



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

***TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN: USO DE LOS
EDULCORANTES NATURALES DE ALTA POTENCIA EN LA ELABORACIÓN
DE ALIMENTOS PROCESADOS.***

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

FANNY AMEYALLI LÓPEZ ALVARADO



CIUDAD DE MÉXICO AÑO 2019



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: HUGO RUBÉN CARREÑO ORTÍZ
VOCAL: FRANCISCO JAVIER CASILLAS GÓMEZ
SECRETARIO: JUAN DIEGO ORTÍZ PALMA PÉREZ
1° SUPLENTE: RODOLFO FONSECA LARIOS
2° SUPLENTE: ESMERALDA PAZ LEMUS

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA:

M. EN E HUGO RUBÉN CARREÑO ORTÍZ

SUSTENTANTE (S):

FANNY AMEYALLI LÓPEZ ALVARADO

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	5
OBJETIVOS	6
General.....	6
Particulares.....	6
GENERALIDADES DE LOS EDULCORANTES	7
CLASIFICACIÓN DE LOS EDULCORANTES	7
REGULACIÓN NACIONAL E INTERNACIONAL	11
ESTEVIA	13
Origen.....	13
Ventajas de uso	14
Desventajas de uso	15
Características	15
Aplicaciones en la industria alimenticia	16
Toxicología.....	17
FILODULCINA	17
Origen.....	17
Ventajas de uso	19
Desventajas de uso	19
Características	19
Aplicaciones en la industria alimentaria.....	19
Toxicología.....	19
GLICIRRICINA	20
Origen.....	20
Ventajas de uso	22
Desventajas de uso	22
Características	22
Aplicaciones en la industria alimentaria.....	23
Toxicología.....	25
LUO HAN GUO	25
Origen.....	26
Ventajas de su uso.....	27
Desventajas de su uso.....	27

Características	27
Aplicaciones en la industria alimentaria.....	29
Toxicología.....	30
PROTEÍNAS DULCES	31
BRAZZEÍNA	32
Origen.....	32
Ventajas de su uso.....	33
Desventajas de su uso.....	34
Características	35
Aplicaciones en la industria alimentaria.....	36
Toxicología.....	36
MONELINA	37
Origen.....	37
Ventajas de su uso.....	38
Desventajas de su uso.....	38
Características	39
Aplicaciones en la industria alimentaria.....	40
Toxicología.....	41
TAUMATINA	41
Origen.....	42
Ventajas de su uso.....	43
Desventajas de su uso.....	43
Características	44
Aplicaciones en la industria alimentaria.....	45
Toxicología.....	46
DISCUSIÓN.....	47
CONCLUSIÓN.....	57
ANEXO A)	58
Monografías JECFA disponibles.....	58
Anexo B).....	81
Sustancia específica reconocida como GRAS por FDA.....	81
BIBLIOGRAFÍA.....	84

INTRODUCCIÓN

Nos gusta el sabor dulce en nuestros alimentos, por lo que se ha empezado a sustituir el consumo de azúcar por sustancias que nos brinden el mismo gusto dulce. Los aditivos alimentarios que tienen la tarea de proporcionar a un alimento una sensación gustativa dulce y existen naturales o sintéticos, son llamados edulcorantes.

Los edulcorantes de alta potencia, en comparación con la sacarosa, aportan un poder energético nulo o insignificante. Los edulcorantes utilizados en la industria alimentaria deben cumplir ciertas características, como tener dulzor percibido inmediatamente pero similar al azúcar, degradarse rápidamente, aportar menos calorías, ser termoestable y estable para no perder sus cualidades al ser combinados con alimentos.

Es indispensable comprobar que estas sustancias sean inocuas, es decir, que su consumo no cause efectos perjudiciales en la salud. Para ello existe una cooperación entre la Organización Mundial de la Salud (OMS), y la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO), auspiciando la estructura del organismo llamado JECFA, por sus siglas en inglés. Encargada de evaluar la inocuidad de los aditivos alimentarios naturales y sintéticos.

Las personas encuentran ventajas en esta alternativa por menor aporte calórico y mejor control en ciertas enfermedades. Sin embargo también existen desventajas como la falta de información o información errónea, ya que se cree que son potencialmente cancerígenos pero aún no se cuenta con estudios que confirmen este tipo de información sobre su consumo.

OBJETIVOS

General

Hacer una revisión de la información disponible y más reciente sobre los edulcorantes naturales de alta potencia y su utilización en la elaboración de alimentos procesados.

Particulares

- Identificar y señalar las ventajas y desventajas de los edulcorantes naturales de alta potencia.
- Identificar los posibles riesgos toxicológicos reportados sobre los edulcorantes naturales de alta potencia.
- Aportar un panorama general sobre los aspectos de legislación nacional e internacional así como la tendencia en el consumo de edulcorantes naturales de alta potencia.

GENERALIDADES DE LOS EDULCORANTES

De acuerdo a la definición de la FAO los aditivos alimentarios edulcorantes, (diferentes de los azúcares mono o disacáridos) son aquellos que confieren dulzor a un alimento, por ello han sido muy buena opción para sustituir el azúcar en nuestros alimentos.

Cumplen ciertas características, como impacto, es decir, que su gusto dulce sea percibido inmediatamente, su sabor debe ser similar al azúcar, degradarse rápidamente, aportar menos calorías, ser termoestables y estables para no perder sus cualidades al ser combinados con alimentos, inocuos, no dejar resabios y tener una caída rápida de intensidad (Alonso, 2010).

Ya sean naturales o sintéticos aquellos que poseen un poder energético nulo o insignificante y tienen alto poder edulcorante se llaman edulcorantes de alta potencia (Santillán et al., 2017). Existen varias clasificaciones que más adelante se explican.

CLASIFICACIÓN DE LOS EDULCORANTES

No se tiene bien definida la clasificación de los edulcorantes, pero existen dos atributos en los que la mayoría de la literatura coincide: contenido calórico que aportan, por lo tanto existen calóricos y no calóricos, y el origen del propio edulcorante ya sea natural o artificial (Santillán et al., 2017) como se muestra en la figura 1.

De acuerdo a la International Sugar Organization (ISO), 2012; se dividen principalmente en calóricos y no calóricos y estos a su vez en naturales y artificiales. Los endulzantes no calóricos naturales se vuelven a dividir, entre los denominados de baja potencia (alcoholes de azúcar) se encuentran el sorbitol y xilitol y entre los de alta potencia se incluyen los derivados de la estevia (*Stevia rebaudiana*) y el luo

han guo (*Siraitia grosvenorii*). Si utilizamos edulcorantes no calóricos se necesitan pequeñas cantidades para endulzar alimentos ya que son intensamente dulces (Santillán et al., 2017).

Figura 1. Clasificación de edulcorantes con base en aporte calórico y origen.

Clasificación de los edulcorantes			
Calóricos	Naturales	Azúcares	Sacarosa, glucosa, dextrosa, fructosa, lactosa, maltosa, galactosa y trehalosa, tagatosa, Sucromalat
	Edulcorantes naturales calóricos		Miel, jarabe de arce, azúcar de palma o de coco y jarabe de sorgo.
	Artificiales	Azúcares modificados	Jarabe de maíz de alta fructosa, caramelo, azúcar invertido.
No calóricos	Naturales	Alcoholes del azúcar	Sorbitol, xilitol, manitol, eritritol, maltitol, isomaltulosa, lactitol, glicerol.
	Edulcorantes naturales sin calorías		Luo han guo, estevia, taumatina, pentadina, monelina, brazzeína
	Artificiales	Edulcorantes artificiales	Aspartame, sucralosa, sacarina, neotamo, acesulfame K, ciclamato, neohesperidina DC, alitamo, advantamo

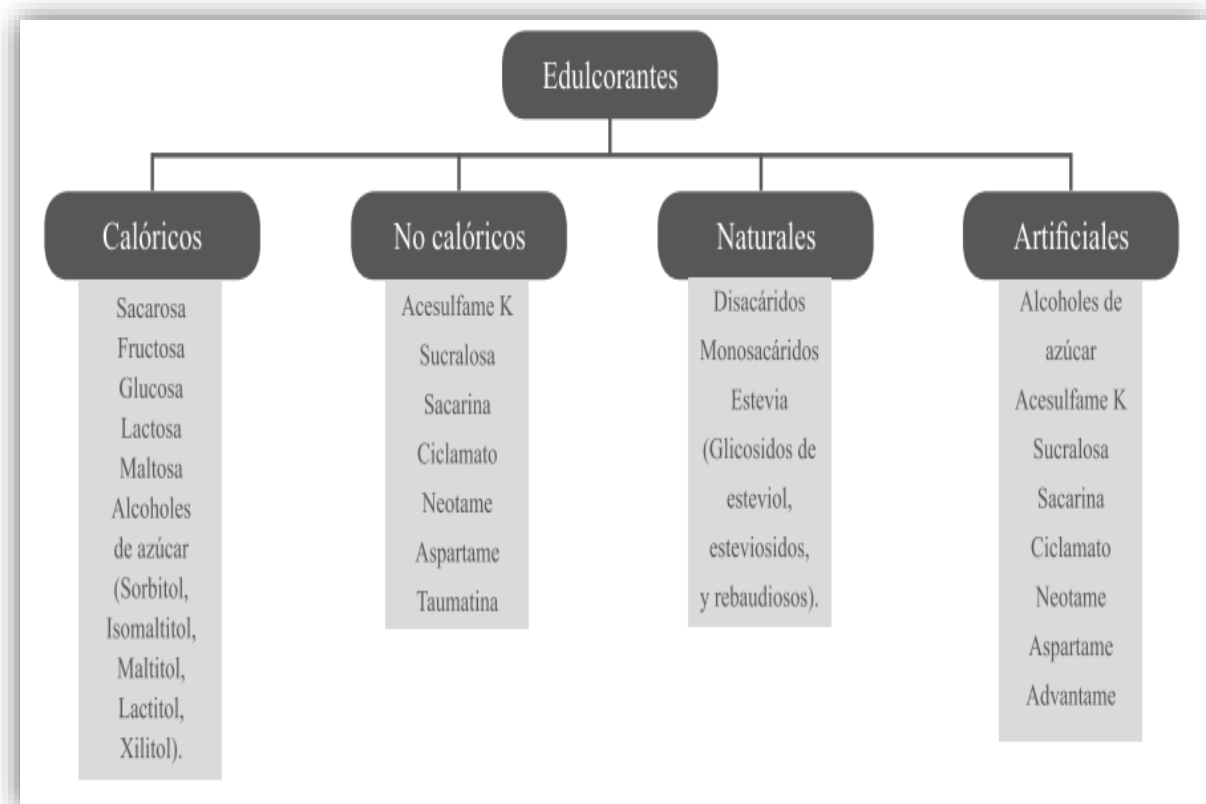
Fuente: Santillán, *et al.* Impacto de la sustitución del azúcar de caña por edulcorantes de alta intensidad en México. *Universidad Autónoma Chapingo*, (2017).

Por otro lado existe otra clasificación como se muestra en la figura 2 en la que se divide a estos aditivos en los siguientes cuatro grupos (González, 2013):

- Edulcorantes calóricos, que proporcionan 4 kcal/g.
- Edulcorantes no calóricos (ENC), que aporta menos de 1 kcal/g.
- Edulcorantes naturales, como los disacáridos, monosacáridos y la estevia.

- Edulcorantes artificiales o sintéticos, en los que se encuentran los alcoholes de azúcar o polioles.

Figura 2. Clasificación de edulcorantes con categorías independientes.



Fuente: Santillán, *et al.* Impacto de la sustitución del azúcar de caña por edulcorantes de alta intensidad en México. *Universidad Autónoma Chapingo*, (2017).

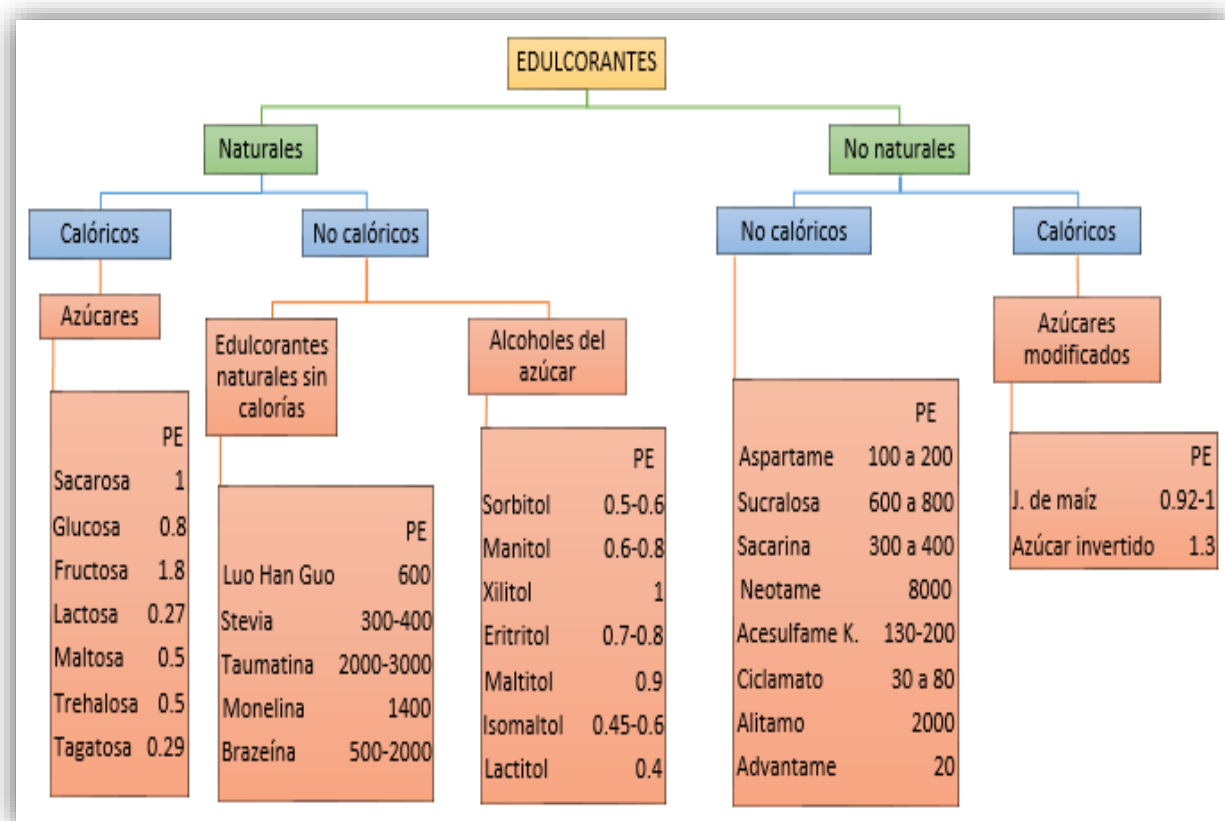
Mientras que la FDA y la UE, clasifican los edulcorantes basándose en su aporte nutritivo y no nutritivo. Santillán *et al.* (2017) proponen una clasificación con base si es natural o artificial, aporte calórico, grupo estructural al que pertenece y poder edulcorante (PE), mostrándose a continuación en la figura 3.

Para poder comprender mejor esta clasificación, entendamos que el poder edulcorante (PE) se refiere a la potencia relativa de un edulcorante comparado con

la sacarosa. Los autores pretenden diferenciar con mayor claridad estos aditivos (Santillán, 2017).

Cabe aclarar que aunque este autor clasifica los azúcares del grupo de los polioles como no calóricos, estos si aportan calorías aunque menos que la sacarosa.

Figura 3. Clasificación propuesta por Santillán et al., 2017.



Fuente: Santillán, et al. Impacto de la sustitución del azúcar de caña por edulcorantes de alta intensidad en México. *Universidad Autónoma Chapingo*, (2017).

REGULACIÓN NACIONAL E INTERNACIONAL

Antes de explicar quiénes son los encargados de la regulación de los aditivos, debemos conocer la definición sobre los aditivos alimentarios de cada uno de los organismos.

En México, la legislación mexicana define como aditivo a las sustancias adicionadas de manera directa a los productos durante su fabricación para proporcionar o intensificar ciertas características como aroma, sabor, color, o sea para mejorar su estabilidad o conservación (Calvo, 2013).

La definición legal de la Comisión del Codex Alimentarius de la FAO/OMS nos dice que un aditivo alimentario es una sustancia que no se consume regularmente como un alimento ni se usa como ingrediente, así tenga valor nutritivo o no. La adición es de manera intencional pero con fines tecnológicos en cualquiera de sus fases de elaboración y resulta en un componente que afecta sus características. De acuerdo al Manual de Procedimiento del Codex Alimentarius, 2007 esta definición no incluye contaminantes ni sustancias que mantengan o mejoren sus cualidades nutricionales del alimento (Calvo, 2013).

La Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) define como aditivo alimentario a cualquier sustancia que al utilizarse da como resultado directo o indirecto, su transformación que afecta las características de cualquier alimento y aprueba su consumo en los Estados Unidos. Los aditivos indirectos son aquellos que en mínima cantidad se pueden integrar al alimento debido al contacto con el empaque o envase (Calvo, 2013).

Ya hablando sobre regulación, en México la Secretaría de Salud (SS), ejerce las atribuciones de regulación, control y fomento sanitario, a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), donde tienen como visión prevenir y atender los riesgos sanitarios a través de políticas, programas y proyectos a nivel de las mejores prácticas internacionales, y como misión es proteger a la población contra riesgos a la salud provocados por el uso y consumo de bienes y servicios, insumos.

En el año 2012, COFEPRIS y la SS a través de un acuerdo determinaron el uso y disposición sanitaria de los aditivos y coadyuvantes utilizados en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios como medida de protección a la salud de la población. Se buscó que aquellas sustancias a emplearse como aditivos en la elaboración de algún producto que provoquen efectos tóxicos o pongan en riesgo la salud, sean identificadas claramente y se restrinja su empleo. En este acuerdo a través de un listado se establece para cada uno de los aditivos o grupos de éstos, los límites máximos en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, en los que se reconoce su uso (COFEPRIS).

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) es un comité científico internacional de expertos administrado conjuntamente por los dos organismos mencionados anteriormente, y ha evaluado desde 1956 la inocuidad de los aditivos. JECFA asesora de manera científica a la FAO, OMS y a través del Comité del Codex sobre Aditivos y Contaminantes de los Alimentos (Codex Committee on Food Additives and Contaminants, CCFAC) brinda ésta asesoría respecto a contaminantes y sustancias tóxicas presentes de manera natural en los alimentos. Desempeña un papel importante en cuanto a la evaluación de la toxicidad. Otros países para elaborar sus propios programas de regulación toman como referencia a este organismo (Calvo, 2013).

La legislación europea autoriza cualquier aditivo a través de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) y es la encargada de autorizar cualquier uso de aditivo alimentario. Cuenta con una directiva marco que abarca a los aditivos de manera general (Directiva 89/107/CEE), también cuenta con tres directivas específicas para edulcorantes, colorantes y otros, así como listas positivas y sus condiciones de uso (Calvo, 2013).

Cada país cuenta con leyes propias para regular los aditivos alimentarios.

ESTEVIA

La estevia es considerada el mejor sustituto del azúcar, es 300 a 400 veces más dulce que la sacarosa y no contiene calorías, puede consumirse en su forma natural en pequeñas cantidades gracias a su poder edulcorante (Durán et al., 2012).

La definición de acuerdo a la monografía disponible en JECFA nos dice que, los glicósidos de esteviol consisten en una mezcla de compuestos que contienen un esqueleto de esteviol conjugado a cualquier número o combinación de los principales restos de azúcar (glucosa, ramnosa, xilosa, fructosa, arabinosa, galactosa y desoxiglucosa) en cualquiera de las orientaciones que se producen en las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni (JECFA, 2019).

Origen

La planta de *Stevia rebaudiana* es originaria del Suroeste de Paraguay, perteneciendo a la familia de las asteráceas y conocida como "hoja dulce". Es un arbusto perenne que puede alcanzar 65 a 80 cm, incluso 1.0 m de altura, sus hojas lanceoladas tienen aproximadamente 5 cm de longitud y 2 cm de ancho y se disponen alternadas, enfrentadas de dos en dos como se muestra en la figura 4. Puede utilizarse para la producción comercial por un periodo de cinco o más años (Durán, 2012).

Este arbusto presenta en su composición un alto porcentaje de glucósidos de esteviol (esteviósido y rebaudiosida A), los cuales proporcionan una sensación gustativa dulce intensa (Salvador, 2014).



Figura 4. Planta *Stevia rebaudiana*. Fuente de Estevia.

Ventajas de uso

Sus beneficios de esta planta principalmente se deben a sus propiedades terapéuticas contra algunas enfermedades como diabetes, hipertensión y obesidad; además ayuda al control del peso, la saciedad y el hambre, así como en tratamientos de alteraciones de la piel. Por sus compuestos fenólicos, actúa también como un excelente antioxidante y anticancerígeno; y se ha demostrado que posee propiedades anticonceptivas, diuréticas y efecto bactericida sobre *Streptococcus mutans*, responsable de la caries (Salvador, 2014).

Además la FDA (Food and Drug Administration) en el año 2013 clasificó a estevia como GRAS (Generally Recognized as Safe) y autorizó el uso de este edulcorante en bebidas y alimentos (Gutiérrez, 2015).

Desventajas de uso

En cuanto al consumo de estevia, las investigaciones han demostrado que el extracto puro de la hoja de estevia es seguro consumirla en alimentos y bebidas para la población en general, así como para mujeres embarazadas, niños y adultos e incluso niños que padecen diabetes, ya que no se han identificado efectos secundarios negativos (Salvador, 2014).

Sin embargo para la elaboración de ciertos productos, estevia no es la mejor opción. Por ejemplo en panes, salsas de soya, bebidas, yogures, helados y utilizado como edulcorante de mesa, el uso excesivo de estevia en su preparación puede dar como resultado un regusto amargo. En cuanto a productos horneados representa un problema ya que estevia carece de las capacidades de generar textura y caramelizar, además no ayuda a suavizar pastas. También pasteles elaborados con estevia no logran esponjar, y obtener galletas suaves o masticables suele ser complicado (Jones, 2006).

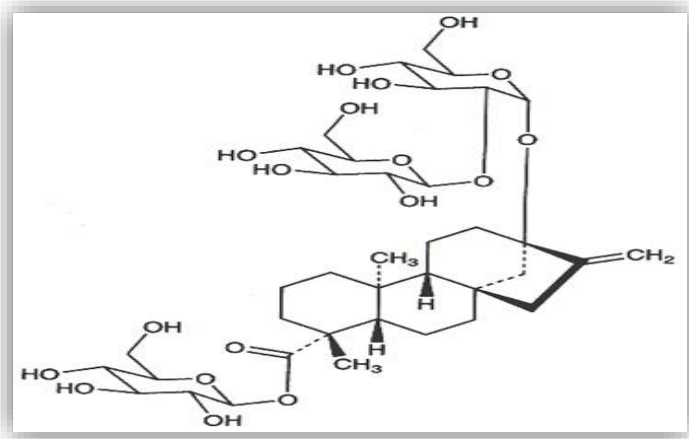
Características

Los compuestos de la planta *Stevia rebaudiana* responsables del dulzor son los glucósidos de esteviol: esteviósido, esteviolbiósido, rebaudiósido A, B, C, D, E y F y dulcósido (Durán et al., 2012). En la figura 5 se muestra la estructura de esteviósido.

Las hojas de la planta silvestre contienen 0.3% de dulcósido, 0.6% de rebaudiósido C, 3.8% de rebaudiósido A y el 9.1% de esteviósido. Además contienen ácido ascórbico, β -caroteno, cromo, cobalto, magnesio, hierro, potasio, fósforo, riboflavina, tiamina, estano, zinc, etc. (Durán et al., 2012).

Sólo 18 especies de las 110 muestran las características anteriores y la más dulce es *Stevia rebaudiana* Bertoni (Durán et al., 2012).

Figura 5. Estructura de esteviósido.



Aplicaciones en la industria alimenticia

Con base en sus propiedades, la aplicación de estevia se inclina al mercado de bebidas, principalmente como edulcorante y saborizante (Figura 6). Otras aplicaciones en la industria de alimentos es como aditivo para bebidas gaseosas, jarabes de frutas, jugos de frutas, helados, yogures, pasteles, panes dulces, mermeladas, salsas, jaleas, chicles, dulces (Andrés, 2011).

Figura 6. Ejemplo de estevia, disponible en sitios de venta por internet. Marca: Stevia, Super Life. Presentación de 1 g/sobre. Con distintivo Kosher. Venta en México.



Fuente: www.mercadolibre.com.mx

Toxicología

Del año 2000 al 2010 JECFA se ha encargado de revisar la IDA (Ingesta Diaria Admisible) de esteviol y estableció en su última revisión una IDA de 4 mg/kg de peso corporal/día, equivalente a 12 mg/kg de peso/día de rebaudiósido A (Gutiérrez, 2015).

FILODULCINA

La filodulcina es un edulcorante policétido, es decir, es un metabolito secundario obtenido de las hojas de Hortensia *Hydrangea macrophylla* subsp. *serrata* var *thunbergii* (Cueva, 2017).

Origen

Hortensia *Hydrangea macrophylla* mostrada en la figura 7 es una especie que se encuentra en bosques húmedos de Japón, existen alrededor de 80 especies nativas en Asia y América Central y Sur, pero la más conocida tiene su origen en Japón y China, es una planta exótica también utilizada para decoración y pertenece a la familia Hydrangeaceae Dumort. Las hojas son perennes o caducas y tienen entre 4 a 5 sépalos (Puebla, 2017).



Figura 7. Hortensia *Hydrangea macrophylla*.

Las plantas del género *Hydrangea* presenta diversos metabolitos como fenoles, taninos, glicósidos, alcaloides, terpenos y esteroides. En las hojas de esta planta se encuentra de manera significativa una isocumarina llamada filodulcina. Su poder edulcorante es 200 a 400 veces más dulce que la sacarosa (Puebla, 2017). En la figura 8 se muestra la estructura química de filodulcina.

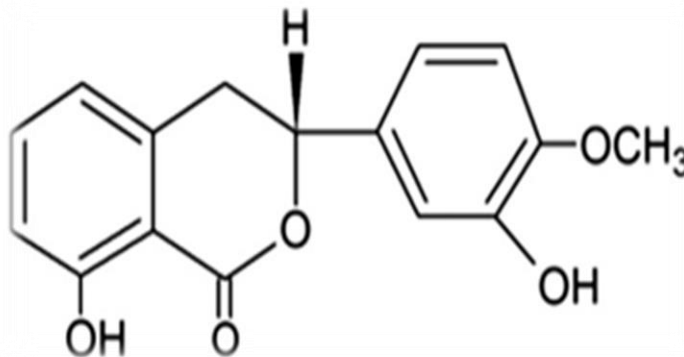


Figura 8. Estructura química de Filodulcina.

Ventajas de uso

Se ha demostrado en estudios realizados que la filodulcina tiene efectos positivos para personas con diabetes, ya que mejora los niveles de glucosa en sangre (Puebla, 2017).

Desventajas de uso

No se han encontrado registros ni estudios actualmente de las desventajas en el uso de filodulcina.

Características

En la *Hydrangea macrophylla* se encuentra una dihydroisocumarina, la cual caracteriza a la filodulcina que es 400 a 800 veces más dulce que la sacarosa, la fórmula molecular de la filodulcina es $C_{16}H_{14}O_5$ (Sánchez, 2014).

Aplicaciones en la industria alimentaria

En cuanto a las aplicaciones en alimentos de filodulcina de manera más popular es en la preparación de tés de hierbas, como el té *matcha* en Japón (Velisek, 2014).

Toxicología

En un ensayo de mutación avanzada se encontró que la filodulcina pura no es mutagénico, y en ratones se demostró que no es tóxico cuando se les suministro vía oral hasta 2 g/kg (O'Brien, 2016).

GLICIRRICINA

El ácido glicírrico o glicirricina es extraída de la raíz del regaliz *Glycyrrhiza glabra*. Su sal de amonio es un potente edulcorante, hasta 100 veces más que la sacarosa y se emplea como aditivo o fármaco. En la figura 9 se muestra la estructura de la glicirricina, la cual es una saponina (glucósido) que se encuentra en la raíz del regaliz (Badui, 2006).

La codificación en el etiquetado de la Comunidad Europea para este edulcorante es E958 y la codificación por parte del Codex Alimentarius (FAO) es Número SIN o número INS 958 (Hablemos claro, 2018).

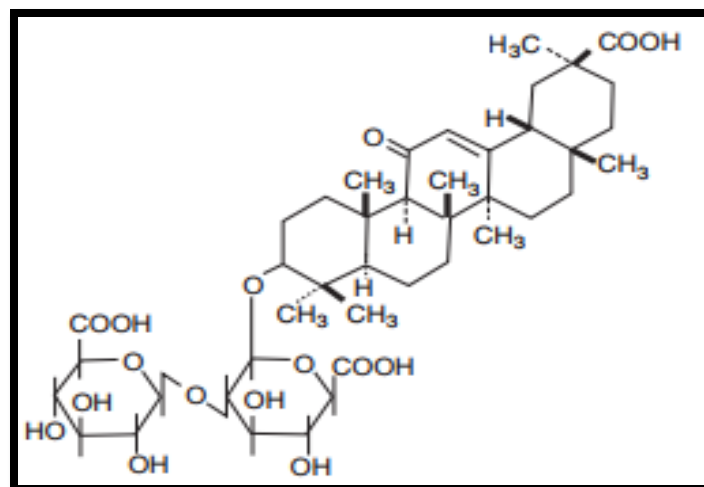


Figura 9. Estructura de glicirricina.

Origen

Las principales especies productoras de ácido glicírrico son *Glycyrrhiza glabra* L., *G. uralensis* Fisch y *G. inflata* Batal. Crecen en un hábitat de suelos profundos y pertenecen a la familia de las leguminosas. Estas especies se encuentran predominantemente en España, Grecia, Italia, Turquía, Iraq, Irán, también países

del Asia central y Sudoriental como Mongolia, Afganistán, Uzbekistán y Pakistán (Jia et al., 2013).

También se distribuye por las riberas del Tajo y del Ebro en España (Figura 10). Se conoce también como regaliz, regalicia, regaliza, arrezú y ororuz; en Madrid se conoce vulgarmente como paloduz, palodul, paloluz y puros. Antiguamente era una golosina con mucho consumo. El consumo de esta golosina en la actualidad en Madrid se ha sustituido por regaliz, extracto seco que se obtiene de manera industrial por cocimiento y filtración (Tardío, 2002).

Figura 10. Riberas del Tajo y del Ebro en España. Distribución de *Glycyrrhiza glabra*.



Ventajas de uso

Al ácido glícirrico o glicirricina además de ser utilizado como edulcorante se le han atribuido, en dosis apropiadas, múltiples propiedades medicinales como antiinflamatorio, antiulceroso, antialérgico, antioxidante, antitumoral, antidiabético, es utilizado en tratamiento del síndrome premenstrual e infecciones virales como resfriados comunes, hepatitis, VIH y SIDA (Jia et al., 2013).

Desventajas de uso

Las personas que consumen en altas cantidades regular tienen una mayor posibilidad de desarrollar efectos adversos. Estudios mencionan que abusar de las cantidades puede causar edemas, incremento en la presión arterial, complicaciones cardíacas. En dosis altas es citotóxico y puede provocar efectos psicológicos (Jia et al., 2013).

Características

Es una planta con sistema radicular y rizomas leñosos, tallos que llegan a medir un metro de altura que principalmente brotan en primavera y en invierno desaparecen. Las hojas cuando nacen son viscosas y pegadizas. Crecen flores de color violeta, agrupadas en racimos y el fruto es una legumbre pequeña con 2-4 semillas (Figura 11). Florece de mayo a julio, aunque no siempre sucede (Tardío et al., 2002).



Figura 11. *Glycyrrhiza glabra*.

Aplicaciones en la industria alimentaria

Comercialmente el ácido glícirrico se encuentra disponible como la marca Magnasweet®, este producto enmascara eficazmente sabores amargos, astringentes, ácidos, metálicos y medicinales que a menudo se encuentran en los productos de consumo. La eficacia de Magnasweet® para enmascarar los sabores indeseables se logra a dosis muy bajas (Magnasweet). Existen varias líneas del producto, en la figura 12 se muestra Magnasweet® 110 (3X).



Figura 12. Producto elaborado a partir de *Glycyrrhiza*. Disponible en su página web. Marca: Magnasweet. Aprobado como GRAS, aprobado por FEMA, certificado Kosher, certificado Halal. Venta en todo el mundo.

El sabor semejante al regaliz lo hace adecuado para algunas aplicaciones como dulces y productos farmacéuticos (Sánchez, 2014).

Magnasweet® es utilizado como saborizante y/o surfactante, también se utiliza para enmascarar notas amargas de algunos edulcorantes o prolongar el tiempo de duración de algunos sabores (Sánchez, 2014).

Los productos Magnasweet® funcionan bien en una amplia gama de bebidas, como bebidas carbonatadas, jugos y bebidas de frutas, bebidas a base de té, bebidas a base de soya y bebidas deportivas y energéticas (Magnasweet).

En el mercado de la confitería se usa en gomas de mascar sin azúcar para enmascarar gusto amargo o metálico, además potencializa el gusto dulce. Los productos Magnasweet® se utilizan con éxito en una amplia gama de dulces, incluidos chocolates, revestimientos de confitería sin azúcar y dulces duros y blandos sin azúcar. Magnasweet®; puede proporcionar dulzura intensificada y prolongada (Magnasweet).

Toxicología

Aunque las probabilidades de intoxicación son bajas, las personas que constantemente consumen productos a base de regaliz están expuestas a los efectos secundarios. Estos efectos se presentan en dosis de 100 a 400 mg/día, a pesar de que JECFA no ha establecido una IDA específica. De acuerdo con el Comité la ingestión diaria es de 2 mg/kg de peso corporal por día, lo cual no representa riesgos a la salud (Tránsito, 2008).

Glicirricina está aprobada por COFEPRIS, FDA lo califica como GRAS y la European Directive 2004/77/EC requiere que la Glicirricina y su sal de amonio se encuentren mencionada en la lista de ingredientes con una leyenda precautoria para personas con problemas de hipertensión (Hablemos claro, 2018).

LUO HAN GUO

Luo Han Guo es fruto de *Siraitia grosvenorii*. Los frutos de Luo Han Guo se han utilizado durante cientos de años en China como edulcorante y medicina popular. Con un poder edulcorante de 600 (Xia et al., 2008).

Origen

Siraitia grosvenorii, mostrada en la figura 13, antes conocida como *Mormodica grosvenorii* pertenece a la familia Curcubitacea. Esta planta se encarga de dar frutos que producen dulzor intenso y son conocidos por los chinos como “lo han kuo”. Otra alternativa encontrada en la literatura es “Luo Han Guo” (Pawar et al., 2013).



Figura 13. *Siraitia grosvenorii*.

Sus componentes dulces fueron estudiados químicamente en la década de 1970 cuando Lee estableció que el componente dulce principal trata de un glucósido triterpénico (Pawar et al., 2013).

Los frutos de Luo Han Guo se han utilizado durante siglos en China en la provincia de Guangxi y en el sureste de Asia. Existen descripciones de su cultivo en la zona desde 1813 y escritos históricos de su uso como bebida medicinal hace más de 800 años. En Asia el Luo Han Guo es conocida como la “fruta de la longevidad” y se ha utilizado como un edulcorante natural durante casi un milenio (Sánchez, 2014).

Ventajas de su uso

En la medicina tradicional China, *S. grosvenorii* se considera un edulcorante no tóxico; es capaz de calmar la tos, reducir la presión arterial y prevenir el estreñimiento. Varios estudios informan que los extractos de mogrósidos aportan diversas propiedades como antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, antidiabéticas y antiinfecciosas (Chiu et al., 2013).

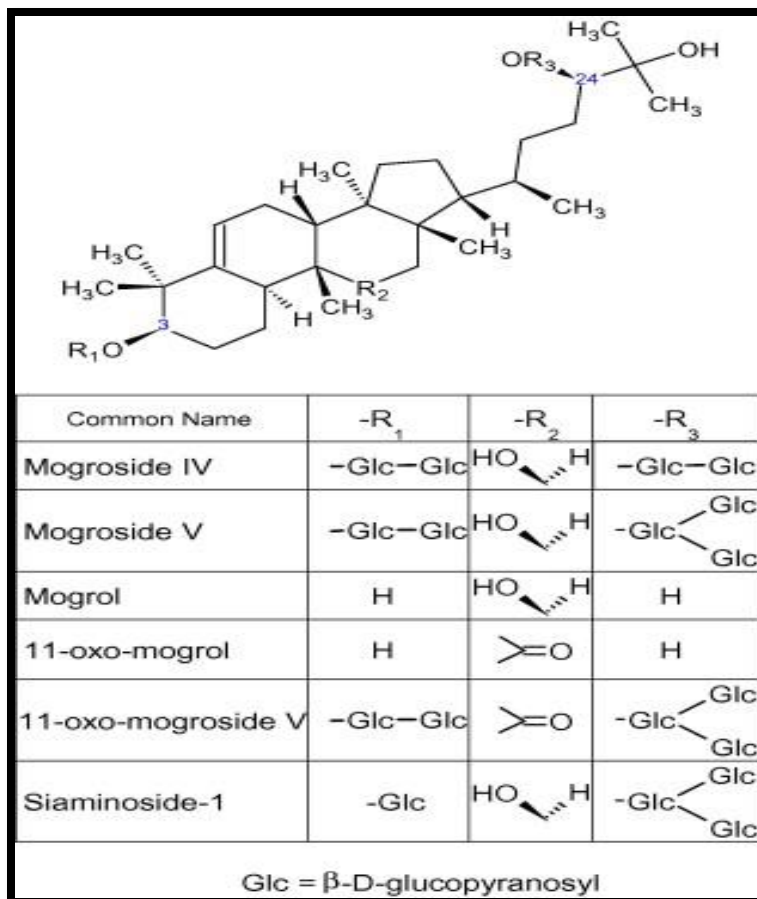
Desventajas de su uso

Luo Han Guo se considera un extracto seguro cuando se usa según las indicaciones. Sin embargo, la desventaja es porque no hay estudios realizados en humanos para establecer la dosis de uso apropiado. Los endulzantes sin calorías hechos a base de la fruta están aprobados como seguros para el consumo por la FDA (Federal Drug Administration) desde el 2010 (Sánchez, 2014).

Características

Los responsables del gusto dulce no calórico de los frutos de *S. grosvenorii* son los mogrósidos que son un grupo de glucósidos triterpénicos del tipo curcubitane y que representan el 1% en la pulpa de la fruta. En otros edulcorantes naturales de alta intensidad obtenidos de plantas, el contenido de azúcares y polioles representan el 5 % p/p y en los frutos secos de *S. grosvenorii* el rendimiento de estos compuestos es de 2.4 % p/p (Xia et al., 2008).

Figura 14. Glucósidos triterpénicos contenidos en la fruta de Luo Han Guo.



Fuente: Isolation of sweet components from *Sirratia grosvenorii*. *Food Chemistry* (2008).

Los principales componentes dulces son los glicósidos de triterpeno (mogrósido IV, mogrósido V, mogrósido VI, siamenósido I y 11-oxo-mogrósido V), mostrados en la figura 14. Sin embargo se han identificado otros glucósidos triterpénicos en las frutas secas y frescas, como los mogrósidos IIE y IIIE, que no se muestran en la figura (Xia et al., 2008).

Los frutos secos contienen principalmente los mogrósidos IV y V que son los principales glucósidos triterpénicos dulces de tipo cucurbitáceo. Las frutas no maduras, que no pueden distinguirse de las frutas maduras solo por su apariencia,

pueden contener mogrósidos III e IIE, que se dice que son de sabor amargo (Xia et al., 2008).

En cuanto poder edulcorante, el siamenósido I, aporta un dulzor de 563 relativo a la sacarosa. Mientras que la mezcla de mogrósidos IV, V y VI, siamenósido I y 11-oxomogrósido V es aproximadamente 300 veces más dulce que la sacarosa (Xia et al., 2008).

Aplicaciones en la industria alimentaria

La industria alimentaria en los EE. UU. utiliza el extracto de *S. grosvenorii* en refrescos, batidos nutricionales y bebidas energéticas. A pesar de existir un gran interés en Luo Han Guo, los mogrósidos, por ahora están disponibles en forma cristalina (Xia et al., 2008).

Luo Han Guo también es conocido como *Monk Fruit* (fruto del monje), y comercialmente existe el extracto de fruta Monk PUREFRUIT™ que se encuentra disponible como un polvo fácilmente soluble para una fácil formulación, es estable al calor, por lo que es un ingrediente flexible y funcional para usar en alimentos (PUREFRUIT).

El extracto de fruta Monk PUREFRUIT™ es altamente estable y se puede utilizar en una variedad de aplicaciones que incluyen jugos de frutas, bebidas saborizadas, batidos, yogur, barras de cereal, cereales para el desayuno y bocadillos de fruta, ideal para usar en pasteles y panes horneados, bebidas premium bajas en calorías, té y bebidas carbonatadas. Es un edulcorante versátil que se combina bien con otros edulcorantes (PUREFRUIT). En la figura 15 se muestran algunas aplicaciones de PUREFRUIT™.



Figura 15. Aplicaciones en la industria de alimentos del extracto de fruta Monk PUREFRUIT™

Toxicología

En un concentrado no calórico en polvo de la fruta china Luo Han Guo, que sus propiedades edulcorantes derivan de los glucósidos triterpénicos llamados mogrosidos, se realizó un estudio dietético de 28 días en ratas Hsd:SD® para evaluar la seguridad de otro producto derivado de Luo Han Guo llamado PureLo® (Figura 16). Donde se concluyó que PureLo® fue bien tolerado y no produjo efectos adversos significativos.

Bajo las condiciones de este estudio y basado en los puntos finales toxicológicos evaluados, el NOAEL para el producto PureLo® fue 100,000 ppm en la dieta, el nivel más alto probado, equivalente a 7.07 y 7.48 g/kg de peso/día para ratas macho y hembra, respectivamente (Marone et al., 2008).

Marone *et al.* (2008) confirmaron la seguridad que se ha establecido por su larga historia de uso, a través de estudios en perros y ratas que no demostraron efectos adversos (Marone et al., 2008)

Figura 16. PureLo®, concentrado no calórico en polvo del fruto Lo Han Guo. Punto de venta en línea. U.S.A. Presentación de 200 g. Marca: Swanson®.



Fuente: <https://www.amazon.com>

PROTEÍNAS DULCES

Ha aumentado la necesidad de producir edulcorantes naturales y bajos en calorías porque todos los días muchas poblaciones del mundo son vulnerables a enfermedades como caries, obesidad y diabetes tipo II debido al consumo de alimentos compuestos por azúcares y carbohidratos, que en ocasiones causan otros efectos secundarios como tumores cerebrales, cáncer de vejiga, insuficiencia cardíaca e incluso trastornos mentales. Por lo tanto, se buscan alternativas de consumir azúcar baja en calorías en alimentos, bebidas y medicamentos (Akter et al., 2016).

Las proteínas dulces y modificadoras del gusto son alternativas naturales a los edulcorantes sintéticos y potenciadores del sabor, y se han utilizado durante siglos en diferentes países. El uso de estas proteínas es limitado debido a la poca estabilidad y disponibilidad, sin embargo, los avances recientes en biotecnología

han ayudado. Estos avances incluyen la producción de proteínas modificadoras del gusto dulce y sabor en organismos transgénicos, y la ingeniería de proteínas para mejorar su estabilidad y aumentar la disponibilidad para ser usadas en alimentos o medicinas y así reducir la dependencia de alternativas artificiales (Akter et al., 2016).

Se descubrió que la monelina era 100 000 veces más dulce que la sacarosa sobre una base molar, seguido de la brazzeína y taumatina, que son 500 veces y 3000 veces más dulce que la sacarosa, respectivamente (los últimos dos en peso). Todas estas proteínas se han aislado de plantas que crecen en bosques tropicales. Aunque la mayoría de ellos no comparten homología de secuencia o similitud estructural (Ravi, 2005).

Las aplicaciones industriales de estas proteínas potenciales son: edulcorantes bajos en calorías y las industrias de cola, snacks, alimentos y chocolate (Ravi, 2005).

BRAZZEÍNA

La brazzeína es un edulcorante atractivo debido a su alto dulzor y sabor similar al azúcar. Tiene un PE entre 500 y 2000 veces más que la sacarosa (Chung et al., 2017).

Origen

En la década de 1980, llamó la atención una planta de África occidental, llamada *Pentadiplandra brazzeana* (Figura 17), consumida por varias etnias gabonesas desde hace centenares de años. De los frutos secos de ésta planta, tentativamente fue identificada una proteína de gusto dulce, que es la pentadina (Hellekant et al., 2005).

Posteriormente a partir de frutos nuevos y frescos se identificó y aisló el principio dulce de *P. brazzeana*, al que se llamó brazzeína. La brazzeína se encuentra en la

región extracelular del fruto y fue aislada por primera vez como una enzima en la Universidad de Wisconsin-Madison en 1994. El contenido de brazzeína en la fruta madura parece ser aproximadamente 0.2-0.05 % en peso (Hellekant et al., 2005).



Figura 17. *Pentadiplandra brazzeana*. Fuente de la brazzeína.

Ventajas de su uso

Chung Ju-Hee realizó una investigación sobre las bioactividades de la brazzeína, y evaluó las actividades antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes, antiinflamatorias y antialérgicas in vitro. Donde finalmente los resultados sugieren que la brazzeína tiene actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antialérgicas y un potencial considerable como edulcorante funcional. No mostró actividad antibacteriana ni antifúngica, aunque mostró una similaridad de aproximadamente el 45% con la defensina, que tiene efectos antimicrobianos, y la drosomicina, que se usa como agente antifúngico (Chung et al., 2017).

El perfil temporal se asemeja mucho al de la sacarosa, pero se desarrolla más lentamente y dura más tiempo, no presenta resabio metálico o amargo como otros edulcorantes sin calorías (Sánchez, 2014).

Es altamente termoestable ya que su dulzor no disminuye a 90°C durante 4h, también es estable en un amplio intervalo de pH y es el edulcorante de naturaleza proteica más soluble en agua (>50 mg/mL) descubierto hasta el momento. Proporciona 4 kcal/g y tiene un efecto sinérgico si se mezcla con estevia (Sánchez, 2014).

Desventajas de su uso

El abastecimiento natural de *P. brazzeana* es difícil y costoso y, por lo tanto, se están buscando alternativas para solucionar el problema. La brazzeína se puede sintetizar químicamente, lo que es útil para la producción a pequeña escala, pero no a gran escala (Vind et al., 2016).

La producción a escala comercial de brazzeína purificada para usar como edulcorante de alta intensidad puede ser más económica a partir de un sistema microbiano. Sin embargo, la producción industrial de proteínas vegetales a partir de sistemas microbianos no es sencilla, y la obtención de una proteína vegetal correctamente plegada con alto rendimiento de un microorganismo puede ser un desafío y no siempre es posible. Se puede complicar por el pequeño tamaño de la proteína y la existencia de numerosos restos de cisteína que permite la posibilidad de formar enlaces S-S no nativos y conducir posiblemente a la pérdida de función o a la agregación intermolecular (Vind et al., 2016).

Como dato se tiene que la brazzeína también puede extraerse y purificarse del maíz. La producción en maíz proporciona una serie de ventajas que le permiten ser una opción económicamente viable, además el *status* GRAS del maíz proporciona la opción de eliminar el paso de purificación, un importante obstáculo financiero (Fake et al., 2014).

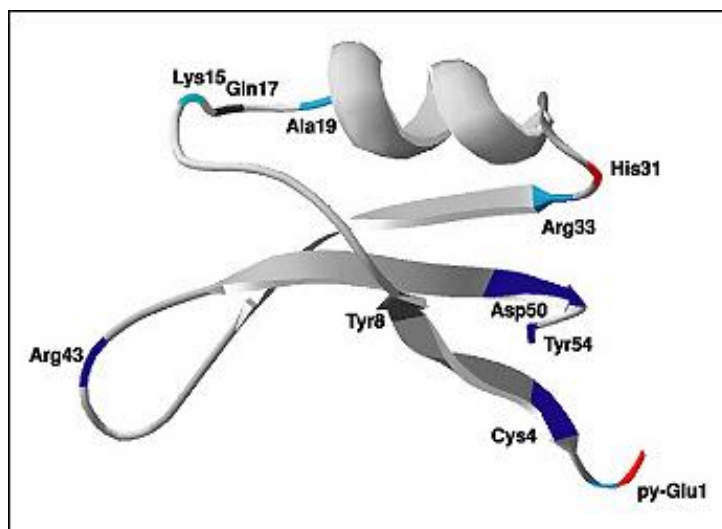
Características

Es una proteína pequeña, correspondiente a un masa molecular de 6473 Da y compuesta por 54 residuos de aminoácidos (representación en letras) en una cadena simple: pyrE-D-K-C-K-K-V-Y-E-N-Y-P-V-S-K-C-Q-L-A-N-Q-C-N-Y-D-C-K-L-D-K-H-A-R-S-G-E-C-F-Y-D-E-K-R-N-L-Q-C-I-C-D-Y-C-E-Y (Hellekant, 2005).

La brazzeína aislada de su fuente natural contiene aproximadamente 80% pyrE en su extremo N-terminal y el resto, es decir, 20% aproximadamente no tiene pyrE. Los análisis sensoriales muestran que la brazzeína que contiene pyrE es 500 veces más dulce que una solución de sacarosa al 10% en peso. La eliminación del pyrE aumenta su dulzura con un factor de dos (Hellekant et al., 2005).

En la estructura de la brazzeína las posiciones de los aminoácidos son los responsables del dulzor (Figura 18): Dulzura mejorada (color rojo), dulzura moderadamente disminuida (color azul claro), dulzura muy disminuida (color azul oscuro), dulzura baja (color gris oscuro) (Nagarajan, 2017).

Figura 18. Estructura de la brazzeína.



Fuente: Amazing, super-sweet natural proteins, (2017).

Aplicaciones en la industria alimentaria

La brazzeína por su pequeño tamaño es soluble y termoestable, aporta sabor puramente dulce, sin acidez, ni amargor, por lo cual lo convierten en una muy buena alternativa. Sin embargo, su dulzor se elimina fácilmente de la lengua y no se produce frescura en la boca ni sabor prolongado. En bebidas, al mezclarse con otros edulcorantes mejora el sabor en la boca y funciona bien en sistemas con ácido cítrico y fosfatos (Hellekant et al., 2005).

Este edulcorante combina bien con la mayoría de los edulcorantes de alta intensidad como el acesulfame-K y el aspartamo, proporcionando sinergia cuantitativa y cualitativa. Mejora la estabilidad, el sabor y la sensación en la boca cuando se mezcla con acesulfame-K y aspartamo. Normalmente reduce el sabor secundario de otros edulcorantes, por ejemplo, una mezcla de esteviósido y brazzeína es superior en sabor a esteviósido solo (Hellekant et al., 2005).

La brazzeína se ha utilizado en levadura, frutas y verduras para aumentar su dulzura y en harina endulzada (Hellekant et al., 2005).

Toxicología

No se conocen datos de evaluaciones sistemáticas de seguridad de la brazzeína. Por lo tanto, no está aprobado para uso alimentario. Como es adecuado para muchas aplicaciones alimentarias, existe cierto interés en el desarrollo de este edulcorante (von Rymon, 2015).

MONELINA

La monelina es una proteína aislada de la pulpa del fruto *Discoreophyllum cumminsii*, también llamado en el oeste de África como “Ekali-bonte”, “kaligbonde”, “ito-igbin”, “ayun-ita” y “serendipity berries” con un poder edulcorante de 1400 (Santillán et al., 2017).

Origen

Discoreophyllum cumminsii pertenece a la familia Menispermaceae, su género *Discoreophyllum* corresponde a la tribu Tinosporeae que comprende *D. cumminsii* (Figura 19) y *D. volkensii*. Es una enredadera que se encuentra en selvas tropicales en África Occidental (Figura 20), éstos frutos crecen en las áreas relativamente tranquilas de la selva tropical del sur, en Nigeria (Ibitoye et al., 2017).

Determinaciones estructurales afirmaron que se trataba de una proteína con un peso molecular de 10 700 Da. La proteína fue nombrada en 1972 en honor a Monell Chemical Senses Center en Filadelfia, U.S.A., donde fue aislado y caracterizada (Ibitoye et al., 2017).



Figura 19. *Discoreophyllum cumminsii*.

Figura 20. África Occidental.



Ventajas de su uso

Ibitoye *et al.* (2017) mostraron en un estudio que el extracto acuoso de hojas de *Dioscoreophyllum cumminsii* tiene efectos antioxidantes y antiinflamatorios, las hojas de esta planta se usan en el tratamiento de diarrea, disentería y hemorragias uterinas (Ibitoye *et al.*, 2017).

Desventajas de su uso

Para considerar el uso de la monelina como edulcorante se debe tomar en cuenta sus desventajas como la costosa producción ya que su planta de origen es difícil de propagar; sus compuestos dejan resabio, el dulzor de inicio es lento, termolábil y sensible al pH (O'Brien, 2016).

Características

Como se mencionó anteriormente la monelina se trata de una proteína, naturalmente la monelina consta de 94 aminoácidos con un peso molecular de 10,7 kDa y dos cadenas A y B que se mantienen juntas por interacciones no covalentes (Figura 21). Las cadenas A y B de la proteína contienen 44 y 50 aminoácidos, respectivamente (Liu et al., 2016).

Figura 21. Estructura de Monelina nativa.



Entre sus componentes reportados en las hojas de *Dioscoreophyllum cumminsii* se encuentran los alcaloides, antraquinonas, glucósidos cardíacos, flavonoides, saponinas y taninos (Ibitoye et al., 2017).

Abiodun *et al.* (2014) determinaron en un estudio las propiedades fisicoquímicas y composición del fruto *Dioscoreophyllum cumminsii*, de donde es obtenida la monelina (Abiodun, 2014), en donde se obtuvieron los valores que se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas y composición del fruto
Dioscoreophyllum cumminsii.**

Parámetro	Valor
Sólidos totales solubles (°Brix)	11.20 ± 0.21
pH	6.6 ± 0.00
Acidez valorable (% ácido cítrico)	0.21 ± 0.10
Humedad (%)	80.44 ± 0.15
Materia seca (%)	19.56 ± 0.10
Vitamina C (mg / 100 g)	12.80 ± 0.12
Carotenoides totales	2.01 ± 0.36

Fuente: Physico-chemical Properties of Serendipity Berry (*Dioscoreophyllum cumminsii*) Fruit. *Journal of Applied Sciences and Enviromental Management*, (2014).

Aplicaciones en la industria alimentaria

Se ha buscado que la monelina sea un edulcorante prometedor. Sin embargo, por ser una proteína, es sensible al pH e inestable a altas temperaturas. Resiste temperaturas de 60°C a 65 °C y al incrementarse de 70°C a 100 °C va perdiendo su sensación gustativa dulce, hasta desaparecer por lo que limita sus extensas aplicaciones en la industria alimentaria, por ejemplo, no se usa en bebidas dado que pierde la capacidad edulcorante con el tiempo (Liu et al., 2015).

Actualmente no tiene una aplicación comercial, pero debido a sus características, se investiga la síntesis de la proteína a nivel industrial que permita conservar sus propiedades a través del tiempo (Santillán et al., 2017).

Se ha modificado la monelina nativa, en donde se han unido las dos cadenas que componen la estructura a través de un enlace dipeptídico entre Gly-Phe. De esta manera la monelina de cadena única artificial ofrece un potente dulzor como la

monelina nativa y es más estable a la temperatura (Cai et al., 2016). No obstante, incluso esta proteína puede perder su dulzura si se producen ligeras deformaciones de la forma tridimensional (Leone et al., 2016).

Toxicología

La monelina no tiene efectos secundarios tóxicos y puede considerarse como un aditivo dulce para los pacientes con enfermedades cardiovasculares, diabéticas e hiperlipidemia que están relacionados con el consumo de azúcares. Hasta el momento, Japón es el único país que lo ha aprobado como aditivo alimentario (Cai et al., 2016).

TAUMATINA

La taumatina es una mezcla de proteínas estructuralmente relacionadas que se encuentran en los frutos de *Thaumatococcus daniellii*, una planta originaria de África Occidental. Su poder edulcorante es de 2000-3000 respecto a la sacarosa (von Rymon, 2015). Hasta el momento la taumatina es considerada la sustancia más dulce del planeta, lo que motivó su inclusión en el libro de récords Guinness (Alonso, 2010).

De acuerdo a la definición de JECFA es obtenida por extracción acuosa (pH 2.5-4.0) de los arilos del fruto de *Thaumatococcus daniellii* (Benth); consiste esencialmente en las proteínas Taumatina I y Taumatina II junto con pequeñas cantidades de constituyentes vegetales derivados del material de origen (JECFA, 2019).

Origen

Las taumatinas fueron descubiertas en el 1979 por Van der Weel, desde entonces es utilizada en Japón. Los frutos de *T. daniellii* (Figura 22), son utilizados tradicionalmente con fines edulcorantes, describiéndolos por primera vez en la literatura científica en 1855 (von Rymon, 2015).

Thaumatococcus daniellii es una planta originaria de África Occidental, existente en Sierra Leona, Congo, Gabón, Sudán, Zaire y Angol y conocida popularmente como “katernfe” o “katemphe”, “ketenfe”, “kekerenfe” y “amwuranasis”. También le denominan como el “fruto milagroso de Sudán” (Alonso, 2010).

Las taumatinas se extraen de los arilos de *T. daniellii* con agua; los sólidos son eliminados mediante centrifugación y ultrafiltración. La producción de taumatina en países en desarrollo es difícil, por lo que se han realizado intentos para producir taumatina por medio de microorganismos genéticamente modificados (von Rymon, 2015).



Figura 22. *Thaumatococcus daniellii*, fruto de donde se obtiene la taumatina.

Ventajas de su uso

Las ventajas de éste edulcorante que pueden ser aprovechadas en los alimentos industrializados son varias, por ejemplo, su solubilidad en agua es aproximadamente de un 60 %, también es estable a pH menores de 5.5, y puede mantenerse a una temperatura de 100°C sin perder el dulzor (Sánchez, 2014). Además posee propiedades enmascarante, no provoca caries dental, es sinérgico al combinarse con otros edulcorantes bajos en calorías (Figura 23). La taumatina se usa a menudo como potenciador del sabor en lugar de como edulcorante (Sánchez, 2014; von Rymon, 2015).

Figura 23. Ejemplo de un producto que contiene estevia y taumatina.



Desventajas de su uso

La taumatina, sin embargo, al ser de origen proteico tiene la desventaja de desnaturalizarse irreversiblemente a 55°C y a un pH de 3.2. Presenta un dulzor

retardado y persistente que se pierde totalmente a pH inferior a 2 y a veces un sabor residual alicorado (Sánchez, 2014).

El uso industrial de taumatinas de origen vegetal es muy limitado debido a la extrema dificultad que implica la obtención de la fruta de la que son extraídas, su fuente natural, *Thaumatococcus daniellii* no solo requiere un clima tropical y la polinización por insectos, también debe ser cultivado entre otros árboles y aún el 75% de estas flores no tienen fruto. A pesar de los intentos para producir taumatinas por ingeniería genética con diferentes microorganismos, hasta ahora los resultados no han sido favorables, por lo que la disposición de taumatina en la industria es muy escasa y cara (Sánchez, 2014).

Características

Se conocen cinco tipos de taumatinas, pero la taumatina I y II son los principales componentes. Estas taumatinas son proteínas con un peso molecular alrededor de 22.000, estando conformadas por 207 aminoácidos (Figura 24, inciso a), diferenciándose por 5 aminoácidos (Alonso, 2010; von Rymon, 2015).

La estructura molecular se caracteriza por la ausencia del aminoácido histidina y la presencia de una gran cantidad de puentes disulfuro que la sostienen, estabilizan y le brindan una gran termoresistencia. La estructura tridimensional es fundamental para mantener su dulzor (Figura 24, inciso b). La ruptura del puente disulfuro entre las cisteínas 145 y 158 provoca la pérdida del gusto dulce (von Rymon, 2015).

Entre sus características, la taumatina es altamente soluble en agua y posee estabilidad por debajo de pH 5.5, aunque limitada. Su sensación gustativa dulce muestra un inicio tardío y una larga persistencia (von Rymon, 2015).

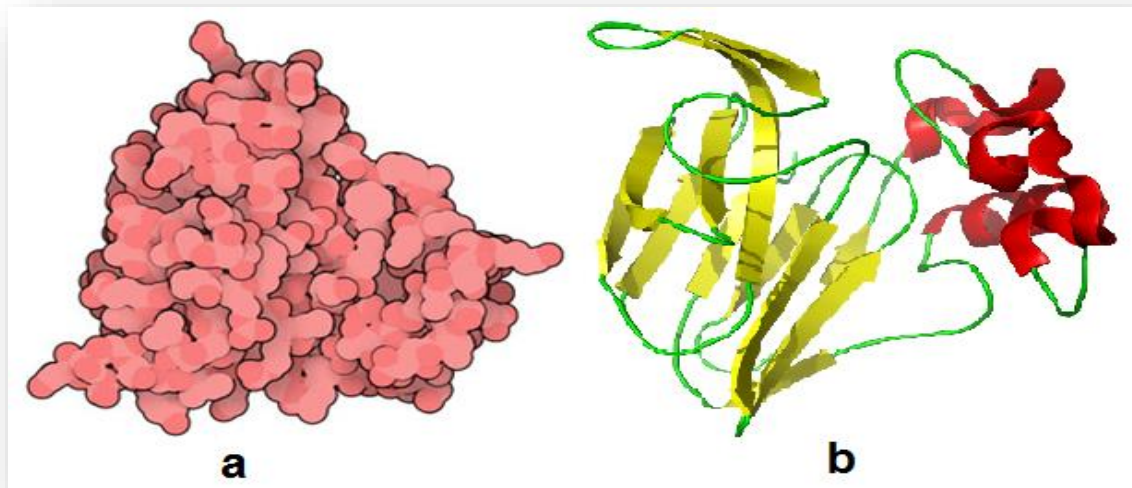


Figura 24. Estructuras de Taumatina. a) La taumatina es una proteína conformada por 207 aminoácidos. b) Estructura tridimensional de la taumatina que ayuda a mantener el dulzor.

Aplicaciones en la industria alimentaria

La mezcla de dos taumatinas comercialmente se conoce como Talin® (Figura 25, inciso a), (Alonso, 2010). Donde aporta diversos beneficios como (Talin, 2010):

- Contribución calórica insignificante.
- Enmascarar el sabor de algunos edulcorantes de alta intensidad.
- En un producto salado, el nivel de sal puede reducirse con éxito hasta en un 30% y mejora las notas picantes.
- Aumento de cuerpo, especialmente en yogures bajos en grasa y postres.
- En gomas de mascar mejora significativa el sabor de la menta verde, los cítricos y otros sabores frutales.
- En bebidas lácteas bajas en grasa mejora la cremosidad.

La taumatina en combinación con otros edulcorantes tiene un amplio rango de aplicaciones en alimentos y bebidas. En la industria de alimentos, la podemos encontrar en la elaboración de saborizantes, bebidas alcohólicas y sin alcohol, ideal

para bebidas saborizadas, así como bebidas lácteas y a base de soja, yogures, helados, postres de leche (Figura 25, inciso b), mermeladas, refrescos, dulces como gomas de mascar y chocolates. También se usa para mejorar y estimular el aroma del café. En Inglaterra está autorizada para endulzar medicinas, en Estados Unidos para el chicle (Santillán et al., 2017).



Figura 25. a) Talin, edulcorante líquido elaborado a partir de taumatina. b) ejemplo de postre de leche elaborado con Talin.

Toxicología

No se han observado efectos de importancia toxicológica en los estudios de seguridad sobre la taumatina. Su uso está autorizado en más de 30 países de todo el mundo por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios desde 1985, en la UE no cuenta con una IDA especificada o aceptable y aparece como E 957, en los EE. UU su uso es como aromatizante natural (FEMA GRAS 3732). Como edulcorante y potenciador de sabor está autorizado en Suiza, EE.UU., Canadá,

Israel, México, Japón, Hong Kong, Corea, Singapur, Australia, Nueva Zelanda y Sudáfrica entre otros países (Sánchez 2014; von Rymon 2015).

La taumatina es aprobada por: COFEPRIS en la legislación mexicana, FDA lo califica como GRAS, la codificación en el etiquetado de la Comunidad Europea es E957 y la codificación por parte del Codex Alimentarius (FAO) es Número SIN o número INS 957 (Hablemos Claro, 2018).

DISCUSIÓN

La situación actual en México en temas de obesidad y diabetes es preocupante. De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2016 se presenta lo siguiente:

Los niños de entre 5 y 11 años, 3 de cada 10 padecen sobrepeso u obesidad. En adolescentes de entre 12 y 19 años, 4 de cada 10 padecen sobrepeso u obesidad, y los adultos mayores de 20 años, 7 de cada 10, padece sobrepeso u obesidad (ENSANUT, 2016). Mundialmente, de acuerdo con cifras y datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2016, el 39% de las personas adultas de 18 o más años tenían sobrepeso, y el 13% eran obesas, 41 millones de niños menores de cinco años tenían sobrepeso o eran obesos y había más de 340 millones de niños y adolescentes (de 5 a 19 años) con sobrepeso u obesidad (OMS, 2017).

Algunas de las consecuencias del sobrepeso y obesidad es la diabetes de acuerdo con las estadísticas 2017 de INEGI, el 15.0% de las causas de muerte en México corresponden a diabetes mellitus (INEGI, 2017). Y según la OMS en el 2014, el 8.5% de la población mundial tenían esta enfermedad (OMS, 2016).

Al ver estas cifras, nos viene a la mente que la causa de estos problemas es la alimentación y la vida sedentaria, además de factores genéticos.

En la industria de los alimentos y bebidas se utilizan azúcares calóricos naturales como sacarosa, fructosa y glucosa; los cuales imparten un sabor agradable a los

consumidores, sin embargo, éstos aportan calorías. Aunque es necesario consumir azúcares para las funciones metabólicas, la necesidad de acabar con las enfermedades antes mencionadas es grande en México y en el mundo, y por ello se ha optado el consumo de edulcorantes que tienen un aporte bajo o nulo de calorías y sabor similar al azúcar, sin perder el concepto de lo natural (Prakash et al, 2015).

Esta investigación tiene como propósito recabar información útil, lo más actualizada posible, ya que para algunos de los edulcorantes en cuestión aún no se han llevado a cabo investigaciones actuales o están en proceso. De igual manera dar a conocer más a fondo las alternativas para sustituir el consumo de azúcares de una forma natural y acabar con los mitos de las consecuencias que conlleva el consumo de edulcorantes, así como, identificar ventajas y desventajas de los mismos, y dar a conocer el panorama general de aceptación legal de cada uno de ellos.

En la tabla 2 se presentan las ventajas y desventajas de los edulcorantes investigados, de manera general los edulcorantes no calóricos o de bajo contenido calórico presentan sabores amargos, metálicos e inicio del dulzor tardío y persistente, estas características pueden modificar el equilibrio de una composición alimenticia. Debido a esto se debe tener mucho cuidado al cambiar el uso de azúcares por un edulcorante natural de alta potencia (Prakash et al, 2015).

Al aplicar este tipo de aditivos, debe tomarse en cuenta el alimento, proceso y/o composición, así como el propósito. Además investigar si previamente ha sido utilizado, las características del edulcorante, así como toxicidad y consecuencias.

Tabla 2. Ventajas y desventajas generales de los edulcorantes naturales de alta potencia.

Edulcorante Natural de Alta Potencia	Ventajas	Desventajas
Estevia	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Ayuda a controlar peso, saciedad. ✓ Antioxidante. ✓ Producción comercial de 5 ó más años. ✓ GRAS 	<ul style="list-style-type: none"> × Cantidades grandes producen sabores amargos. × Incapaz de generar textura, caramelizar, ablandar y esponjar.
Filodulcina	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Antidiabético 	<ul style="list-style-type: none"> × IDA no especificada
Glicirricina	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Antidiabético, ✓ Enmascara a bajas dosis sabores amargos, astringentes, ácidos, metálicos. ✓ Saborizante, surfactante, potenciador ✓ GRAS 	<ul style="list-style-type: none"> × Citotóxico en dosis altas.

Luo Han Guo	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Antioxidante ✓ Antidiabético ✓ Estable al calor y soluble. ✓ Se combina bien con otros edulcorantes. ✓ La FDA calificó su concentrado de jugo como GRAS. 	<ul style="list-style-type: none"> × IDA no especificada.
Brazzeína	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Sabor y perfil temporal similar al azúcar y alto dulzor. ✓ Antioxidante. ✓ No presenta resabios metálicos, ácidos o amargos. ✓ Estable al calor, pH y soluble. ✓ Sinergia con Estevia, acesulfame K y aspartamo, ✓ Funciona bien en sistemas con ácido cítrico y fosfatos. 	<ul style="list-style-type: none"> × Sabor lento y persistente. × Abastecimiento costoso. × Su sabor se elimina fácilmente y no produce frescura. × No es aprobado para alimentos. × No hay datos de seguridad y toxicología.

<p>Monelina</p>	<ul style="list-style-type: none"> × Antioxidante 	<ul style="list-style-type: none"> × Producción costosa × Presenta resabios y el sabor de inicio es lento. <ul style="list-style-type: none"> × Termolábil y sensible al pH. × No se usa en bebidas por perder su capacidad edulcorante con el tiempo. × No cuenta con aplicación comercial, sólo en Japón es aprobado como aditivo alimentario.
<p>Taumatina</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Soluble 60%, estable a pH menores de 5.5 y a temperatura de 100°C sin perder dulzor. ✓ Enmascarante y saborizante, ✓ Mejora notas picantes y disminuye el sabor salado ✓ Aumenta cuerpo y cremosidad. <ul style="list-style-type: none"> ✓ No provoca caries. ✓ Sinergia con otros edulcorantes bajos en calorías. <ul style="list-style-type: none"> ✓ GRAS. 	<ul style="list-style-type: none"> × Se desnaturaliza irreversiblemente a 55°C y pH de 3.2 × El sabor se pierde a pH inferior a 2 <ul style="list-style-type: none"> × Presenta dulzor retardado y persistencia. × A veces presenta sabor residual alicorado. <ul style="list-style-type: none"> × Difícil extracción. × IDA no especificada.

En la tabla anterior se muestra que cada uno tiene y aporta características diferentes, las cuales se deben considerar al utilizarlos. A continuación se resumirán:

- Estevia, monelina y taumatina aportan sabores indeseables.
- Brazzeína, monelina y taumatina, su extracción es compleja y costosa, sabor tardío y persistente.
- Brazzeína aún no es aprobada para alimentos.
- Monelina sólo en Japón es aprobada.
- Estevia, glicirricina, Luo Han Guo y taumatina son calificados como GRAS.
- Brazzeína, Luo Han Guo y taumatina son estables al calor y tienen sinergia con otros edulcorantes

Si analizamos el panorama general de ventajas y desventajas podremos llegar a saber cuáles son las mejores opciones al elegir un aditivo. Hay que empezar a descartar a la brazzeína ya que no cuenta con una aprobación en alimentos, a pesar de que se puede explotar por sus diversas ventajas como estabilidad al calor y pH, solubilidad, sinergia con otros edulcorantes y ausencia de resabios. Al no contar con una aprobación ni IDA podemos exponer fácilmente riesgos en su utilización.

Ahora bien, de los edulcorantes en estudio, brazzeína, monelina y taumatina son edulcorantes de origen proteico, lo cual nos lleva a desventajas como la inestabilidad al pH y calor y su costosa extracción. Quedando anteriormente descartada la brazzeína; la monelina no reporta muchas aplicaciones en alimentos (Tabla 3) y no se utiliza en bebidas ya que pierde su capacidad edulcorante con el tiempo. En cuanto a la taumatina, a pesar de ciertas desventajas como su origen proteico, estabilidad al calor y pH específico, aportar sabores desagradables, tener sabor tardío y persistencia y no contar con una IDA; si se tienen reportes de su uso en alimentos, ya que cuenta con muchos beneficios como aportar propiedades enmascarantes y saborizantes, sinergia, ser calificado como GRAS y solubilidad. Por lo cual es un buen candidato a utilizar en una amplia gama de alimentos como bebidas, lácteos, panificación, confitería, e incluso mejora el aroma del café (Tabla 3).

Dentro de los edulcorantes con más ventajas y aplicaciones se encuentra Luo Han Guo, su única desventaja es no contar con datos toxicológicos y una IDA. Dentro de sus ventajas se encuentran su estabilidad al calor, solubilidad y sinergia con otros edulcorantes.

Al igual que la taumatina, Luo Han Guo cuenta con reportes de uso en diversos alimentos como bebidas, batidos, panificación.

Glicirricina también es un edulcorante que reporta diversas ventajas, como tener propiedades terapéuticas, ayudar a enmascarar sabores indeseables, estabilidad al calor y además imparte otras funciones como saborizante y/o surfactante y potenciador, lo cual ayuda a su utilización en alimentos. Sus principales aplicaciones son en bebidas y confitería. Glicirricina si es considerado GRAS y además cuenta con una IDA por lo que se convierte en una opción completa para considerar su uso. Sin embargo, hay que recordar que el abuso de este edulcorante puede provocar edemas, incremento en presión arterial y complicaciones cardíacas. En dosis altas es citotóxico y genera efectos psicológicos, por eso es muy importante tener datos de seguridad y toxicidad, pero no todos los aditivos cuentan con ello, ya que existe poca información de estudios realizados o datos actuales.

Finalmente estevia es el edulcorante que más se utiliza, debido a la importancia nutricional y farmacéutica, además las industrias alimentarias han enfatizado y promovido su consumo por el contenido de 0 calorías. La estevia se ha convertido como un cultivo alternativo en nuestro país, principalmente por su capacidad de adaptación a ciertas circunstancias, pues al ser un edulcorante natural de bajo contenido calórico puede ser consumida por personas con enfermedades crónico-degenerativas como obesidad, diabetes e hipertensión (Vázquez et al., 2017). Tiene extensas aplicaciones en alimentos como bebidas, jarabes de frutas, helados, yogures, mermeladas, salsas, jaleas, confitería y panificación, en estas dos últimas, se debe considerar que no todos los productos de panificación podrían ser realizados, pues entre sus desventajas de estevia se encuentra que a cantidades grandes, estevia no es capaz de generar textura, ablandar, esponjar ni caramelizar. Abusar de las cantidades provoca sabores amargos. Se cuenta con una calificación

GRAS obtenida por la FDA y una IDA de 4 mg/kg peso corporal/día para esteviol y 12 mg/kg peso corporal/día para rebaudiósido. Lo cual nos da un soporte para sus diversas aplicaciones y se convierte en el mejor candidato.

Para hacer uso de edulcorantes se debe tener en cuenta diversas cuestiones. Si el edulcorante es apto para las condiciones del proceso y tener más cuidado en aquellos que son de origen proteico, considerar los riesgos toxicológicos, conocer si es aprobado como GRAS para evitar problemas de intoxicación y/o repercusión en la salud e incluso legales. Es necesario no abusar de su consumo y es recomendable investigar en que alimentos ya ha sido utilizado, porque a pesar de ser versátiles, no en todos los sistemas alimenticios pueden ser utilizados (como el caso de monelina, que no se usa en bebidas) y considerar su poder edulcorante.

Los edulcorantes naturales también ayudan a cumplir otras funciones como enmascarantes, saborizantes, estabilizadores o surfactantes.

Por otro lado, el consumo de edulcorantes ha sido seriamente castigado y juzgado, pues se tiene creencias de que provocan cáncer y otro tipo de enfermedades, pero lo cierto es que aún no se tienen los estudios suficientes que sustenten esto, no hay información actual sobre riesgos a la salud o toxicidad. De hecho existen estudios que demuestran que poseen propiedades terapéuticas para ciertas enfermedades como cáncer, diabetes, prevenir caries, ser antioxidantes, etc., a pesar de que la mayoría de los edulcorantes en estudio no cuenta con IDA's específicas. Sin embargo, en casos como la filodulcina y Luo Han Guo, hay estudios en animales donde se demuestran que a ciertas cantidades no son nocivas, pero es necesaria una IDA que estimada por JECFA.

No existen edulcorantes naturales de alta potencia perfectos, sin embargo, el edulcorante se debe elegir analizando los pros y contras de su uso, de igual manera escoger al que favorecerá al producto final, sin poner en riesgo la salud de los consumidores.

Tabla 3. Aplicaciones en alimentos de cada uno de los edulcorantes naturales de alta potencia, su PE y toxicología.

Edulcorante Natural de Alta Potencia	Aplicación en alimentos	Poder Edulcorante (PE)	Límites de uso
Estevia	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bebidas: gaseosas, jugos de frutas, <ul style="list-style-type: none"> ▪ Jarabes de frutas, ▪ Helados, yogures, ▪ Panificación: pasteles, panes dulces, <ul style="list-style-type: none"> ▪ Mermeladas, salsas, jaleas, ▪ Chicles y dulces. 	300-400	IDA: Esteviol: 4mg/kg peso corporal/día. Rebaudiósido: 12 mg/kg peso corporal/día, (Gutiérrez, 2015)
Filodulcina	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tés de hierbas. 	200-400	IDA: no especificada. 2 g/kg. Estudio en ratones. Vía oral, (O' Brien, 2016).
Glicirricina	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Confitería: chocolates, chicles, dulces duros. ▪ Bebidas: gaseosas, jugos, de frutas, a base de tés, de soya, deportivas y energéticas. 	100	IDA: 2 mg/kg peso corporal/día, (Tránsito, 2008).

Luo Han Guo	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bebidas: gaseosas, energéticas, jugos de frutas, saborizadas, bajas en calorías, tés, ▪ Yogures y batidos nutricionales, ▪ Panificación: bocadillos de frutas, pasteles, panes, barras de cereal. 	600	IDA: no especificada. 7.07 g/kg y 7.04 g/kg. Estudio en ratas machos y hembras, (Marone et al., 2008).
Brazzeína	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Levaduras, ▪ Futas y verduras, ▪ Harina endulzada, <ul style="list-style-type: none"> ▪ Dulces, ▪ Condimentos, ▪ Bebidas. 	500-2000	IDA: no especificada.
Monelina	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sin aplicación comercial 	1400	Sin datos
Taumatina	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bebidas: alcohólicas, saborizadas, lácteas, de soya, refrescos, ▪ Lácteos: yogures, helados, postres de leche, <ul style="list-style-type: none"> ▪ Mermeladas, ▪ Confitería: chocolates, dulces, gomas de mascar, <ul style="list-style-type: none"> ▪ Mejora el aroma del café. 	2000-3000	IDA: no especificada.

CONCLUSIÓN

Los edulcorantes naturales de alta potencia son aquellos que brindan un alto dulzor con un aporte calórico bajo o nulo. En México y en el mundo se consume este tipo de aditivos debido a la alta incidencia en varias enfermedades, además la población actualmente se inclinan más a lo natural.

La mayoría de estos edulcorantes brindan ventajas como propiedades terapéuticas, e incluso ayudan a cumplir otras funciones en los alimentos. Para proteínas dulces como brazzeína, monelina y taumatina se debe tener precaución ya que a ciertas condiciones pueden desnaturalizarse. Factor a considerar es la Ingesta Diaria Admisible (IDA) que es establecida por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos (JECFA), estevia y glicirricina son los únicos que cuentan con IDA específica. Aunque la mayoría no reportan efectos adversos, es necesario tener cuidado en no abusar en las cantidades.

Entre sus desventajas en general, es no tener datos ni registros de toxicidad, además existe poca información y estudios actuales.

No existe edulcorante perfecto, sin embargo considerar ventajas, desventajas, toxicidad y seguridad en el consumo, historial de alimentos y la legislación de cada edulcorante ayudará a obtener mejores resultados y favorecerá los productos finales en la industria de alimentos.

ANEXO A)

Monografías JECFA disponibles

TAUMATINA

Preparado en la 53a reunión del JECFA (1999) y publicado en FNP 52 Add 7 (1999), reemplaza las especificaciones provisionales preparadas en la 51a reunión del JECFA (1998), publicadas en FNP 52 Add 6 (1998). IDA "no especificada", establecida en la 29a reunión del JECFA en 1985.

SINONIMOS

INS No. 957

DEFINICIÓN

Obtenida por extracción acuosa (pH 2.5-4.0) de los arilos del fruto de *Thaumatococcus daniellii* (Benth); consiste esencialmente en las proteínas Taumatina I y Taumatina II junto con pequeñas cantidades de constituyentes vegetales derivados del material de origen.

Número C.A.S.

53850-34-3

Peso de la fórmula

Taumatina I: 22,209

Taumatina II: 22,293

Ensayo

No menos de 15.1% de nitrógeno en base seca equivalente a no menos de 93% de proteína (N x 6.2).

DESCRIPCIÓN

Polvo inodoro de color crema.

USOS FUNCIONALES

Edulcorante, potenciador de sabor.

CARACTERISTICAS

IDENTIFICACION

<u>Solubilidad</u> (Vol.4)	Muy soluble en agua; insoluble en acetona
<u>Prueba de ninhidrina</u>	A 5 ml de una solución de 1 en 1000 ml de la muestra, agregue 1 ml de solución de hidrato de triketohidrina recién preparada (ninhidrina) (disuelva 200 mg de hidrato de triketohidrina en agua y diluya hasta 100 ml). Se produce un color azulado.
<u>Absorción de infrarrojos</u>	El espectro infrarrojo de una dispersión de bromuro de potasio de la muestra (1 a 2 mg de muestra molida en un mortero con 100-200 mg de bromuro de potasio) corresponde al espectro infrarrojo a continuación. Los máximos característicos de la absorción se muestran en los siguientes números de onda: 3300, 2960, 1650, 1529, 1452, 1395, 1237, 1103 y 612 cm^{-1} .
<u>Pérdida por secado</u> (Vol. 4)	No más del 9,0% (105° a peso constante)
<u>Espectrofotometría</u> (Vol. 4)	La absorción específica, $A^{1\%}_{1\text{ cm}}$ a la longitud de onda de absorción máxima (aproximadamente 279 nm) no debe ser inferior a 11.5 y no superior a 13.0 determinada en base seca y utilizando una solución de 1 en 100 p / v de la muestra en agua a pH 2,7.
<u>Ceniza sulfatada</u> (Vol. 4)	No más del 2,0% en base seca.
<u>Carbohidratos</u>	No más del 3.0% en base seca. Ver descripción en PRUEBAS.

Criterios microbiológicos Recuento total de placas aeróbicas: no más de 1000
(Vol. 4) ufc / g

E. coli: negativo en 1 g

Aluminio

No más de 100 mg / kg.

Determinar por espectroscopia de absorción atómica.

Plomo (Vol. 4)

No más de 3 mg / kg.

Determine el uso de una técnica de absorción atómica apropiada para el nivel especificado. La selección del tamaño de la muestra y el método de preparación de la muestra pueden basarse en los principios del método descrito en el Volumen 4, "Métodos instrumentales".

PRUEBAS

PRUEBAS DE PUREZA

Carbohidratos

Reactivo:

ácido cisteína-sulfúrico

Mezcle inmediatamente antes de usar 0,5 ml de solución acuosa al 3% p / v de hidrocloreuro de L-cisteína monohidrato y 25 ml de ácido sulfúrico al 86% v / v.

Enfriar en hielo. No almacenar para su reutilización.

Procedimiento:

Disuelva 0.2 g de muestra, pesada con precisión, en agua y complete hasta 100 ml. Coloque una porción de 0.2 ml en un tubo de vidrio muy limpio y libre de polvo y enfríe en un baño de hielo. Agregue 1,2 ml de

reactivo de cisteína-sulfúrico, cubra con una bola de vidrio y mezcle bien. Después de 2 minutos en hielo, remueva a temperatura ambiente durante 3 minutos, luego sumérgase en un baño de agua hirviendo durante 3 minutos.

Inmediatamente enfriar en hielo durante 5 minutos, antes de leer la absorbancia en una celda de 1 cm a 412 nm.

Curva estándar:

Prepare soluciones estándar de glucosa que tengan una concentración de 10 a 100 µg / ml y construya una curva estándar a partir de la absorbancia de estas soluciones después del tratamiento de muestras de 0,2 ml de acuerdo con el procedimiento anterior.

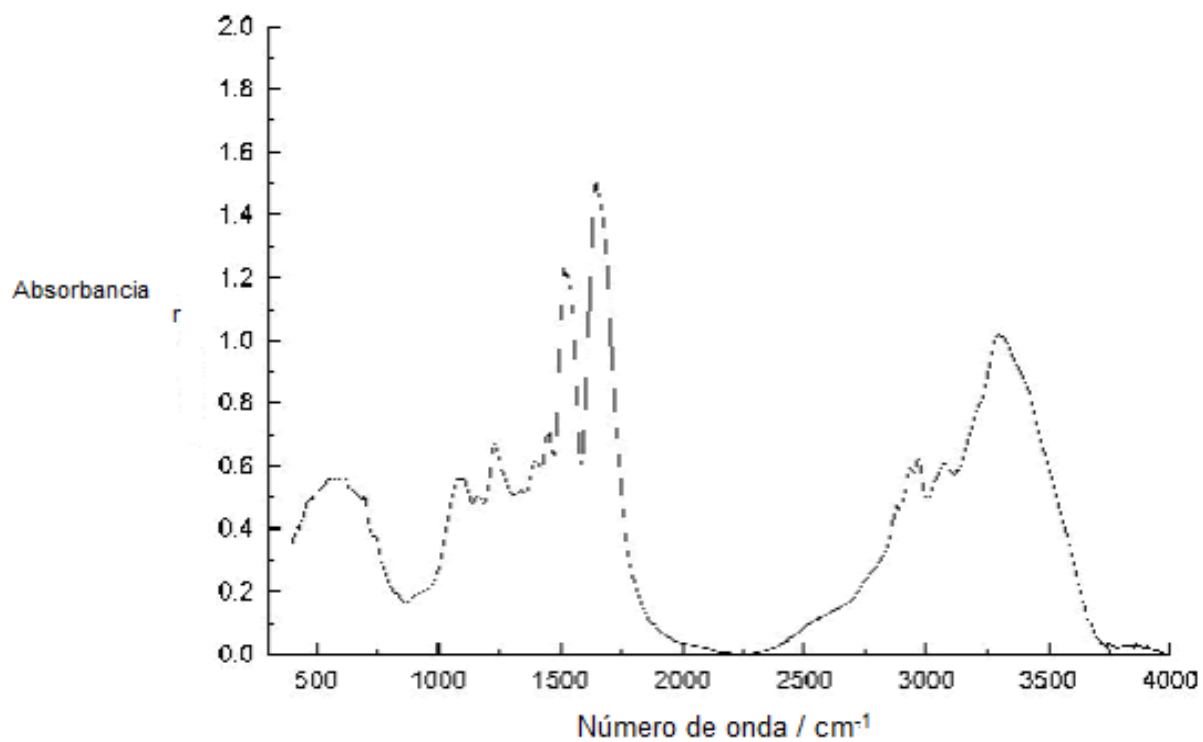
Determine la concentración de carbohidratos (como glucosa) en la muestra de prueba por referencia a la curva estándar.

MÉTODO DE ENSAYO

Proceda según lo indicado en Determinación de nitrógeno (Método Kjeldahl; Volumen 4), Método II.

Espectro infrarrojo

Taumatina



GLICOSIDOS DE ESTEVIOL DE *STEVIA REBAUDIANA* BERTONI

Preparado en la 84a reunión del JECFA (2017) y publicado en FAO JECFA Monographs 20 (2017), reemplaza las especificaciones provisionales preparadas en la 82.a JECFA (2016) y publicado en FAO JECFA Monographs 19 (2016). Se estableció una IDA de 0 - 4 mg / kg de peso corporal (expresada como esteviol) en la 69a reunión del JECFA (2008).

SINONIMOS

INS No. 960

DEFINICIÓN

Los glicósidos de esteviol consisten en una mezcla de compuestos que contienen un esqueleto de esteviol conjugado a cualquier número o combinación de los principales restos de azúcar (glucosa, ramnosa, xilosa, fructosa, arabinosa, galactosa y desoxiglucosa) en cualquiera de las orientaciones que se producen en las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni. El producto se obtiene de las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Las hojas se extraen con agua caliente y el extracto acuoso se pasa a través de una resina de adsorción para atrapar y concentrar los glucósidos de esteviol. La resina se lava con alcohol para liberar los glucósidos y el producto se recristaliza en metanol o etanol acuoso. Se pueden usar resinas de intercambio iónico en el proceso de purificación. El producto final puede ser secado por pulverización.

Nombre químico

Ver apéndice 1

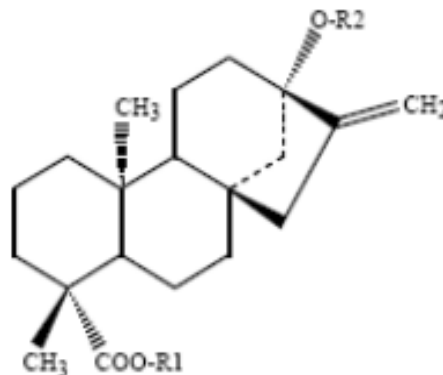
Número C.A.S.

Ver apéndice 1

Fórmula química

Ver apéndice 1

Estructura química



Esteviol (R1 = R2 = H) es la aglicona de los glucósidos de esteviol.

Glc, Rha, Fru, deoxyGlc, Gal, Ara y Xyl representan, respectivamente, restos de glucosa, ramnosa, fructosa, xilosa desoxiglucosa, galactosa, arabinosa y xilosa.

Ensayo

No menos del 95% del total de glicósidos de esteviol, en base seca, determinan la suma de todos los compuestos que contienen un esqueleto de esteviol conjugado a cualquier número, combinación u orientación de sacáridos (glucosa, ramnosa, fructosa, xoxosa desoxiglucosa, galactosa, arabinosa y xilosa) que se producen en las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni.

DESCRIPCIÓN

Polvo blanco a amarillo claro, inodoro o con un ligero olor característico. Alrededor de 200 - 300 veces más dulce que la sacarosa.

USOS FUNCIONALES

Edulcorante

CARACTERÍSTICAS

IDENTIFICACIÓN

Solubilidad (Vol. 4) Fácilmente soluble en una mezcla de etanol y agua (50:50)

Perfil cromatográfico HPLC Los picos principales en un cromatograma obtenidos al analizar una muestra siguiendo el procedimiento del MÉTODO DE ENSAYO corresponden a glicósidos de esteviol

pH (Vol. 4) Entre 4.5 y 7.0 (solución 1 en 100)

PUREZA

Ceniza total (Vol. 4) No más del 1%

Pérdida por secado (Vol. 4) No más del 6% (105°, 2 h)

Solventes residuales (Vol. 4) No más de 200 mg / kg de metanol y no más de 5000 mg / kg de etanol (Método I, Métodos generales, Componentes orgánicos, Disolventes residuales)

Arsénico (Vol. 4) No más de 1 mg / kg.
Determine el uso de un método apropiado para el nivel especificado (utilice el Método II para preparar una solución de muestra). La selección del tamaño de la muestra y el método de preparación de la muestra puede basarse en los principios de los métodos descritos en el vol. 4 (“Métodos generales, impurezas metálicas”).

Plomo (vol. 4)

No más de 1 mg / kg.

Determine el uso de un método apropiado para el nivel especificado. La selección del tamaño de la muestra y el método de preparación de la muestra puede basarse en los principios de los métodos descritos en el vol. 4 (“Métodos generales, impurezas metálicas”)

Criterios microbiológicos

(Vol. 4)

Recuento total de placas (aeróbicas): no más de 1,000 UFC / g

Levaduras y mohos: No más de 200 CFCU / g

E. coli: Negativo en 1 g

Salmonella: Negativa en 25 g.

METODO DE ENSAYO

Determine los porcentajes de los principales glucósidos de esteviol (aquellos con estándares analíticos) utilizando el Método A (HPLC, Vol. 4). Confirme la presencia de cada glucósido de esteviol menor (compuestos en los que los estándares analíticos no están disponibles) utilizando el Método B (HPLC-MS). Calcule la concentración de los compuestos menores utilizando el área del pico de UV corregida de la masa molecular respectiva frente a la curva estándar de rebaudiósido A UV. Calcule su suma y exprese el contenido en base seca.

Método A: Determinación de los principales glucósidos de esteviol por HPLC:

Reactivos:

Acetonitrilo: grado de HPLC con transmitancia más de

95% a 210 nm.

- Agua desionizada: grado HPLC.

- Estándares (Estándares de Referencia y Control de Calidad): Esteviósido, rebaudiósido A, rebaudiósido B, rebaudiósido C, rebaudiósido D, rebaudiósido E, rebaudiósido F, rebaudiósido M, rebaudiósido N, rebaudiósido O, dulcosido A, rubusoside y esteviolbiosido.

Chromadex, Estados Unidos; Industrias químicas puras de Wako Ltd., Japón; Sigma Aldrich; Farmacopea estadounidense o equivalente.

Nota: Los estándares de otros glucósidos de esteviol, pueden estar disponibles comercialmente en el futuro. El analista debe considerar que la inclusión de estándares adicionales reducirá la concentración de los estándares mixtos que se describen a continuación.

Preparación de soluciones estándar de glicósidos de esteviol.

Prepare soluciones stock estándar individuales (1.5 mg / mL) en agua: acetonitrilo (7: 3).

Prepare una solución estándar mixta (115 µg / ml) mezclando 1,0 ml de cada una de las soluciones stock estándar individuales.

Prepare soluciones estándar de identificación de picos (0,1 mg / ml) a partir de soluciones stock estándar individuales en agua: acetonitrilo (7: 3).

Prepare soluciones estándar mixtas de trabajo en el rango de 20 a 100 $\mu\text{g} / \text{mL}$ siguiendo la dilución apropiada de la solución estándar mixta (b) con agua: acetonitrilo (7: 3).

Prepare el control de calidad y la adecuación del sistema para las soluciones stock estándar individuales (1,5 mg / ml), así como la solución estándar mixta (115 $\mu\text{g} / \text{ml}$) utilizando estándares de un lote / fabricante diferente (si está disponible)

Prepare soluciones estándar de trabajo mixtas de control de calidad (40 y 80 $\mu\text{g} / \text{mL}$) y estándares de adecuación del sistema (52 $\mu\text{g} / \text{mL}$) siguiendo diluciones apropiadas de solución estándar mixta

Preparación de la solución de muestra: Pese con precisión 50 mg de muestra y transfiera cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50 ml. Agregue aproximadamente 20 ml de agua: acetonitrilo (7: 3), aplique un tratamiento de ultrasonidos y agite bien para disolver la muestra y completar el volumen.

Procedimiento:

Use una HPLC que consiste en una bomba binaria de alta precisión y un muestreador automático (capaz de funcionar a 2-8°); detector de matriz de diodos @ UV a 210 nm; y el detector de espectrometría de masas (ionización negativa por electropulverización en un rango de masas de 50 a 1500 m / z usando una resolución de masa unitaria, para uso en el Método B a continuación) conectado en serie. Agilent 1200 con Waters Quattro o equivalente:

Columna: Luna 5 μ C18 (2), 100A, (150 mm x 4,6 mm, 5 μ m, Phenomenex) o Capcell pak C18 MG II (250 mm x 4,6 mm, 5 μ m, Shiseido Co. Ltd) o equivalente.

- Temperatura de la columna: 50 ° - Temperatura del inyector automático: 2 – 8°

- Volumen de inyección: 10 μ l.

- Fase móvil A: agua desionizada o de grado LC-MS (0,2 μ m filtrada)

- Fase móvil B: acetonitrilo de grado LC-MS (filtrado de 0,2 μ m)

Tabla de tiempo de gradiente de HPLC:

Tiempo (min)	% Solvente A	% Solvente B	Tasa de flujo (mL/min)
0.00	85.0	15.0	0.3
40.0	70.0	30.0	0.3
60.0	55.0	45.0	0.3
70.0	55.0	45.0	0.3
70.1	85.0	15.0	0.3
80.0	85.0	15.0	0.3

Inyecte las soluciones estándar de identificación de picos (c), identifique los picos y calcule los tiempos de retención relativos (RRT) con respecto al rebaudiósido A (los valores típicos de RRT se dan en el Apéndice-3). Vea el Apéndice 2 para un ejemplo de un cromatograma obtenido usando el método.

Inyecte soluciones estándar mixtas de trabajo (d) y construya curvas estándar para cada glicósido de esteviol. Inyectar las soluciones estándar de control de calidad y adecuación del sistema (f) para garantizar un sistema de trabajo satisfactorio.

Inyectar muestras preparadas. Diluya la solución de la muestra, si es necesario, para llevar la concentración de cada analito dentro del rango de la curva estándar. Hacer inyecciones duplicadas. Deduzca la concentración de cada glucósido de esteviol de su curva estándar correspondiente y obtenga la concentración promedio en la solución de la muestra ($\mu\text{g} / \text{mL}$).

Cálculo del contenido principal de glucósidos de esteviol:

$$\text{Conc. (\%p/p)} = C_{\text{muestra}} \times \frac{100}{P_{\text{muestra}}}$$

Dónde:

- C_{muestra} es la concentración promedio ($\mu\text{g} / \text{mL}$) en la solución de muestra
- P_{muestra} es el peso de la muestra (μg) en 1 ml de solución de muestra ($\sim 1000 \mu\text{g} / \text{mL}$)

Nota: El cálculo anterior cambiará si se realizan diluciones adicionales antes de la inyección de LC. El analista tendrá en cuenta dichas diluciones en el cálculo.

Calcule el porcentaje de glucósidos de esteviol principales en la muestra sumando los porcentajes de glucósidos de esteviol individuales en la muestra (A).

Nota: Si la concentración de glucósidos de esteviol principales en la muestra es <95%, el analista debe realizar el Método B.

Método B: Determinación de glucósidos de esteviol menores por HPLC-MS:

Las condiciones de HPLC-MS pueden variar según el fabricante y el modelo del sistema utilizado. El analista debe establecer las condiciones siguiendo las instrucciones del fabricante. Las condiciones típicas de HPLC-MS para el espectrómetro de masas Quattro Micro de Waters se muestran en el Anexo.

El espectrómetro de masas está conectado al sistema HPLC-UV utilizado en el método A. Analice los datos del espectro de masas de los picos menores (los picos principales de glicósidos de esteviol se identifican a partir de RRT en el método A). Confirme la presencia de cada glucósido de esteviol menor del ion de masa molecular observado (los iones de masa molecular típica de los glucósidos de esteviol se dan en el Apéndice 3) y uno o más de los siguientes iones de diagnóstico espectral de masas:

iones de diagnóstico espectral de masas observados durante la fragmentación en la fuente de glucósidos de esteviol

[Fragmento-H] - m/z	Identidad
317	Esteviol
427	Glicósido de steviol relacionado #3
479	Esteviol-GLC
625	Esteviol-2GLC [M-16]
641	Esteviol-2GLC
787	Esteviol-3GLC desoxiglucosa [M16]
803	Esteviol-3GLC
819	-
965	Esteviol-4GLC

Nota: El cromatograma de ejemplo de los glicósidos de esteviol menores que se muestran en el Apéndice 2 se obtiene de los estándares internos purificados.

Después de confirmar la presencia de un glicósido de esteviol menor, corrija su área de pico promedio (obtenida del cromatograma de UV) como se describe a continuación.

Cálculo del contenido de glucósidos de esteviol menor:

Calcule la abundancia del área del pico de la masa molecular corregida para cada glicósido de esteviol menor usando la fórmula:

$$\text{Área del pico de la masa molecular corregida} = \frac{M_x \times MPA}{MRebA}$$

Donde:

- M_x es la masa molecular del glicósido de esteviol menor
- $MRebA$ es la masa molecular de Rebaudioside A (967 amu)
- MPA es el área promedio del pico

Deduzca la concentración ($\mu\text{g} / \text{mL}$) de cada glucósido de esteviol menor usando la curva estándar de UV del rebaudiósido A. Calcule la concentración de cada glucósido de esteviol menor en la solución de muestra usando la siguiente fórmula:

$$\text{Conc. de glucósido de esteviol menor (\%p/p)} = \frac{\text{Conc. muestra} \times 100}{\text{Peso muestra}}$$

Donde:

- Conc. muestra es la concentración analizada ($\mu\text{g} / \text{mL}$) en la muestra de prueba
- Peso muestra es el peso de la muestra en 1 ml de solución ($\mu\text{g} / \text{ml}$)

Nota: El cálculo anterior cambiará si se realizan diluciones adicionales antes de la inyección de LC. El analista tendrá en cuenta dichas diluciones en el cálculo.

Calcule el porcentaje de glucósidos de esteviol menores en la muestra mediante la suma de los porcentajes de los

glucósidos de esteviol menores individuales en la muestra (B).

Determine la cantidad total de contenido de glucósido de esteviol utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{TSG} = \frac{(A+B) \times 100}{100-M}$$

Donde:

- TSG es el contenido total de glicósidos de esteviol (% p / p, en base seca)
- A es el porcentaje mayor de glicósidos de esteviol
- B es el porcentaje menor de glicósidos de esteviol
- M es el porcentaje de pérdida en el secado.

Condiciones Típicas de LCMS

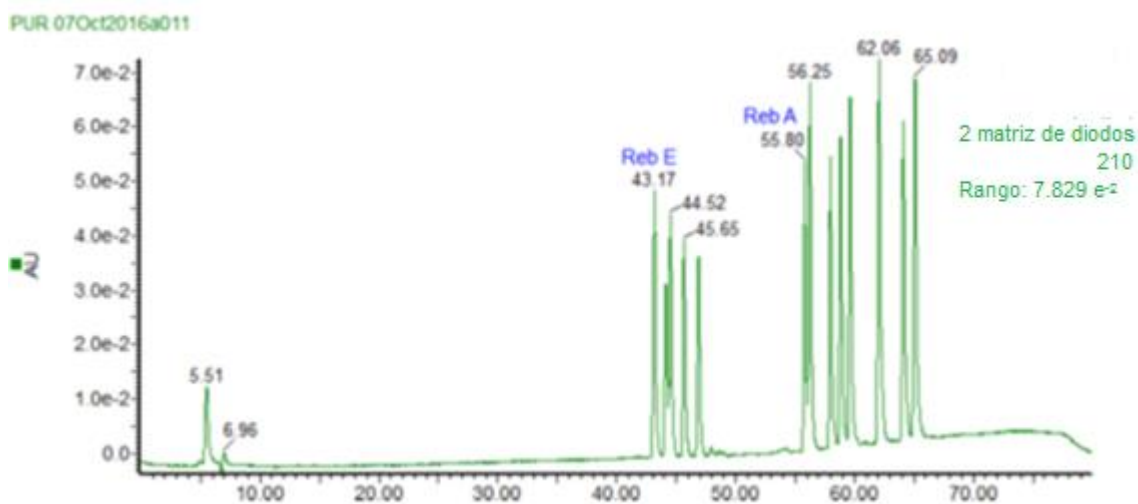
Instrumentación	Espectrómetro de masas Waters Quattro Micro
Ionización:	Polaridad negativa de electropulverización
Voltaje capilar:	4.0 kV
Voltaje de cono:	35 V (bajo) and 60 V (alto)
Voltaje del extractor:	5.0 V
Voltaje de la lente RF:	1.0 V
Temperatura de la fuente:	90 °
Temperatura de desolvatación:	350 °
Caudal de desolvatación:	400 L/h
Presión de colisión:	No aplica
Voltaje colisional:	No aplica
Gas de colisión:	No aplica
Resolución:	1 amu
Adquisición de datos:	Escaneo de 50 a 1500 m/z utilizando Mass Lynx

Apéndice 1: Información química de algunos glicósidos de esteviol.

Nombre común	Nombre trivial	R ₁	R ₂	Nombre químico	Núm. CAS	Fórmula química	Peso de la fórmula
Grupo 1: Esteviol + Glucosa (SvGN)							
Esteviolbioso	SvG2	H	Glcβ(1-2)Glcβ1-	Ácido 13-[(2-O-β-D-glucopiranosilo-β-D-glucopiranosilo)oxi]kaur-16-en-18-oico	41093-60-1	C ₃₂ H ₅₀ O ₁₃	643
Esteviosido	SvG3	Glcβ1-	Glcβ(1-2)Glcβ1-	Ácido 13-[(2-O-β-D-glucopiranosilo-β-D-glucopiranosilo)oxi]kaur-16-en-18-oico, éster β-D-glucopiranosilo	57817-89-7	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₈	805
Rebaudiosido A	SvG4	Glcβ1-	Glcβ(1-2)[Glcβ(1-3)]Glcβ1-	Ácido 13-[(2-O-β-D-glucopiranosilo-3-O-β-D-glucopiranosilo)oxi]kaur-16-en-18-oico, éster β-D-glucopiranosilo	58543-16-1	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃	967
Rebaudiosido B	SvG3	H	Glcβ(1-2)[Glcβ(1-3)]Glcβ1-	Ácido 13-[(2-O-β-D-glucopiranosilo-3-O-β-D-glucopiranosilo)oxi]kaur-16-en-18-oico, éster β-D-glucopiranosilo	58543-16-1	C ₄₄ H ₇₆ O ₂₃	967

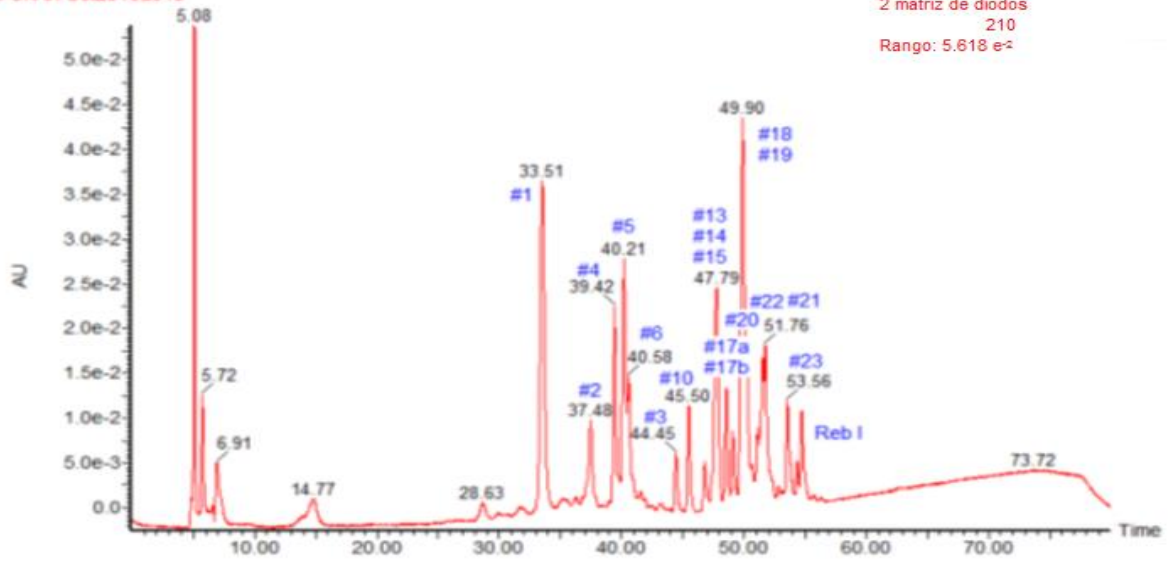
Rebaudiósido D	SvG5	Glcβ1-	Glcβ(1-6)Glcβ(1-2)[Glcβ(1-3)]Glcβ1-	Ácido 13-[6-O-β-D-glucopiranosilo-2-O-β-D-glucopiranosilo-3-β-D-glucopiranosilo]oxy] kaur-16-en-18-oico, éster 2-O-β-D-glucopiranosilo	122061 6-38-5	C ₅₀ H ₈₀ O ₂₈	1129
Rebaudiósido E	SvG4	Glcβ(1-2)Glcβ1-	Glcβ(1-2)Glcβ1-	Ácido 13-[O-β-D-glucopiranosilo-(1,2)-O-[β-D-glucopiranosilo]-oxy]-kaur-16-en-18-oico éster (4')-O-β-D-glucopiranosilo-desoxi-(1,2)-O-β-D-glucopiranosilo	63279- 14-1	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃	967
Grupo 2: Esteviol + ramnosa + glucosa (SvR1Gn)							
Dulcósido A	SvR1G2	Glcβ1-	Rhaα(1-2)Glcβ1-	Ácido 13-[(2-O-α-L-ramnopiranosilo-β-D-glucopiranosilo)oxy] kaur-16-en-18-oico, éster β-D-glucopiranosilo	64432- 06-0	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₇	789
Rebaudiósido C	SvR1G3	Glcβ1-	Rhaα(1-2)[Glcβ(1-3)]Glcβ1-	Ácido 13-[(2-O-α-L-ramnopiranosilo-3-O-β-D-glucopiranosilo-β-D-glucopiranosilo)oxy] kaur-16-en-18-oico, éster β-D-glucopiranosilo	63550- 99-2	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₂	951

Apéndice-2: Cromatogramas de glicósidos de esteviol representativos utilizando el método de ensayo



Ejemplo de cromatografía de estándares representativos de glicósidos de esteviol de un Phenomenex Luna C18 (150 mm x 4.6 mm, 5 μ m). Orden de tiempos de retención de izquierda a derecha: rebaudiósido E, rebaudiósido O, rebaudiósido D, rebaudiósido N, rebaudiósido M, rebaudiósido A, esteviósido, rebaudiósido F, rebaudiósido C, dulcósido A, rubusósido, rebaudiósido B y esteviolbiósido.

RFS-todos los compuestos
PUR 07Oct2016a018



Ejemplo de cromatografía a partir de un Phenomenex Luna C18 (150 mm x 4.6 mm, 5µm) de glucósidos de esteviol menores usando estándares de referencia purificados en la casa.

Apéndice 3: Tiempo de retención típico (RT), tiempo de retención relativo (RRT) e iones de masa de glicósidos de esteviol

Nombre del compuesto	Tiempo de retención típico (RT)*	Tiempo de retención relativo al rebaudiósido A (RRT)*	Masa molecular del ion [M-H]
Glucósido de esteviol #1 relacionado	32.6	0.58	517 ó 427
Glucósido de esteviol #2 relacionado	33.6	0.60	981
Glucósido de esteviol #3 relacionado	34.3	0.61	427 ó 735
Glucósido de esteviol #4 relacionado	38.1	0.68	675 ó 1127
Glucósido de esteviol #5 relacionado	40.8	0.73	981
Rebaudiósido V	43.0	0.77	1259
Rebaudiósido T	43	0.75	1127
Rebaudiósido E	43.7	0.78	965
Rebaudiósido O	44.6	0.79	1435
Rebaudiósido D	45.1	0.80	1127
Rebaudiósido K	45.8	0.81	1111
Rebaudiósido N	46.1	0.82	1273
Rebaudiósido M	47.5	0.84	1289
Rebaudiósido S	48.3	0.86	949
Rebaudiósido J	48.4	0.86	1111
Rebaudiósido W	49.1	0.87	1097
Rebaudiósido U2	49.1	0.87	1097
Rebaudiósido W2	49.7	0.88	1097
Rebaudiósido W3	50.3	0.89	1097
Rebaudiósido U	50.7	0.90	1097
Rebaudiósido O2	50.6	0.90	965
Rebaudiósido Y	50.8	0.90	1259
Rebaudiósido I	50.7	0.90	1127
Rebaudiósido V2	52.2	0.93	1259

Rebaudiósido K2	51.7	0.93	1111
Rebaudiósido H	53.7	0.96	1111
Rebaudiósido A	56.2	1.00	965
Esteviósido	56.6	1.01	803
Rebaudiósido C	58.3	1.04	935
Rebaudiósido F	59.2	1.05	949
Dulcósido A	60.0	1.07	787
Rubusósido	62.4	1.11	641
Rebaudiósido B	64.5	1.15	803
Esteviolbíosido	65.5	1.17	641

* Los valores de RT y RRT que figuran en la tabla anterior solo tienen fines informativos. Pueden variar según el sistema cromatográfico y las condiciones utilizadas. El analista necesita establecer durante la validación del método.

Anexo B)

Sustancia específica reconocida como GRAS por FDA

GLICIRRICINA

DEPARTAMENTO DE ADMINISTRACIÓN DE ALIMENTOS Y DROGAS DE
SALUD Y SERVICIOS HUMANOS

SUBCAPÍTULO B - ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO

PARTE 184 - SUSTANCIAS ALIMENTARIAS DIRECTAS AFIRMADAS COMO
GENERALMENTE RECONOCIDAS COMO SEGURAS

Subparte B - Listado de sustancias específicas afirmadas como GRAS

Segundo. 184.1408 Regaliz y derivados de regaliz.

SINONIMOS

Ácido, glicirricico
Ácido, glicirricínico
Glicirricinato de diamonio
Glicirricinato de dipotasio
Glicirrizo, Zinc
Ácido glicirricico
Glicirricina
Glicirricinato, Diamonio
Glicirricinato, dipotasio
Ácido glicirricínico
Glicirrizato de Zinc

DEFINICIÓN

1) La raíz de regaliz (*glycyrrhiza*) es el rizoma seco y molido y las porciones de raíz de *Glycyrrhiza glabra* u otras especies de *Glycyrrhiza*. El extracto de regaliz

es la porción de la raíz de regaliz que, después de la maceración, se extrae con agua hirviendo. El extracto se puede purificar aún más por filtración y por tratamiento con ácidos y alcohol etílico. El extracto de regaliz se vende como un líquido, pasta ("bloque") o polvo secado por aspersión.

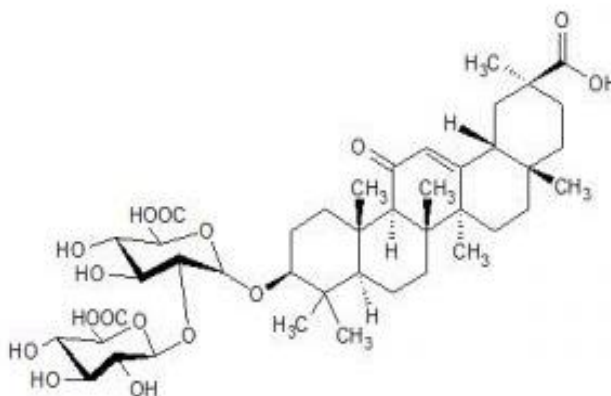
(2) La glicirricina amoniacada se prepara a partir del extracto de agua de la raíz de regaliz mediante precipitación ácida seguida de neutralización con amoníaco diluido. El glicirricinato de monoamonio ($C_{42}H_{61}O_{16}NH_4H_2O$, CAS Reg. No. 1407-03-0) se prepara a partir de glicirricina amoniacada por extracción con solvente y técnicas de separación.

Número C.A.S. 1405-86-3

Fórmula molecular $C_{42}H_{62}O_{16}$

Peso molecular 822.9 g / mol

Estructura molecular



USOS FUNCIONALES Agente saborizante, edulcorante.

CARACTERISTICAS

IDENTIFICACION

<u>Solubilidad</u>	Soluble en agua caliente, alcohol; prácticamente insoluble en éter.
<u>Ceniza</u>	No más del 9,5 por ciento para el regaliz, el 2,5 por ciento para la glicirricina amoniacada y el 0,5 por ciento para el glicirricinato de monoamonio sobre una base anhidra, según lo determinado por el método en el Food Chemicals Codex, 3d Ed. (1981), pág. 466, que se incorpora por referencia.
<u>Ceniza ácida insoluble</u>	No más del 2.5 por ciento para el regaliz sobre una base anhidra según lo determinado por el método en el Food Chemicals Codex, 3d Ed. (1981), pág. 466, que se incorpora por referencia.
<u>Plomo</u>	No más de 40 partes por millón según lo determinado por el método II en el Food Chemicals Codex, 3d Ed. (1981), pág. 512, que se incorpora por referencia.
<u>Arsénico</u>	No más de 3 partes por millón, según lo determinado por el método en el Codex de Productos Químicos para Alimentos. Ed 3d (1981), pág. 464, que se incorpora por referencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abiodun, OA., Akinoso, R. (2014). Physico-chemical of Serendipity Berry (*Dioscoreophyllum cumminsii*) Fruit. *Journal of Applied Sciences and Enviromental Management*, 18 (2), pp. 218 y 219.
2. Akter, S., Amdadul, Md., Jung, Y.J., Cho, Y.G. & Kang, K.K. (2016). Application of sweet and taste modifying genes for development in plants: current status and prospects. *Journal of Plant Biotechnology*, 43, p. 397.
3. Alonso, J. (2010). Edulcorantes naturales. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 12 (2), pp.4, 7.
4. Andrés, S. (2011). Aproximación a la comprensión de un endulzante natural alternativo, la *Stevia rebaudiana* Bertoni: producción, consumo y demanda potencial. *Agroalimentaria*, 17 (32), p. 63.
5. Badui, Salvador. (2006). *Química de alimentos*. México: Pearson, p 46.
6. Cai, C., Li, L., Lu, N., Zheng, W., Yang, L. & Liu B. (2016). Expression of a high sweetness and heat-resistant mutant of sweet-tasting protein, monellin, in *Pichia pastoris* with a constitutive GAPDH promoter and modified N-terminus. *Biotechnology Letters*, 38, p. 1941.
7. Calvo, M. (2013). *Toxicología de los alimentos*. México: McGraw Hill. pp 288-289.
8. Chiu, C.H., Wang, R., Lee, C.C., Lo, Y.C. & Lu, T.J. (2013). Biotransformation of Mogrosides from *Siraitia grosvenorii* Swingle by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (29), p. 7127.
9. Chung, J.H., Kong, J.N., Choi, H.E. & Kong, K.H. (2017). Antioxidant, anti-inflammatory, and anti-allergic activities of the sweet-tasting protein brazzein. *Food Chemistry*, 2016, p. 2.
10. Cifras de Sobrepeso y Obesidad en México-ENSANUT MC 2016. (2016). Observatorio Mexicano de Enfermedades No Transmisibles. Recuperado el 17 de mayo del 2018, de <http://oment.uanl.mx/cifras-de-sobrepeso-y-obesidad-en-mexico-ensanut-mc-2016/>

11. Cueva, S. (2017). Sustitutos de azúcar naturales. Recuperado de <http://foodtechnologysummit.com/endulzantes-de-alta-potencia/>
12. Durán, S., Rodríguez, M., Cordón, K. & Record J. (2012). Estevia (*Stevia rebaudiana*), edulcorante natural y no calórico. *Revista chilena de nutrición*, 39 (4), pp. 203-204.
13. Fake, G. & Howard, J. (2014). Brazzein: A High-Intensity Natural Sweetener. En *Commercial Plant-Produced Recombinant Protein Products: Case Studies*, (10). U.S.A: Springer, pp. 253-254.
14. FDA. (2018). Código de regulaciones federales, título 21, volumen 3. Recuperado el 29 de agosto del 2019, de <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/CFRSearch.cfm?fr=184.1408>
15. González, A. (2013). Posición de consenso sobre las bebidas con edulcorantes no calóricos y su relación con la salud. *Revista Mexicana de Cardiología* 24 (2), p. 60.
16. Gutiérrez A. (2015). *Bioquímica, farmacología y toxicología de Stevia rebaudiana Bertoni* (tesis de fin de grado). Universidad Complutense de Madrid, España, p. 16.
17. Hablemos Claro. (s. f.). Legislación Glicirricina. Recuperado el 17 de mayo del 2018, de <http://hablemosclaro.org/ingreperia/glicirricina/#1502295069328-2e671aa5-7c2b>
18. Hellekant, G. & Danilova, V. (2005) Brazzein a Small, Sweet Protein: Discovery and Physiological Overview. *Chemical senses*, 30 (1). Pp. i88 y i89.
19. Ibitoye, O.B., Ghali, U.M., Adekunle, J.B., Uwazie J.N. & Ajiboye, T.O. (2017). Antidyslipidemic, Anti-Inflammatory, and Antioxidant Activities of Aqueous Leaf Extract of *Dioscoreophyllum cumminsii* (Stapf) Diels in High-Fat Diet-Fed Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2017, p. 2.

20. INEGI. (2017). "ESTADÍSTICAS A PROPÓSITO DEL DÍA MUNDIAL DE LA POBLACIÓN" (11 DE JULIO). Recuperado el 17 de mayo del 2018, de http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2017/poblacion2017_Nal.pdf
21. JECFA. (2019). "Residue Monograph prepared by the meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 84th meeting 2017. Steviol Glycosides from *Stevia rebaudiana* Bertoni". Recuperado el 29 de mayo del 2019, de <http://www.fao.org/3/BU297en/bu297en.pdf>
22. JECFA. (2019). "THAUMATIN". Recuperado el 27 de mayo del 2019, de http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/Monograph1/Additive-462.pdf
23. Jia, L., Yoke, A. (2013). Therapeutic Effects of Glycyrrhizic Acid. *Natural Product Communications*, 8 (3), pp. 415 y 417.
24. Jones, G. (2006). G06-1634 Stevia. *Historical Materials from University of Nebraska-Lincoln Extension*, 2795, p. 2.
25. Leone, S., Pica, A., Merlino, A., Sannino, F., Andrea, P. & Picone, D. (2016). Sweeter and stronger: enhancing sweetness and stability of the single chain monellin MNEI through molecular design. *Scientific reports*, 6, p. 2.
26. Liu, Q., Li, L., Yang, L., Liu, T., Cai, C. & Liu, B. (2015). Modification of the Sweetness and Stability of Sweet-Tasting Protein Monellin by Gene Mutation and Protein Engineering. *BioMed Research International*, vol. 2016, p. 1.
27. Magnasweet. (s.f.). Magnasweet. "La solución para mejorar el sabor y el endulzamiento". Recuperado el 9 de mayo del 2018, de <https://magnasweet.com>
28. Marone, P.A., Borzelleca, J.F., Merkel, D., Heimbach, J.T. & Kennepohl, E. (2008). Twenty eight-day dietary toxicity study of Luo Han fruit concentrate in Hsd:SD[®] rats. *Food & Chemical Toxicology*, 46, p. 917.
29. Nagarajan, R. (2017). Amazing, super-sweet natural proteins. Recuperado de <https://www.oreilly.com/ideas/amazing-super-sweet-natural-proteins>
30. O'Brien L. (2016). *Alternative Sweeteners*. U.S.A: CRC Press, pp 228-229.

31. Organización Mundial de la Salud. (2016). Informe mundial sobre la diabetes. Recuperado el 19 de mayo del 2018, de <http://www.who.int/diabetes/global-report/es/>
32. Organización Mundial de la Salud. (2017). Obesidad y sobrepeso. Recuperado el 19 de mayo del 2018, de <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
33. Pawar, R., Krynitsky, A., Rader, J. (2013). Sweeteners from plants with emphasis on *Stevia rebaudiana* (Bertoni) and *Siratia grosvenorii* (Swingle). *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 405 (13), p. 4402.
34. Prakash, I. & DuBois, G. (2015). High-Potency Sweetener Composition with Antioxidant and Compositions Sweetened therewith. United States Patent, 8 (962), p. 2.
35. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Uralsaponin A. (s.f.). Recuperado el 29 de agosto del 2019 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Uralsaponin-A>
36. Puebla, D. (2017). *ANÁLISIS DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS EN LA ESPECIE Hydrangea macrophylla (Thunb.) Ser. DE EXPLANTES IN VIVO E IN VITRO* (trabajo de titulación, previo a la obtención del título de ingeniería en biotecnología). Universidad de las Fuerzas Armadas, Ecuador, pp. 6 y 14.
37. Purefruit. (s.f.). Purefruit, monk fruit extract. Recuperado el 9 de mayo del 2018, de <https://www.tateandlyle.com>
38. Ravi, K. (2005). Sweet proteins-Potencial replacement for artificial low calorie sweeteners. *Nutrition Journal*, 4, p. 2.
39. Salvador, R., Sotelo, M. & Paucar, L. (2014). Estudio de la Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante natural y su uso en beneficio de la salud. *Scientia Agropecuaria*, 5, pp. 157 y 160.
40. Sánchez, M. (2014). *“Edulcorantes: Utilización y aprovechamiento en diferentes procesos de la industria alimentaria”* (tesina para obtener el título de Químico de Alimentos). Universidad Autónoma del Estado de México, México, pp. 56, 57, 59, 76-78.

41. Santillán, A., García, L., Vásquez, N., Santoyo, V., Melgar, M., Pereira, W., Larrahondo, J. & Merino, A. (2017). Impacto de la sustitución del azúcar de caña por edulcorantes de alta intensidad en México. *Universidad Autónoma Chapingo*, pp. 31, 44 y 58.
42. Talin. (s.f.). Talin. A Natural Product. Recuperado el 1 de mayo del 2018, de <http://www.thaumatinnaturally.com>
43. Tardío, J., Pascual, H., Morales, R. (2002). Plantas silvestres alimentarias: Paloduz, Avellano. Recuperado de <http://www.rjb.csic.es/jardinbotanico/ficheros/documentos/pdf/pubinv/RMV/252PaloduzAvellano.pdf>
44. Tránsito, M. (2008). El regaliz. Actividad farmacológica, indicaciones y consejos para su uso. *Offarm*, 27 (1), p. 70.
45. Vázquez, M., Guevara, R., Aguirre, H., Alvarado, A. & Romero, H. (2017). Consumo actual de edulcorantes naturales (beneficios y problemática): Stevia. *Revista Médica Electrónica*, 39 (5), p. 1156.
46. Velisek, J. (2014). *The Chemistry of Food*. U.S.A: Wiley-Blackwell, p. 930.
47. Vind, J., Wegener, J., Beier, L. & Olsen, C. (2016). Method of producing a sweet protein. United States Patent, 9 (273), p. 2.
48. von Rymon, G.W. (2015). Sweeteners. Alemania: Wiley-VCH, pp. 19-21.
49. Xia, Y., Rivero, M., Hughes, B. & Marshall, W. (2008). Isolation of the sweet components from *Sirratia grosvenorii*. *Food Chemistry*, 107 (3), pp. 1022 y 1023.