundial.³

Ciclamato de calcio:

CAS	139-06-0
INS	952
EEC ó E	952
JECFA	952

Ciclamato de sodio:

CAS	139-05-9
INS	952
EEC ó E	952
JECFA	952

5.1.1 Estudios de trayectoria metabólica

Los ciclamatos de sodio y calcio, junto con la ciclohexilamina (CHA), fueron previamente evaluadas por Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) en los años de 1967, 1970, 1976, 1977, 1980 y 1982. En este último año, el Comité tuvo los resultados de los posibles efectos de la ciclohexamina sobre la reproducción en ratones, determinó el grado de conversión de los ciclamatos en ciclohexilamina en el hombre y modificó la ingesta diaria aceptable (o ADI por sus siglas en inglés) para el ciclamato.

A continuación se presentan los resúmenes de los estudios acerca del metabolismo examinados por JECFA para la aprobación del ciclamato.

Dosis únicas intravenosas de ciclamato en ratas

Núm.	Dosis oral única en ratas	Vía de excreción.	Autor
1	0.5, 0.1, 2.0 g/kg pc de ciclamato-Na y Ca	-orina 17-30 %. -heces 70-80 %. -Tiempo de excreción 72 h.	(Hwang, 1966) ¹³⁴
2	1 %	-orina 17 %. -heces 70 %.	(Derse & Daun, 1966) ¹³⁴
	5 %	-orina 14 % heces 46 %.	
	10 %	-orina 15 %. -heces 30 %.	
3	714 y 909 mg/kg ¹⁴ C-ciclamato	-orina 99 %.	(Sonders & Miller, 1966) ¹³⁴
4	0.5, 1.0, 2.0 g/kg/pc ciclamato	-orina 30 %. -heces 70 %. -Tiempo de excreción. -La mayor parte en 24 h. -El total en 3 días.	(Derse & Daun, 1966) ¹³⁴
5	2 o 4 g/kg/pc ³⁵ S-ciclamato-Na	-De 75-80 % permaneció en el intestino durante 8 h . -18-25 % fue absorbido y excretado en orina. -Del 3-8 % permaneció en el animal sacrificado.	(Derse & Daun, 1966) ⁹³
6 a	5 % 10 % ¹⁴ C-ciclamato-Na	-orina 22 % -heces 72 %. -El 0.2 % permaneció en el animal sacrificado. -Del 98-99 % se excretó como ciclamato.	(Miller, et al., 1966) ⁹³
6 b	5 % ¹⁴ C-ciclamato-Na	-Determinado por HPLC-GC. -orina 5 %. -heces 19 %.	(Derse & Daun, 1966) ⁹³
	10 % ¹⁴ C-ciclamato-Na	- orina 7 %. -heces 18 %.	
7	1000 mg/kg de ¹⁴ C-ciclamato (rata lactante)	-El ciclamato sin cambio fue identificado por cromatografía en la orina. -Se excretó 80 % aproximadamente en la misma cantidad tanto en la orina como en las heces. -El 0.12 % de la dosis fue transmitida a las crías, por medio de la leche.	(Hood, et al., 1966) ⁹³

Núm.	Dosis Ciclamato de Na	Órgano (s). estudiados	Efecto observado		Autor
8	100 mg/kg	pulmones, riñones, glándulas salivales, sangre, cerebro	5 min	-La distribución fue relativamente uniforme en el músculo, con poca concentración en pulmones, riñones, glándulas salivales y en sangre.	(Schechter & Roth, 1967) ⁹³
			7 h	-Se concentró en intestino, en la glándula salival y en un área no identificada del cerebro.	
			48 h	-Cierta parte permaneció en el intestino.	
9	100 mg/kg	intestino grueso, riñones, piel.	5 min	-Se encontró una concentración baja en el tejido fetal.	(Schechter & Roth, 1967) ⁹³
			7 h.	-En la placenta y alrededor el cordón umbilical presentó alta concentración, a excepción de la médula renal, la placenta estaba relativamente libre. -El mayor contenido se presentó en el intestino y riñones de la madre.	
			48 h.	-En la rata de un día de edad se observó una concentración en intestino grueso, riñones y piel.	

Dosis únicas de ciclamato en conejos y perros

Núm.	Dosis	Organismo de prueba	Vía de excreción	Tiempo de Excreción	Autor	
11	oral, intraperitoneal, intravenosa de ciclamato-Na	conejos	orina 80-90 %	12 h	(Audieth & Sveda, 1974) ⁹³	
12	oral de 600 g/kg/pc, ciclamato-Na	perros	orina 70 % orina 85 %	8 h 24 h	(Taylor, et al., 1966) ⁹³	
	intravenosa de 100 mg/kg/pc ciclamato-Na	perros	bilis 0.5 % orina 67 %	5 h		
13	intragástrica 0.75-1 mg/kg/pc ciclamato-Na	perros	orina 21-64 %	11-17 h	(Hwang, 1966) ⁹³	
14	oral de 200 g/kg/pc ciclamato-Na	perros	Orina	-Se identificó sólo ciclamato sin cambios en orina 17 h después de la dosis.	(Sonders, 1967) ⁹³	
15	oral 1000 mg/kg ¹⁴ C-ciclamato-Na	perros	orina 80 % en 24 h	Después de	Por cromatografía	(Hoot, et al., 1970) ⁹³
				10 h	metabolito en orina	
				24 y 48 h	ciclamato y metabolito	
				48 h Después	No se detectó ninguna actividad en sangre.	
16	oral 200 mg/kg ciclamato-Na	perros	No reportado	-Se observó sólo Na-ciclamato sin cambios en orina a las 17 h por cromatografía.	(Sonders, 1970) ⁹³	
17	oral de 200 mg/kg/pc ¹⁴ C-ciclamato-Na	perros	97-98 %	En 4 días	(Miller, et al., 1966; 1967) ⁹³	
	oral de 1000 mg/kg/pc ¹⁴ C-ciclamato-Na	perros	orina 27 %			

Estudios en diferentes organismos de prueba para el ciclamato.

Núm.	Dosis	Efecto observado	Autor	
18	oral 200 mg/kg ciclamato (600 mg/kg x día) 3 x día x 7 días. En perros.	-A las 44 h después de la última dosis no se detectó en la sangre. -Durante el examen y 9 días después, alrededor del 40 % de la dosis administrada fue recuperada en la orina y 54 % en las heces. -A los 9 días posteriores de la última dosis, la actividad en el bazo, hígado, pulmones y páncreas fue de un total de 0.005 % de las dosis administradas	(Miller, et al., 1967) ⁹³	
19	oral 200 mg/kg 3 veces x día x 7 días, ciclamato-Na. En perros.	-En 8 días después de la última dosis se excretó del 65-97 %.	(Hood, et al., 1966) ⁹³	
		-La actividad sanguínea decayó al término de la dosis.		± 40 %
		-La actividad muscular decayó.		25 %

20	54 orales y una intraperitoneal de 1 % de ¹⁴ C-ciclamato. En ratas.	-El 77 % de la dosis marcada ¹⁴ C fue excretada en 24 h	(Hwang, 1966) ⁹³
21	intragástrica 0.0, 2.0, 4.0 g/kg/pc ciclamato-Na. Diaria x 1 mes. En perros.	-No se observaron efectos dañinos en el peso corporal, apariencia, (imagen del animal), médula, exámenes de función hepática, histología de hígado, riñón y tracto gastrointestinal	(Taylor, et al.) ⁹³
22	oral de 0.0, 0.5 y 2.0 % ciclamato-Ca. por 2 o 3 meses. En ratas.	-Aumento el consumo de alimento, sin ningún efecto adverso en el crecimiento, desarrollo óseo o actividad intestinal.	(Winberg & Harrington, 1970) ⁹²
23	oral 0.0, 0.05 y 0.5 % x 3 meses de ciclamato-Na en ratas.	-No se observó ningún efecto adverso en términos de crecimiento, ingesta de alimento, hematología en general y patología.	(Loser, 1970) ⁹²
24	oral, una al día x 9 meses de 4 g/kg/pc ciclamato-Na. En monos	-Sin cambios significativos en los exámenes: hematológicos, en enzimas del suero y en la orina. -El microscopio electrónico reveló algunas alteraciones subcelulares. -La actividad hepática y dimetilasa renal, actividades de desulfuronasa, actividad lisosomal y de utilización de oxígeno mitocondrial no se vieron afectadas, aunque se registró un ligero alargamiento de los islotes Langerhans del páncreas.	(Stein, et al., 1967) ⁹³
25	intragástrica 1x día x 11 meses de 0.5 g/kg/pc ciclamato-Na. En perros.	-No se observó algún efecto adverso en el peso, sangre, función del hígado, riñón u orina.	(Hwang & Richards, 1975)
26	intragástrica, 1 x día x 6 a la semana x 11 mes 0.0 o 0.5 g/kg/pc ciclamato-Na. En perros.	-En el mes 10 se observaron heces suaves. -No se observaron efectos adversos en el peso corporal, hemoglobina, análisis de orina, ni en la necropsia de los exámenes hepáticos y de función renal.	(Taylor, et al., 1967) ⁹³
27	oral, 1 X día x 15 meses de 0.0, 0.2, 4 % ciclamato-Na. En perros	-Las funciones del hígado y los riñones tuvieron un comportamiento normal. -Todos tuvieron un aumento en el peso. -Los exámenes realizados en orina no mostraron diferencias con respecto al grupo control. -Los exámenes generales y microscópicos de la mayoría de los órganos fueron normales.	(Richards, et al., 1971) ⁹³

Efecto laxante de ciclamato en ratas, ratones, monos, conejos y perros

Núm.	Dosis	Organismo de prueba	Efecto observado	Autor
28	³⁵ S-Ciclamato-Na	ratas, ratones monos y perros	-La acción laxante mostrada por una movilidad aislada del intestino fue atribuida al incremento de volumen líquido debido a la osmosis. -Aproximadamente el 70 % del ciclamato no absorbido permaneció en el intestino grueso y no se observaron efectos sistemáticos significativos.	(Richter, et al., 1967) ⁹³
29	oral 2 g/kg/pc de ciclamato-Na	ratas, ratones y perros	-La dosis laxante (ED ₅₀) fue de 2 g/kg en las ratas. Se registraron resultados similares en un estudio repetido en ratones, ratas y perros. -No se registraron cambios en la mucosa del intestino.	(Hwang, 1967) ⁹³
30	intravenosa 2 g/kg/pc de ciclamato-Na	ratones	-No afectó la motilidad intestinal, la frecuencia de las evacuaciones, ni su apariencia.	(Taylor, et al., 1967) ⁹³
31	oral 3 g/kg/pc de ciclamato-Na	ratas, ratones y perros	-La dosis laxante oral (ED ₅₀) fue de 3 g/kg pc en las ratas. No se registraron cambios en la mucosa del intestino. -Se registraron resultados similares en un estudio repetido en ratas, ratones y perros.	(Hwang, 1970) ¹³⁴

Observaciones en el hombre

Estudios del ciclamato en el hombre

Núm.	Dosis oral única	Vía de excreción.	Tiempo de excreción.	Autor
32	1g ciclamato-Na	-orina 70-90 % -orina 84-99 %	en 3 h en 24 h	(Shornberger, et al., 1963) ⁹³
33	300 mg ciclamato-Na	-orina 26 % -orina 80 %	en 24 h en 7 días	(Richards, et al., 1961) ⁹³
34	200 mg ¹⁴ C-ciclamato-Na	-77 % (no especificado)	en 3 días	(anónimo, 1962) ⁹³
35	1 o 5 mg ¹⁴ C-ciclamato-Na	-orina 40-48 %	en 24 h	(Kojima, et al., 1967) ⁹³
36	2 g ³⁴ S-ciclamato-Ca	-orina 31 % -heces 65.5 %	en 3-4 días	(Schoenberger, et al., 1965) ¹³⁴

Estudios del ciclamato en el hombre

Núm.	Dosis oral	Vía de excreción.	Efecto observado	Autor
37	2.0, 5.0 y 10 g en la dieta x 7 días ciclamato-Na	10 al 90 %	-Tasa de excreción diaria de entre el 10 y 90 %. -Para la dosis de 5 g, tuvo una excreción del 75 %, los residuos del ciclamato en el cuerpo fueron de 1.67 g.	(Taylor, 1954) ⁹³
38	40 mg/kg ¹⁴ C-ciclamato-Na	-orina 52 % -heces 51 % -En 4 días	-La CHA en la orina fue de 0.156 y 0.123 % del material marcado recuperado. -El análisis de dilución isotópica inversa indicó que todo el isótopo urinario había sido ciclamato sin cambio.	(Sonders & Weigand, 1967) ⁹³
	88 mg/kg C-Na	-orina 74 % -heces 25 % -En 4 días	-Los niveles máximos en sangre se encontraron en la octava hora y la primera hora para la dosis de 40 mg/kg y los niveles en sangre más altos se encontraron en la primera y sexta horas.	

Estudios del ciclamato en el hombre.

Núm.	Dosis oral	Efecto observado	Autor	
39	5 g ciclamato-Na, por 18 días	-Sin algún efecto adverso en el metabolismo del nitrógeno, calcio, fósforo, sodio y potasio. - El 37 % de la dosis fue excretada en la orina y 50-61 % en la heces	(Schoenberger, et al., 1963) ¹³⁴	
40	oral 5 g/día ciclamato, por 5 días, siendo removidos del régimen por 7 días, y posteriormente reintegrados a el estudio por otros 5 días.	-Se registró un ligero incremento en la cantidad de orina y un reblandecimiento en las heces. -No se registraron cambios de sodio y potasio en el suero y en la actividad de la fosfatasa alcalina del suero. Los exámenes sanguíneos no tuvieron cambios.	(Berndt & Calandra, 1965) ¹³⁴	
41	orales de ciclamato-Ca de 5 a 12 g, por 14-21 días	-No tuvieron ningún efecto a excepción de un ablandamiento de las deposiciones sin efecto significativo en la frecuencia del movimiento del intestino.	(Winsconsin, 1965) ¹³⁴	
42	oral por 12 semanas en 164 niños	No se registró ningún efecto en los exámenes físicos, sanguíneo, orina y ni en las funciones del hígado.	(Freese, et al., 1967) ¹³⁴	
	Niños con pc			Dosis g/día
	13 kg			0
	28 kg			1
	40 kg			1.5
55 kg	13			
43	62 pacientes con enfermedades hepáticas y renales crónicas fueron suministrados con 2 y 5 g ciclamato-Na x 6 o 6.5 meses.	Basándose en los estudios químicos clínicos, el ciclamato no afectó el progreso del paciente.	(Zöller & Schneller, 1967) ⁹³	
44	42 diabéticos, Dosis oral promedio 209 a 3107 mg/día ciclamato X 6 ó 9 meses.	-No se registraron cambios en la motilidad del intestino o síntomas gastrointestinales. -La actividad promedio del fosfatasa alcalina del suero fue más bajo y el valor promedio de azúcar en la sangre en ayunas se incrementó ligeramente. -A los 6 meses, los resultados promedios de los exámenes sanguíneos, orina y funciones del hígado no fueron diferentes de los valores de de los registrados al inicio, a excepción del fosfatasa alcalina.	(Stern, 1967) ¹³⁴	
45	Dosis oral de 5 g al día ciclamato-Ca 7½ meses	-No se reportó ningún síntoma inusual, excepto un incremento en el volumen y un reblandecimiento de deposiciones sin un incremento en el número de movimientos intestinales. -No se registró ningún efecto adverso en los sistemas hepático, renal, cardiovascular y hematopoyético.	(Schoenberg, et al., 1953) ¹³⁴	
46	Dosis oral de 2-6.5 g/kg/pc al día X 48 semanas	-No se registró algún efecto aparente en alguna de las funciones hepática, renal y de tiroides	(Radding, 1967) ¹³⁴	

Núm	Dosis	Estudios realizados	Efecto observado
47	4 grupos de 8 hombres.	-Antes de realizar y durante el del estudio. -Sangre y orina en el 2 y 8° día, luego cada 7 días.	-El único efecto adverso observado fue el reblandecimiento de las heces, lo cual ocurrió

Recibieron 0.0, 5, 10, 16 g/día de ¹⁴ C-ciclamato-Na por 213 días.	sangre	Se midió, glucosa, BUN, colesterol, Na ⁺ , K ⁺ , PBI SGPT, hemoglobina, hematocritos.	en 7 de 8 hombres que recibieron dosis de 16 g/día y 2 de 8 que recibieron dosis de 10 g/día. -Todos los sujetos que fueron administrados con ciclamato excretaron ciclohexilamina en cantidades variables en una o varias ocasiones. -El porcentaje de ciclohexilamina que apareció en la orina como ciclohexilamina libre varió en un rango de 0.25 % y 75.4 % con un valor promedio de 17.2 %. -También se observó un incremento significativo en la concentración de PBI (proteínas enlazadas con yodo) en el suero. -Esto mostró ser un efecto derivado del yodo usado para la coloración de la cápsula.
	Semen	cantidad y movilidad	
	Orina	ciclamato metabolitos	
	Heces	Consistencia, ciclamato y metabolitos	
	peso y presión sanguínea	Peso y presión sanguínea	

Núm.	Dosis orales	Efecto observado	Autor
54	3 g ciclamato-Na 1 cada 3 días	-Se registró excreción de ciclohexilamina, representado 0.8 % de la dosis administrada. - Un extensión más profunda del trabajo mostró 5 excretores con un nivel de 0.8 % de la dosis administrada, mientras un sujeto excretó 7.5 % de la dosis administrada como ciclohexilamina.	(Leahy, et al., 1967) (Huntingdon Laboratorios) ⁹³
55	Dosis oral 0.5 g ciclamato-Na 1 x 3 días	-La excreción se comenzó después de 24 h en orina y la de CHA de 3 a 4 días después en las heces. -Alrededor del 25 % convirtió más del 0.15 % del ciclamato a CHA. -La tasa de conversión máxima observada fue del 60 %. -Excreción pico ocurrió después de 3 o 4 días. -Al retirar la ingesta de ciclamato la excreción de la CHA no cayó hasta después de 2 días.	(Laboratorios de Investigación Unilever, 1970) ⁹²
56	Ciclamato	-La CHA no fue necesaria para iniciar la conversión. -Mientras las cantidades absolutas de CHA en la orina excretada dependieron de la dosis de ciclamato administrada en el hombre, la proporción convertida decreció con el incremento en las cantidades ingeridas. Esto fue demostrado en tres voluntarios. -En dos de ellos se mostró que administrándoles antibióticos se detenía la conversión a CHA, debido a la eliminación de la mayor parte de la flora bacteriana intestinal.	(Laboratorios de Investigación Unilever, 1970) ⁹²
57	3 g Ciclamato-Na X14 ó 42 días	-Todos convirtieron el ciclamato en CHA. -La excreción media fue del 2 al 8 % del ciclamato ingerido y se identificó en orina y heces. -La eliminación de la CHA se volvió constante para cada individuo en la segunda semana. Se notó una correlación positiva entre la frecuencia de constipación y los incrementos en la excreción de la CHA. -Durante el transcurso del estudio un convertidor excretó 154 mg de CHA por día, después de la ingestión de 1 gr de ciclamato y también se notó que podía excretar 88 % del ciclamato ingerido en orina y heces.	(Davis, et al., 1969) ⁹²
58	Oral en 1000 humanos	-La conversión metabólica del ciclamato a ciclohexilamina ha sido estudiada de manera extensa en alrededor de 1000 seres humanos. -Se encontró que la excreción urinaria de la CHA era extremadamente variable de un individuo a otro y fluctuaba considerablemente día con día. -La incidencia de los sujetos que convierten ciclamato en CHA parece ser de entre el 10 y el 30 % de la población examinada. -La tasa de conversión de ciclamato ingerido en CHA en la mayoría de los convertidores va de menos del 0.1% a alrededor del 8 %. -Un número relativamente pequeño de individuos puede convertir más del 60 % del ciclamato ingerido a ciclohexilamina	(Asahina, et al., 1971, 1972; Collings, 1971; Davis, et al., 1969; Golberg, et al., 1969; Ichibagase, et al., 1972; Leahy, et al., 1966, 1967; Litchfield and Swan, 1971; Oser, et al., 1968; Pawan, 1970; Saunders, 1967, 1968; Saunders and Wiegand, 1967, 1968a, 1968b; Saunders, et al., 1967; Renwick and Williams, 1972; Williams, 1971; Wills, et al., 1968) ⁹⁴
59	Dosis oral 5 g y 1 g ciclamato	-Varios estudios indican que la conversión de ciclamato a ciclohexilamina estuvo inversamente relacionada a las dosis de	(Asahina, et al., 1971, 1972; Collings, 1971; Davis, et al.,

		ciclamato. Cuando aplicó una ingesta de 5.0 gr de ciclamato se obtuvo una tasa de conversión del 0.6 %, mientras que cuando se aplicó una ingesta de 1 gr se obtuvo una tasa de 13.4 %.	1969; Golberg, et al., 1969; Ichibagase et al., 1972; Leahy, et al., 1966, 1967; Litchfield and Swan, 1971; Oser, et al., 1968; Pawan, 1970; Saunders, 1967, 1968; Saunders and Wiegand, 1967, 1968a, 1968b; Saunders, et al., 1967; Renwick and Williams, 1972; Williams, 1971; Wills et al., 1968) ⁹⁴
--	--	---	--

BUN, (nitrógeno de urea en sangre), PBI (proteínas enlazadas con yodo), SGPT, (suero glutámico-pirúvico transaminasa)

Autor:(Wills, et al., 1981)⁹⁵

Vía intravenosa en el hombre

Núm.	Dosis	Tiempo de Excreción	Autor
48	vía intravenosa 1g ³⁵ S-ciclamato-Na	-La orina indicó que la excreción se realizó por filtración glomerular y tubular. No se registraron efectos metabólicos en general.	Schoenberger, et al., 1963) ⁹³
49	vía intravenosa 1g ciclamato-Ca	-Fueron toleradas sin efectos tóxicos.	(Schoenberger, et al., 1963) ¹³⁴

Estudios de conversión del ciclamato a ciclohexilamina (CHA)

Núm.	Dosis oral	Organismo de prueba	Efecto observado	Autor
50	De ciclamato, Variadas dependiendo la especie	Animales de laboratorio	<ul style="list-style-type: none"> - La excreción de (CHA) se inició hasta 4 días posteriores al tratamiento. -La concentración encontrada de ciclohexilamina en la orina fluctuaron marcadamente, con una variabilidad día con día. -Por ejemplo, Saunders y Wiegand reportaron que una rata alimentada con una dieta con 5 % de ciclamato excretó una cantidad máxima de 81 mg de CHA en la orina el día 29 de la prueba, mientras que el día 34 fue excretado el 0.1 mg de CHA. -Oser clasificó a las ratas en altas, bajas y cero convertidoras de ciclamato a ciclohexilamina, basándose en los niveles de ciclohexilamina en la orina recolectada durante las 27 semanas del estudio. - Las muestras subsecuentes de orina recolectadas por 2.5 meses después mostraron cambios marcados en la conversión de ciclamato a ciclohexilamina. -Un animal previamente clasificado como cero convertor se volvió un alto convertor. -De forma similar, se encontró que un grupo de cerdos con una dieta que contenía 0.1 % de ciclamato, también que los altos niveles de ciclohexilamina en la orina fueron frecuentemente precedidos por un bajo nivel de excreción de ciclohexilamina, a pesar de la administración continua de ciclamato. 	(Saunders y Wiegand, 1967 Oser, et al., 1968 Collings, 1971) ⁹⁴
51	Ciclamato	perros, cerdos de guinea, conejos y simios.	-La ciclohexilamina también se ha encontrado en la orina de los perros, en cerdos de guinea, conejos y simios después de dietas con ciclamato.	(Renwick y and Williams, 1972; Goldberg, et al., 1969; Asahina, et al., 1972; Ichibagase, et al., 1972; Parekh, et al., 1970) ⁹⁴ .
52	ciclamato-Na	Humanos, perros, conejos	<ul style="list-style-type: none"> -Los humanos y los perros, más no los conejos, excretaron ciclohexilamina después de dosis orales de 1-3 g de ciclamato de sodio. No se detectaron glucuronatos. -El 7 % de la dosis oral es excretada como ciclohexilamina en humanos, mientras que en perros solo se detectaron rastros. 	(Kojima & Ichibagase, 1966) ⁹³
53	Ciclamato-Na	Ratas	- Excretaron ciclohexilamina en su orina.	(Leahy, et al.1966) ⁹³

Conversión ciclamato a ciclohexilamina (CHA) en humanos Estudios de atrofia testicular

Estudios realizados en ratas y ratones

Núm.	Dosis	Efecto observado	Autor
60	Oral de 0 o 0.5 % CHA	- En 6 generaciones de ratones. -Ligero decremento en el tamaño de la camada. -Ligero decremento en peso y sobrevivencia de los ratones de la camada en todas las generaciones. -El peso corporal y el consumo de alimento por parte de la madre se redujeron debido al tratamiento de la ciclohexilamina y esto pudo haber contribuido en los efectos embriotóxicos. -El estudio peri natal indicó que la ciclohexilamina redujo significativamente el número de lugares de implantación en todas las generaciones a excepción de una. -No se observó la aparición de tumores de vejiga en 300 animales. -La incidencia de atrofia testicular en los machos tratados con ciclohexilamina fue similar a la incidencia en los machos del control.	(Kroes, et al., 1975.) ⁹⁴
61	Oral de 0.0, 300,1000 y 3000 ppm CHA-HCl por 80 semanas	-En los ratones no se registraron efectos adversos en: la salud en general, comportamiento, peso corporal, consumo de agua o alimento, hematología o aparición de tumores. -Sin embargo, se registraron algunos cambios histológicos menores del hígado en el nivel de 3000 ppm.	(Hardy, et al., 1976) ⁹⁵
62	Dosis oral 0.0, 2000, 6000 ppm CHA-HCl (CHA-HCl ciclohexilamina hidrociorada) por 104 semanas	- En las ratas se registró un decremento en el peso corporal relacionado con la dosis, consumo de alimento e ingesta de agua. -Se redujeron las concentraciones de hemoglobina en las hembras suministradas con 6000 ppm (0.6 %) durante las primeras 52 semanas del estudio. No hubo ningún efecto posterior en el estudio o en los machos. -Se redujo el conteo total de leucocitos en los machos después de las 104 semanas. -Se redujeron significativamente las concentraciones de urea en la sangre en los machos, en todos los niveles de dosis, mientras las concentraciones de albúmina en el suero fue decreciendo en los 2 niveles más altos de dosis. -En el nivel de 6000 ppm, la orina excretada fue menor. -El peso relativo del hígado, bazo y riñones en los machos alimentados con un nivel de 6000 ppm fue más bajo que valor de los controles y los pesos relativos de las tiroides en las hembras se redujo en los niveles de 2000 y 6000 ppm. -No se registró la aparición de efectos tumorigénicos en ningún nivel del tratamiento. -Se registraron cambios testiculares, como atrofia en los túbulos con pocos espermátides iniciales, en las ratas administradas con 2000 y 6000 ppm. -Otros cambios, más allá de los efectos histológicos observados en los testículos, fueron considerados explicables desde el punto de vista de los cambios resultantes de una baja en el peso corporal y una reducción en el consumo de alimento. -El nivel que no causó efecto fue de 600 ppm en base en los efectos en los testículos.	(Gaunt, et al., 1976) ⁹⁵
63	0.0, 0.03, 0.1 ó 0.3% CHA oral X 80 semana. En ratones	-No se observó ningún cambio testicular.	(Crampton, 1973) ⁹⁴
64	oral de CHA por 13 semanas 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 o 1 %. En ratas	-Se registró una reducción en los pesos de los testículos y del peso corporal ganado en los niveles de 0.5 y 1 %. -Se registró una disminución en el consumo de alimentos en los grupos tratados con 0.2, 0.5 y 1.0 % de ciclohexilamina. - En la dieta de 1.0 %, se registró un incremento significativo en la incidencia de cambios histológicos en los testículos (degeneración tubular). -En los niveles que no hubo efecto en los registros de cambios en testiculos fue en los menores al 0.5 % de ciclohexilamina en la dieta.	(Collings y Kirkby, et al., 1974) ⁹⁴
65	oral de CHA por 0, 0.06, 0.2, y 0.6% 13 o 24 meses	-Se observó un decremento significativo en los pesos testiculares en los grupos de 0.2 y 0.6 %. Estos grupos también mostraron un decremento significativo en el peso corporal ganado y el consumo de alimento. -Se observó un incremento en la incidencia de cambios testiculares al nivel de 0.6 % de ciclohexilamina en ambos estudios, con un incremento cuestionable en la incidencia en el nivel de 0.2 % en el estudio de 13 semanas.	(Gaunt, et al., 1974), (Crampton, 1973) ⁹⁴
66	oral 0.6% de CHA por 10 meses	-Mostraron índices de fertilidad normales cuando fueron examinadas sus capacidades reproductivas. -Se sugirió que el nivel que no causa efecto fue el del 0.2 %	(anónimo) ⁹⁴
67	Oral 0, 0.06, 0.1, 0.2 y 0.6% de CHA	-Se observó un incremento significativo en los efectos testiculares (decremento en la espermatogénesis) en un 0.6 %. -Se sugirió que el nivel que no causa efecto es del 0.2 %.	(Crampton 1975) ⁹⁴

68	Oral CHA por 24 meses 0,0, 15, 50, 100 y 150 mg/kg pc/día	-Se observó una tendencia decreciente en la ingesta de alimento, peso corporal, así como del peso absoluto y relativo de los testículos relacionado con la dosis. Sin embargo, el peso testicular no fue significativamente diferente del de los controles. -Los cambios histopatológicos en los testículos de los animales tratados no fueron significativamente diferentes al de los controles.	(Oser, et al., 1972) ⁹⁴
69	Oral CHA 0, 0.15, 1.5 y 15 mg/kg pc/día X 24 meses	-Reportó que la ingesta de alimento, peso corporal obtenido, el peso e histopatología de los testículos de los animales tratados no eran comparables con los de los controles.	(Calandra, et al., 1969) ⁹⁴

5.1.2 Discusión

En los estudios evaluados por JECFA tanto en animales de laboratorio como en el hombre se ha investigado la absorción y la excreción del ciclamato, administrado principalmente por dos vías, la oral y la intravenosa. Por esta última es rápidamente distribuido en todo el cuerpo, mientras que por vía oral se distribuye más lentamente. En ambos casos el ciclamato muestra una eliminación incompleta en la orina y heces, independientemente de la vía por la cual sea suministrado. Algunos autores también observaron un cambio en las deposiciones (frecuencia, menor consistencia) y en el intestino observaron una mayor motilidad.

Williams R.T, en 1959, observó que el ciclamato es absorbido parcialmente en el intestino y posteriormente es eliminado sin alteración en la orina y las heces. Otros autores, además de Kojima y H. Ichibagase, demostraron que el ciclamato es retenido en el tracto digestivo (específicamente en el intestino grueso) donde después de un periodo aproximadamente de tres días era transformado por la acción de la microflora, obteniéndose un metabolito: la ciclohexilamina (CHA). Este metabolito fue encontrado en la orina y en las heces. Otros estudios llevados a cabo por Renwick sugirieron que la conversión del ciclamato en cada organismo de prueba se debe a diferentes tipos de bacterias responsables, en mayor grado, de esta transformación: clostridium (en la rata), enterobacterias (en el conejo) y enterococos (en el hombre). Por lo tanto, la conversión quedó demostrada por diversos autores que también observaron que ésta se lleva a cabo en ratas, ratones, cerdos de guinea, conejos, monos, cerdos, perros y humanos.^{95, 87, 92, 106}

Se puede observar que no existe un patrón de conversión para los diferentes niveles de dosis y los individuos capaces de formar cantidades significativas de ciclohexilamina son pocos.

Se ha estimado que sólo el 3 % de la población convierte más del 20 % de una dosis de ciclamato a ciclohexilamina. Pero las personas que pueden transformar el 60 % o más de la dosis se aproximan a un término medio a la máxima conversión posible, debido a que solamente el ciclamato no absorbido puede ser transformado. Esto sucede solo para aproximadamente el 2 % de la población.^{99, 104, 97, 92}

Por otra parte, los estudios llevados a cabo con ciclohexilamina (CHA) determinaron que, en contraste con el ciclamato, la ciclohexilamina es absorbida rápida y completamente en el tracto gastrointestinal e incluso en el intestino grueso, donde es formada. La vida media de la ciclohexilamina en el plasma de los seres humanos es dependiente de la dosis, la cual fue de 3.5 horas con una dosis oral de 2.5 mg/kg y de 4.8 horas con una dosis de 10 mg/kg.^{91, 105, 93, 91}

Sin embargo, la preocupación acerca de la seguridad de los ciclamatos continuó después de las observaciones en las que algunos animales de experimentación presentaron diferencias en el peso y tamaño de los testículos. Además, hubo una diferencia en el tamaño de la camada cuando se aplicaron dosis de ciclohexilamina. Para descartar las sospechas, en 2003 L. Serra-Majem junto con otros investigadores realizaron estudios por dos años en humanos, mientras el SCF, por su parte, en el año 2000 también realizó un estudio de fertilidad con los trabajadores involucrados en la manufactura del ciclamato.^{100, 139}

El estudio L. Serra-Majem utilizó hombres entre los 30 y 50 años de los cuales 405 eran casos clínicos definidos como infértiles y se utilizaron 379 individuos de control (quienes asistieron a la misma clínica para una vasectomía). Todos los sujetos proporcionaron una muestra de orina cada 24 horas y se recolectaron muestras de semen con 2 a 7 días de abstencionismo de coito, durante un periodo de dos años. La ingesta del ciclamato se estimó de 0.63 mg/kg pc/día. La excreción de ciclamato en orina fue de 0.19 y 0.22 mg/kg pc/día en casos y controles, respectivamente. La ciclohexilamina se detectó en la orina en un 13 % en los casos y 12 % en los controles y los valores promedio de excreción de ciclohexilamina en los casos y los controles fueron de 0.035 y 0.053 mg/kg pc/día, respectivamente. Los análisis

y el conteo de espermatozoides se determinaron de acuerdo con el método de la OMS. La vitalidad de los espermias se realizó por tres años. Para el final del estudio, el promedio de número de embarazos fue de 0.3 (0.0 %) para los casos y para los controles de 2.3 (2.0 %). De los resultados de este estudio concluyeron que la ingesta de ciclamato y su metabolito, la ciclohexilamina, no afecta la fertilidad en los niveles a los que el ciclamato se consume en España.¹³⁹

En lo que respecta al estudio llevado a cabo por la SCF donde se evaluaron trabajadores involucrados en la manufactura del ciclamato, cuatro de ellos tuvieron una exposición alta y directa a la ciclohexilamina por alrededor de 20 años y uno tuvo una exposición directa y alta a la ciclohexilamina por 2 años. Del total del grupo, sólo uno manifestó un conteo normal de esperma y una movilidad de los espermatozoides acorde al criterio de la OMS. Los cinco trabajadores mostraron un conteo de esperma, una movilidad de espermatozoides y un rendimiento reproductivo similar a los de otros trabajadores sin exposición directa a la ciclohexilamina. De forma similar, 10 trabajadores con un registro de ciclohexilamina por excreción urinaria de 0.12–1.45 mg/kg/día tuvieron resultados comparables al de los trabajadores con un bajo registro de excreción de ciclohexilamina. La SCF concluyó que, debido a que los trabajadores forman parte de un grupo particularmente anormal tanto por su bajo conteo de espermias como por la baja movilidad de estos, la aparente alta influencia de la ciclohexilamina en los cuatro trabajadores expuestos bajo estos parámetros es difícil de interpretar, por lo que estos resultados no pueden ser extrapolados a la población saludable en general. Además, agregó que este estudio es de poca significación para la evaluación del ciclamato debido a que la información epidemiológica no revela ningún efecto en los parámetros de reproducción para el humano, ni en las cantidades en las cuales el ciclamato es usado como aditivo de alimentos, así como en la conversión de ciclamato a ciclohexilamina.

5.1.3 Conclusión

La inocuidad del ciclamato aún es un asunto inconcluso debido, principalmente, a la discrepancia de opiniones en torno a la ciclohexilamina, su posible contribución en la atrofia testicular y su posible actividad carcinogénica. Otra de las preocupaciones es que existe variabilidad en la conversión de los convertidores, tanto mujeres como hombres, de diferentes intervalos de edad.

5.1.4 Datos otorgados por JECFA de Toxicidad aguda para la CHA

Animal	Vía	DL ₅₀ (mg/kg pc)	Referencia	
Ratones	oral	10,000-12,000	Richards, et al., 1951	
		11,000	Abbott Laboratories, 1966	
		17,000	Taylor, et al., 1967	
			1,525	Mollet, 1966
	intravenosa	4,000	Richards, et al., 1951	
		4,800	Taylor, et al., 1967	
	intraperitoneal	10,000 – 12,000	Fitzhugh, et al., 1951	
			7,100	Taylor, et al., 1967
	Ratas	oral	12,000	Richards, et al., 1951
17,500			Taylor, et al., 1967	
intravenosa		3,000 – 4,000	Richards, et al., 1951	
		3,500	Taylor et al., 1967	
intraperitoneal		6,000	Taylor, et al., 1967	

5.1 5 IDA establecida por JECFA para el ciclamato

Con base en todos los estudios presentados y evaluados por JECFA para el ciclamato, sus sales de sodio y calcio, y la ciclohexilamina; el Comité ha permitido asignar una IDA para el ser humano.

Evaluación

Nivel en el que no causa efecto tóxico.

Ratas: 100 mg/kg pc en la dieta.

IDA estimada para el hombre*:

0-11 mg/kg pc como sales de calcio y sodio, expresadas como ácido ciclámico.

* Cálculo de la IDA

- 1) Aproximadamente 37 % del ciclamato es absorbido, del cual el 63 % queda disponible para su conversión en CHA por acción de la flora intestinal.
- 2) El ciclamato absorbido no es metabolizado.
- 3) Tasa de conversión humana de ciclamato a ciclohexilamina 30 %

$$\frac{\text{Peso molecular ciclamato}}{\text{Peso molecular de la ciclohexilamina}} = 2$$

- 4) Nivel de ineffectividad para la ciclohexilamina = 100 mg/kg pc

5) Nivel de ineffectividad para el ciclamato

$$x = \frac{100 \times 2}{0.63 \times 0.3} = \frac{200}{0.189} = 1058$$

6) IDA para el ciclamato = $\frac{\text{NOAEL}}{\text{Factor de Seguridad}} = \frac{1058}{100} = \text{IDA de 0-11mg/kg pc/día.}$

5.1.5.1 IDA establecida por la CSF de la Unión Europea

El Comité Científico de Alimentos (SCF) de la Unión Europea, revisó nuevamente el ciclamato en 1988, 1991, 1995 y 2000. El SCF en 1995 evaluó la información resultado de diferentes estudios epidemiológicos y concluyó que la ciclohexilamina es metabolizada en forma similar a como se metaboliza en el hombre. Por otro lado, informó que no era posible establecer un claro NOAEL de los estudios en primates. Después de examinar la nueva información disponible, el SCF concluyó en el año 2000 que la incertidumbre aún existía y confirmó la NOAEL para la ciclohexilamina en las ratas de 100 mg / kg de peso corporal como la base para la IDA.

El Comité estableció que:

— La IDA máxima para el ciclamato se efectuaría con un NOAEL de 100 mg/kg pc para ciclohexilamina.

—Teniendo en cuenta la diferencia de peso molecular entre ácido ciclámico y la ciclohexilamina, usando una tasa de conversión global del 85 % para el ciclamato ingerido y aplicando un factor de seguridad de 32, era posible determinar una IDA máxima de 0-7 mg/kg/pc, expresado como ácido ciclámico, para el ácido ciclámico y sus sales sódicas y cálcicas.^{100, 81}

5.1.5.2 IDA establecida en los Estados Unidos

En los Estados Unidos, se ha concluido que el ciclamato, en sí mismo, no es tóxico. Sin embargo, su metabolito la ciclohexilamina es promotora de inducir cáncer y, por lo tanto, el uso de este edulcorante está prohibido.

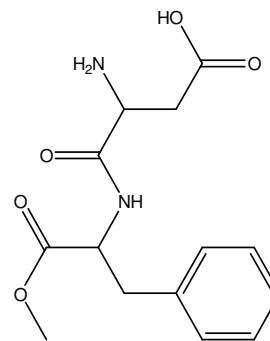
Aspartame

5.2 Generalidades del Aspartame

Después del ciclamato, tuvieron que pasar tres décadas para que se descubriera, por accidente, el aspartame. En 1965, el químico James Schlatter de la Searle & Company trabajaba en la búsqueda de fármacos para el tratamiento de la úlcera gástrica sintetizando el tetrapéptido terminal de la gastrina (hormona que promueve la secreción del jugo gástrico). James, al agitar la mezcla del matraz que contenía el compuesto, salpicó accidentalmente un poco de éste en sus dedos y al humedecerse el dedo para darle vuelta a una hoja de papel, notó un sabor dulce.

El aspartame está formado por dos aminoácidos: el ácido aspártico y la fenilalanina, conocidos como ester metílico del L-aspartil-L-fenilalanina. Se puede obtener por síntesis química, aunque este método tenga desventajas como: bajos rendimientos, la presencia de isómeros α y β del aspartame y su costo más elevado. Sin embargo, los métodos actuales de obtención están basados en la biotecnología, por medio de síntesis enzimática, lo que ha originado una disminución en su precio.^{12, 13, 49}

El aspartame tiene un peso molecular de 294 g/mol y su fórmula condensada es $C_{14}H_{18}N_2O_5$. Es un polvo blanco cristalino, inodoro, con un punto de fusión de 246-247 °C, con un poder edulcorante 120-220 veces más dulce con respecto a la sacarosa, (135 veces más dulce con respecto a una solución de sacarosa al 10 %).^{24, 12} Presenta un leve resabio amargo cuando se usa en altas concentraciones, sin embargo, se usa en muy bajas concentraciones y, por lo tanto, se considera que no deja resabio alguno.^{11, 13, 16}



Aspartame

Su estabilidad en disoluciones acuosas se reporta en un intervalo de pH de 3 a 5 (este pH lo tienen la mayoría de los alimentos), aunque su estabilidad óptima se reporta a un pH de 4.3. En un pH de 3 o menor se produce por hidrólisis ácido aspártico, fenilalanina y metanol, siendo inestable después de 36 días degradándose del 50-60 % y se hidroliza completamente en 9 días en pH de 7. Esta inestabilidad química es la responsable de una

pérdida parcial del sabor dulce en los alimentos en ciertas condiciones de tratamiento y almacenamiento.^{49, 24}

En su punto isoeléctrico (pI) de 5.2, es poco soluble en agua, pero aumenta a pH ácido o básico. Su solubilidad depende del pH y la temperatura. Se considera como poco soluble en agua y moderadamente soluble en etanol e insoluble en grasas o aceites.^{16, 49}

Se utiliza en bebidas carbonatadas, productos en polvo para bebidas, yogurt, caramelos y productos de confitería. Su estabilidad es excelente en aplicaciones para productos secos (en tabletas, pastillas, polvos para preparar bebidas). Soporta los procesos de pasteurización (como los usados en productos lácteos y jugos), procesos asépticos y otros en los cuales las condiciones de temperatura alta se lleven a cabo por corto tiempo. En la actualidad, se estima que el aspartame es usado en aproximadamente 6 000 diferentes productos en todo el mundo.^{13, 16, 49}

Las mezclas de aspartame con otros edulcorantes como el acesulfame, el ciclamato, la sacarina, la glucosa y la sacarosa, son sinérgicas y tienen la ventaja de reducir los costos de producción. También es considerado como no cariogénico.^{13, 16}

El aspartame está disponible en forma líquida, granulada, encapsulada y en polvo, a fin ampliar su uso en alimentos y bebidas. La forma encapsulada ha hecho que el aspartame tenga mayor estabilidad térmica, con lo que ha empezado a utilizarse en algunos productos horneados. En el mercado es conocido como Nutra sweet®, Equal®, Canderel® y en los Países Bajos como Sanecta®.¹⁶

De acuerdo al régimen calórico, el aspartame contribuye con el mismo aporte calórico que el de una proteína (4 kcal/g), pero el nivel de uso tan bajo hace que éste sea básicamente no calórico.^{24, 21}

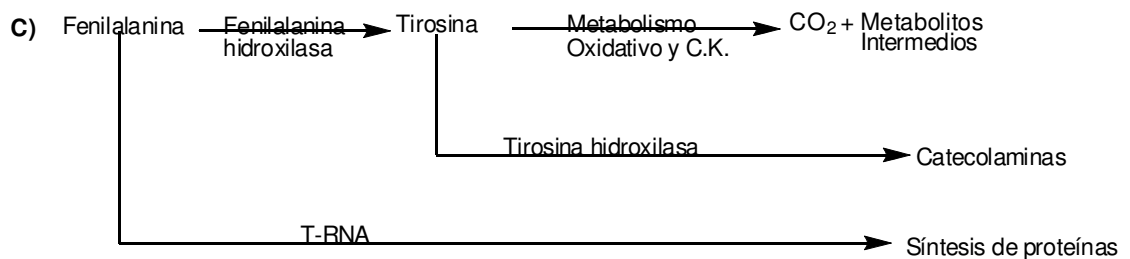
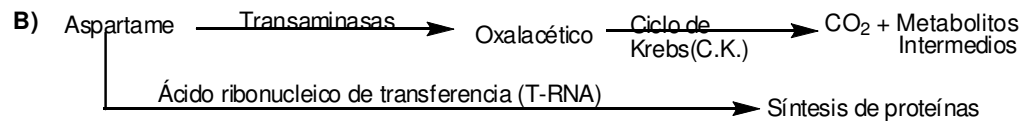
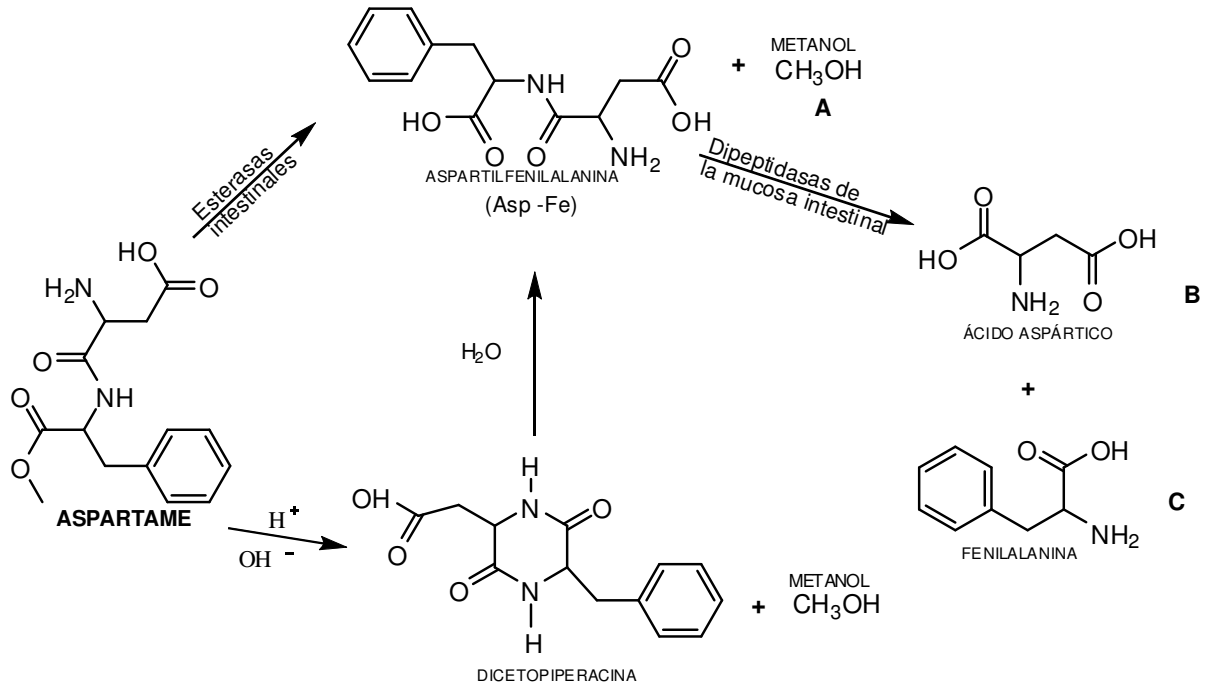
Claves otorgadas por diversos organismos a nivel mundial.³

Aspartame

CAS No.:	2238-47-0
INS No.:	951
EEC No.:	951
JECFA No.:	951

5.2.1 Estudios de trayectoria metabólica

Principales productos de conversión del aspartame.^{64, 49,77}



DESCOMPOSICIÓN DEL ASPARTAME EN DISOLUCIÓN



JECFA evaluó por primera vez el aspartame en 1975, en aquel tiempo representó un problema especial la presencia del producto de conversión 5-benzil-3,6-dioxo-2-piperazina (la dicetopiperazina, DCP) y, por lo tanto, no se asignó una IDA para el hombre. En 1977, JECFA tuvo evidencia de que el problema con la dicetopiperazina no era de mayor importancia y concluyó que la seguridad del aspartame había sido adecuadamente demostrada. El Comité se preparó para establecer una IDA para el hombre y aplazó su decisión hasta que la información toxicológica fuera validada (OMS, 1978). En 1979, se presentó a JECFA la validación de los datos toxicológicos y aceptó su aprobación. (OMS, 1980).³¹

A continuación se presentan los resúmenes principales de los estudios del metabolismo del aspartame examinados por JECFA para la aprobación.

Núm. 1

Dosis oral en ratones	Vía de excreción.	Efecto observado
20 mg/kg/pc X 6 días y 1 dosis ¹⁴ C-aspartame	1.0-3.7 % orina 4.4-7.5 % heces	-Entre el 4.5 y el 8.18 % de la dosis fue excretada dentro de los primeros 30 minutos. -Solo pequeñas cantidades de ¹⁴ C fueron excretadas en la orina (menos del 1 – 3.7 %) alcanzando un nivel máximo de excreción durante las primeras 7 o 24 h.

Autor: (anónimo, 1972b)³¹

Núm. 2

Dosis oral en ratones	Realización de exámenes de plasma	Efecto observado
20 mg/kg/pc X 6 días y una dosis marcada de ¹⁴ C-aspartame	0.5, 1, 2, 3, 6, y 24 h posteriores a la última dosificación.	-Los niveles de ¹⁴ C en el plasma mostraron pequeños cambios durante los periodos de 0.5 y 24 h, pero fueron ligeramente más altas en el período de las 3 primeras horas. -La separación cromatográfica del ¹⁴ C en el suero mostró que el ¹⁴ C fue incorporado dentro de los componentes del plasma que migran de manera lenta. -La hidrólisis ácida del plasma dio lugar a registros altos de tirosina y fenilalanina.

Autor: (anónimo, 1972b)³¹

Núm. 3

Dosis oral en conejos.	Realización de exámenes de plasma	Efecto observado
20 mg/kg/día X 5 días y 1 dosis de ¹⁴ C-aspartame	0.5, 1, 2, 3, 6, y 24 h posteriores a la última dosificación.	El ¹⁴ C acumulado en la orina durante las 96 horas posteriores al período de dosificación estuvo en el rango de 3.5 y 6.0 % con un nivel de excreción máxima de 2.6 a 5.9 % de la dosis. -El nivel de concentración de ¹⁴ C fue bajo, alcanzando un máximo a las 3 horas posteriores a las dosis y después permaneció relativamente constante a lo largo del estudio. -La separación cromatográfica del ¹⁴ C en el plasma indicó un componente simple en el plasma hidrolizado y la presencia de fenilalanina y tirosina marcados con ¹⁴ C en el plasma hidrolizado.

Autor:(anónimo, 1972)³¹

Núm. 4

Dosis oral x 1 mesen en ratones	Efecto observado
0.0, 3.0, 5.0 y 13.0 mg/kg/día. aspartame	-No se observó ninguna diferencia en términos físicos de comportamiento o motrices relacionados con las dosis entre los controles y los grupos de prueba. -Tampoco se observó ningún efecto evidente en términos de peso corporal o consumo de alimento. -Durante la necropsia, la mucosa del estómago, yeyuno y duodeno de los animales alimentados con altas dosis

	estaban cubiertas con un fluido claro moderadamente viscoso.
--	--

Autor: (Rao, et al., 1972b)³¹

Núm. 5

Dosis oral x 1 mes en ratas	Efecto observado
0.0, 2.0, 4.0 y 10.0 mg(kg/día aspartame	-No se registró ningún efecto adverso físico o en el comportamiento en los animales tratados. -El decremento en el peso corporal registrado en los animales alimentados con dosis altas no fue significativo. -Durante la necropsia no se registró ninguna otra alteración general relacionada con el tratamiento excepto por una capa gruesa de material claro y viscoso en la mucosa del estómago, yeyuno y duodeno, en las dosis más altas.

Autor: (Rao, et al., 1972c)³¹

Núm. 6

Dosis oral x 2 mes en ratas	Efecto observado
0, 5 y 1 250 mg/kg/día Aspartame	-No se registró ningún efecto relacionado con los compuestos en términos de apariencia física general, comportamiento, apariencia general del ojo, pesos corporales promedio, consumo de alimento y análisis de orina. -Los resultados hematológicos estuvieron dentro de los límites normales. -Se encontró que el incremento en los niveles de glucosa en la sangre estaba relacionado con la dosis. -Se registró un decremento en la albúmina del suero y particularmente el SGOT (suero glutámico-oxalocético transaminasa) de las ratas machos. -La patología microscópica y la general, no revelaron ninguna evidencia de lesiones relacionadas con el compuesto.

Autor: (anónimo, 1969a)³¹

Núm. 7

Dosis oral x 2 mes en perros	Efecto observado
0.0, 5 o 125 mg/Kg aspartame	-No se observaron cambios en relación a: los pesos corporales, el consumo de alimento, en los exámenes hematológicos, bioquímicos, de orina y oftalmológicos. -Se registraron pequeños incrementos relacionados con la dosis en el peso testicular. -Se registró un incremento en los pesos del corazón, riñón y las glándulas suprarrenales en proporción con el peso corporal en ambos grupos de prueba. Sin embargo este incremento no se relacionó con el tratamiento. - La necropsia general y la evaluación microscópica de los tejidos no revelaron ninguna evidencia de efectos relacionados con los componentes.

Autor: (anónimo, 1969a)³¹

Núm. 8

Dosis oral x 110 semanas en ratones	Efecto observado
0.0, 1 000, 2 000 y 4 000 mg/kg/día aspartame	- Los resultados hematológicos, a pesar de mostrar una incidencia esporádica de diferencias estadísticamente significantes entre los controles y los animales de prueba, no dieron ninguna indicación de estar relacionados con el compuesto de alguna forma. - Al final se registraron incrementos en los pesos de los órganos con respecto en la proporción del peso de los órganos con relación al peso corporal. Entre los órganos afectados se encuentran la tiroides, el corazón y la próstata. La distribución y la incidencia no indicaron relación alguna con el compuesto. - La patología microscópica reportada no indicó la presencia de tumores.

Autor: (anónimo, 1974d)³¹

Núm. 9

Dosis oral x 104 semanas en ratas	Efecto observado
0.0, 1 000, 2 000, 4 000 u 8 000 mg/kg/día aspartame	- No se obtuvo ninguna evidencia de algún efecto relacionado con el compuesto en términos de apariencia física. - No se registraron efectos en el crecimiento y consumo de alimento en los 2 niveles más bajos de dosis, estos parámetros descendieron ligeramente a los 4 000 mg/kg/día y decrecieron marcadamente a los 8 000 mg/kg/día. - Sin embargo, se observaron astrocitomas en todos los animales tratados, mientras no se registró ninguno en los controles. La incidencia de tumores cerebrales encontrada se describe a continuación.

Astrocitomas (tumores en cerebro) en ratas de acuerdo al nivel de dosificación

Tumores	Control	1 000 mg/kg/día	2 000 mg/kg/día	4 000 mg/kg/día	8 000 mg/kg/día

Astrocitomas	0	4	1	4	1
Oligodendroglioma	0	0	0	1	0

Autor: (Mc Connell, 1973, Hazleton Labs, 1973 y anónimo, 1973c)³¹

Observaciones en humanos

No. 10 Hombres y mujeres saludables (entre 21 y 45 años)

Núm.	Dosis oral de aspartame	Estudios realizados		Efecto observado
10 a	Se incrementó en la 1 ^{ra} semana 0.6g/día alcanzando en la 6 ^{ta} 8.1 g/día y la cantidad total consumida por c/u 160.7 g. Por 6 semanas	1 semana antes del estudio	-Sangre, orina, tromboplastina parcial, tiempo de protrombina, urea, tiroxina, bilirrubina (directa e indirecta), SGOT (suero glutámico oxaloacético transaminasa), fenilpirúvico, fosfatasa alcalina, ácido úrico, creatinina, colesterol y triglicéridos.	-No se reportó ninguna diferencia significativa entre los grupos del aspartame y los del placebo en ninguno de los exámenes.
		En las semanas 4 y 6	-Sangre, orina, tromboplastina parcial, tiempo de protrombina, urea, tiroxina, bilirrubina (directa e indirecta), SGOT, fosfatasa alcalina, ácido úrico, creatinina, colesterol total, y triglicéridos. -Las determinaciones del metanol se hicieron a través de muestras de suero y orina.	
		En las semanas 3, 6 y 7	-Los niveles de glucosa e insulina en el suero se determinaron después de un ayuno de 4 horas y de nueva cuenta después de darle al sujeto una dosis oral de 100 g de glucosa.	
		2 veces por semana	-Los valores de fenilalanina y tirosina en el suero se determinaron a través de muestras de sangre durante las 4 horas posteriores al ayuno.	
		3, 5 y 7 semanas	-Se realizaron pruebas de fenilalanina en la orina. -También se llevaron a cabo exámenes físicos generales con estudios oculares.	
10 b	1.8 g/día Por 21 semanas	En las semanas 6,12,20 y21	-Sangre, orina, tromboplastina parcial, tiempo de protrombina, urea, tiroxina, bilirrubina (directa e indirecta), SGOT, fosfatasa alcalina, ácido úrico, creatinina, colesterol y triglicéridos.	- Los exámenes no mostraron ninguna diferencia clínicamente significativa entre los grupos de aspartame y de placebo en ambos sexos.
		En las semanas 6, 12, 16, 20 y 21	-Los niveles de glucosa e insulina en el suero se determinaron después de un ayuno de 4 horas y de nueva cuenta después de darle al sujeto una dosis oral de 100 g de glucosa. -Los valores de fenilalanina y tirosina en el suero se determinaron a través de muestras de sangre durante las 4 horas posteriores al ayuno.	

Autores (Langlois & Frey, 1972a)³¹

No. 11 Hombres y mujeres obesos (entre 21-70 años)

Cuyos pesos excedían más del 20 % del peso normal medio en base a la altura, sexo, constitución física y edad, con relación a las tablas de control de peso de Nueva York.

Núm.	Dosis oral de aspartame o placebo	Estudios realizados		Efecto observado
11 a	Se incrementó en la 1 ^{ra} semana 0.6g/día alcanzando en la 6 ^{ta} 8.1g/día y la cantidad total consumida por c/u 160.7g.	una semana antes del estudio	-Sangre, orina, tromboplastina parcial, tiempo de protrombina, urea, tiroxina, bilirrubina (directa e indirecta), SGOT, fenilpirúvico, fosfatasa alcalina, ácido úrico, creatinina, colesterol y triglicéridos.	- No se reportó ninguna diferencia significativa entre los grupos del aspartame y los del placebo en ninguno de los exámenes.
		En las Semanas 4 y 6	-Sangre, orina, tromboplastina parcial, tiempo de protrombina, urea, tiroxina, bilirrubina (directa e indirecta), SGOT, fosfatasa alcalina, ácido úrico, creatinina, colesterol y triglicéridos. -Las determinaciones del metanol se hicieron a través de muestras de suero y orina.	
		En las Semanas 3, 6 y 7	-Los niveles de glucosa e insulina en el suero se determinaron después de un ayuno de 4 horas y de nueva cuenta después de darle al sujeto una dosis oral de 100 g de glucosa.	

	Por 6 semanas	2 veces por semana	-Los valores de fenilalanina y tirosina en el suero se determinaron a través de muestras de sangre durante las 4 horas posteriores al ayuno.	
		En las Semanas 3, 5 y 7	-Se realizaron pruebas de fenilalanina en la orina.	
		-También se llevaron a cabo exámenes físicos generales con estudios oculares. -Se monitorearon el peso y la presión arterial a lo largo del estudio.		
11 b	1.8 g/día Por 21 semanas	En semanas 6,12,20 y 21	- Sangre, orina, tromboplastina parcial, tiempo de protrombina, urea, tiroxina, bilirrubina (directa e indirecta), SGOT (suero glutámico oxaloacético transaminasa), fosfatasa alcalina, ácido úrico, creatinina, colesterol y triglicéridos.	- Los exámenes no mostraron ninguna diferencia clínicamente significativa entre los grupos de aspartame y de placebo en ambos sexos.
		En semanas 6, 12, 16, 20 y 21	-Los niveles de glucosa e insulina en el suero se determinaron después de un ayuno de 4 horas y de nueva cuenta después de darle al sujeto una dosis oral de 100 g de glucosa. -Los valores de fenilalanina y tirosina en el suero se determinaron a través de muestras de sangre durante las 4 horas posteriores al ayuno.	

Autores:(Hoffman, et al., 1972; Hoffman & Romano, 1973)³¹

Núm. 12. Hombres y mujeres diabéticos dependientes de insulina (entre 21-70 años)

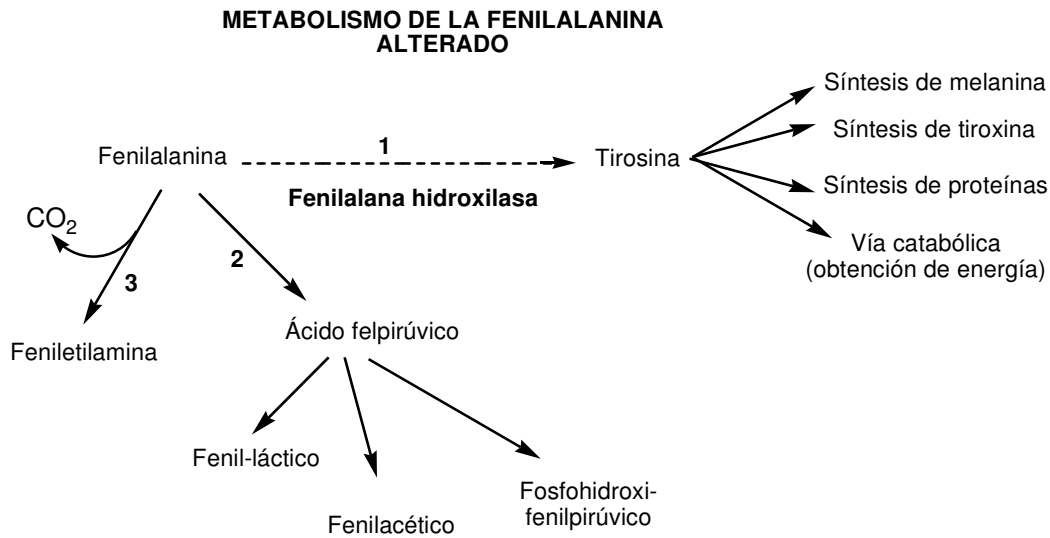
Dosis oral.	Estudios realizados		Efecto observado
1.8g Por 21 semanas. aspartame o placebo.	1 semana antes del estudio	-Cuento completo de glóbulos, tiempo de tromboplastina parcial, tiempo de coagulación, urea, creatinina, bilirrubina (se requirió que estos valores estuvieran dentro de los rangos normales). Además, se realizaron los siguientes exámenes adicionales: SGOT (suero glutámico-oxaloacético transaminasa), SGPT (suero glutámico-pirúvico tansaminasa) LDH (lactato deshidrogenasa), fosfatasa alcalina, glucosa, ácido úrico, colesterol y triglicéridos.	- No hubo evidencia de que el aspartame o el placebo sufrieran cambios consistentes en la cantidad de azúcar dietética en la sangre o cualquier otro parámetro medido en este estudio.
	21 semanas	-Cuento completo de glóbulos, tiempo de tromboplastina parcial, tiempo de coagulación, urea, creatinina, bilirrubina. Además, se realizaron los siguientes exámenes adicionales: SGOT (suero glutámico-oxaloacético transaminasa), SGPT (suero glutámico-pirúvico tansaminasa) LDH (lactato deshidrogenasa), fosfatasa alcalina, glucosa, ácido úrico, colesterol y triglicéridos.	

Autores:(Bleicher & Stern, 1973)³¹

5.2.1.1 Fenilalanina y aspartato

La fenilalanina es un aminoácido neutro, aromático. Los mamíferos no lo pueden sintetizar y lo deben obtener de la dieta, esto lo hace un aminoácido esencial.

La fenilalanina puede seguir diferentes vías metabólicas en el organismo, pero la transformación más relevante es su conversión en el aminoácido tirosina, reacción irreversible catalizada por la **fenilalanina hidroxilasa** hepática.



Cifras normales de fenilalanina en suero de recién nacidos: hasta 3,4mg/dL

Figura. 6

Cuando la fenilalanina hidroxilasa está ausente (reacción 1), promueve la estimulación de la enzima fenilalanina aminotransferasa (reacción 2) y la descarboxilación de la fenilalanina para formar feniletilamina, (reacción 3). Estas vías catabólicas secundarias permiten que la fenilalanina sea convertida por transmutación en ácido fenilpirúvico, el cual es reducido a ácido fenil-láctico, o formarse, por descarboxilación, en ácido fenilacético que, por conjugación, origina la fenilacetilglutamina. Finalmente, la fenilalanina puede convertirse también en ácido alfa-hidroxifenilacético. Estos compuestos son metabolitos normales, aunque en cantidades anormales.

En un ambiente químico no usual constituido por concentraciones elevadas de fenilalanina y sus metabolitos acumulados en la sangre y otros tejidos del cuerpo causa una alteración en los neurotransmisores llamada fenilcetonuria o PKU (del inglés "phenylketonuria"). En los últimos años, se le ha prestado mayor atención a este problema debido a que conduce a un retraso mental irreversible si no se diagnostica y se trata precozmente. La mayoría de los pacientes con esta afección tienen un coeficiente intelectual menor de 20. Es un trastorno hereditario que se presenta en alrededor de 10 de cada 100 000 niños nacidos vivos.

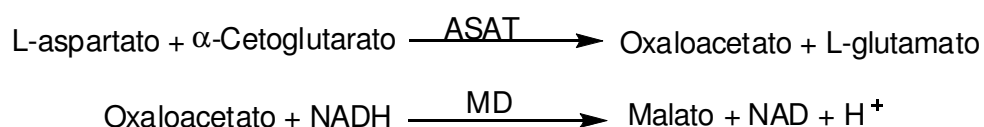
La PKU se hereda cuando ambos padres tienen el gen de la PKU y lo transmiten a su hijo que será considerado "homocigoto" para esta enfermedad. Cuando uno de los padres tiene el gen de la PKU pero no padece la enfermedad, se dice que es "heterocigoto". Un portador

tiene un gen normal y un gen con PKU en cada célula. La salud de los portadores heterocigotos no sufre efecto alguno por la presencia de este gen. Sin embargo, cuando ambos padres son heterocigotos, la probabilidad de que ambos transfieran el gen de la PKU a su hijo, haciendo que este nazca homocigoto, es de una entre cuatro (25%). Dos de cada cuatro bebés heredan el gen de la PKU de uno de sus padres y el gen normal del otro, convirtiéndolos en un portador como sus padres. También hay una probabilidad de una entre cuatro de que cada uno de ellos le transfiera un gen normal y de que el niño no tenga la enfermedad ni sea portador. Estas probabilidades son iguales durante todos los embarazos.

Aspartato

El aspartato es un aminoácido con una estructura similar al glutamato. Ambos son neurotransmisores (estimuladores en el sistema nervioso central) y existen reportes de que al ser administrados periféricamente en muy altas dosis, pueden inducir daño neuronal en los hipotálamos de los roedores. Debido a esto, recientemente ha crecido la preocupación para determinar las cantidades de aspartato que, al irse al torrente sanguíneo, puede provocar dicho efecto.

La aspartato aminotransferasa (ASAT) cataliza la interconversión de los aminoácidos L-aspartato y L-glutamato a través de la transferencia de grupos amino. El esquema general de la reacción catalizada por la ASAT se muestra a continuación:



Aunque el equilibrio en el pH fisiológico humano de la reacción de la ASAT favorece la formación de aspartato, *in vivo*, la reacción se inclina a la derecha para producir glutamato con el fin de que sirva de fuente de nitrógeno en el ciclo de la urea.

Estudios de fenilalanina y aspartato, JECFA

Núm. 13

Dosis oral x 9 semanas en ratas	Exámenes realizados	Efecto observado
aspartame (100:9 peso/peso) o una dieta basal con fenilalanina (100:5 peso/peso).	SGPT(suero glutámico-pirúvico transaminasa) [] Ca ⁺⁺ y Cl ⁻ en plasma, análisis de orina, peso de los órganos, patología	-Tanto el grupo alimentado con el aspartame como con fenilalanina mostraron reducciones similares en su crecimiento (11 %) y en el consumo de alimento (20 %). -Los machos tratados con aspartame mostraron un SGPT (suero glutámico-pirúvico tansaminasa) y valores de Ca ⁺⁺ y Cl ⁻ en plasma significativamente más bajos. -No se observó ningún efecto relacionado con el tratamiento en los resultados

	microscópica. Análisis físicos y control de peso.	hematológicos, análisis de orina, peso de los órganos y patología microscópica general.
--	---	---

Autor: (Hemm, et al., 1972)³¹

Núm.14 Organismo de prueba monos

Dosis oral x día x 9 meses	Condiciones del estudio	Exámenes realizados	Efecto observado
-1, 2, 3 g/kg/pc de aspartame. -Los controles fórmula para infantes o la fórmula más 1.65 g/kg pc de fenilalanina	-Tanto la fórmula como el agua estuvieron disponibles <i>ad libitum</i> . -A todos los animales se les monitoreo la ingesta de la fórmula y del agua, su peso y crecimiento. - De todos los monos se tomaron muestras de sangre de las venas saphenous (venas que corren por la pierna) a los 2, 4, 6, 8, y 9 meses del estudio, después de una dieta de 4 horas.	-Electrolitos en el suero, osmolaridad, CBF (Flujo sanguíneo cerebral, glucosa y contenido de aminoácidos en el plasma). -Se analizó periódicamente el pH de la orina, se practicaron exámenes físico-químicos de sangre, exámenes de proteínas, glucosa, cetónicos, bilirrubina y fenilos. -Una vez al mes se evaluaron los aspectos del desarrollo físico, donde se incluyó una revisión vocal. Además, la habilidad para vocalizar, estado de alerta, docilidad y conducta general. -Se realizaron electroencefalogramas.	-Los grupos de 3 g/kg APM (aspartame) y 1.65 g/kg de fenilalanina tuvieron las proporciones más altas de agua y consumo de la fórmula. -Todos los grupos de control y tratamiento tuvieron un crecimiento proporcional similar. -Los índices sanguíneos, los análisis de orina y los encefalogramas estuvieron dentro de los límites normales para todos los monos durante y después del estudio. -No se observó ninguna diferencia significativa en los niveles de glutamato o aspartato en el plasma entre los grupos de animales.

Autor: (anónimo, 1972b)³¹

NIVELES DE FENILALANINA Y APM EN EL PLASMA

Tratamiento y dosis	µmol/dl ± d.s.
1 g/kg pc	APM 8.8 ± 5.15
2 g/kg pc	APM 28.7 ± 4.8
3 g/kg pc	APM 66.2 ± 8.3
1.65 g/kg pc	PHE 54.4 ± 6.5
Ninguna	5.49 ± 1.49

Observaciones en humanos

Núm. 15 Hombre y mujer SALUDABLES (de 12 y 15 años, respectivamente)

Dosis oral	Condiciones del estudio	Análisis realizados	Efecto observado
-Una de 34 µg/kg pc de aspartame en jugo de naranja y a la 2da. semana fueron suministrados con una cantidad equivalente molecularmente de L- fenilalanina (19 µg/kg) en jugo de naranja.	-Se les prescribió una dieta estándar para cada uno de los 3 periodos de 24 horas antes del suministro de la fenilalanina y del aspartame y para cada uno de los 3 periodos de 24 horas posteriores al suministro de las dosis. -Se tomaron muestras de orina para los 3 periodos de 3 horas sucesivas antes de cada dosis y a las 8, 16 y 24 horas posteriores a las dosis.	-Los análisis de orina se realizaron por cromatografía para aminoácidos (fenilalanina y tirocina), ácidos fenólicos, ácido fenilpirúvico, fenilcetilglutamina y metanol. -Los niveles de fenilalanina y tirosina en el suero se determinaron antes de las dosis y a las 1, 2, 4, 8, 24, 48 y 72 horas posteriores de la dosis.	-Todos los parámetros estudiados permanecieron normales durante el periodo de prueba.

Autor:(Koch & Shaw, 1973)³¹

Num. 16 Hombres y mujeres (no obesos entre 21 y 45 años) heterocigotos

Núm.	Dosis oral de aspartame	Estudios realizados		Efecto observado
16a	Se incrementó en la 1 ^{ra} semana 0.6g/día alcanzando en la 6 ^a 8.1g/día y la cantidad total consumida por c/u 160.7g. Por 6 semanas	1 semana antes del estudio	-Sangre, orina, tromboplastina parcial, tiempo de protrombina, urea, tiroxina, bilirrubina, SGOT (suero glutámico oxaloacético transaminasa), fenilpirúvico, fosfatasa alcalina, ácido úrico, creatinina, colesterol y triglicéridos.	-No hubo cambios físicos o bioquímicos significativos durante el curso del estudio tanto el grupo de aspartame como en el grupo del placebo. -No se encontró evidencia de que el contenido de fenilalanina del aspartame causara algún disturbio en el metabolismo de la fenilalanina aparentemente normal.
		En las semanas 4 y 6	Sangre, orina, tromboplastina parcial, tiempo de protrombina, urea, tiroxina, bilirrubina, SGOT (suero glutámico oxaloacético transaminasa), fosfatasa alcalina, ácido úrico, creatinina, colesterol y triglicéridos. -Las determinaciones del metanol se hicieron a través de muestras de suero y orina.	
		En las semanas 3, 6 y 7	-Los niveles de glucosa e insulina en el suero se determinaron después de un ayuno de 4 horas y, de nueva cuenta, después de darle al sujeto una dosis oral de 100 g de glucosa.	
		2 veces por semana	-Los valores de fenilalanina y tirosina en el suero se determinaron a través de muestras de sangre durante las 4 horas posteriores al ayuno.	
		En semanas 3, 5 y 7	-Se realizaron exámenes en orina para detectar la fenilalanina.	
		-También se llevaron a cabo exámenes físicos generales con estudios oculares. -Se practicaron también electroencefalogramas a los sujetos, antes y después del estudio.		
16 b	1.8g/día Por 21 semanas	En las semanas 6, 12, 20 y 21	-sangre, orina, tromboplastina parcial, tiempo de protrombina, urea, tiroxina, bilirrubina SGOT (suero glutámico oxaloacético transaminasa), fosfatasa alcalina, ácido úrico, creatinina, colesterol y triglicéridos.	
		En semanas 6, 12, 16, 20 y 21.	-Los niveles de glucosa e insulina en el suero se determinaron después de un ayuno de 4 horas y de nueva cuenta después de darle al sujeto una dosis oral de 100 g de glucosa. -Los valores de fenilalanina y tirosina en el suero se determinaron a través de muestras de sangre durante las 4 horas posteriores al ayuno. -Se practicaron también electroencefalogramas a los sujetos, antes y después del estudio.	

Autor:(Koch, et al., 1972; 1973)³¹

Núm. 17 Mujeres Fenilcetonúricas (PKU)

Dosis oral única	Efecto observado
Aspartame 100 mg/kg pc en jugo de naranja	Los niveles de aspartato y fenilalanina en el plasma fueron normales. (Ver tabla)

NIVELES EN DE ASPARTATO Y FENILALANINA EN EL PLASMA

Tiempo (h)	0	0.5	1.0	1.5	2.0	3.0	4.0
aspartato (µmol/dl)	0.5 ± 0.3	0.8 ± 0.6	0.5 ± 0.3	0.6 ± 0.5	0.4 ± 0.3	0.5 ± 0.3	0.4 ± 0.3
fenilalanina (µmol/dl)	7.0 ± 0.7	36 ± 7.6	37 ± 8.0	42 ± 2.3	32 ± 5.3	24 ± 3.2	17 ± 2.7

Autor: (Stegink, et al., 1979f)

Núm. 18 Mujeres y hombres heterocigotos y mujeres normales

Dosis oral única	Análisis realizados	Efecto observado
Aspartame de 34 mg/kg pc	Los niveles de aminoácidos en los eritrocitos y el plasma	-No se detectaron cambios en los niveles de aspartato tanto en el plasma como en los eritrocitos a las ocho horas posteriores a la dosis en ambos grupos. -En los sujetos normales se registró un incremento en los niveles de fenilalanina en el plasma de los valores dietéticos ($5.66 \pm 1.21 \mu\text{M}/100 \text{ ml}$) a niveles post-prandiales ($11.11 \pm 2.49 \mu\text{M}/100 \text{ ml}$) y volvieron a acercarse a los niveles iniciales a las 8 horas posteriores a la dosificación.

		<p>-En los fenilcetonúricos, los niveles promedio más altos de fenilalanina en el plasma fueron $16.03 \pm 2.25 \mu\text{M}/100 \text{ ml}$ y la curva de concentración fue más amplia con el paso del tiempo. Sin embargo, los niveles máximos de fenilalanina en el plasma en este grupo fueron ligeramente superiores a los valores post-prandiales de los sujetos normales.</p> <p>-Los niveles de fenilalanina en los eritrocitos mostraron ser similares, pero con patrones de cambio más pequeños.</p>
--	--	--

Autor: (Stegink, et al., 1978)³¹

Núm. 19 Dos niños fenilcetonúricos (homocigotos) de aproximadamente 14 años

Dosis oral		Condiciones del estudio	Análisis realizados	Efecto observado
Niño (1)	Una dosis 34 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pc de aspartame en jugo de naranja y dos semanas más tarde fueron suministrados con una cantidad molecularmente equivalente de L-fenilalanina (19 $\mu\text{g}/\text{kg}$) en jugo de naranja.	<p>-El sujeto uno estuvo bajo una dieta permitida de 70 mg/kg/día de fenilalanina.</p> <p>-El sujeto dos estuvo bajo una dieta bien controlada (con un contenido casi nulo de fenilalanina y balanceada para los aminoácidos esenciales).</p>	<p>-Se tomaron muestras de orina en intervalos de 8 horas el día anterior al suministro, luego en intervalos de 8 horas para el primer día posterior al suministro, y luego se tomaron muestras en la mañana durante el 2° y el 3° día subsecuentes.</p> <p>-Las muestras de orina a las que se les practicó análisis para aminoácidos (fenilalanina y tirosina), ácidos fenólicos, ácido fenilpirúvico y fenilacetilglutamina.</p> <p>-Los niveles de fenilalanina y tirosina en el suero se determinaron antes y a las 1, 2, 4, 8, 24, 48 y 72 horas posteriores al suministro.</p>	<p>-El sujeto (1) con la dieta permitida se encontró dentro de los rangos establecidos para la fenilalanina durante la aplicación del estudio. El sujeto (2) que excedió las limitaciones de su dieta (ingesta dietética 965 mg, adicional de la aplicación, 1072 mg), tuvo aumento en la fenilalanina.</p> <p>- En el momento del estudio, el paciente (1) excretó grandes cantidades de fenilalanina, de tal forma que no pudo observarse ligeros cambios de fenilalanina.</p> <p>-El sujeto (2) mostró un ligero incremento de fenilalanina excretada vía orina y sus metabolitos. El análisis del suero no mostró ningún incremento significativo en los niveles de fenilalanina o tirosina.</p>
Niño (2)	34 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pc de aspartame en jugo de naranja y dos semanas más tarde fueron suministrados con una cantidad molecularmente equivalente de L-fenilalanina (19 $\mu\text{g}/\text{kg}$) en jugo de naranja.	<p>-Se prescribió una dieta estándar consistente con el estado clínico de los dos sujetos 3 días antes y 3 días después del suministro de las dosis.</p>		

Autor: (Koch, 1972)³¹

Núm. 20 Sujetos normales y sujetos heterocigotos

Dosis oral	Condiciones de los estudios y exámenes realizados	Efecto observado
34 mg/kg de aspartame	<p>-La dosis la recibieron en ayunas.</p> <p>-Los controles fueron mujeres saludables entre 20 y 28 años.</p> <p>Las madres heterocigotas fenilcetonúricas fueron seleccionadas para coincidir con la edad de las controles.</p> <p>-Se tomaron muestras de sangre vía intravenosa a las 0.0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, y 8 horas después de la ingestión y fueron analizadas para determinar la cantidad de aminoácidos en el plasma y en los eritrocitos.</p>	<p>La información acerca de los sujetos normales reveló que los niveles de fenilalanina en los eritrocitos y el plasma permanecieron dentro del rango normal.</p> <p>-Los valores para los heterocigotos en los fenilcetonúricos fueron más altos que en los controles pero estuvieron generalmente dentro del rango considerado normal.</p> <p>-Los valores picos ocurrieron entre las 0.5 y las 2 horas para todos los aminoácidos analizados.</p>

Autor: (Koch & Blascovics, 1978)¹¹⁸

Núm. 21 Hombres y mujeres (saludables) y mujeres fenilcetonúricas heterocigóticas

Dosis oral	Análisis realizados	Efecto observado
100 mg/kg/pc de aspartame disuelto en 500 ml de jugo de naranja	<p>-Los niveles de aminoácidos en eritrocitos y el plasma fueron medidos a las 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 horas después la dosis.</p>	<p>-Los niveles de aspartato en el plasma no fueron significativamente afectados en ningún grupo.</p> <p>-De manera similar, los niveles de glutamato, asparagina y glutamina (los cuales se derivan fácilmente del aspartato) se mostraron principalmente sin cambio.</p> <p>-Los niveles de fenilalanina en el plasma fueron significativamente incrementados después de la dosis de aspartame en ambos grupos. Los niveles máximos promedio de fenilalanina observados en sujetos normales fueron aproximadamente de 20 a 30 $\mu\text{M}/\text{dl}$ a los 90 minutos después de la dosis, mientras aquellos registrados por los sujetos heterocigotos fenilcetonúricos fueron 2 veces más grandes, alcanzando niveles de 36.5 $\mu\text{M}/\text{dl}$ a los 30 minutos y de 42 $\mu\text{M}/\text{dl}$ a los 90 minutos.</p> <p>-Los niveles de tirocina en el plasma se incrementaron en ambos grupos después de la dosis y se registraron niveles más altos en sujetos normales. Esto fue previsto debido a que los sujetos fenilcetonúricos heterocigotos tienen una menor habilidad a convertir la fenilalanina a tirocina. Los</p>

		niveles aminoácidos en los heterocitos continuaron el mismo patrón que el reportado en el plasma.
--	--	---

Autor: (Stegink et al., 1978)¹¹⁸

5.2.1.2 Estudios con dicetopiperacina (DCP)

Núm. 22

Dosis oral única en ratas	Efecto observado
Una solución acuosa de 0.5 ml con DCP con ¹⁴ C aspartame (10 mg/animal).	<ul style="list-style-type: none"> - Las muestras de sangre fueron tomadas a las 2, 3 y 4 horas posteriores a la dosificación. -A las 4 horas posteriores a la dosificación, los animales fueron sacrificados y el tracto gastrointestinal fue extraído y seccionado en intestino delgado y grueso. -La mayor parte de la dosis administrada estaba presente en el colon (40-50 %) y en el estómago (8-18 %). Menos del 5 % estaba presente en el intestino delgado. Sólo algunos rastros de ¹⁴C fueron detectados en el plasma (<0.1 % de la dosis administrada). -La separación del plasma con técnicas cromatográficas indicó la presencia de varios componentes.

Autor (anónimo, 1972a)³¹

Núm. 24 Organismo de prueba, ratas

Organismo de prueba	Dosis oral única	Efecto observado
Ratas	10 mg/animal ¹⁴ C-DCP	<ul style="list-style-type: none"> -La orina fue recolectada por 18 días y las muestras de sangre fueron tomadas por 4 días más posteriores a la dosificación. -Alrededor del 25 % de la dosis fue excretada durante las primeras 24 horas y en cantidades más pequeñas a lo largo del periodo de prueba (la excreción acumulada fue menor al 30 % de la dosis administrada). -Los niveles de ¹⁴C en el plasma fueron bajos, pero hubo una respuesta bifásica.

Autor: (anónimo, 1972a)³¹

Núm. 25

Dosis subcutánea o intraperitoneal, única en ratones.	Efecto observado
aspartame o DCP en niveles de 0.0, 5, 20, 40, 80 y 320 mg/kg.	<ul style="list-style-type: none"> -Se llevaron a cabo observaciones y pruebas antes de la administración del compuesto y a las 0.5, 1, 2, 3 y 4 horas después del tratamiento. -El comportamiento espontáneo obtenido fue medido para cada ratón y se llevaron a cabo exámenes para medir la pérdida de capacidad motriz, observando el comportamiento del ratón por 30 segundos cuando fue puesto en una varilla horizontal. -Ni el aspartame ni la dicetopiperacina provocaron excitación o depresión en ningún nivel de dosis. -Se observó una ligera pérdida en la capacidad locomotora en el caso del aspartame administrado intraperitonealmente en los niveles de 40, 80 y 320 mg/kg. - Se reportaron observaciones similares para la dicetopiperacina en dosis intraperitoneales de 5–320 mg/kg y subcutáneas de 40 y 320 mg/kg.

Autor: (anónimo, 1972).³¹

Núm. 26

Dosis intragástrica, única en ratas	Efecto observado
DCP y el aspartame 100 mg/Kg	-El aspartame y la dicetopiperacina no tuvieron algún efecto en el nivel de la glucosa de la sangre.

Autor: (anónimo, 1972i)³¹

Núm. 27

Dosis oral x 6 días en ratas	Toma de muestras de sangre	Efecto observado
3:1 ¹⁴ C- aspartame/DCP 27 mg/kg pc por 5 días y el 6° día después de un ayuno recibieron la misma	0.5, 1, 2, 3, 6 y 24 h posteriores a la dosificación.	<ul style="list-style-type: none"> -La excreción fue del 1.6 y 3.1 % para el ¹⁴C del total de la dosis. -Los niveles más altos de ¹⁴C en la sangre fueron alcanzados en 3 o 4 horas y mostraron poco cambio durante el desarrollo del estudio -El máximo nivel fue estimado en 0.7 % de la dosis administrada. -Ni el aspartame ni la DCP fueron detectados en el plasma a las 0.5 horas -En los siguientes intervalos de tiempo y a lo largo de 24 h, los mayores componentes del ¹⁴C

dosis.		en proteínas del suero hidrolizado estuvieron presentes como fenilalanina o su metabolito tirosina.
--------	--	---

Autor: (anónimo, 1972)³¹

Núm. 28

Dosis oral x 5 semanas en ratas	Efecto observado
0, 1 000, 2 000, 4 000 y 6 000 mg/kg/día de DCP.	<ul style="list-style-type: none"> -No ocurrió ninguna muerte. -No se observó ninguna variación en los pesos corporales o en el consumo de alimento. -Los pesos corporales absolutos y el consumo de alimento decrecieron al nivel de la dosis más alta, siendo este un efecto estadísticamente significativo para las hembras. -No se registró ningún efecto adverso físico o de comportamiento durante el tratamiento. -Tampoco se registraron lesiones oculares en los exámenes oftalmológicos que se realizaron al final. -La química hematológica, no indicó ninguna variación consistente relacionada con el tratamiento. -No se registró ningún efecto relacionado con la dosis en términos de los pesos de los órganos, excepto por el decremento en el peso de los corazones de los machos, esto fue estadísticamente significativo sólo a altos niveles de dosis pero no se relacionó para el nivel de 1 000 mg/kg/día. -Otras observaciones patológicas microscópicas visibles no fueron indicativas de efectos relacionados con los compuestos.

Autor: (Rao, et al., 1972a)³¹

Núm. 29

Dosis oral X 104 semanas en ratas	Efecto observado
0, 1, 2, y 4 g/kg/día de aspartame en polvo o 4 g/kg/día de aspartame y dicetopiperacina en polvo en proporción de 3:1.	<ul style="list-style-type: none"> -Los estudios se realizaron en las semanas 26, 52 y 104. - Se detectó un incremento significativo en la gravedad específica urinaria y un decremento en el pH de la orina en los grupos de 4 g/kg de aspartame y 4 g/kg de aspartame más dicetopiperacina. -La excreción de calcio en la orina fue bajando tanto en los machos como en las hembras de 2 y 4 g/kg de aspartame y 4 g/kg de aspartame más dicetopiperacina a lo largo del estudio. -Los pesos relativos de los riñones se incrementaron a altas dosis en ambos sexos a las 26 y 52 semanas. -La histopatología de los riñones registró una alta incidencia de más del 95 % de nefropatía crónica en todos los grupos incluyendo el control. -La incidencia de nefrocalcinosis, incluyendo mineralización metastásica, medular y pélvica parece tener una mayor incidencia en las hembras de los grupos tratados con aspartame cuando se comparó con el grupo de control. La incidencia espontánea de las nefrocalcinosis en los controles fue relativamente alta, particularmente en las hembras.

La incidencia de tumores cerebrales en este estudio se reportó por separado. No fueron detectados tumores cerebrales a las 26 y 52 semanas. La incidencia de tumores cerebrales en las ratas expuestas al material de prueba por más de un año fue:

INCIDENCIA DE TUMORES CEREBRALES

Dosis	Porcentaje de incidencia	Tiempo al que se presentó
0.0g/kg	1/119 (0.8 %)	1 astrocitoma hembra atípica en la 99° semana.
1 g/kg	1/119 (0.8 %)	1 oligodendroglioma macho en la 75° semana.
2 g/kg	2/120 (1.7 %)	1 astrocitoma hembra y un ependimoma hembra al término del sacrificio.
4 g/kg	1/120 (0.8 %)	1 astrocitoma macho a la 93° semana.
4 g/kg	1/120 (0.8 %)	1 oligodendroglioma hembra (APM más DCP) a la 51° semana.

Autor: (Ishii, 1981)¹¹⁸

Núm. 30

Dosis oral x 110 semanas en ratones.	Órganos estudiados	Efecto observado
250, 500 y 1 000 mg/kg/día de dicetopiperacina	<ul style="list-style-type: none"> - Ojos - Sangre - Tiroides. 	<ul style="list-style-type: none"> -No se reportó ninguna evidencia de algún efecto inducido por los compuestos, en términos de apariencia y comportamiento, así como en peso corporal ganado, consumo de alimento o lesiones en los ojos. -Los exámenes sanguíneos estuvieron dentro de lo normal. -Los resultados de la química clínica no sugirieron ningún efecto relacionado con el compuesto. -En los grupos intermedios y de alto nivel de dosis, el peso de la tiroides con respecto al peso

		corporal en las hembras fueron significativamente altos comparados con el de los controles. -La patología general y microscópica no sugirió ningún cambio tumoral, los cuales pudieran ser atribuibles a la alimentación de dicetopiperacina.
--	--	--

Autor: (anónimo, 1974c)³¹

Núm. 31

Dosis oral x 115 semanas en ratas.	Efecto observado
DCP 750, 1 500 y 3 000 mg/kg/día	<ul style="list-style-type: none"> -No se registró ningún efecto en el comportamiento o en la apariencia. -No hubo evidencia de que los componentes hayan producido algún efecto en términos de sobrevivencia. -Se observó en ambos sexos un patrón consistente en un decremento en el peso corporal ganado relacionado con la dosis. Esto fue estadísticamente significativo como se muestra.(abajo) -Se identificó un patrón estadísticamente significativo y bastante consistente en el incremento en el consumo de alimento para machos dosificados con altos niveles. -Se observó un incremento en el consumo de alimento para las hembras dosificadas con altos niveles solamente durante el segundo año de experimentación. -Fueron esporádicas las ingestas de alimento más bajas que difirieran significativamente de los valores obtenidos de los controles. -Los hallazgos químicos clínicos se vieron igualmente libres de efectos de los compuestos, a excepción de un decremento estadísticamente significativo en el colesterol del suero, el cual fue persistente en los grupos dosificados con un alto nivel. -Los hallazgos en los exámenes de orina no fueron importantes, más allá de una caída significativa en el pH, la cual fue persistente en los grupos de hembras de altos niveles y esporádico en otros grupos. -Los hallazgos oftalmológicos tampoco ayudaron a descubrir alguna evidencia de cambios relacionados con los compuestos. -Durante la necropsia, los hallazgos relacionados con los pesos de los órganos no fueron importantes. -La patología general y microscópica no indicó la presencia de cambios tumorales o no tumorales, los cuales podrían ser atribuibles a la administración de dicetopiperacina, excepto por una dosis relacionada con incrementar los polipos en el útero, cuyo número se incrementó significativamente en los controles tanto de los grupos intermedios como de los de alta dosis.

Autor: (Rao, et al., 1974)³¹

Semanas de pérdida de peso corporal		
Dosis (mg/kg/día) X 115 semanas	Semanas	
	Machos	Hembras
3000	2-100	16-Terminación
1500	24-64	27-84
750	24-68	No significativa

Observaciones en humanos

Num. 32 Hombres (entre 25 y 55 años)

Dosis oral única	Efecto observado
DCP 100 mg	<ul style="list-style-type: none"> -Los niveles máximos de ¹⁴C-DCP fueron observados en el plasma 1 h después de la dosificación. -El segundo registro más alto fue observado a las 12 h posteriores a la dosificación. -El nivel de ¹⁴C- DCP en plasma estimado a la hora fue de 70 µg/l. La vida promedio del ¹⁴C en la primera fase fue de alrededor de 2 horas y de 20 horas en la segunda fase. -El ¹⁴C-DCP estuvo presente en la orina durante las 4 horas posteriores a la dosificación. Al final de los 3 días, ningún rastro en la orina de ¹⁴C-DCP fue excretado. Un promedio de 48.3 % del ¹⁴C-DCP administrado fue excretado durante este periodo. -El análisis de los compuestos del ¹⁴C-DCP presente en las muestras acumuladas en 3 días mostró que alrededor del 12 % estaba en la forma de ¹⁴C-dicetopiperacina sin cambio y el 29 % en la forma de fenilacetilglutamina. Además, hubo otros componentes con el ¹⁴C. -En un estudio posterior la fenilacetilglutamina fue identificada como el mayor metabolito de la dicetopiperacina en el hombre.

Autor: (anónimo, 1974a)³¹

5.2.2 Discusión

El Comité examinó el aspartame en diversas reuniones donde se evaluaron varios estudios en animales y en el hombre. Se encontró que el aspartame alcanza su tasa de eliminación máxima durante las primeras 24 horas y es, principalmente, excretado en la orina y las heces. Sin embargo, la dosis suministrada no es eliminada en su totalidad tanto en el hombre como en los animales de laboratorio. La mayor actividad en sangre se encontró a las tres horas posteriores a la dosificación. Por otro lado, no hubo efectos físicos o comportamientos adversos en los animales de laboratorio. En la patología microscópica de tejidos y órganos no se hallaron evidencias de lesiones graves relacionadas con el compuesto. En los exámenes de sangre se detectó la presencia fenilalanina y tirosina.

Algunos autores encontraron astrocitomas en el cerebro y polípos uterinos en ratas que fueron sometidas a diferentes niveles de dosificación. El Comité planteó estas cuestiones con la relación que podría tener con la administración de la impureza dicetopiperacina. En estudios ulteriores practicados por tres grupos independientes de patólogos se consideró que no existía esa relación.

El aspartame suele contener aproximadamente 1 % de la impureza dicetopiperacina. Además, el aspartame presente en los alimentos preparados puede convertirse en dicetopiperacina. En los estudios toxicológicos con dicetopiperacina efectuados durante dos años en ratas para determinar la dosis carente de efectos tóxicos de esta sustancia resultó ser de 750 mg/kg; a partir de este dato el Comité dio por demostrada la inocuidad del aspartame y se dispuso a establecer una IDA. No obstante, el aspartame se ha visto cuestionado por la afirmación de que durante su metabolismo se producen aspartato y metanol, sustancias consideradas tóxicas para el hombre. Se ha encontrado que en la ruta metabólica del aspartame sí se producen estas sustancias, pero la cantidad es tan baja que resulta no ser tóxica. Esto ha sido comprobado por estudios más recientes llevados a cabo por diferentes autores y se ha observado que el aspartame en el intestino está sujeto a la acción de las esterasas y peptidasas que liberan metanol, L-aspartil-L-fenilalanina, fenilalanina y aspartato. Por lo tanto, en el intestino, el aspartame está sujeto a los mismos procesos fisiológicos de digestión y transporte como cualquier otra proteína ingerida.^{125, 8, 82}

Sin embargo, cuando el edulcorante fue aprobado para su uso en refrescos en 1982 en los EU, el tema se concentró en el hecho de que tal uso pudiera inducir a una elevada ingesta de aspartame en la población. El resultado hubiera expuesto a la población a muy altos niveles de ingesta de fenilalanina, la cual hubiera podido afectar la función cerebral. Por lo tanto, el contenido de fenilalanina del aspartame se convirtió en un tema muy debatido y que surgió no sólo por los individuos de fenilcetonuria, sino también por todos los miembros de la sociedad.⁸² Se sabe que dosis elevadas de fenilalanina conllevan a cambios de comportamiento como depresión, insomnio, cefaleas, alteración de la visión e incluso cuadros de hiperquinexia.

Los individuos que padecen fenilcetonuria homocigótica (FCU) son identificados desde el nacimiento en los países desarrollados. En México la falta de presupuesto propicia que cada año unos 600 mil recién nacidos queden excluidos del tamiz neonatal. El examen para prevenir el retraso mental severo por la incidencia de FCU en México es de 1 x 25 000 nacimientos.

Se ha observado que cuando a individuos FCU homocigóticos se les administra una dosis de fenilalanina, experimentan un incremento en sus niveles de fenilalanina en la sangre y el daño más importante lo sufre el sistema nervioso central. Este efecto ha sido relacionado directamente a la presencia continua de altos niveles endógenos de fenilalanina durante el embarazo porque nacen de madres heterocigóticas fenilcetonúricas y el feto está expuesto a niveles altos de fenilalanina. Cuando el infante nace puede seguir expuesto si no es tratado con dietas estrictamente controladas durante los primeros meses o años de vida. El daño más severo para un fenilcetonúrico homocigótico sin tratamiento es retardo mental profundo. El principal mecanismo por el cual la fenilalanina produce retraso mental es desconocido. Sin embargo, se sabe que simplemente con bajar los niveles endógenos de fenilalanina, el retardo mental puede ser atenuado considerablemente.^{26, 82}

Debido a que la restricción dietética de la fenilalanina durante los primeros años de vida es la terapia preventiva para los síntomas del sistema nervioso central de fenilcetonuria homocigótica, la adición de un edulcorante que contenga fenilalanina en sus alimentos puede ser vista como peligrosa para estos pacientes. Aún así, el homocigoto fenilcetonúrico adolescente quien no requiere ya de una dieta que restrinja la fenilalanina, no se verá probablemente afectado por la ingestión de cantidades pequeñas o moderadas de

aspartame, ya que no se producen ningún incremento en los niveles de fenilalanina en el plasma. Un estudio realizado por Koch y Wenz indica que incluso dosis más altas (34 mg/kg) producen sólo un pequeño incremento en los niveles de fenilalanina en el plasma de los adolescentes fuera de una dieta controlada.^{82, 49, 36}

Mientras no parece haber algún riesgo derivado de la ingestión de aspartame para aquellos fenilcetonúricos homocigotos de mayor edad quienes ya han sido liberados de la dieta controlada, es de suma importancia limitar cualquier ingesta de aspartame a homocigotos que se encuentran bajo el régimen de dieta controlada.³⁶

Una dieta libre de fenilalanina durante los primeros años de vida ha creado la probabilidad de que los fenilcetonúricos homocigotos puedan llegar a ser intelectualmente normales, desarrollándose hasta la madurez si es que deciden reproducirse. Esto representa un problema para la mujer homocigótica, quien se tendrá que sujetar a una estricta dieta controlada de ingesta de fenilalanina durante el embarazo. De otra forma, corre el riesgo de exponer al feto a prácticamente un daño cerebral seguro debido a los altos niveles de fenilalanina en la placenta. Durante la formulación de sus dietas durante el embarazo, estas personas indudablemente escogerán evitar productos que contengan aspartame.^{82, 49}

A diferencia de los fenilcetonúricos homocigóticos, los heterocigóticos tienen cerca del 50 % de la actividad hidroxiláctica de la fenilalanina, es decir, metabolizan sólo el 50 % de la fenilalanina que puede metabolizar una persona normal. Estos individuos no muestran ninguna señal de la enfermedad y no son distinguibles del resto de la población, excepto por la pequeña elevación en el nivel de fenilalanina en el plasma. Debido a que los heterocigotos fenilcetonúricos probablemente consumen productos que contienen aspartame, la pregunta que se genera es que si podrían experimentar incrementos potencialmente peligrosos en los niveles de fenilalanina en la sangre cuando ingieran cantidades elevadas de aspartame. Este tema ha sido abordado en una serie de estudios cuya estrategia ha sido determinar si la ingestión de aspartame pudiera producir incrementos en los niveles de fenilalanina en el plasma típicamente asociados con la toxicidad al sistema nervioso central.^{82, 72, 59, 15}

En un protocolo, un grupo de heterocigotos fenilcetonúricos en ayunas recibieron una sola dosis oral de aspartame de 10, 34 o 100 mg/kg. Los niveles de fenilalanina en el plasma se incrementaron y alcanzaron picos en concentraciones de alrededor de 2 veces de aquellas

observadas en sujetos normales quienes habían recibido el mismo tratamiento. A 100 mg/kg, por ejemplo, los niveles de fenilalanina en el plasma alcanzaron niveles en los sujetos fenilcetonúricos de 41.7 $\mu\text{M}/100\text{ ml}$, mientras que en sujetos normales el valor fue de 20.2 $\mu\text{M}/100\text{ ml}$. Cuando las curvas de fenilalanina en el plasma posteriores a una ingestión de aspartame se compararon entre aquellas de sujetos normales y heterocigotos fenilcetonúricos, pareció que los heterocigotos fenilcetonúricos limpiaron cerca del 50 % la fenilalanina con una rapidez similar al de persona normal.^{82, 15}

A pesar de que son menos eficientes los fenilcetonúricos heterocigotos que los sujetos normales, está claro que los heterocigotos fenilcetonúricos pueden soportar muy bien dosis simples de aspartame. La dosis de 100 mg/kg puede ser, con certeza, considerada como excesiva desde las perspectivas de los edulcorantes de alimentos. Esta dosis tiene la dulzura equivalente a alrededor de 3 lb (1.359kg) de azúcar para un hombre de 70 kg y es muy poco probable que sea consumido en la vida real, aunque esta dosis produce niveles de fenilalanina en el plasma en el heterocigoto fenilcetonúrico que no pueden calificarse como clínicamente importantes.⁸²

En general, basándonos en los cambios de fenilalanina en el plasma que acompañan al consumo de aspartame por sujetos fenilcetonúricos heterocigotos, no hay razón para sospechar que estos individuos estén en riesgo de desarrollar anomalías en el sistema nervioso central debido a que el consumo de alimentos endulzados con aspartame no incrementa las concentraciones de fenilalanina en el plasma más allá de lo que pueda ocurrir normalmente durante una comida.^{87, 49, 82}

**CONTENIDO APROXIMADO DE FENILALANINA Y
ÁCIDO ASPÁRTICO EN ALGUNOS ALIMENTOS.¹³³**

ALIMENTO	TAMAÑO DE LA PORCIÓN	CONTENIDO DE FENILALANINA(mg)	CONTENIDO DE ÁCIDO ASPÁRTICO (mg)
Lata de refresco dietético	355 ml	90	72
Carne molida cocida	85 g	867	2088
Vaso de leche	355 ml	605	951

Una dosis de aspartame de aproximadamente 30 mg/kg/día no incrementan las concentraciones de fenilalanina en el plasma por encima de aquellos valores observados en

adultos normales. Los únicos individuos quienes deben estar preocupados por el contenido de la fenilalanina del aspartame son los homocigotos que estén dentro de la dieta restringida o mujeres embarazadas fenilcetonúricas.

Para que no existiera problema para las personas FCU al seleccionar sus alimentos, se estableció que las etiquetas de todos los alimentos y bebidas que contengan aspartame porten la advertencia para alertar a tales individuos de su contenido de fenilalanina. Para el resto de la población, la exposición de la fenilalanina es mínima y, por lo tanto, sin importancia.^{82, 136, 135}

Por otra parte, el aspartato es un aminoácido con una estructura similar al glutamato. Ambos son neurotransmisores estimuladores en el sistema nervioso central. Se sabe que el aspartato y el glutamato producen efectos excitatorios a las neuronas, causándoles una sobre estimulación letal a sus receptores de estímulos (por ejemplo: despolarización).⁴³ Es por lo anterior que, en parte, el aspartato y el glutamato han sido señalados como aminoácidos excitotóxicos.⁸²

Normalmente la circulación del aspartato y el glutamato parecen estar excluidos del cerebro. El mecanismo depende de un transportador para llevar estos aminoácidos, localizados en la barrera sangre-cerebro.⁵⁴ Este transportador bidireccional opera más fuertemente para transportar el aspartato y el glutamato fuera, no dentro, del cerebro.⁸² Por consiguiente, incluso cuando son administrados a través de dieta o inyección y sus niveles en la sangre son muy altos, el aspartato y el glutamato son expulsados del cerebro. Sin embargo, el transportador puede, con el tiempo, ser dominado si la dosis del aminoácido es lo suficientemente alta o si la barrera sangre-cerebro no está intacta. El asunto, por lo tanto, se convierte en uno de dosis. Finkelstein y otros investigadores¹⁶ obtuvieron una curva dosis-respuesta para el aspartato, en ratones de 8 días de edad, los cuales son particularmente sensibles a los efectos excitotóxicos del aspartame y el glutamato. Ellos correlacionaron el nivel de aspartato y glutamato en el plasma con la incidencia de daño neuronal en el hipotálamo. El resultado fue que los niveles de aspartato en el plasma tuvieron un incremento mayor a 87 $\mu\text{M}/100\text{ ml}$ (y las concentraciones de plasma combinadas de aspartato y glutamato fueron mayores a 127 $\mu\text{M}/100\text{ ml}$) antes de que cualquier signo de daño neuronal se hiciera evidente. Debido a que este animal es el más sensible a la

inducción de daño cerebral del glutamato y del aspartame, estos resultados sirven como un punto de referencia para los humanos. Por ejemplo, cualquier sustancia ingerida por los humanos que aumenta los niveles de aspartato y/o glutamato en el plasma más allá de 127 $\mu\text{M}/100\text{ ml}$ puede ser vista como una candidata a ser una excitotóxico.⁸²

Sin embargo, este asunto ha resultado no ser importante o preocupante. Por ejemplo, cuando Stegink administró una dosis oral de aspartame de 200 mg/kg (la dulzura equivalente a alrededor 2.72kg de sacarosa para un hombre de 70 kg) a seres humanos, los niveles en plasma de aspartato y glutamato combinados alcanzaron picos de alrededor 7 $\mu\text{m}/100\text{ ml}$, un nivel muy por debajo del umbral tóxico en un ratón infante. El aspartame también ha sido administrado a monos infantes. En un estudio realizado por Reynolds se alimentaron monos recién nacidos con 2 000 mg/kg de aspartame o 2 000 mg/kg de aspartame con 1 000 mg/kg de glutamato. Midieron los niveles en sangre del aspartame y del glutamato en las 4 horas posteriores.⁸² A continuación, los animales fueron sacrificados para realizar estudios neurológicos. Los niveles en sangre del aspartato y del glutamato estuvieron dentro del intervalo de 200 a 300 $\mu\text{M}/100\text{ ml}$., valores más altos que aquellos que producen daño hipotalámico en ratones infantes de acuerdo con lo reportado. Sin embargo, no se produjo ningún daño hipotalámico en ninguno de los monos, tanto en aquellos que recibieron solamente aspartame como aquellos que recibieron aspartame y glutamato.⁸² Por lo tanto, el aspartame, solo o combinado con glutamato, no produjo daño cerebral cuando fue suministrado a primates infantes en dosis altas. Tales resultados, obtenidos en animales más cercanamente relacionados filogenéticamente con el hombre, sugieren que no hay bases para creer que el aspartame pueda producir daño neuronal cuando es consumido por humanos.⁴⁹

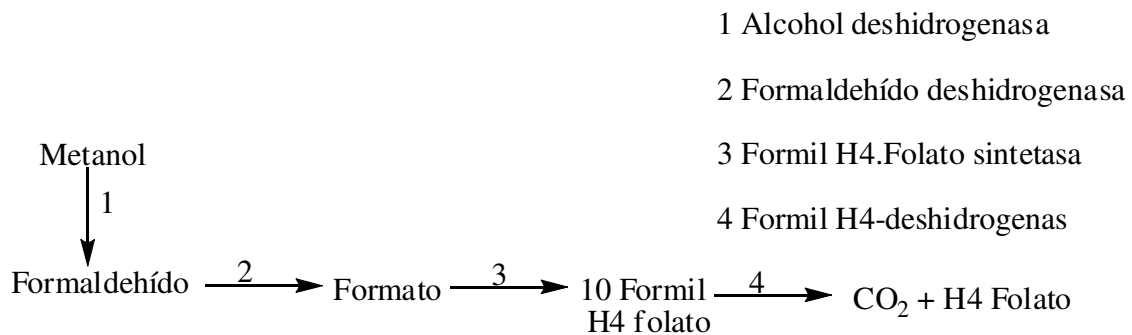
Otro producto del aspartame que causó dudas fue el metanol. Cuando la hidrólisis ocurre, el metanol es liberado como uno de sus subproductos, pasando al sistema circulatorio.

En los mamíferos el metanol es metabolizado en el hígado, oxidándose por la acción de la alcoholdehidrogenasa, produciendo formaldehído y en pasos oxidativos subsecuentes es rápidamente convertido, por la aldehíodeshidrogenasa, en ácido fórmico, dióxido de carbono y agua a través de una vía dependiente del tetrahidrofolato (THF). (Figura 5). Se ha identificado al ácido fórmico como el metabolito responsable de los efectos tóxicos del metanol, el cual inhibe la citocromo oxidasa, interfiriendo así directamente con el transporte

de electrones en la cadena respiratoria. Existe evidencia de que el ácido fórmico inhibe la función mitocondrial en la retina y aumenta el estrés oxidativo. Su acción citotóxica se ejerce de manera diferente sobre los fotorreceptores, con una recuperación parcial de las respuestas dominadas por los bastones y ninguna recuperación sobre las respuestas mediadas por conos en el ojo.^{102, 103, 107}

Lo anterior contribuyó a que la ingestión del aspartame pudiera ser considerada potencialmente tóxica para el organismo. Por esta razón, se realizaron estudios enfocados a investigar esta posibilidad. Se administraron dosis del doble de la IDA del aspartame a niños por 13 semanas y a monos infantes por 9 meses. No se observó ningún signo revelador de toxicidad del metanol.^{68, 82}

Figura 5. Metabolismo del metanol



En otro estudio con sujetos adultos, se observó que los incrementos de 1.27 y 2.58 mg/dl de metanol en sangre sucedieron a las dos primeras horas después de la administración de 100 y 200 mg/kg pc de aspartame, respectivamente; dichas concentraciones bajaron drásticamente después de 4 horas y se hicieron indetectables a las 24 h. No se observó ningún efecto tóxico provocado por el aumento en la concentración de formiato en la sangre, incluso en la dosis de 200 mg/kg pc. Por esta razón, la liberación de metanol en la ingestión de aspartame y su conversión a formiato no es un problema toxicológico potencial, de hecho, la exposición del metanol a partir del aspartame es muy pequeña en comparación con la que se puede encontrar en alimentos naturales, particularmente en jugos de frutas. Además, los refrescos endulzados con aspartame contienen alrededor de 50 mg de metanol por litro. Por lo tanto, el metanol producido a partir del aspartame no posee riesgos toxicológicos para los humanos que consumen dicho edulcorante.⁸²

La FDA ha establecido niveles aceptables de exposición al metanol de 7.1 a 8.4 mg/kg/día para adultos de 60 kg. Por lo tanto, las exposiciones al metanol a partir del consumo de aspartame están lejos de ser consideradas potencialmente tóxicas.^{49, 64}

CONTENIDO APROXIMADO DE METANOL EN ALGUNAS BEBIDAS.¹³³

ALIMENTO	TAMAÑO DE LA PORCIÓN	CONTENIDO DE METANOL (mg)
Lata de refresco dietético	355 ml	18
Jugo de naranja	355 ml	23
Jugo de manzana	355 ml	29
Jugo de toronja	355 ml	65
Jugo de tomate	355 ml	107

CONTENIDO DE METANOL EN BEBIDAS.⁸²

ALIMENTO	CONCENTRACIÓN DE METANOL(mg/L)
Jugo de tomate	180-218
Jugo de uva	12-680
Vino blanco	20-36
Vino rojo	99-271
Bebida suave endulzada con aspartame	55

5.2.3 Conclusión

Con base en todos los estudios analizados por JECFA y los realizados por diversos autores, el aspartame puede ser considerado un edulcorante inocuo, al igual que sus productos de transformación, los cuales no son ajenos a los que se pueden generar durante el consumo de alimentos. El único producto ajeno es la dicetopiperacina, aunque para que esta sustancia cause algún daño severo se necesitaría ingerir 750 mg de esta sustancia, lo que equivaldría a consumir 7.5 kg de aspartame (el equivalente a 202,702.7 sobres de Candere!®).

5.2.4 IDA establecida por el JECFA para el aspartame

JECFA examinó el aspartame en diversas reuniones, evaluando varios estudios toxicológicos con animales y también en el hombre. Donde se determinó que la dosis carente de efectos adversos, de acuerdo con investigaciones en animales, resultó ser de 4 g/kg y se estableció una IDA para el aspartame de 40 mg/kg/pc.^{118, 137}

Nivel estimado que no causa efecto tóxico en ratas:

Aspartame: 4 g/kg de peso

Dicetopiperacina: 750 mg/kg pc

Ingesta diaria aceptada para el hombre

Aspartame: 40 mg/kg de peso

Dicetopiperacina: 7.5 mg/kg pc

Acesulfame-k

5.3 Generalidades del Acesulfame-K

Este edulcorante fue descubierto accidentalmente en 1967 en los laboratorios Hoechst A.G., en Frankfurt, Alemania, por los Drs. Karl Clauss y Harold Jensen quienes realizaban estudios de síntesis de un nuevo anillo heterocíclico a partir del butilo y flurosulfonil isocianato. Uno de los resultados obtenidos de dicha síntesis fue el compuesto 5,6-dimetil 1,2,3-oxatiazina-4(3H)-ona-2,2-dióxido y notaron que este tenía un sabor dulce.

Con la prohibición de los ciclamatos en 1969 en los Estado Unidos, se estableció un programa en Hoechst A.G. para revisar las propiedades de este compuesto. Se realizaron varias rutas de síntesis sobre los dióxidos dihidro-oxa-tiazinas, encontrándose nuevos compuestos de “sabor dulce” variando la posición de los sustituyentes, (Figura-6). Se observó que las posiciones 5 y 6 tienen una notable influencia en la intensidad del sabor y pureza de la dulzura, no obstante que el anillo sin sustituyentes es dulce.

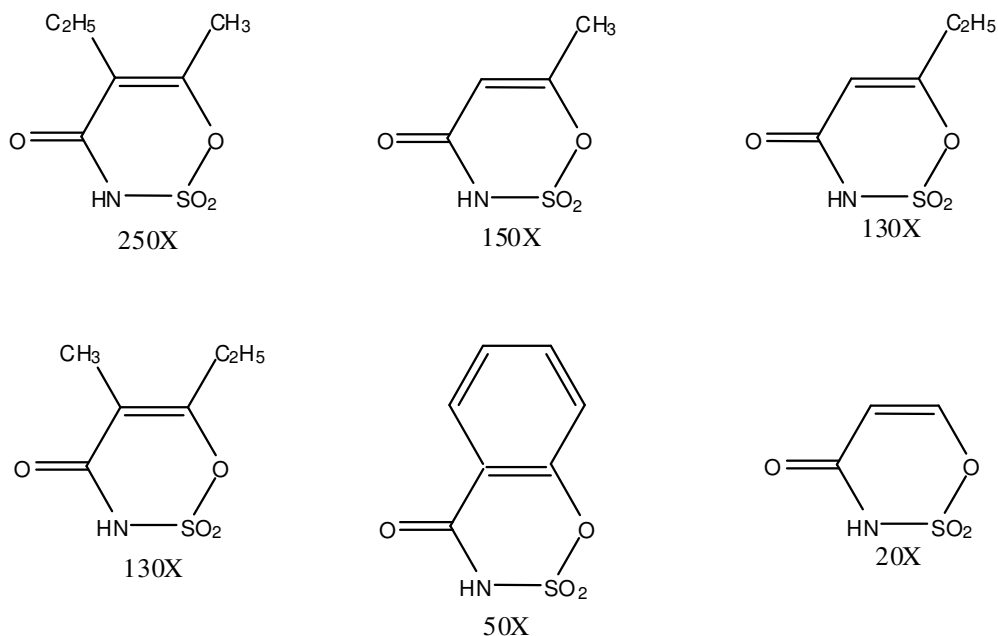
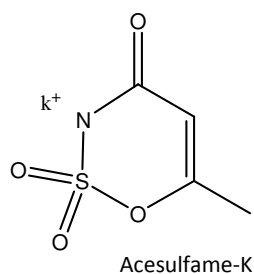


Figura 6

x= Intensidad de dulzura comparada con una solución al 4 % de sacarosa

Después de estudiar varios compuestos similares se encontró que la 6-metil-1,2,3-

oxatiazina-4(3H)-ona-2,2-dioxido presentaba las mejores propiedades organolépticas y una viabilidad más comercial.⁴⁹



luz.^{10, 27, 26, 21, 13, 71}

El acesulfame-k tiene un peso molecular de 201.2 g/mol, y su fórmula condensada es C₄H₄KNO₄S. Se descompone alrededor de 235 °C, a temperaturas prolongadas se induce la polimerización. Es un polvo blanco cristalino. A temperatura ambiente se pueden disolver hasta 270 g/L a 20 °C y aumenta hasta 1 kg/L a 100 °C. Es muy estable en polvo, logrando mantenerse durante años, incluso expuesto a la

Su poder edulcorante se ha estimado en unas 200 veces más dulce al de la sacarosa, cuando se le compara con una concentración equivalente del 3 % y, al igual que ocurre con todos los edulcorantes de alta intensidad, depende de la concentración de sacarosa con la que se este comparando, pues la intensidad puede decrecer a valores de 100-130, en concentraciones de sacarosa superiores al 6 %.^{13, 24, 25, 11}

Es usado como edulcorante en un amplio número de productos alimenticios. Se utiliza en los alimentos bajos en calorías y en azúcares, alimentos para diabéticos, productos de higiene bucal, farmacéuticos y alimento para animales. Debido a que presenta buena estabilidad y solubilidad, es utilizado particularmente en bebidas y refrescos. Las bebidas que contienen este edulcorante pueden pasteurizarse o se les puede aplicar el proceso de ultrapasteurizado, (UHT). También puede utilizarse en productos horneados.^{49, 16}

En bebidas calientes, el poder edulcorante es normalmente más bajo que a temperatura ambiente. Es ligeramente más elevado en bebidas ácidas que en soluciones neutras. El sabor dulce del acesulfame-k se percibe de forma rápida, sin retardo y persiste un poco más que el de la sacarosa. Cuando se utiliza en altas concentraciones se perciben sabores no deseados (amargo y metálico). Es estable a pH 3-7 a una temperatura de 4 °C.^{21, 25, 24, 2, 83}

En los alimentos, bebidas y cosméticos es estable en condiciones normales de almacenamiento. En condiciones extremas de pH y temperatura puede ocurrir una descomposición perceptible, induciendo la formación de acetona, CO₂ y sulfato de hidrógeno de amonio o sulfatoamida como productos de descomposición final. En condiciones ácidas (pH 2.5) se forman productos intermediarios inestables de descomposición en cantidades pequeñas: la acetoacetamida y el ácido N-sulfónico acetoacetamida.^{49, 67, 84}

En combinaciones con otros edulcorantes como: los polioles y edulcorantes de alto poder, se sinergiza el potencial de dulzura y de esta forma se reduce el regusto amargo. Se ha visto que es bueno emplearlo en productos que requieren aditivos para modificar la textura y la viscosidad. Su valor calórico es cero.^{23, 21}

También es conocido con los nombres de: acesulfamo-K, acesulfame-k, acesulfame y comercialmente es conocido como Sunett®, Sweet one®.

Claves otorgadas por diversos organismos a nivel mundial.³

Acesulfame-K	
CAS No.:	55589-62-3
INS No.:	950
EEC No.:	950
JECFA No.:	950

5.3.1 Estudios de trayectoria metabólica

El acesulfame de potasio fue examinado por JECFA en 1981, 1983, 1986 y 1991, también se realizaron estudios toxicológicos sobre los productos en los que se puede transformar como acetoacetamida y ácido N- sulfónico acetoacetamida e indicaron que éstos son poco tóxicos y no son mutagénicos. En 1981, JECFA evaluó los resultados del Acesulfame-K de varios estudios toxicológicos, pero carecían de observaciones histopatológicas y hasta 1991 el Comité dispuso como válidos los estudios donde se determinó que la sustancia no es mutagénica ni carcinógena. Asimismo, confirmó que es estable en alimentos y consideró que la cantidad de sus productos de degradación no presentaron problemas toxicológicos.^{56, 84, 67}

A continuación se presentan los resúmenes de los estudios acerca del metabolismo examinados por JECFA para la aprobación del acesulfame-K.

Núm. 1

Núm.	Organismos de prueba	Dosis oral única	Vía de excreción.	Métodos de análisis	Efecto observado
1a	Ratas perros	10mg/kg/pc ¹⁴ C-acesulfame-k	orina heces	cromatografía de capa fina, espectrometría de masas por técnica de dilución del isótopo	-Los métodos analíticos usados detectaron solamente la sustancia original en las muestras. -El estudio reveló solo un pico que fue idéntico con el del acesulfame-k. -No se detectaron metabolitos en los controles o en los animales tratados con acesulfame-K.
1b	Cerdos	5mg/kg/pc ¹⁴ C-acesulfame-k	orina bilis		

Autor: (Volz, et al., 1975)^{70 72}

Núm. 2

Organismo de prueba	Dosis oral única	Vía de excreción	Efecto observado
Ratas	10 mg/kg/pc de ¹⁴ C-Acesulfame-K	orina 82-100 % heces 97-100 %	-Los niveles máximos alcanzados en sangre fueron de 0.75 ± 0.2 µg/ml, 0.5 h después de la dosis
Perros		orina 85-100 % heces 97-100 %	-Los niveles máximos alcanzados en sangre fueron de 6.56 ± 2.08 µg/ml 1-1.5 h después de la administración. -El total aproximadamente recuperado fue del 100 % en ambas especies.

Autor: (Kellner & Christ, 1975)^{70, 72}

Núm. 3

Organismos de prueba	Dosis orales x 10 días	Efecto observado
Ratas perros	10 mg/kg de ¹⁴ C-acesulfame K	-Después de 3 días de la última dosificación, la concentración en los órganos y el plasma fue de 0.4 nMol/g, en el hígado y en otros tejidos fue menor a 0.2 nMol/g -7 días después de la última dosificación, la concentración fue menor a 0.2 nMol/g en todos los tejidos examinados, en los perros

Autor:(Kellner & Christ)^{70, 72}

Núm. 4

Dosis oral única en ratas.	Efecto observado
10 mg /kg/pc de ¹⁴ C-acesulfame-k	-La radioactividad fue excretada cuantitativamente en orina y la vida media en el plasma fue de 14 min.

Autor: (Kellner & Christ, 1975a)⁶⁹

Núm. 5

Organismos de prueba	Dosis orales	Vía de excreción	Efecto observado
ratas pre tratadas ratas sin pre tratamiento	-Acesulfame-k 300 mg/kg en la dieta por 60 días y una dosis de ¹⁴ C-acesulfame-k de 15 mg/kg/pc. -Los controles recibieron una dosis de ¹⁴ C-acesulfame-k de 15 mg/kg/pc	- 95-98 % de la dosis fue recuperada en la orina y en los lavados de las jaulas-0.95-2.86 % en las heces. -El total recuperado fue de 96.3-99.2 %.	-La excreción del producto marcado fue rápida, del 93-97 % de la dosis fue excretada en 24 h. -La vida media de la fase rápida fue de 4-4.5 h y para la fase mas lenta (representado por menos del 0.5% de la dosis) fue de 109-257 h. - No se observaron diferencias significativas entre la ruta y el rango de excreción, entre sexos o entre los animales pretratados con acesulfame K por 60 días.

Autor: (Volz & Eckert, 1981)^{70, 72}

Núm. 6

Dosis orales en ratas	Vía de excreción	Efecto observado
-1 % de acesulfame-k por 7 días y, posteriormente, 1 sola dosis 500 mg del compuesto marcado con ¹⁴ C. -Los grupos de control fueron incluidos sin pretratamiento.	orina 89.7-93.8 % de la dosis, se recuperó en las primeras 24 h	-No fueron observadas diferencias significativas entre los animales pretratados y los controles. -Por cromatografía se observó un sólo pico idéntico al del compuesto original.

Autor: (Volz, et al., 1983)⁷⁰

Núm. 7

Dosis orales	Organismo de prueba	Efecto observado
10 mg/kg/pc ¹⁴ C-acesulfame K	ratas preñadas de 19 días de gestación	- El comportamiento cinético fue comparable con aquel observado en ratas no preñadas. - La radioactividad en el feto a las 0.5 y 2 h después de la administración se observó que cuando los niveles en la sangre de la madre fueron altos, en el feto fueron bajos. - La tasa de actividad en los fetos y en la sangre materna fue de 1:14, y 1:3 en estos dos puntos, la placenta contenía concentraciones más altas que las del feto. - La distribución en el feto fue uniforme excepto por una alta actividad en el estómago.

Autor: (Kellner & Eckert, 1983a)⁷⁰

Núm. 8. Estudio en ratas recién destetadas, dosis orales de 0.0, 1.0, 3.0, y 10 % de acesulfame-k por 90 días.

Estudios realizados
<ul style="list-style-type: none"> - En la semana 13 se tomaron muestras de sangre y se determinó el contenido de hemoglobina, hematocritos, glóbulos rojos y la diferencia total del conteo de células blancas. - En la semana 13, se recolectaron las muestras de orina de cada grupo y fueron examinadas: la apariencia, pH, glucosa, proteína, presencia de sangre, cetonas y los sedimentos en el microscopio. - En la necropsia, las muestras de sangre fueron examinadas para determinar SGOT (suero glutámico-oxaloacético transaminasa), SGPT (suero glutámico-pirúvico tansaminasa), fosfatasa alcalina, el total de proteínas en suero y la albúmina en el suero. -Fueron registrados sus pesos semanalmente, la ingesta de alimento fue determinada durante las primeras 4 semanas y de ahí hasta 11 y 12.
Órganos estudiados
Riñones, corazón, hígado, bazo, cerebro, testículos/ovarios, timo, tiroides, las glándulas adrenales y el ciego (vacío y lleno), pulmón, glándulas salivales, tráquea, aorta, músculo esquelético, ganglios linfáticos de las axilas y el mesentérico, páncreas, vejiga, próstata, epidermis, útero, glándulas mamarias, esófago, estómago, duodeno, íleon y colon.
Efecto observado
<ul style="list-style-type: none"> -El consumo de alimento de las ratas alimentadas con acesulfame K al 10 % fue bajo durante las primeras dos o tres semanas y los pesos corporales fueron marcadamente más bajos durante las primeras 4 semanas, ocurrió una ligera diarrea y un incremento de agua en el contenido fecal en este nivel de dosis. -Se observó un ligero incremento en la concentración de hemoglobina solamente en el grupo de los machos y el total de proteína en el suero fue ligeramente menor solamente en las hembras. -Este trabajo consideró que el alargamiento del ciego fue una respuesta fisiológica de la presencia de material con actividad osmótica en el intestino y que, debido a que los pesos del hígado, riñón y bazo estuvieron dentro del rango normal de la sepa de ratas usadas y que no ocurrieron cambios histológicos. El nivel de efecto no tóxico es estimado en 3 % de la dieta, esto es equivalente a 1.5 g/Kg al día en ratas.

Autor: (Sinkeldam, et al., 1974)⁷⁰

Núm. 9 Dos años de estudio en perros (entre 17 y 21 semanas de edad) con dosis orales de 0.0, 0.3, 1.0, o 3.0 % de acesulfame-K

Estudios realizados.	Órganos estudiados	Efecto observado
<ul style="list-style-type: none"> -Los análisis de orina y hematológicos, así como la química clínica, fueron llevados a cabo en las semanas 12, 26, 52, 78 y 104. Incluyeron análisis de orina: gravedad específica, pH, azúcar, proteínas, presencia de sangre, cetona y examen microscópico de sedimentos; tasa de sedimentación hematológicamente, el tiempo de coagulación, hemoglobina, (PCV) volumen celular, (WBC) glóbulos blancos y (RBC) glóbulos rojos y se contó la diferencia de leucocitos. -Las investigaciones de la química clínica incluyeron azúcar en sangre, urea SGOT (suero glutámico-oxaloacético transaminasa), SGPT (suero glutámico-pirúvico tansaminasa) fosfatasa alcalina, proteínas totales en suero y albúmina en suero. Los exámenes de hígado y los exámenes de función de riñones realizados en los controles y el grupo de animales de dosis más alta después de 26, 52 y 104 semanas. -Los pesos corporales fueron registrados semanalmente durante las primeras 12 semanas y, a partir de entonces, en intervalos de 4 semanas. 	<ul style="list-style-type: none"> -Al término de los exámenes patológicos, se pesaron los siguientes órganos: corazón, riñones, bazo, hígado, pulmones, testículos/ovarios, tiroides, glándulas renales y cerebro. - Los exámenes histológicos fueron llevados a cabo con base en el peso de los órganos de los tejidos, médula espinal, nervio ciático, glándulas salivares, músculo esquelético, vena aorta, piel, amígdalas, ganglios: (linfáticos, cervicales, superficiales y axilares) vejiga, esófago, estómago, duodeno, yeyuno, íleon, ciego, colon, páncreas, tráquea, ojos, próstata, útero, vesícula biliar, lengua y timo. La médula ósea (hueso de la costilla). 	<ul style="list-style-type: none"> -La apariencia general, el comportamiento y la supervivencia no fueron afectadas por el tratamiento. -Ningún examen realizado reveló efectos adversos relacionados con la dieta -El nivel de efecto tóxico fue mayor a 3 % en la dieta, correspondientes a una ingesta de 900 mg/kg al día en perros.

Autor: (Reuzel & van der Heijden, 1977)⁷⁰

Núm. 10 Ratas recién destetadas provenientes de sepas que fueron alimentadas con acesulfame-k, recibieron dosis orales de 0.0, 0.3, 1.0, o 3.0% de acesulfame-K por 2 años.

Estudios realizados	Órganos estudiados
<ul style="list-style-type: none"> -Los exámenes hematológicos se llevaron a cabo después de las semanas: 13, 26, 52, 78 y 104 -Se llevaron a cabo exámenes de química-clínica en muestras de sangre tomadas después de las semanas: 26, 52, y 104, así como análisis de orina después de las semanas: 26, 52,78 y 102. 	<ul style="list-style-type: none"> -Al final a todos los sobrevivientes se les practicó la necropsia y se registró el peso del corazón, riñones, bazo, hígado, cerebro, gónadas (testículos u ovarios), las glándulas tiroides, las glándulas renales y el ciego. -A los tejidos de 20 ratas de control macho y 20 hembras, así como del grupo de dosis más alta se les practicó exámenes histológicos. -La histología en otros animales estuvo limitada al hígado, bazo, glándulas renales, glándulas tiroides, glándulas paratiroides, pituitaria (hipófisis), testículos y ovarios, así como a lesiones visibles de consideración sospechosas de ser tumores.
Efecto observado	
<ul style="list-style-type: none"> -El peso corporal ganado decreció significativamente en ambos sexos, en el grupo de dosis más alta durante las primeras 44 semanas del estudio, pero no decreció posteriormente. - Las tasas de mortalidad de los machos alimentados con 1.0 o 3.0 % de Acesulfame K y de hembras alimentadas con 0.3 % de 	

Acesulfame K fueron mayores a la de los controles, aunque se tomó en consideración que no había evidencia de un incremento en la mortalidad debido al tratamiento y que la mortalidad de las ratas control fue baja debido a la cepa de rata usada.

- Los resultados de las investigaciones hematológicas, clínicas, químicas y de orina resultaron esencialmente normales en todos los grupos.
- Los pesos relativos del hígado, riñones, ciego y de las glándulas renales se incrementaron en ambos sexos del grupo de dosis alta, aunque las diferencias solo alcanzaron significación estadística en (en los machos) el hígado y el peso del ciego vacío y (en las hembras) en los riñones y peso del ciego.
- Los exámenes histopatológicos y generales no revelaron ningún efecto relacionado con el tratamiento.
- A propósito de estos resultados, los autores señalaron los problemas de las comparaciones entre los grupos en estudios de multigeneración donde los animales en los diferentes grupos de dosis no son manejados al azar. Señalan que el incremento en la tasas de mortalidad en animales de prueba estaban aún en los rangos normales para las cepa de ratas y que la mortalidad en los controles era más baja de lo usual.
- Los tumores linfocelulares pulmonares son una causa común de muerte en la cepa de ratas usada, con mucha incidencia variable y la frecuencia en los grupos de prueba estuvo dentro del rango normal.
- Este estudio concluyó que sus incidencias "más altas" y aparición más temprana fueron hallazgos fortuitos y no sugirieron que el acesulfame K poseyera propiedades carcinogénicas.

Autor: (Sinkeldam, *et al.*, 1977)⁶⁹

Num. 11

Dosis oral única en cerdos	Efecto observado
3.6 – 4.5 mg de ¹⁴ C-acesulfame-K/kg pc	- Los niveles máximos en la sangre estuvo entre los rangos 0.35 – 0.72 g/ml entre 1-2 horas después a la dosificación cayendo a niveles indetectables a las 48 horas. - La excreción ocurrió principalmente en la orina.

Autor: (Kellner & Christ, 1975b)⁶⁹

Observaciones en el hombre

Núm. 12. Voluntarios entre 70 y 80 kg de peso.

Dosis oral única	Efecto observado
30 mg kg/pc de ¹⁴ C-Acesulfame-K	- La absorción fue rápida y las concentraciones máximas en la sangre fueron de 0.28 µg/ml, ocurriendo después de un lapso de 1 h y 1 ½ h. - La eliminación ocurrió rápidamente con una vida media en el plasma de 2 ½ h, siendo excretada en la orina alrededor del 99% de la dosis y menos del 1 % en las heces. El 98 % de la actividad fue eliminada en las primeras 24 h. - De la información farmacocinética se calculó que las dosis repetidas de 30 mg a intervalos de 3 horas incrementaron los niveles máximos en el suero en 1.7 veces y a intervalos de 2 horas los niveles máximos en el suero se incrementaron 2.4 veces en comparación con una dosis simple.

Autor: (Christ & Rupp, 1976)⁶⁹

Núm. 13

Dosis oral única	Efecto observado
30 mg de ¹⁴ C-Acesulfame-K	- Se analizó el suero y la orina y únicamente se detectó la sustancia original.

Autor: (Volz, 1976)⁶⁹

5.3.1.1 Productos del acesulfame-k

En condiciones normales de almacenamiento de alimentos, bebidas y cosméticos, el acesulfame-K es estable. Sin embargo, en condiciones extremas de pH y temperatura, el CO₂ y sulfato de hidrógeno de amonio o sulfatoamida se forman como productos de descomposición final y en condiciones de pH 3 o mayores 9.5, el ácido acetoacético y ácido N-sulfónico acetoacetamida pueden ser detectados.⁶⁹

Núm. 14

Organismo de prueba	Dosis	Vía de excreción.	Efecto observado
ratas	1 oral o 1 intravenosa de 1 mg/kg/pc ¹⁴ C-acetoamida	Dentro de los 7 días después de la administración, las ratas de ambos sexos excretaron 90-97 % (dosis oral) o 93-98% (dosis intravenosa) de la radioactividad en la orina y las heces.	-El compuesto fue rápidamente absorbido. -los niveles máximos en sangre fueron alcanzados entre 0.5-1 h después de la administración oral. -En la orina se excreto más del 90 % para ambos casos.
ratas	10 orales 1 mg/kg/pc ¹⁴ C-acetoamida	Después de dosificaciones repetidas se observó una pequeña acumulación de radioactividad.	- La actividad de excreción fue en la orina y las heces, alcanzando un nivel del 90 % después de 24 h a la administración. -Alrededor del 85 % fue en la orina.

Autor: (Eckert & Kellner, 1979)⁷⁰

Núm. 15

Organismos de prueba	Dosis orales	Efecto observado
En hamsters, ratas, conejos, perros y hombres.	Únicas o repetidas acetoaceta-mida	-En todas las especies ocurrió una rápida excreción en orina. -Los análisis de orina por cromatografía en capa fina revelaron la presencia de 5 picos. -El metabolismo en los conejos fue muy similar al de los humanos.

Autor: (Volz & Fehlhaber, 1981)⁷⁰

Núm. 16 Organismo de prueba: ratas

Dosis oral x 90 días	Estudios realizados
0.0, 400, 2 000, 10 000 y 50 000 mg/kg. acetoacetamida	-Se registró el consumo de alimento y de peso corporal. -Los exámenes hematológicos y de orina fueron llevados a cabo al final. -Los exámenes químico clínicos fueron realizados durante el desarrollo del estudio y al final. -Se realizo la necropsia y los órganos principales fueron pesados y se llevaron a cabo exámenes histopatológicos.

Efecto observado

-El comportamiento y las condiciones no fueron afectados por la dosis, sin embargo, hubo una reducción en los pesos en ambos sexos de la dosis más alta.
-En nivel de los 10 000 mg/kg hubo una reducción de corta duración en el peso corporal solamente de los machos.
-El total de eritrocitos y hemoglobina disminuyó en ambos sexos de la dosis mas alta, los glóbulos rojos también disminuyeron en el grupo de machos administrados con la dosis de 10 000 mg/kg.
-Los parámetros químico clínicos y los resultados de los análisis de orina fueron casi normales, excepto por una temporal disminución en el suero de la fosfatasa alcalina en los machos del grupo de la más alta dosis.
-La histopatología reveló la degradación de las grasas del hígado y cambios en la tiroides en los niveles de dosis más alta.
-El nivel de efecto adverso no observado fue determinado en 2000 mg/kg, en la dieta para ratas.

Autor: (Mayer, et al., 1979.)⁷⁰

Núm. 17 Dosis oral x 90 días en conejos 0.0, 1 200, 6 000 o 3 0 000 mg/L acetoacetamida

Efecto observado
-El comportamiento y las condiciones generales de los grupos de dosis baja y media permaneció normal pero los animales del grupo de dosis más alta mostraron apatía y una descompensación en su peso corporal, especialmente los machos. -En todos los grupos, el consumo de alimento y de agua no fueron afectados y los parámetros hematológicos y los análisis de orina permanecieron normales. -Los análisis clínicos fueron casi normales excepto por un pequeño decremento en el suero de la fosfatasa alcalina en los animales de ambos sexos. -Un incremento de urea en sangre en las hembras y ácido úrico en los machos sólo en el grupo del la dosis más alta. -Se realizó la necropsia, los pesos de los órganos fueron normales, excepto por un incremento en los pesos de la tiroides y un decremento en los testículos, conferido al grupo de la dosis más alta. -Los exámenes histológicos revelaron un marcado cambio en la tiroides, los autores lo interpretaron como una activación. -En el grupo de conejos que recibió la dosis más alta y los machos de este grupo presentaron desórdenes en la espermatogénesis. -No se observaron efectos en los grupos de dosis bajas y medianas y el nivel de efecto adverso no observado fue establecido de 6 000 mg/l en agua potable correspondiente a una dosis diaria promedio de aproximadamente 500 mg/kg pc.

Autor: (Hollander, et al., 1981)⁷⁰

Núm. 18

Dosis intragástrica x 14 días, en perros	Efecto observado
0.0, 100, 500 o 2 500	-Los conteos de hemoglobina, hematocritos y glóbulos rojos fueron bajos en ambos sexos en el nivel de dosis

mg/kg pc acetoacetamida	<p>más alto y de ahí un incremento en los reticulocitos y cuerpos de Heinz (pequeños e irregulares gránulos en los glóbulos rojos ocasionados por defectos en las moléculas de hemoglobina. Se deben a una deficiencia en la glucosa-6- fosfato deshidrogenasa después de la administración de algunos fármacos. También se observan en los enfermos con talasemia).</p> <p>-Los exámenes químicos clínicos mostraron un claro incremento en el total de bilirrubina y creatinina en el grupo de la dosis más alta y los niveles de glucosa fueron relativamente más bajos que los controles. Lo cual causó un incremento en la fosfatasa alcalina en ambos sexos de la dosis de 100 mg/kg.</p> <p>-Los exámenes histopatológicos mostraron cambios en la tiroides en todos los niveles de dosis, incluyendo el nivel más alto, con un incremento en la acumulación del hierro en las células Kupffer hepáticas.</p> <p>-Se concluyó que el nivel de efecto adverso no observado para la acetoacetamida en perros es más baja a 100 mg/kg pc.</p>
----------------------------	---

Autor: (Mayer, et al., 1980)⁷⁰

Estudio de acetoacetamida en humanos.

Núm. 19

Dosis	Vía de excreción.	Efecto observado
50 mg de acetoacetamida marcada	95 % orina Menor 1 % en heces	<p>-La absorción fue rápida, el nivel más alto alcanzado en sangre ocurrió entre los 15 min. y 3h después de la dosis.</p> <p>-Fue eliminada rápidamente, la vida media fue de 10 h.</p> <p>-Más del 95 % fue excretado en la orina y menos del 1 % en las heces.</p>

Autor: (Eckert, et al., 1980)⁷⁰

Ácido N- sulfónico acetamida

☞ Cuando el Acesulfame en solución se almacena a un pH bajo, se forman pequeñas cantidades de ácido N- sulfónico acetamida y es, por lo tanto, un contaminante de menor importancia. Se han llevado a cabo un cierto número de estudios acerca de este compuesto.

Núm. 20

Dosis oral o intravenosa. En ratas	Efecto observado
10 mg/kg pc ácido N- sulfónico acetamida	<p>-Los niveles máximos en sangre ocurrieron a las 2 h posteriores a la dosificación oral (1.33 µg equiv./ml).</p> <p>-La eliminación fue bifásica con vidas promedio de aprox. 1 y 5 horas, después de la dosis intravenosa.</p> <p>-La eliminación fue rápida y principalmente en orina (69.6 ± 9.2 %) mientras que en la administración oral, la excreción fue predominantemente en las heces (55.2 ± 6.9 %).</p> <p>-Después de 7 días, menos de 0.06 % de la radioactividad permaneció en el organismo.</p> <p>-Los estudios de distribución mostraron niveles más altos en los riñones, vejiga y los músculos lisos que en la sangre.</p> <p>-Después de 24 horas, las concentraciones en los tejidos estuvieron generalmente por debajo del 0.1 µg equiv/g, excepto en las glándulas renales (0.13 µg/g), vejiga (0.14 µg) y grasa retroperitoneal (0.15 µg/g).</p>

Autor: (Gross, et al., 1987)

Núm. 21

Dosis oral o intravenosa en ratas	Efecto observado
10 mg/kg pc ácido N- sulfónico acetamida.	<p>- La incubación de la microflora intestinal <i>in vitro</i> resultó en completa descomposición la acetamida-N-ácido sulfónico sódico, detectándose 2 productos: uno de los cuales fue el tentativamente identificado como ácido-N-sulfónico-β-hidroxitiramida y el otro no se identificó.</p> <p>- <i>In vivo</i>, aparte del producto inicial, se detectaron hasta 4 metabolitos pero no fueron identificados en la orina de las ratas de ambos sexos.</p>

Autor: (Gross, et al., 1987)⁷⁰

Núm. 22

Dosis oral 5 días a la semana x 1 mes en ratas.	Efecto observado
1 000 mg/kg ácido N- sulfónico acetamida	<p>- No se vieron afectados el comportamiento, la salud general y el consumo de agua y alimento.</p> <p>- La química clínica, los estudios de hematología y los exámenes de orina no indicaron ningún cambio tóxico.</p>

	<ul style="list-style-type: none"> - No se observaron efectos adversos en la autopsia general ni en los exámenes histopatológicos. - Se concluyó que el nivel de efecto adverso no observado estuvo por encima de los 1 000 mg/kg pc.
--	---

Autor: (Hollander, *et al.* 1985)^{70, 72}

Núm. 23

Dosis oral X 3 meses en ratas.	Efecto observado
0.0, 8 000, 20 000 y 50 000 mg/kg ácido N-sulfónico acetamida	<ul style="list-style-type: none"> - Los 2 grupos de dosis más altas mostraron ligeras reducciones en el peso corporal, así como una ligera baja de glucosa en sangre, los autores lo atribuyeron a la limitada disponibilidad de carbohidratos debido al leve cuadro de diarrea en estos grupos. - Esto mismos grupos mostraron un ligero incremento en la bilirrubina y en los valores de calcio, aunque estos fueron solamente significativos en los machos del grupo de 20 000 mg/kg. Además, los animales del grupo de dosis más alta mostraron una ligera anemia. - Los exámenes de orina mostraron bajos valores de pH, una mayor gravedad específica. - En los animales de los dos grupos de dosis más alta, mostraron mayores pesos en el riñón, probablemente como reflejo de la mayor excreción renal del compuesto de prueba. - Estos grupos también mostraron alargamiento del ciego y el examen histológico mostró una hiperplasia reversible de los ganglios rectales. - En ausencia de otros síntomas histológicos y de anemia, los autores concluyeron que el nivel de efecto adverso no observado fue de 20 000 mg/kg de dieta, correspondiente a una dosis diaria promedio de 1 863 mg de ácido-N-sulfónico acetamida mg pc.

Autor: (Fuchs, *et al.*, 1986)⁷²

Núm. 24

Dosis oral X 2 semanas	Efecto observado
0.0, 3750, 7500 y 15000 mg/kg de ácido N-sulfónico acetamida.	<ul style="list-style-type: none"> -La administración de 15,000 mg/kg provocó diarrea. -No se detectó ninguna otra reacción o cambio atribuible al tratamiento en general o en los exámenes histológicos. -Una hembra del grupo de dosis más alta mostró meningoencefalitis, la cual no fue atribuida al tratamiento.

Autor: (Brunk, *et al.*, 1986)⁷²

Núm. 25

Dosis oral X 1 mes en monos.	Efecto observado
1 000 mg/kg ácido N- sulfónico acetamida	<ul style="list-style-type: none"> -Se observaron cuadros de diarrea desde ligeras hasta de intensidad moderada a partir del sexto día. -El consumo de alimento y el peso corporal no se vieron afectados. -Los resultados de los electrocardiogramas y estudios oftalmológicos y hematológicos fueron normales, así como los de química sanguínea y orina. -Los exámenes macroscópicos e histológicos del final estudio no mostraron ningún cambio relacionado al tratamiento. -Se concluyó que la dosis de 1000 mg/kg pc no provocaba ninguna toxicidad sistémica y a excepción de la diarrea esporádica, la sustancia era tolerada.

Autor: (Read, *et al.*, 1989a)⁷²

Núm. 26

Dosis oral X 13 semanas. En monos	Efecto observado
0.0, 100, 315 y 1 000 mg/kg pc ácido de N-sulfónico acetamida	<ul style="list-style-type: none"> -Se observó un caso de diarrea en intervalos irregulares en un macho del grupo de 100 mg/kg. -Diarrea crónica en 3 hembras y todos los machos del grupo de 315 mg/kg y en todos los animales del grupo de dosis más alta. -La aparición de la diarrea ocurrió de 3-7 horas después de la dosificación. -El peso corporal y el consumo de alimento no fueron afectados por el tratamiento y el examen oftalmoscópico en la última semana no reveló ninguna anomalía relacionada con el tratamiento. -La química hematológica y clínica, así como los parámetros urinarios no fueron afectados por el tratamiento. -La patología en general, así como la histopatología no fueron notables. -Se concluyó que, a excepción de los disturbios del tracto digestivo indicados por la diarrea, la acetamida-N-ácido sulfónico fue tolerada y no se observó toxicidad sistémica alguna.

Autor: (Read *et al.*, 1989b)⁷²

5.3.2 Discusión

En los estudios llevados a cabo en animales de laboratorio y analizados por JECFA para el acesulfame-k, se observó que la dosis administrada fue eliminada principalmente en la orina y en menor cantidad en las heces, sin que sufriera un cambio dicho compuesto. Su recuperación total fue en siete días, con un máximo de excreción en las primeras 24 horas. La mayor concentración en sangre se registró 1-2 horas después de la administración de la dosis en concentraciones de microgramos. Comparando el análisis de los datos entre cerdos, ratas y perros; no hubo pruebas que sugirieran que las concentraciones sanguíneas en alguna de las tres especies fuera más sensible a las concentraciones de los efectos del acesulfame-k.^{58, 57}

En un estudio de dos años en ratas (el cual cubre la mayor parte del promedio de vida de este animal) y otro efectuado en perros por el mismo periodo en los que se administraron dosis repetidas, no se observó ninguna aceleración metabólica ni modificación farmacocinética.

Los estudios de metabolismo realizados en seres humanos mostraron que las dosis orales de acesulfame-K fueron absorbidas por completo y excretadas intactas rápidamente en la orina. La vida media en el plasma fue de 1,5 horas, lo que indicó que el período de exposición a la sustancia fue breve y no hubo acumulación.

El Comité también examinó los estudios toxicológicos sobre los productos de desintegración de los compuestos acetoacetamida y ácido N- sulfónico acetamida-, los cuales indicaron ser poco tóxicos.

En vista de esos datos y de las estimaciones del grado de exposición al acesulfame-K, así como al compuesto ácido N- sulfónico acetoacetamida y a la acetoacetamida, el Comité determinó que no representaban ningún peligro para la salud en las condiciones actuales y previsibles de uso del acesulfame de potasio.⁵⁸

Se estimó que por encima de los 15 g/kg/pc se encuentra el DL₅₀ de la acetoacetamida en ratas hembras vía oral, mientras que en perros belgas a dosis de 5g/kg/pc se observó una leve diarrea.⁵⁸

5.3.3 Conclusión

De acuerdo con los estudios expuestos, el acesulfame-k no es metabolizado en ningún animal de laboratorio ni en el hombre, ya que se elimina sin sufrir alguna modificación. Sus productos de descomposición son eliminados rápidamente y no sufren ningún cambio.

5.3.4 IDA establecida por JECFA para el acesulfame-k

El acesulfame de potasio no fue metabolizado en ninguna especie sometida a ensayo, ni aún incluso en el hombre. En los estudios realizados con ratas en los que se administraron dosis repetidas y en los que no se observó ninguna modificación metabólica, JECFA determinó que este animal era el modelo apropiado para el ser humano. En consecuencia, decidió que, como el estudio de dos años llevado a cabo con ratas representaba un período más prolongado de la vida de la especie que el efectuado con perros durante un período similar e incluía exposición a la sustancia *in utero*, la IDA debería basarse en la concentración de efecto nulo observado en la rata.

De esta forma, se estableció una IDA de 0-15 mg diarios por kg de peso, basándose en los estudios prolongados realizados en ratas.^{58, 122}

El DL₅₀ para la acetoacetamida

El DL₅₀ oral de acetoacetamida en ratas hembras fue mayor a los 15 g/kg pc. En perros no se observó ningún efecto adverso, a excepción de una ligera diarrea en una de las perras belgas después de una administración de 5 g/kg/pc. (Anon, 1977).^{70, 69}

El DL₅₀ de ácido de N-sulfónico acetoacetamida es mayor a 5 000 mg/kg/peso en ratas vía oral y por vía intravenosa es mayor a 35 000 mg/kg/peso.⁵⁸

El DL₅₀ para la ácido N- sulfónico acetamida

Especie	Sexo	Ruta	DL ₅₀ mg/kg pc	Referencia
Ratas	M y H	oral	>5 000	Rupprich & Weigand (1984)
Ratas	M y H	intravenosa	>3 150	Rupprich & Weigand (1984)

Taumatina

5.4 Generalidades de la Taumatina



La taumatina es un grupo de proteínas que se extraen del fruto *Thaumatococcus daniellii*, una planta del Occidente de África, denominada “Katemfe”, examinada por W. F. Danielli en 1839. Su poder edulcorante es conocido desde hace siglos por los nativos africanos, que la han utilizado para endulzar diferentes alimentos.^{13, 24, 21, 80, 85}

En datos más recientes se han dado a conocer cinco taumatinas: I, II, III, a y b, todas ellas son

arreglos proteicos obtenidas por Van Der Wel y Loeve en 1972 y Van Der Wel en 1974, de las cuales las más importantes son la I y la II.^{85, 49, 36}

La taumatina I está constituida por 217 (20749) residuos de aminoácidos. La tipo II es similar a la I, sólo que difiere en cinco residuos de aminoácidos (tabla 4). Tienen un peso de 22,209 y 22,293 daltons, respectivamente. Cuando se extraen y purifican en forma de polvo, el color es crema y es inodoro. Poseen un poder edulcorante similar y tienen ambos un punto isoeléctrico de 12, (Higginbotham, 1983, 1986 y anónimo, 1996).^{21, 49, 75, 24, 80}

Cuando la taumatina se deshidrata por aspersion o por congelación rápida y se almacena a una temperatura de 18-27 °C en un ambiente seco, ésta permanece estable indefinidamente. Es soluble en agua (hasta el 60 % p/v) y también en alcoholes o disolventes apróticos. Resiste un tratamiento a 100 °C durante más de 2 horas (en un pH comprendido entre 2.5-5.5, con un

Composición de aminoácidos de taumatina I (T_I) y taumatina II (T_{II})*

Aminoácidos	Número de residuos	
	T _I	T _{II}
Glicina	24	24
Treonina	20	20
Alanina	16	16
α-Cisteina	16	16
Serina	14	13
Ácido Aspartico	12	13
Prolina	12	12
Arginina	12	13
Fenilalanina	11	11
Lisina	11	11
Asparagina	10	8
Valina	10	10
Leucina	9	9
Iso-leucina	8	8
Tirosina	8	8
Ácido Glutámico	6	6
Glutamina	4	5
Triptofano	3	3
Metionina	1	1
Total	207	207

*Datos tomados de Tate&Lyle Inc, citado en Dziezak

óptimo de 2.5–3.0). Cuando se presenta la desnaturalización de estas proteínas, se genera la pérdida de su poder edulcorante, que es muy variable dependiendo del pH y la temperatura, principalmente.^{23, 21, 24, 75}

El poder edulcorante de la taumatina, a temperatura ambiente, es de los más intensos y equivale de 2 000 a 2 500 veces al de la sacarosa, referido a un 10 % de ésta; aunque a una concentración equivalente de 6 % de sacarosa se le ha estimado de 1 600 a 2 700 veces. Sin embargo, su umbral de percepción dulce es relativamente bajo y se observa un cierto regusto a regaliz en altas concentraciones.

La taumatina es estable en operaciones de enlatado a temperaturas de 120 °C, así como en los procesos de pasteurización y UHT (Ultra pasteurizado). Sin embargo, a pH básico la proteína es más lábil al calor, a pesar de su estabilidad a temperatura ambiente a valores de pH por encima de ocho. Las soluciones de taumatina requieren de monitoreos del pH, temperatura y tiempo, principalmente, así como para que mantengan su dulzor es necesario que se esterilicen o utilicen conservadores químicos. Además de cuidar todos los parámetros que intervienen en el proceso industrial. Por otro lado, se debe proteger a la proteína contra moho y levaduras.^{75, 24}

Su principal uso de la taumatina es como un potenciador del dulzor, para lo cual se utilizan pequeñas cantidades (ppm). Sin embargo, en cantidades mayores es utilizado como edulcorante, por ej.: en gomas de mascar se usa en niveles de 50-150 ppm del peso de producto para enaltecer el sabor y mantener la duración de la percepción del mismo. De igual forma, si es espolvoreada de 15 a 30 ppm del peso del producto, tiene un impacto directo en lo que concierne al sabor, calidad y duración de percepción. En cantidades bajas de aplicación de alrededor de 5×10^{-5} %, una amplia serie de sabores son intensificados y percibidos con un realce de mayor duración. En un producto líquido, el aroma y la percepción de ciertos sabores son enaltecidos cuando se adiciona de forma directa, o bien, si se utiliza con agentes espesantes o gelificantes. Los japoneses la emplean para mejorar el aroma del café, enaltecendo el sabor tostado y la retención del sabor por más tiempo. La aplicación de 50-150 ppm en el café instantáneo produce un sabor más realzado y menos amargo. En la industria farmacéutica se utiliza a bajos niveles para enmascarar el sabor desagradable que poseen cierta variedad de ingredientes usados. En los últimos años se ha recomendado que se considere para ser usado en otros productos que se encuentran en el mercado como son los alimentos para animales o en productos para mascotas.^{24, 49}

La Unión Europea constituye el principal mercado y alcanza aproximadamente un 40 % de las ventas. El segundo lugar lo ocupa Japón con un 30 %, donde se utiliza principalmente en la alimentación humana. En este país en el año de 1997 se estimó su precio en 350 000 yenes por kilogramo y tuvo una demanda de 200 kg. En el mercado de los edulcorantes es conocida por el nombre de Talin^{® 21, 75, 24}.

La taumatina contribuye con el mismo aporte calórico que el de una proteína (4 kcal/g), pero el nivel de uso tan bajo hace que éste sea básicamente no calórico.^{23, 78}

Claves otorgadas por diversos organismos a nivel mundial.³
Taumatina

CAS No.:	53850-34-3
INS No.:	957
EEC No.:	957
JECFA No.:	957

5.4.1 Estudios de trayectoria metabólica

La taumatina fue examinada por JECFA en 1983 y 1986. En la última reunión, el Comité recibió datos que indicaban que la taumatina estaba compuesta únicamente por aminoácidos.

A continuación se presentan los resúmenes de los estudios acerca del metabolismo examinados por JECFA para la aprobación de la taumatina.

Núm. 1

Organismo de estudio: Ratas

Periodo 1 (10 días)	Dosis oral. Tipo de dieta.	Digestibilidad del nitrógeno	Digestibilidad de la taumatina	Efecto observado
Grupo 1	semi-sintética con 10 % de albúmina.	90 %	Igual al de la albúmina	-Se concluyó que la digestibilidad de la taumatina es por lo menos igual al de la albúmina de huevo. Sin embargo, el valor biológico de la taumatina fue menor que el de la albúmina de huevo, lo cual refleja la falta de histidina.
Grupo 2	5 % de albúmina y 5 % de taumatina	90 %	Igual al de la albúmina	
Periodo 2 (10 días)	Dosis oral. Tipo de dieta.	Digestibilidad del nitrógeno	Digestibilidad de la taumatina	
Grupo 1	5 % de albúmina y 5 % de taumatina	90 %	Igual al de la albúmina	
Grupo 2	Semi-sintética con 10 % de albúmina	90 %	Igual al de la albúmina	

Autor: (Edwards, et al., 1981)¹⁰¹

Núm. 2

Dosis oral x 90 días en ratas.	Efecto observado
1.0, 4.0 y 8.0 % / pc taumatina	- No se registraron muertes en ningún grupo. - El peso corporal ganado por las ratas macho alimentadas con 4.0 y 8.0 % de taumatina fue más bajo (6 %

<p>Controles dieta basal suplementada con caseína 8 % / pc</p>	<p>y 9 % respectivamente) que el registrado por los controles alimentados con caseína.</p> <ul style="list-style-type: none"> - El peso corporal ganado de las ratas hembra no se vio afectado por el tratamiento. - El consumo de alimento de las ratas machos y hembras que recibieron 4.0 y 8.0 de taumatina fue de 5-11 % más bajo que el registrado en los controles alimentados con caseína. - Se observó una reducción estadísticamente significativa (3.2 %, p < 0.05) en el contenido de hemoglobina en la sangre de las ratas hembras alimentadas con 8.0 % de taumatina. Sin embargo, los valores estuvieron dentro de los rangos normalmente para animales de edad y pesos similares. - Por lo que respecta a la composición química y celular en la sangre y la orina, estos no se vieron afectados por el tratamiento.
--	---

Autor: (Ben-Dyke, et al., 1986)¹⁰¹

Núm. 3

Dosis oral x 90 días en ratas	Órganos estudiados
<p>0.0, 0.3, 1.0 y 3.0 %/pc taumatina</p> <p>Grupo control dieta basal suplementada con caseína 8 %/pc</p>	<p>Hígado, riñones, corazón, bazo y el cerebro de todos los animales alimentados con 0.3 y 1.0 % de taumatina fueron examinados microscópicamente.</p>
Efecto observado	
<ul style="list-style-type: none"> - Durante el periodo de tratamiento, el peso corporal y el consumo de alimento fueron registrados semanalmente. - No se observaron signos visibles de reacción al tratamiento. - Ningún animal murió como resultado del tratamiento con taumatina. - Los pesos corporales de los machos alimentados con 3.0 % de taumatina, fueron 6 % más altos durante el periodo de estudio que aquellos registrados por los grupos de control. - Las hembras que recibieron 1.0 % de taumatina mostraron una reducción del 6 % en el peso corporal a partir de la 5ª semana. - El consumo de alimento de las hembras que recibieron 3.0 % de taumatina fue 7 % más bajo que aquel registrado por los controles a lo largo del periodo de tratamiento. - No se observó ningún efecto relacionado con el tratamiento en la ingesta del agua o en el examen oftalmoscópico. - En la semana 12 los análisis de sangre y suero de las ratas macho alimentadas con 1.0 y 3.0 % de taumatina mostraron incrementos significativos de 8 y 13 % en los hematocritos, respectivamente, así como reducciones significativas de 10 y 12 % en los hematocritos en las ratas hembra de los grupos de 0.3 y 1.0 %, respectivamente. - Se observó una reducción relacionada con la dosis en los niveles de triglicéridos de hasta 60 % en las hembras durante las semanas 4 y 12 del tratamiento. - Los análisis de orina no fueron afectados por el tratamiento. - En la necropsia no se observaron cambios relacionados con el tratamiento durante el examen macroscópico detallado de todos los animales. - Se observó un incremento de 8 % en el peso de los riñones de las hembras tratadas y, cuando se les relacionó con el peso corporal, el incremento fue del 13 %. - Los pesos de las tiroides fueron significativamente más altos en todos los grupos de machos tratados que en los controles y significativamente más bajos en todos los grupos de hembras tratadas, tanto en los pesos absolutos como cuando se les relacionó con el peso corporal. Los autores no consideraron que los cambios de los pesos de las tiroides fueran de significancia toxicológica debido a que el peso absoluto promedio en los machos del grupo de control fueron anormalmente bajos comparados con los valores de controles histórico registrados por el autor. Por otro lado, el promedio absoluto de los pesos de las tiroides de las hembras de control estuvieron dentro del rango esperado cuando se les comparó con los controles históricos dando un decremento aparentemente relacionado con el tratamiento en los pesos absolutos de las tiroides y relacionados con el peso corporal. - No se observaron cambios relacionados con el tratamiento en las secciones de los tejidos tomados de los controles y de los grupos suministrados con 3.0%, los cuales fueron examinados microscópicamente. - Un examen microscópico subsecuente de las tiroides de todos los animales no revelaron cambios relacionados con el tratamiento. 	

Autor: (Hiscox, et al., 1982, Wood, 1984)¹⁰¹

Núm. 4

Dosis oral x 90 días n perros	Órganos estudiados
<p>0.0, 0.3, 1.0 y 3.0 % p/c.</p>	<p>Al final del periodo de tratamiento, se llevó a cabo un detallado examen macroscópico y se registraron los pesos de: las glándulas renales, cerebro, corazón, riñones, hígado, pulmones, ovarios, pituitaria, próstata, bazo, testículos, tiroides y útero.</p> <p>-También se practicaron exámenes microscópicos en estos y en otros tejidos de todos los animales</p>
Efecto observado	
<ul style="list-style-type: none"> - Durante el periodo de tratamiento, el peso corporal fue registrado semanalmente y el consumo de alimento fue registrado diariamente. - No ocurrieron muertes y no hubo señales declaradas de reacción al tratamiento. - Los machos que recibieron taumatina mostraron un ligero incremento en el peso corporal en relación a los controles. - El consumo de alimento y la ingesta de agua no se vieron afectados por el tratamiento. -El examen oftalmoscópico no reveló ningún cambio que pudiera ser relacionado con el tratamiento. 	

- El examen de sangre durante las semanas 4 y 12 del tratamiento revelaron ligeros decrementos en las concentraciones de hemoglobina, conteo de eritrocitos y hematocritos en los machos alimentados con 3.0 % de taumatina. Sin embargo, los valores estuvieron dentro del rango establecido por los valores históricos de los controles.

- El examen bioquímico en sangre no reveló ningún efecto relacionado con el tratamiento y los exámenes de orina no se vieron afectados por el tratamiento.

- Al término del estudio la patología macroscópica no reveló ningún cambio relacionado con el tratamiento.

-Se observó un incremento en el peso absoluto del hígado (20 %) en los machos alimentados con 3.0 % de taumatina. Cuando se relacionó con el peso corporal, el peso de los órganos no mostró variaciones relacionadas con el tratamiento.

- El examen microscópico no reveló ningún cambio que los autores consideraran estar relacionado con la administración de la taumatina.

Autor: (Barker, et al., 1980)

Núm. 5

La prueba de los sueros para los anticuerpos a la taumatina a través de la técnica anafiláctica subcutánea pasiva en mandriles y monos rhesus no mostró ninguna reacción alérgica a la taumatina cuando fue suministrada tanto de manera oral como subcutánea. En la evaluación clínica no se identificó ningún efecto alérgico relacionado con el tratamiento. (Eaton, et al., 1981)⁶⁷

Observaciones en humanos

Núm.6 Hombres y mujeres

Diseño del estudio	Grupo	Periodo en días	Dosis Oral	Efecto observado
Antes de la evaluación se les aplicó a todos una prueba de alergias comunes donde se incluyó una solución de taumatina. Además, a siete de los diez voluntarios se les aplicó una segunda dosis de taumatina para determinar la posibilidad de que se pudiera presentar algún tipo de sensibilidad a la sustancia-prueba como resultado de los dos continuos suministros.	Prueba	14	100 mg de taumatina	- Al final del estudio se llevó a cabo un examen para determinar si alguna sensibilidad había ocurrido posterior a la ingesta de taumatina. No se determinó ninguna sensibilidad. -Se tomaron muestras de sangre al comienzo y después del periodo de 28 días del estudio. -No se observó ninguna manifestación alérgica.
	Control	14	100 mg de lactosa	

Autor: (Eaton, et al., 1981).^{101, 67}

Núm. 7 Hombres y mujeres

Grupo	Periodo en días	Vía Oral (Goma de mascar)	Dosis Diaria	Tiempo de mascado min.	Sensibilidad o irritación
Prueba	28	150 ppm de taumatina	5 barritas de 5.3 g	15	Ninguna
Control	28	Sin taumatina	5 barritas de 5.3 g	15	Ninguna

Autor: (McLeod et al., 1981)¹⁰¹

Núm. 8 Hombres y/o mujeres

Estudios realizados	Dosis oral Diaria X 13 semanas	Efecto observado
- Se llevó a cabo un estudio clínico para determinar los efectos de la taumatina en parámetros hematológicos y de bioquímica sanguínea. - Las muestras de sangre fueron tomadas y analizadas una semana anterior al comienzo de la prueba y a las 4, 8 y 12 semanas posteriores a la misma.	280 mg taumatina Controles 210 mg albúmina	- No se observó ningún cambio en la composición química o celular de la sangre cuando se les comparó con el grupo control con los que consumieron taumatina. - La ingesta suministrada de taumatina para estos individuos fue de 25 g, la cual es 140 veces la ingesta máxima estimada para un consumidor en ese periodo.

Autor: (Tompkins & Enticknap, 1984)¹⁰¹

Núm. 9

Se realizaron estudios de digestión de la taumatina *in vitro* con enzimas digestivas purificadas de mamífero, usando un sistema secuencial enzimático que simula el tracto digestivo humano con un sistema multienzimático y concluyeron que la taumatina se digiere más rápido que la albúmina de huevo (Hsu, et al., 1977; Higginbotham, 1978).¹⁰¹

5.4.2 Discusión

Albúmina de huevo	Taumatina
Alanina	Treonina (E)
Arginina (E)*	Alanina
Ác. Aspartico	α-Cisteina
Ác. Glutámico	Serina
Histidina (E)*	Ácido Aspartico
Isoleucina	Prolina
Leucina	Arginina
Lisina	Fenilalanina (E)
Metionina	Lisina (E)
Fenilalanina	Asparagina
Prolina	Valina (E)
Serina	Leucina (E)
Treonina	Isoleucina (E)
Valina	Tirosina
	Ácido Glutámico
	Glutamina
	Triptofano (E)
	Metionina (E)
	Glicina
E= esenciales	
E*=esenciales sólo en la niños	

El Comité examinó la taumatina en diversas reuniones donde se evaluaron varios estudios tanto en animales como en el hombre y observaron que se degrada de la misma manera que la albúmina de huevo. La digestibilidad del nitrógeno de ambos compuestos *in vitro* es similar. No se detectaron anticuerpos contra la taumatina, tampoco se observaron cambios relacionados con el tratamiento en un estudio en humanos voluntarios que consumieron 280 mg diarios de taumatina durante 13 semanas. La taumatina está aprobada sin alguna restricción. Este edulcorante proporciona ocho de los diez aminoácidos esenciales.⁵⁷

5.4.3 Conclusión

La taumatina es digerida como cualquier otra proteína: está compuesta de aminoácidos comúnmente encontrados en otros alimentos y no tiene cadenas secundarias de aminoácidos poco comunes, ni enlaces péptidos o grupos terminales atípicos.

5.4.4 IDA establecida por JECFA para la taumatina

JECFA estableció para la taumatina una IDA “no especificada”, lo cual significa que ésta puede ser usada de acuerdo con las Buenas Prácticas de Manufactura (GMP).

La taumatina está listada en la tabla III del Codex Estándar para Aditivos de Alimentos (GSFA).

Esto significa que está permitida para ser usada en alimentos en general, a menos que exista otra especificación, de acuerdo con GMP. La taumatina está autorizada como endulzante en el Parlamento Europeo y en la directiva del Consejo 94/35/EC del 30 de junio 1994 para ser usada en alimentos, así como enaltecedor del sabor en chicles, bebidas y postres bajo la Directiva 95/2/EC para aditivos diversos. La taumatina está también aprobada en todas las aplicaciones relacionadas con “preparaciones de saborizantes” en Europa, bajo la Directiva 88/388/EC. Cuando es usado como un edulcorante, es necesario darle seguimiento a los niveles máximos necesarios agrupados en diferentes categorías. Sin embargo, cuando es usado como un enaltecedor de sabor, la taumatina puede ser usada en cualquier tipo de alimento bajo las GMP.

Otras aprobaciones similares existen en Suiza, Estados Unidos, Canadá, Israel, México, Japón, Hong Kong, Corea, Singapur, Australia, Nueva Zelanda y Sudáfrica y muchas otras que están en proceso en otras partes del mundo. La taumatina está clasificada como una sustancia GRAS (Generalmente Reconocida como Segura) por la FDA de los Estados Unidos.¹¹³

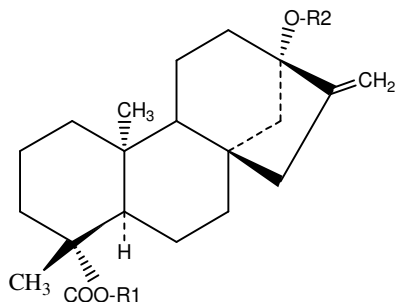
Estevia

5.5 Generalidades de la Estevia

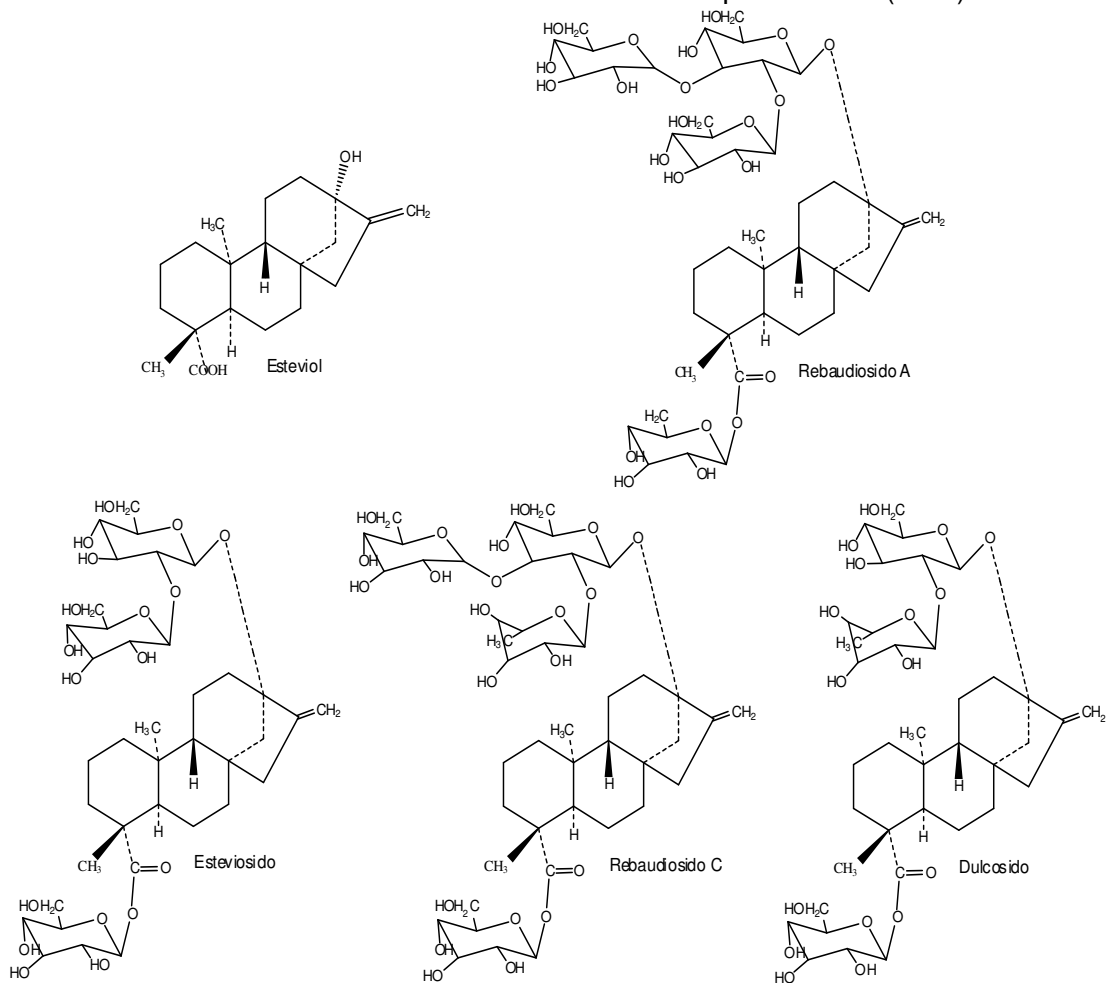
Desde tiempos precolombinos los indios guaraníes la llamaron “kaa-hee” que significa “hierba dulce” y la utilizaban para endulzar sus comidas y bebidas. Es nativa del valle de la Cordillera de Amambay, en la frontera de Brasil y Paraguay. Esta planta fue reportada en 1887 y clasificada en 1899 por el botánico suizo M.S. Bertoni (1857-1929), momento a partir del cual recibió el nombre científico de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Es una variedad de crisantemo, de un género integrado por alrededor de 300 especies y pertenece a la tribu *Eupatorieae* de la familia *Asteraceae* (de los girasoles). La planta puede llegar a tener una altura de 80 cm, una vez que ha completado su crecimiento. Pero las primeras investigaciones para identificar los componentes químicos empezaron a principios del siglo XX. El primer trabajo fue el de los investigadores franceses Bridel y Lavieille, quienes aislaron su principio activo denominado “esteviósido” en 1931. Todos estos son compuestos dulces en los niveles de concentración del esteviósido (10 % o más) y otros glucósidos dipertenos que se encuentran en las hojas secas de la *S. rebaudiana*.^{49, 114}

En un estudio donde se analizaron organoléptica y químicamente 110 especímenes de la estevia para detectar la presencia de componentes dulces, se encontró que el esteviósido estaba presente en la llamada *S. phlebophylla* A. Gray, una especie mexicana que pudiera ahora estar extinta.^{54, 49}

En 1952, un equipo de investigadores americanos dirigidos por los Drs. Hewit y Fletcher Jr determinaron la estructura química del esteviósido; el que resultó ser un glucósido diterpénico con un aglicón denominado esteviol esto fue reportado por Mosetting y Nes, 1955.^{49, 108}



Compuesto	R1	R2
1 Esteviol	H	H
2 Esteviolbíosido	H	β -Glu- β -Glu(2 \rightarrow 1)
3 Esteviosido	β -Glu	β -Glu- β -Glu(2 \rightarrow 1)
4 Rebaudiósido A	β -Glu	β -Glu- β -Glu(2 \rightarrow 1)
5 Rebaudiósido B	H	β -Glu(3 \rightarrow 1) β -Glu- β -Glu(2 \rightarrow 1)
6 Rebaudiósido C (Dulcósido B)	β -Glu	β -Glu(3 \rightarrow 1) β -Glu- α -Ram(2 \rightarrow 1)
7 Rebaudiósido D	β -Glu- β -Glu(2 \rightarrow 1)	β -Glu(3 \rightarrow 1) β -Glu- β -Glu(2 \rightarrow 1)
8 Rebaudiósido E	β -Glu- β -Glu(2 \rightarrow 1)	β -Glu(3 \rightarrow 1) β -Glu- β -Glu(2 \rightarrow 1)
9 Rebaudiósido F	β -Glu	β -Glu- β -Xyl(2 \rightarrow 1)
10 Dulcósido A	β -Glu	β -Glu(3 \rightarrow 1) β -Glu- α -Rha(2 \rightarrow 1)



Durante la década de 1970, investigadores japoneses de las Universidades de Hiroshima y Hokkaido identificaron otros compuestos edulcorantes en las hojas de estevia: los rebaudiósidos A, B, C, D y E, los glucósidos A y B y otros de menor importancia. El rebaudiósido A es el que presenta el mayor grado de dulzor (aproximadamente 350-400 veces más dulce que la sacarosa) y es por ello que se procura seleccionar ejemplares con altos contenidos de este componente.^{49, 120}

Dulzura de los compuestos análogos al Esteviósido

COMPUESTO	PODER EDULCORANTE
Rebaudiósido A	250-450
Rebaudiósido B	300-350
Rebaudiósido C	50-120
Rebaudiósido D	250-450
Rebaudiósido E	150-300
Dulcósido A	50-120
Esteviolbiónido	100-125

De esta manera, puede verse que el producto industrial extraído de la estevia es en realidad una combinación de varios glucósidos, cuyas cantidades varían en función del clima y del terreno, pero el esteviósido es el principal y más abundante componente. Su fórmula condensada es $C_{38}H_{60}O_{18}$.^{49, 108}

La estevia en su forma natural es de 10 a 15 veces más dulce que la sacarosa, mientras que los extractos pueden ser de 100 a 300 veces más dulces que esta. Por ej.: el extracto en forma líquida tiene un poder endulzante aproximadamente 70 veces mayor que la sacarosa, mientras que los extractos refinados de estevia, llamado esteviósidos (polvo blanco conteniendo 85 – 95 % de esteviósido), son de 200 a 300 veces más dulce que la sacarosa. La mayoría de los autores coinciden en que el esteviósido es 300 veces más dulce que la sacarosa y el rebaudiósido A es hasta 400 veces más. Posee características extraordinarias para potenciar la dulzura en diferentes formulaciones de alimentos, (productos lácteos, repostería, etc.) pero depende de cada tipo de alimento.^{49, 16}

Sin embargo, junto con el dulzor, del esteviósido, se presenta un sabor secundario y persistente definido como sabor a regaliz-mentol, el cual es detectable en altas concentraciones. Este sabor no deseado se puede enmascarar con la utilización de combinaciones de otras sustancias como la sacarosa, la glucosa, la fructuosa, el sorbitol y el

malitol, principalmente. Por otra parte, se sabe que puede manifestar un efecto sinérgico con el aspartame, ciclamato, acesulfame-k, pero no con la sacarina.^{23, 16}

Se ha observado que el esteviósido, durante la elaboración de alimentos, resiste el calor y es estable a las temperaturas habituales del proceso de alimentos. Tiene un punto de fusión de 238 °C, no presenta alteración de color (aún en condiciones rigurosas del proceso), es soluble en agua, alcohol etílico y metílico e insoluble en éter. Es estable a un pH de entre 3 y 9.^{96, 49}

La aceptación del esteviósido se ve reflejada en el aumento de su consumo en los mercados orientales, concretamente en Japón y Corea, donde se consumen alrededor de 450 tmvc/año y de 200 tmvc/año, respectivamente, pero además, hay otros países del lejano oriente, donde se produce y consume el esteviósido. En Latinoamérica se consume de forma habitual en dos países: en Brasil y Paraguay, donde se inició su industrialización. Los países interesados en la producción y/o industrialización de *Stevia rebaudiana* Bert incluyen a Alemania, Canadá y EU., lo que implica que se necesitarán grandes cantidades de materia prima para abastecer la demanda.^{16, 96, 49}

En el mercado se encuentran productos a base de esteviósido o extracto purificado de estevia, comercializados bajo diversas denominaciones o marcas comerciales. Actualmente los usos más destacados del esteviósido son en: bebidas, gomas de mascar, helados y bases para helados, alimentos de bajo contenido calórico, pikles (dulces japoneses), salsas y otros productos.^{16, 49}

5.5.1 Estudios de trayectoria metabólica

Principales productos de conversión de la estevia

JECFA evaluó la estevia en los años de 1999, 2000 y 2004, pero aún sigue en discusión. Se acordó que no estaba permitida para su uso por considerar que los estudios realizados para su aprobación eran escasos.

A continuación se presentan los resúmenes principales de los estudios del metabolismo de la estevia examinados por JECFA para su aprobación.

Núm. 1

Dosis oral única en ratas	Vía de excreción.	Efecto observado
125 mg/kg pc de ³ H-estevisido marcado	heces 68 % orina 26 %	<p>-Se alcanzó un máximo de concentración en la sangre de 4.8 µg/ml por 8 horas.</p> <p>-A las 4 horas, el nivel de concentración más alto se encontró en el intestino específicamente en el "el ciego" (280 µg/g estevisido equivalente).</p> <p>-A las 24 horas, las concentraciones de la sustancia marcada fueron bajas en la mayoría de los órganos, incluyendo la sangre, siendo de alrededor de 2 µg/g o ml de estevisido equivalente, excepto en el hígado (5.7 µg/g), glándula adrenal (12 µg/g), intestino delgado (8.8 µg/g), ciego (40 µg/g), intestino grueso (12 µg/g), y grasa (12 µg/g).</p> <p>-La vida promedio de eliminación fue de 24 horas.</p> <p>-A las 48 horas, 31 % del material marcado permaneció en el organismo.</p> <p>-A los 5 días, 68 % había sido excretado en la heces, 26 % en la orina.</p> <p>-En ratas cuyos ductos biliares fueron canalizados, la excreción biliar fue baja hasta las 24 horas, incrementándose rápidamente a partir de ese momento hasta alcanzar 41 % de la dosis después de 3 días.</p> <p>-Los autores concluyeron que el estevisido es absorbido muy lentamente del intestino y la mayor ruta de eliminación en las heces.</p>

Autor: (Nakayama, et al., 1986)¹⁰⁹

Núm. 2

Dosis intravenosa única en ratas	Vía de excreción	Efecto observado
1 mg/kg pc de ¹³¹ I-estevisido	35 % heces 35 % orina en 24 h	<p>-El material marcado en el plasma decreció rápidamente mostrando una distribución rápida en el organismo.</p> <p>-La concentración más alta después de la inyección se observó a los 10 y 120 minutos, en el hígado fue del 45 y 5 % y el intestino delgado de 18 y 66 %, respectivamente.</p> <p>-A los 120 minutos después de la inyección, el material marcado eliminado en la bilis representó el 52 % de la dosis original.</p> <p>El Comité consideró que este estudio fue de un valor limitado debido a la introducción de un átomo "grande" de ¹³¹I dentro del estevisido que pudo significativamente afectar su absorción, distribución, metabolismo y excreción en la bilis o en la orina.</p>

Autor: (Cardoso, et al., 1996)¹⁰⁹

Núm. 3 Dosis oral única en ratas 10 mg/kg pc de ³H-estevisido

Efecto observado
<p>-Se analizó el contenido del intestino, las heces y la bilis, por cromatografía de capa-fina, reveló que el estevisido es descompuesto por la flora intestinal, en esteviol y azúcares.</p> <p>-El estevisido fue detectado como el mayor componente en el estómago 1h después de su administración.</p> <p>-Después de 4 h en el intestino delgado, el estevisido, esteviolbioso (producido por la ruptura de la glucosa en la posición C-19 y el esteviol representaron 39, 17 y 5.1 % del material marcado, respectivamente.</p> <p>-Se encontró que el esteviol es el mayor metabolito en las heces, mientras que el estevisido y un metabolito no identificado no fueron cuantificables.</p> <p>-Los autores concluyeron que el estevisido administrado oralmente no es fácilmente absorbido desde la parte superior del intestino delgado, pero los metabolitos son formados principalmente por la flora bacteriana en el ciego y en la parte baja del intestino se absorben.</p> <p>-También concluyeron que la mayor parte del estevisido es excretado como esteviol en las heces.</p> <p>-El Comité concluyó más tarde que el esteviol fecal pudo también haber surgido de la no conjugación biliar con la flora intestinal.</p>

Autor: (Nakayama, et al., 1986)¹⁰⁹

Núm. 4 Dosis oral única en ratas 125 mg/kg pc

Efecto observado los análisis se realizaron por cromatografía de gases
<p>-Reveló que el estevisido es descompuesto por la flora del ciego de la rata en esteviol y azúcares.</p> <p>-El estevisido fue detectado como el mayor componente en el estómago 1 hora después de su administración. Después de 4 horas en el intestino delgado, en estevisido, esteviolbioso y el esteviol representaron 39, 17 y 5.1 % del material marcado, respectivamente.</p> <p>-Se encontró que el esteviol es el mayor metabolito en las heces, mientras que el estevisido y un metabolito no identificado no fueron cuantificables.</p> <p>-En la bilis, la mayoría del material marcado encontrado a las 24 horas fue el de un metabolito no identificado, el cual fue probablemente una conjugación del esteviol.</p> <p>-Los autores concluyeron que el estevisido administrado oralmente no es fácilmente absorbido desde la parte superior del intestino</p>

delgado, pero los metabolitos, formados principalmente por la flora bacteriana en el ciego, son absorbidos en la parte baja del intestino.
 -También concluyeron que la mayor parte del esteviósido es excretado como esteviol en la heces.
 -El Comité concluyó más tarde que el esteviol en las heces pudo también haber surgido de la conjugación biliar con la flora intestinal.

Autor: (Melis, 1992a)¹⁰⁹

Núm. 5

Dosis.		Efecto observado
[17- ¹⁴ C]-esteviol 3 mg/Kg pc tanto de forma oral como por una inyección directa en el ciego	Ratas ligadas del conducto biliar	-Después de la administración oral, el 1.5 % del material marcado fue excretado en la orina de las ratas sin ligar y 96 % en la ratas con sus ductos biliares ligados. Las cantidades correspondientes a las heces fueron 96 y 3.3 %.
	Ratas sin ligar	-Después de la administración directa en el ciego de 17- ¹⁴ C-esteviol a las ratas con sus ductos biliares ligados, 94 y 6 % del material marcado fue excretado en la orina y en la heces, respectivamente. -Cuando la bilis fue recolectada a las 72 horas, todo el material marcado inyectado en el ciego fue recuperado. -Los autores concluyeron que el esteviol es completamente absorbido en el intestino grueso de la rata.

Autor: (Wingard, et al., 1980)¹⁰⁹

Núm.6

Los análisis de espectrometría de masas y de cromatografía gases del esteviol, junto con algunos patrones análogos con características que reflejan la diferencia de estereoquímica y variaciones en la naturaleza de los sustituyentes presentes fueron usados para identificar varios metabolitos del esteviol, los cuales se sabía producían una respuesta mutagénica en la cepa *Salmonella typhimurium* TM677 con activación metabólica. Después de una incubación con una fracción derivada de los hígados de 1 254 ratas pretratadas, el esteviol sin cambio fue el componente predominante y se encontraron 9 metabolitos. Las principales rutas del esteviol en el metabolismo de mamíferos probaron la oxidación alílica y epoxidación. El 15 alfa-hidroxiesteviol representó 67 % de los metabolitos del esteviol in vitro (Compadre et al., 1988).

Núm. 7 Dosis única en ratas vía intravenosa 1 mg/kg pc ¹³¹I-esteviósido

Efecto observado
-Los resultados de la cromatografía de líquidos de alto rendimiento de fase inversa (RP-HPLC) de la bilis mostró que el esteviósido había sido degradado <i>in vivo</i> y que el esteviol era el principal metabolito (47 % del material marcado); 37 % del material marcado fue esteviósido y el restante 15 % fue un metabolito no identificado. -El análisis de la RP-HPLC de la orina realizado 90 minutos después de la inyección mostró la presencia del esteviósido y del mismo metabolito no identificado en la bilis. -Los autores concluyeron que el esteviósido es metabolizado en hígado de la rata en esteviol, el cual es excretado a través de la bilis y que una degradación similar ocurría en los humanos. -El Comité concluyó que había una explicación alternativa: el esteviósido es segregado en la bilis a esteviol por la flora intestinal y es reabsorbido en el intestino delgado. -El Comité consideró que este estudio era de valor limitado debido a la introducción de un átomo "grande" en el esteviósido podría afectar significativamente su absorción, distribución, metabolismo y excreción en la bilis u orina.

Autor: (Cardoso, et al., 1996)¹⁰⁹

Núm. 8

Dosis en ratas	Condiciones del estudio	Efecto observado
0.16 y 0.4 mg/ml ¹³¹ I-esteviósido	Fue inyectado directamente en hígado y recirculado por 2 horas.	-La formación de productos de la hidrólisis especialmente esteviol, fue investigada cromatográficamente, dando resultados negativos. -Los autores concluyeron que la transformación metabólica reportada del ¹³¹ I-esteviósido inyectado vía intravenosa es o una característica específica de este derivado o depende de factores que están ausentes en el hígado de la rata. -El Comité concluyó que la explicación más probable del hecho de fue la introducción de átomo "grande" ¹³¹ I alteró su comportamiento farmacocinético y que el esteviósido es segregado en la bilis <i>in vivo</i> y es degradado a esteviol por la flora intestinal.

Autor: (Ishii-Iwamoto & Bracht, 1995)¹⁰⁹

Núm. 9

Dosis oral en ratas	Condiciones del estudio	Efecto observado
0.0, 160, 310, 630, 1300 y 2500 mg/kg pc por día esteviósido	El estudio se llevó a cabo para determinar las dosis apropiadas para un estudio de 2 años de carcinogenicidad. Las ratas fueron colocadas aleatoriamente en 6 grupos, cada uno conteniendo 10 ratas machos y 10 hembras.	-Ninguno de los animales murió durante el periodo de administración y no hubo diferencia en peso corporal adquirido entre los controles y los grupos tratados durante la administración o en el consumo de alimento en la última parte del estudio. -La actividad de la deshidrogenasa láctica y la aparición de células simples con necrosis en el hígado se incrementó en todos los grupos de machos tratados. -Los autores consideraron que estos efectos no fueron especificados debido a la falta de relación clara entre la respuesta y la dosis, la relativamente baja la severidad y su limitación a los machos. -Otras diferencias estadísticas significativas en parámetros hematológicos y bioquímicos fueron también considerados como de menor importancia toxicológica. -Los autores concluyeron que una concentración del 2500 mg/kg pc en la dieta era una dosis máxima tolerable apropiada de esteviósido para un estudio de 2 años en ratas.

Autor: (Aze, et al., 1991)

Núm. 10

Dosis oral en ratas	Condiciones del estudio	Efecto observado
650 mg/kg pc esteviósido	Previo ayuno de 24 h	El esteviósido solo o complementado con fructuosa incrementó la degradación de glucógeno inicial en el hígado.
81 y 160 mg/kg pc esteviósido	Previo ayuno de 24 o 48 h	-Se encontraron incrementos en las concentraciones de glucógeno hepático a las 48 h (1 mmol/L) y a las 24 h (2 mmol/L). -Los autores concluyeron que el esteviósido estimula la síntesis de glucógeno hepático bajo condiciones gluconeogénesis.

Autor: (Hübler, et al., 1994)¹⁰⁹

Núm. 11

Dosis oral en ratas y hamsters	Condiciones del estudio	Efecto observado
0.0, 500, 1 000, y 2500 mg/kg pc por día, de estevisido (pureza: 90%)	-Cada hembra fue cruzada y se le permitió tener 3 crías durante el experimento. Las hembras en gestación y durante la lactancia (1 mes) recibieron esteviósido en agua. -Dos meses después de que se destetara a las crías, las hembras fueron cruzadas nuevamente. No se encontraron anomalías en el crecimiento o la fertilidad de los animales en ambos sexos. -Todos los machos se cruzaron con las hembras de forma eficiente y exitosa. Las hembras mostraron ciclos de apareamiento normales de 4 días y quedaron preñadas después del cruzamiento. -La duración de la gestación, número de fetos y número de crías no fue significativamente diferente de la mostrada por los controles. -Cuarenta hamsters de cada sexo de la primera y segunda camada fueron divididos en 4 grupos después de destetarlos y suministrarles esteviósido en las mismas dosis que sus progenitores. Estos animales también mostraron un crecimiento y fertilidad normales.	-El examen histológico de los tejidos reproductivos de los animales de las tres generaciones no reveló anomalías que pudieran estar ligadas al tratamiento. - Los autores concluyeron que el esteviósido en dosis de hasta 2 500 mg/kg pc por día no afectó ni el crecimiento ni la reproducción de los hamsters o ratas.

Autor: (Yodyingyuad & Bunyawong, 1991)¹⁰⁹

Núm. 12

Dosis oral en ratas	Condiciones del estudio	Efecto observado
0.0, 150, 750 y 3 000 mg/kg pc por día. esteviósido (pureza: 96 %)	-Los machos por 60 días antes y durante la cruce. -Las hembras recibieron la misma dieta por 14 días antes de la cruce y por 7 días, durante la gestación.	-Las ratas de cada sexo del grupo de dosis más alta presentaron un ligero decremento en el peso corporal. -No hubo ningún efecto relacionado con el tratamiento durante el desarrollo de la cruce o en la fertilidad y no se observaron malformaciones en los fetos. -Los autores concluyeron que el esteviósido no tuvo efectos adversos en la fertilidad o en el desarrollo de los fetos.

Autor: (Mori, et al., 1981).¹⁰⁹

Núm. 14

Dosis oral en ratas	Condiciones del estudio	Efecto observado
-La dosis de esteviol fue complementada simultáneamente con fructosa	24 h de ayuno.	-Bajo estas condiciones, el esteviol incrementó la deposición inicial de glucógeno en el hígado.
Cuando 255 mg/kg pc de esteviol fue administrado en agua 32 y 64 mg/kg pc,	24 y 48 h de ayuno	-Al comienzo del periodo de ayuno de 24 y 48 horas, no tuvo efecto en las concentraciones de glucógeno hepático.

Autor: (Hübler, et al., 1994)¹⁰⁹

5.5.2 Discusión

En los estudios evaluados por JECFA se observó que después de dosis orales en ratas, el esteviósido no se absorbe rápidamente en el intestino delgado, sino que se hidroliza en esteviol en el intestino grueso. Cuando se realizaron estudios para observar como participaba la bilis en la digestión del esteviol, se encontró que no es completamente absorbido y es excretado como conjugados hidrolizados en la bilis y sólo una muy pequeña fracción es detectable en la orina. El esteviósido es principalmente eliminado en las heces como esteviol y es el único metabolito detectado. La vida promedio de eliminación es de 24 horas. Después de la administración intravenosa, el esteviósido es rápidamente distribuido en el cuerpo, se elimina a través de las nefronas del riñón y se excreta en la orina.

La administración oral de un esteviósido a ratas por 2 años en dosis de 2 500 mg/kg pc por día en machos y hembras no tuvo ningún efecto significativo y en una concentración dietética de 5 000 mg/kg pc del esteviósido se observó una la tasa de sobrevivencia normal y una reducción en el peso corporal. No hubo indicación de potencial carcinogénico en el estudio de largo plazo, ni tampoco evidencia de promover tumores de vejiga. El esteviósido tiene muy baja toxicidad aguda vía oral.

Los estudios analizados por JECFA sobre el metabolismo del esteviósido principalmente se llevaron a cabo en ratas y se observó la eliminación de nueve compuestos los cuales no fueron identificados.

Estudios más recientes se han realizado en otras especies incluyendo el hombre, donde se ha observado que el esteviósido vía oral no es absorbido por el cuerpo, o bien, que la ingesta es demasiado baja y ninguna de las enzimas digestivas del tracto gastrointestinal fue capaz de degradar esteviósido a esteviol. Sin embargo, en experimentos de alimentación con ratas y hamsters, el esteviósido fue metabolizado en esteviol por la flora bacteriana del ciego.¹²⁴

El esteviol también se ha encontrado en la sangre de los animales administrados con estevia después de 8 h, pero en los estudios citados, no se indicó si existió coprografía en los roedores o que fuera prevenida, de tal forma que no está claro si el esteviol encontrado en la sangre se absorbió directamente del colon o indirectamente de las heces ingeridas, después de pasar a través de los intestinos de nueva cuenta.^{126, 127} Aunque las bacterias aisladas del colon humano fueron capaces de transformar esteviósido en esteviol *in vitro*, no ha sido probado que esto también sea el caso *in vivo* ni que el esteviol posiblemente formado en el colon fuera absorbido directamente ahí.^{126, 128} Además, los estudios con gallos y pollos indicaron que el esteviósido fue rápidamente eliminado del cuerpo y en su mayoría sin cambio. Al contrario de estos resultados, el esteviósido administrado oralmente a cerdos fue completamente degradado a esteviol que fue el único metabolito en las heces. Sin embargo, no se encontró ningún rastro de esteviósido ni de esteviol en la sangre. De las referencias citadas se concluye que sólo las bacterias del ciego o del colon son capaces de degradar el esteviósido a esteviol (ciego de ratones, ratas, hamsters y pollos, colon de cerdos y humanos). En un experimento *in vitro*, las bacterias del colon humano también formaron epóxido de esteviol que fue de nuevo metabolizado en esteviol. Sin embargo, *in vivo*, esta formación de epóxido muy probablemente no ocurrirá debido a las condiciones anaeróbicas del colon humano. Se concluyó que el esteviol es el único metabolito en las heces y que éste no será metabolizado posteriormente.^{129, 130, 126}

En otro trabajo que se contrastó con los anteriores, se encontró, además de esteviósido y esteviol, esteviol-16, 17 α -epóxido, 15 α -hidroxiesteviol, isoesteviol y esteviolbiósido en las heces a las 24 horas después de administrar a hamsters oralmente con 1 gramo de esteviósido/kg pc. En la orina se encontró esteviol-16,17 α -epóxido, esteviósido, 15 α -hidroxiesteviol, esteviolbiósido y isoesteviol.^{129, 131}

Por otra parte y en otro estudio, se encontró que en los cromatogramas, no es posible deducir las cantidades de metabolitos encontrados. Dado que todas las fracciones del extracto fueron tratadas con el tipo H-5 -glucuronidasa/sulfatasa a 55 °C por 3 horas, algunos de los metabolitos pudieran haberse originado probablemente de este tratamiento. El esteviol fue el único metabolito del esteviósido cuando se incubó la bacteria del ciego del hamster. Además, es poco probable que los compuestos como esteviol-16,17 α -epóxido o el 15 α -hidroxi-steviol sean formados en el intestino anóxico de los hamsters. El Isoesteviol pudiera ser un artefacto debido a las condiciones ácidas y no es normalmente detectado, incluso

después de la incubación del esteviósido en el jugo gástrico humano por 6 horas.^{129, 128, 132}

5.5.3 Conclusión

El esteviol es rápidamente absorbido en el estómago o en el intestino delgado, donde la mezcla de estevia es degradada a esteviol por la microflora intestinal y entonces absorbida (probablemente en el intestino grueso) en ratas. No se ha identificado un lugar preferencial para la absorción del esteviol (entre el duodeno y el íleon). En estudios en humanos, la absorción del esteviol en el intestino puede ocurrir de manera análoga a su absorción en el intestino de la rata debido a que no muestra diferencias importantes entre el metabolismo oxidativo del esteviol en los humanos y las ratas. La extrapolación de la información de toxicidad acumulada en las ratas al escenario de exposición del ser humano puede, por lo tanto, considerarse válida. Sin embargo, se sigue investigando y, hasta entonces, JECFA no lo aprobará para su uso en alimentos.

5.5.4 IDA establecida por JECFA para la estevia

No se ha determinado una IDA.

▣ Los estudios de la toxicidad del esteviósido suministrado en dosis únicas a roedores está resumido en la siguiente tabla. No se ha observado que sea letal 14 días después de su administración y no se encontraron signos clínicos de toxicidad o cambios histopatológicos o morfológicos.¹⁰⁹

Toxicidad Aguda del esteviósido (96% de pureza) administrado oralmente a roedores			
organismo de prueba	Sexo	DL ₅₀ (g/kg pc)	Referencia
Ratones	Machos y hembras	>15	Toskulkao, et al. (1997)
Ratones	Machos	>12	Medon, et al. (1982)
Ratas	Machos y hembras	>15	Toskulkao, et al. (1997)
Hamsters	Machos y hembras	>15	Toskulkao, et al. (1997)

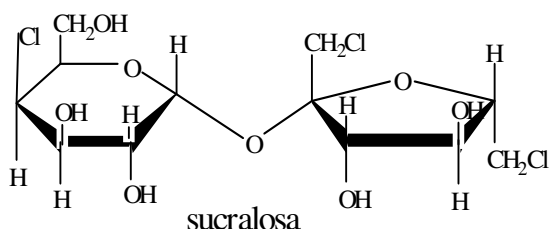
Sucralosa

5.6 Generalidades de la Sucralosa

La sucralosa se descubrió por error en 1976 por el estudiante hindú Shashikant Phadnis y su supervisor Leslie Houghn del Queen Elizabeth College de Londres cuando trataban de obtener azúcares clorados para utilizarlos como intermediarios en una síntesis orgánica. Phadnis degustó la sustancia obtenida al confundir la petición “testing” por “tasting” en la técnica de los azúcares halogenados, expresando que dicha sustancia era extremadamente dulce. La azúcarera británica Tate & Lyle retomó la síntesis del compuesto y experimentó la halogenación selectiva de la molécula de sacarosa, escogiendo la que presentaba mayor estabilidad y dulzor y a la cual nombraron sucralosa.

En 1980, Tate & Lyle vendieron los derechos de manufactura a la farmacéutica Johnson & Johnson, la cual creó una nueva compañía – McNeil Nutritionals LLC – que se hizo responsable de la producción y venta de la sucralosa, la cual fue comercializada con el nombre de Splenda®.^{96, 143}

Se le ha nombrado sucralosa al compuesto químico 1,6-dicloro-1,6-dideoxi-β-D-fructofuranosil-4cloro-4deoxi-α-D-galactopiranosido, aunque se le llama también triclorogalactosacarosa ó 4,1',6'-triclorogalactosacarosa (TGS). Es el único edulcorante que



se obtiene a partir de la sacarosa. El proceso consta de 5 etapas donde se sustituyen selectivamente tres átomos de grupos hidroxilo por tres átomos de cloro en la molécula de sacarosa, dando como producto final la sucralosa con una pureza aproximada del 98 %.^{145, 148}

La sucralosa tiene un peso molecular 397 g/mol y su fórmula condensada es C₁₂H₁₉Cl₃O₈. Es un polvo blanco cristalino, inodoro, su punto de fusión es de 130 °C., con un poder edulcorante que varía según la literatura. Algunas veces se le considera 600 veces más dulce que la sacarosa, otras de 320 a 1000 veces el dulzor de la sacarosa, aunque para fines prácticos se considera en un intervalo de 400-750 veces más dulce que la sacarosa.

Sin embargo, como sucede con todos los edulcorantes, su dulzor relativo varía con el pH, la temperatura, la concentración y la mezcla de los demás ingredientes. Se considera un dulzor de 450 veces cuando se le compara con una concentración equivalente al 10 % de sacarosa y 650 veces comparada con una solución de 5 % de sacarosa. Es hidrosoluble al igual que la sacarosa, su solubilidad a 20 °C es de 260 g/l en agua y es poco soluble en lípidos. El dulzor de la sucralosa es similar al de la sacarosa sin regustos o resabios, pero la intensidad del dulzor perdura por más tiempo.^{16, 49, 96}

La sucralosa se utiliza en mezclas con azúcar u otros edulcorantes y ha mostrado ser resistente a las temperaturas altas, lo que permite su horneado y cocción. Se utiliza en panadería, repostería, gelatinas, mermeladas, alimentos procesados, bebidas no alcohólicas, bebidas gaseosas, jugos envasados, frutas procesadas, lácteos, goma de mascar, cereales para desayuno, salsas, etc. Para facilitar el uso como endulzante de mesa se mezcla con maltodextrina.^{148, 148}

Se conserva durante largos períodos de tiempo en estado sólido, es estable en soluciones con diferentes pH. Sin embargo, bajo determinadas condiciones de almacenamiento, extrema acidez y altas temperaturas, puede producirse hidrólisis parcial. Al hidrolizarse, se obtienen los monosacáridos: 4-cloro-4-deoxi-galactosa (4-CG) y 1,6-dicloro-1,6-dideoxifruktosa (1,6-DCF).^{145, 96}

La sucralosa tiene sinergismo con otros edulcorantes de alta intensidad como el ciclamato y el acesulfame-K, pero su intensidad se reduce con el aspartame y la sacarina.

Claves otorgadas por diversos organismos a nivel mundial

Sucralosa

CAS No.:	56038-13-2
INS No.:	955
EEC No.:	955
JECFA No.:	955

5.6.1 Estudios de trayectoria metabólica

JECFA evaluó por primera vez la sucralosa en su 33ava. reunión en 1989, cuando se estableció una IDA temporal, basada en un nivel de efecto adverso no observado de 750 mg/kg pc/día en un estudio de un año en perros con un factor de seguridad de 200. Se

publicó una monografía toxicológica que cubrió los estudios disponibles en ese tiempo y en los años 1990 y 1993. JECFA solicitó mayor información acerca de la absorción y el metabolismo en humanos después de una dosificación oral prolongada, así como los estudios de bioacumulación y los estudios acerca de sus constituyentes monosacáridos 4-clorogalactosa (4-CG) y 1,6-dicloroalfructosa (1,6 DCF), los cuales son los intermediarios en el metabolismo de TGS. En la reunión en 1991 los estudios entregados fueron considerados aptos para determinar una IDA.^{147, 149}

A continuación se presentan los resúmenes de los principales estudios del metabolismo de la sucralosa examinados por JECFA para su aprobación.

Núm.	Dosis intravenosa única en ratones	Vía de excreción.	Efecto observado
1 ^a	¹⁴ C-TGS (20 mg/kg)	orina heces	-En 3 de las 4 parejas de animales, la tasa de excreción de la dosis a través de la orina durante cinco días estuvo por encima del 80 %. -El remanente de la dosis fue excretado en las heces. -En general, estos datos indicaron que alrededor del 10 y 20 % de la dosis fue probablemente excretada vía bilis en las heces.
1b	oral ¹⁴ C-TGS 100 mg/kg pc a ratones	heces	-Los perfiles de excreción fueron similares en ambos sexos con un total del 60-75 % de la dosis excretada en heces y 20-25 % en la orina durante 5 días. -El total excretado en la orina representa un mínimo para la magnitud de la absorción de la dosis ya que no toma en cuenta la proporción de la dosis absorbida excretada a través de la bilis.
1c	¹⁴ C-TGS dosis de 1 500 y 3 000 mg/kg pc, oral ratones	heces	Los perfiles de excreción en heces y orina fueron muy similares a los encontrados en los niveles de dosis de 100 mg/Kg pc.

Autor: (Hawkins, et al., 1987c)¹⁴⁵

Núm. 2 Dosis única en ratas, intravenosa, ³⁶Cl-TGS 20 mg/kg

Vía de excreción.	Efecto observado
aproximadamente el 9 % de la radioactividad fue eliminada en las heces y el 83% en la orina en 48 h.	-La distribución de la radioactividad a los 15, 30, 60 y 360 min después de la administración de la dosis indicó que la TGS fue localizada principalmente en el hígado, sangre, riñones y en el intestino delgado a los 15 min, con algunas asociaciones con el cartílago intercostal e intervertebral. -No hubo evidencia de absorción en el sistema nervioso central en ningún momento posterior a la inyección. -La distribución fue cualitativamente similar a los 30 y 60 minutos. -La concentración en los órganos, a excepción del intestino grueso, se redujo sustancialmente 6 horas después de la inyección.

Autor: (Daniel, 1987^a).¹⁴⁵

Núm. 3 Organismo prueba: ratas machos y hembras preñadas

Dosis	Condiciones del estudio	Efecto observado
100 mg/kg ³⁶ Cl-TGS administración intragástrica por sonda.	Dos animales de cada sexo fueron sacrificados a los 30 y 60 minutos y a las 2, 4, 6, 7.5, 24 y 48 horas después de la dosis.	-La mayor parte de la radioactividad en cada intervalo se localizó en el lumen del intestino grueso y delgado. -Los niveles en el plasma en ambos sexos fueron alcanzados dentro de la primera hora después de la dosificación. Los niveles de radioactividad en todos los otros tejidos, con excepción del hígado y los riñones, uniformemente bajos. -La radioactividad presente en los fetos, ovarios, placenta, útero y fluido amniótico de las ratas hembras preñadas siempre se mantuvo por debajo de los niveles en el plasma.

Autor: (Daniel, 1987a)¹⁴⁵

Núm. 4 Organismo de prueba: ratas macho y hembra adultos

Dosis Intravenosa y oral	Efecto observado
^{14}C -TGS 10 y 2 mg/kg	<p>-La orina y las heces fueron recolectadas hasta 4 días después de la dosis.</p> <p>-El total recuperado de ^{14}C para la dosis oral fue de 97.5 % (en un rango 92.4-101.4 %), siendo en las heces donde se encontró más radioactividad: 92.6 % (con un rango 87.6-95.4 %).</p> <p>-El remanente fue eliminado en la orina (5.29 %); (en un rango 4.69 - 5.94) y en el lavado de las jaulas (1.2 %).</p> <p>-La excreción de ^{14}C fue rápida, con una eliminación promedio de 86.2 % durante las primeras 24 h.</p> <p>-El total recuperado de ^{14}C para la dosis intravenosa fue del 97.4 % (rango 90.7- 102.0 %) siendo en la orina donde se encontró mayor radioactividad: 76.5 % (rango 67.7 – 82.2 %) con un remanente ocurrido en las heces de 16.1% (rango 14.5 -17.4) y en el lavado de las jaulas (4.8 %). Al igual que en la dosis oral, la excreción de la dosis fue rápida, con un promedio de 89.5 % de la dosis eliminada en las primeras 24h.</p>

Autor: (Roberts et al., 1987)¹⁴⁵

Núm. 5. Organismo prueba: conejas preñadas y no preñadas

Dosis orales únicas	Vía de excreción.
^{14}C -TGS de 10 mg/kg,	<p>-Los totales promedio de recuperación de la radioactividad en la orina y las heces de las conejas no preñadas y preñadas después de 5 días representaron 80.3 y 87.0 % de la dosis respectivamente. El restante de la dosis siguió siendo excretado.</p> <p>-El 84 % de la dosis fue excretada durante 96-120 h posteriores a la dosificación.</p> <p>-No se registraron diferencias notables en la absorción y excreción de las dosis orales de ^{14}C-TGS entre las conejas preñadas y no preñadas.</p>

Autor: (Hawkins et al., 1987b).¹⁴⁵

Núm. 6 Dosis únicas orales de ^{14}C -TGS 10 mg/kg pc en perros

Vía de excreción	Efecto observado
<p>-La excreción en las heces alcanzó promedios de 65.9 % de la dosis, durante las 24 h, incrementándose a 68.4 % de la dosis después de 5 días.</p> <p>-La excreción de la radioactividad en la orina alcanzó promedios de 13.8 %, 22.3 % y 26.5 % de la dosis durante 6, 12 y 24 horas después de la dosis respectivamente incrementándose a 27.6 % de la dosis después de 5 días.</p>	<p>-Las máximas concentraciones de radioactividad en el plasma se registraron después de 1 h.</p> <p>-Después del tiempo de las máximas concentraciones, la radioactividad mostró un decremento multiexponencial, llegando a un promedio de 0.242 μg equivalentes/ml después de 12 h y, después de 96 h, se encontraron cerca o por debajo de los límites de determinación precisa en todos los animales.</p>

Autor: (Shepard & Rhenius, 1983).¹⁴⁵

Núm.7 Dosis intravenosa de 20 mg/kg de ^{14}C TGS en ratones

Vía de excreción	Efecto observado
<p>-Los perfiles de la radioactividad en la orina y en las heces fueron examinados por cromatografía La TGS marcada con ^{14}C sin cambio fue el mayor compuesto radioactivo tanto en la orina como en las heces de ambos sexos, generalmente representando más del 98 % de la radioactividad en la orina.</p>	<p>-La radioactividad remanente fue asociada con varios componentes menores, incluyendo el material polar cromatográficamente vinculado al origen de la placa de TLC y dos componentes (A y B), cromatográficamente más polar que la TGS.</p> <p>El componente B estuvo más presente en la orina de los ratones hembras.</p>

Autor: (Hawkins, et al., 1987c)¹⁴⁵

Núm. 8

Dosis en ratas	Efecto observado
Únicas orales de ^{14}C TGS 10mg/kg pc	<p>-El análisis cromatográfico en la orina reveló la presencia de pequeñas cantidades de metabolitos marcados además del TGS. El material ajeno al TGS, el cual representó una promedio de $0.5 \pm 0.3\%$ de la dosis (en las muestras de orina de las 0-24 h) fue disuelto en dos componentes separados tanto para los machos como para las hembras en amoníaco conteniendo solvente de la TLC</p> <p>-El mayor componente radioactivo en la orina correspondió al TGS sin cambio alguno.</p>

Autor: (Roberts, et al., 1987)¹⁴⁵

Núm. 9 Dosis únicas intravenosas de 2mg/kg ^{14}C -TGS ratas

Efecto observado
<p>- El análisis cromatográfico de la orina reveló la presencia de pequeñas cantidades de metabolitos marcados además del TGS. El material ajeno al TGS, el cual representó un promedio de $1.8 \pm 0.9\%$ de la dosis (en las muestras de orina de las 0-24 h) fue disuelto en uno o dos componentes separados tanto para los machos como en las hembras en un solvente TLC con amoníaco.</p> <p>- Los análisis cromatográficos de las heces de los animales a los que se les dio una dosis intravenosa mostraron que todas las muestras contenían un sólo pico de actividad de ^{14}C que correspondió al TGS.</p>

Autor: (Roberts, et al., 1987)¹⁴⁵

Núm. 10 Dosis orales en ratas

Condiciones del estudio	Estudios realizados
-Una dosis oral de ¹⁴ C-TGS 100 mg/kg, fue administrada a ratas macho y hembra que habían sido alimentadas por 26, 52, 83, y 85-87 semanas con una dieta que contenía 3 % de TGS o una dieta control.	-La orina y las heces fueron analizadas para determinar la radioactividad en cada periodo. -La orina fue analizada con cromatografía de capa fina a las 26, 52, 85-87 semanas, mientras que las heces fueron recolectadas durante 85-87 semanas.
Efecto observado	
<p>-Aproximadamente el 7 % de la radioactividad fue excretada en la orina y el 80 % en las heces.</p> <p>-El análisis cromatográfico en la orina a las 26 y 52 semanas reveló la presencia de solamente un componente radioactivo.</p> <p>-El examen en la orina y las heces en las semanas 85-87 indicaron que 97 % de la radioactividad en las muestras de las 0-48 horas fueron de TGS. La evidencia de la absorción de TGS de la dieta fue provisto por los análisis químicos cuantitativos de TGS practicados en la orina de los animales previamente expuestos a la dieta de control y a la dieta que contenía TGS.</p> <p>-Se administró una dosis única marcada de TGS vía oral después de un ayuno nocturno y aproximadamente 4 horas antes de restituir de la dieta control o de la dieta no marcada de TGS. Las concentraciones de TGS en la orina de los animales que recibieron dietas con TGS fueron mayores que la de los controles y mayores de lo que se pudo haber inferido de los análisis químicos, el incremento se explicó por la absorción de TGS de la dieta.</p> <p>-Se concluye que una dosis oral de TGS es eliminada esencialmente sin cambios en la orina y las heces. No se encontró evidencia de la adaptación metabólica a la TGS en las ratas macho o hembras que siguieron un tratamiento dietético crónico del 3 % por más de 18 meses.</p>	

Autor: (Rhenius, et al., 1986)¹⁴⁵

Núm. 11 Organismo de estudio perros, Dosis Oral ¹⁴C-TGS 10 mg/kg e intravenosa 2mg/kg.

Efecto observado
<p>-Los análisis cromatográficos de la radioactividad en la orina del perro indicaron que la TGS sin cambio fue el mayor componente después de una administración tanto oral como intravenosa.</p> <p>-Después de la dosificación oral, la TGS sin cambio representó 53-79 % de la radioactividad de las muestras.</p> <p>-En el resto de las muestras se encontró un metabolito.</p> <p>-Después de la dosificación intravenosa se eliminó, aproximadamente 90 % de la radioactividad en la muestra de orina de 0-3 h, hubo un decremento de la eliminación de la radioactividad de las muestras en orina de TGS sin cambio, del 54-74 % 3-6 h y 54-68 % de 6-12 h.</p> <p>-El componente A fue el único metabolito notable detectado en la orina de los animales dosificados de forma intravenosa. Este componente representó alrededor del 15-20 % de la dosis intravenosa y alrededor de 2-8 % de la dosis oral.</p> <p>- La eliminación de la radioactividad en las heces después de las dosis orales fue casi totalmente a la TGS sin cambio. El componente A no fue detectado.</p> <p>-El mayor metabolito de la TGS encontrado en la orina fue aislado y purificado por cromatografía de capa fina y por cromatografía de líquidos y fue identificado, usando espectrometría de masas, como un ácido glucurónico conjugado de TGS. La evidencia del espectro de la masa indicó que el ácido glucurónico fue colocado en la "mitad" 4-cloro-4-deoxigalactopiranosil, aunque la posición exacta de la conjugación permanece ambigua. Es posible que la TGS pueda ser conjugada en la posición del carbono 2,3 o 6.</p>

Autor:(Hawkins, et al., 1986)¹⁴⁵

Núm. 12. Organismo prueba ratas lactantes

Dosis	Efecto observado
Oral ³⁶ Cl-TGS 100 mg/kg por 16 días después del parto.	<p>-Los análisis en leche indicaron que los niveles de radioactividad de 0.06, 0.05, 0.13, 0.17, 0.11 y 0.08 µg equivalentes /0.1 ml a 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, y 24 horas, respectivamente.</p> <p>-Solamente los valores para las 2, 3, y 4 horas fueron consideradas significativas, el resto se mantuvo en los límites de detección.</p> <p>-Un promedio de 7.5 % (rango de 4.6 a 9.5 %) de la dosis fue excretada en la orina en 48 h de lo cual aproximadamente 10 % fue atribuido al cloro inorgánico.</p>

Autor:(Daniel, 1987a)¹⁴⁵

Núm. 13. Organismo prueba Monos (marmosets).

Condiciones del estudio	Efecto observado
Dos grupos de monos de tres machos recibieron cada uno por 4 semanas tanto TGS como productos de la hidrólisis (TGS-HP) en dosis orales de 1 000 mg/kg/día. Un tercer grupo recibió 6-cloro-6-dioxiglucosa (6-CG) en una dosis de 500 mg/kg/día y sirvieron como un control positivo. Un grupo constituido de manera similar	<p>-Dos monos que habían recibido 6-CG fueron sacrificados el séptimo día de tratamiento y los animales restantes fueron sacrificados al término de 28 días.</p> <p>- Los tres animales tuvieron o claras evidencias clínicas de neurotoxicidad antes del sacrificio.</p> <p>- Los síntomas atribuidos al tratamiento fueron salivación en todos los grupos tratados, estado de ánimo apagado y vómito poco después de la dosificación en los que recibieron 6-CG y TGS-HP.</p> <p>-Se observó estremecimiento en un animal y una convulsión en otro animal que había recibió 6-CG.</p> <p>- El consumo de alimento de los animales que recibieron TGS fue similar al de los controles negativos a lo largo de periodo de tratamiento.</p> <p>- El consumo de alimento de los animales que recibieron 6-CG fue más bajo que el de los</p>

recibió el vehículo, agua destilada y sirvió como un de control negativo.	<p>controles.</p> <p>-El peso corporal total de los monos que recibieron TGS no se vio afectado por el tratamiento; se registraron 2 casos de pérdida de peso en 2 animales que recibieron 6-CG.</p> <p>-Los exámenes neurológicos revelaron una clara evidencia de neurotoxicidad en los monos que recibieron 6-CG. Cierta número de reflejos fueron disminuidos el día 13 en dos de los animales que recibieron TGS, pero fueron considerados normales en el día 28. La depresión inicial fue atribuida a variaciones normales en los primates.</p> <p>-La apariencia macroscópica de los tejidos de todos los animales en la necropsia no mostró nada importante. El examen microscópico y la microscopia electrónica revelaron cambios degenerativos simétricos bilaterales en los núcleos del sistema nervioso central únicamente en los monos que recibieron el control positivo (6-CG).</p>
---	--

Autor: (Hepworth & Finn, 1981)¹⁴⁵

Núm. 14. Dosis en ratas

Dosis	Condiciones de estudio
Grupos de ratas CD (15 machos y 15 hembras) recibieron TGS en su dieta en concentraciones de 10 000, 25 000 y 50 000 ppm. Otro grupo de ratas constituido de manera similar recibió solamente una dieta libre de TGS y actuó como un grupo de control.	<p>-Algunos animales fueron sacrificados después de cuatro semanas de tratamiento.</p> <p>-En un estudio adicional, se asignaron ratas (6 machos y 6 hembras) a cada grupo de control y de ingesta más alta del tratamiento (50 000 ppm) y fueron tratadas por 8 semanas. Los animales fueron designados originalmente para estudiar la reversibilidad de cualquiera de los efectos del tratamiento con TGS, pero, en su lugar, fueron usados para un período de tratamiento de 4 semanas. No se registraron sacrificios.</p>
Efecto observado	
<p>-El consumo de alimento y agua de las ratas tratadas no se vio afectado por la administración del TGS. Se registró una reducción en el peso corporal los machos que recibieron 25 000 ppm y en las ratas macho y hembra que recibieron 50 000 ppm de TGS cuando se les comparó con los controles.</p> <p>-La utilización del alimento fue menos eficiente en las ratas que recibieron 50 000 ppm cuando fueron comparadas con los controles. Los exámenes oftalmoscópicos durante la semana 3 del tratamiento no revelaron anomalías que pudieran ser relacionadas con la administración de TGS.</p> <p>-Las diferencias hematológicas entre las ratas tratadas y los controles fueron limitados a un muy bajo número de linfocitos en las hembras que recibieron 50 000 ppm. No se observaron diferencias intergrupales en las uniones de los huesos medulares después de cuatro y 8 semanas de tratamiento.</p> <p>-La reducción en el plasma de la actividad de la aminotransferasa se registró después de 4 semanas de tratamiento en todos los grupos de ratas tratadas esto se relaciono con la dosificación. Este efecto fue aparentemente después de la semana 8 de tratamiento.</p> <p>- El incremento en la excreción de calcio y magnesio en la orina se observó cuando se comparó con los controles, se registro después de la tercera semana de tratamiento en las ratas que recibieron 50 000 ppm de TGS.</p> <p>-Una tendencia de apariencia sucedió en las ratas hembras después de 7 semanas de tratamiento.</p> <p>- Se registró una baja en el volumen de orina de ratas macho que recibieron 50 000 ppm de TGS.</p> <p>-No se registraron observaciones macropatológicas de las ratas sacrificadas después de 4 y 8 semanas de tratamiento que pudieran asociarse con la administración del TGS.</p> <p>- Los cambios relacionados con el tratamiento fueron observados microscópicamente en el ciego, hígado, bazo y timo. La hiperplasia celular del ciego y la hipertrofia de hepatocitos se presentaron en algunos de los animales que recibieron 25 000 o 50 000 ppm por 4 semanas. Los efectos hepáticos estuvieron presentes después de 8 semanas en machos y hembras que recibieron 50 000 ppm.</p> <p>-La hipoplasia linfática del bazo y el timo fue evidente tanto después de 4 como de 8 semanas en los machos alimentados con 50 000 ppm. El único efecto en las hembras fue la hipoplasia linfática del bazo después de 8 semanas de tratamiento en aquellos ejemplares que recibieron 50 000 ppm.</p> <p>-Se concluyó que 10 000 ppm de TGS representan un nivel de efecto fisiológico mínimo, 25 000 ppm representan un nivel de escaso cambio y 50 000 ppm provocan una respuesta clara al tratamiento. Ninguno de los efectos observados fue suficientemente marcado, sin embargo, para provocar un cambio declarado que afectara el bienestar general de los animales.</p>	

Autor: (Cummins, et al., 1983)¹⁴⁵

Núm. 15. Dosis en Perros

Dosis	Condiciones de estudio.	Efecto observado
Fueron alimentados con dietas que contenían 0, 90, 285 y 874 mg/kg/día de TGS por 12 meses.	Los efectos del material de prueba fue investigado usando observaciones clínicas completas, los datos de registros de peso corporal, consumo de alimento, temperatura del cuerpo, hematología, exámenes químico-clínicos, análisis de orina, oftalmoscopia, las determinación y cálculo del peso de los órganos, patología general y microscópica.	<p>-Se demostraron efectos del tratamiento no muy bien definidos en este estudio por los análisis de laboratorio clínicos. Se presentó una ligera linfopenia (núm. de linfocitos menor al normal) en los machos y un incremento en el nivel de glucosa.</p> <p>-Un decremento de fósforo en las hembras y una inhibición de dehidrogenasa láctea en ambos sexos.</p> <p>-Los cambios fueron generalmente mínimos, esporádicos y no se relacionaron con la dosis. La información del peso de los órganos junto con las evaluaciones microscópicas y generales no reveló ningún cambio atribuible a la administración oral del material de prueba.</p> <p>-No se presume que se hallan presentado efectos tóxicos por el consumo oral de TGS en los perros.</p>

Autor: (Goldsmith, 1985a)¹⁴⁵

Núm. 16. Dosis en ratas

Dosis	Condiciones de estudio
<p>Las ratas fueron alimentadas con dietas que contenían TGS en una concentración de 0, 3 000, 10 000 y 30 000 ppm de forma continua hasta 2 años. Estos animales provenían de padres que habían recibido TGS en los mismos niveles de concentración por un periodo de 4 semanas antes del apareamiento y durante la gestación. Durante la lactancia, la alta concentración de la dieta fue reducida de 30 000 a 10 000 ppm</p>	<p>-Cada grupo tratado estuvo integrado por ratas de 50 machos y 50 hembras. Dos grupos de control integrados de forma similar recibieron dietas que no contenían TGS.</p> <p>-En la fase de toxicidad, grupos de ratas 30 machos y 30 hembras fueron asignados a cada grupo tratado y a un grupo de control. Después de 52 semanas de tratamiento, 15 machos y 15 hembras de cada grupo de la fase de toxicidad fueron sacrificados, y todos los animales sobrevivientes de la fase de toxicidad fueron sacrificados después de las 78 semanas de tratamiento.</p> <p>-En la fase de oncogenicidad, el sacrificio de los animales sobrevivientes comenzó después de la finalización de las 104 semanas de tratamiento.</p>
Efecto observado	
<p>-El apareamiento, la fertilidad, el tamaño de las crías y la viabilidad para la gestación no se vieron afectados por el tratamiento con TGS</p> <p>-La gestación fue ligeramente mayor para los animales que recibieron 10 000 Y 30 000 ppm que la de los controles. Esta ligera diferencia no fue considerada de significancia biológica.</p> <p>-El peso corporal de los padres tratados, antes del apareamiento y durante la gestación de sus crías tratadas a partir del día 14 post parto, fue menor que el de los controles.</p> <p>-El peso corporal de los animales tratados fue mayor que el de los controles durante la lactancia.</p> <p>-El consumo de alimento de los animales tratados fue menor que el de los controles durante la primera semana de tratamiento.</p> <p>-La eficiencia de la conversión de alimento de los padres tratados fue menor que la de los controles durante la primera semana de tratamiento. La conversión eficiente de la camada tratada fue menor que la de los controles a partir de la semana 15 de la fase de toxicidad y de oncogenicidad en adelante.</p> <p>-El tratamiento con TGS por 2 años no tuvo efectos adversos en la sobrevivencia.</p> <p>-No se observaron cambios en la apariencia o en el comportamiento que pudieran ser asociados con el tratamiento.</p> <p>-Durante las fases de toxicidad y oncogenicidad, el peso corporal de los animales que recibieron TGS fue menor que la de los controles (13-26 %).</p> <p>-Durante las fases de toxicidad y oncogenicidad, el consumo de alimento en cualquier nivel de concentración fue menor que el de los controles (5-11 %). El efecto del TGS en el consumo de alimento y secundariamente en el peso corporal, demostró ser el resultado de la naturaleza del TGS en concentraciones de dietas altas en ratas.</p> <p>-El volumen de la orina de las ratas hembras tratadas tendió a ser menor que el de los controles.</p> <p>- La excreción de magnesio de los animales que recibieron la concentración más alta de TGS tendió a ser mayor que la excretada en los controles durante el primer año de estudio. Esta tendencia se normalizó en las muestras tomadas después de la semana 77.</p> <p>-Los animales que recibieron 30 000 ppm fueron generalmente más pesados que la de los controles. Esta y otras diferencias intergrupales en el peso de los órganos no fueron asociados con ningún hallazgo relacionado con el tratamiento. En especial, los pesos del ciego más elevados (alargamiento del ciego), a pesar de estar relacionados con el tratamiento, fueron considerados como una respuesta consistente de adaptación fisiológica al efecto conocido de otros compuestos pobremente absorbidos en los niveles de dieta más altos.</p> <p>-Los análisis de covarianza, usando el peso corporal absoluto como la covarianza, reveló que las diferencias esporádicas en el peso de los órganos registrado en los animales sacrificados después de las semanas 52, 78, y 104 del tratamiento no estuvieron correlacionadas con el tratamiento o con los hallazgos histopatológicos.</p> <p>-No se observaron anomalías macroscópicas que fueran consideradas estar relacionadas con el tratamiento. Los cambios en las incidencias de los hallazgos no neoplásticos (no relacionados con tumores), mínimos o escasos, (nefrocálcinosis pélvica renal) en los riñones de las ratas hembras de la fase de oncogenicidad fueron asociados con el tratamiento.</p> <p>-Se observó una incidencia más alta de hiperplasia epitelial pélvica renal en todos los grupos de hembras tratadas. Esto fue considerado un efecto secundario a la mineralización pélvica renal (nefrocálcinosis pélvica), la cual tuvo una mayor incidencia en las hembras que recibieron la dosis intermedia y alta. No se observó ningún efecto en los riñones de las ratas macho. No se observaron neoplasmas (tumores) que fueran atribuidos al tratamiento</p>	

Autor: (Amyes, et al, 1986)¹⁴⁵

5.6.2 Productos de hidrólisis de la TGS

Núm. 17. Dosis en ratas

Dosis	Condiciones de estudio	Efecto observado
Después de una dosis oral 5mg/kg	La absorción, excreción y metabolismo de 4-cloro-4-deoxi (U- ¹⁴ C)- galactosa fue estudiada en 5 ratas macho adultas.	<p>-El 82 % (en un rango de 78.2 % a 87.0 %) de la radioactividad administrada fue excretada en la orina y 3.7 % (rango de 1.9 % a 8.5 %) en las heces en 5 días.</p> <p>-La mayoría de la radioactividad se eliminó en la orina dentro en las primeras 24 h., predominantemente en la forma de 4-cloro-4-deoxi-(U-¹⁴C)-galactosa (96 %) y con restos (2 %) de un metabolito desconocido.</p>

Autor: (Hughes, et al., 1987a)¹⁴⁵

Núm. 18. Dosis en ratas

Dosis	Efecto observado
Ratas adultas macho y hembra, recibieron una dosis oral de ¹⁴ Cl 4-cloro-4-deoxigalactosa (³⁶ Cl-4-CG) 100 mg/kg	-Se eliminó 86 % de la radioactividad en la orina y menos del 4 % en las heces en 72 h. Aproximadamente el 4 % de la dosis fue identificada como cloruro inorgánico. Un 3 % adicional fue recuperado en la orina recolectada de los días 4-14.

Autor: (Daniel & Rhenius, 1980)¹⁴⁵

Núm. 19. Dosis en ratas

Dosis	Efecto observado
Recibieron ³⁶ C-6-dicloro-1,6-dideoxifruktosa ³⁶ Cl-1,6-DCF, 100 mg/kg	-Eliminaron el 80 % de la radioactividad en la orina en 14 días, aproximadamente la mitad de la cual fue identificada como cloro inorgánico. -El mayor derivado de cloro en la orina fue aislado y fue identificado por cromatografía de gas/masas como un producto de la reducción de 1,6-dicloro-1,6-dideoxifruktosa con un patrón de fragmentación de masa idéntica a 1,6-dicloro-1,6-dideoximanitol.

Autor: (Daniel & Rhenius, 1980)¹⁴⁵

Núm. 20. Dosis en ratas

Dosis	Vía de excreción.	Efecto observado
Oral de ¹⁴ C-DCF 100 mg/kg pc a ratas macho.	El 44-55 % de la dosis fue excretada en la orina y 22 % -25 % en las heces después 5 días.	- Los análisis de orina (después de la aplicación i.v.). La cromatografía de capa fina reveló 5 metabolitos radioactivos principales.
Después de la oral se administró una iv. de ¹⁴ C-DCF 100 mg/kg pc, a ratas macho.	El 39-55 % fue excretado en la orina y 13-20 % en las heces por 5 días.	-Uno de estos ha sido identificado como 1,6-dideoximanitol y tres metabolitos correspondieron en su movilidad a los productos de degradación de 6-clorofruktosa-GSH.

Autor: (Hughes, et al., 1987b)¹⁴⁵

Núm. 21. Dosis en ratas

Dosis	Eliminación	Efecto observado
Se administró ¹⁴ C-DCF 5 mg/kg pc; tanto por vía intravenosa como por inyección intraduodenal en ratas canalizadas y anestesiadas	Alrededor del 20 % de la radioactividad de la dosis fue excretada en la bilis en un período de 8 h. Después de la administración de una dosis por vía i.v. de ³⁶ Cl-DCF 3.5 mg/kg pc, aproximadamente 11 % de la radioactividad fue excretada en la bilis.	-Casi no se detectó ³⁶ Cl-DCF en forma inorgánica en la bilis y el perfil metabólico obtenido después de la administración de ³⁶ Cl-DCF fue similar a la obtenida después de la administración de ¹⁴ C-DCF indicando que los metabolitos biliares importantes de DCF contenían al menos un átomo de cloro. En la orina (0-6 hs) contenía 37 % de la dosis radioactiva, aproximadamente 2 % de la cual era ³⁶ Cl-cloro. -El perfil metabólico de la orina obtenido después de la administración de ³⁶ Cl-DCF fue similar a la obtenida después de la administración de ¹⁴ C-DCF, lo que indica que los principales metabolitos contenían al menos un átomo de cloro. Sin embargo, los de la orina fueron cromatográficamente diferentes a los encontrados en la bilis.

Autor: (Hughes, et al., 1987b)¹⁴⁵

Núm. 22. Dosis en ratas

Condiciones de estudio y dosis	Efecto observado
-El destino metabólico de la 1,6-DCF y sus metabolitos fueron evaluados y los experimentos incluidos para determinar el potencial del 1,6-DCF para metabolizarse a 6-clorofruktosa (6-CF). -A una rata con cánulas en los conductos biliares y en el uréter fue inyectada intravenosamente con una dosis única de ¹⁴ C-6-cloro-6-deoxifruktosa (¹⁴ C-6CIF) en un nivel de 1.4 mg/kg pc. La bilis y las muestras de orina fueron tomadas 5 h después y fueron analizadas	- Se determinó la radioactividad en la sangre. Alrededor del 17 % de la ¹⁴ C (14 % en la orina y 3 % en la bilis) fue detectada dentro de un período de 5 h. -No se detectaron cantidades significativas o de radioactividad en la sangre. La cromatografía de capa fina de la orina reveló 5 componentes radioactivos, ninguno de los cuales se identificó como con 1,6-dicloro-1,6-dideoximanitol (DCM) o con 6-CF: -Dos ratas con cánulas en el uréter fueron administradas ¹⁴ C-1,6-DCF intraduodenalmente a un nivel de dosis de 5 mg/kg pc. Los niveles máximos de ¹⁴ C en la sangre ocurrieron 15 minutos después de la administración. El nivel decreció con el tiempo aunque la radioactividad (alrededor del 12% de la dosis) se mantuvo presente por 360 min. -La distribución de la radioactividad entre los glóbulos rojos y el plasma fue constante entre 15 y 360 min. Alrededor del 80 % de la dosis ¹⁴ C fue asociada con los glóbulos rojos. Alrededor del 50 % de la dosis ¹⁴ C fue eliminada en la orina dentro de un período de 360 min. -Tres ratas con conductos biliares canalizados recibieron una dosis intravenosa de ¹⁴ C-1,6-dicloro-1,6-dideoxifruktosa (¹⁴ C-1,6-DCF) a niveles de dosis de 100 mg/kg pc y se tomaron muestras de orina durante las siguientes 6 h. -El metabolito más importante en la orina fue DCM. Otros metabolitos fueron ampliamente distribuidos en varias fracciones y no fueron identificados.

Autor: Hughes, et al., 1988.¹⁴⁴

Núm. 23. Dosis en ratones

Condiciones de estudio y Dosis	Efecto observado
Grupos de ratones macho CD-1 (8 ratones por grupo) fueron dosificados diariamente (en su dieta) con 6-clorofruktosa (6-CF) (uno de los productos de hidrólisis de TGS obtenidos por el tratamiento de TGS con ácido clorhídrico acuoso [0.11 N] a 68 °C por 72h) a niveles de dosis de 240 o 480 mg/kg pc al día por 28 días.	-Los ratones fueron pesados diariamente y examinados. A los grupos de animales de control negativos se les dio agua mientras a los controles positivos se les administró 6-cloroglucosa (6-CG) a un nivel de dosis de 480 mg/kg pc al día. -Los resultados mostraron que 6-CG en ambos niveles de dosis causaron parálisis del miembro trasero relacionado con la dosis en algunos animales tratados (240 mg/kg pc al día: 2/8; 480 mg/kg pc al día: 7/8 empezando de 4 a 6 días posteriores a la dosificación.

Autor: (Ford & Waites, 1982)¹⁴⁴

Núm. 24. Dosis en ratas, estudio *in vitro*

Efecto observado
-Las incubaciones <i>in vitro</i> y los experimentos aislados de perfusiones de hígado mostraron que el metabolito principal biliar de DCF es una glutatona inducida y que la deoloración dependiente de la glutatona ocurre en el hígado y en la sangre. La habilidad de la glutatona para formar un conjugado con DCF o 1-clorofruktosa, más no con 6- clorofruktosa podría sugerir que DCF es deoloración solamente en la posición 1. -Los análisis NMR confirman este mecanismo y muestran que el azufre de glutatona es fijado en el carbono 1 de la azúcar, esto es, 6-clorofruktosa-1-glutatona. Las perfusiones aisladas de hígado con la glutatona inducida preformada demostraron que 6-clorofruktosa-glutatona formada extrahepáticamente no es metabolizada por el hígado, ni tampoco está disponible para la excreción biliar. Por lo tanto, la excreción inducida en la bilis después de la administración de DCF debe realizarse en el hígado. -No hay evidencia de circulación enterohepática de la inducción: los experimentos en los cuales la inducción preformada fue administrada oralmente a un rango libre en ratas que mostraron que este es absorbido desde el tracto gastrointestinal (al menos el 55 %), sufre el metabolismo por tejidos extrahepáticos y que los metabolitos son excretados en la orina. El DCF puede también ser deoloración <i>in vitro</i> a un pH de 7.4 por un mecanismo independiente de la glutatona con la formación de cloro inorgánico y 6-clorofruktosa. Este camino no ocurre con la presencia de glutatona.

Autor: (Hughes, et al., 1987b).¹⁴⁵

Núm. 25. Dosis en ratas

Dosis	Condiciones de estudio
Grupos de 20 ratas machos y 20 hembras recibieron una mezcla aproximadamente equimolar de los productos de hidrólisis (TGS-HP) de TGS, en la dieta, por 13 semanas, en concentraciones de 200, 600 y 2 000 ppm.	-El grupo control constituido de forma similar recibió una dieta sin el producto de prueba. Los animales fueron seleccionados de la generación F1 a, los padres de los que habían sido expuestos a las mismas concentraciones del material de prueba por 10 semanas anteriores al apareamiento y subsecuentemente a lo largo de la gestación, lactancia y destete.
Efecto observado	
-No hubo muertes o signos de reacción al tratamiento. -El aumento del peso corporal de los animales que recibieron 2 000 ppm de TGS-HP se redujo en aprox. 15 % cuando fue comparado con el del grupo control mientras el consumo de alimento fue reducido 5 % en las hembras y 10 % en los machos. La eficiencia general de la conversión de alimento fue reducida en las hembras en el grupo de dosis más alta. -No hubo un efecto consistente en el consumo de agua en la generación F ₀ y F ₁ . La oftalmoscopia practicada en los controles y los grupos de dosis más alta durante la semana 12 no reveló ningún efecto del tratamiento. -No se detectaron anomalías en los parámetros hematológicos durante la semana 12. -Se observaron pequeñas, pero estadísticamente significativas, reducciones en los siguientes constituyentes del suero en la semana 12: alanina, actividad de aminotransferasa en los animales de los grupos de dosis más alta; la actividad de aminotransferasa - aspartato en los grupos hembra de las dosis más alta e intermedias, así como en el grupo de machos de la dosis más alta y una tendencia similar en el grupo de machos intermedio, y de la fosfatasa alcalina y de los niveles de glucosa en el grupo de machos del grupo de dosis más alta. -No se registraron diferencias en los pesos absolutos de los órganos principales a excepción de una reducción en el peso del corazón en los grupos de dosis alta y un incremento en el peso de los hígados de las hembras en el grupo de dosis intermedia. Cuando se realizaron los ajustes para el peso corporal final por análisis de covarianza, el peso del hígado fue mayor en todas las hembras tratadas en comparación con los controles, mientras un incremento marginal fue observado en los riñones de los animales de los grupos de dosis alta e intermedia. -No se observaron cambios relacionados con el tratamiento en la patología macroscópica y microscópica de los tejidos examinados.	

Autor: (Danks, et al., 1986)¹⁴⁵

Núm. 26. Dosis en perros

Dosis	Efecto observado
Grupos de perros belgas 4 machos y 4 hembras fueron administrados oralmente por 26 semanas con una mezcla equimolar de los productos de la hidrólisis de TGS, (TGS-HP) incorporados en la dieta base en los siguientes niveles de dosis: 0.0, 10.0, 50.0 y	-Las condiciones generales y la sobrevivencia de los perros no fue alterada por el tratamiento. -No se observaron cambios en los componentes celulares o químicos de la sangre. Con excepción de una pequeña reducción en el peso relativo y absoluto de los timos en los animales que recibieron la dosis más alta, el resto de los pesos de los órganos no se vieron afectados.

250.0 mg/kg pc.	-No se observaron cambios generales o microscópicos atribuibles a la dosis administrada vía oral de TGS-HP.
-----------------	---

Autor: (Goldsmith, 1985b)¹⁴⁵

Núm. 27. Dosis en ratas

Dosis	Efecto observado
Ratas de ambos sexos fueron administradas con TGS (disuelto en agua) oralmente en niveles de dosis de 4 000 mg/kg pc/día por periodos de 4, 9, y 13 semanas. Se incluyó un mismo número de grupos de control, compuestos con el mismo número de animales que los grupos de prueba.	-Se observó un incremento significativo en los pesos de los ciegos de las ratas de ambos sexos de todos los niveles de dosis. -Se observaron cambios esporádicos significativos en algunos parámetros de hematología y química clínica y algunas diferencias en el peso de los órganos (en algunos grupos en diferentes tiempos). - Los cambios no fueron relacionados con la dosis y no se consideró que tuvieran relación con el tratamiento. -Otros parámetros investigados como signos clínicos de toxicidad, mortalidad, aumento del peso corporal, consumo de agua y alimento, análisis de orina e histopatología, no fueron afectados de manera adversa.

Autor: (Perry, et al., 1988)¹⁴⁴

Observaciones en el hombre

Núm. 28. Dosis únicas orales de ¹⁴C-TGS 1.11 mg/kg pc, en hombres saludables

Vía de excreción	Efecto observado
-Excretaron un promedio de 13.5 % de la radioactividad en la orina y 82.1 % en las heces en 5 días.	-Los máximos niveles de radioactividad en la sangre ocurrieron dentro de un periodo de 2-3 horas y en dos de los sujetos decreció con una vida media de aproximadamente 2.5 horas. -El examen cromatográfico de las muestras de orina de 0-3 horas indicó la presencia de un solo componente radioactivo.

Autor:(Shepard & Rhenius, 1983)¹⁴⁵

Núm. 29. Dosis orales únicas 1 mg/kg; de ¹⁴C TGS en voluntarios masculinos saludables

Vía de excreción	Efecto observado
Se recolectaron sus heces, orina y sangre de hasta 5 días después de la dosificación. El total recuperado de la radioactividad del ¹⁴ C fue del 92.7 % (del rango 87.8-99.2 %), alcanzando un nivel máximo de 78.3 % (rango 69.4-89.6 %) en las heces y un remante del 14.4 % (del rango de 8.8-21.7 %) en la orina.	-Las concentraciones en el plasma de la radioactividad marcada con ¹⁴ C alcanzó su valor más alto alrededor de 2 horas después de la dosificación con niveles de ¹⁴ C equivalentes a aproximadamente 250 ng/ml de TGS. -Las concentraciones en el plasma bajaron rápidamente entre las 2 y 12 h seguido de un decremento más gradual de hasta 72 horas, tiempo para el cual los niveles de radioactividad estuvieron cerca o por debajo del límite de una determinación precisa. - La vida media calculada con base en el tiempo de residencia promedio (MRT) de 18.8 horas arrojó un cálculo de 13 horas.

Autor:(Roberts, et al., 1986)¹⁴⁵

Núm. 30. Dosis únicas orales de 1.0 mg /kg ¹⁴C-TGS en humanos

Efecto observado
-El análisis cromatográfico de la radioactividad en la orina de los voluntarios a quienes se les suministró ¹⁴ C-TGS indicó la presencia de metabolitos marcados además de la TGS. -El material ajeno al TGS, el cual representó un promedio de 2.6 % de la dosis, fue diluido en dos componentes separados. -El mayor componente radioactivo en la orina fue el TGS por sus características en la TLC y esto fue confirmado por la espectrometría de masas y por cromatografía de gases. -El análisis cromatográfico de las heces mostró que casi todas las muestras contenían solamente un pico de actividad de ¹⁴ C correspondiente a la TGS. Un pequeño número de muestras contenía un pico menor adicional de radioactividad que representó el 1 % o menos de la dosis en todos los sujetos.

Autor: (Roberts, et al., 1986)¹⁴⁵

Núm. 31. Dosis orales únicas de ¹⁴C-TGS 10 mg/Kg en dos voluntarios masculinos saludables

Vía de excreción	Efecto observado
La orina y las heces fueron recolectadas hasta por 5 días después de la dosificación. El total recuperado de ¹⁴ C para el sujeto 1 y 2 fue de 96.8 y 96.4 %, respectivamente, siendo el 84.1 y 86.8 % recuperado en las heces y el 12.7 y 9.6 % recuperados en la orina, respectivamente. La excreción de ¹⁴ C en	-El análisis cromatográfico de la orina reveló la presencia de pequeñas cantidades de metabolitos marcados además del TGS. El material ajeno al TGS, el cual presentó menos del 2 % de la dosis 0-12h (en una columna para cromatografía de resina XAD-2 de la orina concentrada), fue disuelto por cromatografía de capa fina en 2 componentes separados para ambos sujetos. -El mayor componente radioactivo en la orina correspondió al TGS sin cambios. -El aislamiento y la purificación parcial del metabolito desconocido y más polar (MI) se realizó con el uso de la resina XAD-2 y HPLC. La incubación de los concentrados de XAD-2 de las

la orina fue rápida, teniendo un tasa de eliminación de 11.1 y 8.3 % de la dosis en las primeras 24 h, respectivamente.	muestras de orina de 0-3 h con mezclas β -glucuronidasa y β -glucuronidasa/sulfatasa seguidas de una cromatografía de capa fina mostraron que el metabolito MI fue completamente hidrolizado. El tratamiento con sulfatasa para hidrolizar el MI, por sí solo falló. Estos datos sugieren que MI es un glucorónido conjugado de TGS, el cual es hidrolizado por glucuronidasa.
---	--

Autor: Roberts et al., 1988.¹⁴⁵

Núm. 32. Dosis en hombre

Dosis	Efecto observado
Ocho sujetos saludables (4 hombres y 4 mujeres) recibieron primero dosis orales crecientes de TGS en dosis de 0.0, 1.0, 2.5, 5.0, y 10.0 mg/kg en intervalos de 48 horas. Esto fue seguido de una administración de 7 días consecutivos de 2.0 mg/kg/día para los tres primeros días y 5.0 mg/kg/día y para los cuatro días restantes.	-No se registraron reacciones adversas o enfermedades a lo largo del estudio. No se observaron cambios clínicos significativos en la temperatura, pulso, (de pie o tirado de espaldas), ritmo respiratorio o en las condiciones generales. -Los estudios bioquímicos y hematológicos fueron hechos antes del estudio y después de administrar 2.0, 5.0 mg/kg/día durante la segunda fase. -No se registraron anomalías en ninguno de los parámetros registrados. A lo largo de los estudios ECG (electrocardiograma) no se registraron cambios en los hallazgos iniciales. - Los exámenes de orina no mostraron anomalías y una evaluación en los volúmenes de orina a las 24 h no fue significativo para el estudio. - Los niveles de insulina en la sangre registraron niveles del rango de 4.038 mg/ml. una media hora después de cada dosificación, los cuales estuvieron dentro de los niveles dietéticos. El día 25 del estudio, se midieron los niveles de insulina en la sangre una media hora después de la administración de 50 g de sacarosa estándar. Todo mostró el característico incremento dentro del rango de 53-108 mg/ml.

Autor: (Baird, et al., 1984)¹⁴⁵

Núm. 33. Dosis en humanos voluntarios

Condiciones del estudio	Dosis	Efecto observado
Se llevó a cabo un estudio ciego y al azar controlado, por 13 semanas para comparar los efectos en humanos voluntarios normales del edulcorante de alta intensidad TGS y los efectos de la administración diaria de la fructosa. 118 sujetos fueron reclutados de los cuales 108 completaron el estudio (77 de estos sujetos recibieron TGS (47 hombres y 30 mujeres) y 31 recibieron fructosa (17 hombres y 14 mujeres).	La dosis total diaria de TGS, administrada en un solución acuosa de 50 ml fue la siguiente: 125 mg de las semanas 1-3; 250 mg en la semana 4-7 y 500 mg de la semana 8-13. La ingesta diaria máxima de TGS varió entre 4.8 - 8.0 mg/kg para los hombres y 6.4 - 10.1 mg/kg para las mujeres. La fructosa fue administrada dos veces al día a una dosis constante de 50 g/día disuelta en agua. Tres sujetos que recibieron TGS se retiraron del estudio por razones voluntarios no relacionadas con el estudio.	-No se observaron cambios patológicos en los exámenes físicos, ni tampoco se observaron cambios anormales en ECG, hematología, bioquímica o en los análisis de cualquiera de los sujetos. -En los exámenes de reflejos antes y después del estudio en 24 sujetos (20 hombres y 4 mujeres) no mostraron cambios anormales. -Se realizó una constante medición del estado del TGS en la sangre de 10 sujetos (8 hombres y 2 mujeres) durante 5 días consecutivos durante la semana 12. La sangre se recolectó en cada ocasión inmediatamente antes y 2 horas después de dosis de la mañana. Los niveles de pre-dosis estuvieron dentro del rango de 0.01 y 0.16 μ g/ml incrementándose a 0.02 a 0.42 μ g/ml 2 horas después de la dosificación.

Autor: (Shepard and Kyffin, 1984)¹⁴⁵

Núm. 34. Dosis en humanos voluntarios sanos

Condiciones de estudio	Efecto observado
-En un estudio cruzado doblemente ciego, se aplicó a sujetos sanos les suministró TGS (10.0 mg/kg) sacarosa sola (100.8mg/kg) y una mezcla de sacarosa (100 g) y TGS (10.0 mg/kg) en orden aleatorio en intervalos de 48 h. -Las muestras fueron tomadas tres horas después de la dosificación y se les aplicaron análisis de glucosa, fructosa e insulina.	-Los niveles de glucosa y fructosa en el suero posteriores a la administración de sacarosa más TGS no registró una diferencia significativa de la alcanzada después de la administración de sacarosa. -La TGS no tuvo efecto en la respuesta que tuvo la insulina a la sacarosa. No se observó efecto alguno en los niveles de insulina cuando la TGS se administró sola. Bajo las condiciones de este estudio, la TGS no interfirió con la absorción de la sacarosa y no influyó en la secreción de la insulina.

Autor: (Shepard, 1984)¹⁴⁵

Tabla 1

Dosis en ratones hembras y machos ¹⁴ C-sucralosa		Vía de excreción	Vía de excreción	% Total recuperado
Grupo	Vía de administración	Orina	Heces	
1	Intravenosa 20 mg/kg	80 % en 5 días, pero el 70 % en las primeras 12 h.	22 % en 5 días, pero el 12 % en las primeras 12 h.	104.3

2	Oral 100mg/kg	23 % en 5 días pero el 12 % en las primeras 12 h.	69 % en 5 días, pero el 41 % en las primeras 12 h.	96
3	Oral 1 500 mg/kg	15 % en 5 días pero el 7 % en las primeras 12 h.	73 % en 5 días, pero el 30.5 % en las primeras 12 h.	92
4	Oral 3 000 mg/kg	16 % en 5 días pero el 6.5 % en las primeras 12 h.	72.5 % en 5 días, pero el 42 % en las primeras 12 h.	94

Efectos observados

- En el aire expirado se eliminó del 0.3 - 0.4 % de la dosis, lo cual no fue considerado representativo del catabolismo de la sucralosa debido a que se encontró dentro de los niveles de impurezas de la muestra.
- En los niveles de dosis de 1 500 mg/kg y 3 000 mg/kg la eliminación fue muy similar. Pero para todos los casos, la excreción fue esencialmente completada después de las 72 h y el total recuperado (92 %) se observó alrededor de 5 días después de la administración de la dosis, tomando en cuenta las pequeñas pérdidas en el momento de la dosificación o la recuperación.
- Los análisis por cromatografía de las muestras de orina encontraron que el componente mayoritario fue sucralosa sin cambios representando del 80-90 % de la muestra marcada. No hubo diferencias significativa entre hembras y macho, así como en las muestras de orina tomadas en diferentes tiempos. También se observó que la vía de administración o el nivel de dosis no fue significativo para el nivel de radiación eliminada.
- En los cromatogramas se detectaron dos compuestos cualitativamente importantes, los cuales fueron más polares que la sucralosa. Ninguno de estos compuestos correspondió a la 4 clorogalactosa o 1,6 diclorofructosa, productos de hidrólisis de la sucralosa. Las proporciones de estos compuestos fueron similares y en general representaron 2-8 % de la muestra de la radioactividad. La mayoría de la radioactividad remanente fue asociada con el material polar cercano a la línea base de los cromatogramas y no contenía picos cuantificables.

Autores: (B. A. John, S. G. Wood and D.R. Hawkins, 2000)¹⁵⁰

Tabla 2

Dosis en perros hembras y machos ¹⁴ C-sucralosa	Vía de excreción
Vía iv 2 mg/kg	-81 % en la orina y el 12 % en las heces después de 5 días. -El total recuperado fue del 96 %
Vía oral 10 mg/kg	-28 % en la orina y el 68 % en las heces después de 5 días. -El total recuperado fue del 97 %

Efectos observados

- La concentración de la radioactividad en el plasma después de una administración intravenosa de sucralosa decreció de forma multiexponencial, alcanzando valores de 8.46 µg equivalentes/ml después de 5 min a 0.057 µg equivalentes/ml después de 12 h. Las concentraciones decrecieron lentamente a partir de entonces y la radioactividad fue detectable en el plasma de todos los animales después de 120 h.
- Los picos en las concentraciones de la radioactividad en el plasma después de la administración oral se alcanzaron entre 0.5 y 1.5 h posteriores a la dosificación, disminuyendo lentamente y multiexponencialmente a un promedio de 0.24 µg equivalentes/ml a las 12 h. A las 96 h se encontraban cerca o por debajo del límite de determinación precisa (0.05 µg equivalentes/ml) en todos los animales.
- Por de cromatografía de gases y masas se identificaron dos metabolitos, llamados M2 y M1, los cuales son más polares que la sucralosa.
- El metabolito principal encontrado después de dosis orales o intravenosas y excretado en la orina resultó ser un conjugado del ácido glucurónico, el cual fue identificado por espectrometría de masas. La espectrometría de masas indicó que este conjugado del ácido glucurónico estaba colocado en la posición de 4 clorogalactopiranosil de la sucralosa pero la posición exacta de la conjugación es ambigua. Es posible que la sucralosa se pueda conjugar en las posiciones de los carbonos 2, 3, 6 y para propósitos prácticos se representa en la posición 6.
- El conjugado del ácido glucurónico es resistente a la hidrólisis por técnicas enzimáticas clásicas. El uso de la hidrólisis ácida fue excluida debido a la labilidad de la sucralosa a pH bajo.

Autores: (S. G. Wood, D.R.Hawkins and B. A. John, 2 000) ¹⁵¹

Tabla 3

En conejas y conejas preñadas	Vía de excreción
Dosis oral única de 10mg/kg pc ¹⁴ C-sucralosa	-El total recuperado incluyendo los lavados de las jaulas, en los animales no preñados fue de 80 %, siendo de 22.3 % y 55 % en la orina y las heces respectivamente, en un periodo de 5 días. Durante las primeras 24 horas fue de 8 % en orina y 17 % en las heces -El total recuperado incluyendo los lavados de las jaulas para el otro grupo fue de 87 % siendo de 21 % y 65 % en la orina y las heces respectivamente, en un periodo de 5 días. Durante las primeras 24 horas fue de 9 % en orina y 28 % en las heces.

Efectos observados

- En los animales no preñados, se excretó un promedio de 22.3 % en la orina y un 54.7 % en las heces durante las primeras 24 horas.
- El patrón de excreción fue muy similar en los animales preñados, con un promedio de 21.5 % en la orina y 65.2 % en las heces durante 5 días y alrededor de 9 % en la orina y 28 % en las heces durante las primeras 24 h.
- Durante 96-120 h., los promedios fueron de alrededor de 2 % en la orina y 4-5 % en las heces, indicando que la excreción de la dosis fue incompleta en este momento. Esto fue confirmado por el total de recuperaciones de radioactividad, las cuales fueron de 81 y 87 % en los

animales no preñados y preñados, respectivamente. No se conoce con certeza porque los conejos demostraron una excreción prolongada y una recuperación total menor de radioactividad, por unidad de tiempo, comparada con las otras especies examinadas. Sin embargo, los resultados pudieron ser influenciados por el comportamiento coprófago de los conejos. La coprofagia en los conejos es conocida, incluso cuando están encerrados en jaulas, donde heces pueden ser re-ingiridas de un 30-80 % de total (Hunt y Harrington, 1974). Esto contribuye al reciclaje de las heces con una absorción parcial y una excreción en la orina del material re-ingirido. Basándonos en la excreción urinaria, al menos 20 % de la dosis oral fue absorbida. La radioactividad en las heces puede ser derivada del material no absorbido, pero puede haber una contribución del material excretado en la bilis y/o secretada dentro del tracto gastrointestinal. La excreción biliar y la circulación enteropática pudieran también contribuir a la prolongada excreción del material en la orina y en las heces.

- Los análisis por cromatografía de capa fina (TLC) de en las muestras de orina mostraron la presencia de sólo un componente radiactivo importante el cual correspondió a la sucralosa sin cambio. El resto de la radioactividad se relacionó con un material más polar que la sucralosa el cual no fue diferenciado por TLC.

- El destino metabólico de la sucralosa en el conejo parece ser similar al de otras especies examinadas. La mayor porción de una dosis oral fue excretado como sucralosa sin cambio, con un remanente asociado con la radioactividad de una naturaleza más polar.

Autores: B. A. John, S.G. Wood and D.R.Hawkins, 2000 ¹⁵²

Tabla 4

En ratas hembras y machos.

Los valores dados con SD incluyen lo recolectado en los lavados de jaulas.

Dosis únicas mg/kgpc	Ruta	Sex	Vía de excreción %		
			% en orina	% en heces	% Total
³⁶ Cl-sucralosa 100	Oral	M	13±1.9	86± 3.7	99.1±2.6
		F	4±1.2	90±8	94±11.1
³⁶ Cl-sucralosa 1000	Oral	M	8.2±0.9	88.8±7.6	97.0±7.2
		F	4.1±0.9	90.5±2.3	94.6±1.6
³⁶ Cl-sucralosa 20	lv	M	83.0±2.9	8.5±0.6	91.4±3.5
¹⁴ Cl-sucralosa 2	lv	M	80.0±1.9	16.0±1.0	100.4±1.5
		F	73.0±5.0	16.3±1.0	94.6 ±3.4
¹⁴ Cl-sucralosa 10	Oral	M	5.1±0.8	91.1±3.1	96.7±3.5
		F	5.6	95.0	101.3
		F	23.7±31.3	72.6±38.8	98.3±5.2

Efectos observados

- Las ratas administradas con dosis orales únicas marcadas con ¹⁴Cl y ³⁶Cl-sucralosa, excretaron al redor del 7 y 90 % en la orina y heces respectivamente, la eliminación promedio de 97 % y se consideró aceptable.

- Las ratas administradas por vía intravenosa con ³⁶Cl-sucralosa (20mg/kg) y con ¹⁴C-sucralosa (2mg/kg) excretaron alrededor del 80 % de la dosis en la orina, la mayor parte en las primeras 24 h con un remanente de entre 8-16 % en las heces. Nuevamente la cantidad excretada en la orina y las heces pareció ser independiente tanto de la dosis como del sexo, la excreción biliar mostro ser una ruta menor de eliminación de una dosis oral de sucralosa usando ratas canalizadas en sus ductos biliares. Las ratas macho excretaron 3.2 y 0.8 de la dosis y las hembras excretaron 8.9 % y 2.2 en la bilis durante las 32 h posteriores a las dosis orales de ³⁶Cl-sucralosa en niveles de 50 y 100 mg/kg respectivamente. Estas cantidades son comparables al porcentaje de dosis excretada en la orina dentro de las 24 h de las dosis orales únicas. Las pequeñas cantidades en la bilis (menos del 2 %) fueron similares a las de la orina y por lo tanto la excreción urinaria en las ratas subestimo la extensión real de la absorción del tracto gastrointestinal.

- La cromatografía por capa fina (TLC) de las muestras de orina de las ratas administradas vía intravenosa con sucralosa-¹⁴C (2 mg/kg) mostro que la sucralosa fue excretada principalmente sin cambio. Durante las primeras 24 horas posteriores a la dosificación, alrededor del 97 % de la radioactividad urinaria fue asociada con ¹⁴Cl-sucralosa sin cambio y el remanente fue asociado con 2 picos de radioactividad, los cuales fueron cromatográficamente más polares que la sucralosa.

- Después de la administración oral de sucralosa-¹⁴C (10 mg/kg), el principal componente radiactivo fue sucralosa sin cambio y representó alrededor del 91 % de la radioactividad en la orina de las muestras tomadas en 0-24 h. El remanente de la radioactividad fue identificado en la cromatografía y se dijo que se trataba de 2 componentes menores en el sistema solvente B. Estos componentes menores parecieron ser los mismos a aquellos detectados después de la dosificación intravenosa. Los componentes menores (M1 y M2) representaron alrededor del 3 % y 5 % de la radioactividad en la orina, respectivamente, y sólo alrededor del 0.15 al 0.25 % de la dosis administrada.

Para la radiografía de todo el cuerpo

Una dosis i.v. de ³⁶ Cl-sucralosa de 100 mg/kg pc y fueron sacrificados 15, 30, 60 y 360 min. después de la dosis.	Efectos observados

Estudio de adaptación metabólica con sucralosa marcada con ¹⁴C

Excreción de la radio actividad en la orina y heces des pues de una dosis oral de 100 mg/kg de ¹⁴C sucralosa en ratas alimentadas con una dieta basal de un laboratorio la dieta contenía 30 000 ppm de sucralosa por 26-87 semanas

Dosis únicas mg/kgpc	Sex	Vía de eliminación %		
		% en orina	% en heces	% Total
Dieta basal por 26 semanas	M	7.2, 9.0	77.5; 93.5	88.1 ; 1.02.0
	F	6.94±2.2	89.9±55.4	97.8±3.3
dieta basal 26 semanas /52 semanas sucralosa 30 000 ppm/	M	5.6±1.3	80.8±3.3	88.8±1.8
	F	6.0±2.4 8.3±1.3	66.3±14.4	74.2±17.2
	M	9.6±2.4	--	--
	F	--	--	--
dieta basal 52 semanas /85-87 semanas dieta sucralosa 30 000 ppm	M	6.8±1.5	--	--
	F	6.5±1.8	--	--
	M	6.9±1.6	89.7±3.1	96.5±4.45
	F	7.0±7.6	70.6±77.0	77.6±8.46
dieta sucralosa 30 000 ppm/85-87 semanas	M	7.5±1.7	85.4±10.4	93.6±9.7
	F	7.2±2.6	76.6±3.1	84.2±0.4
Efectos observados				
<p>- La mayor proporción de la dosis absorbida fue excretada rápidamente en la orina, siendo la excreción biliar una ruta significativa de eliminación del material absorbido.</p> <p>- La sucralosa fue metabolizada en mucho menor cantidad después de la dosificación oral o intravenosa y más del 90 % de la radioactividad se excretó en orina como sucralosa sin cambio.</p> <p>- Los componentes radioactivos en la orina de las ratas representaron menos del 1 % de la dosis de sucralosa administrada oralmente y sólo 2-3 % de la dosis intravenosa-¹⁴C.</p> <p>- El destino de la sucralosa-¹⁴C fue similar después de la administración de una dosis única y de la exposición repetida a altos niveles de sucralosa vía dieta por más de 18 meses. Esto demuestra que no hay adaptación metabólica de la microflora del intestino y de los sistemas del metabolismo de los mamíferos tanto en los machos como en las hembras. Además, no se observó evidencia de enzimas microsomales hepáticas inductoras de actividad en las ratas después de 21 días de administrarse la sucralosa a dosis de hasta 1 500 mg/kg/día</p> <p>- Las características de la absorción, distribución, metabolismo y eliminación de la sucralosa son consistentes con su perfil de molécula estable y polar, altamente acuosa y con baja solubilidad en lípidos. Las ratas parecen ser más un modelo metabólico aceptable para la investigación toxicológica de estos nuevos edulcorantes intensos.</p>				

Autores: (J. Sims, A. Roberts J.W. Daniel and A.G. Renwick, 2000)¹⁵³

Tabla 5. Ocho hombres voluntarios

Dosis oral única	Vía de excreción
¹⁴ C-sucralosa 1 mg/kg	El 14.40±4.30 % de la dosis fue excretada en la orina y 78.3±6.2 % en las heces después 5 días. El total recuperado se calculó de 92.7±4.2
¹⁴ C-sucralosa 10 mg/kg	El 11.20 % de la dosis fue excretada en la orina y 85.5% en las heces después 5 días. El total recuperado se calculó de 96.72

Cinética de la actividad ¹⁴C después de la dosis oral de 1mg/kg

Tiempos de retención	Media ± SD
Cmax plasma(ng/ml)	261.8±100.4
Tmax (h) plasma	2.1±0.6
t1/2 (h)plasma	24.6±6.1
t1/2 (h) orina	26.5±8.8
Tiempo de residencia promedio (h)	18.8±4.9
Vida media promedio efectiva (h)	13.0

La información fue analizada como equivalentes de sucralosa basados en el total de ¹⁴C encontrado tanto en la orina como en el plasma. La vida media terminal en el plasma se calculó usando un programa de análisis de regresión no lineal (NON-LIN) basándose en la información de 0-48 h debido a que las concentraciones a las 72h fueron tan bajas que no permitieron una determinación precisa.

Efectos observados

- En general, la radioactividad total recuperada durante 5 días en orina y las heces tuvo un promedio de 92.8 % (rangos de 87.7 a 99.4 %) y de un 96.7 % en las dosis de 1 a 10 mg/kg, respectivamente.

- Las concentraciones más altas ocurrieron 1.5 a 3 h posteriores a la dosificación oral de 1mg/kg. La concentración de plasma promedio más alta fue de 262 ng equivalentes por ml (rango 141 a 455 ng equivalentes/ml).

- Las curvas de tiempo-concentración del plasma para cada individuo, se observó un decremento bifásico, ya que a las 12 h se presentó un decremento promedio de 36 ng, mientras que a las 72 h fue de 4.7 ng.

- El tiempo de residencia promedio (MRT), el cual toma en cuenta la absorción y las fases de eliminación rápida y lenta, se calculó en 18.8 h y la correspondiente vida promedio fue de 13 h (0.693 x MRT).

- El análisis de la sucralosa por cromatografía de capa fina (TLC)

- Los análisis del compuesto marcado de la orina y las heces, por cromatografía en capa fina, se realizaron en 3 sistemas de solventes (A, B y C). En las dosis de 1 y 10 mg, la sucralosa representó entre 80 y 90% entre las 0 y 3 h en las muestras de orina, decreciendo paulatinamente. El remanente de la radioactividad fue asociado con un material más polar el cual fue encontrado en la cromatografía

generalmente como un pico en el solvente A, pero se descompuso en 2 componentes en los sistemas solventes B y C.

- El metabolito más polar (el más cercano al origen) fue designado como M1, mientras el menos polar fue designado M2. Por cromatografía de capa fina, los análisis de radioactividad en las heces mostraron que el material marcado estuvo presente como sucralosa sin cambio.
- El análisis de la espectrometría de masas de las muestras de orina
- El espectro de masas de la TMS derivado del componente radioactivo principal de la orina es virtualmente idéntico al de la sucralosa auténtica, confirmándose que el edulcorante fue excretado en gran parte sin cambio. No pudo obtenerse el espectro de masas para la fracción correspondiente a los metabolitos M1 y M2.
- Análisis por cromatografía de líquidos de las muestras de orina
- El principal metabolito encontrado en la orina fue sucralosa sin cambio. Sin embargo, se encontró otro metabolito, M1, el cual fue más polar que la sucralosa. Este metabolito no pudo ser identificado con éxito, probablemente a que el metabolito se descompuso bajo las condiciones de temperatura con las que se llevó a cabo el estudio.

Autores: (A. Roberts, A.G. Renwick, J. Sims and D.J. Snodin, 2000)¹⁵⁵

Estudio de dosis constantemente incrementadas de sucralosa en ratones (Fase 1)

Organismo de prueba hombres y mujeres saludables con un peso promedio de 70 kg y edad de 18-48. Por 10 días.	
Dosis	Dosis únicas de 0 el primer día, de 1 mg/kg el tercer día, 2.5 mg/kg el quinto día, 5 mg/kg el día 7 y 10 mg/kg el día 9. No se administraron dosis los días 2, 4, 6 y 8. La dosis se suministró con 100 ml de agua.
Análisis realizados	Se tomaron muestras de sangre para practicar estudios de insulina a las 0.5 h después de cada dosis. 24 h después de la dosificación se realizaron ECG's de manera repetida y se tomaron muestras de sangre para análisis hematológicos (hemoglobina, RBC, PCV, MCV, MCH, MCHC, WBC, ESR y plaquetas) y análisis bioquímicos (tirosina, total de proteínas, albúmina, globulina, calcio, fósforo, urea, ácido úrico, creatinina, total de bilirrubina, fosfatasa alcalina, SGOT, SGPT, GT gamma, glucosa, colesterol y triglicéridos). Se tomaron muestras diarias en alícuotas de 24 horas durante un periodo de 9 días y fueron examinadas para pH, cetonas, sangre, glucosa, bilirrubina, proteínas, gravedad específica, glóbulos blancos y rojos. Después de la dosis de 10 mg/kg, se tomaron una serie de muestras de sangre a las 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, y 12 h posteriores a la dosificación, las cuales se almacenaron a 4° C y después se les hicieron análisis de sucralosa.
Efectos Observados	<ul style="list-style-type: none"> -Los 8 sujetos que ingresaron al estudio lo completaron. Durante el estudio no se observaron variaciones anormales en la temperatura corporal, pulso, presión arterial y respiratoria después de la administración ascendente y continua. Además, no se hicieron comentarios adversos atribuidos a la sucralosa. Los exámenes físicos generales resultaron normales al final de cada fase del estudio. Durante el estudio, los valores hematológicos promedio permanecieron estables. -Los 8 sujetos que participaron en el estudio finalizaron el estudio. Durante el estudio, no hubo variaciones anormales en la temperatura corporal, pulso, presión arterial o ritmo respiratorio después de la administración tanto de las dosis repetidas gradualmente incrementadas como las continuas. Además, no se hicieron comentarios adversos atribuidos a la sucralosa. Los exámenes físicos generales practicados al final de cada fase del estudio fueron normales. Durante el estudio, los valores hematológicos promedio permanecieron estables. Se presentaron ocasionalmente resultados fuera de los rangos normales, pero no se observaron tendencias y, por lo tanto, fueron clínicamente insignificantes. Los 17 valores bioquímicos monitoreados también permanecieron estables a lo largo del estudio. No se observó ningún efecto o tendencia evidente y los valores permanecieron en el rango normal. - Dos mujeres que tomaron pastillas anticonceptivas presentaron valores marginales elevados de tiroxina en el pre-estudio, los cuales no fueron afectados por la administración de la sucralosa. -Todos los resultados de los análisis de orina tomados en la fase 1 y 2 fueron normales. No se observaron efectos en el volumen de orina, en los análisis de orina o los sedimentos. Igualmente, las lecturas de los electrocardiogramas no fueron afectados por la ingestión de sucralosa durante los 17 días del estudio. - El estudio de absorción de la sucralosa mostró un patrón general de niveles máximos de sangre una hora después de la dosificación, los cuales decrecieron a partir de entonces. Los valores fueron apenas detectados 24 horas después de la dosificación. La sucralosa no tuvo efectos en los niveles de insulina en el suero de las muestras tomadas después del ayuno. Asimismo, no se observaron variaciones de los rangos después del ayuno en cada uno de los individuos.

(Fase 2)

Dosis en humanos	2 mg/kg los tres primeros días y 5 mg/kg los siguientes 4 días.
Análisis realizados	<ul style="list-style-type: none"> -Los exámenes físicos se llevaron a cabo el día de la administración y a las 2, 4, 8, 12, 16 y 24 horas posteriores a la administración y los ECGs se llevaron a cabo diariamente. Se tomaron muestras de sangre para hacerles análisis de insulina 0.5 h. después de cada dosis de sucralosa. -También se tomaron muestras de sangre los días 14, 18 y 25 para practicarles exámenes hematológicos y bioquímicos. Las muestras de orina fueron tomadas en alícuotas de 24 h. y examinadas diariamente. -El día 25 del estudio, los niveles de insulina en la sangre fueron medidos 0.5 h. después de la administración de 50 g de sacarosa estándar en una solución al 10%. Los análisis hematológicos, de orina y bioquímicos se llevaron a cabo a lo largo del estudio usando métodos de prácticas clínicas estándares. -Los valores normales fueron tomados de los valores establecidos. Se llevó a cabo un análisis de tendencia con los valores obtenidos.
Método	-El día 11, cuando todos los resultados de las pruebas de proyección bioquímica estuvieron disponibles

	(dentro de 48 h), la segunda fase comenzó. Los mismos sujetos, como en la fase 1, recibieron una dosis simple de sucralosa cada mañana durante 7 días. En los días 11, 12 y 13, se les suministró una dosis de 2 mg/kg y se les administró una dosis de 5 mg/kg en los días 14, 15, 16 y 17. Nuevamente, después de un ayuno nocturno, cada dosis fue administrada en 100 ml de agua.
Estudio de dosis repetidas por 13 semanas	
Dosis en humanos	125, 250 y 500 mg/día de sucralosa durante 1-3 semanas, 4-7 semanas y 8-12, respectivamente. 13 semanas
Análisis realizados	-Los análisis de orina y sangre se llevaron a cabo al final de la semana 3, 7 y 13. Se llevó a cabo un examen físico repetitivo incluyendo un ECG al final del estudio. Las muestras de orina y sangre fueron analizadas usando procedimientos analíticos automatizados estándares. Las muestras de orina fueron analizadas usando procedimientos clínicos estándares de laboratorio. Además, se llevó a cabo un examen oftalmológico detallado, incluyendo un examen con lámpara, antes y después del estudio en un grupo selecto aleatorio de 24 sujetos, de los cuales 18 fueron administrados con sucralosa (15 hombres y 3 mujeres) y 6 de ellos fructosa (5 hombres y 1 mujer).
Método	-El estudio fue ciego, aleatorio, controlado y conducido por un periodo de 13 semanas en 2 sitios en la Gran Área de Londres. El objetivo del estudio fue comparar los efectos de la sucralosa en seres humanos con aquellos efectos resultado de la administración diaria de la fructuosa. A los sujetos reclutados se les asignó sucralosa o fructosa (edulcorante de control) a razón de 2:1. Cada edulcorante fue administrado dos veces al día en dosis iguales a las 10:00 h y a las 16 h. A cada sujeto se le proporcionó semanalmente un suministro del edulcorante y una tarjeta de registro diario. Cada dosis fue registrada y firmada por un testigo independiente para confirmar su cumplimiento.
Efectos observados	-De un total de 118 sujetos reclutados, 108 completaron el estudio. De estos, 77 recibieron sucralosa (47 hombres, 30 mujeres) y 31 recibieron fructuosa (17 hombres, 14 mujeres). 10 sujetos abandonaron el estudio, 3 de los cuales tomaron sucralosa y 7 tomaron fructuosa. Ninguna persona de las personas del grupo de la sucralosa que abandonaron el estudio lo hizo debido a alguna experiencia adversa con la sustancia. Se retiraron debido a la pérdida de apetito durante la segunda semana, la preocupación acerca del consumo de edulcorantes de baja caloría y por no obedecer los horarios de dosificación. -Una persona del grupo que tomaba fructuosa mostró una aparente sensibilidad al compuesto, mientras que la mayoría del resto de las personas que abandonaron este grupo lo hicieron por el alto dulzor del material de prueba. En general, el intenso dulzor de las bebidas de prueba fue una queja común a lo largo del estudio. La mayoría de los sujetos fue capaz de adaptarse a esta situación, pero la mayoría indicó que el dulzor fue muy excesivo respecto a su ingesta normal del edulcorante. No se observaron cambios en los exámenes físicos finales e iniciales de las personas que completaron el estudio. Tampoco se registró pérdida de peso. -Los registros de BP promedio antes y después de las 13 semanas no mostraron cambios. No se observaron cambios significativos en cualquiera de los parámetros hematológicos medidos. Se observó una tendencia a la alza en las mediciones de tiempo de protrombina tanto en la sucralosa como en los grupos de control, pero no se observaron diferencias estadísticas entre los dos grupos. -No se observaron cambios significativos en todos los parámetros bioquímicos o del análisis de la orina. En tono a la sucralosa. -El examen oftalmoscópico no reveló anomalías atribuibles a alguno de los edulcorantes. Las muestras de sangre tomadas cada mañana a 10 sujetos durante 12 semanas antes y 2 horas después de la administración de la dosis matutina de sucralosa (250 mg) no reveló una tendencia ascendente tanto en el ayuno como en las horas posteriores a la dosificación de la sucralosa.

Autores:(I. McLean Baird, N. W. Shephard, R. J. Merritt and G. Hildick-Smith, 2000)¹⁵⁵

5.6.3 Discusión

En los estudios llevados a cabo en animales de laboratorio y analizados por JECFA para la sucralosa (TGS) se observó que las dosis administradas por vía intravenosa fueron eliminadas principalmente en la orina y en menor cantidad en las heces, pero los valores cambian cuando se administra por vía oral, entonces, se elimina en mayor cantidad en las heces y en menor cantidad en la orina. Su recuperación total varía de acuerdo con la dosis y por la vía por donde se suministra, pero se considera que es de entre 5 y 7 días, con un máximo de excreción en las primeras 24 horas. La mayor concentración en sangre se registró 1-2 horas después de la dosis en concentraciones de microgramos.

JECFA concluyó, que los estudios de absorción y metabolismo de dosis orales prolongadas de TGS en los humanos, no cambian en comparación con los estudios llevados a cabo en animales de laboratorio. Esta conclusión se realizó con base en la información generada sobre la TGS, en donde se consideró el metabolismo en varias especies, (ratas, ratones, perros, conejos, monos) en diferentes estadios de vida, así como en conejas preñadas y no preñadas. En el estudio de reproducción en dos generaciones en ratas, donde se incluyó la cuestión de la acumulación de TGS en animales preñados y en fetos, el problema fue satisfactoriamente estudiado y no se encontró evidencia que sugiriera una diferencia mayor en el metabolismo de animales preñados y no preñados, debido a la ausencia o falta de cualquier hallazgo significativo en los estudios.

JECFA también analizó los estudios adicionales relacionados con la posible toxicidad del 6-clorofructosa (6-CF), un derivado de la ruptura compuesto de la TGS y encontró que en el estudio de corta duración (28 días) en el cual la 6-clorofructosa fue administrada en 240 y 480 mg/kg pc al día, los ratones machos mostraron parálisis de los miembros traseros. El Comité esperaba que la exposición a 6-clorofructosa fuera virtualmente cero bajo todas las condiciones de retención previsibles o bajo condiciones fisiológicas a la que fue expuesta.

Finalmente, JECFA concluyó que debido a que el estudio de 2 años en ratas, el cual incluyó un periodo de exposición de TGS en utero, representó una mayor proporción de la vida media de las especies con respecto al estudio de 1 año en perros, el primer estudio debería ser usado para los propósitos de establecimiento de una IDA. Por lo tanto, se aplicó un factor de seguridad de 100 al nivel de efecto nulo observado en el estudio de larga duración en ratas (1500 mg/kg pc día) y se determinó una IDA de 0-15 mg/kg pc al día. Se consideró que eran necesarios estudios adicionales en inmunotoxicidad para evaluar la significancia de los cambios observados en el bazo y el timo, así como los cambios en el conteo total de linfocitos en ratas. Hasta ahora, no puede ser excluida una relación causal entre estos hallazgos y los altos niveles de exposición a la TGS.^{144, 145}

Otros autores y el SCF europeo han estudiado y analizado la sucralosa y han opinado que la sucralosa en una solución ácida, se hidroliza lentamente en sus 2 constituyentes monosacáridos clorados: 1,6-dicloro-1,6-dideoxi-D-fructosa (1,6-DCF) y 4-cloro-4-deoxi-D-galactosa (4-CG). Se ha demostrado que la tasa de hidrólisis *in vitro* es dependiente del pH, la temperatura y el tiempo. Por ejemplo, después de un año a 25°C a un pH de 3, habría menos de 1 % de hidrólisis, y a un pH de 4 o 6 no habría pérdida detectable de la sucralosa.

Por otra parte, la revisión de estudios de biotransformación entregada a la SCF por la Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin de Alemania surgió la pregunta acerca de si la sucralosa pudiera ser degradada, posiblemente a un metabolito tóxico, por la microflora del intestino, particularmente, si hay una exposición prolongada en el ser humano. Determinándose que la sucralosa es fácilmente hidrolizada a sus componentes monosacáridos en el intestino, pero los estudios en animales experimentales mostraron que la sucralosa se excretó principalmente sin cambio en las heces y en la orina después de una administración oral. Sin embargo, la formación glucoronida puede ocurrir, y puede excretarse en la orina hasta 5 % de una dosis administrada en el ser humano en otra cosa diferente al compuesto suministrado. Sin embargo, ellos declararon que no se observó ningún cambio en el metabolismo de la sucralosa durante los primeros 18 meses del estudio crónico en ratas. El Comité estuvo de acuerdo con la evidencia y los argumentos y propuso que la estructura de la molécula es tal que es extremadamente resistente a la hidrólisis, incluso a altas temperaturas y en pH ácido, argumentando que es sabido que los productos hidrolizados, 4-CG y 1,6-DCF, son en sí mismos resistentes también a una mayor degradación. La cloronización de la sacarosa para producir sucralosa también tiene el efecto de cambiar la conformación de la molécula de tal forma que se vuelve resistente al ataque de las enzimas glicosídicas que normalmente degradan carbohidratos. Por lo tanto, el Comité de la SCF concluyó que la absorción metabólica en los humanos es improbable.

Otra opinión de la información biológica acerca de que la sucralosa es que es estable *in vivo* y que la declorinización no ocurre porque la mayor parte de la dosis oral de sucralosa es absorbida y excretada sin cambio en las heces de las ratas, ratones, conejos y el hombre. El resto de la dosis es excretada en la orina. La sucralosa es absorbida en la parte superior del tracto gastrointestinal, por difusión pasiva en las ratas y las determinaciones de los niveles pico de las muestras de sangre en las ratas, ratones, conejos y el hombre. Aunque existieron considerables variaciones en la absorción entre los individuos, los niveles aproximados se expresaron como porcentajes de la dosis: rata 10, hombre 15, conejo 20, ratón 30 y perro 35. La tasa de eliminación fue similar en ratones, ratas, perros y el hombre, pero la excreción mostró ser un poco prolongada en los conejos. La sucralosa sin cambio fue el componente predominante en la orina en las 5 especies, representando 90 % o más del total de radioactividad en la orina después de la administración de ¹⁴C-sucralosa.

Además se identificaron 2 metabolitos menores en la orina más polares que la sucralosa, representando aproximadamente 2 % de la dosis oral. La evidencia indica que estos metabolitos son conjugados glucorónidos de la sucralosa y que, además de los humanos, están presentes en las ratas, ratones y perros. En los conejos no se detectó ni un metabolito en una cantidad suficiente para realizar una identificación adecuada. La similitud en la disposición de la sucralosa en las ratas, ratones, perros y humanos sugiere que estas especies son buenos modelos toxicológicos para el hombre. Debido a la prolongada excreción, similitud metabólica y una sensibilidad gastrointestinal parecida, los conejos pueden considerarse un modelo aceptable para estudios de teratogenicidad, pero no para otros efectos posibles. Además de los estudios toxicológicos de rutina, muchos estudios especiales fueron llevados a cabo en ratas, ratones y humanos.

Respecto a las técnicas radiográficas hechas en las ratas, éstas indicaron que después de la administración intravenosa la sucralosa es excretada en la orina y que también hay excreción biliar, dando como resultado que la radioactividad se localizara principalmente en el hígado, sangre, riñón e intestinos delgado y grueso. Esta radioactividad fue eliminada de todos los tejidos, además del intestino grueso, en aproximadamente 6 horas. Los estudios farmacocinéticos indicaron que la vida media efectiva de la sucralosa fue de 13 horas en el hombre.

Los estudios de absorción indicaron que los productos de la hidrólisis de la sucralosa son más fácilmente absorbidos después de una administración oral y que la 4-CG fue excretada principalmente sin cambio en la orina, mientras el 1,6-DCF siguió 2 rutas metabólicas primordiales: (1) reducción a 1,6-dicloromanitol el cual fue rápidamente excretado sin cambio en la orina y (2) conjugación rápida con glutathione.^{155, 156, 157}

En los estudios especiales llevados a cabo en ratas para evaluar la palatabilidad de las dietas conteniendo sucralosa y el efecto de la sucralosa en el peso corporal y el peso de los órganos de esas especies, los estudios demostraron que a las ratas les disgusta el sabor de las dietas que contienen altas concentraciones de sucralosa y, por lo tanto, consumen menos alimento que los animales de control. Además, el uso de la dieta consumida es impactado por la presencia de la sucralosa, la cual es pobremente absorbida desde el tracto gastrointestinal y tiene una alta actividad osmótica. De esta forma, con el tiempo, las ratas administradas con dietas que contenían altas concentraciones de sucralosa pesaron menos que los animales de control con la dieta estándar. Cuando fueron pesados ciertos órganos, el

más notable fue el timo y el ciego, de los animales que consumieron las dietas con altas cantidades de sucralosa.

La administración oral en la dieta y los estudios de administración de dieta fueron usados para determinar la causa de los efectos en el peso corporal y el peso de los órganos. Los estudios de administración oral en la dieta intentaron evitar el problema provocado por el sabor alterado introduciendo la dosis de sucralosa directamente en el estómago de las ratas a través de un tubo de plástico. Los estudios de dieta especial dieron cuenta de los efectos antes mencionados de la incorporación de la sucralosa en la dieta a través de corregir la cantidad exacta de alimento que los animales consumieron y su subsecuente aumento en el peso. Estos estudios demostraron que la sucralosa no tuvo ningún efecto adverso en el aumento de pesos de los animales, ni en el tamaño o funcionamiento de algún órgano en particular. Se puso particular énfasis en el sistema inmunológico, porque el timo es un componente importante del sistema. La evaluación del sistema inmunológico incluyó un estudio especial que demostró que la sucralosa no tenía efectos adversos en el sistema inmunológico. Lord y Newberne han investigado la relación entre el consumo de sucralosa y el alargamiento del ciego en gran detalle. Ellos demostraron que el alargamiento causado por la sucralosa es similar a la que es causada por otros carbohidratos activos pobremente absorbidos por osmosis y que esto no es motivo de preocupación toxicológica.^{49, 145, 156, 157}

5.6.4 Conclusión

Con base en los estudios de metabolismo analizados por JECFA y en otras investigaciones realizadas por otros autores, uno de los programas de seguridad más completos que han establecido diversos científicos y reguladores de todo el mundo, se ha determinado que la sucralosa es inofensiva para el ser humano y que si bien sus productos de hidrólisis se pueden producir en pequeñas cantidades y en diversos derivados, estos son excretados sin cambios, aunque hay ciertas incongruencias entre los autores

5.6.5 IDA establecida por JECFA para la sucralosa

La opinión actual de JECFA considera todos los estudios y la información entregada tanto en las evaluaciones anteriores como las realizadas, más tarde, respecto a la sucralosa y de sus

productos derivados de la hidrólisis. Con base en ellos, el Comité concluyó que había suficiente información para establecer una IDA.

Los estudios de administración de largo plazo en ratas por vía oral en los cuales se determinó que el nivel de 1 500 mg/kg pc era el adecuado para considerar un NOEL y aplicando un factor de seguridad de 100 debido a una posible variabilidad tanto entre las especies como en el ser humano dieron como resultado una IDA de 0-15 mg/kg pc

El Comité concluyó que la sucralosa es apta para ser aceptada como edulcorante y que puede ser usado en los alimentos en general, utilizando la IDA establecida.^{148, 156}

Toxicología¹⁴⁵

Organismo	Sexo	Vía	DL ₅₀ (mg/kg/pc)	Referencia
Ratón	No especificado	Oral	16 000	Lightowler & Gardner, 1977
Rata	macho	Oral	10 000	Campbell & Johnson, 1980

Triclorgalactosucralosa

Organismo	Sexo	Vía	DL ₅₀ (mg/kg/pc)	Referencia
Ratón	macho y hembra	Oral	3500	Buch & Gardner, 1982a
Rata	macho y hembra	Oral	1630	Buch & Gardner, 1982b
Rata	hembra	Oral	4450	Campbell, et al.1980

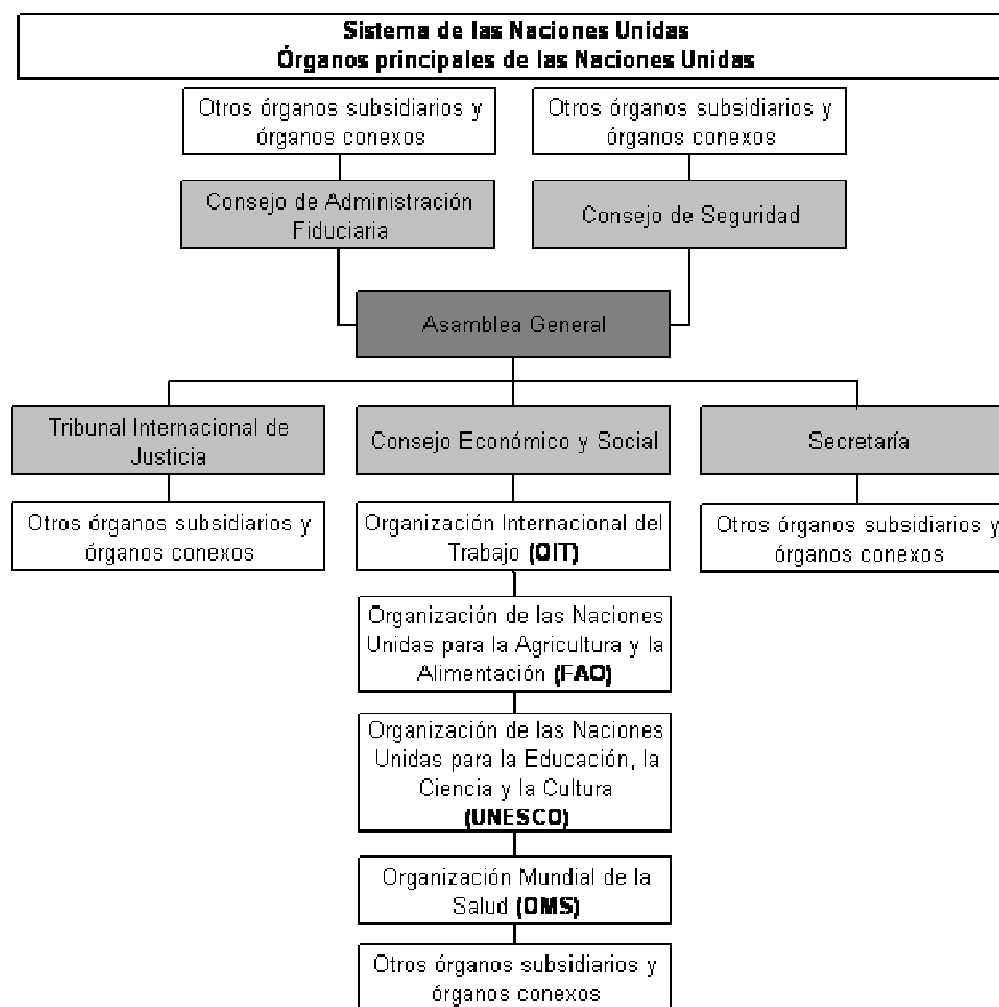
CAPÍTULO VI

MARCO JURÍDICO DE EDULCORANTES
INTENSOS

6. MARCO JURÍDICO PAR LOS ALIMENTOS A NIVEL INTERNACIONAL

A mediados de la década pasada, el comercio internacional de los aditivos de alimentos se intensificó con gran celeridad dando como consecuencia, por un lado, la necesidad de analizar los posibles riesgos en la salud que podrían derivarse durante su consumo y de la exposición a ellos y, por el otro, a una reevaluación de los procedimientos para determinar los límites máximos permitidos para su utilización.

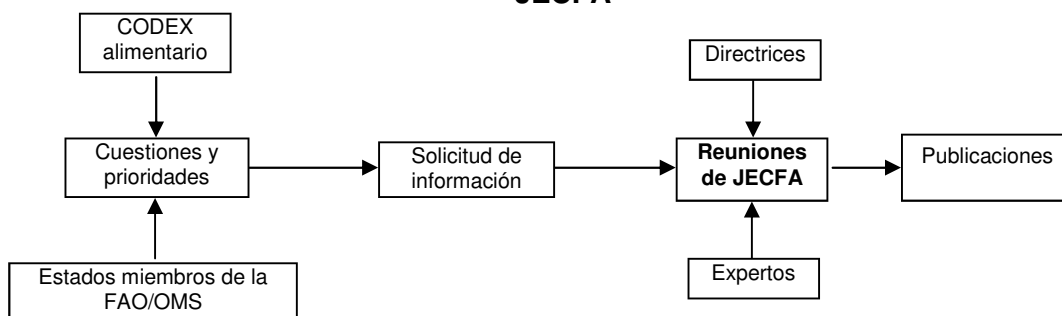
En los países miembros de la OMS, esto dio lugar a la promulgación de leyes y reglamentos, creando la necesidad de compilar, analizar y evaluar los riesgos de las sustancias químicas con los siguientes objetivos básicos: reducir al mínimo el perjuicio y aumentar al máximo su seguridad, sin impedir por ello su uso provechoso de dichas sustancias.⁵²



Es por ello que todos los aditivos utilizados en alimentos han sido evaluados y regulados por diversas organizaciones. A nivel mundial, la Organización de las Naciones Unidas (ONU) regula y evalúa a los aditivos a través del Consejo Económico y Social que incluye: la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), quienes a su vez establecen al Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) y el Codex Alimentarius.¹³

Uno de los objetivos de la FAO y la OMS es realizar evaluaciones sistemáticas de los aditivos de alimentos e informar a los países miembros sobre su control y los aspectos relacionados con la seguridad de su empleo. Los dos grupos responsables de la implementación del programa son: JECFA y la Comisión del Codex Alimentarius.^{29, 21, 13}

Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios JECFA

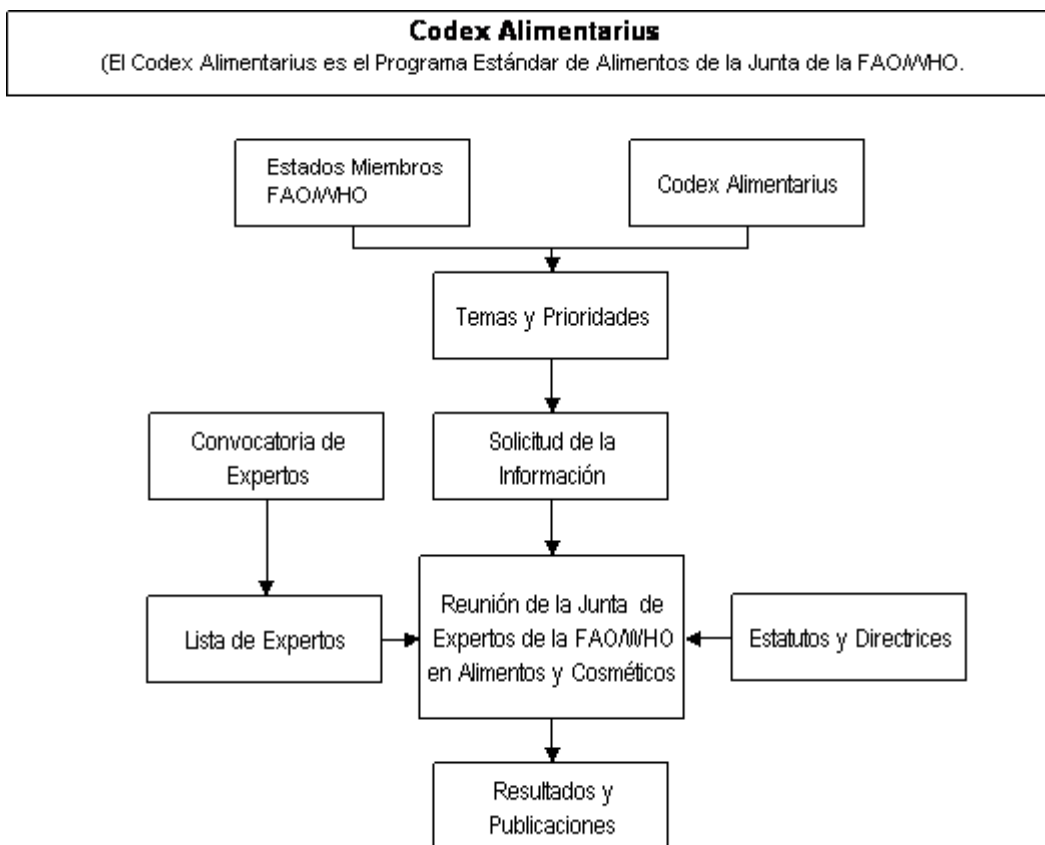


JECFA ha venido reuniéndose desde 1956 para evaluar la inocuidad de los aditivos alimentarios, principalmente. Su trabajo también incluye la evaluación de los contaminantes de sustancias tóxicas naturalmente presentes en los alimentos (CCFAC) y dar asesoría sobre residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos (CCRVDF).^{40,}

43

Los reportes contienen revisiones colectivas del grupo de científicos que actúan de forma independiente de la OMS o la FAO y se basan únicamente en consideraciones científicas. A su vez, éstas entregan a su consejo: los aspectos técnicos, las especificaciones de identidad y pureza de los aditivos de alimentos, las evaluaciones de los datos toxicológicos y recomiendan, donde pueden ser aplicados para su uso, la ingesta diaria aceptable para los humanos. Además, tienen participación como asesores sobre aditivos y contaminantes, dentro del Comité del Codex Alimentarius.^{41, 42}

Desde de la fundación de JECFA se han evaluado 1 500 aditivos de alimentos, 40 toxinas naturales (comúnmente encontradas en alimentos) y aproximadamente 90 residuos de fármacos veterinarios. El Comité ha elaborado principios para evaluar la inocuidad de los productos químicos presentes en los alimentos, que son compatibles con los actuales criterios sobre la evaluación de riesgos y se mantiene en la actualización de los métodos de Toxicología y otras ciencias pertinentes.^{20, 42}



El Codex Alimentarius establecido, en 1962, en un programa combinado e integrado por miembros de la FAO y OMS, quienes notificaron su interés para formarlo. En la actualidad, la Comisión se forma por más de 153 países que representan a más del 97 % de la población mundial.

Los Comités están organizados en: forma horizontal (asuntos generales) y el Comité Vertical (para productos) y éstos, a su vez, pueden formar Comités Regionales (África, Asia, Europa y América Latina).

El Codex Alimentarius tiene dos tipos de disposiciones:

a) Reglas alimentarias: destinadas a ser aceptadas internacionalmente sin ningún cambio. Su objetivo es proteger la salud del consumidor y orientar (asesorar), estimular la producción, establecer definiciones, promover la participación de las organizaciones, las industrias y los consumidores, para que se lleve a cabo una equidad y garantizar la aplicación de prácticas igualitarias en el comercio internacional.

b) Acuerdos de carácter de recomendaciones: destinados a orientar y promover la elaboración y el establecimiento de requisitos aplicables a los alimentos, (sean procesados, semi-procesados o crudos, ya sea para su distribución al consumidor o como materia prima).^{40, 41}

ÓRGANOS AUXILIARES DEL CODEX
<p>Comités Sobre Asuntos Generales y Países Hospedantes</p> <ul style="list-style-type: none">♦ Etiquetado de alimentos (Canadá)♦ Aditivos alimentarios y contaminantes de los alimentos (Países Bajos)♦ Higiene de los alimentos (Estados Unidos)♦ Residuos de plaguicidas (Países Bajos)♦ Residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos (Estados Unidos)♦ Métodos de análisis y toma de muestras (Hungría)♦ Sistemas de inspección y certificación de las importaciones y exportaciones de alimentos (Australia)
<p>Comités Mundiales de Codex Sobre Productos</p> <ul style="list-style-type: none">♦ Productos del cacao y chocolate (Suiza)♦ Azúcares (Reino Unido)♦ Frutas y hortalizas elaboradas (Estados Unidos)♦ Grasas y aceites (Reino Unido)♦ Hielos comestibles (Suecia)♦ Sopas y Caldos (Suiza)♦ Frutas y hortalizas frescas (México)♦ Nutrición y alimentos para regímenes especiales (Alemania).♦ Pescados y productos pesqueros (Noruega)♦ Proteínas vegetales (Canadá)♦ Higiene de la carne (Nueva Zelanda)♦ Productos cárnicos elaborados de res y aves (Dinamarca)♦ Cereales, legumbres y leguminosas (Estados Unidos)♦ Leche y productos lácteos (Nueva Zelanda) <p>♦♦Nota: Algunos de estos comités han concluido sus tareas principales y sus reuniones han dejado de ser periódicas, pero pueden ser convocados nuevamente si fuera necesario.^{48, 41}</p>

6.1 Marco jurídico en otras naciones

La mayoría de los países tiene regulaciones en materia de salud y seguridad de alimentos; los de trascendencia mundial son: La Administración de Fármacos y Alimentos (FDA) y en Europa, el Comité Científico para la Alimentación Humana de la Unión

Europea (CCF). En México, el organismo que se encarga de regular en materia de alimentos es la Secretaría de Salud.

a) Estados Unidos

La FDA es una agencia federal que pertenece al Departamento de Salud y Servicios Humanos (DHHS) que forma parte de la rama ejecutiva del gobierno de los Estados Unidos. Así también, es una de las agencias más antiguas de ese país. Está compuesta por 6 centros y 2 oficinas que tienen a su cargo las diferentes áreas de operación:

- Centro para la Evaluación e Investigación Biológica, (CBER)
- Centro de Dispositivos y Salud Radiológica, (CDRH)
- Centro de Evaluación e Investigación de Fármacos, (CDER)
- Centro para la Seguridad de Alimentos y Nutrición Aplicada, (CFSAN)
- Centro de Medicina Veterinaria, (CVM)
- Centro Nacional para la Investigación Toxicológica, (NCTR)
- Oficina del Comisionado, (OC)
- Oficina de Asuntos Regulatorios, (ORA)

En cada uno de estos organismos existen muchos temas importantes cuando se evalúa la seguridad y el bienestar de los ciudadanos norteamericanos en materia de alimentos, fármacos y cosméticos. Sin embargo, la responsabilidad cae principalmente en la FDA. Esta entidad tiene situadas las tareas que corresponden a cada uno de sus departamentos. En lo que corresponde a los alimentos; estas autoridades determinan: su regulación, el abastecimiento seguro para mantener la salud, así como la confiable y orientada información contenida en los alimentos, etc. El especificar y clasificar en que lineamientos deben ser legislados los alimentos, todo esto es un trabajo arduo, bajo las cualidades de: nutrición adecuada, seguridad de alimentos y las relaciones entre dieta y salud, para que de esta forma se identifiquen las instituciones reguladoras de cada uno de ellos, sin dejar de lado las que regulan los aditivos y en este caso los edulcorantes no nutritivos.

En lo referente a aditivos para alimentos el Acta FD&C requiere de una aprobación previa al lanzamiento en el mercado de los alimentos. Este proceso de aprobación involucra varios exámenes para mantener el cuidado en la seguridad de los aditivos. Luego de la

aprobación, se pública su regulación en el Código de Regulaciones Federales (CFR), el cual define el término “seguro” como la manera de que exista una confianza conforme al juicio de los científicos y que la sustancia no es peligrosa en las condiciones de uso propuesta. Pero como se sabe, es imposible establecer la absoluta ausencia de algún riesgo en el uso de una sustancia determinada, pero este riesgo es muy pequeño.^{59, 60}

Para implementar la regulación de aditivos de alimentos se encuentra el CFR, el cual contiene las reglas generales y sus modificaciones son permanentemente publicadas. El CFR está dividido en 50 títulos los cuales son sujetos de la regulación Federal. En el Capítulo I del título 21 se abarcan las regulaciones promulgadas por la FDA. Los reglamentos incluyen los procedimientos para aditivos de alimentos que están contenidos en las partes 170 y 171 e incluyen los elementos específicos en la sección 409 del Acta del FD&C.

La CFR contiene dos definiciones relativas a edulcorantes no nutritivos en 21 CFR 170.30(o) y 21 CFR 170.30(o)(19). La especificación de que es una sustancia no nutritiva está registrada en el 21 CFR 105.66(b).

También la FDA ha establecido más de 40 categorías de productos o grupos específicos de alimentos con el propósito de establecer las tolerancias o limitaciones del uso de aditivos en alimentos para humanos, donde incluye la lista GRAS debido a que muchas de estas sustancias tuvieron una historia de uso prolongada y de seguridad aparente.²¹

Sin embargo, el suministro de alimentos de los EU se encuentra entre los más seguros del mundo, aunque existe una preocupación en materia de salud pública por el aumento constante en la variedad de alimentos, el volumen de producción de alimentos industrializados, las tecnologías utilizadas para su elaboración, el envasado de alimentos y la creciente demanda de productos importados. El CFSAN trabaja con organizaciones internacionales (OMS, FAO, Codex) y, en ocasiones, directamente con los gobiernos extranjeros para garantizar que conozcan los requisitos del mercado de los E.U. y armonizar los estándares internacionales sobre alimentos en materia de salud pública.⁴⁷

b) Unión Europea (UE)

El origen de la Comunidad Europea puede fecharse al 9 de Marzo de 1950 con el acuerdo franco-alemán sobre la producción de acero y carbón. Posteriormente, en 1952 se funda la Comunidad Europea del Carbón y del Acero (CECA), que fue integrada por Francia, Alemania, Países Bajos e Italia. Pero el mayor impulso surge en 1957 con el nacimiento de la Comunidad Europea de la Energía Atómica (EURATOM), en donde se incorporan Gran Bretaña, Dinamarca e Irlanda y en 1988 se integra la Comunidad de los Nueve con la integración de España y Portugal.

Para entonces, los objetivos habían evolucionado; los intercambios comerciales en Europa se intensificaron y los productores comprendían que iban a enfrentarse con un mercado de más de 200 millones de consumidores y, al mismo tiempo, seguir compitiendo en materia energética con los Estados Unidos y los Países Orientales. Era, por lo tanto, importante que se establecieran leyes y normas generales para todo tipo de productos.

En lo referente a los productos alimenticios, la armonización de los reglamentos ha resultado lenta y delicada porque cada país tiene sus legislaciones propias y aparte tienen la legislación de la UE. Aunado a esto, los derechos y costumbres socioculturales de sus consumidores son diferentes en toda Europa. Es a este respecto donde se espera que la legislación responda a los diversos objetivos planteados, donde lo primordial es: garantizar la salud pública, promover el Código de Usos, la legalidad de las importaciones-exportaciones y cumplir con la información suficiente para el consumidor. La Ley de la Comunidad inscribe dentro de su reglamento que “es aplicable a todo miembro”, ésta es una función esencial para generar una mayor armonización en toda la población europea para llevar a cabo un intercambio comercial que se rija bajo los mismos lineamientos.

La ley de la CE en materia de alimentos ha desarrollado directivas para alcanzar diversos objetivos, dejando a cada país la tarea de definir los medios para conseguirlos y hacerlos cumplir, siempre y cuando éstos se basen en disposiciones legales contenidas en el marco de las directivas. Este es el acto jurídico más utilizado, ya que representa un marco general en el que diversas instancias nacionales pueden discutir de estas disposiciones.

Para cuando surge una nueva promulgación en lo que respecta a los alimentos es muy importante la opinión de los científicos, quienes con las diferentes instancias (representantes de la industria y del consumo, autoridades encargadas de la higiene pública como el Consejo Superior de Higiene Pública en Francia), propone a los Consejos implicados los resultados de diversos estudios los cuales son publicados en el Diario Oficial de las Comunidades Europeas.

La reglamentación en materia de aditivos está basada en tres directivas principalmente en donde se expone a los edulcorantes, colorantes y otros aditivos. Desde mediados de los 90's, las propuestas por el Comité Científico para la Alimentación Humana de la Unión Europea¹³ han facilitado la consulta del uso permitido de edulcorantes que se han consolidado en los artículos y anexos de las directivas. Los artículos contienen las explicaciones y los niveles comestibles, los anexos indican los niveles máximos de uso de cada edulcorante en las comidas y bebidas.

En la Directiva 94/35/EC que se adoptó el 30 de junio de 1994 se dio paso a los desarrollos tecnológicos en el área de edulcorantes. Posteriormente se adoptaron dos directivas: la Directiva 96/83/EC el 19 de diciembre de 1996 y la Directiva 2003/115/EC en las cuales se anexaron dos nuevos edulcorantes: la sal de aspartame-acesulfame-K y de sucralosa. Esta directiva debe ser observada por los Estados Miembros de la Unión Europea: Alemania, Austria, Bélgica, Chipre, Dinamarca, Eslovaquia, Eslovenia, España, Estonia, Finlandia, Francia, Grecia, Holanda, Hungría, Irlanda, Italia, Letonia, Lituania, Luxemburgo, Malta, Bajos, Polonia, Portugal, Rumania, el Reino Unido, República Checa y Suecia.^{81, 113}

c) México

En México, La Constitución Política es la Ley fundamental del Estado Mexicano. Consagra en el Artículo 4 la garantía de la protección a la salud. Por otra parte, la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal en el artículo 39 establece las atribuciones de la Secretaría de Salud, entre las que se encuentra actuar como autoridad sanitaria y ejercer las facultades en materia de salubridad y en general las leyes que confieren al Ejecutivo Federal, para vigilar el cumplimiento de la Ley General de Salud, sus reglamentos y demás disposiciones aplicables.^{50, 51, 48}

A su vez, La Ley General de Salud, reglamentaria del Artículo 4 Constitucional, establece en el artículo 17 bis las facultades de la Secretaría de Salud, mismas que ejerce a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, (COFEPRIS) para la regulación, el control y el fomento sanitario y salud.⁴⁷ De tal forma que dentro del Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios de la Ley General de Salud se tienen los apartados en los cuales se hace referencia a los aditivos de alimentos que son los siguientes.⁶

- Artículo 200 - Clasificación de Aditivos.
- Artículo 201 al 207 - Disposiciones Generales de Aditivos.
- Artículo 208 - Requisitos para poder aprobar el uso de un Aditivo.
- Título Vigésimo Tercero, Capítulo único, referente a Aditivos.
- Capítulo III, Título Décimo Sexto, Capítulo único, referente a Edulcorante Naturales y Productos de Confitería.⁶

6.2 México en el ámbito internacional

México es miembro desde 1945 de la FAO y desde 1948 de la OMS. Toma como válidos los lineamientos emitidos para los alimentos a través de JECFA y del Codex, siendo éstos antes valorados por la Secretaría de Salud (SSA).^{44, 52}

En el Derecho Federal Mexicano están previstas también las normas internacionales, cuya vigencia es supletoria, esto es, tienen validez cuando no existe alguna disposición específica en la ley mexicana. Para que una norma internacional sea válida en México, debe provenir de alguno de los cuatro organismos internacionales de regulación:

- La Organización Internacional de Normalización (ISO),
- La Comisión Electrotécnica Internacional (IEC),
- La Comisión Panamericana de Normas Técnicas (COPANT)
- y el Codex Alimentarius.

La Legislación Mexicana cuenta además con diferentes tipos de instrumentos jurídicos que señalan el modo de cómo debe ejercerse la inocuidad en los alimentos en la actividad industrial que, por un lado, está sujeta a la Normas Oficiales Mexicanas (NOM), que son obligatorias y deben seguir el procedimiento establecido en la Ley Federal de Metrología y Normalización, y por el otro, están sujetas a las Normas Mexicanas (NMX), elaboradas por los organismos de normalización ligados al sector productivo; donde el cumplimiento de estas disposiciones es voluntario. Pero cuando en México no se encuentran establecidos los requisitos necesarios para establecer la inocuidad de un determinado

producto se recurre a los acuerdos que se tienen establecidos a nivel internacional, como puede ser el Codex.^{44, 45}

La representación del Codex Alimentarius en nuestro país la asumen la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI) conforme a lo dispuesto por la Dirección General de Normas (DGN) y la Secretaría de Salud (SSA) a través de la COFEPRIS, (que tiene como meta reforzar las actividades para la protección contra riesgos sanitarios originados por agentes químicos, medicamentos y alimentos estableciendo vínculos con organizaciones y asociaciones) quien tiene relación con el Comité Mexicano del Codex Alimentarius (CMCAC) por medio de la Subdirección de Operación Internacional, que tiene dentro de sus trabajos substanciales el proponer y coordinar la estrategia general de la negociación, tramitación, actuación, representación y seguimiento de los compromisos y foros de carácter internacional relacionados con los elementos de competencia de la Comisión Federal, con la colaboración técnica de las diversas comisiones.^{47, 44, 45}

La participación de la COFEPRIS en el Codex Alimentarius, como parte de sus responsabilidades, es la de coordinar siete subcomités del Comité Mexicano para la atención del Codex Alimentarius:

- | | |
|--------------------|--|
| ◆ Subcomité No. 4 | “Alimentos y Nutrición para Regímenes Especiales” |
| ◆ Subcomité No. 7 | “Métodos de Análisis y Toma de Muestras” |
| ◆ Subcomité No. 10 | “Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos” |
| ◆ Subcomité No. 16 | “Higiene de los Alimentos” |
| ◆ Subcomité No. 18 | “Sistemas de Inspección y Certificación de Importaciones y Exportaciones de los Alimentos” |
| ◆ Subcomité No. 3 | “Residuos de Plaguicidas” |
| ◆ Subcomité No. 17 | “Higiene de las Carnes” |

A su vez, se da la participación de expertos a través de comentarios de carácter técnico y asistencia a las reuniones, en los siguientes Comités del Codex Alimentarius:

- Comité Ejecutivo,
- Comisión del Codex Alimentarius,
- Etiquetado de los Alimentos,
- América Latina y el Caribe,
- Frutas y Hortalizas Frescas; y
- Grupo de acción intergubernamental en Alimentos obtenidos por Medios Biotecnológicos.⁴⁷

6.3 Marco jurídico de los edulcorantes en México

En el Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios se establece para los edulcorantes los siguientes estatutos.⁶

CAPITULO III

Título Décimo sexto

Edulcorantes, sus derivados y productos de confitería

Capítulo único

Artículo 158 están comprendidos los edulcorantes naturales:

I. Edulcorantes naturales:

- Azúcar o sacarosa
- Azúcar invertida
- Fructosa, levulosa o azúcar de frutas
- Glucosa de maíz en solución o en polvo
- Jarabe de caña o jarabe de azúcar de caña
- Jarabe glucosa, fructosa y jarabe de almidón
- Lactosa o azúcar de leche
- Melaza
- Melado
- Miel o miel de abeja
- Miel de maguey
- Miel de maíz y
- Piloncillo o panela

II. Productos de confitería:

CAPÍTULO III

Título vigésimo tercero

Aditivos

Capítulo único

Artículo 200

En la fracción X

Quedan comprendidos los edulcorantes no nutritivos

En la fracción XXI 1.1 inciso (m) está definido como edulcorante no nutritivo:

“...la sustancia natural o sintética, que puede sustituir parcial o totalmente el dulzor del azúcar.”

6.4 Marco jurídico de los edulcorantes de alta potencia expuestos en este trabajo

- Cronología de la regulación del ciclamato

A pesar de que el ciclamato ha sido objeto de estudio de diversos laboratorios tanto de la rama privada como de universidades y organizaciones internacionales por más de 50 años, los resultados de estos estudios y la bibliografía derivada de ellos han desatado controversias entre JEFCA, CEE y la FDA, que han tenido como consecuencia que la inocuidad del ciclamato no pueda ser establecida de forma general y que se pueda determinar un solo valor como IDA.

1940-1949. Los estudios realizados en animales por los laboratorios Abbott acerca de los efectos fisiológicos del ciclamato mostraron que al menos el 95 % del ciclamato fue excretado sin cambios.⁸⁶

1949. El ciclamato fue aprobado como aditivo de alimentos por la FDA. En los años cincuentas, los especialistas en producción de alimentos encontraron que al mezclar el ciclamato con la sacarina, se originaba un dulzor sin resabios y se producía una intensidad en el dulzor. Esto fue muy favorable para la industria de alimentos.⁸⁶

1951. El ciclamato fue aprobado para ser utilizado en fármacos para diabéticos y otras personas que debían restringir el uso del azúcar.^{25, 86}

1958. FDA determinó que el ciclamato fuera agregado a la lista GRAS cuando el Acta Federal de Alimentos, Fármacos y Cosméticos aprobó la Enmienda de aditivos de alimentos, la cual contenía la famosa cláusula “Delaney”.^{86, 25}

1959. R.T. Williams observó que el ácido ciclámico es absorbido, aunque parcialmente, en el intestino y posteriormente es eliminado sin alteración en la orina y las heces.⁸⁷

1966. S. Kojima y H. Ichibagase demostraron que por acción de la microflora intestinal, el ciclamato puede ser convertido a ciclohexilamina (el cual es un metabolito tóxico que se elimina en la orina pero que puede quedar retenido en el tejido graso en forma de un compuesto conjugado con el ácido palmítico o con el esteárico). Sin embargo, esto varía entre cada individuo y especie.^{86, 88, 89}

1968. El Comité de Expertos FAO/OMS estableció una IDA temporal de 0-4 mg/kg/pc.^{98, 87}

1969. E. Bajusz observó la calcificación del miocardio después de haber alimentado a hamsters con ciclamato de calcio. En este mismo año, en varios experimentos con roedores (en cuyas dietas se incluían ciclamatos o ciclohexilamina) se observaron daños como calcificación del miocardio, cáncer de vejiga, ruptura de cromosomas y deformación de embriones lo que condujo a su prohibición en ese año.^{86, 87}

1970 Los ciclamatos fueron removidos de la lista GRAS de los EU. En ese mismo año, se calculó que en los E.U.A. se consumieron 7 000 ton de ciclamato antes de que la FDA prohibiera su empleo.^{19, 25, 86}

1973. Varios estudios posteriores a la prohibición (en los que se usó el ciclamato solo o mezclado con sacarina) no indicaron efecto dañino. Por lo consiguiente, los laboratorios Abbott (el único productor de ciclamato en los EU) realizaron una petición a la FDA para que nuevamente fueran puestos en el mercado para su uso exclusivo en alimentos de dieta. Se incluyó en la petición cerca de 400 reportes toxicológicos los cuales incluían también carcinogenicidad, mutagenicidad y metabolismo.²⁴

1976. El Instituto Nacional de Cáncer (NCI), haciendo una revisión de la información de marzo de ese año, reportó que los Laboratorios Abbott no rebatieron la carcinogenicidad del ciclamato. Con la participación de la FDA, los Laboratorios Abbott desecharon su petición y presentaron su caso a la Corte Federal.²⁴

1980. Aunque en 1976 el Comité Temporal del Instituto Nacional del Cáncer manifestó que “la evidencia existente no establece la carcinogenicidad del ciclamato ni la de su principal metabolito, la ciclohexilamina, en animales de experimentación”, en ese año, la FDA negó la petición de los Laboratorios Abbott para restablecer el ciclamato en el mercado.⁸⁷

1982. Los Laboratorios Abbott y el Consejo de Control de Calorías solicitaron una nueva reconsideración del caso, basándose en evidencias recientes que demostraban su seguridad. La OMS también pidió informaciones básicas pertinentes sobre su influencia básica en la reproducción, dada su conversión en ciclohexilamina y fijó una IDA de 0-11 mg/kg/pc.^{86, 87, 99, 25}

1984. La FDA recibió una nueva petición de reincorporación del ciclamato. Esta petición incluía una veintena de estudios que indicaban que altas dosis de ciclamato no causaron cáncer a animales de laboratorio. Quince estudios epidemiológicos posteriores no mostraron ningún incremento significativo en la relación entre el riesgo de cáncer de vejiga y el uso de la sacarina y el ciclamato.²⁰

1985. Instituciones como el Comité de Evaluación de Cáncer y la Academia de Ciencias se proclamaron en defensa de la inocuidad, si se utilizaban en cantidades pequeñas. La Academia Nacional de Ciencia reafirmó la conclusión del Comité de Evaluación de Cáncer, expresada en 1984, en la que establece que el ciclamato y su metabolito incriminado (la ciclohexilamina) no son carcinogénicos por sí mismos. Sin embargo, pueden ser promotores de cáncer.^{20, 86, 24}

1986. La FDA pidió información y juicios críticos para tomar una decisión definitiva acerca de la situación del ciclamato. El Comité de Evaluación de Cáncer de la FDA exoneró al ciclamato de ser un carcinogénico. A pesar de todos estos extensos estudios, el ciclamato aún no es autorizado para su uso como aditivo de alimentos en los EU.^{20, 86, 87}

1987. El ciclamato es usado en más de cuarenta países alrededor del mundo.

2004 Debido a la complejidad de los estudios y a la extensión de la información acerca del ciclamato, muchos países no lo han prohibido y su uso como aditivo de alimentos a continuado con una IDA establecida por la FAO/OMS, el Comité de Expertos en Aditivos de Alimentos (JECFA) y el Comité Científico en Alimentos de la Unión Europea (SCF).^{99,}

100

2005 El Código de Regulaciones Federales de los E.U., en el Título 1, volumen 3, Revisado el 1 de Abril, en la CITA: 21CFR189.135, PARTE 189 nombra al ciclamato como una de las sustancias prohibidas para uso en alimentos para humanos.

6.4.1 Marco jurídico para el ciclamato

El ciclamato está aprobado en más de 40 países, en CCE fue aceptado después de realizar nuevos estudios, es utilizado también, en casi todo el continente africano, y otros países como Canadá, Taiwán, Brasil, México, Japón, etc.

Codex	La “Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios” (GSFA) en el Compendio de Especificaciones para Aditivos Alimentarios y JECFA han permitido su uso como edulcorante con una IDA de 0-11 mg/kg pc. ¹²²
México	Está aprobado como edulcorante sintético no nutritivo, en el acuerdo por el que se determinan las sustancias permitidas como aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios
CEE	Está aprobado en la Directiva 94/35/CE. El Comité estableció una IDA máxima de 0-7 mg/kg/pc, expresado como ácido ciclámico, para el ácido ciclámico y sus sales sódicas y cálcicas. La IDA fue establecida por el CSF de Unión Europea. ^{100, 81}
FDA	El Código de Regulaciones Federales de los EU, en el Título 1, volumen 3, revisado el 1 de abril del 2005 en la CITA: 21CFR189.135. TÍTULO 21 FÁRMACOS Y ALIMENTOS Capítulo I Administración de fármacos y alimentos. Departamento de Salud y Servicios Humanos Subcapítulo B – Alimentos para consumo humano PARTE 189 SUSTANCIAS PROHIBIDAS PARA USO EN ALIMENTOS PARA HUMANOS. Subparte C-Sustancias Generalmente Prohibidas De Uso Directo o Uso como alimento para humanos. Sec. 189.135 Ciclamato y sus derivados. a) Las sales de magnesio, potasio, calcio y sodio del ácido sulfámico ciclohexano. Los ciclamatos son sustancias químicas sintéticas que tienen un sabor dulce de 30 a 40 veces más dulce que la sacarosa, no se encuentran en productos naturales en niveles detectables por metodología oficial, y han sido usados como edulcorantes artificiales. b) El alimento que contenga cualquier nivel detectable o adición de ciclamato es considerado adulterado violando el acta sustentada en la orden publicada en el Registro Federal de octubre 21, 1969 (34 FR 17063). ¹²³

6.4.2 Marco jurídico para el aspartame

El aspartame está permitido para ser usado en refrescos y otras bebidas en más de 40 países, incluyendo Australia, Canadá, Hong Kong, Sudáfrica, Suiza, etc.

Codex	La “Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios” (GSFA) en el Compendio de Especificaciones para Aditivos Alimentarios y JECFA han permitido su uso como edulcorante con una IDA de 0-40 mg/kg pc. ¹²²
México	Está aprobado como edulcorante sintético no nutritivo, en el acuerdo por el que se determinan las sustancias permitidas como aditivos y coadyuvantes. Los productos que lo contengan deben llevar la leyenda “Fenilcetonúricos: Contiene Fenilalanina”.
CEE	Está aprobado en la Directiva 94/35/CE y el CSF en su última opinión expresada en el año 2002 establece un IDA de 40 mg/kg. ^{136, 81}
FDA	El Código de Regulaciones Federales de los EU, en el Título 21, volumen 3, revisado el 1 de abril del 2005 en la CITA: 21CFR182.804, TÍTULO 21 FÁRMACOS Y ALIMENTOS Capítulo I Administración de Fármacos y Alimentos Departamento de Salud y Servicios Humanos Subcapítulo B– Alimentos para consumo humano (continuación) PARTE 172.804 Aditivos permitidos para su adicción directa en alimentos que consumen los humanos. PARTE 201 Subparte (A) ETIQUETADO EN ALIMENTOS PARTE 201 Subparte (C) REQUERIMIENTOS PARA ETIQUETADO DE FÁRMACOS

	<p>Donde se establece que el Aspartame está aprobado como aditivo multifuncional y la etiqueta debe llevar la leyenda “Fenilcetonúricos: contiene fenilalanina”. Se tiene establecida una IDA de 0-50 mg/kg pc.⁴⁰</p> <p>El aspartame fue aprobado en 1981, primero como endulzante de mesa y para su uso en gomas de mascar, cereales y otros productos, se permitió su uso en refrescos en 1983 y en 1996 fue aprobado para todos los alimentos y bebidas.</p>
--	---

6.4.3 Marco jurídico para el acesulfame-K

El acesulfame-k está permitido para ser usado en diversos productos alimenticios, su mayor aplicación es en refrescos y otras bebidas. Además está permitido en productos farmacéuticos y en alimentos para animales, lo utilizan más de 100 países, incluyendo Australia, Canadá, Japón, Nueva Zelanda, Hong Kong, Sudáfrica, Suiza.¹¹³

Codex	La “Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios” (GSFA) en el Compendio de Especificaciones para Aditivos Alimentarios y JECFA han permitido su uso como edulcorante con una IDA 0-15mg/kg pc. ¹²²
México	Está aprobado como edulcorante sintético no nutritivo, en el Acuerdo por el que se determinan las sustancias permitidas como aditivos y coadyuvantes. ⁵³
CEE	Está aprobado en la Directiva 94/35/CE y el CSF en su última opinión expresada en el año 2002 establece un IDA de 0-9 mg/kg. ^{90, 81}
FDA	<p>El Código de Regulaciones Federales de los E.U.A., en el Título 21, volumen 3, Revisado el 1 de Abril del 2005 en la CITA: 21 CFR 172.800, TÍTULO 21 FÁRMACOS Y ALIMENTOS</p> <p>Capítulo I Administración de Fármacos y Alimentos</p> <p>Departamento de Salud y Servicios Humanos</p> <p>Subcapítulo B– Alimentos para consumo humano (continuación)</p> <p>PORTE 172 Aditivos permitidos para su adición directa en alimentos que consumen los humanos.</p> <p>Subparte: ADITIVOS MULTIUSOS</p> <p>SECCION 172.800 acesulfame de potasio</p> <p>Donde se establece que el acesulfame de potasio también conocido como acesulfame-K puede ser usado generalmente con propósitos de endulzante y enaltecedor del en alimentos con una IDA de 0-15 mg/kg pc.</p> <p>La FDA lo aprobó en 1988 para usos específicos incluyendo tabletas, en 1998 lo incluyó en el uso en bebidas y en diciembre 2003 éste fue aprobado para su uso general en alimentos pero no en productos cárnicos o en alimentos para aves de corral.^{32, 67}</p>

6.4.4 Marco jurídico para la taumatina

La taumatina está permitida para ser usado en diversos productos alimenticios, su mayor aplicación es como un potenciador del dulzor. Se emplea en alimentos para humanos y animales en varios países incluyendo Australia, Israel, Singapur, Corea, Canadá, Japón, Nueva Zelanda, Hong Kong, Sudáfrica, Suiza y muy probablemente en un futuro en otros países.¹¹³

Codex	La “Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios” (GSFA) en el Compendio de Especificaciones para Aditivos Alimentarios y JECFA han permitido su uso como edulcorante con una IDA “no especificada” ¹²²
México	Está aprobado por el Acuerdo por el que se determinan las sustancias permitidas como aditivos y coadyuvantes con CAS No. 53850-34-3 y INS (SIN) 957. ⁵³
CEE	Está aprobado en la Directiva 94/35/CE como edulcorante de alimentos y fue autorizado como potenciador en gomas de mascar, bebidas y postres con diversos aditivos en la Directiva 95/2/EC y también está aprobado en todas las “preparaciones para sabores” en la Directiva 88/388/EC. Cuando se utiliza como un edulcorante, los niveles máximos deben seguirse de acuerdo a las categorías dadas para cada tipo de alimento y cuando se utiliza como enaltecedor de algún sabor puede ser usado en base a las buenas practicas de manufactura. ³⁷
FDA	La FDA y junto con el centro el centro de seguridad de alimentos y nutrición aplicada (CFSAN), bajo el programa conocido como Evaluación Basada Principalmente en Aditivos de Alimentos (PAFA), el cual contiene información administrativa, química y toxicológica de alrededor de 2 000 sustancias directamente adicionadas a los alimentos y en esta lista se encuentra la taumatina que esta reconocida como sustancia GRAS.

6.4.5 Marco jurídico para el esteviósido

El esteviósido está permitido para ser usado en diversos productos alimenticios y en algunos países se utiliza en medicina alternativa, pero su mayor aplicación es como edulcorante. En Japón (está aprobado desde 1972), en Brasil y Paraguay lo han utilizado los nativos desde épocas antiguas. También se utiliza en Corea del Sur, China, Taiwan, Tailandia, Vietnam, Argentina y estaba aprobado en el Reino Unido hasta antes de la unificación de Europa.^{16, 49, 96}

Codex	La “Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios” (GSFA) en el Compendio de Especificaciones para Aditivos Alimentarios y JECFA no encuentran establecido su consumo, por considerar que los estudios realizados para su aprobación son escasos. Sin embargo, en la norma CAC/GL 36-1989, Amd. 2005, “NOMBRES GENÉRICOS Y SISTEMA INTERNACIONAL DE NUMERACIÓN DE ADITIVOS ALIMENTARIOS” le da el número aditivo 960 al glucosido de esteviol y como función tecnológica específica que es un edulcorante. ^{122, 49}
México	No está aprobado por el Acuerdo por el que se determinan las sustancias permitidas como aditivos y coadyuvantes. Sin embargo, se vende como producto notificado ante la Secretaria de Salud. ⁵³
CEE	Con una solicitud de admisión para el mercado europeo 258/97 y denegada por el Comité Científico de Alimentos de la Unión Europea en la Decisión 2000/196/CE de la Comisión, de 22 de febrero de 2000, por la que se niega la comercialización de Stevia Rebaudiana Bertoni: plantas y hojas secas como nuevo alimento o nuevo ingrediente alimentario con arreglo al Reglamento (CE) nº 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo [notificada con el número C(2000) 77] Diario Oficial nº L 061 de 08/03/2000 p. 0014 – 0014. Debido a que la información disponible sobre genotoxicidad es insuficiente. ^{49, 96, 115}
FDA	La FDA y junto con el Centro de Seguridad de Alimentos y Nutrición Aplicada (CFSAN), Oficina de Productos Nutricionales, Etiquetado y Suplementos de Dieta en septiembre del 2001 expresaron que la Stevia rebaudiana Bertoni se encuentra en la lista donde se especifica que está autorizada como suplemento de dieta y expresaron

	básicamente que el fabricante que la utilice lo debe especificar en la etiqueta como “suplemento de dieta” y no como aditivo ni como ingrediente hasta no ser aprobado por la FDA. ¹¹⁶
--	---

6.4.6 Marco jurídico para la sucralosa

La sucralosa está autorizada actualmente para ser usada en alimentos en más de 70 países como Sudáfrica, Japón, China, Arabia Saudita, Rusia, Australia, Nueva Zelanda, Brasil, México, Canadá, Estados Unidos, y todos los que integran la Unión Europea.

Codex	La “Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios” (GSFA) en el Compendio de Especificaciones para Aditivos Alimentarios y JECFA han permitido su uso como edulcorante con una IDA de 0-15 g/kg/pc. ¹²²
México	Está aprobado como edulcorante sintético no nutritivo, está aprobado por el Acuerdo por el que se determinan las sustancias permitidas como aditivos y coadyuvantes con INS (SIN) 955. ⁵³
CEE	La Ingesta Diaria Admisible (IDA) de la sucralosa se ha fijado en 0-15 mg por kilogramo de peso corporal por JECFA y por el Comité Científico de la Alimentación de la Unión Europea en septiembre de 2000. ¹⁴²
FDA	<p>El Código de Regulaciones Federales de los EU, en el Título 21, volumen 3, revisado el 1 de Abril del 2006 en la CITA: 21CFR172.831 TÍTULO 21 FÁRMACOS Y ALIMENTOS Capítulo I Administración de Fármacos y Alimentos Departamento de Salud y Servicios Humanos Subcapítulo B- Alimentos para consumo humano (continuación) PARTE 172.- Aditivos permitidos para su adición directa en alimentos que consumen los humanos. SUBPARTE I -Aditivos multipropósito Sección 172.831 SUCRALOSA</p> <p>La sucralosa cumple con las especificaciones del Código de Químicos de Alimentos, 4ta edición, pp 398-400, en el cual es incorporado para referencia de acuerdo con 5 U.S.C. 552 (a) y 1 CFR parte 51. Se puede tener acceso a copias la División de Política de Producto (HFS-206), en el Centro para la Seguridad de Alimentos y Nutrición Aplicada y en la Administración de Fármacos y Alimentos.</p> <p>La sucralosa puede ser usada generalmente como un endulzante en alimentos, en concordancia en las buenas practicas de manufactura en una cantidad que no exceda los requerimientos en la composición de un efecto deseado.</p> <p>Si el alimento que contiene el aditivo es o se piensa utilizar en dietas especiales, debe ser etiquetado de acuerdo con la parte 105 de este capítulo. [63 FR 1643, 3 de abril de 1998, como se enmienda en 64 FR 43909, 12 de agosto de 1999].</p> <p>La FDA aprobó a la sucralosa en 1998 para su uso en quince categorías de alimentos incluyéndola como endulzante de mesa y para su uso en productos como bebidas, gomas de mascar, postres fríos, jugos de fruta y gelatinas. En 1999, la FDA permitió el uso de la sucralosa como un edulcorante de propósito general en todos los alimentos.¹⁴¹</p>

CONCLUSION FINAL

Se logró realizar la búsqueda bibliográfica con base en la información disponible tanto en textos de las bibliotecas de la Facultad de Química, Medicina, la Federación Mexicana de Diabetes, así como de la biblioteca de la Secretaría de Salud. La información electrónica se obtuvo de las diversas bases de datos con las que cuenta la UNAM, utilizando sólo lo que estaba disponible de forma gratuita.

Acerca de los edulcorantes de alta intensidad se encontró que:

Ciclamato

Se puede transformar en ciclohexilamina y, por esta causa, la FDA de los EU no lo tiene contemplado como aditivo de alimentos. Sin embargo, la Comunidad Europea y otros países, incluyendo a México, lo han aceptado.

Aspartame

Se metaboliza en ácido aspártico, fenilalanina, dicetopiperacina y metanol; los dos últimos son productos no deseables y las cantidades en las que se producen no son significativas. Se necesita consumir grandes cantidades de este edulcorante para que sea considerado nocivo para la salud.

Acesulfame-K

En los estudios realizados en animales de laboratorio, se encontró que se elimina sin cambio y que sus productos de descomposición (acetoacetamida y ácido-N-sulfónico acetamida) no causan ningún efecto en la salud ya que son igualmente eliminados sin cambios.

Taumatina

Las proteínas extraídas del fruto, las cuales son las responsables de otorgar el dulzor, son metabolizadas como cualquier otra proteína.

Estevia.

Se ha observado que los azúcares contenidos en la molécula son metabolizados como cualquier otro azúcar. No obstante, no se ha encontrado que transformaciones sufre el esteviol, la molécula central de la estevia.

Sucralosa

Aún se discute entre los diversos autores si esta sustancia es metabolizada por el organismo o no.

Todos estos edulcorantes están regulados internacionalmente por el Codex y JECFA. Además, cada país tiene sus propios reglamentos para este tipo de aditivos.

ABREVIATURAS

ADI	Del inglés Acceptable Daily Intake, Ingesta Diaria Aceptable o Ingesta Diaria Admisible, IDA.
APHIS	Del inglés Department's Animal and Plant Health Inspection, Servicio de Inspección de la Salud de los Animales y Vegetales.
APM	Aspartame éster metílico del L-aspartil-L-fenilalanina.
CAS	Del inglés RNs Registry Number Chemical Abstracts Service, ésta es una división de la Sociedad Química de los Estados Unidos.
CBER	Del inglés Center for Biologics Evaluation and Research, Centro para la Evaluación e Investigación Biológica.
CCFAC	Del inglés Codex Comitee on Food Additives and Contaminants, Comité del Codex sobre Aditivos de Alimentos y Contaminantes.
CBF	Flujo sanguíneo cerebral, glucosa y contenido de aminoácidos en el plasma
CCRVDf	Del inglés Codex Comitee on Residue of Veterinary Drugs in Food, Comité del Codex sobre Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos.
CDER	Del inglés Center for Drug Evaluation and Research, Centro de Evaluación e Investigación de Fármacos.
CDRH	Del inglés Center for Devices and Radiological Health, Centro de Dispositivos y Salud Radiológica.
CFR	Del inglés Code of Federal Regulations, Código de Regulaciones Federales.
CFSAN	Del inglés Center for Food Safety and Applied Nutrition, Centro para la Seguridad de Alimentos y Nutrición Aplicada.
CNS	Sistema Nervioso Central
Codex	Del inglés Codex Alimentarius Comisión, Comisión del Codex Alimentarius.
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios.
COPANT	Comisión Panamericana de Normas Técnicas.
CVM	Del inglés Center for Veterinary Medicine, Centro de Medicina Veterinaria.
DGN	Dirección General de Normas.
DHHS	Del inglés Department of Health and Human Services US, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos.
E	Letra otorgada por la Unión Europea para clasificar a los aditivos de alimentos.
EPA	Agencia para la Protección del Medio Ambiente.
FAO	Del inglés The Joint Food and Agriculture Organization, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
FSIS	Del inglés Food Safety and Inspection Service, Servicio de Seguridad e Inspección Alimentaria del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.
GMP	Buenas Prácticas de Producción
GRAS	Del inglés Generally Recognised as Safe, Reconocido Generalmente como Seguro.
HFCS	Del inglés High Fructose Corn Syrup, Jarabe de Maíz de Alta Fructosa o Jarabe de Maíz Rico en Fructosa.
IEC	Comisión Electrotécnica Internacional.
INS	Del inglés International Numbering System for Food Additives, Sistema de Numeración Internacional para Aditivos de Alimentos.
IOMC	Inter-Organization Programme for the Management of Chemicals, Programa de Organización Interna para el Manejo Competente de Sustancias Químicas.
IPCS	Del inglés International Program Chemistry Safe, Programa Internacional de Seguridad Química.
ISO	Del inglés International Organization for Standarization, Organización Internacional para la Estandarización.
iv	Administración intravenosa
JECFA	Del inglés Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios.

LDH	Lactato deshidrogenasa.
NCTR	Del inglés National Center for Toxicological Research, Centro Nacional para la Investigación Toxicológica.
NMX	Normas Mexicanas.
NOAEL	Del inglés No-Observed Adverse Effect Level, Nivel de Efecto Adverso No Observado.
NOM	Normas Oficiales Mexicanas.
OC	Del inglés Office of the Commissioner, Oficina del Comisionado.
OMS	Del inglés World Health Organization, Organización Mundial de la Salud.
ORA	Del inglés Office of Regulatory Affairs, Oficina de Asuntos Regulatorios.
OTI	Del inglés International Labour Organization, Organización Internacional del Trabajo.
pc	Peso corporal.
PCV	Volumen celular.
ppm	Partes por millón.
ppb	Partes por billón.
SCF	Del inglés Scientific Committee for Food of the Commission of the European Union, Comité Científico Europeo para la Alimentación Humana.
SECOFI	Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.
SGOT	Suero glutámico-oxaloacético transaminasa.
SGPT	Suero glutámico-pirúvico tansaminasa.
SSA	Secretaría de Salud.
UHT	Del inglés Ultra High Temperature, Ultra Pasteurizado.
UNEP	Del inglés United Nations Environment Programme, Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente.
USDA	United States Department of Agriculture, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.
tmvc	Toneladas métricas valor crudo.

GLOSARIO

Acumulación: Administración del xenobiótico de forma sucesiva a un órgano, órgano blanco o parte del entorno, produciendo un incremento en la concentración de dicha xenobiótico. (OMS, 1989).¹⁴⁰

Agudo: Corto plazo, en relación con la exposición o al efecto. En toxicología experimental “agudo” se refiere a estudios de dos semanas o menor duración, menos de 24 horas, de acuerdo a la edad del animal de experimentación ¹⁴⁰

Concentración media letal CL₅₀: Concentración calculada estadísticamente del xenobiótico en un estudio que expresa de forma certera el 50 % de muertes en una población dada bajo condiciones definidas.¹⁴⁰

Dosis: Cantidad de xenobiótico administrado, tomado o absorbido por un organismo.¹⁴⁰

Dosis efectiva ED: Dosis de un xenobiótico un xenobiótico que causa una magnitud definida de respuesta en un sistema dado.¹⁴⁰

Dosis letal absoluta DL₁₀₀: La cantidad más baja del xenobiótico por unidad de peso corporal, que mata a la totalidad (100 %) de los animales ensayados bajo condiciones definidas. Esta evaluación es dependiente sobre el número de organismos en el ensayo. (OMS, 1979).¹⁴⁰

Dosis letal media DL₅₀: Dosis calculada estadísticamente de un agente químico o físico (radiación) que se espera que mate al 50 % de los organismos en una población bajo condiciones específicas.¹⁴⁰

Dosis media efectiva DE₅₀: Dosis calculada estadísticamente de un agente químico o físico (radiación) que se espera que produzca un efecto certero en el 50 % en una población dada de organismos de experimentación o produzca la mitad del efecto máximo en un sistema biológico bajo condiciones específicas. DE₅₀ es la dosis media que causa el 50 % de la respuesta máxima.¹⁴⁰

Efecto agudo: Efecto de corta duración y que ocurre rápidamente normalmente en las primeras 24 h o hasta 14 días después de una dosis única o una corta exposición a un xenobiótico o radiación.¹⁴⁰

Metabolismo. Suma total de todos los procesos químicos y físicos que ocurren en un organismo; en un sentido más preciso, los cambios químicos y físicos que ocurren en un xenobiótico dado al organismo. Incluye la vía de administración del compuesto xenobiótico así como su distribución en el organismo y su biotransformación y eliminación del compuesto y sus metabolitos (WHO).¹⁴⁰

Modelo metabólico. Análisis y reconstrucción teórica de la forma en la cual el cuerpo metaboliza el xenobiótico específico, mostrando la proporción de la ingesta que es absorbida, la proporción que es almacenada y en que tejidos, el nivel de biotransformación en el cuerpo y el subsecuente destino de los productos metabólicos, así como el nivel en el que es eliminado por diferentes órganos como sustancias sin cambio o metabolitos. (WHO).¹⁴⁰

NOAEL Nivel de efecto adverso no observado: Dosis más alta o cantidad de un xenobiótico, basado en la observación o experimentación, la cual no causa alteración adversa detectable de: morfología, capacidad funcional, crecimiento, desarrollo o tiempo de vida del organismo tratado bajo definidas condiciones de exposición. (OMS, 1979).¹⁴⁰

Transformación metabólica. Transformación bioquímica de una sustancia que ocurre en un organismo.¹⁴⁰

Toxicidad aguda: Se definió como “los efectos tóxicos adversos que aparecen en un período de tiempo corto después de la administración de una dosis única o de múltiples dosis repartidas en un intervalo de 24 horas”.^{140, 63}

Toxicidad crónica: Permite la visualización de los efectos tóxicos después de la administración o aplicación, realizada diario o frecuentemente, de una o más dosis del xenobiótico en estudio durante un período de tiempo superior a 90 días. Esta duración comprende el periodo de vida promedio del animal, que puede ser de 18 meses para los roedores y hasta de 12 o 14 meses o incluso más para otras especies cerdos, peces, monos, pollos, etc.^{63, 140}

Toxicidad subaguda o subcrónica: Es el conjunto de efectos observados después de una administración repetida o frecuente de una o varias dosis del xenobiótico en estudio. La duración de esta prueba no excede los 90 días, tres meses en roedores o 10% de la vida del animal.^{140, 63}

Vida media: El promedio de tiempo de vida de una molécula, átomo o sistema nuclear en un estado específico. Para un sistema exponencialmente en descomposición, éste es el promedio de tiempo para el número de moléculas, átomos o núcleos en un estado específico de decremento por un factor e con base a los logaritmos naturales.¹⁴⁰

Xenobiótico: Un término general para designar cualquier compuesto químico ajeno al organismo que es administrado y que causa o puede causar alteraciones metabólicas.⁶³

☞ REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS ☜

1	McMurry John, <i>Química Orgánica</i> , Grupo Editorial Iberoamérica ed. 3ª, pp. 891,(1994) ISBN:968-7270-47-0
2	Owen R. Fennema Tannenbaum Steven R., <i>Food chemistry</i> , New York : M. Dekker, ed. 2ª ed. pp 82-85,740 .(1996) ISBN: 0-8247-9691-8
3	Ph. D. Fenaroli's, George A. Bardock, <i>Handbook of flavor ingredients</i> , 4th ed. Boca Raton :CRC, c(2002). pp. 1654,115,1691.
4	Bravo Serrano, M.T. Orzaez Villanueva y A. Díaz Marquina, R., <i>La miel. Edulcorante natural por excelencia</i> , Alimentaria, Jun 25 (1994).
5	Belitz, Hans-Dieter, W. Grosch, <i>Química de los Alimentos</i> , ed.2ª, Ed. Acribia. S.A, pp 271-323. (1997) ISBN: 84-200-0631-9
6	<i>Diario oficial</i> de México, REGLAMENTO de Control Sanitario de Productos y Servicios, segunda sección, lunes 9 de agosto de 1999 Disponible en Internet: http://www.ordenjuridico.gob.mx/Federal/PE/APF/APC/SSA/Reglamentos/2006/09081999(1).pdf también en : http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rcsps.html [CONSULTADO 2007 02 18]
7	Mintz, Sidney W. <i>Dulzura y poder: el lugar del azúcar en la historia moderna</i> , México Siglo XXI, pp. 29 (1996) ISBN 968-23-2008-9
8	Black burn GI, Grant J.P. And Young V.R <i>Amino acid and peptide absorption in human intestine: implications of enteral nutrition</i> . In. <i>amino acids</i> , Metabolismo and Medical application. pp 255-263. Eds. Wright, Boston, (1983).
9	Ross. R. E. The manufacturing Confectioner, Bulk ingredients sugar alcohols and Alternative Sweeteners in Confection, Nov. 49-54 (1990).
10	Z. Beranal González, <i>Edulcorantes alternativos más utilizados en confitería</i> , Alimentaria Sep 89 (2000).
11	Jurídicas XXI, Zaragoza España, en línea http://juridicasxxi.com/aviso.html Real Decreto 2106/1996, del 20 de septiembre, <i>por el que se establecen las normas de identidad y pureza de los edulcorantes utilizados en los productos alimenticios</i> (1996) Disponible en http://www.diba.es/salutpconsum/salutpublica/protecciosalut/seguretatalimentaria/normativa/additius/2106-1996.pdf [CONSULTADO 2007 03 18]
12	Mariano Garibay, Rodolfo Quintero, Agustín López Munguía, <i>Biotecnología alimentaria</i> . Ed. México, Limusa, 1ª edición, pp 519-534. (1993) ISBN: 968-18-4522-6
13	A. Larry Branen, P. Micher Davidson, Seppo Salminen <i>Food Additives</i> Segunda Edición, Editorial Marcel Dekker Inc, New York, pp 1-7, 462-470, 199-205, 966-975). (2002) ISBN:0-8247-9343-9
14	F. Collet, I. Cubiña y I.W. Blankers, <i>Lactitol un Nuevo edulcorante bajo en calorías</i> ; Alimentaria, Mayo 39, (1993),
15	D. Rost, <i>El sustitutivo del azúcar isomalt</i> , Mayo 47-48. (1993). Alimentaria
16	Jim Smith, <i>Food additive User Handbook</i> Ed. Blackiean son Ltd, Bishopbriggs, Gasgow G 64, First published, pp 46-65. (1993) ISBN: 0-7514-0002-5
17	Spada Di Nauta, V., y Camaggio Sancineti, G., <i>Los edulcorantes calóricos como alternativa a la sacarosa situación actual y perspectivas</i> . Alimentaria Jul-Ago pp 67-72., (1991)
18	Sanley H. Pine, <i>Química orgánica</i> , México, McGRAW-HILL. 4ª edición. pp.797-798. (1998) ISBN 968-451-363-1
19	Multon Jean Louis, <i>Aditivos y Auxiliares de Fabricación en Las Industrias Agroalimentarias</i> , Zaragoza España, Ed. Acribia, (2000), pp poner paginas de la nueva edición. ISBN 0471189669
20	S.S. Deshpande, Indus Therapeutics, Inc, Hyderabad, Ind. <i>Hand book Food Toxicology</i> . Ed. Marcel Dekker, Inc. New York. 1ª Ed. pp 222-252. (2003). ISBN: 0-

	8247-0760-5
21	H. Montijano, F. A. Tomás-Barberán, <i>Technological properties and regulatory status of high intensity sweeteners in the European Union</i> , Food science and technology international. 4(1) pp 6-13. (1988)
22	International Programme on Chemical Safety, Disponible en internet: http://www.inchem.org/pages/about.html [CONSULTADO 2005 06 09]
23	Judie D. Dziezak, <i>Sweeteners and product development</i> , Food technology, January, pp 199-130. (1996)
24	Judie D. Dziezak, <i>Alternatives to Cane and Beet Sugar</i> , Food technology, January, pp 116-121. (1996)
25	<i>Encyclopedia of food science and technology</i> . John Wiley & Sons, Awiley-Interscience Sec. Personal Francis, Frederick John Interscience publication, printed in New York : J. Wiley, pp. 2471-2485 (2000) ISBN: 0-471-19285-6
26	Lisansky S.G. Y Corti A. J. <i>Low Calorie Sweeteners: Harmonization in Europe</i> , Von Rymon Lipinsky, pp. 64-69. (1998)
27	Joe Bell, <i>High intensity Sweeteners-A Regulatory</i> , Food Technology, Nov., pp 24-29. (1993)
28	American Society for Nutritional Sciences, Faculty of Applied Bioscience Shizuko Yamaguchi, and Kumiko Ninomiya <i>The Use and Utility of glutametes as Flavoring Agents in Food, Umami and food palatability</i> , Departament of Nutritional Science, Tokyo University of Agriculture and Technical Committee, Umami Manufacturers Association of Japan, Tokyo, Japan, pp 921-925, (2000).
29	World Health Organization, Joint FAO/WHO expert Committee on Food Additives. <i>Toxicological Evaluation of Certain Food Additives With a Review of General Principles and Specifications</i> . Geneva, (1974).
30	Vickie A. Vaclavik, <i>Fundamentos de la ciencia de los alimentos</i> , Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España), pp 5-6 (2002)
31	International Programme on Chemical Safety (IPCS); en línea, http://www.inchem.org/ . Disponible en internet: Aspartame (WHO Food Additives Series 15) [CONSULTADO 2005 08I 14].
32	Food and Drug Administration U.S.: Artificial Sweeteners: No Calories Sweet Disponible en internet: http://www.fda.gov/fdac/features/2006/406_sweeteners.html [CONSULTADO 2006 07 07]
33	World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 539, (1974) , <i>Toxicological evaluation of certain food additives with a review of general principles and of specifications</i> (Seventeenth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Disponible en Internet: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_539.pdf , [CONSULTADO 2006 03 14]
34	Environmental Health Criteria 70: <i>Principles for the Safety Assessment of Food Additives and contaminants in Food.</i> , Geneva 1987, p. 75 (<i>Criterios de Salud Medioambiental 70: Principios de evaluación de la inocuidad de los aditivos alimentarios y de los contaminantes en los alimentos</i> , Ginebra, pág. 75. (1987)
35	Comisión de las Comunidades Europeas - "Report of the Scientific Committee for Food (tenth series) Guidelines for the Safety Assessment of Food Additives, EUR 6892, 1980" (" <i>Informe del Comité Científico para la Alimentación Humana (serie 10ª) - Directrices para la Evaluación de la Inocuidad de los Aditivos Alimentarios</i> ", EUR 6892, (1980).
36	Luis A. Rubio Fernández, <i>Edulcorantes intensos en la comunidad europea</i> , Alimentaria Oct. pp 17-21. (1990)
37	Seguridad Alimentaria: de la Granja a la mesa. En línea: http://ec.europa.eu/food/index_es.htm <i>Directiva 94/35/CE</i> del Parlamento Europeo y del Consejo de 30 de junio de 1994. Diario Oficial de las Comunidades Europeas,

	10.09.94, N° L 237/3. Disponible en Internet ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit_flavor/flav10_es.pdf [CONSULTADO 2006 03 18].
38	Seguridad Alimentaria: de la Granja a la mesa. En línea: http://ec.europa.eu/food/index_es.htm Directiva 96/83/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 19 de diciembre de 1996. Diario Oficial de l Comunidades Europeas, N° L 48/16, 27 marzo (1997). [CONSULTADO 2006 03 18].
39	World Health Organization, WHO Technical Report Series No. 339, (1966) <i>Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some antimicrobials, antioxidants, emulsifiers, stabilizers, flour-treatment agents, acids, and bases</i> (Ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), Disponible en internet: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_339.pdf [CONSULTADO 2006 03 30].
40	Food and Drug Administration U.S.: TITILE 21--FOOD AND DRUGS PART 172 – Food additives permitted for direct addition to food for human consumption. Disponible en internet: http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch.cfm?fr=172.804 [CONSULTADO 2006 11 04]
41	Codex Alimentarius en línea. http://www.codexalimentarius.net/web/index_es.jsp [CONSULTADO 2006 04 17].
42	El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) Disponible en Internet: JECFA en línea: http://www.fao.org/ag/agn/jecfa/files/what-s.pdf http://www.fao.org/ag/agn/jecfa/files/what-s.pdf [CONSULTADO 2005 04 07]
43	Joe Bell, <i>High Intensity Sweeteners a Regulatory Update</i> , Food Technology, Nov. pp 136, 1993.
44	SECOFI en línea: http://www.SECOFI.gob.mx [CONSULTADO 2005 05 30].
45	Secretaria de Salud, México, disponible en Internet: http://www.salud.gob.mx/ [CONSULTADO 2005 05 26]
46	World Health Organization WHO Technical Report Series, No. 220, (1961) Evaluation of the carcinogenic hazards of food additives (Fifth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Disponible en internet: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_220.pdf [CONSULTADO 2007 03 30].
47	Comisión Federal para la protección contra riesgos sanitarios, México, en línea http://www.cofepris.gob.mx/ Disponible en internet: http://www.cofepris.gob.mx/inter/inter.htm [CONSULTADO 2007 03 17]
48	Alejandro Benites Aguilar, <i>Seguridad de los aditivos de alimentos, evolución o revolución, CODEX Alimentarius</i> , Tecnología de Alimentos, vol. 33, No.7, Jul (1998).
49	Lyn O' Brien Nabors;, <i>Alternative Sweeteners</i> , Third Edition, Revised and Expanded Ed. For New York Marcel Dekker, inc. (2001). ISBN:0-8247-0437-1
50	Diario Oficial de la Federación, México LEY ORGÁNICA DE LA ADMINISTRACIÓN PÚBLICA FEDERAL ,Diario Oficial de la Federación 29 de diciembre de 1976, Última reforma publicada DOF 02-06-2006, Disponible en Internet: http://www.ordenjuridico.gob.mx/Federal/PE/PR/Leyes/29121976(1).pdf [CONSULTADO 2007 05 04]
51	Diario Oficial de la Federación, México Reglamento de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. Disponible en internet http://www.ordenjuridico.gob.mx/Federal/Combo/Reglamentos/R-27.pdf [CONSULTADO 2007 05 04]
52	Publicado por el Dep. de Información Publica por las Naciones Unidas, Nueva York. <i>ABC de las Naciones Unidas</i> , 2004, pp.50. ISBN: 9213002009
53	Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios, México, en línea http://www.cofepris.gob.mx/ ACUERDO por el que se determinan las sustancias permitidas como aditivos y coadyuvantes. Disponible en internet: http://www.cofepris.gob.mx/mj/documentos/acuerdos/acuSec_5.pdf también en

	http://www.ordenjuridico.gob.mx/Federal/PE/APF/APC/SSA/Acuerdos/2006/17072006(1).pdf [CONSULTADO 2007 05 04]
54	Organización Mundial de la Salud http://www.who.int/es/temas_de_salud http://www.who.int/topics/food_additives/es/ [CONSULTADO 2005 08 20]
55	Organización panamericana de la salud, Criterios de salud ambiental, <i>Principios y métodos par evaluar la toxicidad de las sustancia químicas. Parte I</i> ; Organización panamericana de la salud, Oficina Regional de la Organización Mundial de la salud. 5252 Twebnty-third Street, NW, Washington, D.C. 20037, E.U.A., 1980. pp.1-250.
56	World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 669 1981. Evaluation of certain food additives (Twenty-fifth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Disponible en internet: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_669.pdf [CONSULTADO 2005 05 04]
57	World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 696, (1983) Evaluation of certain food additives and contaminants (Twenty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). and corrigenda. Disponible en internet: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_696.pdf [CONSULTADO 2007 05 04]
58	World Health Organization, WHO Technical Report Series No. 806, (1991), Evaluation of certain food additives and contaminants (Thirty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Disponible en internet: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_806.pdf [CONSULTADO 2006 05 04]
59	Food and Drug Administration U.S., http://www.foodsafety.gov gateway to government food safety information http://www.foodsafety.gov/ Disponible en internet: http://www.cfsan.fda.gov/~mow/sfoodadd.html [CONSULTADO 2007 05 04]
60	Food and Drug Administration U.S., Disponible en internet: http://www.accessdata.fda.gov [CONSULTADO 2006 03 16]
61	M.R. Weihrauch & V. Biehl <i>Artificial sweeteners-do they bear a carcinogenic risk?</i> Annals of Oncology 15: 1460-1465, (2004)
62	World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 144, (1958)Procedures for the testing of intentional food additives to establish their safety for use (Second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) Disponible en internet: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_144.pdf [CONSULTADO 2005 09 04]
63	DERACHE R. Paris, <i>Toxicologie et securite des Aliments psicología, ed, Technique et sécurité des aliments</i> , pp 62-63,203-205, 482-485, (1990).
64	Barry E. Homler, <i>Properties and stabilityof ASPARTAME₂</i> Food Technology, 14 pp 50-55. (1984)
65	World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 228, (1962) Evaluation of the toxicity of a number of antimicrobials and antioxidants (Sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Disponible en internet: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_228.pdf [CONSULTADO 2005 01 24]
66	Lndley Mg. <i>New developments in low-calorie sweeteners. World Rev Nutr Diet</i> 1999, vol 85 pp 44-51.
67	Food and Drug Administration U.S.: <i>TITLE 21--FOOD AND DRUGS</i> Chapter I food and drug administration department of health and human services Disponible en:Internet: http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=172 [CONSULTADO 2005 05 20]
68	Stegink, L. D., Brummel, M. C., McMartin, G., Martin-Amat, Filer, L. J., Jr., Baker, G. L., and Tephly, T. R., <i>Blood methanol concentrations in normal adult subjects administered abuse doses of aspartame</i> , J. Toxicol. Environ. Health, 7, 281. (1991)
69	International Programme on Chemical Safety (IPCS);en línea, http://www.inchem.org/ . Disponible en internet: Acesulfame Potassium [CONSULTADO 2006 08 14] .http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v16je02.htm

70	International Programme on Chemical Safety (IPCS) Disponible en internet: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v28je13.htm también en: Acesulfame potassium (WHO Food Additives Series 28) [CONSULTADO 2006 11 24]
71	International Programme on Chemical Safety Disponible en internet: ACESULFAME POTASSIUM (JECFA Evaluation) [CONSULTADO 2006 10 12]
72	International Programme on Chemical Safety Disponible en internet: acesulfame potassium (WHO Food Additives Series 18) [CONSULTADO 2006 10 12]
73	Joan Corominas, José A. Pascual, <i>Diccionario de etimologías</i> Editorial Gredos. Sánchez Pacheco No. 81, Madrid España; pp 535. (1989)
74	Real academia española <i>Diccionario de la Lengua Española</i> , Ed. XXII, Tomo I, Impreso en España .pp.864.(2001)
75	Staff report, <i>Thaumatococcus – The Sweetest Substance Known to Man Has a Wide Range of Food Applications</i> Food Technology Jan. pp 74-75. (1996)
76	Harry T. Lawless, Hildegard Heymann, <i>Sensory evaluation of food principles en practices</i> , Ed. Kluwer Academic/plenum Publisher by Chapman & Hall, New York , 42-44 (1999) ISBN 0-412-99441-0 ó SBN: 08342-1752-X
77	Ricardo Becerro de Bengoa Vallejo, Carmen Gamella Pizarro, Paloma Posada Moreno, Luis Fernández Carmena y Jesús Sánchez Martos. <i>Edulcorante artificial: aspartame</i> , Alimentaria, Octubre 90/23, pp. 23-25.
78	Hough L. <i>High-intensity, low-calorie sweeteners</i> en Khan R (ed) <i>Low-Calorie Food and Food Ingredients</i> . Glasgow: Chapman pp 138-162, (1993)
79	Francis a. Carey, <i>Química Orgánica</i> , 3 ^{era} edición, Mc Graw Hill, New York, New York ; México City : McGraw-Hill, pp914-915. (2006) ISBN 0072828374
80	I. Faus <i>Recent developments in the characterization and biotechnological production of sweet-tasting proteins</i> Appl. Microbiology Biotechnology 53: 145-151. (2000)
81	Food Safety. From the Farm to the Fork, Europa, European Commission, Authorized Sweeteners, DIRECTIVA 94/35/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO Disponible en internet: http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit_flavor/flav10_es.pdf#search=%22Directiva%2094%2F35%2FCE%20del%20Parlamento%20Europeo%22 [Consultado 2005 02 04]
82	Norman Kretchmer, M.D., Ph. D., and Clarie B. Hollenbech, Ph. D. <i>Sugars and Sweeteners</i> , Ed. CRC Press, and clarie b. hollenbeck Inc. Boca Raton : CRC (2002). ISBN 0-8493-8835-X
83	M mukhipadhyay, A. Mukherjee and J. Chakrabarti <i>In vivo Cytogenetic Studies on blends of Aspartame and Acesulfame K</i> , Food and Chemical Toxicology 38 75-77 (2000).
84	A. Mukherjee and J. Chakrabarti <i>In vivo Cytogenetic Studies on Mice exposed to Acesulfame K a non nutritive sweetener</i> , Food and Chemical Toxicology 35 1177-1179 (1997)
85	Faus, Laboratory of biotechnology, URIACH GROUP, <i>Recent developments in the characterization and biotechgical production of sweet-tasting proteins</i> , Appl Microbiol biotechnol 53 145-151 (2000).
86	William T: MILLER, “ <i>The legacy of cyclamate</i> ”, Food Technology, Jan, pp. 116. (1987).
87	Zenén E. Vidaud Candebat y Miguel O. García Roché, <i>Acción, Uso, análisis y toxicidad de los edulcorantes sintéticos de empleo actual y potencial en Cuba</i> , Alimentaria, Jul-Ago. 204, pp 47-52. (1989)
88	Kojima, S. y Ichibagase, H. <i>Studies on Sythetic Sweeteners, cyclohexylamine, a metabolite of sodium ciclamate</i> . Chem Pharm, pp. 14, (1971)
89	Drassar, B. S. col. <i>The role of the gut flora and the metabolism of cyclamate</i> . Biochem. Jan. pp 129. (1972)

90	Food Safety. From the Farm to the Fork, Europa, European Commission Scientific Committee on Food, Health & Consumer Protection Directorate-General, European Commission, "Re evaluation of acesulfame K with reference to the previous SCF opinion". Disponible en internet: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out52_en.pdf [CONSULTADO 2007 03 25]
91	B.A. Bopp, R.C. Soders, J.W. Kesterson. <i>Toxicological aspects of cyclamate and cyclohexylamina</i> . CRC Critical Reviews in Toxicology 16:213-306, (1986)
92	International Programme on Chemical Safety (IPCS) Disponible en internet: también en: 201. Calcium cyclamate and sodium cyclamate (including Cyclohexylamine) (FAO Nutrition Meetings Report Series 48a) . [CONSULTADO 2006 04 22]
93	International Programme on Chemical Safety (IPCS). Disponible en internet: 127. Sodim cyclamate (FAO Nutrition Meetings Report Series 44a) también en: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v44aje36.htm : [CONSULTADO 2006 03 11]
94	International Programme on Chemical Safety (IPCS) Disponible en internet: 449. Sodium and calcium cyclametes (WHO Food Additives Series 12) También en: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v12je21.htm [CONSULTADO 2006 02]
95	International Programme on Chemical Safety (IPCS) Disponible en internet: 528. Cyclamates, calcium, codium and cyclohexylamine (WHO Food Additives Series 17) También en: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je08.htm [CONSULTADO 2007 04 16]
96	Grenby Trevor. H., <i>Progress in sweeteners</i> , Elsevier applied Food Science Series, Edited by London: Blackie Academic & Professional, c1996. ISBN 0-7514-0331-8
97	A.J Collin, <i>Metabolism of cyclamate and its conversion to cyclohexylamine</i> . Diabetes Care 12 supplement, pp 50-55. (1989)
98	World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 631, (1978) Evaluation of certain food additives and contaminants (Twenty-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Disponible en internet: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_631.pdf [CONSULTADO 2007 05 4]
99	A.G. Renwick, J.P. Thompson, <i>et al.</i> , <i>The metabolism of cyclamate to cyclohexilamine in humans during long-term administration</i> , Toxicology and Applied Pharmacology N.196, 367-380. (2004)
100	Food Safety. From the Farm to the Fork, Europa, European Commission Scientific Committee on Food, Health & Consumer Protection Directorate-General, European Commission, "Revised opinion on ciclamic acid and its sodium and calcium salts", (2000). disponible en internet: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out53_en.pdf [CONSULTADO 2007 03 25]
101	International Programme on Chemical Safety (IPCS) <i>THAUMATIN</i> , Disponible en internet: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v20je15.htm también en: 605. Thaumatin (WHO Food Additives Series 20) [CONSULTADO 2007 02 11]
102	Cook R.J., Champion K.M., Giometti C.S. Methanol toxicity and for mate oxidation in mice. Arch Biochem Biophys; 393: 192-198.(2001)
103	Eells J.T., Salzman M.M., Lewandowski M.F., Murray T.G. <i>Formate induced alterations in retinal function in methanol intoxicated rats</i> . Toxicol. Appl. Pharmacol. 140: 58 69. (1996)
104	A. G. Renwick, and R.T. Williams <i>The Fate of cyclamate in Man and Other Species</i> Biochem. J 869-879, (1972).
105	M. Eichelbaum, J.H. Hengstamann, H.D. Rost, T. Brecht, Hj. Dengler <i>Pharmacokinetics, cardiovascular and metabolic actions of cyclohexylamine in man</i> Arch Toxicology 243-263 (1974)
106	A.G. Renewick , R.T.Williams. <i>The metabolism of ¹⁴C-cyclohexylamine in mice and certain animals</i> J Biochem (1972) 129 857-867.

107	González-Quevedo A., Obregón F., Urbina M., Roussó T., Lima L. <i>Effect of chronic methanol administration on amino acids and monoamines in retina, optic nerve and brain of the rat.</i> Toxicol. Appl. Pharmacol. (2002)
108	Jan M.C. Geunsa,*, Patrick Augustijnsb, Raf Molsb, Johan G. Buysec, Bert Driessend, <i>Metabolism of stevioside in pigs and intestinal absorption characteristics of stevioside, rebaudioside A and steviol</i> Food and Chemical Toxicology 41 1599–1607 (2003)
109	International Programme on Chemical Safety (IPCS) Disponible en internet: Sweetening agent: Stevioside (WHO Food Series 42) también en: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v042je07 [CONSULTADO 2007 04 11]
110	Food and Drug Administration U.S.,FDA/CFSAN Food Additives U. S. Food and Drug Administration FDA/IFIC Food Additives. Disponible en internet: http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/foodaddi.html [CONSULTADO 2006 05 16]
111	Codex Alimentarius Norma General del Codex para el etiquetado de aditivos de alimentarios. Disponible en: http://www.codexalimentarius.net/download/standards/2/CXS_107s.pdf [CONSULTADO 2005 08 14].
112	Food Safety, From the Farm to the Fork, Europa, European Commission, Directiva del consejo, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros sobre los aditivos alimentarios autorizados en los productos alimenticios destinados al consumo humano (89/107/CEE) (DO L 40 de 11.2.1989, p. 27). Documento en internet: http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit_flavor/flav07_es.pdf [CONSULTADO 2005 08 14]
113	The International Sweeteners Association (ISA) http://www.isabru.org/ Safety of sweeteners in the EU Disponible en Internet: http://www.isabru.org/about_sweeteners-safety.html [CONSULTADO 2006 07 06]
114	E. Koyamaa,*, K. Kitazawaa, Y. Ohoria, O. Izawaa, K. Kakegawab, A. Fujinoa, M. Uic <i>In vitro metabolism of the glycosidic sweeteners, stevia mixture and enzymatically modified stevia in human intestinal microflora</i> Food and Chemical Toxicology 41 (2003) 359–374
115	Food Safety. From the Farm to the Fork, Europa, European Commission EUROPEAN COMMISSION Stevia Rebaudiana Bertoni plants and leaves, the leaves of <i>Stevia Rebaudiana</i> Bertoni as Novel Food. Disponible en internet: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out36_en.pdf [CONSULTADO 2006 03 18]
116	Food and Drug Administration U.S., Center for Food Safety and Applied Nutrition, New Dietary Ingredients in Dietary Supplements. Disponible en internet: http://www.cfsan.fda.gov/~dms/ds-ingrd.html [CONSULTADO 2006 10 15]
117	Mintz Sidney W., <i>Dulzura y poder, el lugar del azúcar en la historia moderna, SIGLO XXI</i> , México, 1996. ISBN 968-23-2008-9
118	ASPARTAME (WHO food additives series. Disponible en: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v16je03.htm [CONSULTADO 2006 08 14]
119	International Programme on Chemical Safety (IPCS) <i>Calcium cyclamate toxicological evaluation of some flavouring substances and non-nutritive sweetening agents.</i> Disponible en internet: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v44aje35.htm [CONSULTADO 2005 12 03]
120	Eriko Koyamaa,*, Norifumi Sakaia, Yuji Ohoria, Ken Kitazawaa, Osamu Izawaa, Kunio Kakegawab, Akiharu Fujinoa, Michio Uic, <i>Absorption and metabolism of glycosidic sweeteners of stevia mixture and their aglycone, steviol, in rats and humans,</i> Food and Chemical Toxicology 41 (2003) 875–883
121	Enrique García-Galiano, <i>Seguridad de los aditivos en los alimentos, evolución o revolución, Tecnología de Alimentos, Industria y Mercado.</i> Vol. 33, No. 4 Abril, 1998.
122	CODEX alimentarius, normas alimentarias FAO/OMS GSFA Online Actualizado hasta la 28ª Reunión de la Comisión del Codex Alimentarius (2005) Edición en línea: "Compendio de especificaciones para aditivos alimentarios. Disponible en

	Internet: http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph1/Additive-078.pdf [CONSULTADO 2007 03 04]
123	U.S. Food and Drug Administration,[1906- 2006 FDA Centennial] U.S Department of Health and Human Services, center for devices and radiological health. http://www.fda.gov/default.htm [Disponible en Internet: http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=189 [CONSULTADO 2006 09 09]
124	Koyama, E., Kitazawa, K., Ohori, Y., Sakai, N., Izawa, O., Kakegawa, K., Fujino, A., Ui, M., <i>Intestinal degradation, absorption, and hepatic metabolism of the glycosidic sweeteners, Stevia mixture</i> . International Symposium on Sweeteners, Hiroshima, pp.12, 2001.
125	Stegink Lewis, L.J. Filer, Jr. Matthews DM: <i>Absorption of peptides, amino acids and their methylated derivative. In Aspartame: Physiology and biochemistry</i> pp 29-46, Ed. Marcel Dekker, New York, 1984
126	Koyama, E., Kitazawa, K., Ohori, Y., Izawa, O., Kakegawa, K., Fujino, A., Ui, M., <i>In vitro metabolism of the glycosidic sweeteners, Stevia mixture and enzymatically modified Stevia in human intestinal microflora</i> . Food Chem. Toxicol. 41, 359–374. (2003a)
127	Nakayama, K., Kasahara, D., Yamamoto, F., <i>Absorption, distribution, metabolism and excretion of stevioside in rats</i> . J. Food Hyg. Soc. Jpn 27, 1–8. (1986)
128	Hutapea, A.M., Toskulkao, C., Buddhasukh, D., Wilairat, P., Glinsukon, T., 1997. <i>Digestion of Stevioside, a Natural Sweetener, by Various Digestive Enzymes</i> . J. Clin. Biochem. Nutr. 23, 177–186.
129	Geuns, J.M.C., Malheiros, R.D., Moraes, V.M.B., Decuypere, E., Comperolle, F., Buyse, J.G., 2003b. <i>Metabolism of stevioside by chickens</i> . J. Agric. Food Chem. 51, 1095–1101.
130	Geuns, J.M.C., Augustijns, P., Mols, R., Buyse, J.G., Driessen, B. <i>Metabolism of stevioside in pigs and intestinal absorption characteristics of Stevioside, Rebaudioside A and Steviol</i> . Food Chem. Toxicol. (2000)
131	Hutapea, A.M., Toskulkao, C., Wilairat, P., Buddhasukh, D., <i>High-performance liquid chromatographic separation and quantitation of stevioside and its metabolites</i> . J. Liq. Chrom. Rel. Technol. 22, 1161–1170. (1999)
132	Wasuntarawat, C., Emcharoen, P., Toskulkao, C., Mungkornkarn, P., Suttajit, M., Glinsukon, T., <i>Developmental toxicity of steviol, a metabolite of stevioside, in the hamster</i> . Drug Chem. Toxicol. 21, 207–222. (1998)
133	Inquietudes y reflexiones. Reflexiones sobre la fenilcetonuria. Medio siglo después del inicio de su tratamiento exitoso. Dra. Marcela Vela-Amieva, en <i>Acta Pediátrica de México Salud Reproductiva SSA</i> . Volumen 24 Número 6 Nov-Dic, 2003. Disponible en línea: www.revistas.medicasmexicanas.com.mx www.imbiomed.com.mx , [CONSULTADO 2006 08 14]
134	International Programme on Chemical Safety (IPCS) <i>Toxicological evaluation of some flavouring substances calcium cyclamate</i> Disponible en internet: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v44aje35.htm [CONSULTADO 2005 08 14]
135	Impacto social del tratamiento integral de la Fenilcetonuria en Cuba. Disponible en Internet: http://www.monografias.com/trabajos25/fenilcetonuria/fenilcetonuria.shtml#fenil [CONSULTADO 2006 06 14]
136	Food Safety. From the Farm to the Fork, Europa, European Commission Scientific Committee on Food, Health & Consumer Protection Directorate-General, European Commission, Opinion of the Scientific Committee on Food: <i>Update on the Safety of Aspartame</i> . Disponible en internet: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out155_en.pdf [CONSULTADO 2006 09 25]
137	World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 653, 1980 Evaluation of certain food additives (Twenty-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Disponible en internet: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_653.pdf [CONSULTADO

	2005 07 06]
138	World Health Organization, WHO 148 . General Principles Governing the Use of Food Additives (First report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 129, 1957 [Documento en línea Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_129.pdf [CONSULTADO 2005 11 22]
139	L. Serra-Majem et al. <i>Cyclamate and cyclohexylamine excretion are nor related to male fertility in humanos.</i> , Food additives and contaminants pp 1097-1104, 20:12, 2003.
140	International Union of Pure and applied Chemistry, <i>Glossary of terms Used in Toxicology IUPAC</i> , Clinical Chemistry Division. Disponible en internet: http://www.iupac.org [CONSULTADO 11 08 2006]
141	Food and Drug Administration U.S.:TITLE 21-FOOD AND DRUGS <i>Chapter I food and drug administration department of health and human services</i> Disponible en: internet: http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=172.831 [CONSULTADO 05 07 2007]
142	Food Safety. From the Farm to the Fork, Europa, European Commission Scientific Committee on Food, Health & Consumer Protection Directorate-General, European Commission, <i>Re-evaluation of acesulfame K with reference to the previous SCF opinion</i> . Disponible en internet: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out52_en.pdf [CONSULTADO 2007 03 25]
143	The Weston A. Price Foundation for wise traditions in food, farming and the healing arts. <i>Sugar-Free Blues--Everything You Wanted to Know About Artificial Sweeteners, Sucralosa</i> . Disponible en internet: http://www.westonaprice.org/modernfood/sugarfree_blues.html
144	International Program on Chemical Safety (IPCS) 721. Trichlorogalactosucrose (TGS) (WHO Food Additives Series 28) 12-20-06, http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v28je14.htm Summary: 2. BIOLOGICAL DATA 2.1 <i>Special study on palatability 2.1.1 Rat Groups of 10 female Sprague-Dawley, CD strain rats had free access to two bottles containing either tap water or TGS solution at concentrations ranging from 20 2560 mg/ml for 32 days.</i> 2.2 Short-term studies. Disponible en internet: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v28je14.htm [CONSULTADO 2005 08 14]
145	International Programme on Chemical Safety (IPCS) 655. Trichlorogalactosucrose (WHO Food Additives Series 24) 12-20-06, http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v024je05.htm Summary: Evidence for TGS absorption from the diet was provided by quantitative chemical analysis of TGS in urine from animals previously exposed to control diet or diet containing TGS. Disponible en internet: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v024je05.htm [CONSULTADO 2005 08 14]
146	World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 631, (1978) Evaluation of certain food additives and contaminants (Twenty-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Disponible en internet: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_631.pdf . [CONSULTADO 2007 05 4]
147	Evaluation of certain food additives and contaminants (Thirty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 776, 1989. English français http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_776.pdf [CONSULTADO 2008 01 4]
148	Organización de las naciones unidad para la agricultura y la alimentación Ayudar a construir un mundo sin hambre Inocuidad y Calidad de los Alimentos, Trabajando juntos a favor de la inocuidad y calidad de nuestros alimentos.

	http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/details.html;jsessionid=8173E6EA16E5BBD752CC99906B78D7D8?id=546 El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph1/Additive-444.pdf [CONSULTADO 2008 09 14]
149	Evaluation of certain food additives and contaminants (Thirty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 806, 1991, and corrigenda . [CONSULTADO 2008 01 4]
150	B. A. JOHN, S. G. WOOD and D. R. HAWKINS, Huntingdon, <i>The Pharmacokinetics and Metabolism of Sucralose in the Mouse</i> , Food and chemical toxicology, Año 2000, [CONSULTADO 2007 04 4] www.elsevier.com/locate/foodchemtox
151	S. G. WOOD, B. A. JOHN and D. R. HAWKINS, <i>Huntingdon Research Centre Ltd, Huntingdon. The Pharmacokinetics and Metabolism of Sucralose in the Dog</i> , Food and chemical toxicology, Año 2000 [CONSULTADO 2007 04 4] www.elsevier.com/locate/foodchemtox
152	B. A. JOHN, S. G. WOOD and D.R. HAWKINS, <i>The Pharmacokinetics and Metabolism of Sucralose in the Rabbit</i> , Food and chemical toxicology, Año 2000 [CONSULTADO 2007 04 4] www.elsevier.com/locate/foodchemtox
153	J. SIMS, A. ROBERTS, J. W. DANIEL and A. G. RENWICK, <i>The Metabolic Fate of Sucralose in Rats</i> , Food and chemical toxicology, Año 2 000 [CONSULTADO 2007 04 4] www.elsevier.com/locate/foodchemtox
154	A. ROBERTS, A. G. RENWICK, J. SIMS ² and D. J. SNODIN, <i>Sucralose Metabolism and Pharmacokinetics in Man</i> , Food and chemical toxicology, Año 2 000, [CONSULTADO 2007 04 4] www.elsevier.com/locate/foodchemtox
155	I. McLEAN BAIRD ¹ , N. W. SHEPHARD ² , R. J. MERRITT ^{3*} and G. HILDICK-SMITH, <i>Repeated Dose Study of Sucralose Tolerance in Human Subjects</i> , Año 2000, Food and chemical toxicology, [CONSULTADO 2007 04 4], www.elsevier.com/locate/foodchemtox
156	EUROPEAN COMMISSION HEALTH & CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL <i>Opinion of the Scientific Committee on Food on sucralose, Directorate C - Scientific Opinions, C3 - Management of scientific committees II; scientific co-operation and networks (Adopted by the SCF on 7 September 2000) SCIENTIFIC COMMITTEE ON FOOD SCF/CS/ADDS/EDUL/190 Final 12/9/2000</i>
157	H. C. GRICE, and L. A. GOLDSMITH <i>Sucralose -An Overview of the Toxicity Data</i> Año 2000, Food and chemical toxicology, [CONSULTADO 2007 04 4], www.elsevier.com/locate/foodchemtox
158	DR. PEDRO VALLE VEGA, M. en C. BERNARDO LUCAS FLORENTINO TOXICOLOGIA DE ALIMENTOS Universidad Nacional Autónoma de México I,nstituto Nacional de Salud Publica, Centro Nacional de Salud Ambiental México, D.F. 2000